

FUNDAMENTOS DE FISIOLOGÍA VEGETAL

SEGUNDA EDICIÓN

JOAQUÍN AZCÓN-BIETO
MANUEL TALÓN

Mc
Graw
Hill
Education

UBe

FUNDAMENTOS DE FISIOLÓGÍA VEGETAL

2.^a Edición

FUNDAMENTOS DE FISIOLÓGIA VEGETAL

2.^a Edici3n

Coordinaci3n

J. AZC3N-BIETO

Departamento de Biologfa Vegetal
Facultad de Biologfa
Universitat de Barcelona

M. TAL3N

Centro de Gen3mica
Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias
Moncada, Valencia

Publicacions i Edicions



UNIVERSITAT DE BARCELONA



**Mc
Graw
Hill
Education**

McGRAW-HILL • INTERAMERICANA

MADRID • BUENOS AIRES • CARACAS • GUATEMALA • LISBOA • M3XICO
NUEVA YORK • PANAMÁ • SAN JUAN • BOGOTÁ • SANTIAGO • SÁO PAULO
AUCKLAND • HAMBURGO • LONDRES • MILÁN • MONTREAL • NUEVA DELHI • PARÍS
SAN FRANCISCO • SYDNEY • SINGAPUR • ST. LOUIS • TOKIO • TORONTO

FUNDAMENTOS DE FISIOLÓGÍA VEGETAL

No está permitida la reproducción total o parcial de este libro, su tratamiento informático, la transmisión de ninguna otra forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, por fotocopia, por registro u otros métodos, sin el permiso previo y por escrito de los titulares del Copyright.

Derechos reservados © 2013, respecto de la primera edición en español, por J. AZCÓN-BIETO y M. TALÓN

McGRAW-HILL - INTERAMERICANA DE ESPAÑA, S. L.

Edificio Valrealty
Basauri, 17, 1.^a planta
28023 Aravaca (Madrid)

PUBLICACIONS I EDICIONS DE LA UNIVERSITAT DE BARCELONA

Adolf Florensa, s/n
08028 Barcelona

ISBN: 978-84-481-9293-8

Obra original: *Fundamentos de fisiología vegetal* © 2008,
respecto a la segunda edición en español, por McGraw-Hill Interamericana de España, S.L.

ISBN edición original McGraw-Hill: 978-84-481-5168-3

ISBN edición original Publicacions i Edicions de la UB: 978-84-475-3230-8

Preimpresión: MonoComp, S. A.

Autores

ACOSTA, M.

Departamento de Biología Vegetal. Facultad de Biología. Universidad de Murcia.

AGUIRREOLEA, J.

Departamento de Fisiología Vegetal. Facultades de Ciencias y Farmacia. Universidad de Navarra. Pamplona.

AGUSTÍ, M.

Departamento de Producción Vegetal. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Valencia.

APARICIO-TEJO, P. M.

Departamento de Ciencias del Medio Natural. Universidad Pública de Navarra. Pamplona.

ARANDA, X.

Unidad de Horticultura Ambiental. Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA). Cabrils (Barcelona).

ARRESE-IGOR, C.

Departamento de Ciencias del Medio Natural. Universidad Pública de Navarra. Pamplona.

AZCÓN-BIETO, J.

Departamento de Biología Vegetal. Facultad de Biología. Universitat de Barcelona.

BAÑÓN-ARNAO, M.

Departamento de Biología Vegetal. Facultad de Biología. Universidad de Murcia.

BECANA, M.

Departamento de Nutrición Vegetal. Estación Experimental de Aula Dei. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Zaragoza.

BONILLA, I.

Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid.

CASAL, J. J.

IFEVA. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires y CONICET. Argentina.

CUSIDÓ, R. M.

Departamento de Productos Naturales, Biología Vegetal y Edafología. Facultad de Farmacia. Universitat de Barcelona.

DE LAS RIVAS, J.

Centro de Investigación del Cáncer. Universidad de Salamanca. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Salamanca.

FERNÁNDEZ, J. A.

Departamento de Biología Vegetal. Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga.

FLECK, I.

Departamento de Biología Vegetal. Facultad de Biología. Universitat de Barcelona.

FLEXAS, J.

Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Universitat de les Illes Balears. Palma de Mallorca.

FLÓREZ-SARASA, I. D.

Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Universitat de les Illes Balears. Palma de Mallorca.

GALMÉS, J.

Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Universitat de les Illes Balears. Palma de Mallorca.

GÁRATE, A.

Departamento de Química Agrícola, Geología y Geoquímica. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid.

GARCÍA LUIS, A.

Departamento de Biología Vegetal. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Valencia.

GARCÍA SÁNCHEZ, M. J.

Departamento de Biología Vegetal. Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga.

GÓMEZ-CADENAS, A.

Departamento de Ciencias Experimentales. Universitat Jaume I. Castellón.

- GÓMEZ-CASANOVAS, N.
Department of Biological Sciences. University of Illinois at Chicago. USA.
- GONZÁLEZ-MELER, M. A.
Department of Biological Sciences. University of Illinois at Chicago. USA.
- GUARDIOLA, J. L.
Departamento de Biología Vegetal. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Valencia.
- IGLESIAS, D. J.
Centro de Genómica. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Moncada (Valencia).
- LAFUENTE, M. T.
Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Burjasot (Valencia).
- MALDONADO, J. M.
Departamento de Biología Vegetal y Ecología. Facultad de Biología. Universidad de Sevilla.
- MARTÍNEZ-ZAPATER, J. M.
Departamento de Genética Molecular de Plantas. Centro Nacional de Biotecnología. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid.
- MATILLA, A.
Laboratorio de Fisiología Vegetal. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago de Compostela. A Coruña.
- MEDRANO, H.
Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Universitat de les Illes Balears y Departamento de Recursos Naturales, Institut Mediterrani d'Estudis Avançats. Palma de Mallorca.
- MOYSSET, L.
Departamento de Biología Vegetal. Facultad de Biología. Universitat de Barcelona.
- PALAZÓN, J.
Departamento de Productos Naturales, Biología Vegetal y Edafología. Facultad de Farmacia. Universitat de Barcelona.
- PEÑA, L.
Departamento de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Moncada (Valencia).
- PIÑOL, M. T.
Departamento de Productos Naturales, Biología Vegetal y Edafología. Facultad de Farmacia. Universitat de Barcelona.
- QUESADA, M. A.
Departamento de Biología Vegetal. Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga.
- REVILLA, G.
Departamento de Fisiología Vegetal. Facultad de Biología. Universidad de Santiago de Compostela. A Coruña.
- RIBAS-CARBÓ, M.
Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Universitat de les Illes Balears. Palma de Mallorca.
- ROLDÁN, M.
ITQUIMA. Universidad de Castilla-La Mancha. Ciudad Real.
- SÁNCHEZ-BRAVO, J.
Departamento de Biología Vegetal. Facultad de Biología. Universidad de Murcia.
- SÁNCHEZ-DÍAZ, M.
Departamento de Fisiología Vegetal. Facultades de Ciencias y Farmacia. Universidad de Navarra. Pamplona.
- SEGURA, J.
Departamento de Biología Vegetal. Facultad de Farmacia. Universidad de Valencia.
- SIMÓN, E.
Departamento de Biología Vegetal. Facultad de Biología. Universitat de Barcelona.
- TADEO, F. R.
Centro de Genómica. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Moncada (Valencia).
- TALÓN, M.
Centro de Genómica. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Moncada (Valencia).
- VALPUESTA, V.
Departamento de Biología Molecular y Bioquímica. Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga.
- ZACARÍAS, L.
Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Burjasot (Valencia).
- ZARRA, I.
Departamento de Fisiología Vegetal. Facultad de Biología. Universidad de Santiago de Compostela. A Coruña.

Contenido

AUTORES	vii	Capítulo 10: Utilización de la energía luminosa en la fotosíntesis (<i>Javier De Las Rivas</i>).....	191
LISTA DE ABREVIATURAS	xi	Capítulo 11: Fijación del dióxido de carbono y biosíntesis de fotoasimilados (<i>Hipólito Medrano, Jeroni Galmés y Jaume Flexas</i>)	211
PREFACIO	xv	Capítulo 12: Fotorrespiración y mecanismos de concentración del dióxido de carbono (<i>Hipólito Medrano, Jeroni Galmés y Jaume Flexas</i>).....	227
PARTE I: INTRODUCCIÓN			
Capítulo 1: Fisiología vegetal. Introducción a las células de las plantas: membranas y pared (<i>Gloria Revilla e Ignacio Zarra</i>).....	3	Capítulo 13: Fotosíntesis, factores ambientales y cambio climático (<i>Joaquín Azcón-Bieto, Isabel Fleck, Xavier Aranda y Nuria Gómez-Casanovas</i>)	247
PARTE II: NUTRICIÓN Y TRANSPORTE			
Capítulo 2: El agua en la planta. Movimiento del agua en el sistema suelo-planta-atmósfera (<i>Manuel Sánchez-Díaz y Jone Aguirreolea</i>)	25	Capítulo 14: La respiración de las plantas (<i>Miquel Ribas-Carbó, Igor Delfín Flórez-Sarasa y Miquel Ángel González-Meler</i>)	265
Capítulo 3: Transpiración y control estomático (<i>Manuel Sánchez-Díaz y Jone Aguirreolea</i>).....	41	Capítulo 15: Asimilación del nitrógeno y del azufre (<i>José María Maldonado</i>).....	287
Capítulo 4: Absorción de agua por la raíz y transporte por el xilema. Balance hídrico de la planta (<i>Manuel Sánchez-Díaz y Jone Aguirreolea</i>).....	57	Capítulo 16: Fijación biológica de nitrógeno (<i>Pedro M. Aparicio-Tejo, César Arrese-Igor y Manuel Becana</i>) ...	305
Capítulo 5: Transporte en el floema (<i>Amparo García Luis y José Luis Guardiola</i>)	81	Capítulo 17: Introducción al metabolismo secundario (<i>María Teresa Piñol, Javier Palazón y Rosa María Cusidó</i>).....	323
Capítulo 6: Introducción a la nutrición mineral de las plantas. Los elementos minerales (<i>Ildefonso Bonilla</i>)	103	PARTE III: DESARROLLO VEGETAL	
Capítulo 7: Absorción y transporte de nutrientes minerales (<i>José Antonio Fernández, María Jesús García Sánchez y José María Maldonado</i>).....	123	Capítulo 18: Introducción al desarrollo. Concepto de hormona vegetal (<i>Juan Segura</i>)	349
Capítulo 8: Nutrición mineral y producción vegetal (<i>Agustín Gárate e Ildefonso Bonilla</i>)	143	Capítulo 19: Auxinas (<i>Manuel Acosta Echeverría, José Sánchez Bravo y Marino Bañón Arnao</i>).....	377
Capítulo 9: La luz y el aparato fotosintético (<i>Javier De Las Rivas</i>)	165	Capítulo 20: Giberelinas (<i>Domingo J. Iglesias y Manuel Talón</i>).....	399
		Capítulo 21: Citoquininas (<i>Juan Segura</i>)	421

Capítulo 22: Etileno, ácido abscísico y otros reguladores del desarrollo (<i>Lorenzo Zacarías y M.^a Teresa Lafuente</i>)	445	Capítulo 27: Desarrollo y germinación de las semillas (<i>Angel J. Matilla</i>)	537
Capítulo 23: Fotomorfogénesis: la luz como factor regulador del crecimiento (<i>Jorge José Casal</i>)	467	Capítulo 28: Senescencia y abscisión (<i>Miguel Ángel Quesada y Victoriano Valpuesta</i>).....	559
Capítulo 24: Movimientos de las plantas: tropismos y nastias (<i>Luisa Moysett y Esther Simón</i>).....	483	Capítulo 29: Fisiología de las plantas y el estrés (<i>Francisco R. Tadeo y Aurelio Gómez-Cadenas</i>)	577
Capítulo 25: Floración y su control ambiental (<i>Marta Roldán y José M. Martínez Zapater</i>).....	499	Capítulo 30: Biotecnología vegetal: transformación genética de las plantas (<i>Leandro Peña</i>)	599
Capítulo 26: Crecimiento y maduración del fruto (<i>Manuel Agustí</i>)	519	Glosario	617
		Índice.....	639

Abreviaturas

1-MCP	1 METILCICLOPROPENO	CDP	COPALIL DIFOSFATO (VÉASE CPP)
3-PGA	ÁCIDO 3-FOSFOGLICÉRICO/3-FOSFOGLICERATO	CDPKs	<i>CALCIUM DEPENDENT PROTEIN KINASES</i>
ABA	ÁCIDO ABCÍSICO	CFC (COMPUESTOS-)	CLOROFLUOROCARBONADOS
ABGE	ÉSTER GLUCOSÍLICO DE ABA	CFRC	CICLO FOTOSINTÉTICO DE REDUCCIÓN DEL CO ₂
ABA-GS	GLUCÓSIDO DE ABA	CH	CONTENIDO HÍDRICO
ABAR	RECEPTOR DE ABA	CHR	CONTENIDO HÍDRIDO RELATIVO
ABC	<i>ATP-BINDING CASSETTE</i>	CK	CENTRO QUIESCENTE
(TRANSPORTADORES TIPO-)		CKX	CITOQUININA OXIDASA/DESHIDROGENASA
ABP-1	<i>AUXIN BINDING PROTEIN 1</i>	CLV1-3 (GEN-)	CLAVATA 1-3
ABRE (SECUENCIAS-)	<i>ABSCISIC RESPONSIVE ELEMENT</i>	COR (GEN-)	<i>COLD-REGULATED GENES</i>
ACC	ÁCIDO 1-AMINOCICLOPROPANO-1-CARBOXÍLICO	COX	CITOCROMO C OXIDASA
ACO	ACC OXIDASA	CPP	ENT-COPALIL DIFOSFATO
ACS	ACC SINTASA	CPS	ENT-COPALIL DIFOSFATO SINTASA
ADC	ARGININA DESCARBOXILASA	CRE	<i>CYTOKININ RESPONSE ELEMENT</i>
ADP	ADENOSINA DIFOSFATO	CRF	<i>CYTOKININ RESPONSE FACTOR</i>
AFP	PROTEÍNAS ANTICONGELANTES (<i>ANTI-FREEZE PROTEINS</i>)	CRT	<i>C-REPEAT</i>
AGL15	<i>AGEMOUS-LIKE15</i>	Csl	<i>CELLULOSE SYNTHASE-LIKE</i>
AIA	ÁCIDO INDOLACÉTICO	CTE	CADENA DE TRANSPORTE ELECTRÓNICO
AJ	ÁCIDO JASMÓNICO	cZ	ZEATINA CIS
AMV	ÁCIDO MEVALÓNICO	Dad(MUTANTE-)	<i>DECREASED APICAL DOMINANCE</i>
AOX	OXIDASA ALTERNATIVA	DAG	<i>DIACYLGLYCEROL</i>
AP2	APETALA 2	DDF1	<i>DWARF AND DELAYED FLOWERING1</i>
APS	ADENOSINA 5'-FOSFOSULFATO	Df	DORMICIÓN FÍSICA
AREB/ABF	<i>ABRE-BINDING PROTEINS/ABRE BINDING FACTORS</i>	DF	DORMICIÓN FISIOLÓGICA
ARF	<i>AUXIN RESPONSE FACTOR</i>	DF+Df	DORMICIÓN COMBINATORIA
AS	ASPARRAGINA SINTETASA	DFMA	DIFLUROMETILARGININA
ATP	ADENOSINA TRIFOSFATO	DFMO	DIFLUROMETILORNITINA
AVR (GEN-)	GEN DE AVIRULENCIA	DFNP	DORMICIÓN FISIOLÓGICA NO PROFUNDA
BA	BENCILADENINA	DHAP	DIHIDROXIACETONA FOSFATO
BDL (GEN-)	BODENLOS	(diH)Z	DIHIDROZEATINA
BFA	BREFELDINA	DM	DORMICIÓN MORFOLÓGICA
bHLH	<i>BASIC HELIX-LOOP-HELIX</i>	DMAPP	DIMETILALIL DIFOSFATO
BL (GEN-)	<i>BLIND</i>	DMF	DORMICIÓN MORFOFISIOLÓGICA
BR	BRASINOSTEROIDES	DOF	<i>DNA BINDING WITH ONE FINGER PROTEINS</i>
BTB	<i>BROAD COMPLEX, TRAMTRACK, BRIC À BRAC</i>	DPA	ÁCIDO DIHIDROFASEICO
bZIP	<i>BASIC LEUCINE-ZIPPER</i>	DPA-GS	GLUCÓSIDO DE DPA
CA (ENZIMA-)	ANHIDRASA CARBÓNICA	DRE	<i>DEHYDRATION RESPONSIVE ELEMENT</i>
CAM (PLANTAS-)	<i>CRASSULACEAN ACID METABOLISM</i>	DREB2	<i>DRE BINDING PROTEIN 1/2</i>
cADPR	<i>CYCLIC ADP-RIBOSE</i>	DRIS (MÉTODO-)	<i>DIAGNOSIS AND RECOMMENDATION INTEGRATED SYSTEM</i> ; SISTEMA INTEGRADO DE DIAGNÓSTICO Y RECOMENDACIÓN
CBP	<i>CYTOKININ BINDING PROTEIN</i>	DSH	DÉFICIT DE SATURACIÓN HÍDRICA
CDC (GENES-)	<i>CELL DIVISION CYCLE</i>	dsRNA	<i>DOUBLE STRAND RNA</i>
CDK	<i>CYCLIN DEPENDENT KINASES</i>	DUBs	ENZIMAS DESUBIQUITINIZADORAS

DZ	DIHIDROZEATINA	iP	ISOPENTENILADENINA
EC	CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA	IP ₃	INOSITOL TRIFOSFATO
EDDHA	ÁCIDO ETILÉN-DIAMINO-DI-ORTOHIDROXI-FENILACÉTICO	IPP	ISOPENTENIL PIROFOSFATO (VÉASE IP ₃)
EDTA	ÁCIDO ETILÉN-DIAMINO-CARBOXÍLICO	IP ₃ PP	ISOPENTENIL DIFOSFATO
ELIP (GENES-)	<i>EARLY LIGHT INDUCED PROTEINS</i>	IPT	ISOPENTIL TRANSFERASA
EN	<i>EQUILIBRATIVE NUCLEOSIDE TRANSPORTER</i>	IR	RADIACIÓN INFRARROJA
ERF	FACTOR DE RESPUESTA AL ETILENO	JA	ÁCIDO JASMÓNICO (<i>JASMONIC ACID</i>)
ET	ETILENO	KDO	ÁCIDO 3-DEOXI-MANO-OCTULOSÓNICO
ETO 1	<i>ETHYLENE OVERPRODUCER 1</i>	KGM	<i>KINASE ASSOCIATED WITH GAMYB</i>
FAO	ORGANIZACIÓN PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA	KN1 (GEN-)	<i>KNOTTED1</i>
FCA	<i>FLOWERING TIME CONTROL LOCUS A</i>	KNOX (GENES-)	<i>KNOTTED1-LIKE HOMEBOX</i>
FCR	Fe(III)-QUELATO-REDUCTASA	KO	KAURENO OXIDASA
Fd _{RED}	FERREDOXINA REDUCIDA	KS	ENT-KAURENO SINTASA
PPF1 (GEN-)	<i>FLOWERING PROMOTING FACTOR 1</i>	LAX (GEN-)	<i>LIKE AUX</i>
FPP	FARNESIL DIFOSFATO	Lb	LEGHEMOGLOBINA
FS	FITOSIDERÓFOROS	LD	ESPECIES DE DÍA LARGO (<i>LONG DAY</i>)
FY	<i>FLOWERING LOCUS Y</i>	LEA (PROTEÍNA-)	<i>LATE EMBRYOGENESIS ABUNDANT</i>
GAP	GLICERALDEHÍDO 3-FOSFATO	LFY (GEN-)	<i>LEAFY</i>
GARC	COMPLEJO DE RESPUESTA A LAS GAS	LHC	<i>LIGHT-HARVESTING COMPLEX</i>
GARE	ELEMENTOS QUE RESPONDEN A LAS GAS	LHCP	<i>LIGHT-HARVESTING COMPLEX PROTEINS</i>
GAS	GIBERELINAS	LP	BAJO POTENCIAL
GC-MS	ESPECTROMETRÍA DE MASAS COMBINADA CON CROMATOGRAFÍA DE GASES	LTRE	<i>LOW TEMPERATURE RESPONSIVE ELEMENT</i>
GFP	<i>GREEN FLUORESCENT PROTEIN</i>	MA	MICORRIZAS ARBUSCULARES
GDH	GLUTAMATO DESHIDROGENASA	MAPK	<i>MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASES</i> : PROTEÍNA QUINASAS ACTIVADAS POR AGENTES MITÓGENOS
GDP	GUANOSINA DIFOSFATO	Max (MUTANTE-)	MORE AXILLARY GROWTH
GGDP	GERANILGERANIL DIFOSFATO (VÉASE GGPP)	MeJA	METIL JASMONATO
GGPP	GERANILGERANIL PIROFOSFATO (VÉASE GGDP)	MEP	METILERITRITOL FOSFATO
GID1	<i>GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF 1</i>	mn1	MUTACIÓN MINIATURA 1
GID2	<i>GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF 2</i>	Mn-SOD	Mn SUPERÓXIDO DISMUTASA
GN (GEN-)	GNOM	MoCo	COFACTOR DE MOLIBDENO
GOGAT	GLUTAMATO SINTASA	MP (GEN-)	MONOPTEROS
GPCR	<i>G PROTEIN COUPLED RECEPTOR</i> ; RECEPTOR ACOPLADO A PROTEÍNAS G	MTA	METILTIOADENOSINA
GPI	GLICOSILFOSFATIDILINOSITOL	MTs	METALOTIONEÍNAS (<i>METALLOTHIONEINS</i>)
GPP	GERANIL DIFOSFATO	NAADP	ÁCIDO NICOTÍNICO-ADENINA DINUCLEÓTIDO FOSFATO
GRP	PROTEÍNA RICA EN GLICINA	NAD-ME	ENZIMA MÁLICA DEPENDIENTE DE NAD ⁺
GS	GLUTAMINA SINTETASA	NADP-ME	ENZIMA MÁLICA DEPENDIENTE DE NADP ⁺
GSSG	GLUTATIÓN OXIDADO	NCED	9-CIS-EPOXYCAROTENOID DIOXYGENASE
GSH	GLUTATIÓN REDUCIDO	NIM1(GEN-)	<i>NONINDUCIBLE IMMUNITY PHENOTYPE</i> (TAMBIÉN CONOCIDO COMO NPR1)
GT	GLICOSILTRANSFERASA	NiR	NITRITO REDUCTASA
GTP	GUANOSINA TRIFOSFATO	NOA	ÁCIDO 1-NAFTOXIACÉTICO
GUS (GEN-)	β-GLUCURONIDASA	NOx	ÓXIDOS DE NITRÓGENO
HCN	ÁCIDO CIANHÍDRICO	NPA	ÁCIDO NAFTILFTALÁMICO
HMBDP	HIDROXIMETILBUTENIL DIFOSFATO	NPQ	«QUENCHING» NO FOTOQUÍMICO
HMGR	3-HIDROXI-3-METILGLUTARIL CoA REDUCTASA	NPR1 (GEN-)	<i>NONEXPRESSOR OF PR GENES 1</i> (TAMBIÉN CONOCIDO COMO NIM1)
HP	ALTO POTENCIAL	nptII (GEN DE LA-)	NEOMICINA FOSFOTRANSFERASA II
HPLC	CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA	NR	NITRATO REDUCTASA
HR	RESPUESTA HIPERSENSIBLE	OAA	OXALACETATO
HRT (PROTEÍNA)	<i>HYPERSENSITIVE RESPONSE TO TCV (TURNIP CRINKLE VIRUS)</i>	OAS	O-ACETILSERINA
HSP	PROTEÍNAS DE CHOQUE TÉRMINO (<i>HEAT SHOCK PROTEINS</i>)	ODC	ORNITINA DESCARBOXILASA
Hyp	HIDROXIPROLINA	PA	ÁCIDO FASEICO (<i>PHASEIC ACID</i>)
ICE 1 (PROTEÍNA-)	<i>INDUCER OF CBF EXPRESSION 1</i>	PA	ÁCIDO FOSFÁTIDICO (<i>PHOSPHATIDIC ACID</i>)
		PAGA	ÉSTER GLUCOSÍLICO DE PA
		PAPS	3'-FOSFOADENOSINA-5'FOSFOSULFATO

PAR	RADIACIÓN FOTOSINTÉTICAMENTE ACTIVA	RUBISCO	RIBULOSA 1,5-BISFOSFATO CARBOXILASA OXIGENASA
PCK	FOSFOENOLPIRUVATO CARBOXIQUINASA (VÉASE PEPCK)	RuBP	RIBULOSA 1,5-BISFOSFATO
PCMBs (ÁCIDO-)	PARACLOROMERCURIBENCENOSULFÓNICO	SA	ÁCIDO SALICÍLICO (<i>SALICYLIC ACID</i>)
PCs	FITOQUELATINAS (<i>PHYTOCHELATINS</i>)	SAG12 (GEN-)	<i>SENESCENCE ASSOCIATED GENES</i>
PEP	FOSFOENOLPIRUVATO	SAI 1 (GEN-)	<i>SA INSENSITIVE 1</i> (POSIBLEMENTE RELACIONADO CON NPR1 Y NIM1)
PEPC	FOSFOENOLPIRUVATO CARBOXILASA	SAM	S-ADENOSILMETIONINA
PEPCK	FOSFOENOLPIRUVATO CARBOXIQUINASA (VÉASE PCK)	SAR	RESISTENCIA SISTÉMICA ADQUIRIDA (<i>SYSTEMIC ACQUIRED RESISTANCE</i>)
PFd	DENSIDAD DEL FLUJO DE FOTONES (<i>PHOTON FLUX DENSITY</i>)	SAUR (GEN-)	<i>SMALL AUXIN UP-REGULATED RNA</i>
PFK	FOSFOFRUCTOQUINASA	SD	ESPECIES DE DÍA CORTO (<i>SHORT DAY</i>)
PFp	FOSFOFRUCTOFOSTOTRANSFERASA	SHAM	ÁCIDO SALICILHIDROXÁMICO
Pfr	FITOCROMO ROJO LEJANO (<i>FAR RED</i>)	SHI	<i>SHORT INTERNODES</i>
PGA	3-FOSFOGLICERATO	Sho (GEN-)	<i>SHOOTING</i>
PHB (GEN-)	PHABULOSA	SHR/SCR (GEN-)	<i>SHORTROOT/SCARECROW</i>
PHOR1	<i>PHOTOPERIOD RESPONSIVE 1</i>	siRNAs	PEQUEÑOS mRNAs DE INTERFERENCIA (<i>SHORT INTERFERING RNAs</i>)
PHV (GEN-)	PHAVOLUTA	SLN	SEÑALES ESPECÍFICAS DE LOCALIZACIÓN NUCLEAR
PI	INHIBIDORES DE PROTEASAS (<i>PROTEASE INHIBITORS</i>)	Sly1	<i>SLEEPY1</i>
PIPs	<i>PLASMA MEMBRANE INTRINSIC PROTEINS</i>	smHSP	HSP DE BAJO PESO MOLECULAR (<i>SMALL HSP, HEAT SHOCK PROTEINS</i>)
PIL5	PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR LIKE 5	SOD	SUPERÓXIDO DISMUTASA
PKL	<i>PICKLE</i>	SOS (RUTA-)	<i>SALT OVERLAY SENSITIVE</i>
PLC	FOSFOLIPASA C	SPAC	<i>SOIL-PLANT-ATMOSPHERE CONTINUUM</i>
PLD	FOSFOLIPASA D	SPS	SACAROSA FOSFATO SINTASA
PLT (GEN-)	<i>PLETHORA</i>	SPY	<i>SPINDLY</i>
PPFD	DENSIDAD DE FLUJO FOTÓNICO FOTOSINTÉTICO	STM (GEN-)	<i>SHOOTMERISTEMLESS</i>
PP, PPI	PIROFOSFATO	SPT	<i>SPATULA</i>
PPM	PARTES POR MILLÓN	(FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN-)	
PQ	PLASTOQUINONA	TC/CC	COMPLEJO TUBO CRIBOSO-CÉLULA DE COMPAÑÍA
Pr	FITOCROMO ROJO	T-DNA	DNA DE TRANSFERENCIA
PR	PROTEÍNAS RELACIONADAS CON LA PATOGÉNESIS	Ti (PLÁSMIDO-)	<i>TUMOR INDUCING</i>
PSI	FOTOSISTEMA I	TIBA	ÁCIDO 2,3,5-TRIYODOBENZOICO
PSII	FOTOSISTEMA II	TIPs	<i>TONOPLAST INTRINSIC PROTEINS</i>
PUP	PERMEASAS DE PURINA	TIR1	<i>TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE 1</i>
RAX1 (GEN-)	<i>REGULATOR OF AXILLARY MERISTEMS1</i>	Tms (GEN-)	TUMOR CON TALLOS
R (GEN-)	DE RESISTENCIA	TPP ⁺	TETRAFENILFOSFONIO
RBR	RB (RETINOBLASTOMA) <i>TUMOUR-SUPPRESSOR PROTEIN</i>	TR	TRANSPORTADORES DE MEMBRANA
RE	RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO	tRNA-IP	tRNA ISOPENTIL TRANSFERASA
REV (GEN-)	REVOLUTA	tZ	ZEATINA <i>TRANS</i>
RG-I	RAMNOGALACTURONANO I	Tzs (GEN-)	<i>TRANS-ZEATIN-SYNTHESIZING</i>
RG-II	RAMNOGALACTURONANO II	UCPs	PROTEÍNAS DESACOPLADORAS (<i>UNCOUPLING PROTEINS</i>)
RGA (GEN-)	REPRESOR DE LA ACCIÓN DE GAS	uidA	GEN DE LA BETA-GLUCURONIDASA
RGL3	<i>RGA-LIKE PROTEIN 3</i>	UQ	UBIQUINONA
Rht	<i>REDUCED HEIGHT TRITICUM</i>	UQH ₂	UBIQUINOL
Ri (PLÁSMIDO-)	<i>ROOT INDUCING</i>	UV	ULTRAVIOLETA
RING/U-BOX	<i>REAL INTERESTING NEW GENE</i>	VA	MICORRIZAS VESÍCULO-ARBUSCULARES (VÉASE VA)
RISC	COMPLEJO DE SILENCIAMIENTO INDUCIDO POR RNA	VAM	CANAL ANIÓNICO DEPENDIENTE DE VOLTAJE
Rms (MUTANTE-)	<i>RAMOUS</i>	VDAC	VIOLAXANTINA
RNS	ESPECIES REACTIVAS DE NITRÓGENO	VIO	RADIACIÓN LUMINOSA
ROS	ESPECIES REACTIVAS (O ACTIVADAS) DE OXÍGENO (<i>REACTIVE OXYGEN SPECIES</i>)	VIS	VIVIPAROUS 1
RPK	RECEPTOR DE PROTEÍNA QUINASA	VP1	<i>WALL-ASSOCIATED KINASES</i> ; PROTEÍNAS ASOCIADAS A LA PARED
RQ	COCIENTE RESPIRATORIO	WAK	
RSG (PROTEÍNA-)	<i>REPRESSION OF SHOOT GROWTH</i>		

WUE	<i>WATER USE EFFICIENCY</i>	X-Gluc	ÁCIDO 5-BROMO-4-CLORO-3-INDOXIL-BETA-D-
WUS (GEN-)	<i>WUSCHEL</i>		GLUCURÓNIDO
XEH	XILOGLUCANO HIDROLASA	Z	ZEATINA
XET	XILOGLUCANO ENDOTRANSGLICOSILASA	ZEA	ZEAXANTINA

Prefacio

Desde que vio la luz la primera edición de *Fundamentos de Fisiología Vegetal*, se ha producido un excepcional avance en el conocimiento de la Fisiología Vegetal, impulsado en buena parte por el progreso que han experimentado las Ciencias Biológicas en general. En el momento de escribir estas líneas —septiembre de 2007—, la comunidad científica ya tiene acceso a las secuencias génicas completas de tres especies vegetales —*Arabidopsis thaliana*, *Oryza sativa* y *Populus alba*—, y muchas otras están en camino. El estudio e interpretación de esta ingente cantidad de información, sin duda modificará y perfilará nuestra concepción actual sobre qué son y cómo se desenvuelven las plantas. Pero este avance se ha producido también de forma paralela en otros campos no menos exigentes, como la bioquímica de las reacciones fotosintéticas y de la respiración, las relaciones hídricas, la homeostasis y las rutas de señalización hormonal o la regulación de procesos vitales y específicos de los vegetales (p. ej., la floración). Este progreso ha enriquecido nuestra comprensión del funcionamiento y la organización de las plantas y, por otro lado, está abriendo otros nuevos y seductores interrogantes.

La Fisiología Vegetal, precisamente por su carácter integrador del conocimiento, se está beneficiando de forma espectacular de esta vertiginosa evolución; pero esta circunstancia, como hemos podido comprobar, conlleva un reto a la hora de diseñar un libro de texto que contemple tales avances sin perder la identidad propia de la disciplina. La nueva edición de *Fundamentos de Fisiología Vegetal* que hoy presentamos al lector incorpora estos progresos, conservando el enfoque conceptual, el alcance y la organización de la edición original. Al igual que la anterior, ésta es también una obra multi-autor, un concepto básico en la elaboración de textos actuales, ya que la diversidad de los temas desarrollados, la complejidad de las técnicas empleadas y la dificultad de situar en perspectiva la inmensa cantidad de resultados publicados exceden la capacidad del más dotado de los autores. Así, el número total de capítulos previsto para la segunda edición —30—, y la mayoría de autores de los mismos, no varían en relación a la edición original; sin embargo, en algunos capítulos se ha recurrido a otros especialistas para elaborar la nueva información. Una vez más, queremos aprovechar este foro para destacar la extraordinaria profesionalidad y el talento de nuestros colaboradores, prestigiosos profesores e investigadores de

reconocida autoridad, que han diseñado y desarrollado con maestría los distintos capítulos. La presente actualización se ha llevado a cabo también atendiendo al objetivo de que no se produjeran variaciones importantes del tamaño de los capítulos que pudieran comprometer el estándar pedagógico.

La nueva edición se divide en dos bloques principales, precedidos por un capítulo introductor sobre la Fisiología Vegetal y las particularidades de las membranas y la pared celular de los vegetales. Al igual que en la edición original, la parte primera, que incluye los Capítulos del 2 al 17, se centra en los conceptos básicos de nutrición y transporte en los vegetales. En los cuatro capítulos iniciales se profundiza en las relaciones hídricas y en el control del transporte de agua y asimilados. Los tres capítulos siguientes nos introducen en la nutrición mineral de las plantas y en el transporte a través de la membrana. En los cinco capítulos posteriores se exploran las reacciones luminosas y la bioquímica de la fotosíntesis desde su vertiente energética hasta su integración en el ambiente. Los cuatro capítulos restantes de esta parte se dedican al metabolismo respiratorio, a la asimilación del nitrógeno (que incluye la fijación del nitrógeno atmosférico), al metabolismo del azufre y, finalmente, al metabolismo secundario. Así, el capítulo introductor y toda la primera parte de la obra, proporcionan las bases estructurales y energéticas del funcionamiento de las plantas, necesarias para comprender los procesos de crecimiento y diferenciación que se explican en la segunda parte. El Capítulo 18 introduce los conceptos de crecimiento y control hormonal del desarrollo, mientras que la función y los efectos específicos de las hormonas se desarrollan en los cuatro capítulos siguientes. Posteriormente se estudian la influencia de la luz y los movimientos de las plantas, y se aborda el ciclo de crecimiento vegetal explorando los procesos de floración, desarrollo del fruto, germinación de semillas y, finalmente, de senescencia y abscisión. El orden de los capítulos no varía entre las dos ediciones, salvo por los Capítulos 29 y 30, que están intercambiados. En esta segunda edición, el capítulo dedicado a la fisiología del estrés, que inmediatamente sucede a los capítulos dedicados al desarrollo, integra los conocimientos desarrollados en estos capítulos previos con las respuestas adaptativas propias de los vegetales. Esta edición finaliza con el Capítulo 30, dedicado a la generación y a la relevancia de las

plantas transgénicas. La importancia que están adquiriendo los desarrollos biotecnológicos, principalmente las plantas transgénicas, no sólo en el ámbito académico sino también en el puramente social, aconsejan dar a este capítulo una presencia particular en la obra.

Con la publicación de *Fundamentos de Fisiología Vegetal*, 2.^a edición, pretendemos ofrecer una introducción actualizada a la Fisiología Vegetal. La obra añade los resultados más relevantes de la investigación más moderna a un texto que fue pensado y desarrollado atendiendo a las necesidades de los estudiantes. Aunque la nueva edición conserva la organización y el estilo pedagógico de la primera, incorpora un buen número de innovaciones a partir de la experiencia de los usuarios de la edición precedente. La primera de estas ventajas y, sin duda, la más valiosa es la actualización de los contenidos de todos y cada uno de los capítulos. La información generada en estos últimos siete años se ha añadido sustituyendo a la información obsoleta, modificando los capítulos, pero sin incrementar la longitud de los mismos. De particular relevancia para nuestro campo son los nuevos conocimientos sobre las bases moleculares que sustentan los procesos fisiológicos. Estos avances, lógicamente, ejercen una intensa influencia en la forma en que entendemos el funcionamiento de las plantas, y están modificando profundamente nuestra forma de observar a las mismas. En esta segunda edición, los conocimientos derivados de los nuevos enfoques moleculares han sido bienvenidos y cuidados con esmero, desde el mismo momento de la concepción de la obra hasta la última revisión por parte de los autores.

Otra importante novedad se relaciona con la incorporación de nuevo material gráfico, que sustituye figuras y cuadros anteriores para adaptarse a la información actualizada en cada capítulo. Algunas de estas nuevas figuras reemplazan a las presentes en la primera edición. La incorporación de este material debe valorarse muy positivamente, no sólo por constituir un aporte de nueva información, sino por la calidad de las nuevas figuras, en un esfuerzo exclusivamente atribuible a los autores de los distintos capítulos, que han encontrado un marco adecuado para expresar su talento y conocimiento con las posibilidades informáticas actuales.

La obra incluye otras innovaciones que resultarán de utilidad para el lector y el estudiante. Por ejemplo, se han introducido citas bibliográficas relacionadas con la actualización de contenidos, de especial trascendencia para estimular al lector interesado en profundizar en aspectos concretos de la experimentación y el análisis que llevaron

a un descubrimiento notable o a un cambio de paradigma. En general, las restricciones de espacio limitan este tipo de información, que es muy apreciada por profesores y estudiantes.

En esta edición se han renovado también las distintas secciones de los capítulos. Por ejemplo, en la sección «problemas y cuestiones», se han incorporado nuevas preguntas para involucrar al estudiante en el razonamiento que subyace en los aspectos tanto teóricos como prácticos de los procesos fisiológicos. Se han mantenido, y en algún caso incorporado, nuevas referencias cruzadas a los subepígrafos de los distintos capítulos, para ampliar la información de forma sencilla y rápida. Se han renovado, asimismo, los resúmenes de los capítulos, los listados de siglas y abreviaturas, los índices y las referencias bibliográficas.

Como novedad, en esta edición se ha incorporado un glosario con los términos más relevantes de esta disciplina.

En fin, creemos que ésta será una obra que agrade a los estudiantes y en general a los lectores que se acerquen a la misma, porque en ella hemos pretendido conjugar la sencillez de la exposición pedagógica con contenidos de rabiosa actualidad científica, conservando al mismo tiempo la perspectiva y el marco clásicos. Es éste, sin duda, un difícil equilibrio para un texto de extensión ajustada a un curso universitario; en cualquier caso, asumimos los errores que el lector pudiera encontrar y estamos abiertos a su crítica y sugerencias.

Los lectores de *Fundamentos de Fisiología Vegetal* podrán, asimismo, tener acceso al sitio web www.mhe.es/azcontalon2e, que completa los contenidos presentados en la obra con información adicional. El Centro de Aprendizaje Online (OLC) de la editorial ofrece contenidos y material gráfico complementarios que facilitan el estudio y la comprensión de los temas.

Por último, queremos agradecer muy especialmente a Marisa Álvarez, nuestra editora, todos sus esfuerzos y desvelos por llevar a buen término esta obra; para ella, nuestro reconocimiento y gratitud por su elevada profesionalidad y eficacia. Ha constituido un placer compartir nuestra ilusión en este proyecto con el magnífico personal técnico de McGraw-Hill/Interamericana, que han puesto en esta obra su esmero y efectividad. También damos las gracias a nuestras familias, por su inagotable paciencia y estímulo continuo.

Manuel Talón
Joaquín Azcón-Bieto
Septiembre, 2007



PARTE I

Introducción



Fisiología vegetal. Introducción a las células de las plantas: membranas y pared

GLORIA REVILLA e IGNACIO ZARRA



1. ¿Qué es la Fisiología Vegetal? 2. Las células de las plantas. 3. Las membranas son la base de la compartimentación celular. 4. La pared celular permite la supervivencia en ambientes hipotónicos.

1. ¿QUÉ ES LA FISIOLOGÍA VEGETAL?

La Fisiología Vegetal es la ciencia que estudia cómo funcionan las plantas, es decir, qué es lo que las mantiene vivas. Explica, mediante leyes físicas y químicas, el modo en que las plantas utilizan la energía de la luz para sintetizar, a partir de sustancias inorgánicas, moléculas orgánicas con las que construyen las complejas estructuras que forman su cuerpo. Explica también cómo son capaces de reproducirse siguiendo un programa de desarrollo endógeno y cómo adaptan dicho programa al ambiente del momento. Pero el aspecto más importante no es el cúmulo de procesos físicos y químicos que tienen lugar en cada punto de la planta y en cada momento de su programa de desarrollo, sino cómo se integran dichos procesos en el espacio y en el tiempo y cómo los modula el medio para llevar a buen término el desarrollo de la planta.

1.1. La fisiología de las plantas en el siglo XXI

Desde el inicio de los tiempos, el hombre ha utilizado las plantas para su beneficio, en forma de alimento, vestido, material de construcción, fuente de energía, ornamento, o para la obtención de productos terapéuticos, etc. Al irse conociendo mejor la diversidad de las plantas y su funcionamiento en los distintos niveles (molecular, celular, organismo y población) ha sido posible diseñar estrategias más perfeccionadas para aumentar su producción y mejorar su calidad.

Por otra parte, la biología de las plantas puede proporcionar soluciones, al menos parciales, a los problemas a los

que se enfrenta nuestra especie y nuestro planeta en el siglo XXI, entre ellos la escasez de alimentos, el agotamiento de las reservas de combustibles fósiles y la escasez de agua. ¿Cómo pueden las plantas ayudarnos a afrontar dichos retos? Uno de los pocos recursos naturales que experimenta un aumento global es el dióxido de carbono, y como las plantas convierten el dióxido de carbono en biomasa mediante la fotosíntesis, este aumento global podría traducirse en una mayor producción de biomasa. Gracias a las tecnologías actuales, esta biomasa puede convertirse en combustibles renovables, limpios y perfectamente utilizables, como, por ejemplo, el etanol. Sin embargo, debido a la demanda de alimentos de una población mundial en aumento, no es posible desviar la producción agrícola primaria hacia la de biomasa. Por ello será necesario, entre otras medidas, aumentar la producción por superficie cultivada, extender la agricultura a terrenos marginales, aumentar la eficiencia de las plantas en la utilización del agua y mejorar el aprovechamiento de los residuos agrícolas. Para cubrir la demanda de plantas para la alimentación y como biomasa es preciso avanzar en nuestros conocimientos acerca del modo en que funcionan, de forma que podamos predecir de manera exacta cómo responderán ante cualquier manipulación genética o perturbación ambiental (Gutiérrez, R.A. y cols., *Plant Physiology* 138:550-554, 2005).

El desarrollo que han experimentado en los últimos años los estudios sobre la biología molecular de las plantas ha permitido obtener numerosos datos sobre el genoma, el proteoma e, incluso, el metaboloma de distintas especies, en diferentes ambientes y estados de desarrollo. En este momento disponemos de la secuencia completa del genoma de *Arabidopsis*, del arroz y del álamo, lo que permite utilizarlas

como plantas modelo. Aunque la identificación de este gran número de componentes no es suficiente para comprender la complejidad de las plantas, ha permitido aplicar una nueva metodología basada en la teoría de sistemas. Este nuevo enfoque, que tiene en cuenta no sólo los componentes del organismo sino, sobre todo, su interacción, se ha dado en llamar biología de sistemas. La biología de sistemas es el estudio de un organismo contemplado como una red integrada de genes, proteínas y reacciones bioquímicas que interactúan y que caracterizan al organismo vivo (Kitano, H. *Science* 295:1662-1664, 2002). De este modo será posible establecer modelos que permitan predecir el comportamiento de las plantas durante su ciclo vital y frente a distintos factores externos. Sólo cuando poseamos estos conocimientos podremos diseñar correctamente las manipulaciones necesarias para conseguir que una determinada planta produzca una sustancia dada o presente una respuesta específica frente a los factores externos (véase el Capítulo 30).

2. LAS CÉLULAS DE LAS PLANTAS

Como en todos los organismos vivos, la unidad funcional básica de las plantas es la célula. Por ello, el estudio de la fisiología de las plantas es, en gran medida, el estudio de la fisiología de sus células y de su integración en el organismo. La gran diversidad ecológica de las plantas está directamente relacionada con la enorme variedad de formas, estructuras y funciones de las células individuales que las forman. Esta diversidad hace difícil generalizar las características de una célula. Así, las células del **xilema** son bioquímicamente inactivas (muertas), pero cumplen una importante función en el transporte del agua (véase el Capítulo 4). Las células del **floema**, los elementos cribosos, son anucleadas y han perdido gran parte de su sistema de membranas, a excepción de la membrana plasmática; sin embargo, están perfectamente adaptadas para permitir el transporte de asimilados (véase el Capítulo 5). En cuanto a las células del parénquima, que podemos considerar funcionalmente completas, son el tipo más común de células y constituyen aproximadamente el 80% del total de las células que forman la planta.

Pero a pesar de sus diferencias, la mayoría de las células tiene una organización estructural común. En general, las células presentan una **pared celular** que rodea el **protoplasto**, delimitado externamente por la **membrana plasmática o plasmalema**. El material vivo en el interior del protoplasto recibe el nombre de protoplasma. El protoplasma no posee una estructura homogénea, ya que incluye al citoplasma y a diversos orgánulos inmersos en el propio citoplasma, los cuales están delimitados por membranas (sencillas o dobles) y cumplen funciones específicas. A su vez, el citoplasma todavía contiene en suspensión distintas estructuras no rodeadas de membrana, como ribosomas, microtúbulos e inclusiones. La fase acuosa del citoplasma recibe el nombre de citosol (Fig. 1-1, Cuadro 1-1).

En términos generales, podemos considerar que la célula es una estructura compleja, constituida por distintos com-

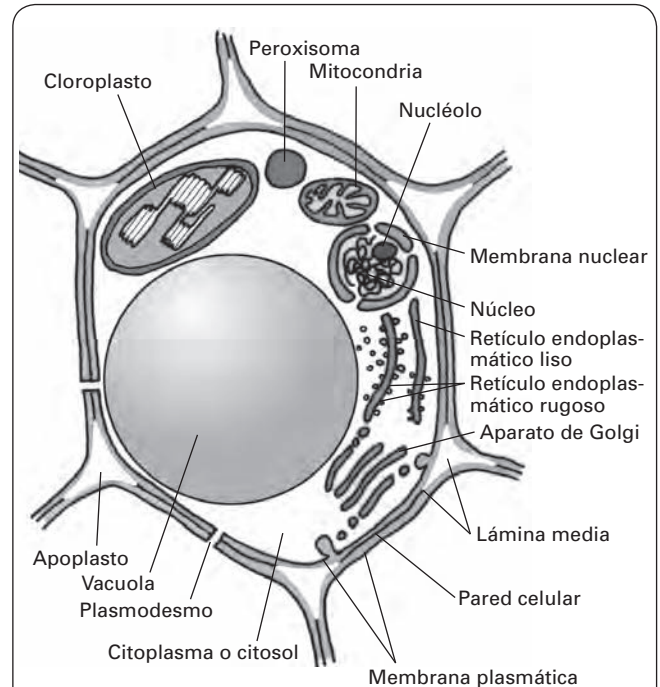


Figura 1-1. Representación esquemática de una célula del parénquima de una planta.

CUADRO 1-1. Definiciones de algunos términos utilizados para describir los componentes celulares.

Término	Definición
Protoplasto	Contenido de la célula, excluida la pared celular
Apoplasto	Espacio externo a la membrana plasmática donde se encuentra la pared celular y que puede presentar continuidad en el seno del tejido
Protoplasma	Material vivo en el interior del protoplasto
Orgánulos	Estructuras rodeadas por una o dos membranas presentes en el interior del protoplasto
Citoplasma	Protoplasma, excluidos los orgánulos
Simplasto	Espacio constituido por el citoplasma de las distintas células que presenta continuidad a través de los plasmodesmos
Inclusiones	Estructuras presentes en el citoplasma que no están rodeadas por una membrana
Citosol	Fase acuosa del citoplasma, excluido el material particulado (inclusiones)

partimientos con funciones diferentes y separados entre sí por membranas. La membrana plasmática establece la primera división en compartimentos: por una parte el protoplasma, tradicionalmente identificado con el interior de las células; por otra, el espacio externo o **espacio extracelular**, aunque no parece adecuado contemplar este espacio como algo externo a la célula porque, aunque en principio presenta continuidad en el seno del tejido y sirve como vía de

difusión de diversas sustancias, posee estructuras (como la pared celular) y sistemas enzimáticos cuya síntesis depende de las células, además de cumplir funciones esenciales para éstas (crecimiento, modificación de ciertos nutrientes, reacciones defensivas, etc.). Por ello, el espacio extracelular debe describirse como un compartimiento más de las células, con la peculiaridad de que se prolonga en el de las células adyacentes, recibiendo el nombre de **apoplasto**.

Por otra parte, el espacio rodeado externamente por la membrana plasmática, el protoplasma, no aparece siempre como un espacio individualizado e independiente de las células contiguas, sino que puede estar interconectado a través de los **plasmodesmos**, lo que origina un compartimiento continuo que recibe el nombre de **simplasto**. A su vez, el protoplasma está subdividido en distintos compartimientos separados del citoplasma por membranas dobles o sencillas, que constituyen los orgánulos (núcleo, plastos, mitocondrias, retículo endoplasmático, aparato de Golgi, vacuolas y microsomas), cada uno de ellos con funciones específicas.

Los distintos orgánulos se estudiarán en capítulos posteriores; en éste nos centraremos en dos aspectos de las células que son básicos para entender los numerosos procesos fisiológicos que tienen lugar en las plantas: las membranas y su papel en la compartimentación celular (apartado 3) y la pared celular, que confiere características únicas a las células de las plantas (apartado 4).

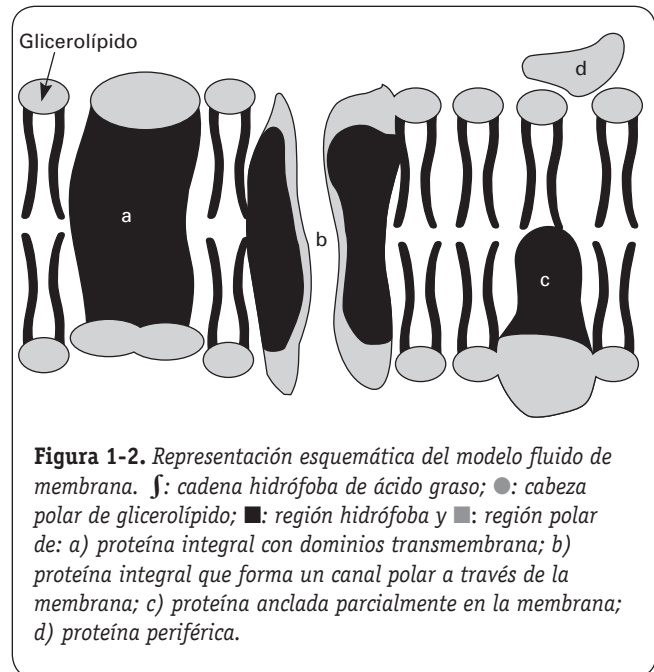
3. LAS MEMBRANAS SON LA BASE DE LA COMPARTIMENTACIÓN CELULAR

Las membranas son componentes esenciales de las células, pues permiten su autonomía respecto al medio en que se encuentran, así como la existencia de distintos compartimientos en su interior. El modelo de mosaico fluido propuesto por Singer y Nicholson, y ampliamente aceptado en nuestros días, establece que las membranas están constituidas por una bicapa lipídica en la que las proteínas pueden estar tanto embebidas en dicha bicapa como asociadas a su superficie (Fig. 1-2).

3.1. Los lípidos de membrana son anfipáticos

Los glicerolípidos polares son los principales constituyentes de las membranas de las células vegetales. Están formados por dos cadenas de ácidos grasos esterificados a dos de los grupos hidroxilo del glicerol. El tercer hidroxilo sirve de unión a distintos grupos que confieren cierta polaridad a la molécula: azúcares (**glicolípidos**) y ésteres fosfato (**fosfolípidos**) (Fig. 1-3). Los esteroides (como el sitosterol, el estigmasterol, el colesterol, etc.), aunque minoritarios, también son componentes de las **membranas vegetales**.

La bicapa lipídica está constituida por lípidos polares que presentan una cabeza polar y una cola hidrófoba. Esta característica les permite formar bicapas lipídicas en las que las colas hidrófobas de los ácidos grasos se mantienen



unidas, mientras que las cabezas polares se orientan hacia la fase acuosa (Fig. 1-2).

3.2. Las proteínas originan dominios específicos en las membranas

Las proteínas presentes en las membranas biológicas se pueden clasificar, según el tipo de asociación que presenten, en: a) **proteínas integrales**, atrapadas físicamente en la fase lipídica y que sólo podrán solubilizarse mediante tratamientos que disuelvan dicha fase lipídica; b) **proteínas periféricas**, ligadas iónicamente a los grupos polares de los lípidos, y que pueden liberarse fácilmente mediante tratamientos con soluciones de mayor o menor fuerza iónica, y c) **proteínas ancladas** en la membrana a través de ácidos grasos o cadenas prenil. La estructura química y la distribución espacial de las cadenas laterales de los distintos restos aminoacil que constituyen la cadena peptídica determinan no sólo las propiedades fisicoquímicas de la proteína, sino también la aparición en ella de regiones con características específicas. Así, regiones enriquecidas en aminoácidos con cadenas laterales no polares (alanina, leucina, triptófano, etc.) darán lugar a la aparición de dominios hidrófobos que permiten su anclaje en la membrana. De la distribución y la extensión de dichos dominios hidrófobos dependerá la localización de las proteínas en la membrana (Fig. 1-2). Así, los dominios hidrófobos con 20-22 restos aminoacídicos a menudo se extienden desde una superficie hasta la otra, constituyendo un dominio transmembrana. En cambio, las proteínas sin dominios hidrófobos pero con dominios cargados eléctricamente podrán asociarse a los grupos polares de los lípidos de membrana para constituir las proteínas periféricas.

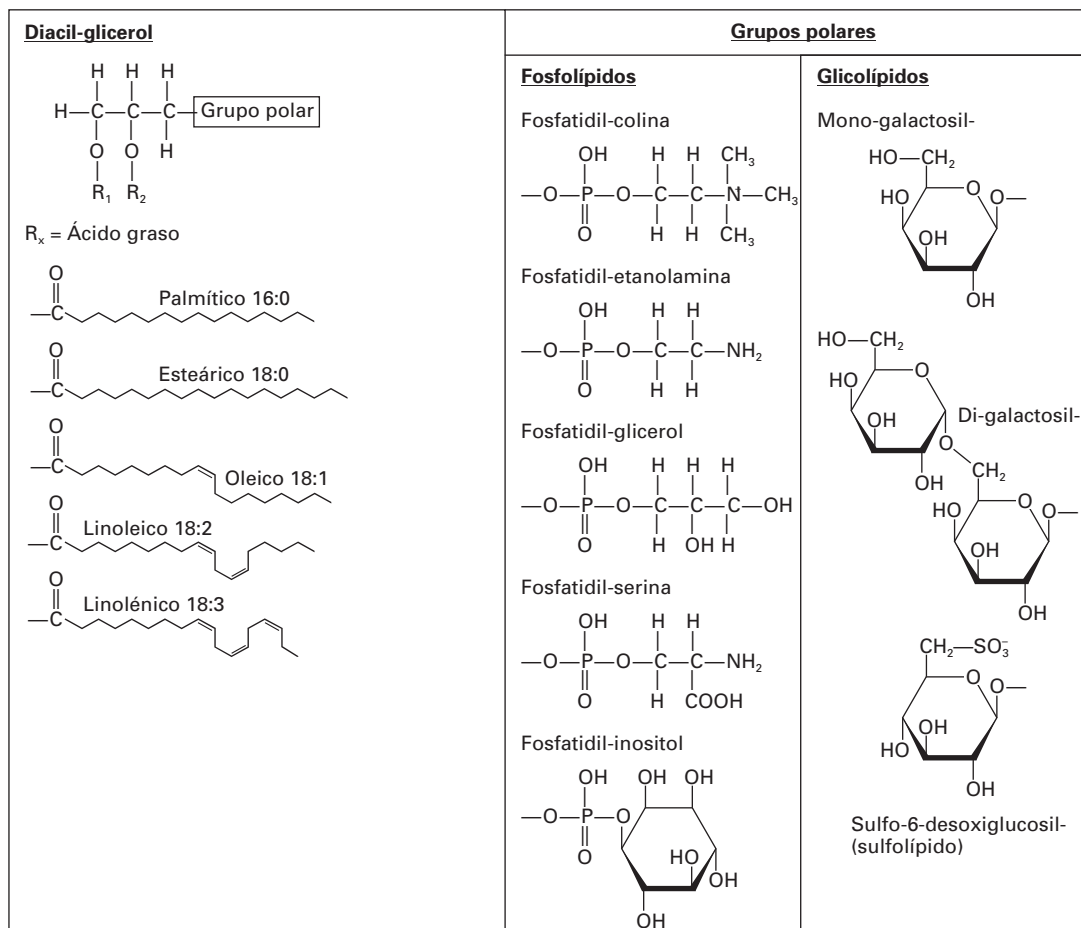


Figura 1-3. Estructura química de los glicerolípidos más frecuentemente hallados en las membranas de las células de las plantas.

Las proteínas de membrana participan en numerosas funciones: transporte, señalización, conexión entre el citoesqueleto y la pared celular, reacciones bioquímicas, y otras. La dotación proteica de cada membrana determina no sólo la función de cada una de ellas, sino también la del compartimiento que delimitan. Las proteínas involucradas en el transporte a través de membranas, transportadores primarios y secundarios, así como los canales, serán estudiados en los Capítulos 7 y 15).

3.3. La fluidez de las membranas depende de la insaturación de los ácidos grasos

Las cadenas hidrófobas de los ácidos grasos que constituyen la fase hidrófoba de las membranas tienen propiedades de gel o de líquido, dependiendo de la temperatura. A bajas temperaturas estarán en fase gel, y a medida que la temperatura aumente se producirá la transición hacia la fase líquida. La temperatura a la que se produce la transición gel-líquido recibe el nombre de temperatura de cambio de fase (T_c). La funcionalidad de las membranas biológicas requiere una cierta fluidez que permita el movimiento transversal y lateral no sólo de las moléculas lipídicas, sino también de

una serie de sustancias: proteínas transportadoras, sustratos y productos de las enzimas asociadas a las membranas, transporte de electrones, etc. Por ello, es necesario que las membranas biológicas se encuentren a una temperatura superior a su T_c . Este requisito tiene gran importancia en cuanto a la sensibilidad o resistencia de las plantas a las bajas temperaturas (véase el Capítulo 29). La T_c depende de la estructura de las cadenas de los ácidos grasos, así como de su disposición relativa en la unión a la molécula de glicerol. La aparición de dobles enlaces en *cis* en las cadenas de los ácidos grasos (véase la Fig. 1-3) provoca dobleces en la cadena y disminuye su grado de empaquetamiento, lo que hace que su T_c sea menor y permite mantener la **fluidez de las membranas** a temperaturas más bajas. Si tenemos en cuenta que las plantas son organismos poiquiloterms, esto es, que no pueden regular su propia temperatura, el aumento de la insaturación de los ácidos grasos de sus membranas catalizado por las **desaturasas** les permitirá mantener la funcionalidad (fluidez) de sus membranas a temperaturas ambiente relativamente bajas. Así, mediante técnicas de ingeniería genética se ha logrado aumentar la tolerancia de plantas de tomate a bajas temperaturas incrementando la proporción de ácidos grasos insaturados en sus membranas.

3.4. Las membranas son impermeables a las sustancias polares

La fase hidrófoba constituida por las colas de los ácidos grasos establece una barrera a la difusión de las sustancias polares que separa la fase acuosa en dos, una a cada lado de la membrana. En términos generales, la permeabilidad de las membranas está relacionada con el coeficiente de partición de las distintas sustancias entre la fase lipídica y la fase acuosa. La fase lipídica hidrófoba confiere a las membranas cierta impermeabilidad frente a las moléculas polares, lo que hace necesario que existan mecanismos relativamente específicos para su transporte que sean susceptibles de regulación (véase el Capítulo 7). Así, los distintos compartimientos separados por membranas podrán mantener ambientes químicos diferentes para poder llevar a cabo los distintos procesos metabólicos. Además, este ambiente hidrófobo proporciona el medio adecuado para que tengan lugar reacciones en las que participan conjuntamente lípidos y moléculas no hidrófobas (proteínas), como, por ejemplo, las cadenas de transporte de electrones (véanse los Capítulos 9, 10 y 14).

El tráfico y la compartimentación de solutos en las células necesita energía, la cual se acumula en las membranas como resultado de la actividad de bombas iónicas primarias que transforman la energía metabólica (ATP, NAD(P)H, pirofosfato) en gradientes «transmembrana» de potencial electroquímico (véase el Capítulo 7). En las células animales, esta función principalmente corresponde a la bomba $\text{Na}^+\text{-K}^+$. Las plantas, sin embargo, tienen como bomba primaria en el plasmalema una bomba de protones, **$\text{H}^+\text{-ATP hidrolasa}$** , cuya distribución es tan universal y tan característica de las células de las plantas como lo es la bomba $\text{Na}^+\text{-K}^+$ en las células animales. La energía acumulada en el plasmalema por la $\text{H}^+\text{-ATPasa}$ es la principal responsable de la incorporación y retención de iones y otros solutos dentro de las células. Por tanto, esta bomba de protones participa en procesos tan importantes como la absorción de agua y nutrientes minerales, los movimientos estomáticos y foliares, el transporte de asimilados y hormonas, y otros (véanse los Capítulos 3, 5, 7, 19 y 24). La pared celular (véase el apartado 4) impide el agrandamiento de la célula, debido a la absorción y retención de agua mediante fuerzas osmóticas, y es por ello imprescindible en la generación de turgencia (véase también el Capítulo 2). Como puede observarse, las células vegetales resuelven sus problemas osmóticos mediante procedimientos mecánicos, a diferencia de las animales, que regulan su potencial osmótico intercambiando iones.

3.5. Las membranas presentan asimetría

La distribución de las proteínas depende de las interacciones entre sus dominios específicos y las cadenas hidrófobas de los ácidos grasos, y también de los grupos polares de los lípidos de las membranas. La extensión de los dominios hidrófobos de las proteínas les permite una mayor o menor

penetración en la bicapa lipídica, lo cual determina las distintas localizaciones en el interior de la membrana de las diferentes proteínas. Mediante diversas técnicas (criofractura, utilización de sondas no permeantes, etc.), se ha podido demostrar **asimetría en las membranas**, esto es, la existencia de diferencias entre sus dos mitades, externa e interna. Esta asimetría no sólo se refiere a las proteínas, sino también a los lípidos. Así, en los tilacoides de cloroplastos de la espinaca, el monogalactosildiacilglicerol está localizado mayoritariamente en la mitad externa, mientras que el digalactosildiacilglicerol lo está en la interna. Al igual que en las membranas de las células animales, en las membranas de las plantas también se han identificado agregados resistentes a los detergentes, que reciben el nombre de «rafts». Se ha afirmado que presentan microdominios rígidos transitorios formados por lípidos (principalmente esfingolípidos y esteroides) altamente empaquetados y proteínas. Su función no está aún dilucidada, pero podrían estar implicados en la asociación transitoria de receptores y, por tanto, en la señalización (Martin, S.W. y cols. *Trends in Plant Science* 10:263-265, 2005).

3.6. Las membranas difieren en su composición

Aunque todas las membranas de las células tienen la misma estructura básica, presentan distintas proporciones de proteínas y lípidos, así como diferentes tipos de lípidos y proteínas. Si tenemos en cuenta que las diversas membranas de las células tienen funciones catalíticas y de transporte diferentes, parece lógico que no sólo presenten distinta relación proteína/lípidos, sino también diversos tipos de polipéptidos según sus funciones específicas. Pero no son éstas las únicas diferencias entre las membranas; también varía su composición lipídica, tanto en el tipo de lípidos como en el grado de insaturación de los ácidos grasos (Cuadro 1-2). Así, mientras que las membranas mitocondriales están enriquecidas en fosfolípidos, las cloroplásticas lo están en glicolípidos (principalmente galactolípidos) (véase el Capítulo 9). En general,

CUADRO 1-2. Composición lipídica relativa (%) de las membranas vegetales.

	Lípidos neutros y esteroides	Glicolípidos	Fosfolípidos	Índice de insaturación ^a
M. plasmática	50	1	49	144
Mitocondria				
m. externa	0		99	156
m. interna	0		99	186
Cloroplasto				
m. externa		56	29	94 ^b
m. interna		84	13	
tilacoide		83	17	263
Tonoplasto	18	31	51	

^a Representa el número de dobles enlaces en 100 restos de ácidos grasos.

^b Corresponde a las dos membranas de la cubierta del cloroplasto.

cuanto mayor sea la fluidez de las membranas, mayor será la actividad metabólica en su fase hidrófoba.

3.7. Las membranas permiten que se establezcan distintos compartimientos en las células

El sistema de membranas de las células, al separar distintas fases acuosas, establece diferentes compartimientos en las células: citoplasma, espacio interno de los orgánulos y apoplasto. Por eso, y porque existen mecanismos específicos de transporte para cada sustancia según el tipo de membrana, las concentraciones de metabolitos en los distintos compartimientos son diferentes, estableciendo ambientes químicos especializados en los que tendrán lugar las diversas vías metabólicas. Un caso destacable es la vacuola, que ocupa un volumen considerable de las células vegetales. Al igual que el plasmalema, el tonoplasto acumula energía debido a la actividad de dos bombas primarias de protones, una ATPasa y una pirofosfatasa, lo que confiere al lumen vacuolar su carácter ácido característico. Dicha energía se utiliza en el transporte de solutos a través de distintos sistemas de transporte (véase el Capítulo 7). La estructura y funciones de cada uno de los compartimientos celulares serán objeto de estudio en capítulos posteriores. El Cuadro 1-3 resume los compartimientos subcelulares de una célula típica del

CUADRO 1-3. Volumen relativo de los principales compartimientos de una célula del mesófilo de hojas de espinaca.

Compartimiento	Volumen relativo (%)	Algunas de las funciones más características
Vacuola	57.2	Mantenimiento de la turgencia celular
Cloroplasto	21.3	Fotosíntesis
Citosol	4.5	Metabolismo de azúcares, síntesis de sacarosa
Mitocondria	0.7	Respiración celular
Núcleo	0.4	Material genético, replicación y transcripción
Retículo endoplasmático		Procesado y transporte de proteínas
Aparato de Golgi		Síntesis de polisacáridos estructurales no celulósicos
Peroxisomas		Destoxificación fotorrespiratoria del glicolato
Glioxisomas		β -oxidación de ácidos grasos, ciclo del glioxilato
Apoplasto	16.0	Reacciones que modifican la pared celular

(Adaptado de Winter y cols., *Planta* 193:530-535, 1994.)

mesófilo fotosintético. La división de la célula en pequeños compartimientos también puede servir para alcanzar altas concentraciones de metabolitos sin necesidad de producir grandes cantidades del metabolito en cuestión.

3.8. El sistema endomembranoso se extiende por toda la célula

Aunque las membranas delimitan distintos compartimientos celulares, éstos no pueden considerarse completamente independientes. El sistema endomembranoso contiene orgánulos membranosos que intercambian moléculas por difusión lateral a través de la continuidad de las membranas o mediante el transporte de vesículas. El retículo endoplasmático es el componente más extenso del sistema: forma una red tridimensional que va desde la membrana nuclear hasta la membrana plasmática, estableciendo conexiones con los distintos orgánulos y estructuras celulares. Además, el aparato de Golgi y las vacuolas también forman parte del sistema. El transporte de sustancias en el sistema endomembranoso es bidireccional: desde el retículo endoplasmático hacia el aparato de Golgi y las vacuolas o la membrana plasmática (ruta secretora), o bien en sentido opuesto, normalmente reciclando las sustancias hacia sus lugares de origen. El transporte de sustancias a través de vesículas exige la cooperación de una serie de proteínas que señalizan el lugar de formación de las mismas (p. ej., proteínas COP, clatrina), así como su destino (p. ej., proteínas SNARE), y de proteínas del lugar de destino, que participan en su reconocimiento.

3.9. Las membranas no se forman *de novo*

Los componentes de las membranas se sintetizan en compartimientos concretos de la célula incorporándose posteriormente a las membranas preexistentes, generalmente del retículo endoplasmático desde donde son dirigidas a su destino final (Fig. 1-4). Los ácidos grasos se sintetizan por adición sucesiva de fragmentos de 2 carbonos procedentes del acetyl-CoA. Su síntesis requiere un número relativamente alto de reacciones, 48 reacciones y al menos 12 proteínas diferentes pueden ser necesarias para la síntesis de un ácido graso de 18 carbonos. En el caso de las células animales y de las levaduras, esas reacciones las lleva a cabo un complejo enzimático multifuncional. Sin embargo, en los procariontes y en las plantas cada reacción está catalizada por proteínas aisladas que pueden desligarse fácilmente de las otras actividades. En las plantas, su síntesis está localizada exclusivamente en los plastos, y el acetyl-CoA necesario se obtiene a partir del piruvato o del acetato, que pueden proceder del propio metabolismo plastidial o ser importados del citosol, dependiendo de las condiciones funcionales. Los productos de la síntesis en los plastos serán ácidos grasos de 16 ó 18 carbonos (16:0 y 18:0).

Una vez sintetizados en los plastos, los ácidos grasos pueden sufrir modificaciones, aumentando su insaturación o

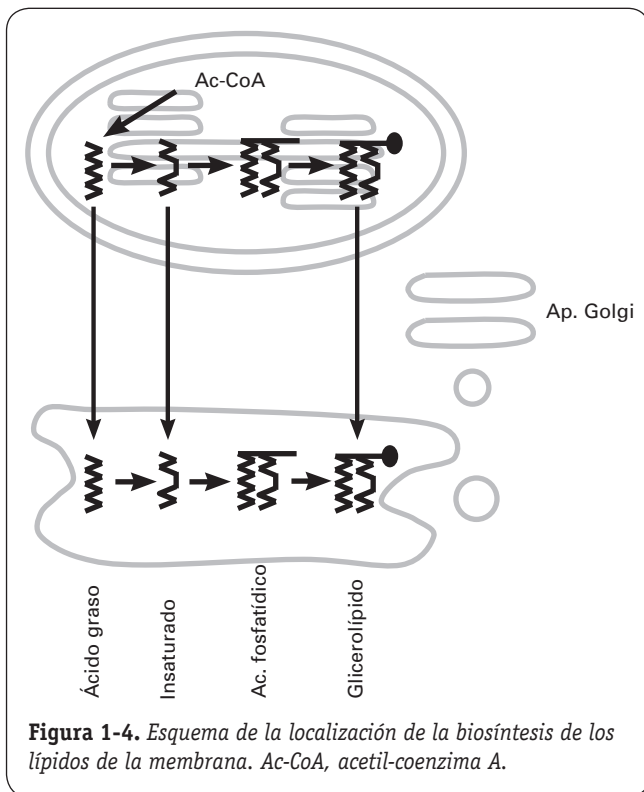


Figura 1-4. Esquema de la localización de la biosíntesis de los lípidos de la membrana. Ac-CoA, acetil-coenzima A.

alargando su cadena para, finalmente, dar lugar a la formación de los glicerolípidos e incorporarse a las distintas membranas. La insaturación en las cadenas de los ácidos grasos se produce por la acción de desaturasas específicas. En las plantas se han identificado dos tipos de desaturasas: las estearil-ACP desaturasas plastidiales solubles y las asociadas a membranas. Estas últimas están presentes como proteínas integrales de las membranas plastidiales y del retículo endoplasmático. El control del grado de insaturación en los ácidos grasos a través de la regulación de las desaturasas es de gran importancia para la adaptación de las plantas a las bajas temperaturas. En resumen, en las plantas los ácidos grasos son sintetizados en los plastos, y la formación de dobles enlaces en *cis* tiene lugar tanto en los plastos como en el retículo endoplasmático. Esto implica, necesariamente, su translocación desde los plastos hasta el retículo endoplasmático. Como los ácidos grasos son moléculas de naturaleza hidrófoba, su paso desde los plastos hasta el retículo endoplasmático requerirá estructuras específicas que lo hagan posible. Aunque no se excluye la participación de vesículas, para la transferencia de lípidos parece más probable que participen proteínas específicas. Desde la década de 1970, en que se descubrió la existencia de proteínas que facilitaban *in vitro* la transferencia de fosfolípidos en las plantas, se ha postulado que ese papel también lo ejercerían *in vivo*; no obstante, esa hipótesis todavía no está perfectamente establecida. Se trata de proteínas de pequeño tamaño (9-10 kDa), con una alta homología, y que presentan una cavidad hidrófoba en la que puede alojarse la molécula que se va a transportar, los fosfolípidos, los galactolípidos, los ácidos grasos o los ésteres de acil-CoA.

En cuanto a la síntesis de los glicerolípidos, en las plantas se han identificado dos rutas: la ruta procariota (plastidial) y la ruta eucariota (retículo endoplasmático). En ambos casos, los ácidos grasos sintetizados en los plastos son transferidos a una molécula de fosfoglicerato para dar lugar al ácido fosfatídico, que a su vez dará lugar a los distintos glicerolípidos. El tipo de lípidos sintetizados en cada una de las rutas difiere según las especies. Mientras que los galactolípidos sólo se sintetizan en los plastos, los esfingolípidos únicamente se sintetizan, al parecer, en el retículo endoplasmático. De todas formas, una vez sintetizados pueden ser transferidos del plasto al retículo y del retículo a los plastos o a otros compartimientos del sistema membranoso. Esta transferencia desde el retículo hacia el aparato de Golgi o hacia otros compartimientos membranosos parece tener lugar mediante la formación de vesículas y la posterior fusión de membranas utilizando el sistema de señalización antes citado.

4. LA PARED CELULAR PERMITE LA SUPERVIVENCIA EN AMBIENTES HIPOTÓNICOS

A diferencia de las células desnudas de los organismos animales, las células provistas de pared celular no necesitan un ambiente isotónico para sobrevivir. La **pared celular** les permite acumular solutos en su protoplasto en concentraciones mayores de las que existen en el medio externo (apoplasto). En estas condiciones, el agua tenderá a entrar en el protoplasto por ósmosis (véase el Capítulo 2), provocando un aumento de volumen por la elasticidad de la membrana plasmática. El aumento de volumen está limitado por la pared celular, la cual, debido a su resistencia mecánica, ejerce una presión sobre el protoplasto que equilibra los potenciales hídricos entre la célula y el medio externo.

Aunque la pared celular es una estructura común a todos los organismos del reino vegetal, su composición varía entre especies, entre tejidos de una misma especie y entre células. En la célula vegetal, la pared se va depositando como una serie de capas. Así, durante la división celular se deposita la primera capa, originando la **lámina media**, formada fundamentalmente por polisacáridos pécticos, que mantiene la unión entre las células adyacentes. Entre la lámina media y la membrana plasmática se sigue depositando el material que va a constituir la pared celular. Una vez que la placa celular está completa, se deposita en las células hijas el material que constituye la **pared celular primaria**, de escaso grosor (0.1-1.0 μm). Las paredes primarias son de gran importancia en el proceso de extensión o expansión celular, pues controlan el crecimiento (véanse el apartado 4.4 y los Capítulos 18 y 19). En algunos tipos de células especializadas, una vez que dejan de crecer se depositan nuevas capas de material en la cara interna de la pared, constituyéndose así la **pared secundaria**, más gruesa que la primaria.

La pared celular es una estructura sumamente organizada, formada por una red tridimensional de microfibrillas de celulosa embebida en una matriz constituida por polisacári-

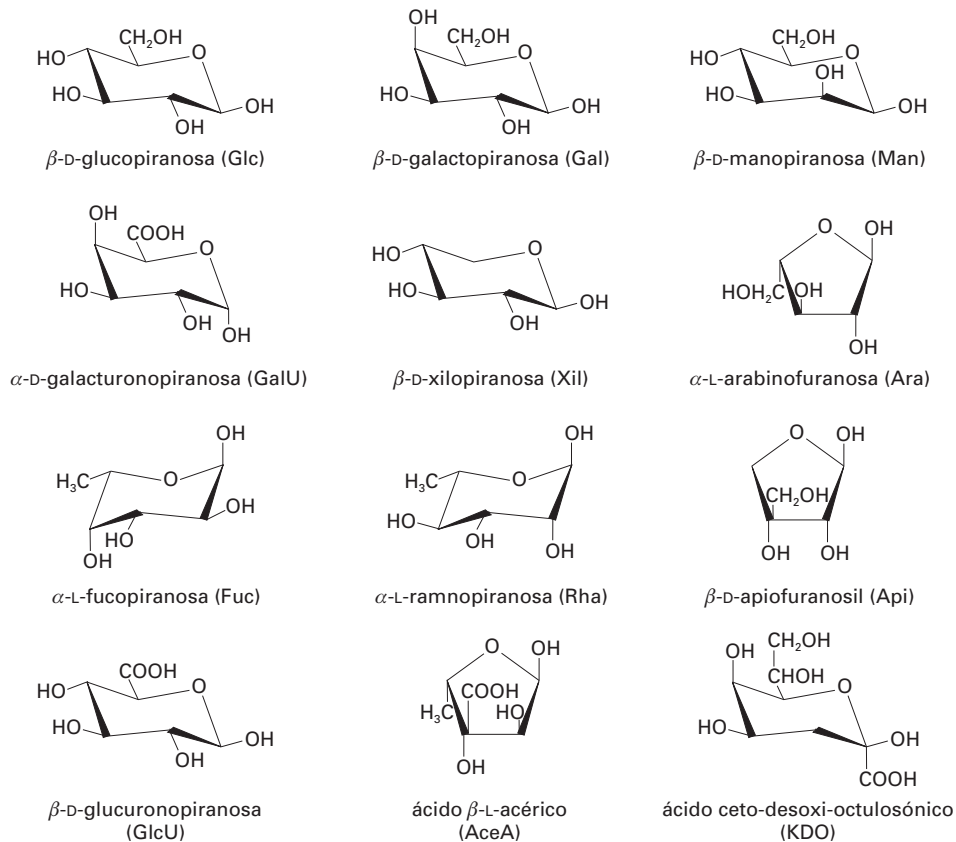


Figura 1-5. Estructura de los principales monosacáridos que aparecen con más frecuencia en las paredes celulares.

dos (hemicelulosas y pectinas), proteínas y fenoles en una solución ligeramente ácida. Pese a lo que su nombre sugiere, no se trata de una estructura estática, sino de un compartimiento metabólico dinámico, y mantiene continuidad molecular con la membrana plasmática y el citoesqueleto.

La pared tiene una gran resistencia mecánica y define el tamaño y la forma de la célula, al controlar en gran parte el crecimiento celular (véase el Capítulo 18). Desempeña también un papel importante en la defensa de las plantas frente a organismos potencialmente patógenos, al actuar como

barrera física y como fuente de moléculas con actividad biológica (oligosacarinas), implicadas en el control de los mecanismos de defensa (véanse los Capítulos 22 y 29).

4.1. Los polisacáridos son los componentes mayoritarios de las paredes

Muchas de las características fisiológicas y morfológicas de los tejidos vegetales se deben a las propiedades de las pa-

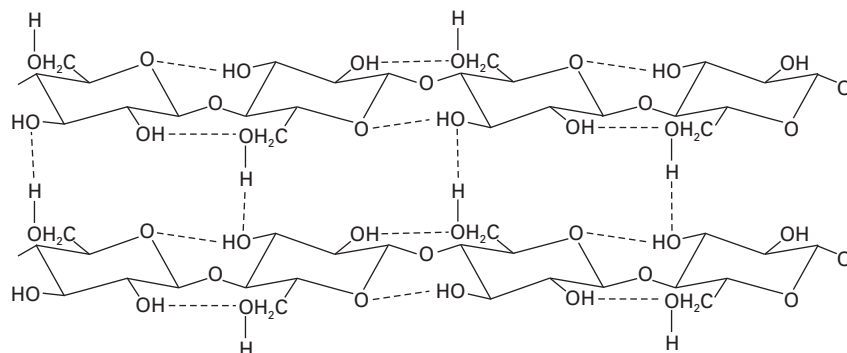


Figura 1-6. Conformación de las cadenas de $\beta(1\rightarrow4)$ -D-glucano de las microfibrillas de celulosa que muestra los puentes de hidrógeno intramoleculares e intermoleculares (líneas de puntos).

redes de sus células; por eso, las células que realizan diferentes funciones tienen paredes con distinta composición y estructura. Pero, en general, podemos considerar que una pared celular mayoritariamente está formada por polisacáridos (celulosa, hemicelulosas y pectinas), que constituyen alrededor del 90% del peso seco de las paredes celulares primarias y entre el 65 y el 85% de las secundarias. En la Figura 1-5 se detallan los azúcares que constituyen dichos polisacáridos y sus estructuras más frecuentes. Las proteínas, tanto estructurales como enzimáticas, constituyen hasta un 10% del peso seco de las paredes, mientras que las ligninas pueden representar una proporción importante (hasta un 35%) en algunos tipos de paredes secundarias.

4.1.1. La celulosa constituye la fase fibrilar de las paredes celulares de todas las plantas

La **celulosa** está constituida por una larga secuencia lineal de restos de D-glucosa unidos por enlaces $\beta(1\rightarrow4)$ (Fig. 1-6). Cada resto presenta una rotación de 180° respecto a los restos contiguos, estabilizada por puentes de hidrógeno intramoleculares. El grado de polimerización medio en las paredes secundarias es alto, aproximadamente 10^4 , mientras que en las paredes primarias es más bajo, entre 2.6 y 6×10^3 . Debido a su estructura, las cadenas de celulosa (40-70) se unen por puentes de hidrógeno intermoleculares formando agregados (**microfibrillas**), en su mayor parte cristalinos, en los que las cadenas individuales de celulosa se disponen de forma paralela. Las microfibrillas están separadas entre sí unos 30 nm; ese espacio está ocupado por los polisacáridos matriciales y por lignina o suberina, lo que confiere gran resistencia mecánica a la pared. Las microfibrillas de celulosa están presentes en las paredes de todas las plantas superiores, y constituyen el 30-40% del peso de las paredes de los tejidos leñosos, mientras que en las paredes primarias se encuentran en menor proporción.

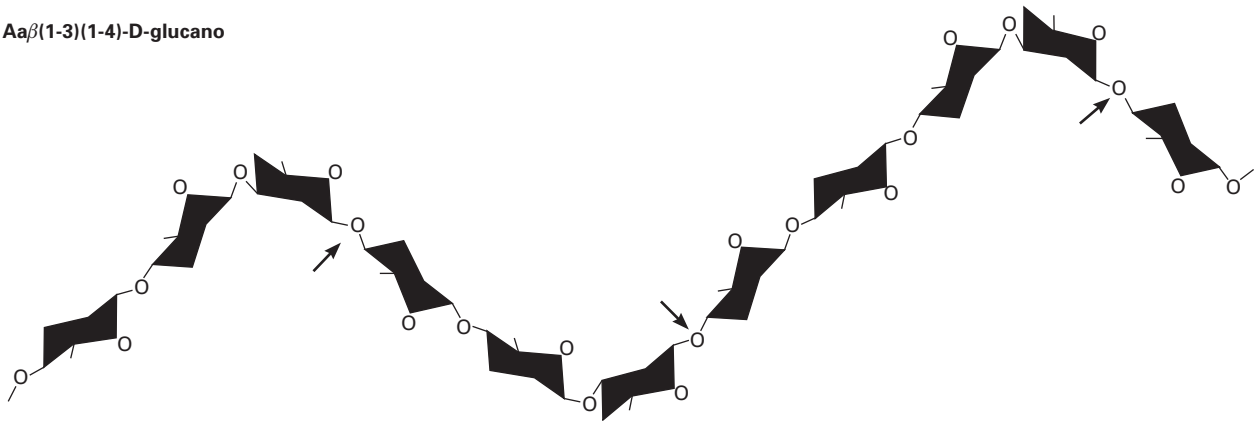
4.1.2. Las hemicelulosas entrelazan las microfibrillas de celulosa

Los polisacáridos hemicelulósicos están constituidos por una cadena lineal relativamente larga sobre la que pueden aparecer cadenas laterales cortas. En la mayoría de las plantas, excepto en las gramíneas, el **xiloglucano** es el polisacárido no celulósico más abundante, aunque presenta unidades estructurales diferentes en las distintas especies y tejidos. Está constituido por un eje central de $\beta(1\rightarrow4)$ glucano idéntico al de la celulosa, pero bastante más corto. A diferencia de ésta, gran parte de los restos de glucosa están unidos a restos de xilosa mediante un enlace $\alpha(1\rightarrow6)$ (Fig. 1-7). Estas sustituciones suelen disponerse ordenadamente, de manera que pueden clasificarse como tipo «XXXG» o «XXGG», dependiendo del número de restos de glucosa que tengan enlazado

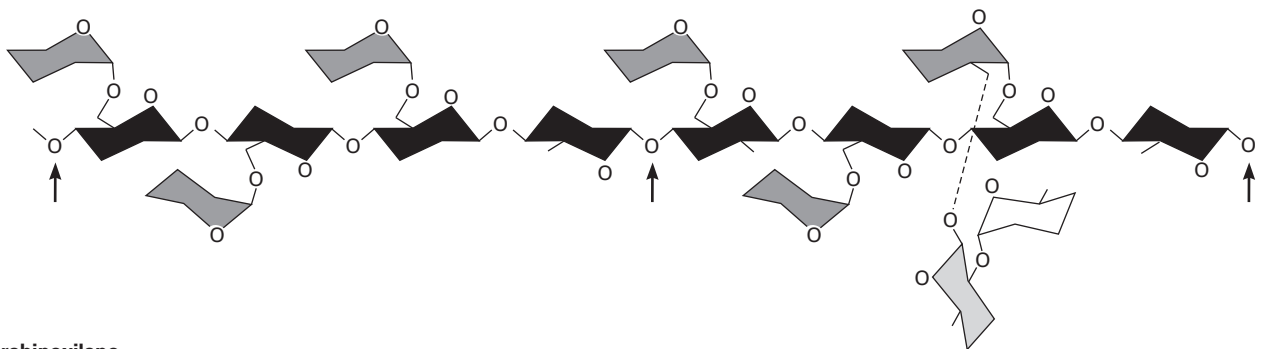
un resto de xilosa. A su vez, parte de los restos de xilosa pueden llevar unidos al C-2 cadenas laterales de β -D-galactosa o, en menor proporción, de L-fucosa- $\alpha(1\rightarrow2)$ -D-galactosa. Las variaciones específicas del xiloglucano en las distintas especies son evidentes en las *Asteridae*, subclase de dicotiledóneas que engloba las familias *Solanaceae* y *Oleaceae*, las cuales producen xiloglucano con poco o nada de fucosa. En las especies examinadas hasta la fecha, el xiloglucano de las *Oleaceae* tiene una estructura de tipo XXXG, mientras que el de las *Solanaceae* es de tipo XXGG. En ambos casos, los restos de xilosa se encuentran sustituidos de forma predominante por α -L-arabinosa-(1 \rightarrow 2)- o α -L-arabinosa-(1 \rightarrow 2)- y β -D-galactosa-(1 \rightarrow 2)-. En todos los tipos de xiloglucano los restos de galactosa pueden estar acetilados. El hecho de que los sustituyentes estén distribuidos de una forma precisa a lo largo de la molécula indica que su síntesis está sometida a un control estricto. Las paredes celulares de las gramíneas (*Poaceae*) presentan cantidades menores de xiloglucano, con una estructura menos regular, menor contenido en xilosa y galactosa, y ausencia de fucosa.

Las cadenas de xiloglucano pueden unirse mediante puentes de hidrógeno a la celulosa y cubrir las microfibrillas con una monocapa de hemicelulosa. Teniendo en cuenta que, en la mayoría de las plantas (excepto en las gramíneas), la celulosa y el xiloglucano están presentes en la pared celular en proporciones casi iguales, sólo una parte del xiloglucano puede enlazarse directamente a la celulosa, mientras que el resto estaría situado en los espacios entre las microfibrillas, pudiendo una molécula de xiloglucano unir dos o más microfibrillas para formar la red xiloglucano-celulosa.

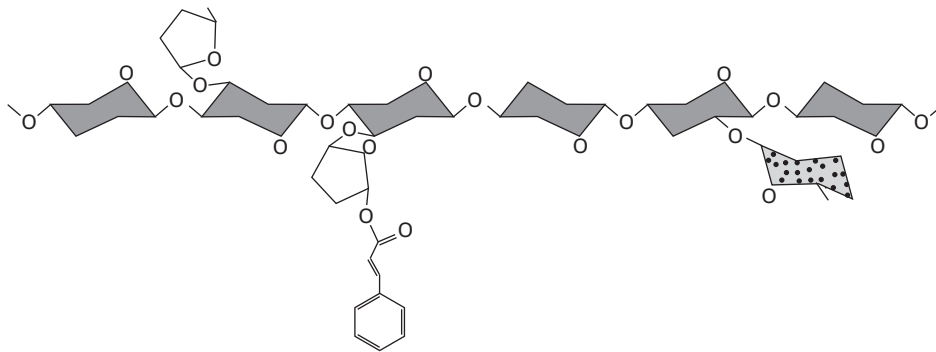
Los **xilanos** comprenden los arabinoxilanos, los glucuronoxilanos y los glucuronoarabinoxilanos. Están constituidos por una cadena lineal de $\beta(1\rightarrow4)$ -D-xilosa con sustituciones de arabinosa, ácido glucurónico y ácido metilglucurónico mediante enlaces $\alpha(1\rightarrow2)$ o $\alpha(1\rightarrow3)$ (Fig. 1-7). El tipo y la distribución de los sustituyentes son muy variables, dependiendo de su origen. En las paredes primarias de las gramíneas, donde el glucuronoarabinoxilano es el polisacárido no celulósico más abundante, presentan la estructura más compleja, con un alto contenido de arabinosa. El xilano puede unirse a las microfibrillas de celulosa y, en cierta forma, ejercer en las gramíneas el papel del xiloglucano en las dicotiledóneas. Sin embargo, las ramificaciones limitan esta unión, de modo que en las paredes primarias de las células en crecimiento de las gramíneas su cuantía es poco importante; pero como las ramificaciones disminuyen a medida que la edad de la célula aumenta, pueden cobrar más importancia en células ya maduras. Además, parte de los restos de arabinosa se encuentran unidos al ácido ferúlico, lo que posibilita la creación de enlaces entre varias cadenas de xilanos mediante puentes diferulil, cuya formación aumenta al final del crecimiento. En las paredes primarias de dicotiledóneas y monocotiledóneas no gramíneas, los xilanos aparecen en menor cantidad; sin embargo, son muy abundantes en las paredes secundarias de todas las plantas leñosas, aunque en este caso se encuentra una mayor sustitución por el ácido glucurónico o metilglucurónico.

Aa $\beta(1-3)(1-4)$ -D-glucano

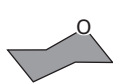
BXiloglucano



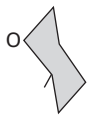
CArabinoxilano



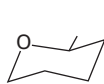
Glucosa



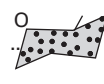
Xilosa



Galactosa



Fucosa

Ácido
glucurónico

Arabinosa

Anillo
fenólico

Figura 1-7. Estructura de los principales polisacáridos hemicelulósicos. **A.** $\beta(1\rightarrow3)(1\rightarrow4)$ -D-glucano. **B.** Xiloglucano. **C.** Glucuronoarabinoxilano. En el caso del xiloglucano, para mayor claridad del esquema se ha separado mediante una línea discontinua de mayor longitud el enlace glicosídico entre la galactosa y la xilosa de la cadena lateral. Las flechas indican los enlaces susceptibles de hidrólisis por endo- $\beta(1\rightarrow3)$, $(1\rightarrow4)$ -D-glucanasa en **A**) y endo- $\beta(1\rightarrow4)$ -D-glucanasa en **B**).

Un polisacárido característico de las paredes celulares de las gramíneas es el $\beta(1\rightarrow3)$, $\beta(1\rightarrow4)$ glucano o **glucano mixto** (Fig. 1-7). Está formado por una cadena lineal de restos de β -D-glucosa unidos por enlaces $\beta(1\rightarrow4)$ y $\beta(1\rightarrow3)$, en una relación aproximada de 2:3. La distribución de los dos tipos de enlace presenta un cierto orden, de manera que la molécula está formada por bloques de en-

laces $(1\rightarrow4)$ (2 ó 3) separados por un único enlace $(1\rightarrow3)$. Sin embargo, cada 50-80 restos pueden aparecer irregularidades en la secuencia, consistentes en una serie del orden de 10 restos contiguos unidos por enlaces $(1\rightarrow4)$.

Otros polisacáridos hemicelulósicos presentes en las paredes celulares son los **mananos**, que constituyen un grupo muy heterogéneo cuyo componente mayoritario es la ma-

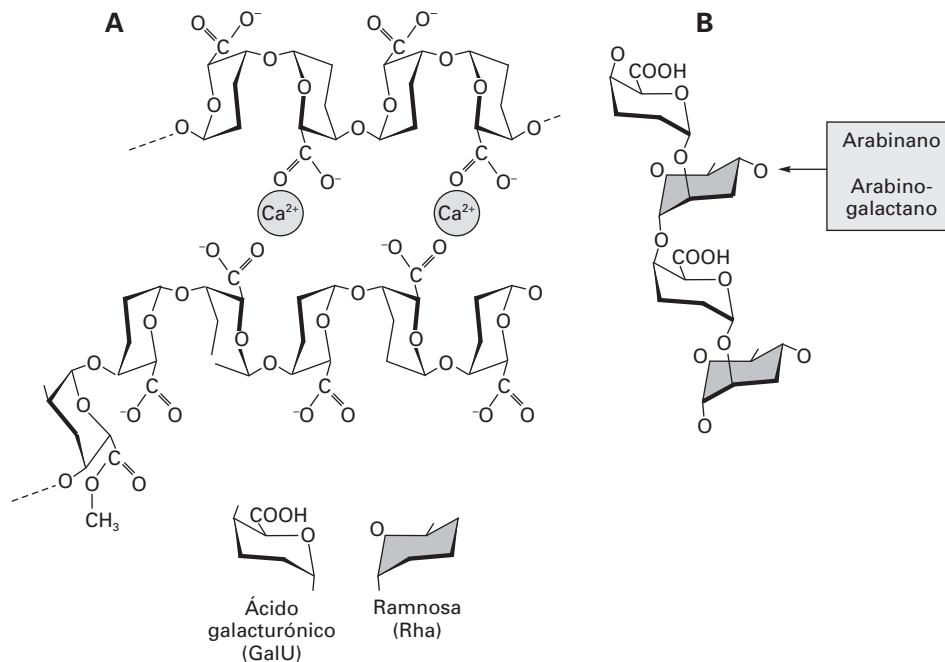


Figura 1-8. Estructura de los principales polisacáridos pécticos. **A.** Región de homogalacturonano formando puentes de calcio. **B.** Ramnogalacturonano I.

nosa. Su cadena central puede estar formada únicamente por restos de *D*-manosa unidos por un enlace $\beta(1\rightarrow4)$ o presentar restos de *D*-glucosa intercalados (glucomanos). Ambos tipos pueden presentar sustituciones de *D*-galactosa unidas por un enlace $\alpha(1\rightarrow6)$ a los restos de manosa (galactomananos y galactoglucomanos). Aunque su presencia es muy escasa en las paredes celulares primarias, los (galacto)mananos tienen importancia cuantitativa como componentes de reserva de algunas semillas, y los (galacto)glucomanos están presentes en cantidades significativas en las paredes secundarias de los tejidos lignificados de coníferas (12-15%) y, en menor cantidad, de las angiospermas (3-5%).

4.1.3. Las pectinas presentan una gran complejidad estructural

Entre los polímeros conocidos de mayor complejidad figuran los polisacáridos pécticos o **pectinas**, constituidos por una mezcla de azúcares ácidos y neutros. Se encuentran en las paredes celulares de todas las plantas, aunque su importancia cuantitativa varía: representan desde alrededor del 35% en las paredes primarias de las dicotiledóneas, hasta el 5% en las de las gramíneas. Se caracterizan por su capacidad para formar geles, y se considera que su presencia en las paredes celulares determina su porosidad y proporciona superficies cargadas que modulan el pH y el balance iónico; además, actúan como moléculas de reconocimiento de señales como las de los organismos simbióticos, los patógenos y los insectos.

Se han caracterizado tres tipos de polisacáridos pécticos: homogalacturonano, galacturonanos modificados y ramno-

galacturonano I. El homogalacturonano está constituido por restos de ácido *D*-galacturónico unidos mediante un enlace $\alpha(1\rightarrow4)$ (Fig. 1-8). Los grupos carboxilo de los restos galacturonosil pueden encontrarse esterificados con metanol o libres. Los grupos carboxilo libres pueden estar disociados y dar lugar a la formación de puentes de Ca^{2+} , que constituyen la estructura conocida como **caja de huevos** (Fig. 1-8).

El **ramnogalacturonano I** (RG I) está constituido por una cadena central formada por la secuencia repetida del disacárido $-\alpha\text{-D-galacturónico-(1}\rightarrow\text{2)-}\alpha\text{-L-ramnosa-(1}\rightarrow\text{4)}$; los puntos de anclaje de las cadenas laterales son los restos de ramnosa (Fig. 1-8). Así, entre el 20 y el 80% (dependiendo del origen y del método de extracción), puede estar unido en posición C-4 a cadenas lineales o ramificadas constituidas por *L*-arabinosa y *D*-galactosa (arabinanos, galactanos o arabinogalactanos). Dado que los restos de ramnosa se presentan con una frecuencia variable, dentro de las pectinas hay regiones mucho más ramificadas que otras. Entre los galacturonanos modificados se han identificado el ramnogalacturonano II, el xilogalacturonano y el apiogalacturonano. El **ramnogalacturonano II** (RG II) está muy conservado, a diferencia de la mayor parte de los restantes polímeros pécticos, que son muy heterogéneos. Es un polisacárido relativamente pequeño (grado de polimerización aproximado de 60) y su estructura es extraordinariamente compleja, ya que es el que presenta mayor número de azúcares y enlaces diferentes: está constituido por ácido galacturónico, ramnosa, arabinosa y galactosa, además de pequeñas cantidades de azúcares poco frecuentes, como 2-*O*-metilfucosa, 2-*O*-metilxilosa, apiosa, 3-*C*-carboxi-5-desoxi-*L*-xilosa y ácido 3-desoxi-mano-octulosónico (KDO).

A diferencia del RG I, los restos de ramnosa pueden presentar enlaces en 3, 3,4 y 2,3,4, o ser terminales. También se pueden formar enlaces con boro entre dos cadenas del RG II, a través de la apiosa; la formación de estos dímeros de RG II es esencial para el crecimiento normal de la planta. Los mutantes de *Arabidopsis thaliana* con alteraciones en la estructura del RG II que provocan la disminución de los dímeros, presentan un fenotipo enano y paredes celulares frágiles. En las paredes de los tejidos reproductores (semillas de soja y guisante, manzanas, callos de zanahoria y polen de pino) se ha hallado xilogalacturonano, un polisacárido constituido por una cadena central de α -D-galacturónico con un enlace 1 \rightarrow 4. Algunos restos de galacturónico están sustituidos en el C3 por β -xilosa. Se sabe poco acerca de su función, aunque se ha demostrado que la presencia de xilosa limita la capacidad de las endopoligalacturonasas de hongos para fragmentar la cadena central. Las paredes de algunas monocotiledóneas acuáticas, como *Lemna* y *Zostera*, contienen apiogalacturonano, cuya cadena central presenta sustituciones de β -D-apiosa y β -D-apiosa-(1 \rightarrow 3)- β -D-apiosa. Como en el xilogalacturonano, la presencia de sustituciones aumenta la resistencia del polímero a la degradación por endopoligalacturonasas microbianas.

Las pectinas de naturaleza neutra están constituidas por L-arabinosa, D-galactosa o ambas. Los **arabinanos** están formados por restos de L-arabinosa unidos mayoritariamente por un enlace α (1 \rightarrow 5), algunos unidos en 2 y 3 a otros restos de arabinosa. Los **galactanos** están formados por una cadena de β (1 \rightarrow 4)-D-galactano con algunas ramificaciones de galactosa enlazadas en 6. Puede haber sustituciones de α (1 \rightarrow 5)arabinano en proporción variable en el carbono 3 de los restos de galactosa, lo que recibe el nombre de **arabinogalactano I**. El **arabinogalactano II** es más abundante y contiene restos de D-galactosa enlazados en 3, 6 y 3,6, y de L-arabinosa enlazados en 3 y 5. Tanto la arabinosa como la galactosa pueden asociarse al ácido ferúlico mediante un enlace éster, lo que posibilita la formación de enlaces entre distintas cadenas mediante puentes diferulil por la acción de las peroxidases presentes en las paredes celulares. Como se ha indicado anteriormente, tanto los arabinanos como los galactanos y los arabinogalactanos de tipo I aparecen como cadenas laterales asociadas al ramnogalacturonano I. La mayoría de los investigadores están de acuerdo en que los polisacáridos pécticos están organizados como un gran complejo macromolecular, en el que los distintos polímeros están unidos covalentemente entre sí, aunque no existen pruebas concluyentes de los enlaces exactos.

4.1.4. Las proteínas estructurales presentan secuencias repetitivas

Las paredes celulares contienen también diferentes proteínas, tanto estructurales como enzimáticas, que llegan a constituir el 10% del peso en las paredes primarias. La mayoría de ellas son glicoproteínas, aunque el grado de glicosilación es muy variable; se caracterizan también por

la presencia de secuencias repetitivas que pueden ser compartidas entre varias. No están restringidas únicamente a la pared, sino que también forman elementos estructurales y funcionales del *continuum* membrana plasmática-pared celular, de importancia vital para la percepción de señales del medio externo. Entre las proteínas estructurales, las mejor caracterizadas son **las proteínas ricas en hidroxiprolina (extensinas)**. Estas glicoproteínas deben su nombre a la presencia de hidroxiprolina (Hyp) como aminoácido predominante (alrededor del 46 %), el cual, junto con otros cinco aminoácidos (serina, histidina, valina, tirosina y lisina), constituye más del 90% de su contenido. Están formadas por numerosas secuencias repetidas de serina-(Hyp)₄ y tirosina-lisina-tirosina, responsables de su estructura secundaria y terciaria. Los residuos de tirosina pueden formar puentes intramoleculares de isoditrosina, que aumentan la rigidez y el carácter hidrófobo de la molécula. La glicosilación de la proteína tiene lugar a través de la serina y la hidroxiprolina, de manera que la serina se encuentra unida a un resto de galactosa, mientras que la hidroxiprolina sirve de anclaje a tri o tetraarabinanos, que sirven para estabilizar la estructura de la proteína. Otras proteínas relacionadas son las proteínas ricas en prolina y las proteínas ricas en glicina. Estas últimas, a diferencia de las anteriores, no contienen secuencias ricas en prolina y no se ha observado que estén glicosiladas. Por otra parte, las gramíneas contienen proteínas ricas en treonina y proteínas ricas en histidina, similares a la extensina de las dicotiledóneas. Todas estas proteínas se presentan en diferentes cantidades en las paredes de los distintos tipos de células, por lo que se asume que en cada uno de ellos tienen funciones específicas. Aunque no hay pruebas directas de la índole de estas funciones, probablemente todas tengan importancia estructural, así como en la morfogénesis (véase el Capítulo 18). En cambio, las **proteínas-arabinogalactano** son proteínas solubles con un alto grado de glicosilación, con un 1-10% de proteína, ricas en hidroxiprolina/prolina, alanina, serina y treonina. Generalmente los restos de hidroxiprolina están sustituidos por arabinogalactanos de tipo II. La mayoría de ellas están ancladas, a veces de forma transitoria, a la membrana plasmática mediante un anclaje de glicosilfosfatidilinositol (GPI). Están codificadas por una familia multigénica, y se agrupan en distintas subclases según su composición en aminoácidos y su estructura. Su expresión está regulada espacial y temporalmente durante el crecimiento, y se les atribuyen funciones específicas durante la formación de la raíz, la promoción de la embriogénesis somática y la diferenciación del xilema en *Zinnia* y *Arabidopsis*, entre otras.

4.1.5. La diversidad de las enzimas asociadas a las paredes es una muestra de su dinamismo

Las paredes celulares contienen también diferentes tipos de enzimas que les proporcionan una intensa actividad metabólica. Prácticamente todas ellas son glicoproteínas, aunque

CUADRO 1-4. Principales tipos de enzimas asociadas a las paredes celulares.

Enzima	Sustrato	Función
Oxidorreductasas		
Peroxidasas	Tirosina (proteínas ricas en hidroxiprolina)/ H ₂ O ₂	Formación de puentes de isoditrosina
Malato deshidrogenasa	Fenil ésteres (pectinas, arabinosilano)/H ₂ O ₂	Formación de puentes difenil
NADH oxidasa	Monolignoles/H ₂ O ₂	Lignificación
Lacasas	Malato/NAD ⁺	Formación de NADH
	NADH/O ₂	Formación de H ₂ O ₂
	Monolignoles/O ₂	Lignificación
Hidrolasas		
Exo-glicanasas	Hemicelulosas y pectinas	Eliminación de monosacáridos de los extremos no reductores
Endo-glicanasas	Hemicelulosas y pectinas	Despolimerización
Pectina-metil esterasa	Poligalacturonosil metil ésteres	Desesterificación de pectinas
Transglicosilasas		
Xiloglucano endo-transglicosilasa	Xiloglucano	Extensión de la pared celular Incorporación de nuevas cadenas de xiloglucano

su grado de asociación, tipo de acción y función pueden ser muy diferentes. Todas ellas son enzimas que utilizan sustratos sencillos (O₂, H₂O₂, H₂O) compatibles con las condiciones existentes en el apoplasto, con pH óptimo entre 4.0 y 6.0. La misma actividad enzimática suele estar presente en las paredes con diferente grado de asociación; así, las mismas enzimas pueden estar solubles en el apoplasto y enlazadas a las paredes de forma iónica y covalente. Esta diversidad en el grado de asociación es un hecho generalizable a la mayoría de las enzimas de la pared, pero su significado funcional no se conoce.

El Cuadro 1-4 resume los principales grupos de enzimas presentes en las paredes. En general, se han detectado actividades enzimáticas capaces de actuar sobre prácticamente todos los componentes estructurales de las paredes celulares, incluidas las de los patógenos, así como sobre distintas sustancias presentes en el apoplasto. Si consideramos los polisacáridos estructurales, la dotación de glicanasas de las paredes sería suficiente para degradarlos casi completamente. Sin embargo, esto no ocurre *in vivo*, es decir, la regulación de su actividad es un imperativo biológico. Las pruebas experimentales sobre la regulación de dichas enzimas, la accesibilidad del sustrato, la actividad *in vivo* de las distintas formas presentes, etc., todavía son escasas y no permiten establecer un mecanismo generalizable de regulación de su actividad. En las paredes de todas las plantas se han encontrado un grupo de enzimas con actividad endotransglicosilasa (XET), hidrolasa (XEH), o ambas, frente al xiloglucano. Pertenecen a una superfamilia multigénica; en *Arabidopsis* presenta 33 genes y en el arroz se han detectado 29. Reciben el nombre genérico de xiloglucano-endo-transglicosilasas-hidrolasas (XTHs). La XTH se une a una cadena de xiloglucano que actúa como donadora (Fig. 1-9), rompiendo un enlace del interior de la cadena (modo endo), entre dos restos de glucosa (concretamente, el siguiente al resto de glucosa no sustituido), generando dos fragmentos poliméricos. El de menor tamaño contiene el extremo

reductor de la molécula original; el otro fragmento unido a la enzima será transferido a una molécula aceptora. Si la molécula aceptora es una molécula de agua, estaremos en presencia de una actividad hidrolasa (XEH). Si la molécula aceptora es otra cadena de xiloglucano, será una actividad transglicosilasa (XET).

También se han identificado quinasas asociadas a la pared (WAKs: *wall-associated kinases*) que unen físicamente la membrana plasmática a la pared celular. Se pueden encontrar unidas covalentemente a pectinas (Decreux, A. y Messiaen, J., *Plant and Cell Physiology* 46:268-278, 2005) y, al menos una isoforma, asociada a una proteína rica en glicina (GRP). Su importancia reside en su capacidad para dirigir las señales de distintos acontecimientos celulares a través de su dominio citoplasmático. Estudios funcionales sobre los distintos miembros de las WAKs han permitido demostrar que están implicadas en diversas funciones, entre ellas la resistencia a los patógenos, la tolerancia a metales pesados y el desarrollo de la planta.

En la pared celular se encuentran también las **expansinas**, proteínas de pequeño tamaño que inducen la extensión de la pared *in vitro*. Actualmente se conocen dos clases de expansinas, denominadas α y β -*expansinas* (www.bio.psu.edu/expansins/). Las α -*expansinas* están constituidas por un grupo altamente conservado y son muy activas, excepto en las gramíneas. A partir de los datos obtenidos, se les ha atribuido una función en el control de la extensión celular, y en otros procesos como la disgregación de la pared y la separación celular. Las β -*expansinas* son abundantes en el polen de las gramíneas y, a diferencia de las α -*expansinas*, son muy activas en la promoción de la extensión de las paredes de aquéllas. Se ha postulado que su función biológica puede ser la de ablandar los tejidos del estilo y el estigma, para facilitar así el progreso del polen hacia el óvulo. Sin embargo, como su presencia no está restringida a los granos de polen, no puede descartarse que actúen en otros tejidos. Las expansinas no tienen actividad enzimática

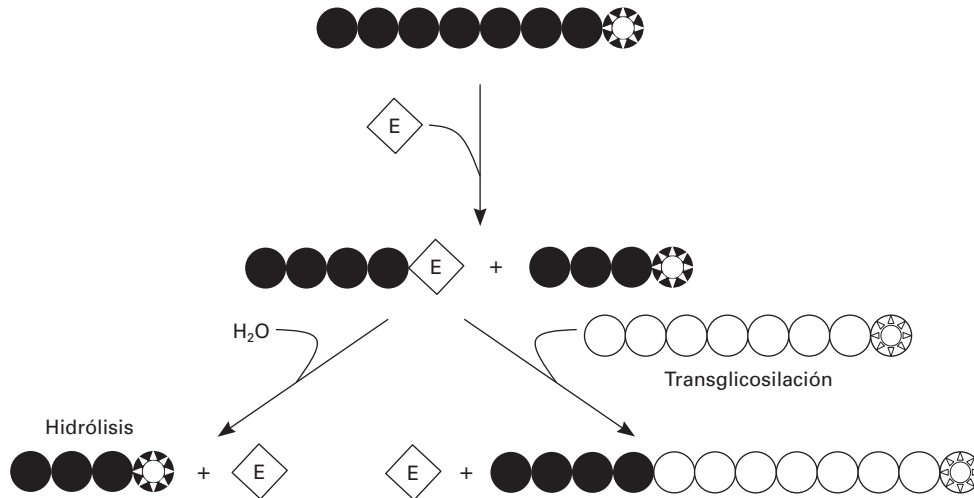


Figura 1-9. Esquema de la acción de las xiloglucano-endotransglucosilasa-hidrolasas (XTHs). E, enzima; cadenas de círculos cerrados o abiertos, cadenas de xiloglucano; círculos con una estrella en su interior, extremos reductores de las cadenas de xiloglucano. La reacción de la izquierda representa la actividad hidrolasa (XEH), mientras que la de la derecha representa la actividad transglucosidasa (XET).

conocida. Su mecanismo de acción sigue siendo un enigma, aunque se cree que pueden actuar rompiendo los enlaces de hidrógeno entre los polisacáridos de la matriz y la celulosa, permitiendo así la relajación de la pared celular. El análisis estructural de una β -expansina de maíz cristalizada permite suponer que está unida a los polisacáridos (xilano en las gramíneas, o xiloglucano en el caso de las no gramíneas), provocando una relajación localizada del complejo polisacárido-celulosa debida a la ruptura de un cierto número de puentes de hidrógeno (Yennawar, N.H. y cols., *Proceedings of the National Academy of Sciences USA (PNAS)* 103:14664-14671, 2006).

4.1.6. La presencia de lignina proporciona mayor resistencia y rigidez a las paredes celulares

La **lignina** es un polímero complejo constituido a partir de los alcoholes aromáticos *p*-cumarílico, coniferílico y sinapílico, unidos entre sí por enlaces éster o carbono-carbono (véase el Capítulo 17). La composición monomérica, así como el tipo de enlaces entre ellos y su organización en la macromolécula, varían en las diferentes especies. La polimerización puede tener lugar mientras haya precursores activados y espacio en la pared, de manera que la molécula tiende a llenar todo el espacio de la pared no ocupado por otras macromoléculas, desplazando al agua. La estructura polimérica de la lignina no sólo se entrelaza con las microfibrillas de celulosa, sino que también se une a las hemicelulosas (arabinoxilano) y pectinas (arabinogalactano) mediante enlaces éster a través de sus restos hidroxicinámicos.

El resultado de todo ello es una red hidrófoba que rodea a los demás componentes de la pared, a la que confiere mayor resistencia tanto física como química, además de una

gran rigidez. Es especialmente abundante (20-30% del peso de la pared) en células conductoras (vasos xilemáticos) y estructurales (fibras) con engrosamiento secundario.

4.2. La estructura de las paredes es el resultado de una serie de redes poliméricas entrelazadas

La pared celular es una entidad molecular compleja, formada por distintos componentes capaces de autoensamblarse. A pesar del avance en los conocimientos sobre la pared celular producido durante los últimos 30 años, la estructura de la pared celular primaria sigue sin conocerse por completo. Después del primer modelo, elaborado por el grupo de Albersheim, los sucesivos modelos que se han ido proponiendo a medida que se iban conociendo mejor los distintos componentes de la pared, se han basado en la hipótesis de que los polisacáridos matriciales estarían unidos entre sí por enlaces covalentes, y a las microfibrillas de celulosa mediante puentes de hidrógeno a través del xiloglucano. Sin embargo, los enlaces covalentes entre hemicelulosas y pectinas no se han podido confirmar, y los modelos actuales se basan en la existencia de redes independientes, pero que interactúan: una formada por la unión de celulosa y hemicelulosas (generalmente xiloglucano y, en las gramíneas, glucuronoarabinoxilano); otra formada por polisacáridos pécticos, que estaría embebiendo a la anterior, y una tercera formada por proteínas o fenilpropanoides (Fig. 1-10). En relación con la red xiloglucano/celulosa, en los modelos que describen dicha red hay al menos dos dominios implícitos. Uno comprende las regiones de xiloglucano que no están en contacto directo con las microfibrillas e incluiría las uniones entre ellas. Un segundo dominio comprende el xiloglucano unido directamente a la superficie de las microfibrillas. Otro posi-

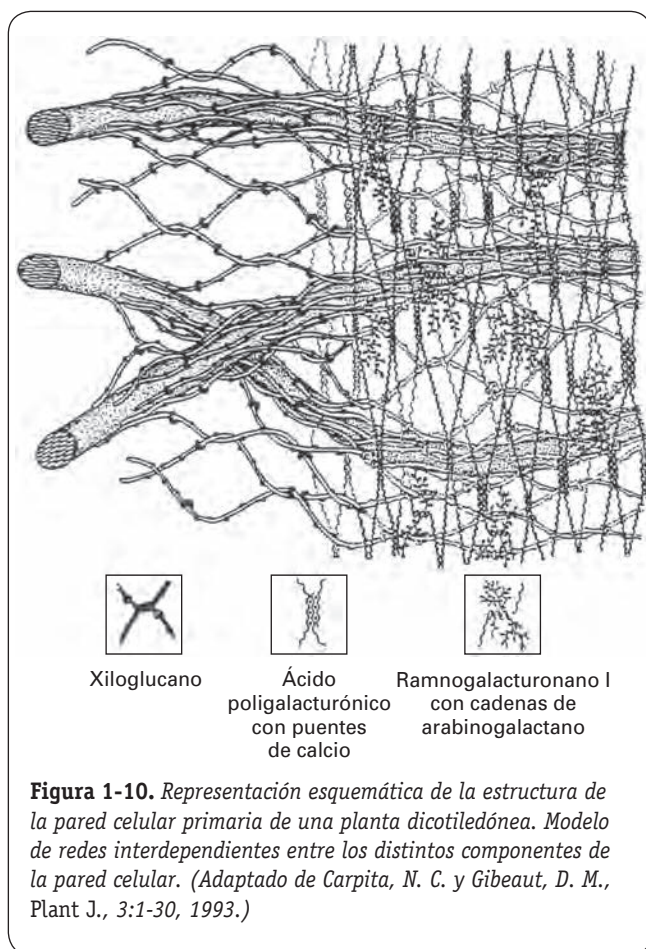


Figura 1-10. Representación esquemática de la estructura de la pared celular primaria de una planta dicotiledónea. Modelo de redes interdependientes entre los distintos componentes de la pared celular. (Adaptado de Carpita, N. C. y Gibeaut, D. M., *Plant J.*, 3:1-30, 1993.)

ble dominio estaría constituido por el xiloglucano atrapado en el interior de las microfibrillas. La presencia de estos dominios ha sido puesta de manifiesto mediante métodos químicos y enzimáticos que liberan de forma secuencial el xiloglucano de la pared celular. Esta red está considerada como la principal estructura que soporta la carga en la pared, mientras que la red de pectinas, tal como se ha indicado en el apartado 4.1.3, podría compartimentalizar el espacio apoplástico a través del control del tamaño del poro y de la carga, evitando que las enzimas y otras macromoléculas se difundan a sitios no apropiados.

4.3. Biogénesis de la pared celular

Desde que la célula se forma (citoquinesis) hasta que alcanza su forma y tamaño definitivos, la composición y la estructura de su pared sufren cambios continuos, que implican la síntesis e incorporación de nuevos componentes (polisacáridos, proteínas y fenoles) en ella. En este apartado estudiaremos exclusivamente la síntesis de los polisacáridos estructurales (celulosa y polisacáridos matriciales), ya que la del resto de los componentes se trata en otros capítulos. Dada la abundancia e importancia de los polisacáridos en la célula, resulta sorprendente que tengamos tan escasos conocimientos sobre su biosíntesis. Sin embargo, aunque limitados, son

significativos los progresos recientes en el conocimiento de los procesos enzimáticos y genéticos que sirven de base a su biosíntesis, particularmente en el caso de la celulosa, la calosa, el xiloglucano, los mananos y el glucano mixto. En cuanto a las enzimas implicadas, se clasifican dentro del grupo general de las glicosiltransferasas (GT), enzimas que modifican carbohidratos (www.cazy.org/CAZY). En este grupo se han identificado dos clases diferentes: por una parte, polisacárido sintetas (tipo I), que incluyen las enzimas que catalizan la incorporación iterativa de restos de azúcares a partir de los respectivos donadores (Cuadro 1-5) a la cadena central del polímero; por otra, las que se consideran glicosiltransferasas en un sentido más restrictivo (tipo II), enzimas que transfieren un resto de azúcar desde el donador a la cadena del polímero en un solo episodio.

4.3.1. La celulosa se sintetiza en la superficie de la membrana plasmática

La síntesis de **celulosa** en las plantas tiene lugar en la membrana plasmática, catalizada por un complejo multienzimático (roseta); este complejo sintetiza de forma simultánea varias cadenas de β -glucano que se asocian para formar una microfibrilla de celulosa cristalina. Las rosetas se observan por criofractura en el extremo de las microfibrillas en crecimiento, y su aparición en las membranas coincide con la síntesis de celulosa. Están formadas por 6 subunidades, cada una con 6 subunidades catalíticas capaces de sintetizar una cadena de $\beta(1\rightarrow4)$ glucano. Sin embargo, aunque la celulosa es una molécula relativamente simple, y su biosíntesis tiene lugar en casi todas las células de las plantas, la síntesis *in vitro* de este polímero ha obtenido pobres resultados, probablemente debido a que la actividad depende de la orientación de las rosetas en la membrana, de modo que el aislamiento de las membranas provoca la pérdida de la capacidad de síntesis de celulosa. La celulosa sintasa está localizada en la cara citoplasmática de la membrana y transfiere un resto de glucosa utilizando como donador UDP-glucosa, originada a partir de la sacarosa por la acción de la sacarosa sintasa (Cuadro 1-5). Existen pruebas de la participación del β -glucósido de sitosterol como aceptor inicial de la cadena de glucano (Peng, L. y cols., *Science* 295: 147-150, 2002). Las celulosas sintetas de las plantas son codificadas por la familia génica *CesA*, que tiene 10

CUADRO 1-5. Nucleótidos utilizados como precursores en la síntesis de los polisacáridos estructurales.

Nucleótido precursor	Polisacárido
UDP-glucosa, UDP-xilosa, GDP-fucosa	Xiloglucano
UDP-glucosa	Celulosa, glucano mixto
UDP-xilosa, UDP-arabinosa, UDP-glucurónico	Xilanos
UDP-galactosa, UDP-galacturónico	Pectinas
GDP-glucosa, GDP-manosa	Mananos

miembros en *Arabidopsis*, 12 en el arroz, aproximadamente 12 en el maíz, 18 en *Populus trichocarpa* y al menos 18 en la cebada. Algunos datos recientes indican que son necesarias varias proteínas CesA para el correcto ensamblaje de las rosetas, mientras que la complementación de la síntesis de celulosa en mutantes de *Arabidopsis* ha permitido demostrar que los miembros de la familia CesA no son redundantes. También parece probable que sean necesarios dos grupos distintos de 3 CesA diferentes para la síntesis de celulosa en las paredes primarias o secundarias. Sin embargo, no ha podido establecerse todavía la composición precisa y la estequiometría de las diferentes subunidades en los complejos. Recientemente, la visualización de la deposición de glucosa en células vivas ha permitido demostrar que los complejos de celulosa sintasa (al menos la CesA6) se organizan en la membrana plasmática por una asociación funcional con microtúbulos corticales (Paredes, A.R. y cols., *Science* 312: 1491-1495, 2006).

4.3.2. El aparato de Golgi se encarga de la síntesis de los polisacáridos matriciales

Los polisacáridos no celulósicos se sintetizan en el **aparato de Golgi**, se empaquetan en vesículas secretoras y se exportan a la superficie, donde se integran con las microfibrillas de celulosa. A pesar de que su estructura es más compleja que la de la celulosa, se ha conseguido la síntesis *in vitro* de la mayor parte de ellos, ya que las membranas aisladas retienen gran parte de la actividad de las glicosiltransferasas implicadas, lo cual ha permitido su caracterización, al menos parcial. En todos los casos identificados hasta el momento, se ha comprobado que se trata de proteínas unidas a membranas que utilizan como precursores los nucleótidos de los monosacáridos (Cuadro 1-5). La biosíntesis de los polisacáridos ramificados es más compleja que la de la celulosa, pues requiere la acción de dos tipos de enzimas diferentes. Así, la síntesis de la cadena central la llevan a cabo polisacárido sintasas similares a la celulosa sintasa (tipo I), mientras que en la mayor parte de los polisacáridos son necesarias glicosiltransferasas (tipo II), responsables de la adición de los azúcares de las cadenas laterales. Aunque la identidad de la mayoría de las enzimas responsables de la síntesis de la cadena central de los polisacáridos no celulósicos no está totalmente clara, parece bastante probable que los genes que las codifican pertenezcan a la familia *Csl* (*cellulose synthase-like*). Estos genes pueden dividirse en 8 subfamilias (*CsIA-H*), cada una de ellas con varios genes. Así, en *Arabidopsis* hay 30 genes *Csl*, mientras que en el arroz se han identificado unos 37. Sin embargo, no todas las subfamilias están representadas en todos los grupos de plantas superiores, de manera que sólo en las dicotiledóneas y las gimnospermas se han hallado genes de las subfamilias *CsIB* y *G*, mientras que los grupos *CsIF* y *H* sólo se han identificado en monocotiledóneas, lo que puede reflejar diferencias en la composición de las paredes celulares entre los distintos grupos de plantas. Hasta el momento sólo se han

podido identificar las actividades enzimáticas de miembros de dos subfamilias. Así, el gen *CtManS* (*CsIA*) de *Cyamopsis tetragonoloba* (guar) codifica una β -manano sintasa (Dhugga, K.S. y cols., *Science* 303:363-366, 2004), habiéndose identificado en *Arabidopsis* tres genes del mismo grupo (*AtCslA2*, *AtCslA7* y *AtCslA9*) con la misma actividad, mientras que en el arroz se ha demostrado que genes de la subfamilia *CsIF* participan en la síntesis de glucano mixto, polisacárido típico de las paredes celulares de las gramíneas (Burton, R.A. y cols., *Science* 311:1872-1873, 2006).

En cuanto a las glicosiltransferasas (tipo II), generalmente son muy específicas y añaden un único azúcar en un enlace específico a un aceptor determinado. En los últimos años se han identificado algunas de estas enzimas y se han caracterizado los genes que las codifican. En el caso de la síntesis de xiloglucano, se ha hallado una xilosiltransferasa en *Arabidopsis* y en el guisante (*AtXylT* y *PsXylT*, respectivamente) perteneciente a la familia GT34, implicada en la sustitución de los restos de glucosa en la cadena central del XyG con α -xilosa. También se ha identificado en *Arabidopsis* una galactosiltransferasa (MUR3) de la familia GT47, así como una fucosiltransferasa en el guisante y en *Arabidopsis* (*PsFuT1* y *AtFuT1*, respectivamente) perteneciente a la familia GT37. En *Trigonella foenum-graecum* se ha hallado una galactosiltransferasa perteneciente a la familia GT34, capaz de transferir un resto de galactosa a una posición específica de una cadena de manano. En cuanto a la síntesis de pectinas se ha identificado en *Arabidopsis* el gen *QUA1*, que codifica una presunta galacturonosiltransferasa de la familia GT8 implicada en la biosíntesis de homogalacturonano, aunque por el momento no hay pruebas de su actividad; además, en *Nicotiana plumbaginifolia* se ha aislado el gen *NpGUT1*, cuyo producto se cree que participa en la transferencia de un resto de ácido glucurónico al RG II. Ahora bien, teniendo en cuenta que la biosíntesis de los polisacáridos de la pared celular puede necesitar más de 100 glicosiltransferasas, es indudable que todavía queda mucho por investigar.

Por otra parte, también se ha identificado una metiltransferasa que, utilizando S-adenosil metionina como donador de los grupos metilo, da lugar a la metilesterificación de los restos galacturonosil de las pectinas. En general, las pectinas se sintetizan en el aparato de Golgi con un alto grado de metilesterificación, que posteriormente disminuye en la pared celular por la acción de las pectinametilesterasas.

4.3.3. Ensamblaje de los componentes de la pared

Los componentes estructurales de las paredes, polisacáridos y proteínas, se sintetizan por separado, liberándose al apoplasto. A continuación tienen que integrarse en la estructura de la pared a través de la red xiloglucano-celulosa, red de pectinas y proteína rica en hidroxiprolina.

El xiloglucano sintetizado en el aparato de Golgi es liberado en forma soluble al apoplasto. Su solubilidad es

esencial para que pueda alcanzar la superficie de las microfibrillas al adherirse espontáneamente mediante puentes de hidrógeno. El grado de sustitución de la cadena central de glucano y el tipo de cadenas laterales influirán en su solubilidad y, por tanto, en su integración a la pared celular. Así, el xiloglucano de algunas semillas de leguminosas con cadenas laterales de xilosa, galactosa-xilosa, o ambas, es insoluble, y en vez de asociarse a la celulosa se acumula entre la pared y la membrana plasmática constituyendo un polisacárido de reserva. La integración del xiloglucano sintetizado *de novo*

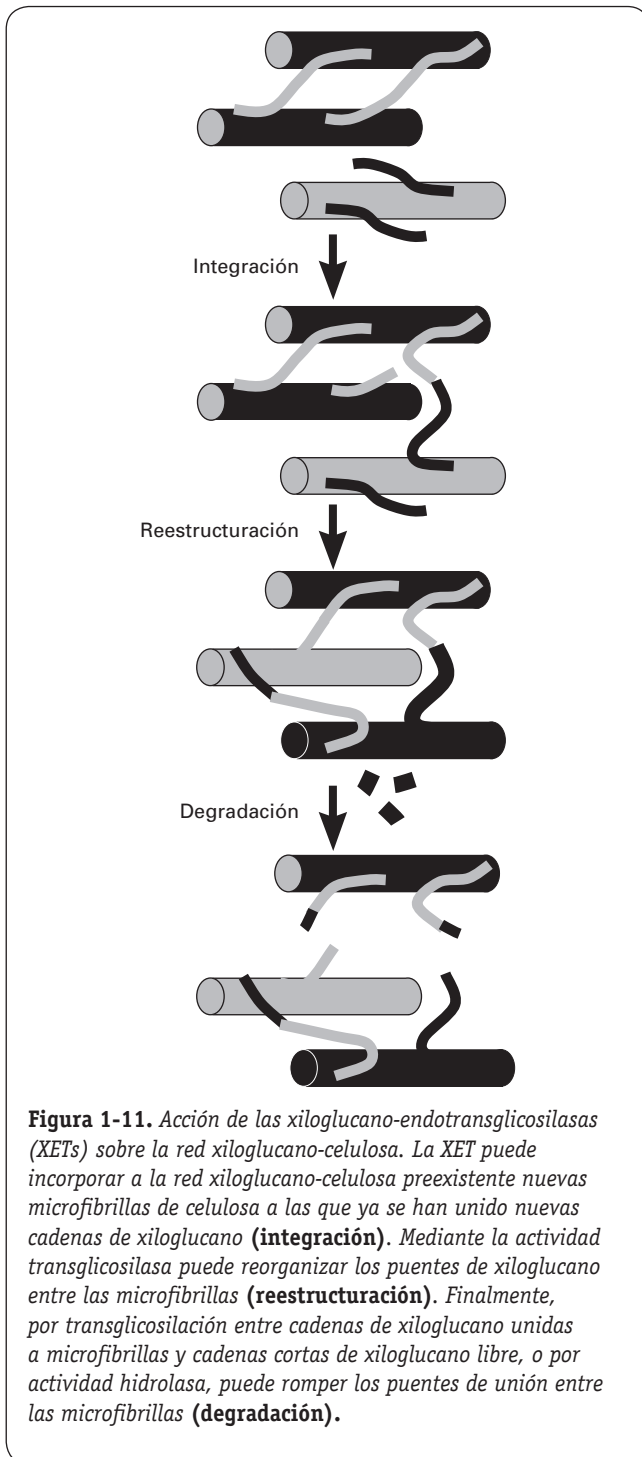
corre a cargo de la actividad xiloglucano-endotransglucosilasa (XET) (Fig. 1-11). Además, la reestructuración de la red de xiloglucano-celulosa, así como su degradación, también corre a cargo de las XET. Su degradación podrá tener lugar mediante la actividad hidrolasa, la transglucosilasa, o ambas conjuntamente, utilizando oligosacáridos de pequeño tamaño como aceptores. El hecho de que la misma actividad pueda tener funciones diferentes hace pensar en la necesidad de un sistema preciso de regulación o en pequeñas diferencias en la afinidad de las distintas XTHs sobre las moléculas donadoras yceptoras.

Los conocimientos actuales sobre la integración de las pectinas en las paredes celulares son fragmentarios. En principio, se supone que las pectinas se sintetizan como polímeros individuales y, una vez que alcanzan el apoplasto, son integradas en la red de pectinas mediante la formación de diferentes enlaces. La desesterificación de las pectinas por la pectina-metil-esterasa y la disociación de los carboxilos liberados permitirá la formación de puentes de calcio, contribuyendo a su insolubilización. Además, también se formarán puentes borato entre los restos apiosil del ramnogalacturonano II, aunque las características de esa formación aún no se conocen. La formación de puentes difenil entre los restos hidroxicinamil esterificados a las cadenas de arabinogalactanos y arabinoxilanos catalizada por las peroxidasas es otro de los mecanismos que pueden contribuir a la formación de la red de pectinas. De manera similar, las peroxidasas también catalizan la formación de puentes de isoditrosina entre las cadenas de proteína rica en hidroxiprolina, favoreciendo su insolubilización y la formación de la correspondiente red polimérica.

4.4. Las paredes celulares primarias son capaces de extenderse

Como hemos visto anteriormente (véase el apartado 4), la pared celular limita el volumen de las células. Sin embargo, las células, una vez formadas mediante división celular, han de crecer, esto es, aumentar irreversiblemente de tamaño. Así, nos encontramos con la paradoja de que las paredes celulares han de limitar el aumento de volumen del protoplasto, al tiempo que deben permitir el crecimiento de las células. Sólo las paredes primarias son capaces de disminuir su rigidez, permitiendo un cierto grado de extensión por la presión de turgencia, para a continuación volver a aumentar su rigidez, fijando dicha extensión y evitando el aumento ilimitado del volumen del protoplasto y, por tanto, su explosión. Además, la pared no sólo controla el crecimiento de la célula, sino que también condiciona su dirección. La anisotropía de las paredes, basada fundamentalmente en la disposición de las microfibrillas de celulosa, es la responsable de la dirección del crecimiento.

La pared celular primaria está constituida por celulosas, hemicelulosas, pectinas y una pequeña cantidad de proteínas estructurales. Dicha pared, inicialmente rígida, ha de sufrir una serie de modificaciones bioquímicas que dismi-



nayan su rigidez, aumenten su capacidad para extenderse bajo la acción de la **presión de turgencia**, que actúa como fuerza conductora, y permitan el incremento de volumen del protoplasto. La formación de nuevos enlaces y la incorporación de nuevos componentes a la pared la transformará otra vez en una pared rígida; ello convierte el incremento de volumen en un proceso irreversible, esto es, en crecimiento (véanse los Capítulos 18 y 19).

En las paredes celulares primarias, la red polimérica que mantiene la cohesión de la estructura y le confiere rigidez es la red celulosa-hemicelulosa que, excepto en las gramíneas, está constituida por las microfibrillas de celulosa unidas entre sí por cadenas de xiloglucano mediante puentes de hidrógeno. Las cadenas de xiloglucano impedirán la separación de las microfibrillas. La ruptura y el alargamiento de las cadenas de xiloglucano y la ruptura de los puentes de hidrógeno entre dicho polímero y la celulosa permitirían la separación de las microfibrillas y, por tanto, la **extensión de la pared**.

Tomando como base lo anteriormente expuesto, se han postulado tres posibles mecanismos que podrían estar involucrados en la pérdida de rigidez de las paredes primarias: 1) La acción esporádica de una endo- $\beta(1\rightarrow4)$ -D-glucanasa que rompiera la cadena de xiloglucano permitiría que se separasen las microfibrillas. Este mecanismo necesitaría la incorporación de nuevas cadenas de xiloglucano para evitar el progresivo debilitamiento de la estructura. 2) La xiloglucano-endotransglicosilasa (XET), al alargar las cadenas de xiloglucano, permitiría una separación mayor entre las microfibrillas sin debilitar la estructura de la red polimérica. Esta misma enzima participaría en la incorporación a la red de las cadenas de xiloglucano sintetizadas *de novo*. 3) Las expansinas romperían ocasionalmente los puentes de hidrógeno establecidos entre las cadenas de glucano de las microfibrillas y las cadenas de xiloglucano. Al estar la pared sometida a tensión, aunque dichos puentes se volverían a formar de manera espontánea, lo harían en distinta posición, contribuyendo a fijar la extensión.

Los factores necesarios para que estos tres mecanismos puedan actuar parecen estar presentes en todas las paredes celulares; sin embargo, ni la glucanasa ni la XET son capaces de inducir *in vitro* la extensión de las paredes aisladas, mientras que la expansina sí lo hace. Por ello, actualmente se piensa que la expansina es imprescindible para que tenga lugar la extensión de la pared, aunque tanto las glicanasas como la XET cooperarían en la modulación del mecanismo de pérdida de rigidez de la pared celular.

Al tiempo que las paredes primarias se extienden por la repetición del ciclo de extensión, la síntesis de nuevos componentes, así como su incorporación a la estructura de la pared con la formación de puentes interpoliméricos, puentes diferulil e isoditrosina, catalizada por la acción de las peroxidasas, disminuyen progresivamente su extensibilidad y dan lugar al cese del crecimiento celular. La red de pectinas, unida por puentes diferulil, y la de proteínas ricas en hidroxiprolina, unida por puentes de isoditrosina, se entrelazan con la red celulosa-hemicelulosa y restringen la separación de las microfibrillas y, por tanto, la extensión de la pared.

CUADRO 1-6. Relación entre los componentes y las propiedades funcionales de las paredes celulares.

Componente	Propiedades funcionales
Pectinas	Porosidad. Carga eléctrica. Cohesión celular
Celulosa	Resistencia mecánica en la dirección en la que están orientadas las microfibrillas
Lignina	Carácter hidrófobo. Resistencia mecánica
Cutina	Impermeabilización
Suberina	Impermeabilización
Proteínas ricas en hidroxiprolina	Resistencia química

4.5. Las propiedades físico-químicas de las paredes celulares dependen de su composición

La abundancia relativa de los diversos componentes poliméricos de las paredes celulares les confieren diferentes propiedades que determinan las funciones de los distintos tipos celulares presentes en las plantas (Cuadro 1-6).

Porosidad. El entramado de redes poliméricas que constituyen la pared celular actúa como filtro que limita la difusión de las moléculas en función de su tamaño. La determinación experimental del diámetro de los poros de las paredes celulares presenta variaciones relativamente importantes, no sólo entre los distintos tipos de células, sino también dependiendo del método utilizado. En general, el diámetro de dichos poros oscila entre 3.5 y 6.0 nm, que corresponde aproximadamente a un abanico de masas moleculares de entre 13 y 65 kDa. Evidentemente, el tamaño de los poros no supone ninguna restricción a la difusión de las moléculas de pequeño tamaño, tales como sacarosa, aminoácidos, fitohormonas, etc. Sin embargo, tendrá una gran importancia en el caso de las macromoléculas, como las proteínas y los polisacáridos, al restringir su movilidad a través de la pared.

Carga eléctrica. En general, las paredes celulares en el margen de su pH fisiológico (4.5-6.0) tienen una carga neta negativa debido a los grupos carboxilo de los restos galacturonosil de las pectinas y glucuronosil de los xilanos. Esta carga eléctrica puede ser contrarrestada, en parte, por las proteínas cargadas positivamente y por la presencia de cationes, fundamentalmente Ca^{2+} .

Cohesión celular. La zona más externa de las paredes celulares, la **lámina media**, está enriquecida en pectinas que, mediante la formación de puentes de calcio en las regiones de homogalacturonano (estructura en caja de huevos), actúan como sustancias cementantes, uniendo las paredes de las células contiguas.

Grado de hidratación. En general, los polisacáridos son hidrófilos, de forma que en principio las paredes presentarán una fase acuosa que permitirá el movimiento de los solutos, siempre que su difusión no se vea restringida por la carga eléctrica o que superen el tamaño de los poros. Así, las paredes primarias presentan un contenido en agua de alrededor del 65%. Sin embargo, las paredes celulares secundarias, dependiendo del patrón de diferenciación celular que

sigan, pueden acumular lignina, que, al ser de naturaleza hidrófoba, desplaza al agua e impermeabiliza la pared. El depósito de **suberina** (paredes radiales de las células de la endodermis) y **cutina** (células epidérmicas), compuestos de naturaleza hidrófoba, también impermeabiliza la pared. La impermeabilidad de las paredes, que impide el transporte de sustancias hidrosolubles entre las distintas células, hace necesaria la aparición de estructuras especiales, como plasmodesmos, punteaduras, placas cribosas y otras, que permitan dicho transporte en zonas localizadas.

Resistencia química. Las paredes, además de constituir una barrera física que limita el acceso de patógenos al protoplasto, contienen estructuras relativamente resistentes a la degradación química. Así, las **microfibrillas de celulosa**, al presentar un alto grado de empaquetamiento de las cadenas de $\beta(1\rightarrow4)$ -D-glucano, dificultan la degradación por celulasas de origen bacteriano. Otro polímero resistente a la degradación enzimática es la **lignina**. Las **proteínas ricas en hidroxiprolina**, insolubles en las paredes celulares por la existencia de puentes de isoditrosina, constituyen una estructura extraordinariamente resistente a la degradación por proteasas debido a la abundancia de restos de hidroxiprolina. La acumulación de estos compuestos (proteínas ricas en hidroxiprolina en paredes

primarias y lignina en las secundarias) forma una barrera pasiva frente a la penetración de microorganismos. Sin embargo, la pared no sólo es una barrera pasiva, sino que también puede responder activamente a estímulos externos, aumentando la síntesis de proteínas ricas en hidroxiprolina, la síntesis de fitoalexinas (véanse los Capítulos 17 y 29), etc.

Resistencia mecánica. Los dos polímeros que confieren resistencia mecánica a las paredes celulares son la celulosa y la lignina. Consideradas individualmente, cada una de las microfibrillas de celulosa ejerce gran resistencia mecánica en la dirección de la fibra, debido a su estructura de tipo **pseudocristalino**, mientras que en la dirección perpendicular la resistencia es mínima. Es decir, la disposición en paralelo de las microfibrillas da lugar a una gran resistencia mecánica en la dirección de éstas. La combinación de capas sucesivas de pared celular, cada una de ellas con sus microfibrillas dispuestas paralelamente, pero con diferente orientación entre sí, conferirá al conjunto de la pared celular una gran resistencia mecánica en las distintas direcciones. Aunque no se conoce el mecanismo de control de la dirección en que se depositan las microfibrillas sintetizadas *de novo* por los complejos terminales (rosetas) de la membrana plasmática, sí se sabe que está relacionado con la disposición de los microtúbulos.

RESUMEN



- Las células están constituidas por distintos compartimientos con funciones diferentes. Esta compartimentación está basada en las características estructurales y funcionales de las membranas.
- El carácter hidrófobo de las membranas permite separar las fases acuosas de los distintos compartimientos, al tiempo que constituye el soporte físico de aquellas reacciones que no tendrían lugar en un medio hidrófilo.
- Además, la diferente dotación proteica de las diversas membranas de la célula posibilita diferentes mecanismos específicos de transporte a través de ellas y, en consecuencia, la existencia de ambientes químicos diferenciados en cada uno de los compartimientos. Este diferente ambiente químico, a su vez, permite la especialización metabólica de los distintos compartimientos.
- Por otra parte, la pared celular de las células vegetales les permite independizarse de las condiciones osmóticas del apoplasto, a la vez que les proporciona la forma y el tamaño.
- Además, las diferencias en la composición y estructura de las paredes, al condicionar sus propiedades, determinan la funcionalidad de los distintos tipos celulares presentes en las plantas.
- En resumen, podríamos decir que mientras que las membranas permiten la especialización de los distintos compartimientos celulares, las paredes son uno de los pilares de la especialización celular.

PROBLEMAS Y CUESTIONES



- 1 Defina los conceptos de simplasto y apoplasto.
- 2 ¿Qué ventajas tienen las plantas cuyas células presentan membranas con un mayor porcentaje de ácidos grasos insaturados?
- 3 ¿Qué características de las membranas permiten la compartimentación celular?
- 4 ¿Podrían sobrevivir las células vegetales sin pared celular?
- 5 ¿Dónde tiene lugar la síntesis de los polisacáridos estructurales de las paredes celulares?
- 6 ¿Qué papel se ha atribuido a las expansinas en el crecimiento celular?



RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1 El simplasto es el espacio constituido por el citoplasma de las distintas células que presentan continuidad a través de los plasmodesmos, mientras que el apoplasto es el espacio externo a la membrana plasmática donde se encuentra la pared celular, y que puede presentar continuidad en el seno del tejido.
- 2 Un mayor porcentaje de ácidos grasos insaturados disminuye la temperatura de cambio de fase (T_c) de las membranas. Teniendo en cuenta que las membranas únicamente mantienen su funcionalidad a temperaturas superiores a su T_c , ello permitirá que las plantas con mayor grado de insaturación en sus membranas sean funcionales a una temperatura ambiente más fría.
- 3 Las cadenas hidrófobas de los ácidos grasos constituyentes de los lípidos de las membranas son responsables de una fase hidrófoba que separa la fase acuosa en dos, una a cada lado de la membrana. Cada una de las regiones acuosas rodeada por una membrana constituye un compartimento separado. Los distintos mecanismos de transporte existentes en cada una de las membranas permiten que haya diferencias de composición en el interior de cada uno de los compartimientos.
- 4 Las células desprovistas de pared celular (protoplastos) sólo podrían sobrevivir en un medio cuyo potencial hídrico fuera igual al de la célula desnuda. Esto implica la necesidad de mecanismos muy precisos de homeostasis en el medio externo a las células, que no se han detectado en las plantas.
- 5 La síntesis de celulosa tiene lugar en la superficie de la membrana plasmática, mientras que la de los polisacáridos hemicelulósicos y la de las pectinas se lleva a cabo en el aparato de Golgi.
- 6 Las expansinas activadas por el pH ácido del apoplasto romperán de forma localizada los puentes de hidrógeno entre las microfibrillas de celulosa y las cadenas de hemicelulosa. Al estar sometida la pared a tensión (presión de turgencia), la acción de las expansinas permitirá la separación de las microfibrillas, posibilitando el aumento de volumen del protoplasto y, por tanto, el crecimiento celular.

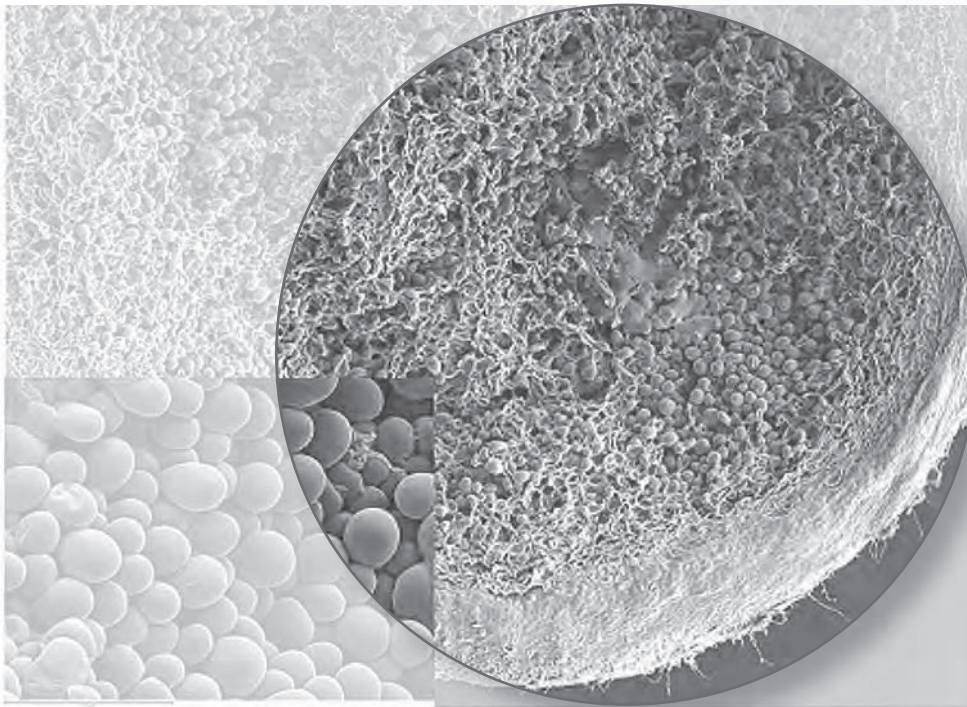


BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA

1. Barceló J, Nicolás G, Sabater B *et al.* *Fisiología Vegetal*. Pirámide, 2001.
2. Carpita N, McCann M. The cell wall. En: Buchanan B, Gruissem W, Jones R (eds.). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists, 2000; 52-108.
3. Choi D, Cho HT, Lee Y. Expansins: expanding importance in plant growth and development. *Physiologia Plantarum* 2006; 126:511-518.
4. Cosgrove DJ. Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2005; 6:850-861.
5. Farrokhi N *et al.* Plant cell wall biosynthesis: genetic, biochemical and functional genomics approaches to the identification of key genes. *Plant Biotechnology Journal* 2006; 4:145-67.
6. Jamet E, Canut H, Boudart G *et al.* Cell wall proteins: a new insight through proteomics. *Trends in Plant Science* 2006; 11:33-39.
7. Passardi F *et al.* Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. *Plant Cell Reports* 2005; 24:255-265.
8. Reid JSG. Carbohydrate metabolism: structural carbohydrates. En: Dey PM, Harborne JB (eds.). *Plant Biochemistry*. San Diego (USA), Academic Press, 1997; 205-236.
9. Scheible WR, Pauly M. Glycosyltransferases and cell wall biosynthesis: novel players and insights. *Current Opinion in Plant Biology* 2004; 7:285-295.
10. Staehelin LA, Newcomb EH. Membrane structure and membranous organelles. En: Buchanan B, Gruissem W, Jones R (eds.) *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists, 2000; 2-50.
11. Taiz L, Zeiger E. *Plant Physiology*, 4^a ed. Sinauer Assoc. Inc. Publ., 2006.



PARTE II
Nutrición y transporte



El agua en la planta. Movimiento del agua en el sistema suelo-planta-atmósfera

MANUEL SÁNCHEZ-DÍAZ Y JONE AGUIRREOLEA



1. Introducción. 2. Propiedades del agua. 3. Cuantificación y terminología del estado hídrico en la planta. 4. Relaciones hídricas en células y tejidos. 5. Medida del potencial hídrico y sus componentes. 6. Movimiento del agua en el sistema suelo-planta-atmósfera.

1. INTRODUCCIÓN

La vida está íntimamente asociada al agua, muy especialmente en su estado líquido, cuya importancia para los seres vivos es consecuencia de sus propiedades físicas y químicas exclusivas. El agua es la forma en que el átomo de H, elemento esencial en todas las moléculas orgánicas, es absorbido y, posteriormente, asimilado durante la fotosíntesis (véanse los Capítulos 10 y 11). Por tanto, ha de considerarse como un nutriente para la planta, de la misma manera que lo son el CO_2 o el NO_3^- . No obstante, la cantidad de agua que se requiere para el proceso fotosintético es pequeña y sólo constituye, aproximadamente, un 0.01% de la cantidad total utilizada por la planta. La razón de esta escasa utilización reside en que la mayoría de las funciones en las que participa son de naturaleza física. El agua es un disolvente para muchas sustancias, tales como sales inorgánicas, azúcares y aniones orgánicos, y constituye el medio en el que tienen lugar todas las reacciones bioquímicas. Las moléculas de agua se adsorben en las superficies de las partículas formando capas de hidratación, que influyen en las reacciones físicas y químicas. El agua, en su forma líquida, permite la difusión y el flujo masivo de solutos, y por esta razón es esencial para el transporte y la distribución de nutrientes y metabolitos en toda la planta. También es importante en las vacuolas de las células vegetales, ya que ejerce presión sobre el protoplasma y la pared celular, manteniendo así la turgencia en hojas, raíces y otros órganos de la planta. A excepción de algunos tipos de semillas y unas pocas especies vegetales, la deshidratación de los tejidos por debajo de un nivel crítico se traduce en cambios irreversibles en la estructura y, finalmente, en la muerte de la planta.

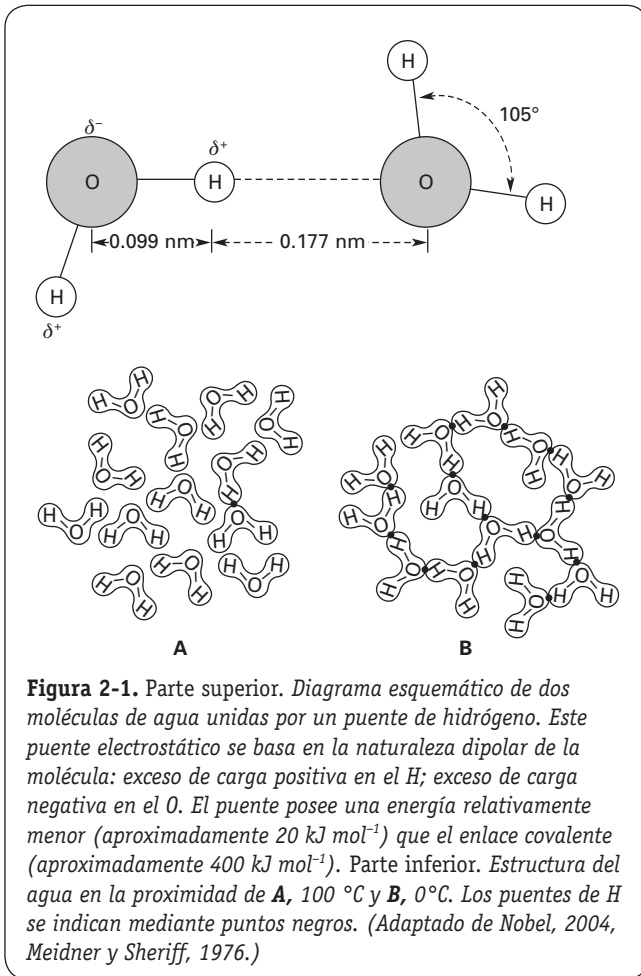
El agua, que es el componente mayoritario en la planta (aproximadamente un 80-90% del peso fresco en plantas herbáceas, y más del 50% de las partes leñosas) afecta, directa o indirectamente, a la mayoría de los procesos fisiológicos. Por todo ello, la fisiología vegetal es, en gran medida, el estudio de las relaciones hídricas.

2. PROPIEDADES DEL AGUA

El agua es un compuesto muy peculiar. A diferencia de los hidruros de los no metales (por ejemplo, el sulfuro de hidrógeno, H_2S , o el amoníaco, NH_3), que son gases a temperatura ambiente, el agua es líquida. La razón de ello, y de la mayor parte de las propiedades poco corrientes del agua, es que sus moléculas son **polares** y forman **puentes de hidrógeno** entre sí (Fig. 2-1); esto ocasiona un aumento en las temperaturas de fusión y ebullición.

Se denomina **cohesión** a la tendencia de las moléculas de agua a permanecer unidas por los puentes de hidrógeno. Ésta es la razón de que las columnas finas de agua en los vasos xilemáticos puedan ascender sin romperse hasta la cima de un árbol; la cohesión imprime a la columna una tensión muy elevada (véase el Capítulo 4). Las moléculas de agua son también atraídas por otras moléculas polares y, por tanto, mojan superficies sólidas tales como el vidrio o las paredes celulares, y forman **capas de hidratación** alrededor de iones y de macromoléculas tales como las proteínas.

La cohesión de las moléculas de agua hace que se necesite una cantidad de energía muy elevada para provocar la evaporación; por este motivo, la transpiración en las hojas tiene un efecto de enfriamiento importante (véase el Capítulo 3).



Por otra parte, el empaquetamiento de las moléculas de agua en estado líquido mediante puentes de hidrógeno es, de hecho, más eficaz (más moléculas por unidad de volumen) que en estado sólido (hielo). Por eso, el agua se expande cuando se congela, y existe riesgo de lesión tisular si se congela el agua celular.

3. CUANTIFICACIÓN Y TERMINOLOGÍA DEL ESTADO HÍDRICO EN LA PLANTA

Para comprender las relaciones planta-agua es necesario definir y determinar el estado hídrico en la célula, el órgano e, incluso, en toda la planta.

3.1. El contenido hídrico relativo representa la cantidad de agua de un tejido en comparación con la que podría contener en hidratación completa

El estado hídrico de las plantas se puede estudiar en términos de **contenido hídrico** (CH), expresado como porcentaje del peso seco:

$$\text{CH} = \frac{(P_f - P_s) 100}{P_s} \quad [2-1]$$

siendo:

P_f , peso fresco de la muestra

P_s , peso seco de la muestra, determinado después de mantenerla en una estufa a $80 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 24 horas.

No obstante, debido a que el peso seco puede experimentar cambios diarios y estacionales, las determinaciones comparativas del contenido hídrico basadas en el peso seco no son satisfactorias. Igualmente, si se expresa el contenido hídrico en relación con el peso fresco, persisten los problemas que entraña la modificación del peso seco y, además, se minimizan los cambios en el contenido hídrico. Así, por ejemplo, una reducción del 80 al 85% en el contenido hídrico, expresado en función del peso fresco, parece una disminución muy pequeña y, sin embargo, puede suponer una pérdida del 30% en relación con el contenido hídrico original.

Una forma de eliminar estos problemas consiste en expresar el contenido hídrico sobre la base del contenido hídrico a **plena turgencia**, es decir, el peso turgente (P_t), que pasa a denominarse **contenido hídrico relativo** (CHR), o el parámetro complementario **déficit de saturación hídrica** (DSH):

$$\text{CHR} = \frac{P_f - P_s}{P_t - P_s} 100 \quad [2-2]$$

$$\text{DSH} = \frac{P_t - P_f}{P_t - P_s} 100 \quad [2-3]$$

El CHR y el DSH están relacionados de la siguiente manera:

$$\text{CHR} = 100 - \text{DSH} \quad \text{ó} \quad \text{CHR} + \text{DSH} = 100 \quad [2-4]$$

Por tanto, el CHR adquiere valores comprendidos en el siguiente intervalo:

$$0 < \text{CHR} \leq 100 \quad [2-5]$$

La relación que existe entre CHR y CH es:

$$\text{CHR} = \text{CH} \frac{P_s}{P_t - P_s} \quad [2-6]$$

Determinar el CHR requiere, por tanto, el conocimiento del estado de plena turgencia de la muestra, es decir, del grado de hidratación máxima de las células. La gran ventaja de la plena turgencia es que corresponde a un estado hídrico determinado, independientemente de la especie vegetal.

3.2. La capacidad de las moléculas de agua para moverse en un sistema particular se define como potencial hídrico (Ψ), que es una medida de la energía libre del agua en el sistema

Los conceptos anteriormente expuestos (CHR y CH) no permiten determinar el sentido de los intercambios hídricos entre las diferentes partes de una planta, ni entre el suelo y la planta. La magnitud que rige los movimientos del agua, y que de manera más habitual se ha venido utilizando para expresar el estado hídrico de la planta, es el **potencial químico** μ , es decir, la variación de la energía libre (**energía libre de Gibbs**) del agua en un punto, debido a una variación, ∂n , de moles de agua que entran o salen de este punto, siendo constantes los otros parámetros (temperatura, presión, etc.). De donde:

$$\mu = (\partial G / \partial n) \quad [2-7]$$

El agua circula entre dos puntos siempre que el potencial termodinámico entre dichos puntos no sea idéntico. El potencial hídrico, Ψ , utilizado por los fisiólogos, deriva de esta magnitud. Constituye la resultante de fuerzas de orígenes diversos (osmótica, capilar, de imbibición, turgente, etc.) que liga el agua al suelo o a los diferentes tejidos del vegetal.

Desde el punto de vista energético, el potencial hídrico corresponde al trabajo que habría que suministrar a una unidad de masa de agua «ligada» al suelo, o a los tejidos de una planta, para llevarla de este estado de unión a un estado de referencia, correspondiente al del agua pura (a menudo denominada «libre» por oposición a «ligada») a la misma temperatura y a la presión atmosférica. Como para este potencial de referencia se adopta el valor cero, todos los Ψ que caracterizan al agua ligada son negativos, puesto que sería necesario suministrar un trabajo para llevar este agua a un $\Psi = 0$.

La relación entre Ψ y μ se describe,

$$\Psi = \frac{\mu - \mu^{\circ}}{V} \quad [2-8]$$

siendo:

- Ψ , potencial hídrico de la muestra
- μ , potencial químico del agua en la muestra
- μ° , potencial químico de referencia del agua
- V , volumen molar del agua.

La ecuación dimensional del Ψ corresponde a la de una energía o trabajo, por unidad de volumen, es decir, $FL/L^3 = F/L^2$. Es la ecuación dimensional de una presión, lo que explica que las unidades en que se expresa Ψ sean, a menudo, unidades de presión (en unidades SI, la energía se expresa en julios por metro cúbico, $J m^{-3}$, y la presión en pascuales, Pa).

El potencial hídrico puede expresarse, asimismo, en función de la presión de vapor de la atmósfera en equilibrio con la de la disolución acuosa, de acuerdo con la expresión:

$$\Psi = \frac{RT}{V} \ln(e/e_o) \quad [2-9]$$

siendo R la constante de los gases ($8.31 J \text{ }^{\circ}K^{-1} \text{ mol}^{-1}$); T , la temperatura absoluta ($^{\circ}K$); e y e_o , la presión de vapor de la atmósfera y de saturación, respectivamente.

En muchos casos se suele utilizar indistintamente el **volumen molar parcial** y el **volumen molal parcial del agua**. Por definición, el volumen molar parcial corresponde al aumento de volumen de una cantidad infinita de solución molar (V_r), cuando se añade un mol de un componente A , permaneciendo constante el resto:

$$V_A = \partial V_r / \partial n_A \quad [2-10]$$

Por el contrario, el volumen molal parcial es el aumento en volumen de una cantidad infinita de solución molal, V_l , cuando se añade un mol de un componente A , permaneciendo constante el resto:

$$V_A = \partial V_l / \partial n_A \quad [2-11]$$

No obstante, en la práctica existe poca diferencia entre el uso de cantidades molares y molales cuando se describe el volumen ocupado por un mol de agua en el sistema, pues, en la mayor parte de las ecuaciones que describen las relaciones hídricas, las disoluciones se consideran como ideales.

Si bien el término «potencial» (y, en general, los conceptos termodinámicos más antiguos sobre las plantas) corresponde a Tang y Wang (1941), la gran aceptación de estos conceptos se debe a la terminología unificada propuesta por Taylor y Slatyer en los estudios de las relaciones planta-suelo-agua, en un congreso sobre zonas áridas celebrado en Madrid en 1959.

En un sistema particular, el potencial hídrico total es la suma algebraica de varios componentes:

$$\Psi = \Psi_p + \Psi_s + \Psi_m + \Psi_g \quad [2-12]$$

siendo Ψ_p , Ψ_s , Ψ_m y Ψ_g componentes debidos a fuerzas de presión osmótica, mátrica y gravitacional, respectivamente. El componente de presión (Ψ_p) representa la diferencia en presión hidrostática con la referencia, y puede ser positivo o negativo. El componente osmótico (Ψ_s) es consecuencia de los solutos disueltos, disminuye la energía libre del agua y es siempre negativo. En lugar de hablar de **potencial osmótico**, que es negativo, muchas veces se utiliza el término **presión osmótica** ($\Pi = -\Psi_s$). Se puede demostrar que el potencial osmótico se encuentra relacionado con la **fracción molar del agua** (χ_a) o con su **actividad** (a_a) mediante:

$$\Psi_s = \frac{RT}{V} \ln(\gamma_a \chi_a) = \frac{RT}{V} \ln a_a \quad [2-13]$$

siendo γ_a un coeficiente de actividad que mide la separación del comportamiento ideal por la solución. A medida que la concentración de solutos aumenta, χ_a y Ψ_s disminuyen. Aunque γ_a en soluciones muy diluidas es igual a 1, la mayoría de los sistemas vegetales muestra alguna separación del comportamiento ideal. Una aproximación útil de la ecuación 2-13, razonablemente precisa para muchas soluciones biológicas, es la relación de van't Hoff:

$$\Psi_s = -RTc_s \quad [2-14]$$

siendo c_s , la concentración de soluto expresada como mol m^{-3} de disolvente (o, más exactamente, como $\text{mol por } 10^3 \text{ kg de disolvente}$). El potencial osmótico del jugo celular es aproximadamente -1 MPa ($1 \text{ MPa} = 10^6 \text{ Pa}$). Utilizando la ecuación 2-14 y sustituyendo el valor de RT a 20°C (2437 J mol^{-1}), se obtiene una concentración total de solutos del jugo celular de $-(-10^6/2437) \approx 410 \text{ osmol m}^{-3}$.

El **potencial mátrico** es similar a Ψ_s , salvo en que la reducción de a_a es consecuencia de fuerzas en las superficies de los sólidos. La distinción entre Ψ_s y Ψ_m es hasta cierto punto arbitraria, porque suele ser difícil decidir si las partículas son solutos o sólidos, de manera que, muy a menudo, se suele incluir Ψ_m en Ψ_s .

El componente gravitacional (Ψ_g) es consecuencia de diferencias en energía potencial debidas a la diferencia de altura con el nivel de referencia, siendo positivo si es superior al de referencia, y negativo cuando es inferior:

$$\Psi_g = \rho_a g h \quad [2-15]$$

siendo ρ_a la densidad del agua y h la altura por encima del plano de referencia. Aunque frecuentemente ignorado en los sistemas vegetales, Ψ_g aumenta 0.01 MPa m^{-1} por encima del nivel del suelo y, por tanto, ha de incluirse cuando se considera el movimiento en los árboles (véase el Capítulo 4).

El potencial hídrico caracteriza, igualmente, el estado del vapor en el aire, siendo función de la **humedad relativa**:

$$\Psi = \frac{RT}{V} \ln \frac{HR}{100} \quad [2-16]$$

$$\Psi = 4.608 T \ln HR/100 \quad [2-17]$$

siendo:

Ψ , potencial hídrico en MPa

R , constante de los gases perfectos

V , volumen molar del agua

T , temperatura en grados Kelvin.

HR , humedad relativa: $e/e_o(T_a) \times 100$ [e , presión del vapor de agua en el aire; $e_o(T_a)$, presión del vapor saturante del vapor de agua en el aire, a la temperatura del aire, T_a].

3.3. El potencial hídrico en las células vegetales viene determinado, fundamentalmente, por el potencial osmótico (Ψ_s) y por el potencial de presión (Ψ_p)

El potencial hídrico de la planta (Ψ) consta de tres componentes:

$$\Psi = \Psi_p + \Psi_s + \Psi_m \quad [2-18]$$

siendo Ψ_p , Ψ_s y Ψ_m los potenciales de presión, solutos y mátricos, respectivamente, en una célula o tejido vegetal. Para entender la naturaleza y la contribución de los diferentes potenciales componentes del Ψ , consideremos una célula adulta (Fig. 2-2) que consta de tres fases distintas:

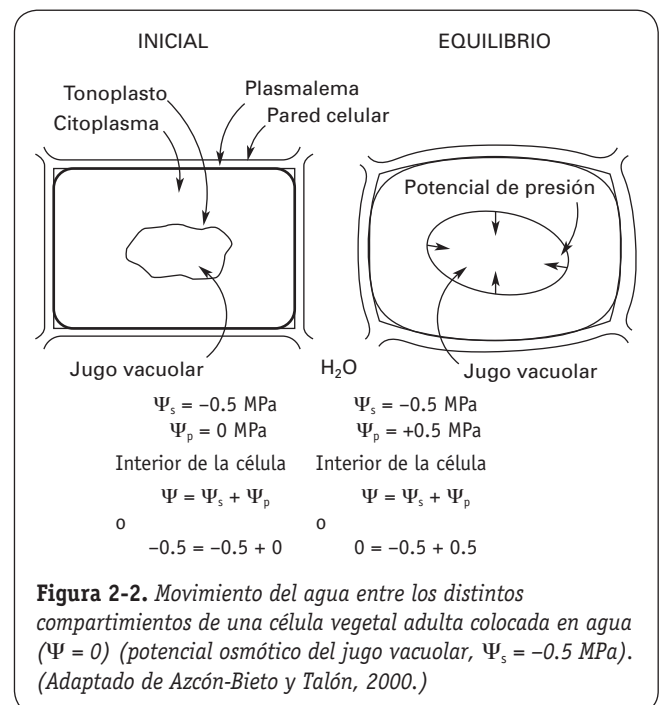
una pared celular elástica, el citoplasma con el núcleo y los orgánulos y, por último, una vacuola central que contiene una solución diluida de azúcares, iones, ácidos orgánicos, etc. (véase el Capítulo 1). La vacuola, que llega a ocupar entre el 80 y el 90% del volumen total de tal célula, se halla rodeada por el tonoplasto, que es también una membrana semipermeable. Se considera, por tanto, que los intercambios de agua celular están controlados por la vacuola y, además, que la célula parenquimática madura se comporta como un osmómetro. En tal situación, la contribución de la matriz se desprecia ($\Psi_m = 0$), quedando:

$$\Psi = \Psi_p + \Psi_s \quad [2-19]$$

3.3.1. El potencial osmótico (Ψ_s) es negativo y expresa el efecto de los solutos en la disolución celular

El **potencial osmótico** viene determinado por la concentración de sustancias osmóticamente activas en la vacuola y es idéntico a la presión osmótica del jugo vacuolar (ecuación 2-14). En una célula vegetal, Ψ_s siempre posee valores negativos, que varían con el volumen celular, siendo más próximo a cero en las células totalmente hidratadas que en las deshidratadas. La dependencia de Ψ_s del volumen celular es, aproximadamente, lineal (Fig. 2-3).

Las membranas celulares no son nunca verdaderamente semipermeables sino, más bien, **diferencialmente permeables** (véase el Capítulo 7). La extensión en que las moléculas de soluto se pueden difundir a través de ellas se expresa multiplicando Ψ por el término σ , denominado **coeficiente de reflexión**, que adquiere valores de entre 0 y 1. Para una membrana verdaderamente semipermeable, $\sigma = 1$; para una membrana que es igualmente permeable al agua y a los solutos (o si no hay presente ninguna



membrana), $\sigma = 0$. Entonces, la ecuación anterior resulta: $\Psi = \Psi_p + \sigma\Psi_s$.

3.3.2. El potencial de presión (Ψ_p) es positivo y representa la presión ejercida por el protoplasto contra la pared celular

Cuando el agua entra en la célula, el volumen vacuolar aumenta y se ejerce una presión sobre las paredes celulares denominada **presión de turgencia**. Al mismo tiempo, se desarrolla en dirección opuesta una presión igual a la presión de turgencia, es decir, desde las paredes al interior celular. Esta última presión, denominada **presión de pared**, actúa como una presión hidrostática, aumenta el estado energético del agua en la célula y representa el **potencial de presión celular** (Ψ_p). Naturalmente, Ψ_p adquiere valores positivos siempre que la vacuola ejerza una presión sobre las paredes circundantes. A medida que el agua de la célula se pierde, la vacuola se contrae progresivamente, con una caída concomitante en la turgencia celular y Ψ_p (Fig. 2-3). Ψ_p se hace cero en una etapa denominada **plasmólisis incipiente**, en la cual la vacuola cesa de presionar sobre las paredes (Fig. 2-3). Ocasionalmente se ha informado de la existencia de valores negativos de Ψ_p , como un efecto ventosa sobre el interior de las paredes a consecuencia de la contracción vacuolar.

3.3.3. El potencial mátrico (Ψ_m) es negativo y expresa el efecto de los microcapilares y las superficies de paredes y componentes celulares en la retención del agua

Surge como consecuencia de las fuerzas que retienen moléculas de agua por capilaridad, adsorción e hidratación, principalmente en la pared celular y el citoplasma (matriz). En el primer caso, las microfibrillas de celulosa entrelazadas crean numerosos microcapilares en los que el agua queda retenida, fundamentalmente por tensión superficial. En el citoplasma, el agua es adsorbida en varias macromoléculas y coloides. Ψ_m se estimaba antes como despreciable cuando se consideraba a la célula análoga a un osmómetro. Tal suposición es razonable en aquellos casos en los que la matriz celular constituye una fracción pequeña del volumen celular total; por ejemplo, en células jóvenes de paredes finas. No obstante, en los tejidos con una elevada proporción de matriz (por ejemplo, en las xerófitas y en los meristemos de las mesófitas), Ψ_m no se puede ignorar y, por tanto, el enfoque del osmómetro no es válido. En cualquiera de los casos, el efecto de Ψ_m se hace más pronunciado a medida que el contenido hídrico disminuye.

4. RELACIONES HÍDRICAS EN CÉLULAS Y TEJIDOS

Las relaciones hídricas de células y tejidos vegetales se pueden describir mediante el **diagrama de Höfler** (Fig. 2-3),

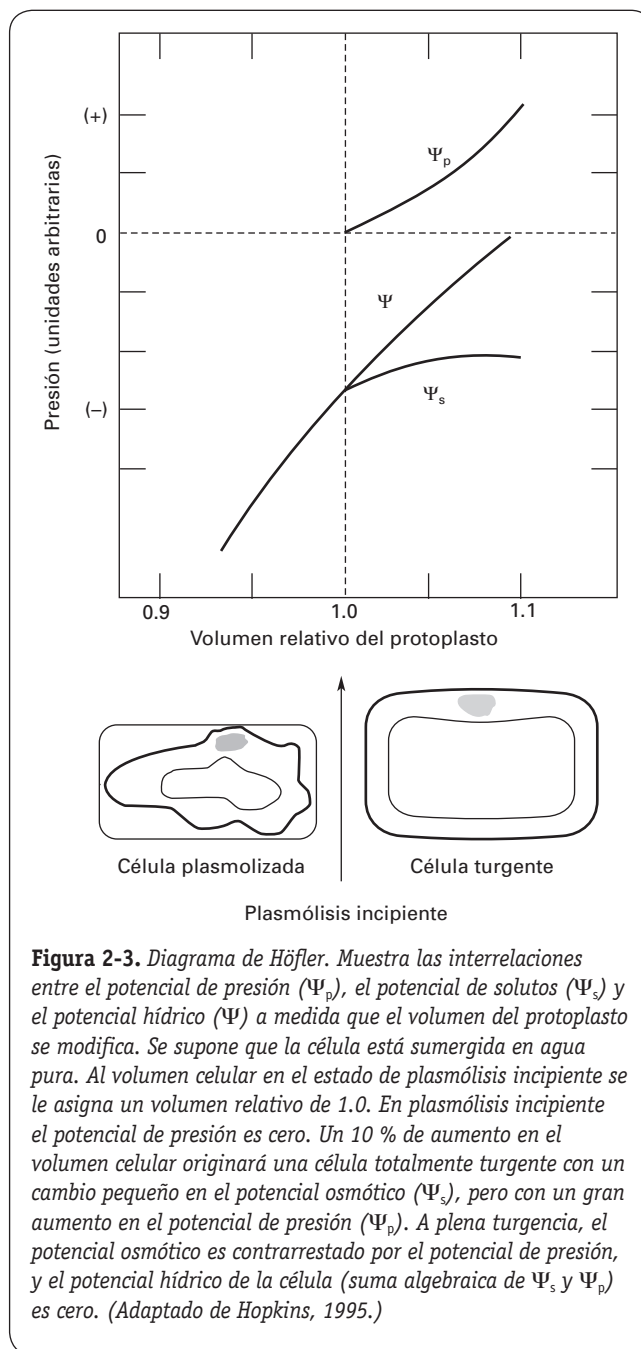


Figura 2-3. Diagrama de Höfler. Muestra las interrelaciones entre el potencial de presión (Ψ_p), el potencial de solutos (Ψ_s) y el potencial hídrico (Ψ) a medida que el volumen del protoplasto se modifica. Se supone que la célula está sumergida en agua pura. Al volumen celular en el estado de plasmólisis incipiente se le asigna un volumen relativo de 1.0. En plasmólisis incipiente el potencial de presión es cero. Un 10 % de aumento en el volumen celular originará una célula totalmente turgente con un cambio pequeño en el potencial osmótico (Ψ_s), pero con un gran aumento en el potencial de presión (Ψ_p). A plena turgencia, el potencial osmótico es contrarrestado por el potencial de presión, y el potencial hídrico de la célula (suma algebraica de Ψ_s y Ψ_p) es cero. (Adaptado de Hopkins, 1995.)

que muestra la interdependencia entre el volumen celular, Ψ , Ψ_s y Ψ_p , a medida que la célula pierde agua. Al volumen del protoplasto se le asigna un valor relativo de 1.0 en la **plasmólisis incipiente**, condición en la cual el protoplasto rellena el volumen celular no ejerciendo presión contra la pared ni tampoco separándose de ella. Por tanto, la presión turgente (Ψ_p) es cero y el potencial hídrico de la célula es igual a su potencial osmótico (Ψ_s). En cualquiera de los casos, el potencial hídrico de la célula (Ψ) viene determinado por la suma algebraica de la presión de turgencia (Ψ_p) y el potencial osmótico (Ψ_s) (compárese la ecuación 2-19 con la Fig. 2-3).

Los fenómenos de plasmólisis y de marchitez son aparentemente idénticos, pero hay algunas diferencias importantes.

La **plasmólisis** se puede estudiar en el laboratorio simplemente sometiendo a los tejidos a soluciones hiperosmóticas y observando al microscopio los cambios originados en el volumen del protoplasto. A medida que la plasmólisis progresa, el volumen del protoplasto disminuye, los plasmodesmos se rompen y el protoplasto se separa de la pared celular. El espacio existente entre la superficie externa del protoplasto (membrana plasmática) y la pared celular se llena con la solución externa, que penetra fácilmente en la pared celular. Por esta razón, normalmente la plasmólisis no origina sobre el protoplasto una presión negativa (o tensión) elevada. La plasmólisis constituye, esencialmente, un fenómeno de laboratorio y, con la posible excepción de condiciones extremas de déficit hídrico o de salinidad, rara vez se presenta en la naturaleza.

Por otra parte, la **marchitez** es la respuesta típica a la deshidratación en el aire en condiciones naturales. Debido a su extrema tensión superficial, el agua de los pequeños poros de la pared celular ofrece resistencia a la entrada del aire, y el protoplasto mantiene el contacto con la pared. Ello tiende a originar elevadas presiones negativas en la pared. El potencial hídrico de las células marchitas se hace aún más negativo, ya que representa la suma del potencial osmótico y del potencial de presión (ambos negativos).

Un factor importante que determina la forma de las curvas en la Figura 2-3 es la elasticidad de las paredes celulares. Si la pared celular es muy rígida, para una determinada pérdida de agua, el potencial hídrico y sus componentes cambian rápidamente. La rigidez de la pared se describe mediante el **módulo de elasticidad promedio de la célula** (ϵ), que se puede definir como:

$$\epsilon = \Delta P / (\Delta V/V) \quad [2-20]$$

Según la ecuación [2-20], un valor alto de ϵ significa que para producir un determinado incremento en el volumen celular ha de aplicarse una presión elevada. En otras palabras, cuanto mayor sea el valor de ϵ , tanto más resistente a la deformación será la pared celular.

Hay que destacar que este módulo de elasticidad es diferente del módulo de elasticidad del material de la pared celular en sí mismo y que, además, depende en parte de la estructura del tejido y de la naturaleza de las interacciones entre las células. Normalmente, los valores de ϵ para las células vegetales se encuentran entre 1 y 50 MPa; valores superiores indican células relativamente inelásticas o tejidos con células pequeñas.

Representando la ecuación [2-20] como:

$$\epsilon (\Delta V/V) = \Delta P \quad [2-21]$$

y suponiendo un valor nominal de $\epsilon = 10$ MPa, una modificación en el volumen de un 1% ($\Delta V/V = 0.01$) originará un cambio de presión de turgencia (ΔP) de 0.1 MPa. Para una célula típica con una presión de turgencia de 0.3 a 0.5 MPa, esto origina un aumento de un 20 a un 30% en el potencial de presión. Al mismo tiempo, el potencial osmótico, que es proporcional al volumen, sólo cambiaría un 1% (véase la Fig. 2-3). Por tanto, las alteraciones de potencial de presión

constituyen el principal determinante del potencial hídrico a medida que el contenido en agua de las células cambia.

La tasa de aumento del volumen celular también depende de las propiedades reológicas de la pared (relacionadas con su bioquímica) (véase el Capítulo 1).

$$(1/V) (dV/dt) = \phi (P - Y) \quad [2-22]$$

en donde Y es la presión umbral (P_a), o turgencia que ha de superarse antes de que se presente ninguna extensión, y ϕ es la **extensibilidad** ($s^{-1}Pa^{-1}$), que describe la tasa con la cual las células experimentan una expansión irreversible, siempre que se exceda Ψ . La extensibilidad contrasta con la elasticidad (ϵ), que se refiere a cambios reversibles en las dimensiones celulares.

Una de las consecuencias de la existencia de un módulo de elasticidad elevado es que las plantas, a diferencia de los animales, no necesitan **osmorregular** para mantener la integridad estructural de sus células. Para impedir la absorción continuada de agua y el posible riesgo de lisis de la membrana celular, las células animales han de gastar continuamente energía metabólica para excluir solutos y mantener un potencial osmótico apropiado. En las células vegetales, dicha función es desempeñada por la pared celular (véase el Capítulo 1). La **presión de turgencia** que se desarrolla por una pared celular fuerte y relativamente inelástica normalmente es suficiente para mantener un potencial hídrico apropiado e impedir un exceso de absorción de agua. Sin embargo, y ello es interesante, parece que muchas células vegetales mantienen el nivel determinado de presión que es inferior al máximo posible. Esto sugiere que las células han de poseer sensores de presión que ayuden a regular el contenido de solutos y, por tanto, a mantener la turgencia en los límites adecuados.

El diagrama de Höfler es apropiado para células aisladas. Sin embargo, en cualquier tejido las células difieren en tamaño, elasticidad de la pared y contenido en solutos. Además, existe un componente de presión provocado por las células circundantes. Por tanto, las propiedades de un tejido, aunque se puedan representar mediante este tipo de diagrama, pueden ser muy distintas de las correspondientes a las de las células que lo componen.

5. MEDIDA DEL POTENCIAL HÍDRICO Y SUS COMPONENTES

Los tres instrumentos más importantes para la medida del potencial hídrico y de sus componentes son el psicrómetro de termopares, la cámara de presión y la sonda de presión.

5.1. El método psicrométrico determina la presión de vapor relativa del aire en equilibrio con la del tejido

El **psicrómetro de termopares** se basa en el principio de que la presión de vapor relativa (e/e_0) de una solución, o

muestra de material vegetal, se halla relacionada con su potencial hídrico (Ψ), según la ecuación 2-9.

La muestra de material vegetal se coloca en una cámara herméticamente cerrada; al cabo de un tiempo de equilibrio, generará una presión de vapor relativa, o humedad relativa en la cámara, equivalente al potencial hídrico del tejido (Fig. 2-4 A).

Las medidas de Ψ_s y Ψ_p se pueden efectuar con los psicrómetros de termopares, eliminando uno de los componentes de la ecuación $\Psi = \Psi_s + \Psi_p$ y midiendo el otro.

Habitualmente se congela y descongela el tejido, rompiendo así las membranas. La rotura impide que se genere turgencia, y aunque la liberación de solución celular inunda la pared, los efectos mátricos son pequeños y, a menudo, se pueden desdeñar. En este caso, $\Psi = \Psi_s$. El Ψ_p se calcula a partir de la diferencia entre el Ψ del tejido vivo y el Ψ del tejido congelado/descongelado.

Una de las razones de que se haya utilizado profusamente la psicrometría de termopares para la determinación del potencial hídrico y sus componentes es que esta técnica se

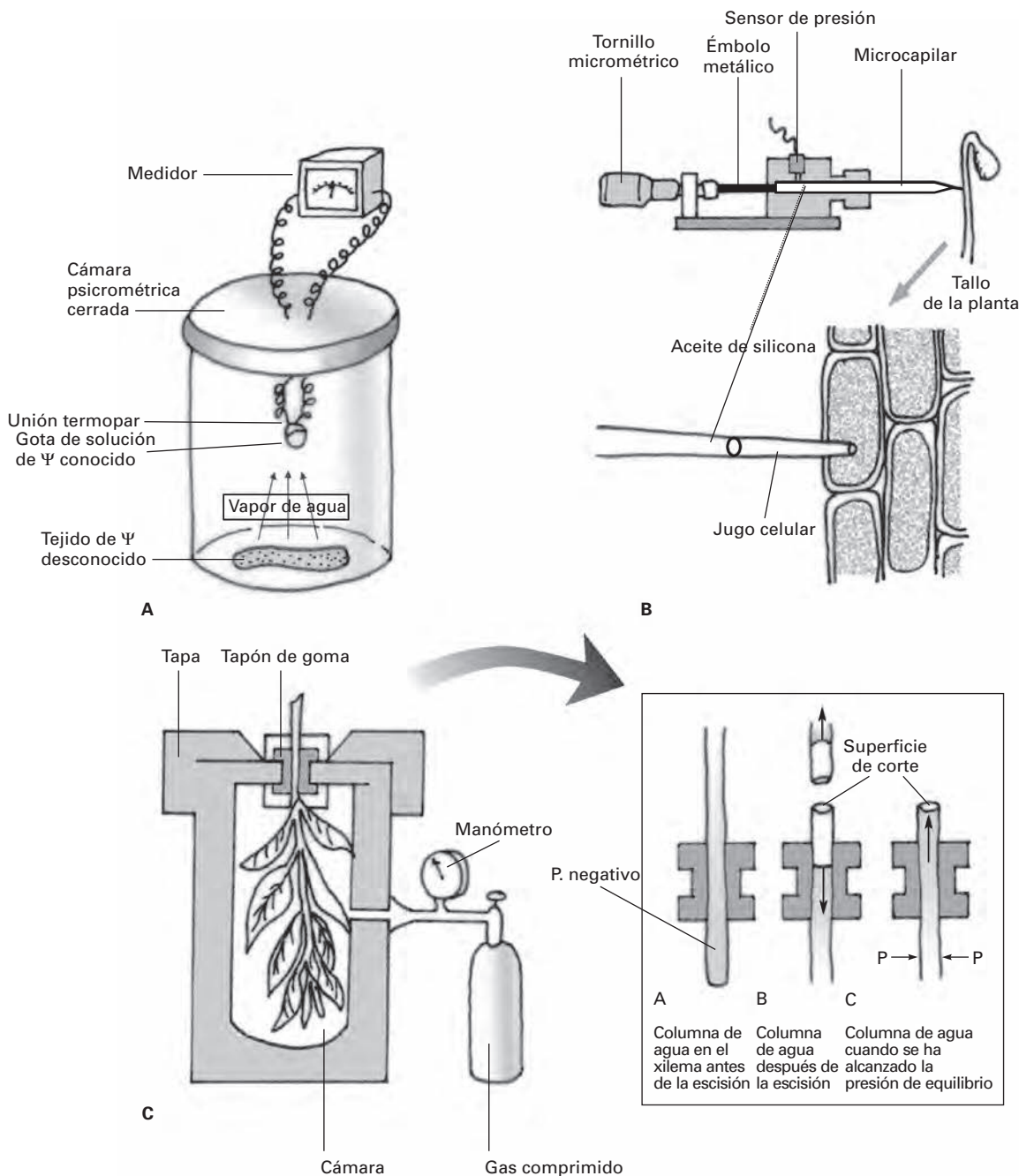


Figura 2-4. Diferentes métodos para la medida del potencial hídrico de la planta. A. Psicrometría. B. Sonda de presión. C. Cámara de presión (Adaptado de Azcón-Bieto y Talón, 2000.)

puede utilizar en cualquier parte del sistema suelo-planta. Además, sólo se necesita una pequeña porción de tejido; ello permite muestrear una hoja o raíz a medida que se somete la planta a diferentes condiciones. Los psicrómetros de termopares se han utilizado en hojas, tallos, raíces, nódulos de leguminosas, partes florales, polen y semillas en desarrollo.

5.2. El método de equilibrio de presión o cámara de presión es rápido y es el más utilizado en el campo

Durante muchos años, la investigación del estado hídrico de las plantas, llevada a cabo por fisiólogos vegetales y ecólogos, se ha visto limitada por la falta de un método sencillo, rápido, preciso y portátil. Para satisfacer esta necesidad, Scholander y cols. (1965) desarrollaron una técnica que mide el potencial hídrico en unidades de presión. El método consiste en aplicar presión sobre una hoja cortada hasta que aparezca el agua en el extremo seccionado del tallo o el pecíolo. Se interpreta que la presión positiva aplicada a la hoja corresponde a la presión que equilibra la presión negativa o tensión con la cual el agua estaba retenida en el interior del tallo antes del corte (Fig. 2-4 C) (véase el Capítulo 4). La **cámara de presión** mide el potencial matricial del apoplasto o pared celular. El potencial matricial del apoplasto (τ) es similar al potencial hídrico (Ψ) del simplasto adyacente, siempre que la resistencia al flujo entre el simplasto y el apoplasto no sea grande y que la presión osmótica (Π) del agua apoplástica sea próxima a cero, es decir:

$$\Psi = P_c - \pi = \tau - \pi \quad [2-23]$$

siendo P_c la presión aplicada en la cámara de presión. En la práctica, la presión osmótica del agua apoplástica es, ordinariamente, menor de 0.05 MPa, de tal manera que:

$$\Psi \cong \tau \cong P_c \quad [2-24]$$

Se ha demostrado que, cuando las células en el tejido alcanzan una presión de turgencia de cero, P_c se relaciona con el agua celular de la siguiente manera:

$$1/P_c = 1/\pi = (V_s - V)/RTN \quad [2-25]$$

siendo V_s el volumen hídrico simplástico en la hoja turgente; V el volumen de agua perdida en la hoja; R la constante universal de los gases; T la temperatura en $^{\circ}K$, y N el número de moles de soluto en el simplasto. Se supone que las células actúan como osmómetros perfectos, y que el agua del apoplasto no cambia durante la desecación de la hoja.

Una ventaja de la técnica de la cámara de presión es que no sólo mide rápidamente el potencial hídrico, sino que también se puede utilizar para medir la relación presión-volumen del tejido vegetal. Se ha demostrado que, si se aplica presión adicional a una hoja o rama por encima de la presión de equilibrio inicial, se obtiene líquido xilemático que se puede

recoger para determinar su volumen. Haciendo esto de una manera progresiva, se puede establecer una **curva presión-volumen** (Fig. 2-5). Una vez que la presión de turgencia alcanza valor cero, la representación de $1/P$ en función de V se hace lineal, como se indica en la ecuación anterior. Estas curvas posibilitan la determinación de un amplio espectro de parámetros hídricos en los tejidos, tales como potenciales osmóticos, ajustes osmóticos y propiedades elásticas.

Con algo de práctica, la cámara de presión puede constituir uno de los instrumentos más apropiados para la investigación de las relaciones hídricas.

5.3. La sonda de presión es el único instrumento que puede medir el estado hídrico de las células individuales

Los métodos convencionales, tales como la cámara de presión y los psicrómetros, determinan el potencial hídrico promedio del tejido completo, independientemente de que existan diferentes tipos de células. Además, dichos métodos requieren un equilibrio del flujo hídrico en el interior del tejido y presuponen que las membranas celulares son idealmente semipermeables a los solutos. En muchos casos, estas suposiciones no han sido comprobadas, y pueden provocar errores, tanto en la medida como en la interpretación de los resultados. Además, la cámara de presión y los métodos psicrométricos no son adecuados para medir la cinética del movimiento del agua ni para evaluar las cantidades de agua transportadas en las diferentes vías de un tejido complejo.

En contraste con estos métodos, la técnica de la **sonda de presión** permite determinar los parámetros de relaciones hídricas a nivel celular. La sonda de presión (Fig. 2-4 B) consta de un microcapilar (diámetro de la punta: 2 a 7 μm) relleno con aceite de silicona y conectado a una cámara de presión pequeña que contiene un sensor de presión.

Cuando el extremo del microcapilar se introduce en la célula, la turgencia celular (Ψ_p) hace retroceder el aceite en el capilar, formando un menisco a nivel de la interfaz entre el jugo celular y la capa de aceite. El menisco se puede situar en un punto concreto mediante un mecanismo manual o electrónico, y así se puede eliminar una determinada cantidad para modificar el volumen (V) y la turgencia celulares. Los cambios de volumen celular (ΔV) se obtienen a partir del diámetro del capilar y la distancia entre dos posiciones del menisco, mientras que el correspondiente cambio en la presión (ΔP) se registra mediante el sensor de presión. Cuando se conoce el volumen celular, se puede evaluar el **módulo de elasticidad** (ϵ) según la ecuación 2-20.

Una de las ventajas de la sonda de presión es que la presión de turgencia se puede medir con gran exactitud. Asimismo, la sonda de presión se puede utilizar para determinar el potencial hídrico de células individuales a partir de medidas directas de la presión de turgencia celular y del potencial osmótico del jugo extraído.

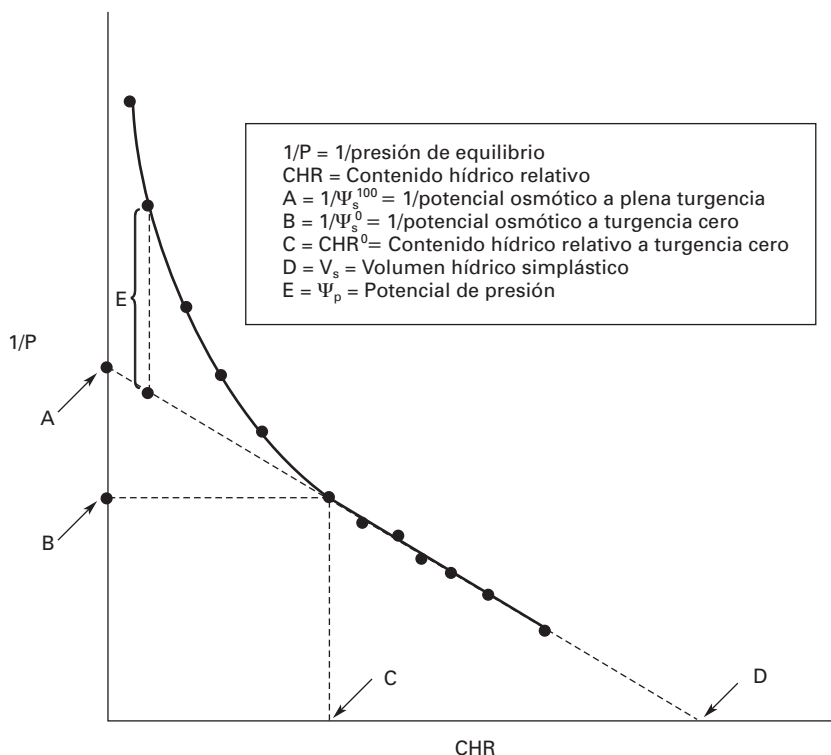


Figura 2-5. Curva de presión-volumen utilizada para determinar los componentes del potencial hídrico en las plantas. El recuadro representa los tipos de información sobre las relaciones hídricas en los tejidos que se pueden obtener a partir de la curva presión-volumen. (Adaptado de Nilsen y Orcutt, 1996.)

6. MOVIMIENTO DEL AGUA EN EL SISTEMA SUELO-PLANTA-ATMÓSFERA

6.1. El movimiento del agua en el suelo depende fundamentalmente de su potencial mátrico

El suelo es un sistema complejo que consta no sólo de proporciones variables de partículas de roca y materia orgánica que forman la matriz sólida, sino también de la disolución del suelo y del aire que ocupa el espacio poroso. El tamaño y la naturaleza química de las partículas, en especial su carga eléctrica superficial y la manera en que se disponen, determinan qué cantidad de agua se puede retener en el suelo en contra de la acción de la gravedad y con qué fuerza se retiene. Esta capacidad de retener el agua es una manera de describir el **potencial hídrico del suelo** y, como ya se indicó anteriormente, depende especialmente de las fuerzas de interfaz, representadas por el potencial mátrico. Puesto que en las capas superficiales del suelo existe poca variación en la presión hidrostática (de tal modo que Ψ_p = presión atmosférica = 0), y se encuentran pocos solutos presentes (excepto en suelos salinos), la ecuación [2-12] se simplifica a:

$$\Psi = -\Psi_m \quad [2-26]$$

Cuando las raíces de las plantas absorben agua, provocan una desecación local del suelo, que hace que el agua

se adhiera más firmemente a las partículas de éste. La disminución resultante del potencial mátrico actúa como una presión negativa o succión y disminuye el potencial hídrico del suelo. Por tanto, el agua se mueve de las partes más húmedas del suelo a las más secas, siguiendo gradientes de potencial mátrico, en parte por difusión, pero fundamentalmente por flujo masivo (véase el apartado 6.2).

La velocidad con la que el agua se mueve desde el suelo a las raíces depende de lo acusado que sea el gradiente de potencial hídrico y de la **conductividad hidráulica del suelo** (equivalente a la ecuación 2-27). La conductividad hidráulica del suelo es una medida de la facilidad con que el agua se mueve a través de él, y depende tanto del tipo de suelo como de su contenido hídrico. Cuando un suelo está totalmente mojado después de haber drenado por gravedad, (estado conocido como **capacidad de campo**), su potencial hídrico es próximo a cero. No obstante, a medida que el suelo se seca, el potencial mátrico desciende y el potencial hídrico se hace más negativo. Esto se muestra en la Figura 2-6, donde se representa la relación entre el Ψ del suelo y el contenido hídrico. Se denomina **porcentaje de marchitez permanente** al contenido hídrico del suelo con el cual las plantas se marchitan. No obstante, con independencia del tipo de suelo, en el porcentaje de marchitez permanente el potencial hídrico es relativamente uniforme, aproximadamente -1.5 MPa. Aunque existen algunas excepciones, la mayoría de las plantas son incapaces de extraer cantidades

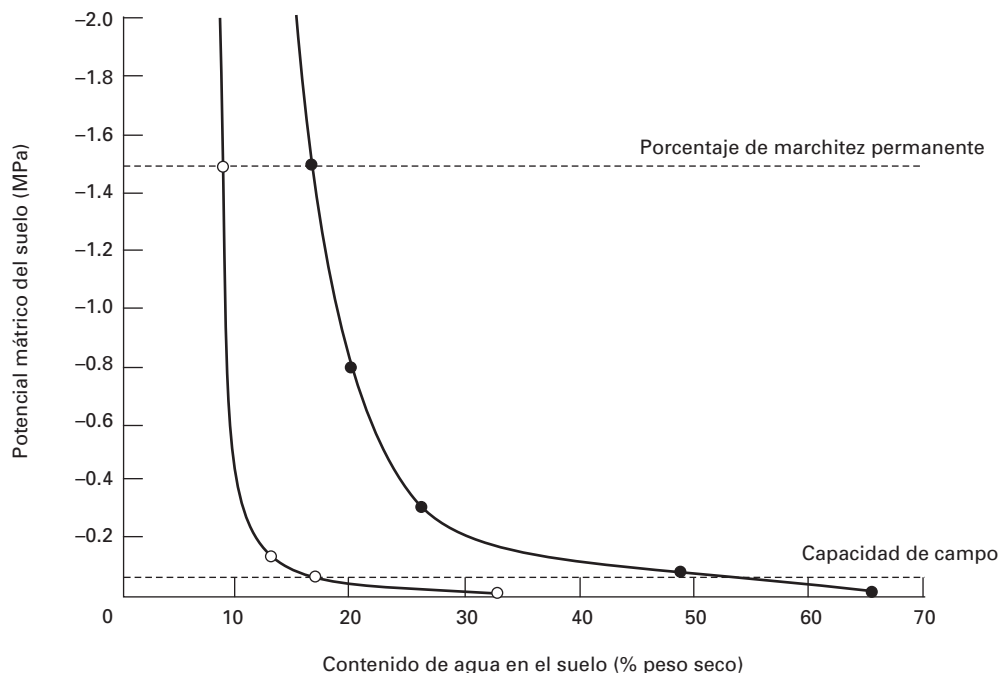


Figura 2-6. Potenciales mátricos de un suelo arenoso (○) y otro arcilloso (●) en función del contenido hídrico del suelo.

importantes de agua cuando el potencial hídrico del suelo se hace inferior a -1.5 MPa. En cierto modo, la capacidad de campo se puede considerar una propiedad del suelo, mientras que el porcentaje de marchitez permanente lo es de la planta. Tradicionalmente se ha definido como **agua disponible** la que existe entre la capacidad de campo y el porcentaje de marchitez permanente. Hay que decir, no obstante, que en este margen el agua no está uniformemente disponible. En un suelo que se seca, las plantas empezarán a mostrar signos de déficit hídrico y reducción del crecimiento mucho antes de que el potencial hídrico del suelo alcance el porcentaje de marchitez permanente.

La Figura 2-6 también muestra la gran diferencia que existe entre un suelo arenoso y un suelo rico en arcilla, tanto en lo que respecta a la capacidad para retener agua como en el agua disponible, diferencia que se refleja en la denominación que emplean jardineros y agricultores («ligero» y «pesado», respectivamente). Las partículas de arcilla son mucho más pequeñas que las de arena y, por tanto, existe mayor área superficial para retener el agua, así como canales más pequeños entre las partículas. En la capacidad de campo, la arena sólo contiene un tercio de la cantidad de agua que posee la arcilla. Cuando tienen el mismo contenido hídrico, los suelos arcillosos poseen un potencial hídrico muy inferior al de los arenosos.

6.2. El movimiento del agua en la planta está regido por gradientes de potencial hídrico

Un aspecto general del movimiento del agua en las plantas es que se trata de un proceso totalmente «pasivo». No exis-

ten bombas equivalentes a un corazón animal ni tampoco moléculas para el transporte activo primario o secundario del agua. Por tanto, en las células vegetales, el agua nunca es transportada activamente a través de las membranas por moléculas de transporte, aunque su movimiento pueda facilitarse mediante canales selectivos de agua (acuaporinas), (véanse el apartado 6.3 y el Capítulo 7). El transporte activo de moléculas de soluto (como, por ejemplo, iones o azúcares) puede provocar condiciones que causan un movimiento del agua; pero esto se considera también un proceso pasivo. Podemos decir que, en general, existen dos tipos de movimiento del agua: **flujo masivo** y **difusión**. El **flujo masivo** es el movimiento de moléculas de agua y solutos de manera conjunta y en una dirección, debido a las diferencias de presión. Ejemplos de ello son el flujo de agua en tuberías bajo gradiente de presión, la corriente de agua en un río provocada por la acción de la gravedad, la subida de la savia en el xilema de las plantas originada por la evaporación del agua en la parte aérea (véase el Capítulo 4) o el transporte de azúcares y otros asimilados en los tubos cribosos del floema (véase el Capítulo 5).

En cambio, el movimiento del agua entre o hacia las células vivas, o a través del suelo, tiene lugar, habitualmente, mediante **difusión**; en este caso, las moléculas de agua se mueven en todas las direcciones, si bien la mayoría de ellas lo hacen en una dirección particular y, por tanto, existe un flujo neto en esa dirección. De hecho, la **ósmosis** es un ejemplo de difusión inducida por una diferencia de potencial hídrico entre los dos lados de una membrana provocada, normalmente, por diferencias en la concentración de solutos. La velocidad del movimiento de las moléculas de agua en

estado líquido mediante difusión es la adecuada para realizar el transporte en las cortas distancias (micras) que existen a nivel celular.

En el transporte a larga distancia hay que resaltar la mayor importancia del flujo masivo, comparado con el movimiento difusivo. Así, por ejemplo, se ha estimado que pequeñas moléculas de solutos en disoluciones acuosas requerirían unos ocho años para difundirse en una distancia de 1 m. Sin embargo, los solutos y el agua transportada con ellos se pueden mover mediante flujo masivo en el xilema a razón de muchos metros por hora.

Uno de los motivos que ha conducido a la aceptación generalizada de la determinación del potencial hídrico ha sido el hecho de que el movimiento del agua en la planta se presenta a lo largo de gradientes de disminución de energía libre, de ordinario expresado como diferencias de Ψ . El agua se mueve desde zonas de mayor a zonas de menor potencial hídrico. En el interior de la planta, Ψ es más elevado en las raíces y disminuye progresivamente en el tallo, observándose los valores más bajos en las hojas (Fig. 2-7).

Por tanto, si se mide el Ψ en dos puntos de un sistema (por ejemplo, entre suelo y planta, o entre raíces y hojas), la dirección del flujo y del gradiente que determina los flujos se puede inferir fácilmente.

Además del movimiento del agua entre la planta y su ambiente, la difusión a lo largo de un gradiente de poten-

cial hídrico puede explicar también el movimiento del agua entre las células (Fig. 2-8). Las células individuales de un tejido pueden experimentar diferentes valores de Ψ_s y Ψ_p , dependiendo de las circunstancias específicas de cada una. No obstante, el agua fluirá a través de la serie de células en tanto en cuanto se mantenga un gradiente continuo de potencial hídrico. No obstante, lo que determina la velocidad del movimiento es la permeabilidad de las membranas celulares al agua, una propiedad conocida como **conductividad hidráulica**, L_p . El flujo hídrico, es decir, el volumen (en m^3) que atraviesa una unidad de área (en m^2) de membrana por unidad de tiempo ($m^3 m^{-2} s^{-1}$), se simplifica a velocidad del flujo ($m s^{-1}$), y tendremos, por tanto: velocidad del flujo ($m s^{-1}$) = conductividad hidráulica ($m s^{-1} MPa^{-1}$) x fuerza motriz (MPa). Es decir:

$$\text{Flujo hídrico o velocidad del flujo} = L_p \Delta\Psi \quad [2-27]$$

Así, por ejemplo, el flujo hídrico a través de una raíz se podría incrementar aumentando la conductividad hidráulica o el gradiente de potencial hídrico. Existen pruebas de que el regulador hormonal ácido abscísico (Capítulo 22), cuya concentración aumenta en condiciones de déficit hídrico, cumple las dos funciones. Una manera de alterar la L_p es mediante la activación o la síntesis de acuaporinas (véase el apartado 6.3). Cambios más generales en las propiedades de las membranas también podrían afectar a la L_p .

La conductividad hidráulica de las membranas de las células radicales varía ampliamente, no sólo en una misma raíz, sino también en diferentes momentos del día y según las especies. Así, por ejemplo, el valor máximo para *Phaseolus coccineus* es casi 40 veces superior al de la cebada o el trigo. De hecho, las membranas celulares de las raíces de *P. coccineus* son tan permeables que el agua puede, con la misma facilidad, atravesar las raíces por vía transcelular o a través de las paredes celulares (ruta apoplástica) (Capítulo 4). Generalmente, los trayectos que carecen de membranas celulares (por ejemplo, paredes celulares, suelo o xilema) poseen una conductividad hidráulica mucho mayor que los trayectos que contienen membranas.

6.3. Las acuaporinas facilitan el movimiento del agua a través de las membranas celulares y se les atribuyen otras muchas funciones

Durante muchos años ha existido incertidumbre sobre la manera en que el agua se movía a través de las membranas vegetales. No estaba claro si el movimiento del agua hacia las células vegetales se limitaba a la difusión a través de la bicapa lipídica de la membrana plasmática, o si se realizaba también mediante difusión a través de poros recubiertos de proteínas. Esta incertidumbre se disipó con el descubrimiento de los poros de agua o **acuaporinas** (Fig. 2-9). Las acuaporinas son canales proteicos que facilitan y regulan el movimiento del agua a través de las membranas. Constituyen una clase de proteínas relativamente abundantes en las

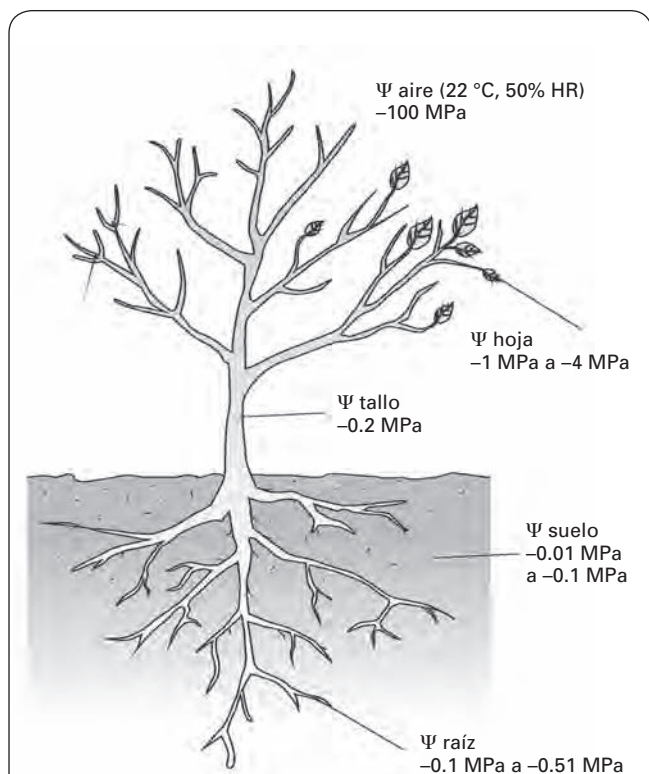


Figura 2-7. Potencial hídrico en el sistema suelo-planta atmósfera. El valor más negativo de Ψ se encuentra en la atmósfera. En la planta existe un gradiente, siendo el potencial más negativo en las hojas y menos negativo en las raíces, donde Ψ se aproxima al del suelo.

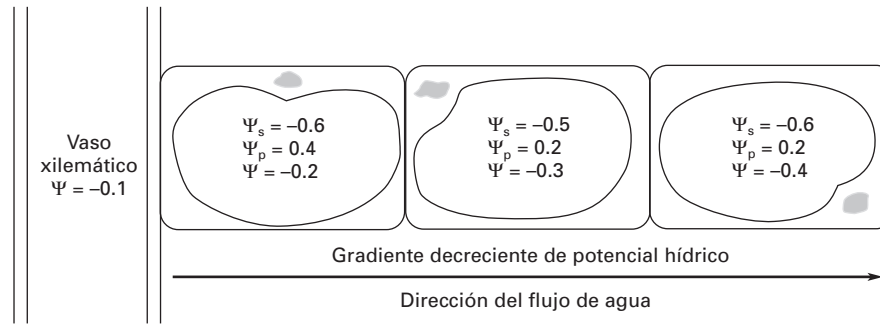


Figura 2-8. Diagrama en el que se ilustran las contribuciones del potencial osmótico (Ψ_s), el potencial de presión (Ψ_p) y el potencial hídrico (Ψ) al movimiento del agua entre las células. La dirección del movimiento del agua únicamente viene determinada por el valor del potencial hídrico entre las células adyacentes. (Adaptado de Hopkins, 1995.) Los valores de Ψ se expresan en MPa.

membranas vegetales. Pueden regular la absorción de agua, aumentando o disminuyendo el flujo hídrico a medida que se cierran o se abren, e incluso, su número puede aumentar o disminuir. Es importante destacar que, aunque la presencia de acuaporinas puede alterar la velocidad del movimiento del agua a través de la membrana, la dirección del transporte o la fuerza motriz para el movimiento del agua no cambian.

Se ha observado que el genoma de *Arabidopsis* codifica, aproximadamente, 35 acuaporinas y otras proteínas relacionadas. En respuesta a la disponibilidad de agua, parece ser que la expresión y la actividad de las acuaporinas están reguladas por la fosforilación de la proteína que forma el canal. Las acuaporinas también están reguladas por el pH, la concentración de calcio, la heteromerización, así como por especies reactivas de oxígeno. Este tipo de regulación puede explicar la capacidad de las células vegetales para alterar

rápida su permeabilidad al agua en respuesta a ritmos circadianos y factores de estrés tales como la salinidad, el frío, la sequía y la anoxia. La regulación también se presenta en la expresión de los genes. Las acuaporinas se expresan de forma acusada en las células epidérmicas y endodérmicas, así como en el parénquima xilemático. Todos ellos constituyen puntos cruciales para el control del movimiento del agua. Se abre así la posibilidad de que las plantas regulen activamente la permeabilidad al agua en sus membranas.

Algunas proteínas acuaporinas también transportan solutos sin carga. Actualmente se debate la posibilidad de que puedan actuar como conductos para la absorción de CO_2 en las células vegetales. También se ha sugerido la posibilidad de que las acuaporinas puedan funcionar como sensores de gradientes de potencial osmótico y turgente (Tyerman, S.D. y cols. *Plant, Cell and Environment* 25:173-194, 2002).

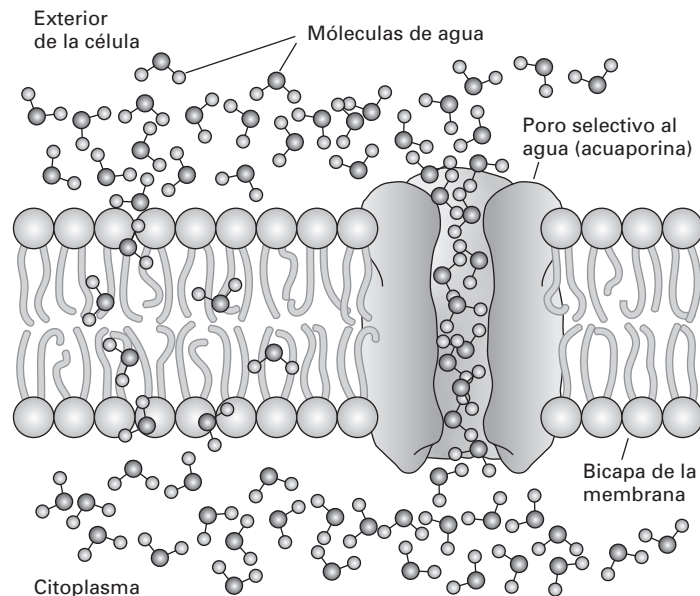


Figura 2-9. El agua puede atravesar las membranas vegetales mediante la difusión de moléculas individuales a través de la bicapa de la membrana, tal como se ilustra a la izquierda de la figura, así como mediante la difusión lineal a través de poros selectivos para el agua, formados por proteínas de membrana conocidas como acuaporinas. (Adaptado de Taiz y Zeiger, 2006.)

6.4. El concepto del continuo suelo-planta-atmósfera (SPAC) proporciona un modelo útil y unificado del flujo del agua desde el suelo a la atmósfera

Una contribución importante al estudio de las relaciones hídricas en las plantas es el tratamiento del movimiento del agua desde el suelo hacia las raíces, a través de la planta y hacia el aire, como una serie de procesos estrechamente interrelacionados. Este concepto, conocido como continuo suelo-planta-atmósfera o SPAC (*soil-plant-atmosphere continuum*), permite considerar todos los aspectos de las relaciones hídricas al estudiar el **balance hídrico de las plantas** (véase el Capítulo 4). El movimiento del agua en el sistema SPAC se considera similar al flujo de electricidad en un sistema conductor y, por tanto, se puede describir como un análogo a la ley de Ohm, es decir:

$$\text{Flujo} = \frac{\text{Diferencia de } \Psi}{\text{Resistencia}} \quad [2-28]$$

Este concepto se puede aplicar al flujo en equilibrio estable a través de la planta de la siguiente manera:

$$\begin{aligned} \text{Flujo} &= \frac{\Psi_{\text{suelo}} - \Psi_{\text{raíz}}}{r_1} = \frac{\Psi_{\text{raíz}} - \Psi_{\text{tallo}}}{r_2} \\ &= \frac{\Psi_{\text{tallo}} - \Psi_{\text{hoja}}}{r_3} = \frac{C_{\text{hoja}} - C_{\text{aire}}}{r_{\text{hoja}} + r_{\text{aire}}} \end{aligned} \quad [2-29]$$

donde r_1 , r_2 y r_3 constituyen las resistencias en las partes respectivas de la vía y C corresponde a la concentración de vapor de agua.

El concepto del continuo representa una teoría útil y unificadora en la cual el movimiento del agua a través de suelo, raíces, tallos y hojas, así como su evaporación hacia el aire, se pueden estudiar en términos de las fuerzas motrices y las resistencias que actúan en cada segmento. El concepto también es útil para analizar la manera en que diversos factores ambientales afectan al movimiento del agua. Así, por ejemplo, la **sequía en el suelo** provoca tanto un aumento en la resistencia al flujo de agua hacia las raíces como una disminución del potencial hídrico (véase el Capítulo 4); una aireación deficiente y una disminución de la temperatura del suelo aumentan la resistencia al flujo del agua en las raíces, y un incremento en la temperatura de la hoja y del aire aumentan la transpiración al incrementar el gradiente de concentración de vapor de agua o la fuerza motriz desde la hoja al aire (véanse el Cuadro 2-1 y el Capítulo 3). Asimismo, el cierre de los estomas aumenta la resistencia a la difusión del vapor de agua fuera de las hojas.

El concepto del continuo también facilita el desarrollo de modelos del movimiento del agua, como el que se muestra en la Figura 2-10. Los modelos pueden referirse tanto a estomas individuales como a comunidades de árboles. Los investigadores de modelos esperan que, en el futuro, se pueda predecir el comportamiento de la planta para un amplio espectro de condiciones ambientales.

No obstante, es importante resaltar que esta discusión elemental sobre el concepto del **continuo suelo-planta-**

CUADRO 2-1. Efecto del aumento de la temperatura en la concentración de vapor de agua en las hojas y gradiente de concentración de vapor desde la hoja al aire para una supuesta humedad relativa constante del 60%^a.

Parámetro	Temperatura (°C)		
	10	20	30
Concentración de vapor de agua en el tejido (g cm ⁻³)	9.41	17.31	30.40
Concentración de vapor de agua en el aire al 60% de humedad relativa (g cm ⁻³)	5.65	10.39	18.24
Gradiente de concentración de vapor de agua (g cm ⁻³)	3.76	6.92	12.16

^a Se supone que la concentración de vapor de agua del tejido foliar corresponde a la concentración de vapor de agua a saturación, puesto que la disminución provocada por los solutos celulares es sólo, aproximadamente, del 3%.

atmósfera constituye, por una serie de razones, una simplificación excesiva. En primer lugar, supone la existencia de condiciones de equilibrio estable en la planta, lo cual rara vez se cumple. Incluso en una misma planta, especialmente cuando se trata de árboles, el flujo puede variar entre los diferentes segmentos del continuo, ya que las distintas zonas del dosel están sometidas a un diferente régimen de radiación y demanda evaporativa. Por otra parte, el movimiento del agua en la fase líquida es proporcional a la diferencia

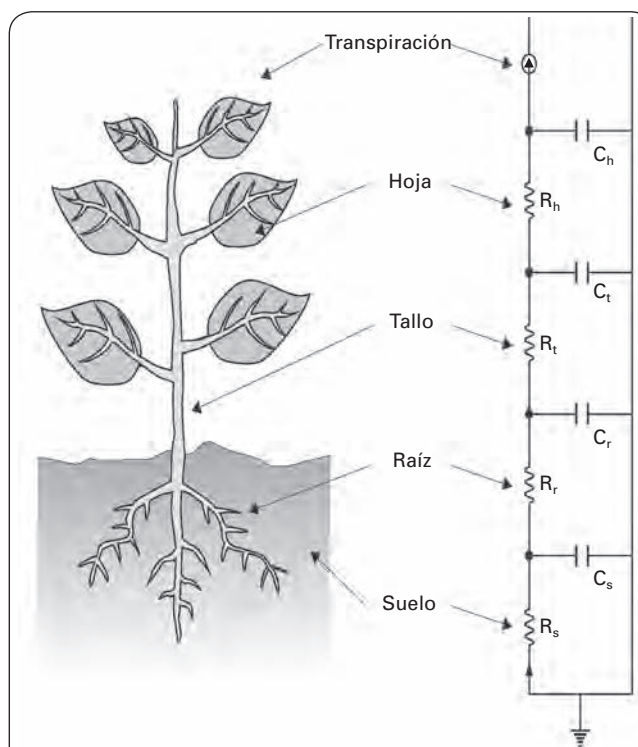


Figura 2-10. Vía del flujo de agua en el continuo suelo-planta-atmósfera (SPAC) que se describe utilizando una analogía con un circuito eléctrico. R se refiere a la resistencia y C a la capacitancia. (Adaptado de Jones, 1992.)

de potencial hídrico, mientras que el movimiento en la fase de vapor es proporcional al gradiente de concentración de vapor de agua. Por último, en el caso de especies leñosas, el tronco también sirve como un complejo reservorio de agua que es vaciado y rellenado tanto a lo largo del día como en las diferentes estaciones del año. En este caso, dicho almacenamiento de agua se puede incorporar en el análogo

eléctrico si se consideran los condensadores como parte del sistema (Fig. 2-10).

Dada la coherencia que el concepto SPAC da a las relaciones hídricas en las plantas, lo aplicaremos tanto al estudiar la transpiración o la pérdida de agua en las plantas (Capítulo 3) como al considerar la absorción y el transporte del agua (Capítulo 4).



RESUMEN

- El agua es esencial para la supervivencia el crecimiento y la actividad metabólica de las plantas. La estructura y las propiedades del agua influyen en la estructura y las propiedades de proteínas, membranas, ácidos nucleicos y otros constituyentes celulares.
- La cuantificación apropiada del estado hídrico de las plantas depende de los objetivos de la investigación, pero los conceptos de contenido hídrico relativo y potencial hídrico han resultado ser los más útiles.
- Mientras que el contenido hídrico relativo deriva de la cantidad de agua en un tejido comparada con la contenida en hidratación completa, el concepto de potencial hídrico se basa en la energía libre del agua y la consiguiente capacidad para predecir las direcciones del flujo a lo largo de gradientes decrecientes de energía libre.
- El potencial hídrico total comprende la influencia de varios potenciales componentes, como son los atribuibles a los efectos de los solutos (potencial osmótico), los efectos de la presión (potencial de presión o de turgencia) y los efectos de las superficies (potencial mátrico).
- Existen numerosos métodos para cuantificar el potencial hídrico y sus componentes, siendo los instrumentos más empleados los psicrómetros, la cámara de presión y la sonda de presión.
- El movimiento del agua en las plantas está regido por gradientes de potencial hídrico. Las acuaporinas facilitan el movimiento del agua a través de las membranas celulares, pero se les atribuyen otras muchas funciones. La integración del concepto de potencial hídrico con las vías de flujo correspondientes ha dado lugar al concepto del continuo suelo-planta-atmósfera, que constituye un modelo útil y unificado del flujo del agua desde el suelo hasta la atmósfera.



PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1 Una célula vegetal de epidermis de cebolla tiene un intercambio neto nulo de agua con una solución de ClNa 0.164 M a 25 °C. Al estudiar la plasmólisis incipiente (50% de células plasmolizadas), vemos que se presenta en una solución de ClNa 0.307 M, también a 25 °C. Calcule los distintos componentes del potencial hídrico de la célula en el estado inicial y al final de la plasmólisis. Consideramos que el Ψ_m es despreciable y que las membranas no son permeables al ClNa.
- 2 Se deja que una hoja marchita que tiene un Ψ de -1.5 MPa absorba agua hasta que su Ψ sea de -0.5 MPa y su Ψ_s de -1.4 MPa. ¿Cuál es el módulo de elasticidad, ϵ , para esa hoja?
- 3 ¿Cuál es el gradiente de potencial hídrico existente entre una hoja de castaño de Indias que tiene un Ψ de -1.0 MPa y la atmósfera que le rodea, si ésta tiene a 25 °C una humedad relativa del 65%?
- 4 Calcule el potencial hídrico y sus componentes (potencial osmótico y potencial de presión) de las células foliares de una planta de alubia que no intercambian agua con una disolución de sacarosa de 0.2M, y que entran en plasmólisis incipiente en una disolución de sacarosa de 0.5M. Considérese que el potencial mátrico es despreciable, que las células no sufren un cambio significativo en su volumen cuando se plasmolizan, y que la sacarosa no permeabiliza a través de la membrana ni se disocia. La temperatura del estudio fue de 27 °C.
- 5 ¿En qué medida el concepto de potencial hídrico ayuda a los fisiólogos vegetales a explicar los movimientos del agua?
- 6 ¿Puede sugerir una función importante de la turgencia en la planta?

PROBLEMAS Y CUESTIONES (Cont.)



- 7 Cuando una célula está totalmente turgente ¿cuál de las siguientes opciones es cero?
- presión de turgencia
 - presión de pared
 - potencial hídrico
 - potencial osmótico
- 8 ¿Es el potencial osmótico o el potencial de presión el que tiene la función más importante en la regulación del potencial hídrico en las células vegetales?

RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES



- 1 Estado inicial (antes de la plasmólisis): $\Psi = -0.8$ MPa; $\Psi_s = -1.5$ MPa; $\Psi_p = 0.7$ MPa.
Después de la plasmólisis: $\Psi = -1.5$ MPa; $\Psi_s = -1.5$ MPa; $\Psi_p = 0$ MPa.
- 2 $\varepsilon = 12.5$ MPa.
- 3 Gradiente de potencial hídrico: -58.3 MPa.
- 4 $\Psi = -0.5$ MPa ; $\Psi_s = -1.25$ MPa; $\Psi_p = 0.75$ MPa.
- 5 El movimiento del agua en la planta está regido por gradientes de potencial hídrico.
- 6 Permitir el aumento de volumen celular y, por tanto, el crecimiento de la planta.
- 7 c) Potencial hídrico.
- 8 Las alteraciones del potencial de presión constituyen el principal determinante del potencial hídrico a medida que el contenido de agua en las células cambia.

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA



- Azcón-Bieto J, Talón M. *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. Madrid, McGraw-Hill/Interamericana. Universitat de Barcelona, 2000.
- Boyer JS. *Measuring the Water Status of Plants and Soils*. New York, Academic Press, 1995.
- Hopkins WG. *Introduction to Plant Physiology*. New York, John Wiley & Sons, 1995.
- Jones HG. *Plants and Microclimate*. Cambridge, Cambridge University Press, 1992.
- Kramer PJ, Boyer JS. *Water Relations of Plants and Soils*. New York, Academic Press, 1995.
- Meidner H, Sheriff DW. *Water and Plants*. London, Blackie & Sons, 1976.
- Nilsen ET, Orcutt DM. *The Physiology of Plants Under Stress*. New York, John Wiley & Sons, 1996.
- Nobel PS. *Physicochemical and Environmental Plant Physiology*. Amsterdam, Elsevier Academic Press, 2004.
- Taiz L, Zeiger E. *Plant Physiology*. Sunderland (Massachusetts), Sinauer Associates Inc. Publishers, 2006.
- Tyerman SD, Niemietz CM, Bramley H. Plant aquaporins: multifunctional water and solute channels with expanding roles. *Plant, Cell and Environment* 2002; 25:173-194.

Transpiración y control estomático

MANUEL SÁNCHEZ-DÍAZ Y JONE AGUIRREOLEA



1. Introducción. 2. Transpiración. 3. Control estomático.

1. INTRODUCCIÓN

El proceso dominante en las relaciones hídricas de una planta es la absorción de grandes cantidades de agua a partir del suelo, su transporte a través de la misma y la pérdida eventual de vapor de agua hacia la atmósfera circundante debida a la **transpiración**. La consecuencia de la transpiración es especialmente evidente en los cultivos, donde se pueden necesitar varios centenares de litros de agua para producir un kilogramo de materia seca; con frecuencia, una transpiración excesiva origina reducciones considerables en la productividad. De hecho, la dificultad para desarrollarse de las plantas debida al déficit hídrico producido por la transpiración es la principal causa de pérdidas económicas y del fracaso de muchos cultivos en el mundo. Por ello, desde el punto de vista teórico y práctico, la transpiración es, sin duda, un proceso de considerable importancia.

Este capítulo estudia el fenómeno de la transpiración, así como los movimientos estomáticos, ya que la pérdida de agua a través de los estomas, o transpiración estomática, es el componente predominante de la transpiración.

2. TRANSPIRACIÓN

La transpiración se define como la pérdida de agua en la planta en forma de vapor. Aunque se puede perder una pequeña cantidad del vapor de agua a través de pequeñas aberturas (denominadas **lenticelas**) en la corteza del tallo y en las ramas jóvenes, la mayor proporción (más del 90%) se escapa por las hojas. En realidad, el proceso de la transpiración está muy ligado a la anatomía (Fig. 3-1). Las super-

ficies externas de una hoja típica de planta vascular están recubiertas por un depósito céreo dispuesto en varias capas, denominado **cutícula**. El componente principal de la cutícula es la **cutina**, un polímero heterogéneo de ácidos grasos hidroxilados de cadena larga (característicamente, 16 ó 18 carbonos). La formación de ésteres entre grupos hidroxilos y carboxilos de ácidos grasos próximos forma un entramado, originando una extensa red de polímeros.

La red de cutina se encuentra inmersa en una matriz de **ceras cuticulares**, que son mezclas complejas de hidrocarburos de cadena larga (hasta 37 átomos de carbono), alcoholes, aldehídos y cetonas. Debido a que las ceras cuticulares son muy hidrófobas, ofrecen una resistencia muy elevada a la difusión, tanto de agua líquida como de vapor de agua procedente de las células subyacentes. Por tanto, la cutícula sirve para restringir la evaporación del agua de las superficies externas de las células epidérmicas foliares, y protege a las células epidérmicas y a las del mesófilo subyacente de una potencial desecación letal.

La integridad de la epidermis y de la cutícula que la recubre es interrumpida por los estomas. El interior de la hoja está constituido por células fotosintéticas del mesófilo; la disposición algo dispersa de estas células origina un sistema interconectado de espacios aéreos intercelulares. Este sistema puede llegar a ser muy extenso, constituyendo en algunos casos hasta un 70% del volumen foliar total.

Las zonas de evaporación están localizadas tanto en las **cavidades subestomáticas**, sobre todo en la pared epidérmica interna próxima al poro estomático, como en las paredes celulares externas de las células epidérmicas, siempre que no exista un engrosamiento secundario importante (Fig. 3-1). Esto se ha deducido a la vista de la gran diferencia de densi-

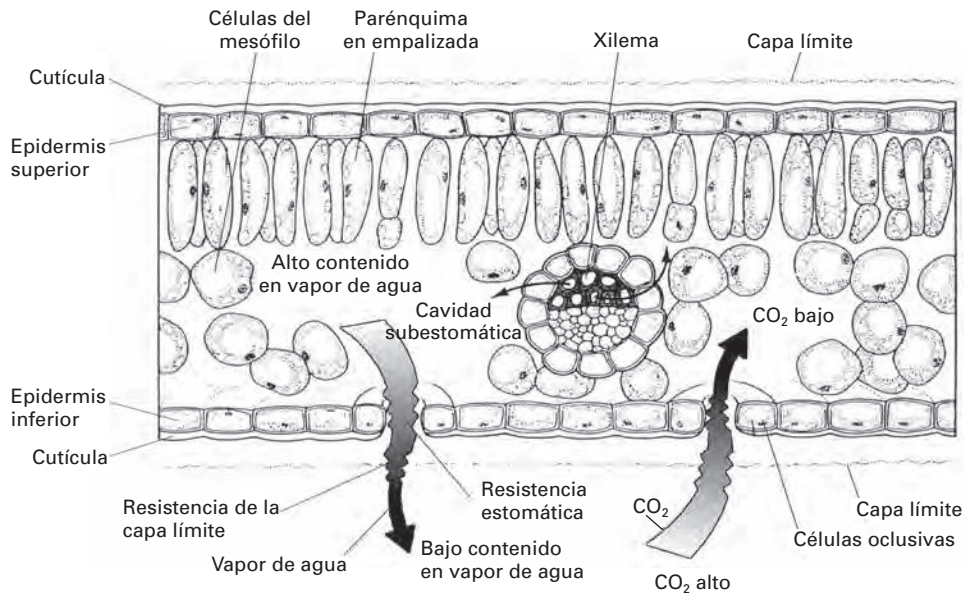


Figura 3-1. Ruta del agua a través de la hoja. El agua fluye desde el xilema hacia las paredes celulares del mesófilo, donde se evapora en los espacios aéreos en el interior de la hoja. El vapor de agua se mueve por difusión a través del espacio aéreo hacia el poro estomático, y atraviesa la capa límite de aire en contacto con la superficie de la hoja. El CO_2 también difunde hacia la hoja a través del estoma, según un gradiente de concentración. (Adaptado de Taiz y Zeiger, 2006.)

dad de vapor creada entre esos puntos, así como por la diferente suberización de las paredes de las células del mesófilo.

Una superficie mojada, expuesta al aire, cede tanto más vapor de agua por unidad de tiempo y área cuanto mayor sea el **gradiente de presión de vapor** entre la superficie y el aire. Por otra parte, la radiación intensa calienta la superficie foliar, lo que origina un gradiente de presión de vapor más acusado. Por tanto, las propiedades radiativas de la hoja (especialmente su albedo) desempeñan un papel esencial en la evaporación del agua en el mesófilo. La transpiración y el movimiento del agua a través de la planta se presentan incluso en condiciones de humedad elevada, cuando el aire está saturado con vapor de agua.

A lo largo de la vida de una planta, aproximadamente un 95% del agua absorbida pasa simplemente a través de ella y se pierde por transpiración. No obstante, hay que decir también que la evaporación del agua en las hojas proporciona la mayor parte de la energía para el movimiento del agua, dado que establece el gradiente de potencial hídrico (Capítulos 2 y 4).

2.1. El vapor de agua fluye de la hoja a la atmósfera mediante difusión a través de los estomas

La transpiración se puede considerar como un proceso de difusión (véase el Capítulo 2). Su intensidad depende, por una parte, del suministro de energía para vaporizar el agua y, por otra, del gradiente de concentración o presión de vapor y de la magnitud de las resistencias. La fuerza motriz

para el movimiento de agua líquida a través del tejido es la **diferencia de potencial hídrico** ($\Delta\Psi$), pero la fuerza motriz para el movimiento del vapor de agua es el **gradiente de concentración o presión de vapor** que, además de elevado, a menudo es constante. Por tanto, lo que determina el flujo variable de vapor de agua en la transpiración es la resistencia a la difusión de vapor hacia el exterior, o **resistencia difusiva** (r) (s m^{-1}). (Frecuentemente se utiliza $1/r = \text{conductancia}$, g , m s^{-1} .) La transpiración difiere de la evaporación en que el escape del vapor de agua está controlado, en gran medida, por las resistencias foliares a la difusión, las cuales no participan en la evaporación de una superficie de agua libre. Utilizando la ley de Ohm, que es un análogo eléctrico a la ley de Fick de la difusión, tendremos:

$$T = \frac{C_h - C_a}{r_h + r_a} = \frac{273}{PT} \frac{\rho_v}{r_h + r_a} \frac{e_h - e_a}{r_h + r_a} \quad [3-1a]$$

$$T = (C_h - C_a) g_w \quad [3-1b]$$

siendo T la transpiración ($\text{g m}^{-2} \text{s}^{-1}$); C_h y C_a la concentración de vapor de agua (g m^{-3}); r_h y r_a las resistencias al vapor de agua de la hoja y de la capa límite (véase el apartado 2.2); $g_w = 1/(r_h + r_a)$ la conductancia total al vapor de agua; e_h y e_a la presión de vapor (mbar) de las superficies evaporantes en el interior de la hoja (h) y en el aire (a). El término $273 \rho_v/PT$ (en el que ρ_v es la densidad del vapor de agua en g m^{-3} ; P es la presión atmosférica en mbar, y T la temperatura absoluta en $^\circ\text{K}$) convierte la concentración de vapor en presión de vapor.

La temperatura foliar determina el valor de C_h y e_h , dado que la concentración de vapor en las cavidades subestomáti-

cas se considera similar a la del aire saturado (véanse el Capítulo 2 y el Cuadro 2-1). En cuanto a C_a y e_a , dependen tanto de la temperatura como de la humedad relativa del aire.

La ecuación anterior también se puede expresar en términos de diferencia de potencial hídrico ($\Delta\Psi$) entre la hoja y el aire. Si consideramos una situación en la que el aire tenga una humedad relativa (HR) del 50% y una temperatura de 20 °C, su Ψ será -94.1 MPa (véase el Capítulo 2, y la ecuación 2-17). Naturalmente, el Ψ de la atmósfera se hace más negativo tanto con el aumento del **déficit de saturación de vapor** en la atmósfera, como con el aumento de la temperatura. El valor tan negativo del potencial hídrico en la atmósfera, en comparación con los valores de potencial hídrico normalmente encontrados en los tejidos vegetales, indica que el mayor gradiente de potencial hídrico en todo el sistema se presenta en el segmento hoja-aire. Este hecho destaca la importancia de un control preciso, pero flexible, del flujo de vapor de agua en ese trayecto de la vía.

2.2. La resistencia estomática a la difusión limita la tasa transpiratoria

Las resistencias relacionadas con la transpiración requieren una atención especial. La **resistencia foliar** (r_h) se refiere al flujo de vapor a través de los estomas y la cutícula. Se considera que r_h consta de dos resistencias conectadas en paralelo:

$$1/r_h = 1/r_c + 1/r_e \quad [3-2]$$

En el caso de hojas anfiestomáticas:

$$1/r_h = 1/r_{\text{cara superior}} + 1/r_{\text{cara inferior}} \quad [3-3]$$

La **resistencia estomática** (r_e) depende del número de estomas por unidad de área foliar, así como de su geometría y del grado de abertura. Las variaciones en la abertura estomática se producen como consecuencia de cambios en la turgencia de las células oclusivas (véase el apartado 3). La **resistencia cuticular** (r_c) depende de las características de la cutícula foliar. Una r_c elevada se asocia con cutículas gruesas o enriquecidas con materiales hidrófobos; no es controlada por la planta como lo es r_e y disminuye con el aumento de la temperatura y de la humedad relativa. Cuando se compara con los valores mínimos de r_e , r_c es de 1 a 2 órdenes de magnitud superior (Cuadro 3-1). Por tanto, durante el día, la **transpiración cuticular** es despreciable en relación con la **transpiración estomática**. La importancia ecológica de r_c es más aparente durante la noche; cuando los estomas se cierran, las **xerófitas** alcanzan valores mucho más elevados de r_c que las **mesófitas**, mostrando así tasas inferiores de transpiración cuticular.

Además de las dos resistencias mencionadas, el vapor de agua que se difunde fuera de la hoja encuentra una tercera resistencia, la de la capa límite de aire relativamente en calma, casi saturado de vapor de agua, que cubre la superficie foliar: la **resistencia de la capa límite** o **capa estacio-**

CUADRO 3-1. Resistencias (r) al transporte de agua en hojas con saturación luminosa y 22 °C. (Según Holmgren *et al.*, 1965; adaptado de Azcón-Bieto y Talón, 2000.)

Especie vegetal	Resistencias al transporte de vapor de agua ($s\ m^{-1}$)		
	Cutícula r_c	Estoma (abierto) r_e	Capa límite r_a
<i>Helianthus annuus</i>	—	38	55
<i>Lamium galeobdolon</i>	3700	1060	73
<i>Circaea lutetiana</i>	9000	1610	61
<i>Acer platanoides</i>	8500	470	69
<i>Quercus robur</i>	38000	670	69
<i>Betula verrucosa</i>	8300	92	80

aria (r_a), es proporcional al grosor de la capa de aire quieto (d) en contacto con la superficie foliar:

$$r_a = d/D \quad [3-4]$$

siendo D el coeficiente de difusión del vapor de agua al aire (aproximadamente $0.24\ cm^2\ s^{-1}$). La velocidad del viento afecta extraordinariamente al grosor de la capa límite, de tal forma que disminuye con el aumento de la velocidad. Por tanto, también se ha sugerido la siguiente expresión para calcular r_a :

$$r_a = 1.3 \sqrt{l/u} \quad [3-5]$$

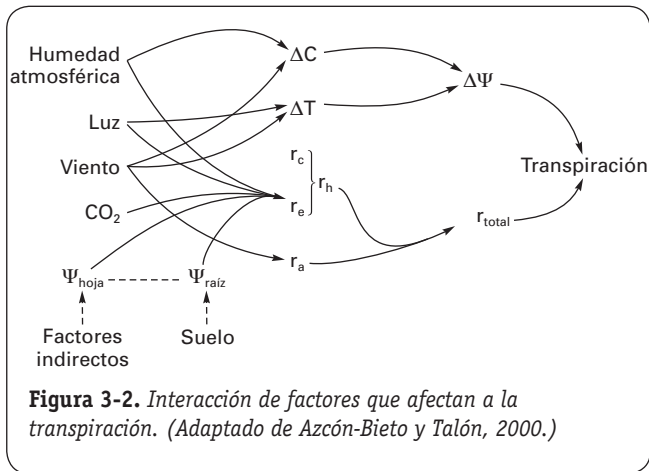
siendo l el ancho de la hoja y u la velocidad del viento. Generalmente, r_a varía entre 10 y 100 $s\ m^{-1}$ para un espectro normal de velocidades del viento y formas foliares.

En la mayoría de las plantas, la resistencia estomática es la que normalmente limita la tasa transpiratoria.

Nota: El inverso de la resistencia total al vapor de agua ($1/[r_h + r_a]$) es la conductancia total al vapor de agua (g_w).

2.3. La interacción entre factores ambientales y endógenos determina la intensidad transpiratoria

Los factores ambientales más importantes que afectan a la transpiración son: radiación, déficit de presión de vapor del aire, temperatura, velocidad del viento y suministro de agua. Entre los factores de la propia planta figuran: el área foliar, la estructura y exposición foliares, la resistencia estomática y la capacidad de absorción del sistema radical. Las interacciones complejas entre estos factores se pueden describir en función de sus efectos sobre los componentes de resistencia y energía en la ecuación 3-1. El hecho importante es que un cambio en uno de los factores que afectan a la transpiración no produce, necesariamente, un cambio proporcional en la tasa transpiratoria, ya que la intensidad está controlada por más de un factor, y hay que tener en



cuenta, además, que el factor controlador varía constantemente. Un buen ejemplo puede ser el efecto del viento. Si inicialmente las hojas están más frías que el aire, el viento puede aumentar la transpiración; si están más calientes, al enfriarlas, puede disminuirla. En la Figura 3-2 se indica el complejo entramado de la interacción de factores que determina la intensidad transpiratoria.

2.4. El método gravimétrico y el de medida de la pérdida de vapor de agua son los más utilizados para cuantificar la transpiración

El método gravimétrico consiste en determinar el peso que pierde la planta a causa de la transpiración. Se parte de la planta bien regada en maceta, teniendo la precaución de cubrir la superficie del suelo con material impermeable. Este método puede utilizarse también en condiciones de campo, utilizando los denominados **lisímetros**, que consisten en grandes recipientes rellenos de suelo (a veces, varios metros cúbicos), que se apoyan sobre dispositivos de pesada y cuyo conjunto se entierra en el suelo. El lisímetro se suele considerar el instrumento más apropiado y exacto para realizar estudios de campo, especialmente en cultivos, pero es caro y no es portátil.

Para cuantificar la transpiración mediante el estudio de la pérdida de vapor de agua se encierra una hoja o una rama en una cámara transparente dotada con flujo de aire. La transpiración se estima como la diferencia de contenido hídrico entre el aire que entra y el que sale de la cámara. También se pueden medir la temperatura, el contenido de anhídrido carbónico y otros parámetros, simultaneando las medidas de transpiración con las de abertura estomática y de tasas fotosintéticas (véase el Capítulo 13). Este método se puede utilizar para estudios en condiciones de campo, encerrando árboles completos o un conjunto de plantas en el interior de una cubierta de plástico. Los **métodos de intercambio de gases**, bien a pequeña escala en el laboratorio, o en condiciones de campo, están limitados para estudios a corto plazo. El hecho de encerrar una planta puede, a largo plazo, alterar significativamente el microclima que rodea las hojas.

Condiciones tales como la temperatura, la humedad y el flujo del aire han de registrarse y controlarse cuidadosamente. No obstante, las cámaras y los sistemas de medida pueden hacerse muy portátiles y, en la actualidad, se dispone de un gran número de instrumentos comerciales que se pueden utilizar en estudios de campo. Una técnica que probablemente será de gran valor en el futuro se basa en la determinación de la intensidad transpiratoria a partir de estimaciones de la velocidad del **flujo de savia** (véase el Capítulo 4).

La transpiración en ecosistemas naturales a gran escala es difícil de medir y, normalmente, se calcula de forma indirecta. Aquí el investigador calcula esencialmente el **balance hídrico**, considerando tanto los aportes (precipitación) como las pérdidas (almacenamiento en el suelo, drenaje, escorrentía, etc.). Se considera que la transpiración equivale a la diferencia entre aportes y pérdidas.

2.5. La eficiencia en el uso del agua es una medida de la eficacia de los estomas para maximizar la fotosíntesis reduciendo, al mismo tiempo, la pérdida de agua

Existe un interés considerable en relacionar la producción vegetal con las medidas de pérdida de agua por evaporación correspondientes a la zona en la que se desarrollan las plantas. Lógicamente, en los sistemas manejados por el hombre, pertenecientes a ambientes con escasez de agua, existe una manifiesta necesidad de maximizar el crecimiento teniendo en cuenta la cantidad de agua disponible. La **eficiencia en el uso del agua** (*WUE: water use efficiency*), se refiere precisamente a un parámetro de producción. Un objetivo importante de la investigación en esta área es alcanzar una elevada *WUE* manteniendo alta la productividad.

La eficiencia en el uso del agua es un parámetro que se puede tomar en consideración a diferentes niveles, y es necesario tener precaución a la hora de emplearlo. En lo que se refiere a la hoja, la *WUE* (también denominada **eficiencia en el uso del agua de la fotosíntesis**, WUE_{ph}) es:

$$WUE_{ph} = \frac{\text{absorción neta de CO}_2 \text{ (}\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}\text{)}}{\text{tasa transpiratoria (mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}\text{)}} \quad [3-6]$$

Por lo que se refiere a una comunidad o cultivo, la *WUE* (también denominada **eficiencia en el uso del agua de la productividad**, WUE_p) es el total de materia seca producida por unidad de agua consumida en la **evapotranspiración** (evaporación del suelo y transpiración de las plantas):

$$WUE_p = \frac{\text{materia seca o rendimiento del cultivo (kg ha}^{-1}\text{)}}{\text{agua consumida en evapotranspiración (kg ha}^{-1}\text{)}} \quad [3-7]$$

En este último caso, la falta frecuente de datos sobre la materia seca de las raíces hace que los resultados se calculen teniendo en cuenta únicamente la materia seca de los órganos aéreos. Algunos autores han propuesto utilizar el término **eficiencia transpiratoria**, mejor que eficiencia en

el uso del agua, para referirse al total de la producción de materia seca por unidad de agua transpirada.

En lo que se refiere a la hoja, se ha visto que tanto los factores ambientales como los de la propia planta influyen en la eficiencia transpiratoria. El factor ambiental más importante es la humedad atmosférica. Un aumento en el **déficit de presión de vapor de la atmósfera** (disminución de la humedad relativa) elevará la transpiración sin un incremento simultáneo en la fotosíntesis, lo cual conduce a una disminución en la eficiencia transpiratoria. Por tanto, una elevada temperatura del aire, a través de su efecto en el déficit de presión de vapor, reducirá la eficiencia transpiratoria. Asimismo, las plantas propias de regiones frías tendrán mayor eficiencia transpiratoria que las plantas propias de regiones cálidas, debido a la menor demanda evaporativa en la región fría. El déficit hídrico, al producir un cierre estomático, aumentará la eficiencia transpiratoria; no obstante, un incremento simultáneo en la resistencia interna a la absorción de CO_2 puede impedir tal aumento y, por tanto, hacer que el déficit hídrico afecte muy poco o casi nada a la eficiencia transpiratoria.

Por lo general, la eficiencia transpiratoria de especies C4 suele ser el doble de la de las especies C3. Esta diferencia aumenta con la temperatura en el intervalo comprendido entre 20 y 35 °C. El mayor valor en las especies C4 se debe, fundamentalmente, a las mayores tasas de fotosíntesis y crecimiento, sobre todo en condiciones de intensidad luminosa y temperatura elevadas (véanse los Capítulos 12 y 13).

Se ha desarrollado una técnica que permite conocer la eficiencia transpiratoria de una manera integrada, a lo largo de todo el desarrollo y en condiciones de campo. La técnica de **discriminación isotópica del carbono** se basa en que la primera enzima que participa en la fijación de CO_2 en especies C₃, la rubisco (véase el Capítulo 11), discrimina fuertemente en contra del isótopo pesado $^{13}\text{CO}_2$ (1%) en comparación con el isótopo más abundante $^{12}\text{CO}_2$ (99%), mientras que la difusión a través de los estomas sólo discrimina débilmente en contra del $^{13}\text{CO}_2$. Por tanto, con los estomas abiertos (y resistencias a la difusión bajas) existe una mayor discriminación en contra del $^{13}\text{CO}_2$ que cuando se produce una limitación difusiva frente a la asimilación de CO_2 por cierre estomático. La teoría predice una relación lineal entre el grado de discriminación por el ^{13}C (Δ) y la concentración interna de CO_2 , ya que:

$$\Delta = (4.4 + 22.6 p_i/p_a)10^{-3} \quad [3-8]$$

siendo, p_i = presión parcial interna del CO_2

p_a = presión parcial externa del CO_2

Puesto que la eficiencia transpiratoria está también relacionada con la concentración de CO_2 en el interior de las hojas, existe una relación lineal de tipo negativo entre la discriminación por el ^{13}C (Δ) y la eficiencia transpiratoria. Se trata, por tanto, de una técnica francamente útil para estudiar las diferencias genotípicas en la eficiencia transpiratoria. La técnica consiste en analizar, mediante espectrometría de masas, la relación de abundancia molar relativa de ^{13}C a ^{12}C en hojas viejas de plantas de la misma edad y

pertenecientes a diversos genotipos. Las desigualdades que se presenten estarán relacionadas con las diferencias en la eficiencia transpiratoria durante la acumulación de carbono atmosférico a lo largo de toda la vida de la hoja; por eso recibe el nombre de **eficiencia transpiratoria intrínseca o integrada**. En cambio, el método basado en determinar la eficiencia transpiratoria mediante intercambio de gases en un determinado momento de la vida de la planta servirá para obtener la denominada **eficiencia transpiratoria instantánea o actual**. Es decir, en este último caso, para tener una idea integrada de toda la vida de la planta haría falta realizar dichas medidas a lo largo del día y en diferentes momentos del desarrollo, lo cual, teniendo en cuenta las limitaciones de la metodología del intercambio de gases, además de ser difícil sólo permitiría el seguimiento simultáneo de un número muy limitado de individuos. Todo ello pone de manifiesto el interés actual por la determinación de la composición isotópica del carbono para estimar la eficiencia transpiratoria de una manera cómoda e integrada.

3. CONTROL ESTOMÁTICO

Las plantas terrestres se enfrentan con demandas opuestas. Por una parte, la atmósfera se encuentra tan alejada de la saturación de agua que la planta corre peligro de deshidratarse, a pesar de que la **cutícula** sirve como barrera efectiva a la pérdida de agua. Por otra parte, una barrera completa bloquearía el intercambio de O_2 y CO_2 , que es esencial para la respiración y la fotosíntesis.

La solución funcional a este dilema es la **regulación temporal** de las aberturas estomáticas. Por la noche, cuando no hay fotosíntesis y, por tanto, no existe demanda por el CO_2 en el interior de la hoja, las aberturas estomáticas se reducen, impidiéndose una pérdida innecesaria de agua. Por la mañana, cuando el suministro de agua es abundante y la radiación solar favorece la actividad fotosintética, la demanda por el CO_2 en el interior de la hoja es grande, y los poros estomáticos están muy abiertos, disminuyendo la resistencia estomática a la difusión del CO_2 . En estas condiciones, la transpiración estomática también tiene un aspecto positivo. En primer lugar, origina la corriente transpiratoria que transporta rápidamente los nutrientes minerales desde las raíces a las partes aéreas en crecimiento y, en segundo lugar, enfría las hojas cuando el tiempo es caluroso o la luz es potente. Por tanto, cuando el agua es abundante los estomas pueden desempeñar un papel importante en la regulación térmica. No obstante, en su conjunto, la transpiración es más un mal necesario que una ventaja, y la necesidad de obtener CO_2 entra en conflicto directamente con la necesidad de conservar el agua. Muchas plantas, especialmente en hábitat secos, mantienen un equilibrio precario entre «inanición» y desecación y, asimismo, el riesgo de embolia en los árboles frecuentemente exige una disminución rápida de la transpiración (véase el Capítulo 4). Éstas son las razones que explican por qué la capacidad para abrir y cerrar los poros estomáticos es esencial, y por qué los estomas se consi-

deran como válvulas gobernadas por turgencia, que regulan el intercambio de gases. Así pues, los estomas desempeñan un papel vital en el mantenimiento de la homeostasis de la planta, y de ahí la importancia de conocer, por una parte, la forma en que los poros se abren y se cierran, y, por otra, los factores que controlan estos procesos.

3.1. Los estomas son poros situados en la superficie foliar que permiten el intercambio de gases y cuyo diámetro varía por cambios en la turgencia de las células oclusivas

Los estomas se encuentran en las partes aéreas de prácticamente toda la flora terrestre, incluyendo los esporofitos de musgos, helechos, gimnospermas y angiospermas. Aunque son más abundantes en las hojas, también se encuentran en otros tejidos verdes tales como tallos, frutos y partes de inflorescencias (por ejemplo, aristas de gramíneas y sépalos de angiospermas). Tienden a ser más frecuentes en la superficie inferior de las hojas y, en algunas especies, especialmente de árboles, sólo se encuentran en la epidermis inferior. Las hojas con estomas en ambas caras se denominan anfiestomáticas, y las que sólo los tienen en la epidermis inferior se denominan hipoestomáticas.

El **estoma** consta de un poro u ostiolo rodeado de dos **células oclusivas** o **de guarda** (Fig. 3-3) en forma de riñón o, en las gramíneas y ciperáceas, en forma de pesas de gimnasia. En muchas especies, los estomas poseen estructuras protectoras especiales, o el poro está parcialmente ocluido por **ceras** que contribuyen a aumentar la resistencia difusiva. Tanto la frecuencia como el tamaño pueden variar en función de la posición foliar y de las condiciones de crecimiento; incluso dentro de una misma especie puede existir un gran componente genético de variación entre los diferentes ecotipos.

Los movimientos estomáticos dependen de cambios en la **presión de turgencia**, tanto de las células oclusivas como de las células epidérmicas adyacentes. Estas últimas a veces se modifican para formar **células anexas** diferentes. El conjunto de células oclusivas y anexas recibe el nombre de **aparato estomático**. Los cambios de turgencia pueden deberse a una modificación en el potencial hídrico (Ψ) de las células oclusivas (**mecanismo hidropasivo**), o bien a cambios activos en el potencial osmótico (Ψ_s) (**mecanismo hidroactivo**). Ambos mecanismos implican el movimiento del agua hacia dentro o fuera de las células oclusivas. El diámetro del **poro estomático** depende de la forma de las células oclusivas que, a su vez, depende de las propiedades de las paredes celulares y de su turgencia, en relación con la turgencia de las células circundantes.

Los cambios en el tamaño del poro se deben a ciertas propiedades peculiares de las células oclusivas:

- Pueden alterar rápida y reversiblemente su turgencia (es decir, su contenido hídrico) y, a medida que esto sucede, el volumen de la célula cambia.

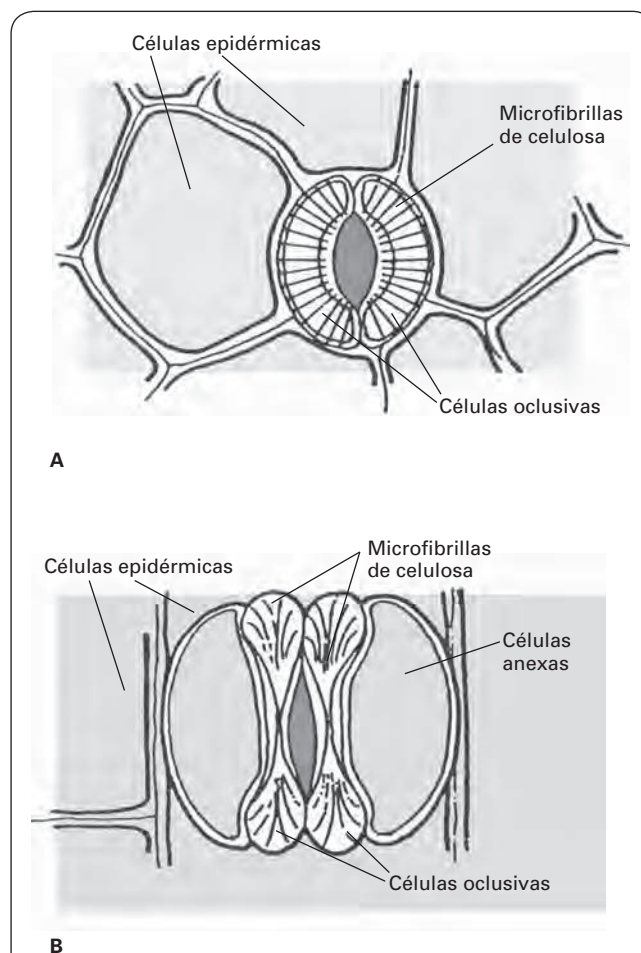


Figura 3-3. Disposición radial de las microfibrillas de celulosa en células oclusivas y epidérmicas de estomas en forma arriñonada (A) y de tipo gramínea (B) (según Meidner y Mansfield, 1968; adaptado de Azcón-Bieto y Talón, 2000.)

- La forma de la célula oclusiva, a turgencia elevada y baja, depende de las propiedades de la pared. En las paredes de las células oclusivas las microfibrillas de celulosa se disponen de forma que la pared interna (próxima al poro) es menos elástica, en sentido longitudinal, que la pared externa. Esto se debe, fundamentalmente, a la orientación de las microfibrillas, pero también a que la pared interna se halla a menudo engrosada. De esta forma, cuando la turgencia y el volumen celular aumentan, la pared externa se alarga más que la pared interna, y las células oclusivas adquieren forma de arco (poros «abiertos»); cuando la turgencia disminuye, las células están más o menos rectas (poros «cerrados») (Fig. 3-3).
- El arqueado de las células oclusivas se produce porque alcanzan un mayor contenido de solutos y, por tanto, una mayor turgencia que las células epidérmicas circundantes. Los estudios sobre mecanismos estomáticos han demostrado que, en muchos casos, las células anexas poseen una ventaja mecánica sobre

las oclusivas, de tal modo que aumentos iguales de presión en las células oclusivas y anexas provocan el **cierre estomático**. Esto implica que el cierre no se puede presentar como una simple respuesta hidráulica a la disminución del estado hídrico de la hoja y que, ordinariamente, todos los movimientos estomáticos son consecuencia de un proceso activo.

- d) Normalmente, las células oclusivas difieren del resto de las células adyacentes en otras características: no están comunicadas con las células adyacentes por medio de plasmodesmos y, por lo general, los cloroplastos son menos abundantes, más pequeños y de diferente morfología que los de las células del mesófilo. Si se observa al microscopio una tira de epidermis foliar, se comprueba que las células oclusivas suelen ser las únicas células verdes presentes.

Como se puede observar, las células oclusivas son células epidérmicas muy especializadas y el problema de cómo los estomas cambian de tamaño se explica por la forma en que las células oclusivas cambian de turgencia relativa, siendo todo ello consecuencia de cambios activos en su potencial osmótico.

Cuando el **estoma se abre** se produce un aumento masivo en el contenido de solutos de las células oclusivas; así, por ejemplo, en las hojas de *Vicia faba*, aumentan por un factor de cuatro. A partir de la ecuación ($\Psi = \Psi_p + \Psi_s$) (véase el Capítulo 2, ecuación 2-19), un aumento del contenido en solutos disminuye el potencial osmótico, lo que origina un descenso en el potencial hídrico. A medida que Ψ se hace más negativo, el agua se mueve hacia las células oclusivas, siguiendo un gradiente de potencial hídrico, y la presión de turgencia, Ψ_p , aumenta hasta que se alcanza el equilibrio (véanse el Capítulo 2 y la Fig. 2-3).

La disminución del potencial osmótico puede deberse a diferentes solutos, dependiendo de la especie, las condiciones ambientales, e incluso el momento del día. Los estomas poseen un ritmo diario de abertura (al amanecer) y cierre (al atardecer). En la abertura del amanecer se produce un aumento rápido en la concentración de iones específicos en las células oclusivas. Normalmente los niveles de K^+ aumentan más de 10 veces.

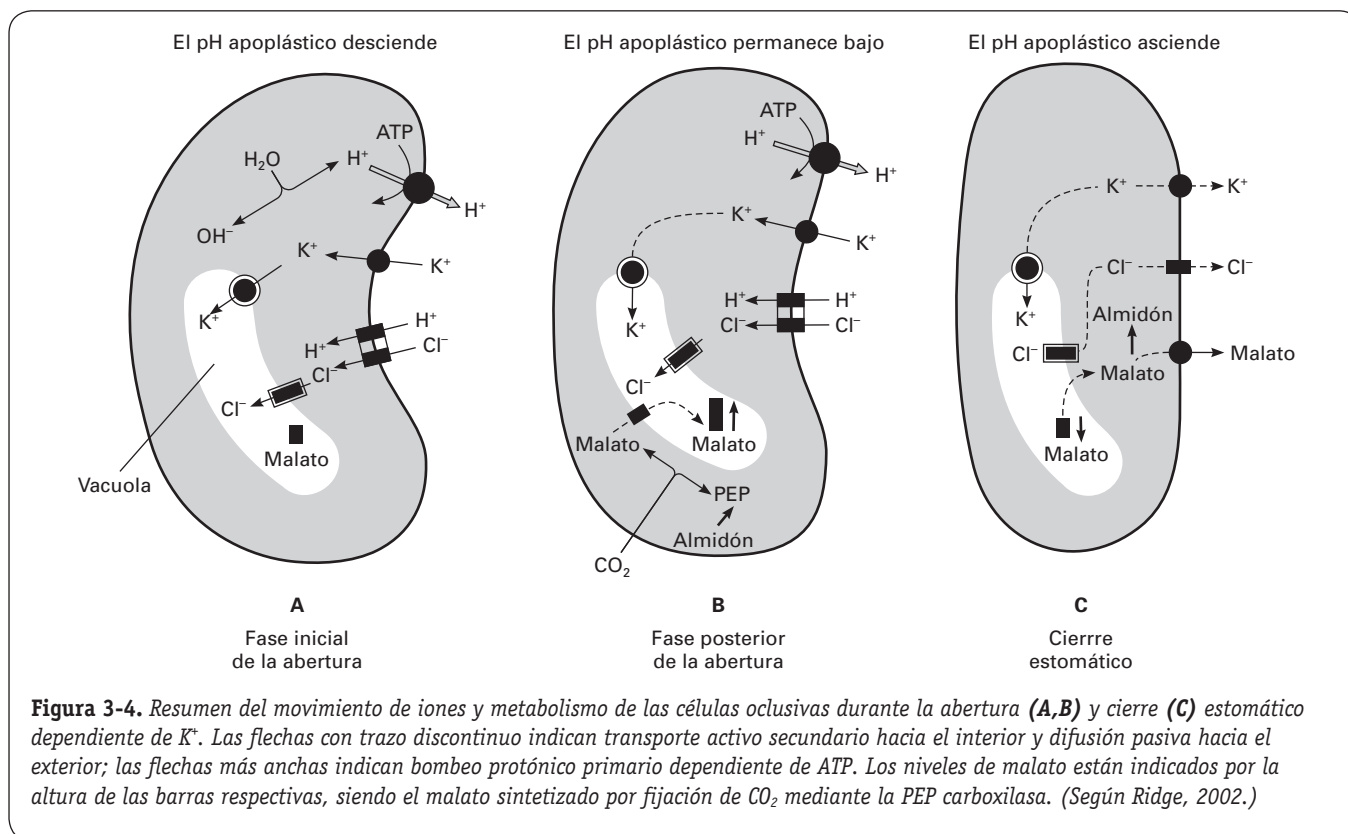
Al amanecer, cuando los estomas se abren, los iones de potasio se mueven hacia las células oclusivas a partir de las paredes celulares y las células circundantes, y salen si se cierran. El fenómeno clave que conduce a la absorción del K^+ es la activación de la H^+ -ATPasa ligada a la membrana plasmática (véase el Capítulo 7), que bombea activamente protones fuera de las células oclusivas. En otras palabras, la abertura estomática es un mecanismo quimioosmótico clásico. El gradiente electroquímico producido por la salida de los protones permite un movimiento pasivo hacia el interior de los iones potasio, siguiendo un gradiente decreciente de carga eléctrica, es decir, un transporte activo secundario, que depende directamente de un bombeo protónico activo. La absorción de K^+ se produce a través de canales de potasio selectivos en la membrana plasmática, que están «abiertos»

como respuesta a un voltaje a través de la membrana, y a señales tales como el nivel de calcio y el pH en el citoplasma. Un segundo tipo de canal de K^+ transporta K^+ hacia la vacuola, donde se almacenan iones. Así pues, la razón de que las células oclusivas estén simplásticamente aisladas es evitar que el movimiento de iones hacia ellas se pueda contrarrestar por difusión hacia fuera, vía plasmodesmos.

Podemos representar este tipo de abertura estomática mediante la Figura 3-4 A. Los protones, que derivan fundamentalmente del agua, se mueven fuera de las células oclusivas, dejando detrás iones hidroxilo (OH^-), de tal manera que el pH externo disminuye, el pH intracelular aumenta y el potencial de membrana se incrementa (el interior de la célula se hace más negativo), lo que conduce a una entrada de K^+ . No obstante, a largo plazo los OH^- no pueden actuar como aniones que equilibren el K^+ , puesto que el pH intracelular está estrictamente controlado y, por tanto, deben existir otros aniones para conseguir el equilibrio. Uno de esos aniones es el cloruro, que también aumenta durante la abertura estomática; los iones Cl^- entran en las células oclusivas junto con los protones (co-transporte H^+/Cl^-), e impulsados por el gradiente de pH. Además, en la Figura 3-4 B se puede observar que el malato sintetizado en el interior de las células oclusivas (de manera análoga a lo descrito para las plantas C_4 en el Capítulo 12) puede actuar como un segundo anión de equilibrio. Existe variación, entre especies, y dentro de ellas, en el predominio de estos dos aniones. En la Figura 3-4 C se ilustran los fenómenos que se producen durante el **cierre estomático**, cuando el K^+ , el Cl^- y el malato son los solutos osmóticos más importantes. Nótese que los iones entran y abandonan la vacuola y el citoplasma mediante diferentes series de canales.

Casi todas las investigaciones moleculares sobre movimientos estomáticos (como, por ejemplo, las que caracterizan la naturaleza, las propiedades y el control de los canales iónicos) se han centrado en el mecanismo que se acaba de describir, utilizando células oclusivas aisladas o tiras de tejido epidérmico. Pero fijémonos ahora en los datos de la Figura 3-5, obtenidos utilizando plantas intactas de *Vicia faba*, así como hojas cortadas inmediatamente antes del análisis. Como se puede observar, durante la mañana el aumento en la abertura estomática se relaciona estrechamente con el incremento en los niveles de potasio en las células oclusivas. No obstante, hacia el mediodía los niveles de K^+ empiezan a descender, si bien los estomas permanecen abiertos, al tiempo que aumentan los niveles de sacarosa en las células oclusivas. Por tanto, durante la tarde la sacarosa es el soluto dominante.

En una gran diversidad de especies se ha confirmado la existencia de una fase dependiente de sacarosa en la regulación osmótica de las células oclusivas, planteándose una serie de cuestiones, de las que sólo alguna tiene respuesta. Parece ser que la sacarosa deriva del almidón almacenado, o directamente del ciclo C_3 en los cloroplastos de las células oclusivas, aunque también existe alguna prueba de que puede entrar en las células oclusivas a partir de los tejidos circundantes. Se desconoce aún el mecanismo que controla



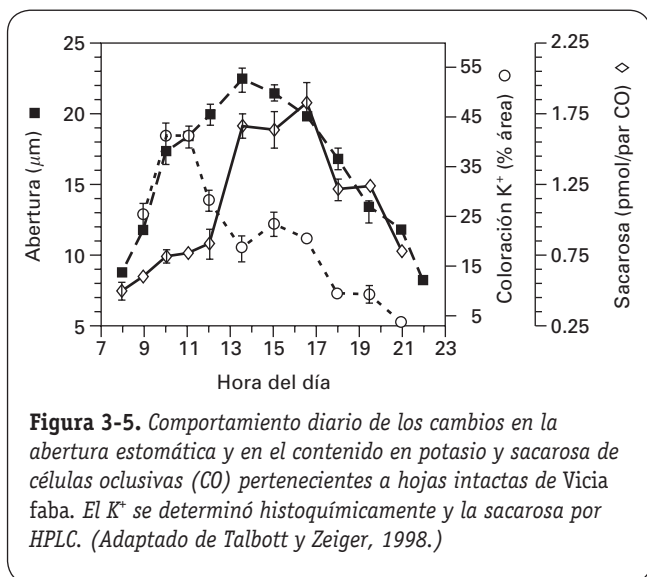
los niveles de sacarosa, así como el paso de la fase del potasio a la de la sacarosa, pero se sabe que esta última siempre sigue a la primera: así, por ejemplo, si mediante manipulación experimental se retrasa hasta la tarde la apertura estomática, una fase dependiente de K⁺ precede a la fase de sacarosa. Aún no se ha dilucidado por qué las plantas poseen dos formas de regulación osmótica para las células oclusivas; por consiguiente, vamos a considerar otras cuestiones. En primer lugar, y a nivel evolutivo, ¿cuál es el papel de los estomas?, es decir, ¿por qué las plantas los poseen?

En segundo lugar, a nivel fisiológico, ¿cuáles son las señales ambientales que controlan la apertura estomática?

3.2. A lo largo del tiempo geológico ha existido una relación inversa entre la concentración atmosférica de CO₂ y la densidad estomática

Se ha sugerido que las plantas terrestres desarrollaron estomas debido a presiones selectivas, para restringir la pérdida de agua, al mismo tiempo que con ellos proporcionaban un medio para la entrada de CO₂ atmosférico en las hojas. Por tanto, se puede argumentar que las plantas que nunca experimentan escasez de agua, o que obtienen el CO₂ de algún sitio diferente a la atmósfera, no tendrían «necesidad» de estomas. Como confirmación de esta hipótesis, en algunas especies de *Isoetes* no existen estomas, que obtienen el CO₂ a partir del suelo; ni tampoco en algunas fanerógamas parásitas, carentes de actividad fotosintética, tales como *Neottia nidus-avis*. Los estomas están también ausentes en algunas plantas acuáticas sumergidas, y están permanentemente abiertos en especies con hojas flotantes, tales como *Nymphaea alba*, *Nuphar lutea* y algunas especies de *Lemna*.

La prueba de la importancia de la disponibilidad de CO₂ como fuerza selectiva en la evolución estomática procede del estudio de las plantas fósiles, en las que los estomas aparecen claramente visibles en la cutícula bien preservada. Cuando aparecieron las primeras plantas terrestres, hace



450-400 millones de años, los niveles de CO_2 estimados eran, aproximadamente, 10 veces superiores a los actuales, y estas plantas primitivas poseían frecuencias estomáticas muy bajas (Fig. 3-6). Con el tiempo, los niveles de CO_2 descendieron (hace 300 millones de años), subieron de nuevo (250 millones de años) y, después, descendieron progresivamente hasta hoy. Las frecuencias estomáticas siguieron en gran medida estos cambios, existiendo una relación inversa entre frecuencia estomática y concentración de CO_2 atmosférico (Fig. 3-6).

Es muy interesante observar que fue precisamente durante los períodos de bajos niveles de CO_2 atmosférico y altas densidades estomáticas cuando las plantas mostraron mayor diversificación, especialmente en lo que se refiere a las formas de tipo arbóreo. Una posible explicación es que las plantas de gran porte requieren densidades estomáticas elevadas, en primer lugar para producir una corriente transpiratoria intensa y, por tanto, para impulsar el transporte de agua y nutrientes hasta la parte superior de las plantas altas (cuando los estomas están abiertos) y, en segundo lugar, para proporcionar una protección flexible, especialmente contra la cavitación en el xilema (véase el Capítulo 4), a fin de evitar los efectos lesivos de una limitación de agua (cuando los estomas están cerrados). Por tanto, incluso aunque la evolución y la densidad estomática vinieran determinadas por la necesidad de CO_2 , también han debido de ser esenciales en lo que concierne a la transpiración y la protección contra la cavitación.

Con estos antecedentes, podemos examinar ahora los sistemas complejos de señalización que controlan la abertura estomática.

3.3. El control estomático equilibra dos requisitos contrapuestos: conservación de agua y obtención de CO_2 para la fotosíntesis

Los estomas proporcionan a las plantas un mecanismo fundamental para adaptarse a un ambiente continuamente cambiante (véase el Capítulo 13), permitiendo el intercambio físico activo entre las partes aéreas de la planta y la atmósfera. Puesto que el papel más notable de los estomas es la regulación de la pérdida de agua (transpiración) y la absorción de CO_2 (asimilación fotosintética del carbono), vamos a analizar los factores que controlan la abertura estomática, esencialmente, en relación con las necesidades de CO_2 y la conservación del agua.

3.3.1. La luz y la concentración intercelular de CO_2 controlan la abertura estomática en relación con la demanda fotosintética de CO_2

3.3.1.1. Dióxido de carbono

Una concentración baja de CO_2 en el interior de las hojas normalmente aumenta la abertura estomática, mientras que

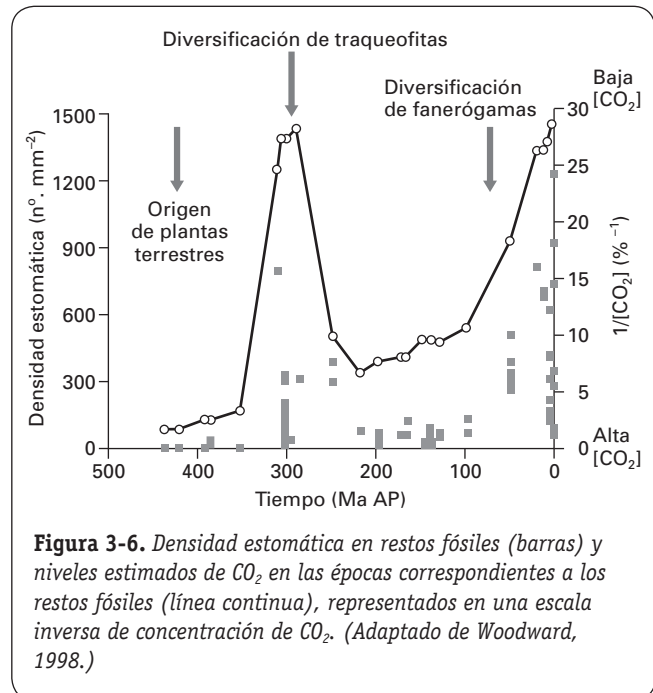
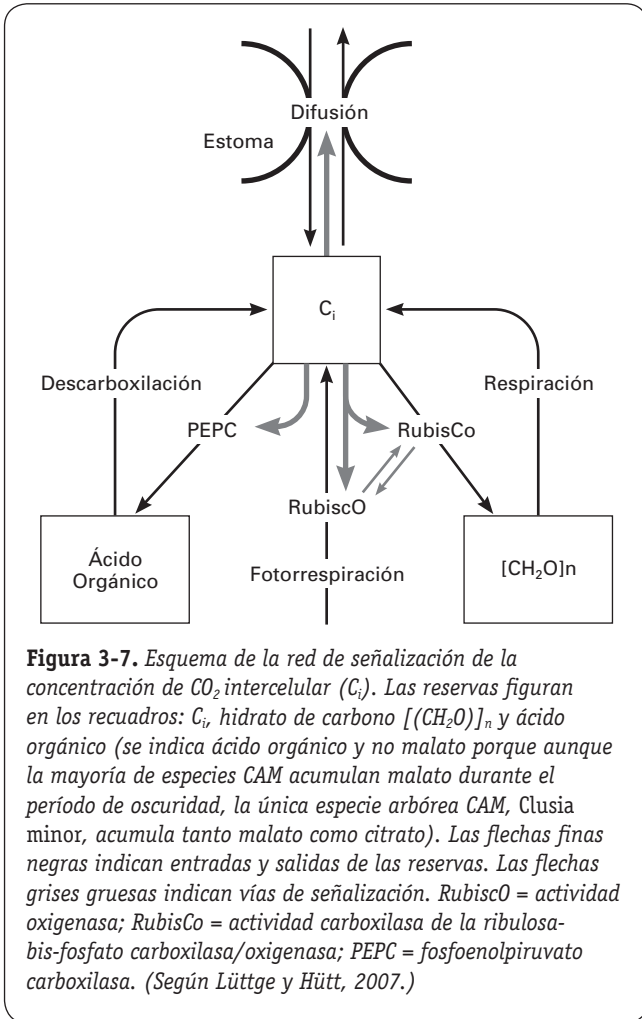


Figura 3-6. Densidad estomática en restos fósiles (barras) y niveles estimados de CO_2 en las épocas correspondientes a los restos fósiles (línea continua), representados en una escala inversa de concentración de CO_2 . (Adaptado de Woodward, 1998.)

una elevada concentración de CO_2 la reduce. En el caso de que el CO_2 intercelular sirviera como un marcador de la actividad fotosintética, la demanda fotosintética de CO_2 se relacionaría claramente con la abertura estomática. Aunque la sensibilidad al CO_2 varía considerablemente entre especies, la duplicación de la concentración atmosférica de CO_2 disminuye la conductancia estomática, como promedio, aproximadamente en un 40%. El hecho de que la concentración de CO_2 se perciba en el interior de las células oclusivas se demuestra por la capacidad para responder al gas que presentan parejas aisladas de células oclusivas. Ello sugiere que la percepción podría estar relacionada con los niveles de un pigmento cloroplástico, la zeaxantina, que también participa en la fotoprotección (véanse los capítulos 13 y 29), así como en las respuestas estomáticas a la luz.

La red de señalización de la concentración de CO_2 intercelular (C_i) aparece resumida en la Figura 3-7. La C_i se puede considerar una reserva, tanto central como de hidratos de carbono, y de ácido orgánico, en plantas CAM. La reserva de C_i se agota por fijación del CO_2 , vía actividad carboxilasa de la rubisco y vía PEPC, así como mediante la pérdida de CO_2 a través de los estomas abiertos en la respiración. En la fase III de las plantas CAM (véase el Capítulo 12) existe también una pérdida mínima de CO_2 hacia la atmósfera durante el cierre estomático. La reserva de C_i se repone mediante la absorción de CO_2 procedente de la atmósfera a través de los estomas, o por respiración y fotorrespiración, así como mediante descarboxilación de ácidos orgánicos en el caso de las plantas CAM. Los mecanismos de señalización del C_i a las otras dos reservas pueden ser los normales, basados en la cinética del sustrato de las enzimas carboxilantes. La C_i afecta a la actividad de oxigenación de la rubisco, tanto a través de la relación CO_2/O_2 , como de las afinidades respectivas del sustrato.



3.3.1.2. Luz

Cuando las plantas están bien regadas y se desarrollan en una atmósfera relativamente húmeda, la abertura estomática se ajusta estrictamente a la intensidad luminosa (radiación fotosintéticamente activa, PAR, 400-700nm, equivalente a PPFD; véanse el Capítulo 13 y la Fig. 3-8), y los estomas se abren durante el día y se cierran durante la noche.

Existen dos sistemas diferentes que participan en la percepción de la luz. En el primero, el PAR promueve la abertura estomática, siendo absorbido por pigmentos clorofílicos en los cloroplastos de las células oclusivas y actuando, probablemente, a través de la provisión de energía en forma de ATP y solutos orgánicos (por ejemplo, malato). Se considera que este sistema es el más importante cuando los niveles de luz son relativamente elevados al mediodía, y parece ser esencial para que la abertura estomática sea muy amplia. En segundo lugar, existe un sistema dependiente de la luz azul, cuya absorción se considera que la lleva a cabo en los cloroplastos el pigmento xantofílico zeaxantina. En la Figura 3-9 se describe un modelo de funcionamiento de este sistema propuesto por Zeiger y Zhu (1998). Lo más importante de este modelo es que la luz azul activa la abertura estomática, estimulando el bombeo de protones y la hidrólisis de almidón para producir malato. El fotosistema de la luz azul es muy sensible a su intensidad, pero se satura a una densidad de flujo menor que el sistema PAR y no promueve una abertura estomática tan amplia como éste. Se considera que desencadena una abertura rápida de los estomas al amanecer (cuando la luz se compone mayoritariamente de longitudes de onda azules), así como durante las exposiciones breves a destellos solares. En especies de la orquídea tropical del género *Paphiopedilum*, que se desarrolla en hábitat muy sombríos, las células oclusivas poseen plastos incoloros en vez de cloroplastos, y aparentemente su respuesta a la luz viene mediada, en gran medida, por el

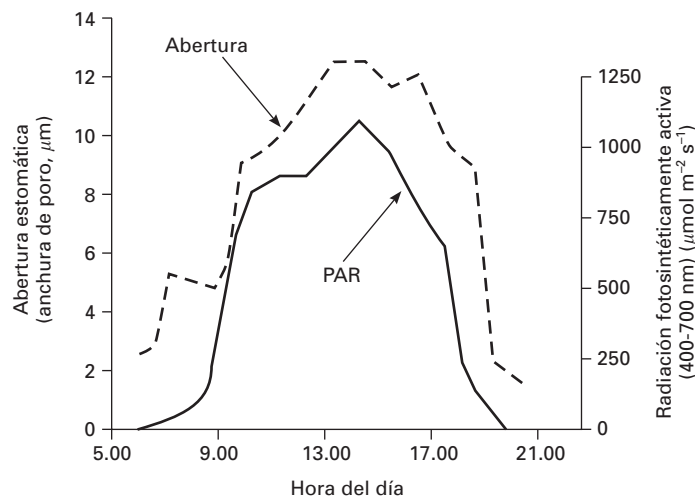


Figura 3-8. Cambios en la abertura estomática del envés de hojas de *Vicia faba* y en la cantidad de radiación fotosintéticamente activa (PAR) incidente a nivel de la hoja. (Adaptado de Srivastava y Zeiger, 1995.)

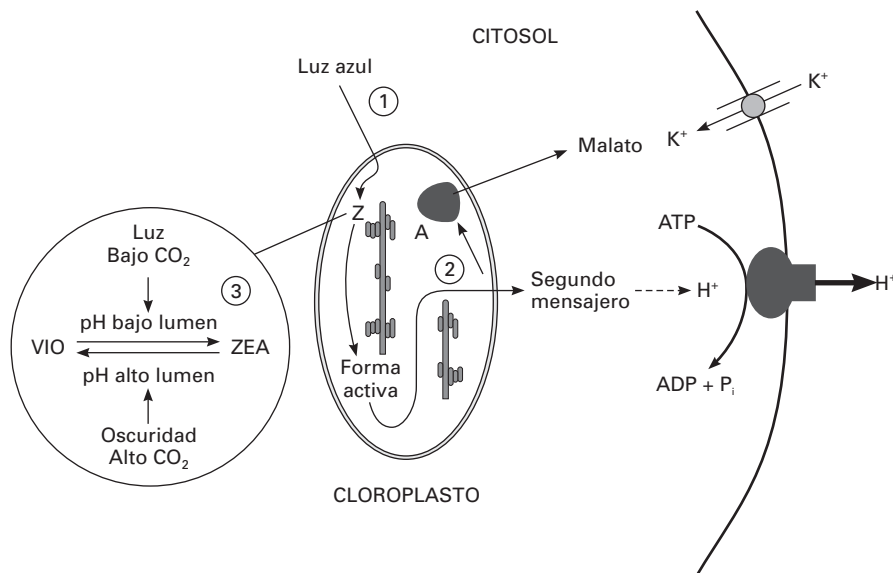


Figura 3-9. Modelo de Zeiger y Zhu para explicar cómo la luz azul provoca la apertura estomática. (1) El pigmento cloroplástico ligado a la membrana zeaxantina, Z, absorbe la luz azul y la convierte en una forma que inicia una cascada de reacciones. (2) La cascada activa la bomba protónica de la membrana plasmática, a través de un segundo mensajero, y se produce la hidrólisis de almidón A, que proporciona malato o, posiblemente, sacarosa. En cualquiera de los casos, o en ambos casos, pueden aumentar los niveles de solutos en las células oclusivas. (3) Los niveles de zeaxantina en los cloroplastos dependen del pH en el lumen del tilacoide. Un pH bajo (provocado a la luz por la fotosíntesis y por el bajo nivel de CO_2), estimula la formación de zeaxantina (ZEA) a partir de la violaxantina (VIO); un pH elevado (provocado por la oscuridad o por un nivel de CO_2 elevado, o ambos) estimula la reacción inversa. (Según Zeiger y Zhu, 1998.)

fotosistema de la luz azul. En esta planta, que se desarrolla en sombra acentuada, la fotosíntesis está limitada por la disponibilidad de luz, y no de CO_2 . Por tanto, una apertura estomática amplia, vía sistema PAR, sería innecesaria para obtener suficiente CO_2 .

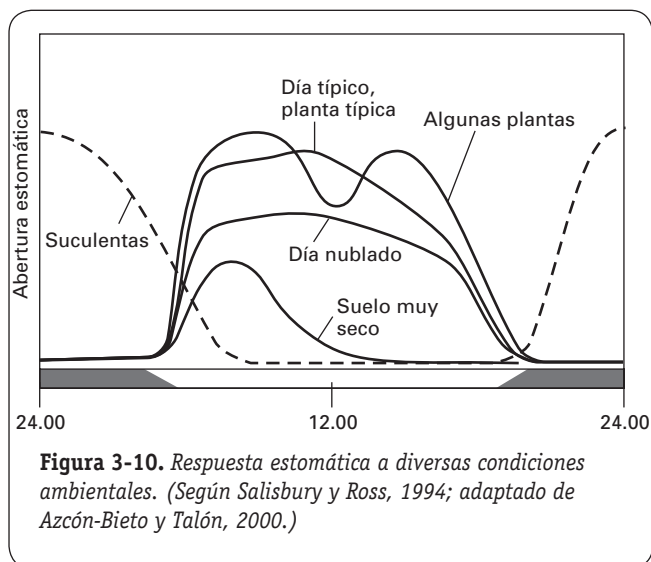
La función de la zeaxantina en el control estomático está muy alejada de su papel en el ciclo protector de las xantofilas (Capítulos 13 y 29); sin embargo, la zeaxantina interviene en otras respuestas a la luz azul, entre ellas la orientación de los tallos hacia la luz (fototropismo), que se trata en el Capítulo 24. Las respuestas rápidas de los estomas a la luz anticipan la demanda fotosintética de CO_2 y pueden considerarse, por tanto, como respuestas de «antealimentación» (circuito abierto).

Aunque en la mayoría de las plantas los estomas se abren en presencia de la luz y se cierran en la oscuridad, en plantas que poseen la vía fotosintética del metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM) ocurre lo contrario (véase el Capítulo 12). En esas plantas, la apertura máxima tiene lugar en la oscuridad, especialmente al comienzo del período nocturno. En este caso se contrarrestan completamente las respuestas normales a la luz, pero el CO_2 y la humedad continúan siendo reguladores estomáticos importantes. Durante la noche, se produce la fijación y el almacenamiento (como ácido málico vacuolar) de CO_2 y, por tanto, la C_i será baja, estimulándose la apertura estomática. Durante el día, cuando se libera ácido málico procedente de las vacuolas y, posteriormente, se descarboxila para producir CO_2 , los niveles elevados de

CO_2 interno estimularán el cierre estomático. La elevada humedad atmosférica nocturna también tiende a estimular la apertura estomática, contribuyendo al ajuste preciso de los movimientos estomáticos.

3.3.2. La diferencia de presión de vapor entre la hoja y el aire y los niveles de ácido abscísico controlan la apertura estomática en relación con la conservación de agua

En la Figura 3-10 se muestran los tipos de comportamiento estomático que normalmente se presentan en condiciones de sequía o cuando las tasas transpiratorias superan el suministro de agua a las raíces. El modelo con dos máximos (curva superior de la Fig. 3-10), con cierre estomático parcial o completo al mediodía, es muy habitual en los árboles. El dosel de un bosque puede llegar a transpirar una cantidad considerable de agua, especialmente si el aire está seco y la temperatura es elevada. En estos casos, el **cierre estomático al mediodía** puede impedir la **embolia** y la **cavitación** (véase el Capítulo 4, apartados 3.4 y 3.5). Muchas plantas herbáceas que se desarrollan en hábitat estacionalmente secos también muestran este modelo, con dos máximos al comienzo de la estación seca. No obstante, al final de dicha estación, cuando el suelo está más seco, los estomas sólo se abren por la mañana, se observa una curva con un único



máximo y la apertura estomática durante este máximo es menor al final de la estación que al comienzo de ella. Para muchas plantas, reducir la apertura estomática en momentos de déficit hídrico es esencial para su supervivencia y resulta mucho más importante que la necesidad de CO_2 .

Ahora bien, ¿qué señal o señales contrarrestan la baja concentración de CO_2 y la elevada intensidad luminosa que existen al mediodía, e inducen el cierre estomático?, ¿por qué, generalmente, los estomas se abren menos si el suelo está seco?

En cuanto a la primera cuestión, el cierre estomático al mediodía parece estar controlado por el ambiente externo, principalmente por la **humedad relativa del aire** y, en cierto grado, por la **temperatura foliar**. Se sabe que los estomas de muchas especies se cierran como respuesta a un aumento en la diferencia de presión de vapor entre la hoja y el aire. La magnitud de esta respuesta depende de la especie, de las condiciones de crecimiento y, especialmente, del estado hídrico de la planta, siendo menor la respuesta con temperaturas elevadas o en plantas sometidas a sequía. No está claro todavía cómo ejerce este efecto la humedad relativa; una hipótesis es que afecte a la tasa de pérdida de agua a través de la cutícula y, por tanto, a la turgencia de la epidermis, desencadenándose por ello el cierre estomático. Dado que la respuesta a la humedad es previa a cualquier cambio en el estado hídrico de la hoja, se considera, al igual que en el caso de la luz, que se trata de una respuesta de «antealimentación» (circuitos abiertos).

Si las hojas experimentan un déficit hídrico, debido a que el suministro de agua no se mantiene al mismo nivel que la transpiración, pueden presentarse tres consecuencias indeseables: 1) desciende la turgencia foliar, de tal manera que la expansión celular no puede continuar; 2) aumenta la tensión en el xilema y, por tanto, el riesgo de cavitación y 3) se puede inhibir la fotosíntesis, como consecuencia de las reducciones en el suministro de ATP y la fijación de CO_2 (independientemente del suministro de CO_2).

La señal inmediata para el cierre estomático ligada al déficit hídrico es un aumento, en las células oclusivas, del regulador del crecimiento **ácido abscísico (ABA)**, que suele considerarse como una hormona de estrés (véase el Capítulo 22). Consideremos en primer lugar el mecanismo mediante el cual el ABA actúa reduciendo la turgencia de las células oclusivas, una línea de investigación muy fructífera en los años 90. El ABA se une, en primer lugar, a un receptor en la membrana plasmática de la célula oclusiva, iniciándose dos cambios: un aumento en la concentración citoplasmática de iones calcio (procedentes de la vacuola), y un aumento del pH citoplasmático de aproximadamente 0.3 unidades. Ambos cambios provocan una salida rápida de K^+ y aniones equilibrantes fuera de la vacuola y, posteriormente, a través de la membrana plasmática, activando los canales apropiados con un flujo hacia el exterior, e inhibiendo los canales con un flujo hacia el interior, a nivel de la membrana plasmática (Fig. 3-11). Las pérdidas de iones provocan la caída de la turgencia de las células oclusivas y el cierre parcial o completo de los estomas.

A partir de este modelo de acción del ABA surge la cuestión de cuál es su mecanismo de acción cuando induce el cierre estomático por la tarde. Como se ha indicado anteriormente, durante la tarde el soluto más importante en las células oclusivas es la sacarosa, y no el potasio más los aniones. Por tanto, el ABA debería provocar diferentes tipos de cambios como, por ejemplo, la conversión de sacarosa en almidón, o la pérdida de sacarosa a través de las membranas plasmáticas.

Dejando aparte la cuestión de cómo provoca el ABA la pérdida de sacarosa en las células oclusivas, se tiene una idea bastante nítida sobre la forma en que actúa, que parece ser común en un amplio espectro de plantas. Mucho menos claros, y con grandes diferencias entre especies, son los mecanismos mediante los cuales se regulan los niveles de ABA en las células oclusivas, entre los que destaca, en primer lugar, la limitación de agua. En general, se admite que:

1. El ABA es sintetizado continuamente en las raíces y se mueve hacia las hojas a través del xilema.
2. En las hojas, el ABA es incorporado fundamentalmente por las células del mesófilo, donde es degradado e inactivado.
3. La entrada del ABA en el xilema radical y el mesófilo foliar, así como su liberación en el apoplasto (compartimiento a partir del cual puede alcanzar las células oclusivas), está influido por el pH, tanto en el interior como en el exterior de las células.

La regulación de la apertura estomática parece depender, fundamentalmente, de la disponibilidad hídrica del suelo (Ψ_{suelo}) que, a su vez, afecta al potencial hídrico de la raíz, al pH, y a la síntesis y liberación del ABA al xilema radical. En algunas plantas, el estado hídrico de la hoja (Ψ_{hoja}) no parece desempeñar una función importante en la determinación del cierre estomático como respuesta a un déficit hídrico moderado; lo importante en estas plantas es el suministro de ABA procedente de las raíces. Estas

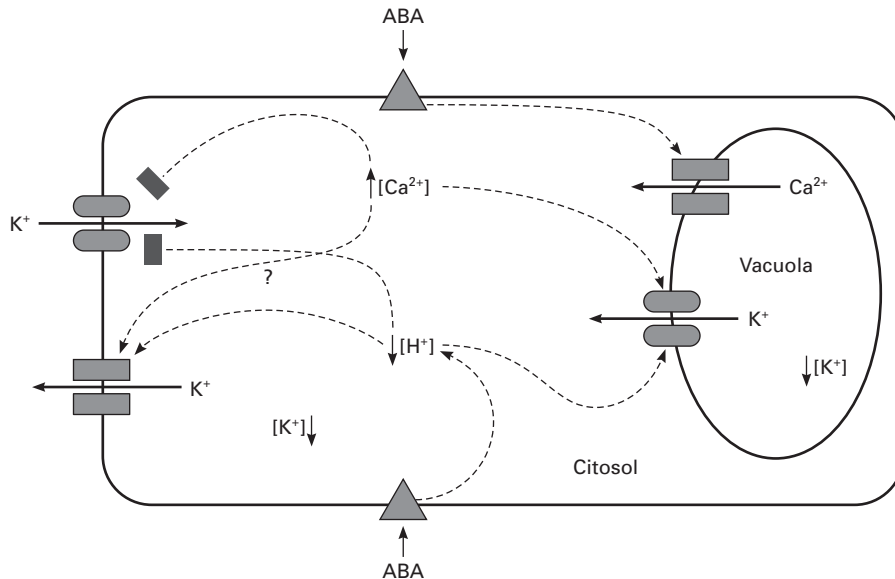


Figura 3-11. Modelo que explica cómo el ABA provoca el cierre estomático estimulando la pérdida de iones en las células oclusivas y reduciendo, por tanto, la turgencia. En el interior de la célula, las flechas hacia arriba o hacia abajo indican aumento o disminución, respectivamente, de las concentraciones; las líneas discontinuas terminadas por una barra o una flecha indican inhibición o activación, respectivamente, de una bomba o de un canal. (Adaptado de Allen et al., 1998.)

plantas se denominan **hidrolábiles** o **anisohipídricas** (véase el Capítulo 4, apartado 5), nombre que hace referencia a que el potencial hídrico foliar no es constante, sino que depende de la disponibilidad de agua en las raíces. La abertura estomática se relaciona con la conductancia, de forma que conductancias elevadas se corresponden con aberturas amplias. Cuando las plantas están bien regadas, los estomas muestran la pauta típica de apertura por la mañana, permanecen muy abiertos durante todo el día y se cierran por la tarde. Con un déficit hídrico moderado, los estomas están muy abiertos sólo por la mañana, se cierran parcialmente al mediodía y permanecen así hasta el cierre completo. Con un déficit hídrico edáfico acusado, los estomas se abren ligeramente por la mañana y permanecen casi cerrados durante el resto del día. Se ha confirmado que la $[ABA]_{xilema}$ regula la conductancia estomática, y que las variaciones de Ψ_{hoja} y de humedad atmosférica tienen poco efecto sobre la conductancia en las plantas anisohipídricas. Este tipo de comportamiento se presenta en almendros, melocotoneros, girasol, soja, cebada, trigo y otras especies (véase el Capítulo 4, apartado 5).

No obstante, en otras plantas el potencial hídrico foliar durante el día permanece constante, independientemente de la disponibilidad hídrica del suelo. Estas plantas se conocen como **hidroestables** o **isohídricas**, y entre ellas se encuentran el altramuz, el maíz, el álamo, el guisante y la caña de azúcar. Las plantas isohídricas cierran progresivamente los estomas por la tarde, a medida que las hojas se calientan, desciende la humedad atmosférica y tiende a aumentar la tasa transpiratoria. No obstante, también se ha visto que en tales plantas se reduce la conductividad

hidráulica (L_p) de la raíz por la tarde, como parte de un ciclo diario de la L_p radical, cambio que reducirá el movimiento del agua hacia las hojas y, por tanto, la transpiración. El resultado final es que el potencial hídrico foliar permanece constante durante el día. La llegada del ABA a las células oclusivas puede aumentar, porque se incorpora menos ABA a las células del mesófilo y, en conjunto, estas plantas parecen regular la conductancia estomática por una interacción entre el suministro de agua, la $[ABA]_{xilema}$ y la tasa de pérdida de agua. Si estos controles finos de la abertura estomática fallan y las hojas alcanzan el punto de marchitez incipiente, entonces funciona un mecanismo de emergencia: el ABA se sintetiza en el interior de las células foliares, liberándose en grandes cantidades y provocando un cierre estomático instantáneo.

3.3.3. La heterogeneidad de la conductancia estomática, la temperatura y otros factores también afectan a la abertura estomática

Heterogeneidad de la conductancia estomática. Estudios realizados sobre el efecto de la aplicación de ABA en hojas sugirieron que no tenía una acción inhibitoria directa sobre la fotosíntesis, aunque la supresión de la abertura estomática podía ejercer un efecto indirecto, al restringir la difusión de CO_2 . Ulteriores análisis de la relación existente entre las tasas de fotosíntesis y la **concentración de CO_2 intercelular** (C_i), en hojas a las que se había suministrado ABA exógeno para provocar el cierre estomático, sugerían

que la C_i permanecía constante o, incluso, aumentaba. Estos resultados no dejaban de ser sorprendentes, ya que lo lógico hubiera sido que la C_i disminuyera a medida que los estomas se cerraban. Al no ser así, se dedujo que la exposición breve al ABA podía tener un efecto inhibitorio directo sobre la fotosíntesis, independientemente del cierre estomático.

Actualmente se sabe que la contradicción aparente es consecuencia de los errores que se cometen cuando se utiliza el método convencional de estimación de la C_i a partir de los datos de intercambio gaseoso. La **tasa transpiratoria** se calcula como un promedio para toda la superficie foliar (véanse los apartados 2.1 y 2.2); esto proporciona la base para estimar la conductancia total de la hoja al vapor de agua (g_w). A partir de ese valor se calcula la relación:

$$C_i = C_a - 1.6 A/g_w \quad [3-9]$$

siendo C_a la concentración de CO_2 en el aire exterior a la hoja, y A la tasa de asimilación neta de CO_2 (véase también el Capítulo 13).

No obstante, este método para estimar la C_i resulta incorrecto si el comportamiento de los estomas en las diferentes partes de la hoja no es uniforme, porque se obtienen valores superiores a los reales y da la impresión de que la fotosíntesis disminuye más de lo que se podría atribuir al cierre estomático. Estudios realizados con hojas cortadas de *Vitis vinifera* y *Helianthus annuus*, a las que se suministraba ABA a través del pecíolo, han demostrado que el cierre estomático se produce de forma heterogénea. Lo mismo se ha observado al inducir un aumento de ABA endógeno mediante sequía edáfica en especies de *Vitis vinifera*, *Nerium oleander* y *Eucalyptus ficifolia*, explicándose así la aparente inhibición no estomática de la fotosíntesis mediante el ABA. No obstante, en el caso de *Medicago sativa*, se ha observado que cuando el estrés hídrico se impone de manera cíclica, la actividad de la ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa-oxigenasa (rubisco) disminuye considerablemente, y la limitación estomática de la fotosíntesis sólo es del 15%. Vemos, pues, que la limitación estomática de la fotosíntesis depende de la especie y de la forma de imponer el déficit hídrico. Ahora bien, ¿por qué responden los estomas de esa manera tan poco uniforme? En muchas hojas, la red de haces vasculares provoca el aislamiento de zonas de espacios intercelulares y existe una restricción en la difusión lateral de CO_2 entre dichas zonas. Se cree que las hojas con tal anatomía («heterobárica») son proclives al cierre estomático no uniforme, lo que no ocurre en aquellas que poseen espacios intercelulares bien conectados («homobárica»), que proporcionan elevada movilidad gaseosa.

La **heterogeneidad del cierre estomático** conduciría no sólo a variaciones en la C_i , sino también a diferencias importantes en el metabolismo del carbono, resultantes de cambios en la fijación del CO_2 y en la fotorrespiración. Un grado elevado de heterogeneidad probablemente conlleva

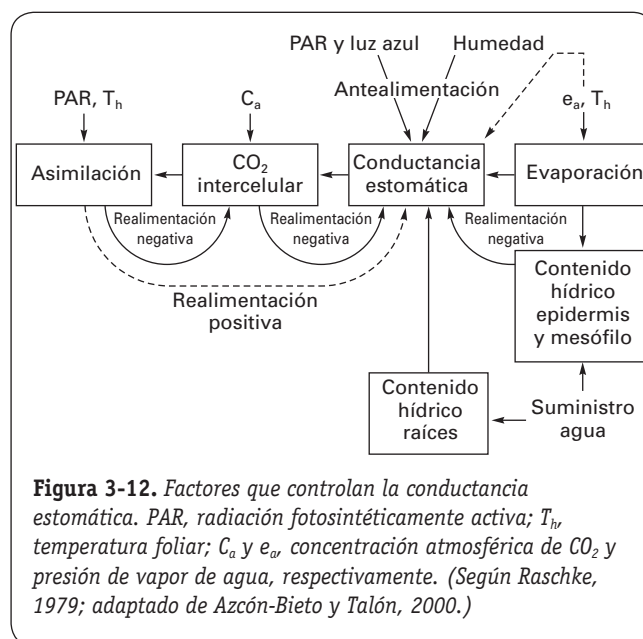


Figura 3-12. Factores que controlan la conductancia estomática. PAR, radiación fotosintéticamente activa; T_h , temperatura foliar; C_a y e_a , concentración atmosférica de CO_2 y presión de vapor de agua, respectivamente. (Según Raschke, 1979; adaptado de Azcón-Bieto y Talón, 2000.)

la ineficiencia del funcionamiento de la hoja, que habría que considerar en relación con la productividad vegetal. Por todo ello, la heterogeneidad del comportamiento estomático es un aspecto que merece una investigación más detallada.

Temperatura, nutrientes minerales y otros factores.

Muchos estudios sobre las respuestas estomáticas a la temperatura han arrojado resultados contradictorios. A menudo, el efecto de la temperatura se confunde con el efecto de las variaciones en la diferencia de presión de vapor entre la hoja y el aire. Por tanto, es necesario efectuar estudios de respuesta a la temperatura en condiciones constantes de déficit de presión de vapor. En general, los estomas tienden a abrirse a medida que la temperatura aumenta. No obstante, la magnitud de la respuesta depende de la presión de vapor.

La escasez de macronutrientes (N, P, S) provoca reducciones de la abertura estomática en las plantas isohídricas y, al igual que el cierre por la tarde, se ha demostrado que se correlacionan con cambios en la conductividad hidráulica (L_p) de la raíz (véase el Capítulo 2, apartado 6.2). El cambio en la L_p parece deberse a una reducción en la disponibilidad de acuaporinas en las células de la estela (véase el Capítulo 2), pero no se conoce aún si este cambio influye en el suministro de ABA a las hojas y, en su caso, cómo lo hace.

Por último, la abertura estomática también depende de otros muchos factores, tales como la edad foliar y las enfermedades, así como de la influencia de contaminantes gaseosos tales como el O_3 , el SO_2 y los óxidos de nitrógeno, probablemente por sus efectos sobre la integridad de las membranas.

En la Figura 3-12 se resumen los factores más importantes que controlan la abertura estomática.

RESUMEN



- La transpiración, es decir, la pérdida de vapor de agua en las plantas, es un proceso controlado por factores físicos externos y por factores fisiológicos. La radiación solar proporciona la fuente de energía para la transpiración, siendo la evaporación del agua en la hoja la que establece el gradiente de potencial hídrico en la planta.
- La intensidad transpiratoria depende del suministro de energía, del gradiente de presión de vapor y de la magnitud de las resistencias. La resistencia difusiva al movimiento del vapor de agua desde la hoja al aire tiene tres componentes: cuticular, estomático y de capa límite.
- La resistencia cuticular es, ordinariamente, muy elevada y, por tanto, la mayor parte del vapor se mueve a través de los estomas.
- Las variaciones en la abertura estomática se producen como consecuencia de cambios en la turgencia de las células oclusivas.
- La regulación de la abertura estomática es muy compleja, ya que los estomas responden a una diversidad de influencias ambientales (p. ej., luz, humedad, temperatura, concentración de CO_2) y endógenas (tales como producción y liberación de hormonas en raíz y hoja, etc.). Todos estos factores actúan a través de complejos sistemas de antealimentación y realimentación.
- Debido a que, con frecuencia, el agua es un recurso limitado en la producción vegetal, existe un interés considerable en determinar la eficiencia en el uso del agua en relación con la fotosíntesis y la productividad.
- Normalmente, la eficiencia en el uso del agua varía en los diferentes tipos fotosintéticos según el siguiente orden: CAM > C4 > C3, existiendo también diferencias importantes entre especies dentro de cada tipo.

PROBLEMAS Y CUESTIONES



- Una planta de alubia creció bajo una campana de vidrio, con atmósfera saturada de vapor de agua a $25\text{ }^\circ\text{C}$. Al incidir la radiación solar sobre la planta, su temperatura aumentó $10\text{ }^\circ\text{C}$ por encima de la del aire, que se mantuvo a $25\text{ }^\circ\text{C}$. Otra planta similar creció a la sombra a $25\text{ }^\circ\text{C}$ y con una humedad relativa del 70%. ¿Cuál de las dos plantas transpiró más? Los valores de las resistencias a la difusión de agua fueron: $r_a = 0.5\text{ s cm}^{-1}$, $r_e = 1\text{ s cm}^{-1}$ y $r_c = 45\text{ s cm}^{-1}$. Suponemos que la resistencia del mesófilo (r_m) es despreciable. Las concentraciones de vapor de agua de saturación a 25 y $35\text{ }^\circ\text{C}$ son 23×10^{-6} y $40 \times 10^{-6}\text{ g H}_2\text{O cm}^{-3}$, respectivamente.
- ¿La deficiencia en cuál de los siguientes elementos minerales dificulta el movimiento estomático?
 - la de nitrógeno.
 - la de fósforo.
 - la de potasio.
 - la de todos los anteriores.
- ¿Cuál es el espectro de acción de la transpiración?
 - verde y ultravioleta.
 - naranja y rojo.
 - azul e infrarrojo.
 - azul y rojo.
- Seleccione aquellos factores que pueden aumentar la tasa transpiratoria. En cada factor seleccionado, indique cómo actúa para estimular la transpiración.
 - Viento fuerte.
 - Baja velocidad del viento.
 - Humedad relativa baja.
 - Humedad relativa elevada.
 - Temperatura foliar por encima de la temperatura ambiente.
 - Temperatura foliar por debajo de la temperatura ambiente.
 - Estomas cerrados.
 - Estomas muy abiertos.
- ¿Cuáles de las siguientes propiedades o características: 1) se encuentran ordinariamente en las células oclusivas, y 2) son esenciales si los estomas han de funcionar apropiadamente?
 - Pared celular interior menos elástica que la exterior.
 - Bombeo de K^+ en la membrana celular.
 - Capacidad para sintetizar malato.
 - Posesión de cloroplastos.
 - Bomba protónica en la membrana celular.
 - Capacidad para generar potenciales de presión superiores a los de las células adyacentes.
- Describa una hoja que maximice o minimice la transpiración basándose únicamente en las características foliares.



RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1) Transpiración al sol: $11.49 \text{ g H}_2\text{O cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$.
Transpiración a la sombra: $6.9 \text{ g H}_2\text{O cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$.
 - 2) d) Todos ellos.
 - 3) d) Azul y rojo.
 - 4) a) Viento fuerte: disminuyendo la capa límite.
c) Humedad relativa baja: aumentando el déficit de presión de vapor.
e) Temperatura foliar por encima de la temperatura ambiente: aumentando la concentración de vapor de agua en la hoja.
h) Estomas muy abiertos: disminuyendo la resistencia estomática.
 - 5) Respuesta 1):
a) Pared celular interior menos elástica que la exterior.
d) Posesión de cloroplastos.
f) Capacidad para generar potenciales de presión superiores a los de las células adyacentes.
- Respuesta 2):
- b) Bombeo de K^+ en la membrana celular.
 - c) Capacidad para sintetizar malato.
 - e) Bomba protónica en la membrana celular.
- 6) Características foliares que maximizan la transpiración:
 - Mayor número de estomas.
 - Hojas pequeñas.
 - Ausencia de pelos.
 - Cutícula delgada.
 - Hojas horizontales.

Características foliares que minimizan la transpiración:

 - Menor número de estomas.
 - Hojas grandes.
 - Pilosidad abundante.
 - Estomas hundidos.
 - Cutícula gruesa.
 - Hojas verticales.



BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA

1. Allen GJ *et al.* Calcium-dependent and calcium-independent K^+ mobilization channels in *Vicia faba* guard cell vacuoles. *Journal of Experimental Botany* 1998; 49:305-318.
2. Azcón-Bieto J, Talón M. *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. Madrid, McGraw-Hill/Interamericana. Edicions Universitat de Barcelona, 2000.
3. Holmgren P *et al.*: Resistances to carbon dioxide and water vapour transfer in leaves of different plant species. *Physiologia Plantarum* 1965; 18:557-573.
4. Hopkins WG. *Introduction to Plant Physiology*. New York, John Wiley & Sons, 1995.
5. Kramer PJ, Boyer JS. *Water Relations of Plants and Soils*. New York, Academic Press, 1995.
6. Lüttge U, Hütt MTh. Spatiotemporal patterns and distributed computation. A formal link between CO_2 signalling, diffusion and stomatal regulation. *Progress in Botany* 2007; 68:242-260.
7. Meidner H, Mansfield TA. *Physiology of Stomata*. London, McGraw-Hill, 1968.
8. Raschke K. Movements of stomata. En: Haupt W, Feinleib ME (eds.) *Encyclopedia of Plant Physiology*. New Series vol. 7. *Physiology of Movements*. Berlin, Springer-Verlag, 1979; 383-441.
9. Ridge I. *Plants*. Oxford, Oxford University Press, 2002.
10. Salisbury FB, Ross CW. *Fisiología Vegetal*. México, Grupo Editorial Iberoamericana, 1994.
11. Srivastava A, Zeiger E. Guard cell zeaxanthin tracks photosynthetically active radiation and stomatal apertures in *Vicia faba* leaves. *Plant, Cell and Environment* 1995; 18:813-817.
12. Talbott LD, Zeiger E. The role of sucrose in guard cell osmoregulation. *Journal of Experimental Botany* 1998; 49: 329-337.
13. Taiz L, Zeiger E. *Plant Physiology*. 4ª ed. Sunderland (Massachusetts), Sinauer Associates, Inc., Publishers, 2006.
14. Woodward FI. Do plants really need stomata? *Journal of Experimental Botany* 1998; 49:471-480.
15. Zeiger E, Zhu J. Role of zeaxanthin in blue light photoreception and the modulation of the light- CO_2 interactions in guard cells. *Journal of Experimental Botany* 1998; 49: 433-442.

Absorción de agua por la raíz y transporte por el xilema. Balance hídrico de la planta

MANUEL SÁNCHEZ-DÍAZ Y JONE AGUIRREOLEA



1. Introducción. 2. Absorción de agua por las raíces. 3. Flujo hídrico a través del xilema. 4. Movimiento del agua en la hoja. 5. Balance hídrico. 6. Déficit hídricos y crecimiento vegetal.

1. INTRODUCCIÓN

En una planta en crecimiento activo existe una fase de agua líquida continua que se extiende desde la epidermis de la raíz hasta las paredes celulares del parénquima foliar. Generalmente se acepta que el movimiento del agua desde el suelo al aire, a través de toda la planta, se puede explicar por la existencia de **gradientes de potencial hídrico** a lo largo de la vía (véase el Capítulo 2). Debido a que en los espacios intercelulares del parénquima lagunar en el mesófilo foliar el aire está prácticamente a presión de vapor de saturación, mientras que el aire exterior rara vez está saturado de agua, el vapor de agua se mueve desde el interior de la hoja a la atmósfera exterior siguiendo un gradiente de potencial hídrico decreciente. Este proceso, denominado **transpiración**, es la fuerza motriz más importante para el movimiento del agua a través de la planta (véanse la Fig. 4-1 y los Capítulos 2 y 3).

2. ABSORCIÓN DE AGUA POR LAS RAÍCES

Para mantener la turgencia de la parte aérea, así como para posibilitar las actividades bioquímicas hasta un nivel que asegure la supervivencia, el agua perdida en la planta mediante transpiración ha de reponerse continuamente. Muchas plantas pueden absorber la humedad atmosférica en forma de niebla o rocío, pero la absorción foliar de agua es insignificante comparada con la absorción que se produce a través de las raíces.

2.1. La absorción de agua por las raíces requiere su crecimiento constante y un estrecho contacto con las partículas del suelo, y tiene lugar, preferentemente, a través de las raíces laterales

Los fisiólogos vegetales han venido discutiendo, durante los últimos 150 años, cuáles son las zonas del sistema radical que absorben la mayor parte del agua, así como la vía precisa por la que se mueve el agua desde el suelo al xilema radical. Desde un punto de vista fisiológico, estas cuestiones son interesantes por sí mismas, pero también son muy relevantes para la agricultura y la horticultura, porque afectan a la manera en que las plantas se cultivan y mejoran para optimizar el uso del agua. Para que la absorción del agua por las plantas terrestres se lleve a cabo de forma eficaz hay dos aspectos esenciales: 1) debe existir un contacto íntimo entre el suelo y las raíces, y 2) a menos que el suelo siempre esté muy húmedo, las raíces han de crecer constantemente. La demanda de agua por parte de la planta suele ser tan intensa que la absorción por la raíz deseca esa parte del suelo; por eso, el crecimiento de la raíz permite explorar constantemente nuevas zonas de suelo.

Cuando se arranca una plántula con cuidado de no dañar las raíces, es frecuente observar partículas de suelo fuertemente adheridas a una cierta distancia del ápice. Este suelo adherido, o **rizovaina**, no sólo asegura un contacto estrecho con la raíz, sino que también tiene una función importante de anclaje. Está aglutinado mediante mucílago, que deriva

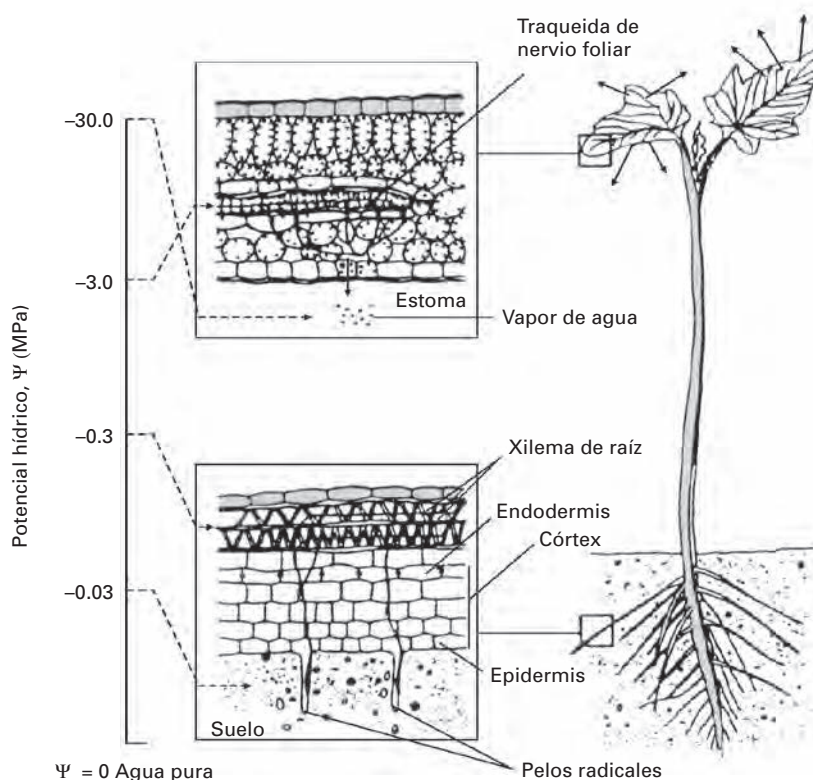


Figura 4-1. Circulación del agua a través de la planta, desde las raíces a las hojas. En la escala de la izquierda se indican los potenciales hídricos aproximados en los diferentes puntos. (Adaptado de Azcón-Bieto y Talón, 2000.)

de la caliptra o de algunas bacterias. La rizovaina se forma sobre aquella parte de la raíz en la que la epidermis está intacta y existen pelos radicales (Fig. 4-2), y es una zona importante para la absorción de agua y nutrientes minerales (véase estructura de la raíz en el Capítulo 7). Se encuentra presente tanto en las raíces principales como en las laterales. Las **raíces principales** son las que inicialmente se desarrollan a partir de la semilla o, posteriormente, a partir de la parte subterránea del tallo; crecen durante toda la vida de la planta y tienen un crecimiento *indeterminado*. Las **raíces laterales** se desarrollan a partir de las raíces principales, alcanzan una longitud comprendida entre 3 y 10 cm y tienen un crecimiento *determinado*, es decir, pierden su caliptra y el meristemo apical, dejando de crecer, aunque continúan funcionando como órganos de absorción. De hecho, se ha demostrado que las raíces laterales tienen una longitud total que es, aproximadamente, 30 veces la de las raíces principales y, por tanto, son mucho más importantes para la absorción de agua e iones. Pueden proliferar de forma sorprendente en zonas del suelo en las que localmente existen niveles elevados de nutrientes, tales como el nitrato, al parecer como respuesta a un sistema sensible al nitrato en los meristemos, que activa ciertos genes. Además, las raíces laterales desempeñan una función muy importante en momentos de sequía. En muchas familias de plantas, durante la sequía se desarrollan rápidamente primordios de raíces late-

rales resistentes a la sequía, que se vuelven activos una vez que el suelo se ha rehidratado, incluso cuando el meristemo de la raíz principal ha muerto.

La mayoría de los estudios sobre el funcionamiento de la raíz se han realizado con raíces principales, debido sobre todo a que son mucho más grandes y fáciles de manejar. La serie de cambios que se producen a lo largo de una raíz principal a medida que crece, así como el desarrollo de las raíces laterales y la rizovaina, se ilustran con más detalle en la Figura 4-2.

El agua entra en las raíces como respuesta a un gradiente de potencial hídrico en el xilema, establecido por la transpiración. Como es lógico, el agua entrará con mayor rapidez a través de aquellas regiones de la raíz que ofrezcan menor resistencia, dependiendo de diversos factores y de la especie de que se trate.

Experimentos realizados con raíces principales jóvenes han demostrado que la región meristemática es relativamente impermeable al agua. En esta región, las células no están vacuoladas y contienen citoplasma denso; asimismo, en la proximidad del ápice radicular el tejido vascular no está diferenciado y, por tanto, si el agua llegase a entrar libremente no podría ascender. El máximo de absorción se presenta en la zona radical próxima a la región meristemática, pero distal a la región de intensa suberización y lignificación. La suberificación y la lignificación reducen

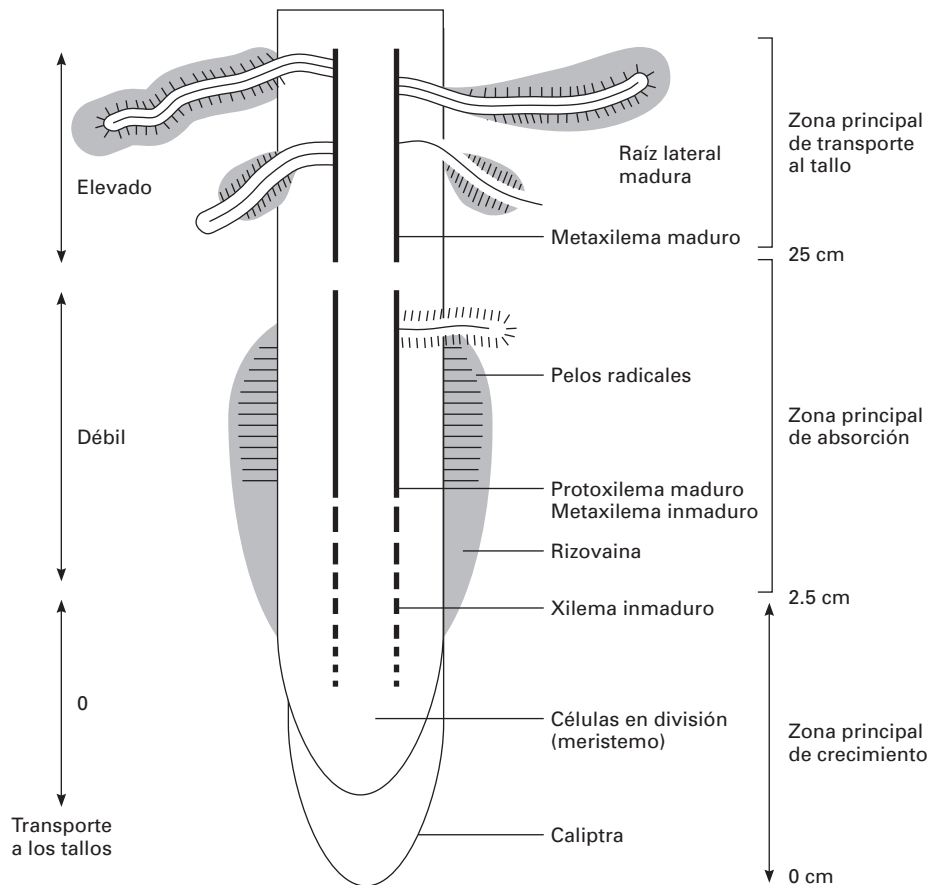


Figura 4-2. Diagrama de una raíz principal de maíz en sección longitudinal, que muestra las diferentes zonas de desarrollo y su relación con la absorción y el transporte de agua al tallo. (Según Ridge, 2002; adaptado de Kramer y Boyer, 1995.)

la permeabilidad y, por consiguiente, la entrada de agua e iones. Sólo cuando los vasos xilemáticos maduran pueden conducir agua mediante un flujo masivo hacia el tallo (Fig. 4-2). Debido a su mayor diámetro, los vasos grandes del metaxilema conducen el agua de manera más rápida (hay que recordar que el flujo masivo es proporcional a la *cuarta* potencia del radio) (véase la ecuación 4-1). Los aumentos en la tasa transpiratoria pueden provocar un desplazamiento de la zona de máxima absorción hacia la base de la raíz (Fig. 4-3).

En las especies leñosas, la mayor parte del sistema radical consta de raíces viejas muy suberificadas. Probablemente, gran parte del agua absorbida por estas raíces penetrará a través de las numerosas fisuras que se originan en la peridermis y la felodermis que rodea al tejido vascular secundario. Se ha observado que en las raíces de *Pinus taeda* L. y *Liriodendron tulipifera* L., a mitad del verano, aproximadamente un 33% del conjunto de las raíces está suberificado. Dado que en esa época tiene lugar el máximo de transpiración, de ello se deduce que la mayor parte del agua podría entrar a través de las raíces suberificadas. Esto puede ser de especial importancia para muchas plantas durante el invierno o durante los períodos de sequía, cuando el desarrollo de las nuevas raíces es escaso y el crecimiento de las ya existentes se encuentra limitado.

A continuación vamos a analizar la vía de transporte de agua radial, desde el suelo al xilema, que es esencialmente la misma tanto para las raíces principales como para las laterales.

2.2. El transporte radial de agua por la raíz, desde la epidermis a la endodermis, tiene lugar a través de las vías apoplástica, simplástica y transcelular, dependiendo de la especie y de las condiciones ambientales

El valor de Ψ_s de la solución del suelo rara vez es inferior a -0.1 MPa. Puesto que la transpiración genera fácilmente un valor de Ψ en el xilema radical de -0.5 MPa y de hasta -2 a -3 MPa en la hoja, el gradiente de potencial hídrico entre la disolución del suelo y los elementos xilemáticos puede ser muy acentuado. En consecuencia, el agua se moverá a través de la raíz como respuesta al gradiente de potencial.

El agua que entra en una raíz principal ha de atravesar primero la epidermis y la exodermis o hipodermis (donde se encuentre presente) y una capa cortical parenquimática de 5 a 10 células de grosor, con numerosos espacios intercelula-

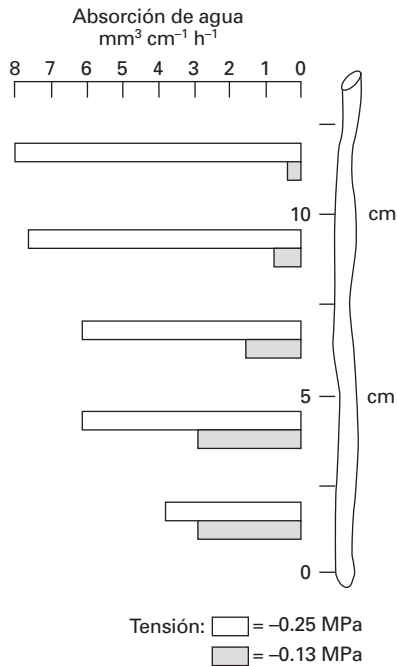


Figura 4-3. Absorción relativa de agua a lo largo de diferentes zonas de raíz de *Vicia faba* en función de la intensidad transpiratoria. La tensión xilemática medida a baja intensidad transpiratoria fue -0.13 MPa, y a alta intensidad transpiratoria, -0.25 MPa. Cuando la transpiración es baja, la mayor absorción de agua se presenta cerca del ápice de la raíz. Cuando es alta, el aumento de tensión desvía la zona de absorción hacia regiones más basales. (Adaptado de Brouwer, 1965.)

res llenos de aire. Seguidamente pasa a la endodermis con la banda de Caspari y, una vez en su interior, se mueve a través de una capa de periciclo, de varias células de grosor, antes de alcanzar el tejido vascular (Fig. 4-1), (véase también el Capítulo 7).

La Figura 4-4 muestra las tres posibles vías para el movimiento del agua a través del córtex de la raíz. La vía **apoplástica** (paredes celulares) (Fig. 4-4 A) ya se mencionó anteriormente. La vía **simplástica** (Fig. 4-4 B) comprende el movimiento en el interior del citoplasma, así como de célula a célula, a través de poros con membrana plasmática que recubren su interior (plasmodesmos), los cuales atraviesan las paredes celulares. La vía **transcelular o transmembrana** (Fig. 4-4 C) también comprende un movimiento en el interior de las células, pero el agua circula entre las células fundamentalmente a través de las paredes celulares y las membranas, y no vía plasmodesmos.

Se ha discutido la posibilidad de que estas tres vías puedan utilizarse para el transporte radial de agua hasta la endodermis, aunque en distinto grado según las condiciones y especies. Cuando la transpiración es rápida puede dominar la vía apoplástica, salvo en aquellas especies en las que la permeabilidad de la membrana al agua es tan elevada que es casi tan fácil para el agua moverse a través de las membranas que a través de las paredes celulares. Si la transpiración

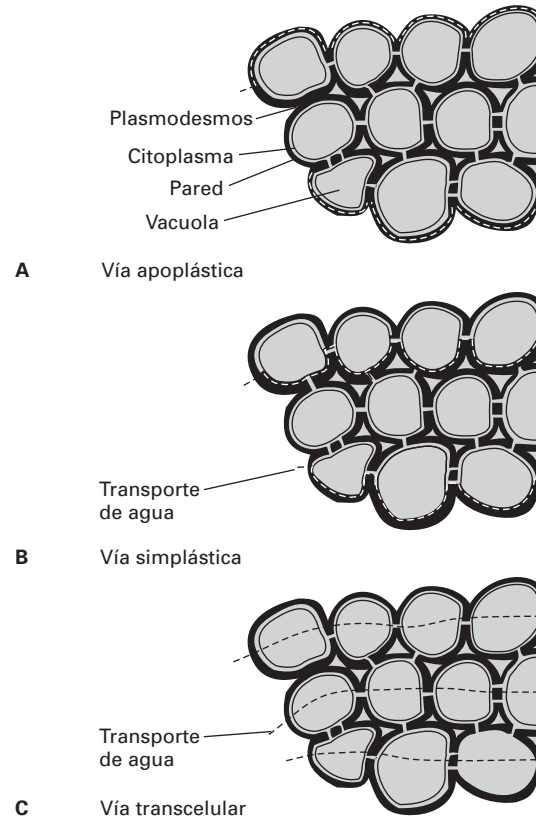


Figura 4-4. Vías apoplástica, simplástica y transcelular para el transporte del agua a través del córtex de la raíz. (Según Steudle y Peterson, 1998.)

es lenta o se detiene (como, por ejemplo, durante la noche), las vías simplástica y transcelular tienden a dominar y son las únicas disponibles para que el agua atraviese la endodermis. Como las paredes radiales de la endodermis contienen una capa de células suberificadas impermeable al agua, denominada **banda de Caspari** (Fig. 4-1), a la que se encuentra fuertemente unida la membrana plasmática, a nivel de la endodermis la vía apoplástica se encuentra bloqueada.

En el maíz y algunas otras gramíneas, atravesar la endodermis es incluso más difícil en las partes más viejas de las raíces, en las que los grandes vasos metaxilemáticos están maduros. Ello se debe a que todas las paredes endodérmicas internas (radiales, transversales y tangenciales) se hacen más gruesas e impermeables al agua como consecuencia del depósito de suberina, lignina, o ambas. Además, otra capa de células (la *exodermis*), situada justo en el interior de la epidermis, puede desarrollar también capas suberificadas, al menos en las paredes radiales, aunque aún no está claro qué grado de resistencia al movimiento apoplástico del agua ejerce esta capa. El agua sólo puede atravesar la endodermis muy suberificada allí donde emergen raíces laterales, o a través de células de paso especiales que carecen de paredes engrosadas, pero que aún poseen una banda de Caspari; existen datos de que en estas zonas el control sobre el movimiento del agua se debe a la disponibilidad de **acuapo-**

rinas en la membrana plasmática (véase el apartado 6.3 del Capítulo 2). El hecho de que el agua se mueva simplásticamente a través de la endodermis también ayuda a explicar por qué la permeabilidad de las raíces al agua depende, en gran medida, de la presencia de acuaporinas. La regulación a la baja en la expresión de genes de acuaporinas reduce considerablemente la conductividad hidráulica de las raíces (véase el apartado 6.2 del Capítulo 2) y puede dar lugar a plantas que se marchiten rápidamente o que produzcan grandes sistemas radicales.

Ahora bien, ¿por qué se presentan en las raíces barreras al movimiento del agua, como las que existen en la endodermis y en la exodermis? De hecho, la propia endodermis, sólo con la banda de Caspari, es una barrera relativamente débil al movimiento del agua, pero muy eficaz en el bloqueo del movimiento apoplástico de solutos. Los solutos (p. ej., iones inorgánicos) son transportados con frecuencia, de forma activa y selectiva, esencialmente a través de canales unidireccionales hacia la estela, y las bandas de Caspari evitan su pérdida. En cambio, el agua se mueve de manera más fácil en ambas direcciones a través de las membranas endodérmicas y los plasmodesmos, y puede salir de la estela y de la raíz, sobre todo si el suelo está muy seco. Este flujo del agua hacia el exterior es más probable que se produzca de noche (por razones que se explican en la siguiente sección) y tiene el efecto de humedecer la rizovaina, lo cual ayuda a mantener la actividad microbiana y la absorción de iones a partir del suelo. Las plantas cuyas raíces penetran en un suelo húmedo y profundo pueden absorber el agua existente a esa profundidad durante la noche y liberarla en el suelo superficial más seco. Este fenómeno, denominado **elevación hidráulica**, es especialmente importante en algunos ambientes desérticos, pero también se presenta en regiones templadas. Los árboles pueden redistribuir cientos de litros de agua cada noche mediante la elevación hidráulica, y se ha visto que las plantas herbáceas y los arbustos que se desarrollan en su proximidad obtienen hasta un 60% del agua a partir de la liberada en el suelo superficial por parte de las raíces de los árboles adyacentes. Recientemente, la denominación de elevación hidráulica se ha sustituido por la de **redistribución hidráulica**, ya que se ha visto que los movimientos del agua a través de las raíces se producen también lateralmente y hacia abajo, además de en sentido ascendente. La redistribución hidráulica se ha observado en más de 50 especies pertenecientes a climas áridos y semiáridos, en árboles, arbustos, gramíneas y especies herbáceas. Es probable que el fenómeno se produzca en la mayor parte de las especies vegetales, siempre que existan gradientes importantes de potencial hídrico en la zona radical activa (Ryel, R.J. y cols. *Oecologia*, 130:173-184, 2002).

El movimiento del agua a través de la endodermis contribuye significativamente a la resistencia de la raíz; la muerte de las raíces conduce a una reducción en la resistencia al movimiento del agua. Una vez que el agua ha atravesado la barrera endodérmica y el cilindro central, las resistencias que encuentre serán comparables a las del córtex; el agua continuará desplazándose a través del cilindro central hasta

que, finalmente, penetre en los vasos y traqueidas xilemáticos para moverse hacia la parte aérea.

2.3. Cuando la transpiración es muy baja, la absorción de agua a consecuencia de una absorción activa de iones en la raíz origina la presión de raíz

Si el tallo de una planta herbácea bien desarrollada se corta a ras del suelo, es frecuente que en la superficie de corte aparezca líquido xilemático. La exudación de dicho líquido, que puede persistir durante varias horas, indica que existe una presión positiva en el xilema. La magnitud de esta presión se puede medir adaptando un manómetro a la superficie de corte. Esta presión se denomina **presión radical**, ya que las fuerzas que originan la exudación se originan en la raíz.

Igualmente, cuando una planta se desarrolla en condiciones de muy baja transpiración, con el sistema radical en un medio bien aireado, húmedo y caluroso, a menudo aparecen gotitas de líquido en los ápices y los márgenes de las hojas. Estas gotitas, denominadas gotas de **gutación**, salen a través de los hidatodos. La fuerza responsable de la gutación surge en las raíces y se debe a la presión radical.

Se ha propuesto que la presión radical se desarrolla como consecuencia de una disminución del valor del Ψ_s en la savia del xilema radical. Ello se debe al transporte activo de iones inorgánicos y materiales orgánicos hacia los vasos y las traqueidas xilemáticas a partir del parénquima xilemático circundante (véase el Capítulo 7). Por tanto, el agua se moverá a través de la raíz en respuesta al gradiente de potencial hídrico desarrollado. En otras palabras, la raíz se comporta como un osmómetro, al favorecer la entrada de agua en los vasos xilemáticos y originar una presión hidrostática en el interior del cilindro central.

Se ha intentado atribuir una función importante a la presión radical. Una presión de 0.1 MPa podría hacer subir al agua casi 10 m y, por eso, se propuso que la presión radical sería el mecanismo que explicaría la ascensión del agua en la planta; no obstante, existen datos en contra. En primer lugar, no se ha demostrado que en todas las especies exista presión radical. En segundo lugar, la presión radical se presenta con una periodicidad circadiana, máxima durante la noche y mínima durante el día; además, suele ser estacional: alta durante la primavera y mínima o no detectable en el verano, cuando la pérdida transpiratoria es mayor. Finalmente, se puede demostrar que en períodos de transpiración activa, las columnas de agua xilemática están sometidas a tensión y nunca presentan una presión positiva. Las raíces sometidas a frío, anaerobiosis o venenos metabólicos no presentan presión radical, probablemente porque en tales condiciones el transporte de solutos al xilema cesa. No obstante, si se corta el sistema radical, la transpiración no resulta afectada hasta que pasa bastante tiempo, e incluso puede aumentar.

Se ha sugerido, por otra parte, que en el caso de que se haya presentado cavitación debida a transpiración rápida,

sequía, congelación o cualquier otra anomalía, la presión radical podría volver a funcionar y, por tanto, restablecería la continuidad de las columnas de agua en el xilema. Sin embargo, visto en su conjunto, es muy probable que la presión radical sea una consecuencia fortuita de la acumulación de iones en el xilema, y que no ejerza ningún papel esencial en el equilibrio hídrico total de la planta.

3. FLUJO HÍDRICO A TRAVÉS DEL XILEMA

La supervivencia de las plantas terrestres depende de que el agua sea absorbida por el sistema radical y ascienda a través del tallo y las ramas en cantidad suficiente para reemplazar la pérdida por transpiración en las hojas. Además, el sistema a través del cual se mueve el agua ha de permitir una tasa de transporte relativamente rápida. Pero la difusión del agua de una célula a otra, tal como se describió anteriormente (véase la Fig. 2-8), es un proceso demasiado lento para suministrar agua suficiente a la parte superior de la planta. De hecho, la existencia de la flora terrestre ha dependido de la evolución de un sistema vascular conductor de agua.

3.1. El transporte de agua en el xilema depende del gradiente de potencial hídrico y de las características anatómicas de los vasos y las traqueidas

La hipótesis de que el **xilema** era el tejido a través del cual el agua ascendía por el tallo se formuló por primera vez hace más de 250 años. En las angiospermas, el agua se mueve primordialmente a través de **vasos**, elementos que durante la maduración pierden su citoplasma, desarrollan paredes perforadas y se fusionan en hileras para formar tubos largos. Estos vasos pueden tener muchos metros de longitud y oscilan entre 20 y 700 μm de diámetro, dependiendo de la especie. En las gimnospermas, el elemento conductor es la **traqueida**. Las traqueidas son más cortas (<5 mm) y estrechas (<30 μm) que los vasos, poseen paredes terminales adelgazadas, que se superponen con las células contiguas, y punteaduras reforzadas, tanto en las paredes laterales como en las terminales, a través de las cuales fluye el agua. Las células de vasos y traqueidas pierden el citoplasma durante su maduración, y poseen paredes celulares muy lignificadas y relativamente rígidas. Entre las hileras adyacentes de células existen conexiones frecuentes a través de punteaduras en las paredes laterales. Los vasos y las traqueidas se extienden hacia las raíces y las hojas, donde se ramifican repetidamente.

Dado que los vasos y las traqueidas han perdido su citoplasma, la resistencia al flujo de agua en el xilema es baja. Aunque el xilema se considera un sistema de conductos a través del cual se mueve el agua, gracias a la existencia de numerosas paredes transversales perforadas, más bien se trata de tubos interrumpidos a intervalos frecuentes. Como se explicará más adelante, en determinadas circunstancias

estas paredes transversales parecen ser esenciales para el funcionamiento continuado del sistema de transporte.

3.2. El transporte de agua en el xilema se produce por flujo masivo

El flujo masivo a través de los vasos xilemáticos (véase el Capítulo 2, apartado 6.2) se puede analizar utilizando la ecuación de Hagen-Poiseuille, que demostró que cuando un fluido está sometido a presión en un capilar, el **flujo total por conducto** o **caudal**, q_v ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$) es función de la viscosidad del líquido, η (Pa s), del gradiente de presión hidrostática, ΔP (Pa), del radio del capilar, r (m), y de la longitud de éste, l (m):

$$q_v = \frac{\pi r^4}{8 \eta l} \Delta P \quad [4-1]$$

Desde otro punto de vista, se puede indicar que el caudal es inversamente proporcional a la resistencia del capilar al flujo (R):

$$R = \frac{\Delta P}{q_v} \quad [4-2]$$

La ecuación 4-1 se aplica al movimiento del agua en los vasos xilemáticos porque éste viene provocado por la diferencia de tensión entre el suelo y las hojas. Es importante destacar que **el flujo es, por tanto, directamente proporcional a la cuarta potencia del radio**. Las consecuencias de esta relación se pueden vislumbrar comparando las tasas de flujo para una traqueida de 40 μm de diámetro ($r = 20 \mu\text{m}$) y un vaso de 200 μm de diámetro ($r = 100 \mu\text{m}$). Aunque el diámetro relativo del vaso sea sólo 5 veces superior al de la traqueida, la velocidad relativa del flujo será 625 (es decir, 5^4) veces la de la traqueida. La elevada velocidad del flujo en los vasos mayores se debe a que la velocidad del flujo de agua en toda la sección del conducto no es uniforme. La velocidad del flujo de las moléculas situadas en la proximidad de la pared del conducto se reduce por fricción, debido a las fuerzas de adhesión entre el agua y la pared del conducto. A medida que el diámetro del conducto aumenta, la proporción de moléculas en la proximidad de la pared (y, por tanto, sujetas a fuerzas de fricción) disminuirá. En otras palabras, las moléculas que se mueven más rápidamente en el centro del conducto constituyen la mayor proporción del conjunto, aumentando así la velocidad total del flujo.

En el caso de la vid, que posee vasos xilemáticos grandes y abiertos, se ha encontrado coincidencia con la ley de Hagen-Poiseuille. Especies como el roble, que posee un leño poroso anillado, arrojan también valores próximos a los teóricos, mientras que especies con un leño poroso difuso, tales como el haya, ofrecen valores considerablemente inferiores a los previstos.

Se han desarrollado diversos **métodos de cuantificación del flujo xilemático**. La forma más directa consiste en medir la cantidad total de agua que pasa a través del tallo, entre

el sistema radical y la parte superior de la planta. Las mediciones en plantas intactas fueron realizadas por primera vez por Huber y Schmidt (1932), quienes diseñaron el «método del pulso calorífico», que mide la velocidad del flujo de agua en el xilema. Para calcular la cantidad total de agua ha de conocerse el área conductora real, lo que generalmente es imposible, puesto que no se sabe qué vasos participan en el transporte. Para superar esta limitación se puede utilizar la técnica del flujo en masa de equilibrio estable, basada en la capacidad calorífica específica del agua, con dos métodos principales de medida: el de calentamiento continuo y el de equilibrio calorífico. Las velocidades máximas del flujo observadas en tallos de diferentes árboles oscilan entre 0.3-0.8 mm s⁻¹ en las coníferas y 0.2-1.7 mm s⁻¹ en especies de leño poroso difuso (*Populus*, *Acer*), hasta valores de 1.1-12.1 mm s⁻¹ en las especies de leño posoro anillado (*Fraxinus*, *Ulmus*). En especies herbáceas, la corriente de agua xilemática puede llegar a alcanzar velocidades de hasta 28 mm s⁻¹ (100 m h⁻¹). Estos valores son inferiores a los esperados, en parte debido a la resistencia al flujo en las membranas de las punteaduras.

3.3. La ascensión del agua en la planta se puede explicar mediante la teoría de la tensión-cohesión

Cualquier teoría sobre la ascensión del agua en la planta, para ser aceptable, ha de explicar cómo llega a las partes superiores de los árboles más altos. Especies de *Sequoia* de California, de *Pseudotsuga menziesii* del noroeste del Pacífico o de *Eucalyptus* en Australia pueden alcanzar alturas superiores a los 100 m. Cuando a esa altura se añade la profundidad de penetración de las raíces en el suelo, resulta claro que, en casos extremos, el agua ha de subir aproximadamente 120 m.

Aunque en los últimos 100 años se han propuesto muchas teorías para explicar la ascensión de la savia, en la actualidad se acepta la **teoría de la tensión-cohesión del agua**. Cuando el agua se halla confinada en tubos con un diámetro estrecho y paredes humedecibles (tales como los vasos y las traqueidas xilemáticas), al aplicar un tirón desde la parte superior la tensión se transmitirá a través de la columna de agua sin que se pierda el contacto con la pared del tubo (fuerzas de adhesión). En otras palabras, en el interior de tales tubos las columnas de agua se comportan como si todas las moléculas estuviesen conectadas, y la tensión aplicada a cualquier parte de la columna se transmite a través de ella. Si se aplica tensión (presión negativa) a un extremo de la columna, el agua se moverá hacia la fuente de la tensión.

Los vasos y las traqueidas encierran columnas de agua continuas, en forma de hilos frecuentemente entrelazados, que se extienden desde los nervios foliares hasta el xilema de las raíces más pequeñas. **La transpiración crea un gradiente de potencial hídrico** a través del mesófilo foliar, que hace que el agua desaparezca en los extremos de los nervios

foliares. La pérdida de agua a ese nivel crea una tensión en las columnas del xilema, cuya magnitud depende de la intensidad transpiratoria. El fluido xilemático es una solución muy diluida de sales, y su potencial osmótico no es inferior a -0.1 ó -0.2 MPa; de esta manera, el potencial hídrico en el xilema reflejará, esencialmente, la tensión existente. Por tanto, la reducción en el potencial hídrico a nivel de la superficie transpirante foliar será transmitida a través del xilema hasta las raíces, donde provocará que el agua fluya desde el suelo hacia el interior (véase el apartado 2.2), variando la velocidad de absorción con el nivel de tensión desarrollado. En tales condiciones se creará un **flujo en masa continuo** desde el suelo, vía raíces, tallos y hojas, hasta la atmósfera exterior (Fig. 4-1).

En condiciones ideales, una columna de agua podría soportar, sin romperse, una tensión de -100 a -200 MPa. En el xilema, tales condiciones ideales no existen pero, para tubos similares en diámetro y composición a los vasos y las traqueidas, se han aplicado tensiones de hasta -35 MPa antes de que se presente una rotura en la columna. La columna será tanto menos estable cuanto mayor sea su diámetro, y cuando la tensión se hace excesiva, se producirá **cavitación**, con formación de burbujas de aire (véase el apartado 3.4). Se ha calculado que para que suba el agua en los árboles en condiciones de máxima transpiración, se necesita una tensión comprendida entre -0.015 y -0.02 MPa por metro de altura. Este valor representa la tensión necesaria para contrarrestar el efecto hidrostático de la gravedad, así como para superar la resistencia al flujo en el interior de los estrechos conductos xilemáticos. Por tanto, en los árboles más altos (≥ 120 m), una tensión de -2.4 MPa (-0.02 x 120) sería suficiente para que el agua ascendiera desde el suelo a la copa. En las especies herbáceas son frecuentes valores de potencial hídrico de -0.5 a -1.0 MPa, y en los árboles de tamaño moderado, valores de -2.0 a -3.0 MPa en condiciones de transpiración intensa. En algunas especies desérticas, se han medido valores de potencial hídrico foliar de -10 MPa e inferiores. Todas estas medidas del potencial hídrico en árboles se han realizado con la cámara de presión (Capítulo 2, apartado 5.2); pero ha existido cierta controversia sobre si esos valores tan negativos son reales o no, pues si las determinaciones se hacen con la sonda de presión, los valores más bajos que se obtienen nunca son inferiores a -0.6 MPa. Ello haría imposible la ascensión del agua en los árboles más altos y cuestionaría, además, la validez de la teoría de la cohesión-tensión. Por tanto, o bien la sonda de presión xilemática es incapaz de medir presiones xilemáticas bajas, o ha de existir algún mecanismo adicional, o alternativo, al propuesto para la teoría de la cohesión-tensión. En la actualidad predomina la primera de estas dos explicaciones, aunque no está claro *por qué* la sonda de presión xilemática no mide presiones bajas. Lo más probable es que la sonda cause cavitación en el xilema, aspecto que se examina a continuación.

A medida que la tensión xilemática aumenta, los tejidos superficiales pierden agua y el diámetro del tallo disminuye. Por la noche, cuando los estomas se cierran y la pérdida

transpiratoria es escasa, según van desapareciendo las tensiones el tallo vuelve a su diámetro original. Está claro pues que las fuerzas necesarias para el transporte de agua son compatibles con la arquitectura del sistema vascular, y las hojas pueden continuar haciendo su función con tensiones superiores a las que se necesitan para satisfacer las demandas transpiratorias incluso de las especies forestales más altas.

Dado que toda el agua de una planta está conectada, las fuerzas cohesivas en el xilema actúan tanto lateral como verticalmente. Por consiguiente, si algunos de los elementos xilemáticos se llegasen a bloquear mediante burbujas de aire (véase cavitación y embolia; apartado 3.4), o si la continuidad vertical de las columnas de agua se interrumpiese mediante un corte profundo, el agua se movería lateralmente alrededor del obstáculo y continuaría a través de los elementos xilemáticos no lesionados.

3.4. Las columnas de agua en el xilema se hacen muy inestables a medida que la tensión aumenta, pudiéndose originar pequeñas burbujas de aire (cavitación) que se fusionan y dan lugar a burbujas mayores que causan obstrucción (embolia)

A pesar de la fuerza de cohesión, el agua del xilema se puede romper (**cavitar**) en las tensiones extremas que se presentan en la naturaleza. Una vez iniciada la formación de burbujas, éstas se extienden rápidamente formando una **embolia** en el interior del vaso o traqueida, que se detiene en las membranas de las punteaduras. El xilema, sin embargo, minimiza los efectos de la embolia; por una parte, las punteaduras actúan como válvulas complicadas que se cierran cuando la presión aumenta en uno de los vasos y, por otra parte, el agua puede moverse lateralmente a través de las punteaduras, evitando el conducto bloqueado (Fig. 4-5). A menos que la lesión sea repentina y muy extensa, la cantidad total de agua transportada no se modificará. Por lo que respecta a la *vulnerabilidad* de la planta al embolismo, hay que destacar la importancia de la *estructura del xilema*. La cavitación es bastante más frecuente en los conductos anchos que en los estrechos. Por tanto, las plantas que poseen relativamente pocos vasos anchos y largos no sólo son más susceptibles si se emboliza un vaso, sino que también pierden una mayor proporción de su sistema conductor. Puesto que las traqueidas son más estrechas y cortas que los vasos, es bastante probable que las coníferas sean menos susceptibles a la cavitación. No obstante, debido a su mayor diámetro y longitud, los vasos ofrecen menos resistencia al flujo hídrico y, por consiguiente, permiten un mayor volumen de flujo. Así, las coníferas serían incapaces de suministrar agua con la suficiente rapidez a hojas con tasas elevadas de transpiración; de ahí que estas plantas tengan hojas con forma de acículas, que actúan restringiendo las tasas transpiratorias.

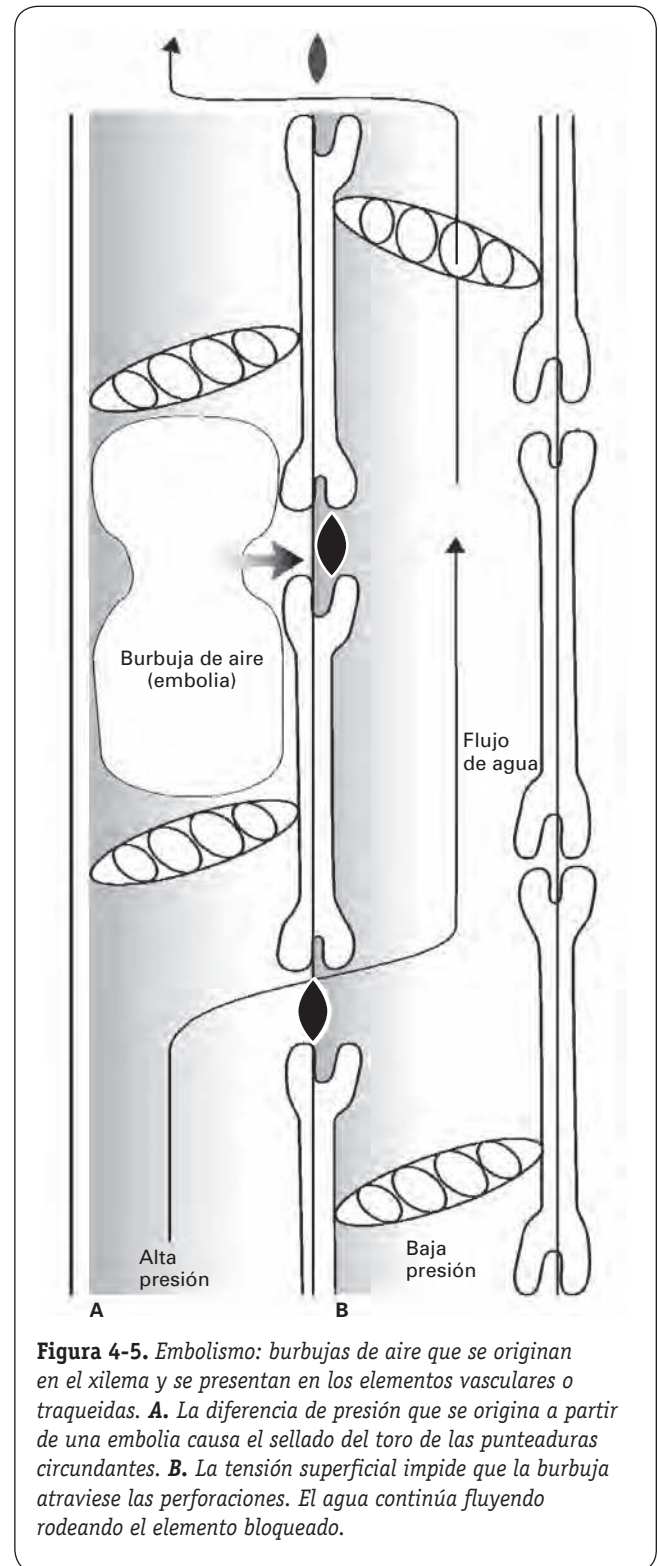


Figura 4-5. Embolismo: burbujas de aire que se originan en el xilema y se presentan en los elementos vasculares o traqueidas. **A.** La diferencia de presión que se origina a partir de una embolia causa el sellado del toro de las punteaduras circundantes. **B.** La tensión superficial impide que la burbuja atraviese las perforaciones. El agua continúa fluyendo rodeando el elemento bloqueado.

Un segundo aspecto que influye en la vulnerabilidad al embolismo es la permeabilidad y la rigidez de la membrana de la punteadura; cuanto más permeables sean las membranas de las punteaduras, tanto más fácil será el flujo lateral. No obstante, las membranas de las punteaduras son también barreras esenciales que impiden que las burbujas

de aire se dispersen de un conducto embolizado a otro, y existen pruebas de que, con presiones xilemáticas muy bajas, esta barrera pierde eficacia. La presencia de burbujas de aire diminutas facilitará su difusión a través de los poros en las membranas de las punteaduras de conductos embolizados, provocando cavitación en los conductos adyacentes; y cuanto más grandes sean los poros (es decir, cuanto más porosa sea la membrana), tanto más probable será la coalescencia de burbujas de aire. El tamaño del poro está relacionado con el diámetro del vaso o traqueida, lo que constituye otro ejemplo de equilibrio entre la facilidad y la velocidad del flujo hídrico y el riesgo de cavitación y embolismo.

En muchas especies herbáceas, la interconexión entre los elementos individuales del tejido vascular puede ser tan extensa que la oclusión de una parte de éste prácticamente no tiene efecto sobre el movimiento total del agua. Sin embargo, la entrada de aire puede actuar como un estímulo para la formación de tilosas, bloqueándose de esta forma el interior de los vasos xilemáticos. Esto provoca la pérdida irreversible de la función xilemática en el leño más viejo.

En los árboles viejos, una porción considerable del xilema puede no ser funcional debido a embolias o al depósito de materiales que interrumpen la continuidad de la columna de agua. Se ha demostrado que en algunas especies de árboles canadienses hasta un 40% del volumen del tronco puede estar ocupado por gases, aunque afortunadamente hay un gran **exceso de xilema** en relación con la cantidad de agua que se transporta. En especies de árboles con leño poroso anillado, casi todo el transporte de agua se encuentra confinado al anillo anual más externo (el más joven) del xilema secundario, mientras que en las especies de leño poroso difuso, varios de los anillos anuales más externos pueden participar en el transporte de agua.

Hasta mediados de los años setenta se suponía que la cavitación era relativamente rara y que no afectaba seriamente al flujo de agua en el xilema. No obstante, las ideas empezaron a cambiar cuando se aplicó a plantas enteras un método de detección de los fenómenos de cavitación. Este **método de detección acústica** depende del hecho de que una liberación brusca de la presión durante la cavitación hace que las paredes celulares vibren, produciendo un «chasquido» audible que se puede detectar con un micrófono y un equipo de amplificación apropiados. El uso de detectores ultrasónicos sensibles en la región de 0.1-1.0 MHz mejora el método de detección, ya que la falta de ruido ambiental en esa gama de frecuencia facilita su utilización en campo. Para que esta técnica posea valor como indicadora de disfunción xilemática es necesario demostrar que los fenómenos que se detectan se presentan en los elementos xilemáticos más importantes, en lugar de en fibras o traqueidas pequeñas. Esto no se ha demostrado aún suficientemente, y existen datos de que muchos fenómenos acústicos se originan, frecuentemente, en elementos no conductores. Dadas las dificultades que plantea la detección acústica como indicador de la embolia xilemática, es más

seguro utilizar la pérdida de **conductividad hidráulica** como medida básica del embolismo.

3.5. La cavitación y las embolias son frecuentes en condiciones de estrés hídrico, congelación e infección por algunos patógenos

Parece ser que los factores responsables de la cavitación son fundamentalmente tres:

- a) El **déficit hídrico**, asociado a tasas elevadas de transpiración y altas tensiones xilemáticas, especialmente en hojas y ramas pequeñas. Aparentemente, diminutas burbujas de aire se filtran a través de las finas membranas de las punteaduras que separan un conducto embolizado del contiguo. Las burbujas actúan como origen o núcleos de una ulterior cavitación, y cuanto más grandes sean los poros, más probable es la formación de burbujas. El tamaño de los poros se relaciona con el diámetro de los vasos o traqueidas, de tal manera que, aunque el flujo de agua es más fácil y rápido a través de los conductos anchos, existe sin embargo un mayor riesgo de cavitación. El desarrollo de déficits hídricos durante el día es la principal causa de embolia durante la época de crecimiento de la planta.
- b) La **congelación** del xilema en el invierno conduce, cuando más adelante se produce la descongelación, a la formación de numerosas burbujas de aire, con lo que la embolia se extiende.
- c) Existe también un tercer factor, posiblemente de cierta importancia. Se ha observado que la embolia inducida por un patógeno es la causa más importante de la disfunción provocada en el xilema por el hongo causante de la grafiosis (*Ceratocystis ulmi*), que ha devastado la mayoría de los olmos en Europa y Norteamérica. Esto también podría ser cierto en el caso de otros patógenos que ocasionan un marchitamiento rápido. El motivo de que los **patógenos** provoquen embolia no está aún claro, pero una sugerencia interesante es que, al liberar en la savia del xilema compuestos tales como el ácido oxálico, la tensión superficial disminuye. Ello facilitaría la aparición de núcleos de aire a nivel de las membranas de las punteaduras.

3.6. Las embolias se pueden eliminar por presión positiva en el xilema debida a la presión de raíz

El aire en una embolia vuelve de nuevo a la solución cuando la presión en el xilema asciende hasta alcanzar la presión atmosférica o ligeramente por debajo. En las plantas herbáceas sucede a menudo por la noche, debido al fenómeno denominado **presión de raíz o radical** (véase el apartado 2.3).

Durante la noche, los poros estomáticos se cierran y, en gran medida, la transpiración se detiene, pero en las raíces continúa la absorción activa de iones y el flujo osmótico de agua hacia el interior. Los iones acumulados difunden hacia la savia xilemática diluida y el agua sigue fluyendo hacia dentro, aumentando gradualmente la presión hidrostática hasta hacerse positiva.

Por lo general, las presiones radicales son pequeñas (0.1-0.2 MPa), pero en las plantas herbáceas bastan para inducir el relleno de los conductos embolizados. En los árboles no se desarrollan presiones radicales positivas durante la estación de crecimiento, y por eso es vital que no se presente una embolia a gran escala. Esto se consigue aparentemente mediante el cierre de los estomas y la reducción de la tasa transpiratoria, pero a costa de reducir el suministro de CO_2 para la fotosíntesis. No obstante, en las pequeñas ramas periféricas, donde se experimentan las presiones xilemáticas más negativas, es corriente la embolia masiva que, en ocasiones, origina su muerte.

La recuperación de la embolia provocada por la congelación en invierno se debe, al menos en parte, al crecimiento de nuevas células xilemáticas en primavera. No obstante, en algunas plantas leñosas, especialmente en el abedul y la vid, se desarrollan grandes presiones radicales en primavera, que expulsan el aire fuera del xilema embolizado. Esta «subida de la savia» es tan pronunciada que se pueden observar gotas de fluido durante varios días («lloro») sobre los extremos cortados de las ramas podadas, produciéndose espuma a medida que el aire se expulsa.

La susceptibilidad a la cavitación, la tolerancia a la embolia y la capacidad de recuperación han sido, indudablemente, los factores más influyentes en el tipo y la distribución de las plantas terrestres, especialmente en su resistencia a la sequía y a la congelación. La importancia del embolismo no se había puesto de manifiesto hasta hace poco, pero indudablemente va a constituir un área clave de investigación en el futuro.

4. MOVIMIENTO DEL AGUA EN LA HOJA

En los nudos del tallo se originan ramificaciones del sistema vascular que pasan a través del pecíolo hasta el limbo foliar. Dentro del limbo, las ramificaciones son extensas, y a menudo se anastomosan, terminando como elementos xilemáticos aislados con sus extremos abiertos, en tal número que ninguna célula de la hoja se encuentra a más de dos o tres células de distancia de los nervios. Es precisamente a través de esta intrincada y extensa red de elementos xilemáticos como el agua y los nutrientes minerales se mueven en la hoja.

Las paredes celulares están compuestas de celulosa y otras macromoléculas (véase el Capítulo 1). Debido a sus propiedades y a su organización estructural, estas moléculas muy hidrófilas confieren a las paredes celulares un potencial matricial muy negativo. Las moléculas de agua transpiradas por la hoja se liberan previamente en la atmósfera foliar,

mediante evaporación a nivel de los espacios microcapilares en el interior de las paredes celulares. La reducción del contenido hídrico de estas paredes por debajo del nivel de saturación disminuye su potencial hídrico; por tanto, el agua fluye hacia estas paredes celulares a partir de las células adyacentes ($\Psi = \Psi_s + \Psi_p + \Psi_m$; en la pared celular $\Psi_p = 0$ y $\Psi_s > -0.1$ MPa; por consiguiente, el valor de Ψ vendrá dado por el valor de Ψ_m). Se establece así un **gradiente de potencial hídrico** a través del mesófilo, de manera que las células que bordean los espacios intercelulares poseen un potencial más bajo que las más alejadas. El agua se moverá a lo largo de este gradiente hasta que, finalmente, la que se ha perdido por transpiración sea reemplazada por la que procede de las superficies de agua libre en los terminales de los nervios. La pérdida de agua en los elementos xilemáticos origina una tensión en las columnas de agua del xilema que se puede transmitir hasta las raíces (véanse las Figs. 4-1 y 4-6).

5. BALANCE HÍDRICO

El uso de términos tales como **balance hídrico** y **economía del agua** pone de relieve que las relaciones hídricas en las plantas se pueden contemplar partiendo de la base de que el balance o estado hídrico (Capítulo 2) se encuentra controlado por las intensidades relativas de absorción y pérdida de agua.

El balance hídrico se puede calcular a partir de las determinaciones cuantitativas de la absorción de agua y de la transpiración. No obstante, las medidas necesarias son aún inexactas y difíciles de obtener, especialmente en condiciones de campo. Por tanto, es frecuente hacer una **estimación indirecta** del balance hídrico a través de su efecto en el contenido hídrico (o, mejor, en el contenido hídrico relativo) o potencial hídrico de la planta. Un balance negativo siempre se manifestará por una disminución de la turgencia y el potencial hídrico de los tejidos. El estado hídrico de las plantas puede ser muy variable a lo largo del tiempo, en una escala temporal que va de minutos a meses. De hecho, en muchas especies arbóreas es frecuente que se presenten grandes variaciones estacionales en el contenido de los troncos.

Dependiendo del hábitat y de las características funcionales de la planta, es posible distinguir dos tipos diferentes de balance hídrico: plantas hidroestables o isohídricas y plantas hidrolábiles o anisohídricas (véase el Capítulo 3, apartado 3.3.2). Las **plantas hidroestables** son aquellas que mantienen un contenido hídrico favorable, y cuyo balance hídrico varía muy poco durante el día. Pertenecen a este grupo especies acuáticas, suculentas, plantas de sombra (esciófitas o esciófilas), algunas gramíneas y árboles de regiones húmedas. Sus estomas responden con gran sensibilidad a la falta de agua, y los sistemas radicales son, en general, extensos y eficientes. Las fluctuaciones diarias y estacionales en el potencial osmótico y en el potencial hídrico son reducidas.

Las **plantas hidrolábiles** toleran la pérdida de grandes cantidades de agua, con el consiguiente aumento en la

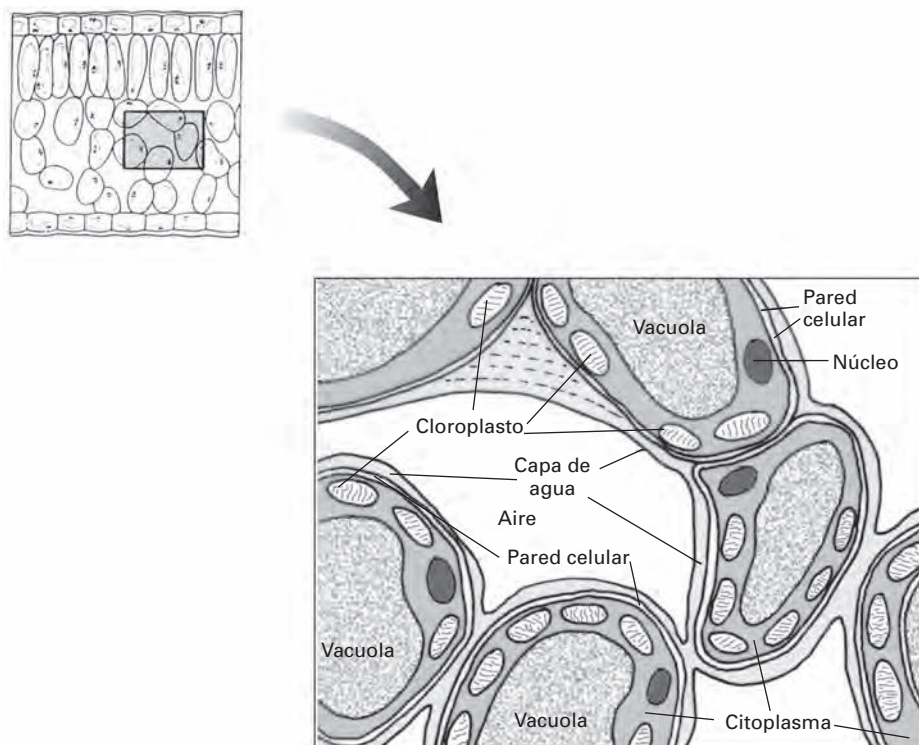


Figura 4-6. Tensión (presión negativa) en la columna de agua. La evaporación en el interior de la hoja hace que el agua se retraiga en el interior de los espacios existentes entre las células del mesófilo. A medida que el agua se retrae, la tensión superficial resultante tira del agua existente en las células adyacentes. Dado que la columna de agua es continua, la tensión es transmitida a través de ella hacia las raíces y el agua del suelo.

concentración del jugo celular. Muchas especies herbáceas de hábitat soleados (heliófitas o heliófilas), gramíneas esteparias, así como muchas leñosas, especialmente especies colonizadoras, son hidrolábiles, y todas las plantas poiquilohídricas (véase el apartado 6.2.2) lo son en grado extremo. Estas plantas pueden tolerar grandes fluctuaciones en el potencial hídrico, así como la marchitez temporal. La recuperación de estas situaciones adversas es rápida, gracias a su elevada relación raíz/parte aérea, y a la eficacia de los sistemas de transporte de agua.

5.1. En las plantas con buena disponibilidad de agua en el suelo, a medida que la transpiración aumenta durante el día, el potencial hídrico puede disminuir debido al retraso en la absorción

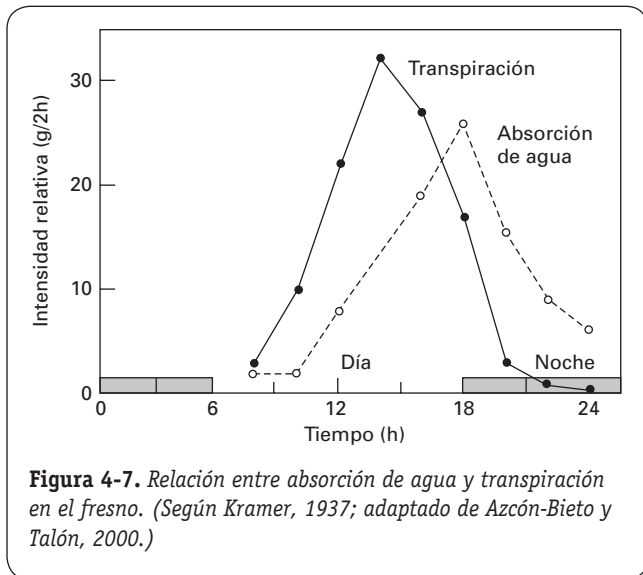
Los estomas de las plantas bien regadas se abren diariamente poco después del amanecer, y el aumento de la demanda evaporativa crea los gradientes de concentración de vapor de agua necesarios para que tenga lugar la transpiración (véase el Capítulo 3).

Generalmente, a medida que la transpiración aumenta la pérdida de agua excede la absorción (Fig. 4-7). Ello se debe a que existe una resistencia considerable al flujo de agua

desde el suelo al xilema radical y, por otra parte, a que hay un volumen apreciable de agua fácilmente disponible en las células parenquimáticas turgentes de la hoja y del tallo que satisfacen la demanda transpiratoria.

A medida que el agua se retira de las células del mesófilo durante la transpiración, el Ψ foliar disminuye. En días muy despejados, el potencial hídrico foliar muestra una variación temporal similar a la de la radiación solar. No obstante, el equilibrio entre la pérdida transpiratoria de agua y su restauración es extraordinariamente dinámico, y pequeños cambios en las condiciones ambientales pueden provocar grandes variaciones en el Ψ foliar en sólo unos minutos. Esto es especialmente evidente en los días parcialmente nublados, en las plantas que se desarrollan en suelos muy húmedos. Al pasar del sol radiante a la sombra, la temperatura de la hoja disminuye rápidamente debido al enfriamiento convectivo y transpiratorio, reduciéndose, por tanto, el gradiente de concentración de vapor de agua entre la hoja y el aire (véase el Capítulo 3, ecuación 3-1). La recuperación del potencial hídrico foliar al anochecer en las plantas bien regadas sigue la reducción en la radiación solar, pero el Ψ foliar puede presentar un comportamiento ligeramente diferente al de la mañana debido a los mayores déficit de presión de vapor, característicos del anochecer.

Por lo general, la resistencia al flujo de agua es menor entre las células parenquimáticas y las superficies evaporan-



tes que a nivel de la absorción en las raíces. Por tanto, la causa del retraso en la absorción, en condiciones de buena disponibilidad de agua, es una resistencia elevada en las membranas de las células radicales. En el caso de los árboles, una consecuencia del retraso entre absorción y transpiración es que, durante el día, cuando las tasas transpiratorias son elevadas, el agua tiende a salir de las células situadas en las proximidades de la vía principal hacia el xilema funcional. Esto provoca una reducción en el volumen de las células «donantes», de modo que los troncos se pueden encoger durante el día e hinchar durante la noche a medida que las células se rehidratan.

En ciertas condiciones ambientales, el retraso en la absorción llega a ser tan acentuado que las plantas se marchitan, incluso teniendo agua en el suelo. Es el caso, por ejemplo, de la **temperatura baja del suelo**, cuyo efecto más importante es el aumento de la resistencia hidráulica de las membranas celulares en las raíces. La existencia de frío en la raíz, junto con temperaturas foliares elevadas, vientos fuertes y aire seco (factores que estimulan la transpiración), suelen matar a la planta por desecación. El peligro es grande en los ambientes alpinos, pero las plantas procedentes de ambientes cálidos y tropicales también son muy susceptibles a esta forma de lesión.

Una **escasa aireación del suelo**, especialmente cuando se combina con condiciones que favorecen la transpiración, también puede provocar una lesión por desecación. La falta de oxígeno implica la respiración anaeróbica en las raíces y reduce el suministro de ATP. Los productos finales de este proceso, así como la presencia de otros iones tóxicos en el ambiente reductor que rodea la raíz, tienden a lesionar las células radicales y aumentan su resistencia hidráulica. Además, la limitación de ATP restringe la capacidad de las raíces para absorber activamente iones y mantener el bajo potencial hídrico necesario para incorporar agua del suelo. Por tanto, una de las consecuencias de los suelos inundados es la desecación. En las plantas adaptadas a la inundación, el oxígeno puede difundirse desde las partes aéreas a las

raíces, a través de espacios aéreos gigantes interconectados (aerénquima), de tal manera que las raíces permanecen oxigenadas incluso en suelos totalmente anaerobios.

La estructura de la raíz; la presencia de una endodermis con paredes celulares impermeables; o cualquier factor que afecte al movimiento del agua a través de las membranas celulares radicales, así como a la capacidad de acumulación de iones, son, todos ellos, factores que afectan al grado de retraso en la absorción. Ello condiciona, a su vez, el gradiente de potencial hídrico, necesario para mover el agua a través de la planta a una velocidad suficiente para satisfacer las pérdidas transpiratorias.

5.2. En condiciones de sequía, el potencial hídrico de la planta disminuye considerablemente y puede presentarse un ajuste osmótico

A medida que un suelo se seca y su potencial hídrico va adquiriendo valores cada vez más negativos, las plantas han de disminuir su potencial hídrico con el fin de mantener el gradiente de potencial necesario para la absorción de agua. Teóricamente, esto puede producirse de dos maneras: por disminución del potencial osmótico (por acumulación de solutos) o por disminución de la turgencia (mediante simple deshidratación). En los suelos sometidos a sequía, el mecanismo más importante es la disminución del potencial osmótico, bien mediante una estimulación de la acumulación de iones inorgánicos, o mediante un aumento en los niveles de solutos orgánicos. Tal **ajuste osmótico** u **osmorregulación** puede impedir la pérdida de turgencia de la raíz.

El potencial hídrico de la planta experimenta una oscilación más o menos característica, con valores más elevados al amanecer y al anochecer y más bajos al mediodía, cuando el desequilibrio entre transpiración y absorción es máximo. La amplitud de esta tendencia aumenta con el grado de sequía en el suelo. Así pues, durante el día existe un **déficit hídrico** provocado por transpiración, resistencia elevada en las raíces, y lesión en el xilema por embolia y cavitación. Por la noche, cuando cesa la transpiración, los déficit hídricos diurnos se eliminan gradualmente y, con el tiempo, el potencial hídrico de la planta alcanza un cierto equilibrio con el potencial hídrico del suelo (Fig. 4-8).

Cuando las altas tasas de transpiración acentúan el gradiente de potencial hídrico en la planta, el potencial hídrico de la raíz disminuye y, finalmente, la turgencia. En esta situación se puede presentar un encogimiento de la raíz, lo cual provoca no sólo una reducción de su crecimiento, sino también la pérdida de contacto con las partículas del suelo. En estas condiciones, la absorción se hace cada vez más difícil debido al aumento de la **resistencia hidráulica del suelo**.

Cuando el potencial hídrico del suelo desciende por debajo de un nivel crítico, la absorción cesa y la planta muere. El efecto en las plantas de estos ciclos diarios de potencia-

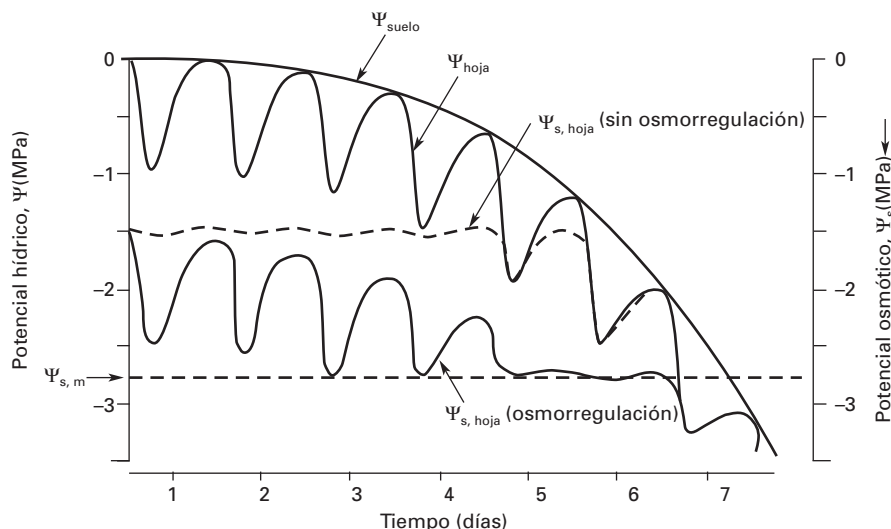


Figura 4-8. Cambios previstos en el potencial hídrico de la hoja y el suelo, así como en el potencial osmótico de una hoja ($\Psi_{s, \text{ hoja}}$) con (—) y sin (- - - -) osmorregulación. La turgencia foliar es la diferencia entre $\Psi_{\text{ hoja}}$ y $\Psi_{s, \text{ hoja}}$. El parámetro $\Psi_{s, m}$ es el potencial osmótico al máximo nivel posible de acumulación de solutos (concentraciones más elevadas provocarían una lesión celular). (Adaptado de Azcón-Bieto y Talón, 2000.)

les hídricos bajos no sólo depende del grado de recuperación del xilema y de la cavitación, sino también de si se da o no osmorregulación en las hojas. Si ésta no tiene lugar, la caída del potencial hídrico foliar provocará inevitablemente una disminución de la turgencia, que desencadenará el cierre estomático y la reducción de la expansión celular. Dicho comportamiento se ilustra mediante la línea central discontinua en la Figura 4-8, siendo la turgencia foliar la distancia entre esta línea y la del potencial hídrico foliar. La línea continua inferior muestra lo que sucede cuando existe osmorregulación: la turgencia foliar se mantiene constante hasta el día 4 ó 5 de sequía edáfica y la marchitez no se presenta hasta el día 7.

En condiciones de campo, en la determinación del estado hídrico de la planta el déficit de presión de vapor de la atmósfera puede llegar a desempeñar un papel más importante que el del contenido hídrico del suelo. Otro factor relevante es la extensión del sistema radical, al condicionar la capacidad de absorción de agua por parte de la planta.

6. DÉFICIT HÍDRICOS Y CRECIMIENTO VEGETAL

El déficit hídrico es el factor que más influye en la reducción del crecimiento de la planta (véase también el Capítulo 29). A menudo, en días calurosos y soleados se presentan déficit hídricos transitorios al mediodía debido a que, temporalmente, la pérdida de agua excede a la absorción. Por el contrario, los déficit hídricos permanentes a largo plazo son provocados por una disminución en la disponibilidad de agua en el suelo (véase el apartado 5). Los déficit hídricos afectan prácticamente a todos los aspectos del desarrollo de la planta.

6.1. Los déficit hídricos tienen efectos químicos e hidráulicos y afectan a la mayor parte de los procesos fisiológicos y bioquímicos de la planta

a) Efectos químicos e hidráulicos de los déficit hídricos

La pérdida de agua en un tejido vegetal tiene los siguientes efectos, que pueden influir en el metabolismo de la planta:

- Reducción del potencial hídrico o de la actividad del agua celular.
- Disminución de la presión turgente.
- Concentración de moléculas, a medida que el volumen celular disminuye con la reducción de la turgencia.
- Alteración de las relaciones espaciales en plasma- lema, tonoplasto y membranas de orgánulos, debida a los cambios de volumen.
- Cambio en la estructura o la configuración de las macromoléculas como consecuencia de la eliminación del agua de hidratación o de la modificación de la estructura del agua.

No obstante, resulta difícil entender cómo los posibles efectos de estrés suaves sobre la actividad hídrica, la estructura macromolecular o la concentración de moléculas en el citoplasma pueden ser los sensores primarios del estrés. El sensor, en teoría, respondería a la presión de turgencia o al tamaño celular. Al menos en las células en crecimiento, los pequeños cambios de turgencia pueden reducir la expansión celular, con el consiguiente aumento de materiales de pared no utilizados o de otras sustancias que afectan, a su vez, al metabolismo. Se ha demostrado también que la turgencia

puede afectar directamente al transporte de iones a través de la participación de sensores que responden a la dilatación de las membranas.

Con todo, la mayor parte de los efectos de los déficit hídricos son probablemente secundarios, y se deben a las respuestas reguladoras de la planta. Se tiene constancia de que los reguladores de crecimiento participan en la integración de las diferentes respuestas (véase el Capítulo 18). Aunque los déficit hídricos afectan a los niveles de gibberelinas y auxinas, no se ha demostrado que estos reguladores tengan un papel importante en la respuesta a los factores de estrés. Igualmente, la producción de etileno es estimulada por muchos tipos de factores de estrés; dicha estimulación se ha relacionado con una serie de reacciones, como la abscisión de hojas y frutos, la epinastia, el cierre estomático y la disminución de la asimilación (véase el Capítulo 22). La reducción en el suministro de citoquininas a consecuencia de la sequía se ha relacionado con respuestas tales como la senescencia foliar y el cierre estomático (véase el Capítulo 21). Sin embargo, es el ácido abscísico (ABA) el que desempeña, a veces en conjunción con iones Ca^{2+} , el papel más importante en la integración de las respuestas de la planta tanto ante el estrés hídrico como ante otros muchos tipos de factores de estrés ambientales, como la salinidad y las temperaturas elevadas. De la participación del ABA en el cierre estomático como respuesta a la sequía ya se ha hablado en el apartado 3.3.2 del Capítulo 3. Por otra parte, las concentraciones de ABA aumentan rápidamente en las plantas estresadas (esta subida tiende a ser una función de Ψ_p más que del potencial hídrico total, Ψ); además, existe una estrecha correspondencia entre las respectivas respuestas a los déficit hídricos y al ABA suministrado exógenamente. Estas observaciones, cuando se combinan con la información obtenida a partir de mutantes deficientes en ABA, proporcionan una prueba convincente de que el ABA participa en la adaptación a los déficit hídricos y a otros tipos de factores de estrés (véanse los Capítulos 22 y 29).

b) Efectos de los déficit hídricos en los procesos fisiológicos y metabólicos

El efecto más importante de un **estrés hídrico incluso leve** es la reducción del crecimiento, siendo especialmente sensible a él la expansión celular. Se sabe que la presión de turgencia de las células en crecimiento proporciona la fuerza motriz necesaria para la expansión celular, pero la tasa real de extensión es controlada por la variación en el potencial hídrico (Ψ) y la extensibilidad (\emptyset) (véase el Capítulo 2, ecuación 2-22). Es probable que en los casos en que resulta afectado el crecimiento de la parte aérea sin que simultáneamente se observen cambios en su estado hídrico, la modulación de esa alteración pueda deberse a una o varias señales desde la raíz a la parte aérea. Durante el estrés leve, la síntesis de materiales de la pared celular puede continuar, de tal modo que el retraso en el crecimiento durante un período de estrés corto se puede superar tras la recuperación.

La división celular, aunque resulta afectada por el estrés hídrico, normalmente es menos sensible que la expansión celular. Además de una inhibición del crecimiento, los déficit hídricos modifican el desarrollo y la morfología vegetal. Así, por ejemplo, la diferente sensibilidad a la sequía de las raíces y las partes aéreas conduce a grandes aumentos en la **relación raíz/parte aérea**. Otros efectos sobre el desarrollo vegetativo son la reducción del ahijamiento en las gramíneas y la terminación precoz del crecimiento en extensión de las especies perennes, con la formación de yemas en reposo. Los déficit hídricos también provocan la abscisión de hojas y frutos, especialmente tras la desaparición del estrés. Asimismo, no sólo disminuye el tamaño de las hojas como consecuencia de la disminución de la expansión y la división celulares, sino que también, al menos en el trigo, se reduce la proporción de células epidérmicas que constituyen los estomas y aumenta el número de tricomas.

Los déficit hídricos también afectan al desarrollo reproductor; en algunas especies se necesita un período de sequía para estimular la iniciación floral o provocar la emergencia de yemas florales ya diferenciadas (véase el Capítulo 25). En condiciones de sequía se adelanta la floración en las plantas anuales y se retrasa en las perennes. Así, por ejemplo, en el trigo, los déficit hídricos moderados adelantan la floración hasta en una semana, aunque con una disminución en el número de espiguillas, la fertilidad del polen y la formación de granos.

El efecto de los déficit hídricos en el comportamiento y heterogeneidad de la conductancia estomática ya se ha tratado en otro capítulo (véase el Capítulo 3). La disminución de la tasa transpiratoria siempre va acompañada de una disminución en la absorción de CO_2 y, por tanto, de la fotosíntesis. Los déficit hídricos también afectan a la fotosíntesis por sus consecuencias sobre los procesos enzimáticos, el transporte electrónico y el contenido en clorofila (véase el Capítulo 29).

La regulación de la transpiración también es importante desde el punto de vista del balance energético de la hoja, en el que desempeñan un papel crucial los movimientos foliares (véase el Capítulo 24). Asimismo, la transpiración se reduce como consecuencia de la inhibición del crecimiento de la parte aérea (véase el apartado anterior). En cambio, suele aumentar la capacidad absorbente de las raíces por unidad de superficie, al resultar el crecimiento de la raíz menos afectado por el estrés hídrico.

Prácticamente todos los aspectos del metabolismo y la estructura fina celular se ven afectados por los déficit hídricos (Cuadro 4-1). Entre los cambios más característicos figuran el incremento de las reacciones degradativas en relación con las sintéticas; la disminución de la síntesis de proteínas y el aumento en la concentración de aminoácidos libres, especialmente prolina (que en algunas especies puede llegar a un 1% de la materia seca foliar), glicina betaína, poliaminas y azúcares, lo cual comporta cambios importantes en las correspondientes actividades enzimáticas. Muchos de estos cambios se pueden considerar adaptativos, pero a menudo es difícil distinguir los cambios que son consecuencia de una lesión celular o tisular, de los cambios que representan una auténtica **aclimatación** (véase el Capítulo 29). Los te-

CUADRO 4-1. Sensibilidad a los déficit hídricos de procesos o parámetros vegetales. (Adaptado de Azcón-Bieto y Talón, 2000.)

Proceso o parámetro afectado	Sensibilidad al estrés			Observaciones
	Muy sensible		Relativamente insensible	
	Ψ del tejido que afecta al proceso			
	0 MPa	-1.0 MPa	-2.0 MPa	
Crecimiento celular (-)	-----			
Síntesis de pared (-)	—			Tejido en crecimiento rápido
Síntesis de proteínas (-)	—			Tejido en crecimiento rápido
Formación de protoclorofila (-)	—			Hojas ahiladas
Nivel de nitrato reductasa (-)	—			
Acumulación de ABA (+)	- —			
Nivel de citoquininas (-)	—			
Abertura estomática (-)	- - - - -	-----	- - - - -	Depende de la especie
Asimilación de CO ₂ (-)	- - - - -	-----	- - - - -	Depende de la especie
Respiración (-)	- - —			
Acumulación de prolina (+)	- - —			
Acumulación de azúcares (+)		—		

^a La longitud de las líneas horizontales representa el margen de niveles de estrés en el cual un proceso empieza a verse afectado. Las líneas discontinuas significan deducciones basadas en datos más imprecisos.

Los signos (+) o (-) indican aumento o disminución en el parámetro o proceso.

jididos sometidos a estrés hídrico presentan una disminución en los grupos -SH, y un aumento de la actividad peroxidasa y de la formación de peróxido de hidrógeno. Se ha comprobado también que el potencial reductor disminuye, lo que sugiere que los tejidos sometidos a estrés hídrico poseen un mayor estado de oxidación. Ello provocaría la deshidrogenación de las proteínas y, por tanto, la formación de puentes disulfuro a partir de grupos -SH. De esta manera, las proteínas adquirirían un estado más oxidado y, con ello, perderían su actividad. Este proceso de deshidrogenación, a diferencia de la mera deshidratación, haría posible que las proteínas fuesen inactivadas o activadas, dependiendo del estado metabólico de los tejidos. Existen pruebas de que un factor importante en la lesión mediante desecación es la lesión química debida a los **radicales libres** (especialmente radicales de oxígeno). El radical superóxido (O_2^-) así como otros radicales de oxígeno se pueden producir por una serie de reacciones en las células, como la autooxidación de una serie de compuestos reducidos y la reacción de «Mehler» en los cloroplastos, en los que el O_2 , en lugar del CO_2 , termina siendo el último aceptor para el transporte electrónico (tal como puede ocurrir cuando la asimilación es bloqueada por el estrés hídrico). Una vez formado, el O_2^- experimenta una reducción para formar el radical hidroxilo (OH), muy lesivo, que puede originar peroxidación de lípidos y peróxido de hidrógeno (véanse los Capítulos 10 y 29).

Por otra parte, la sequía puede inducir la transcripción de RNA mensajeros que codifican un gran número de proteínas, las cuales no son sintetizadas en condiciones de óptima disponibilidad de agua. En los casos estudiados, muchas de estas proteínas (*shock proteins*) son también inducidas por el ABA (véase el Capítulo 22). En este sentido, parece haber dos importantes cuestiones no dilucidadas del todo. ¿Todas

las proteínas del estrés hídrico son inducidas por acumulación de ABA en respuesta a la sequía? ¿La activación de **genes inducibles por el ABA** depende de una activación previa de los genes por la pérdida de turgencia?

6.2. En situaciones de salinidad, sequía o congelación, en las que resulta difícil conseguir agua, las plantas adquieren características especiales que les permiten sobrevivir

Cuando el potencial hídrico del suelo desciende considerablemente se hace más difícil absorber agua y las plantas se exponen al peligro de desecación. El problema se presenta con los suelos salinos, los suelos congelados y, naturalmente, con los suelos secos de las zonas áridas. En todas estas situaciones las plantas adquieren características especiales que les permiten sobrevivir. Consideremos, en primer lugar, los aspectos relacionados con la escasez de agua en el suelo.

6.2.1. Aridez y sequía no significan lo mismo

Una **región árida** es aquella en la que las precipitaciones son escasas o nulas y la humedad atmosférica es muy baja. Sin embargo, una región puede tener un volumen total de precipitaciones anuales que en otra zona sería suficiente para sostener un tapiz vegetal continuo y, no obstante, ser árida; en el segundo caso, el agua precipitada, aunque escasa, es aprovechada íntegramente, al menos durante el período vegetativo; en el primer caso, intervienen factores

ajenos a la precipitación que limitan considerablemente el aprovechamiento del agua. El más importante de esos factores es la temperatura, que condiciona directamente la intensidad de la evaporación. Las temperaturas bajas atenúan la aridez y pueden hacerla desaparecer desde el punto de vista biológico; en cambio, las temperaturas elevadas, al intensificar la evaporación, pueden causar aridez aunque el volumen de precipitaciones sea mayor. De todo ello se deduce que la noción de **aridez** es relativa, y que su determinación debe hacerse combinando los datos relativos a las precipitaciones con los de las temperaturas.

Tanto desde un punto de vista meteorológico como desde un punto de vista ambiental, podemos definir la **sequía** como la falta o insuficiencia de precipitaciones durante un período prolongado, que provoca un desequilibrio hidrológico considerable y, por tanto, restricciones en el suministro de agua. La sequía se presenta cuando la evaporación y la transpiración exceden la precipitación durante un tiempo considerable, y constituye el azar físico más grave que afecta, principalmente, a los cultivos, dado que la vegetación natural se encuentra más adaptada a esos hábitat.

Existen cuatro tipos básicos de sequía:

- a) **Sequía permanente.** Caracteriza a los climas más secos y hace imposible una agricultura de alto rendimiento sin riego continuo. La escasa vegetación está adaptada a la aridez.
- b) **Sequía estacional.** Se presenta en aquellos climas que tienen estaciones anuales lluviosas y secas bien definidas. En estas condiciones, conviene ajustar la siembra de manera que los cultivos se desarrollen durante la estación lluviosa.
- c) **Sequía impredecible.** Constituye un fallo anormal en la precipitación. Se puede presentar prácticamente en cualquier lugar, pero es más característica de los climas húmedos y subhúmedos. Generalmente es breve e irregular y sólo afecta a un área reducida.
- d) **Sequía no aparente.** Cuando por temperaturas altas y vientos fuertes se inducen tasas elevadas de evaporación y transpiración, las lluvias, aunque sean frecuentes, pueden no suministrar agua suficiente para restablecer la cantidad perdida, lo que también afecta al rendimiento.

6.2.2. Existen dos tipos de mecanismos para resistir la sequía: evitación y tolerancia a los déficit hídricos en la planta

Las especies difieren entre sí en el grado y período de resistencia a la sequía; generalmente, estas características guardan una relación inversa con la producción de biomasa. Los diferentes mecanismos de respuesta de la planta que permiten aumentar la resistencia a la sequía, tales como el comportamiento estomático, los cambios morfológicos en la hoja, la osmorregulación y las alteraciones en la relación raíz/parte aérea, reducen, al mismo tiempo, su capacidad

de producción. En un contexto agronómico, un cultivo más resistente a la sequía es aquel que presenta una mayor producción en estas condiciones que otro menos resistente. También se busca un cierto grado de estabilidad en la producción de un año a otro como criterio de resistencia a la sequía. Por el contrario, en los ecosistemas naturales, una especie resistente a la sequía es aquella capaz de sobrevivir y reproducirse en un ambiente relativamente seco. En este caso, la resistencia a la sequía no se basa, necesariamente, en una productividad elevada. Por tanto, los mecanismos que favorecen la resistencia a la sequía en monocultivos típicos pueden ser diferentes de los que se han seleccionado en los ecosistemas naturales.

Las plantas que pueden vivir en ambientes secos se denominan **xerófitas**, y la adaptación de una especie vegetal a estos climas se conoce como **xerofilia**. Las xerófitas sólo se dan en situaciones de aridez, porque su capacidad competitiva en lugares secos es mayor que la de otras especies.

Existen grandes diferencias en la capacidad de las plantas para resistir la sequía. Algunas de estas diferencias son consecuencia de adaptaciones en la planta entera, tales como los sistemas radicales dispersos y profundos; otras adaptaciones tienen lugar en algún órgano (p. ej., hojas muy cutinizadas y buen control estomático de la transpiración), mientras que otras, como el ajuste osmótico y la tolerancia a la desecación, se producen a nivel celular.

Las plantas de las regiones áridas se clasifican, en función de las características de los diferentes nichos ecológicos que ocupan, de la siguiente forma: las que escapan a la sequía, las que la evitan y las que la toleran. Sin embargo, a la vista de la frecuente dificultad para catalogar una determinada especie vegetal en uno de los tres grupos, tal vez uno de los enfoques más útiles sea centrarse en los mecanismos que contribuyen a la resistencia a la sequía, teniendo en cuenta que una planta puede poseer varios. Estos mecanismos se pueden clasificar en dos tipos importantes: 1) de **evitación del estrés**, o mecanismos que minimizan la presencia de déficit hídricos lesivos, y 2) de **tolerancia al estrés**, es decir, adaptaciones fisiológicas que permiten que las plantas continúen funcionando, a pesar de que padezcan déficit hídricos (véase el Capítulo 29).

a) Evitación de los déficit hídricos en la planta

1. Escape a la sequía

En general, las plantas que poseen este mecanismo no son resistentes a la sequía. Su supervivencia durante los períodos secos sólo requiere la producción, debidamente programada, de semillas u órganos especialmente protegidos de la desecación. En esta categoría se incluyen las plantas vasculares anuales de vida corta (**terófitas**), que germinan después de lluvias muy intensas y que rápidamente completan su ciclo de desarrollo, pasan la estación seca en forma de semillas y no sufren lesiones por desecación. Una adaptación, aunque menos extrema, tiene lugar en muchas

plantas de cultivo, en las que los cultivares más resistentes a la sequía son frecuentemente los que primero florecen y maduran, evitándose así lo peor de la estación seca. Muchas de estas especies anuales adelantan la floración si se las somete prematuramente a un déficit hídrico.

Otro grupo de plantas que poseen mecanismos para escapar a la sequía son algunas **geófitas**, que poseen órganos subterráneos repletos de agua (rizomas, tubérculos, bulbos) y que pueden sobrevivir durante períodos de sequía al estar protegidas frente a una pérdida excesiva de agua. Cuando empieza la estación lluviosa brotan inmediatamente, utilizando los hidratos de carbono almacenados, y florecen y fructifican en poco tiempo.

2. Conservación del agua

La forma más corriente de regular el equilibrio hídrico y mantener la turgencia es reducir la pérdida de agua o almacenarla. Entre los mecanismos más frecuentes se encuentran los siguientes:

Cierre estomático rápido y completo. Capacidad para cerrar los estomas rápida y completamente antes de que las células se lesionen a causa de la desecación.

Cutícula gruesa y muy impermeable. Posesión de una cutícula gruesa y muy impermeable, recubierta frecuentemente por capas cerasas o resinosas. En algunas xerófitas, la resistencia cuticular al vapor de agua (r_c) puede llegar a ser de 120 s cm^{-1} ; esto quiere decir que una vez cerrados los estomas, la planta pierde muy poca agua.

Pérdida de hojas. Un buen ejemplo es el de la especie *Fouquieria splendens*, que vive en el desierto de Sonora; esta planta produce hojas después de las lluvias, pero las pierde cuando el suministro de agua se ve limitado, quedando los nervios centrales y los pecíolos como espinas. Puede producir varios lotes de hojas al año, y durante los períodos en que está desprovista de hojas existen células verdes en el tallo que mantienen una tasa fotosintética baja.

Reducción de la transpiración. A partir de la ecuación de la transpiración (véase el Capítulo 3, ecuación 3-1), y suponiendo que los estomas estén abiertos (con lo cual se puede desdeñar la resistencia cuticular), existen dos posibilidades para reducir la transpiración: disminuir el gradiente de concentración o presión de vapor de agua, o aumentar considerablemente la resistencia de la capa límite (r_a).

La reducción del gradiente de concentración o presión de vapor se consigue, fundamentalmente, mediante modificaciones que disminuyen el gradiente térmico entre las hojas y el aire. Las hojas pequeñas disipan el calor más fácilmente que las grandes, mediante corrientes de convección. Las hojas dispuestas paralelamente a los rayos solares, al igual que aquellas de color verde claro o brillante, absorben menos radiación. Otro mecanismo que reduce eficazmente el gradiente de presión de vapor es el desprendimiento de aceites volátiles, que produce el olor aromático típico de

muchas especies mediterráneas. Los aceites aumentan la densidad media del gas en la capa límite, y esto disminuye la tasa a la que se difunde el vapor de agua a través de ella, de la misma manera que si hubiese aumentado la humedad del aire.

Una modificación estructural muy habitual en las xerófitas, que aumenta la resistencia de la capa límite por encima de los poros estomáticos, es la disposición de los estomas en el fondo de criptas (p. ej., *Nerium oleander*), lo cual dificulta considerablemente el intercambio de gases y, por tanto, de vapor de agua. Asimismo, muchas xerófitas poseen estomas confinados a una sola superficie de la hoja, y cuando la turgencia foliar descende, las hojas se enrollan, encerrando los estomas en una cámara húmeda y protegida.

Almacenamiento de agua. En algunas plantas, el almacenamiento de agua, combinado con una tasa transpiratoria baja, permite la supervivencia sin lluvia durante muchos meses.

El almacenamiento de agua es muy importante en las suculentas desérticas, que pueden sobrevivir durante varios meses, e incluso uno o dos años, sin agua adicional, siendo su característica más manifiesta la presencia en hojas o tallos de tejido almacenador de agua muy vacuolizado. En dichas suculentas, la pérdida de agua mediante transpiración es despreciable, debido a su cutícula gruesa y al cierre estomático durante el día. Las plantas de este tipo también suelen tener sistemas radicales superficiales y ampliamente extendidos, que absorben el agua cuando la superficie del suelo se moja ocasionalmente con la lluvia. En algunas especies, el agua se almacena en órganos subterráneos, como en las enormes raíces de *Welwitschia* y *Pachypodium hispidum* del desierto sudafricano. En el caso de *Adansonia digitata*, el agua se almacena en cantidades considerables en sus enormes troncos (de varios metros de diámetro).

Las plantas CAM, con su ciclo estomático invertido y sus cutículas gruesas, son especialmente eficaces porque en condiciones de estrés limitan la pérdida de agua (véase el Capítulo 12). A medida que el agua disponible en el suelo se reduce, los estomas permanecen abiertos durante períodos cada vez más cortos, hasta que llega un momento en el que se cierran por completo. En esta situación, las suculentas sobreviven reciclando el CO_2 respiratorio, y sus cutículas gruesas evitan, prácticamente, toda pérdida de agua. Así, por ejemplo, en el caso de una especie de *Echinocactus* se ha encontrado que, al cabo de seis años sin agua, la pérdida de peso fue de menos de un 30%.

3. Mantenimiento de la absorción de agua

Muchas plantas que sobreviven en hábitat secos dependen del desarrollo de un sistema radical profundo y extenso que puede obtener agua de un volumen muy grande de suelo o de una capa freática profunda. En el caso de algunas especies (*Acacia*), las raíces pueden penetrar hasta 30 metros antes de ramificarse en un suelo húmedo. Muchas de estas **freatófitas** carecen de adaptaciones especiales que reduz-

can la pérdida de agua en las partes aéreas, pero, por lo general, la raíz que atraviesa el suelo muy seco suele estar cubierta de capas suberosas impermeables que restringen la pérdida de agua.

Algunas bromeliáceas epífitas, especialmente especies de *Tillandsia*, consiguen agua a partir del rocío o del vapor de agua del aire. Estas especies se desarrollan fundamentalmente en desiertos costeros en los que hay muy poca precipitación, pero sí nieblas y rocíos frecuentes, y en ambas superficies foliares poseen pelos especiales que absorben el agua.

b) Tolerancia a los déficit hídricos en la planta

Son varios los mecanismos que permiten a las plantas mantener la actividad fisiológica a medida que el contenido o el potencial hídrico disminuyen:

1. Mantenimiento de la turgencia

Ajuste osmótico. Cuando el potencial osmótico de los tejidos disminuye como respuesta al desarrollo de déficit hídricos internos, es importante separar el componente resultante de una concentración pasiva de solutos, debida a la deshidratación del tejido, del originado por una acumulación activa de dichos solutos. Este tipo de osmorregulación se denomina **ajuste osmótico**, para diferenciarlo del mecanismo similar que se da en presencia de salinidad.

El ajuste osmótico posibilita así el mantenimiento, en condiciones de sequía, de la turgencia y de los procesos dependientes de ella, tales como la expansión y el crecimiento celulares, la abertura estomática, la fotosíntesis, etc. Por otra parte, el ajuste osmótico retrasa el enrollamiento foliar y mantiene el crecimiento de la raíz. También se ha demostrado que, en condiciones de escasez de agua, el rendimiento es superior en las variedades que se ajustan osmóticamente; los elevados rendimientos se relacionaron con un mayor desarrollo de la raíz y una mejor extracción del agua. Ordinariamente, el ajuste osmótico se presenta en aquellas plantas sometidas a un estrés lento. Los solutos que participan en tal ajuste varían, pero, en general, además de iones inorgánicos (especialmente K^+ y Cl^-) y solutos orgánicos cargados eléctricamente que se acumulan en la vacuola, en el citoplasma se sintetizan y acumulan moléculas orgánicas sin carga específica, que no parece que afecten a las funciones de las proteínas. Estas moléculas reciben el nombre de **solutos compatibles** (también denominados citosolutos u osmolitos); entre las angiospermas, los más frecuentes son amino (o, estrictamente hablando, imino) ácido **prolina** y compuestos de amonio cuaternario como la **betaína**. Así, por ejemplo, en *Hordeum vulgare*, la prolina se acumula en el citoplasma en proporción al grado de sequía del suelo y, en condiciones de sequía extrema, puede aparecer incluso en las vacuolas. Se ha observado que en condiciones de sequía también se acumulan otras sustancias, como azúcares reductores, sacarosa y pinitol.

Módulo de elasticidad elevado. El desarrollo adicional de tejidos estructurales en muchas plantas xeromórficas origina células inextensibles con un **módulo de elasticidad** (ϵ) elevado (véase el Capítulo 2). Esta característica permite a las células tolerar altas concentraciones osmóticas, con la consiguiente capacidad para mantener la turgencia hasta valores de Ψ muy bajos.

2. Tolerancia a la desecación

La tolerancia a la desecación consiste en la capacidad del protoplasma para soportar una gran pérdida de agua; es una característica adaptativa y propia de cada especie. Los déficit hídricos provocan una pérdida progresiva de la turgencia protoplasmática y un aumento en la concentración de solutos. El resultado final de estos dos efectos es la alteración en la función celular y la aparición de lesiones en las estructuras protoplasmáticas (en especial, en las membranas). Las plantas varían extraordinariamente en cuanto al grado de deshidratación que pueden tolerar. En el caso de las **plantas poiquilohídricas** (algas, líquenes, musgos, algunos helechos, semillas y ciertas plantas superiores, estas últimas sólo durante su etapa vegetativa), el protoplasma puede soportar una deshidratación casi completa, deshidratándose y rehidratándose de forma simultánea sin sufrir lesión. La mayor parte de las regiones áridas presenta gran abundancia de líquenes, que en algunos casos son las únicas plantas capaces de sobrevivir en áreas en las que aunque nunca llueve, puede existir una humedad atmosférica elevada y abundante rocío, capaces de activar su metabolismo.

Existe un número reducido de plantas vasculares en las que los tejidos vegetativos muestran una capacidad notable para tolerar la desecación. Estas plantas que «resucitan» no poseen mecanismos especiales que impidan la pérdida de agua o aumenten su absorción; su principal adaptación a la sequía consiste en la tolerancia a la desecación, y poseen una bioquímica celular especializada que lo permite. En algunas especies, las enzimas, las membranas celulares y los pigmentos fotosintéticos se mantienen indemnes en el estado desecado. En otras, se pierden algunos pigmentos y enzimas, e incluso las membranas pueden desorganizarse, pero son rápidamente reparadas o resintetizadas tras la hidratación.

Hay que decir, no obstante, que la mayoría de las plantas terrestres son **homeohídricas**. Si bien durante alguna etapa de su ciclo vital (semillas, rizomas o tallos sin hojas) pueden soportar potenciales hídricos muy bajos, durante la mayor parte del desarrollo su protoplasma no puede tolerar potenciales hídricos bajos sin sufrir lesiones. Las semillas de las plantas homeohídricas, al final de su desarrollo, se desecan hasta llegar a un contenido hídrico de un 10% o menos. Hace años se descubrió que la desecación va acompañada de un aumento en el nivel de ABA, el mismo regulador que se acumula en las hojas cuando la turgencia disminuye (véase el apartado 6.1); esto provoca cambios esenciales para una desecación «segura», es decir, reversible. El cambio más importante parece ser la activación de un gen responsable

de la síntesis de una «proteína de deshidratación» específica, cuya principal característica es que no tiene regiones hidrófobas. Los mutantes del maíz que no sintetizan esta proteína poseen semillas que no desecan, sino que germinan en la mazorca, un fenómeno denominado «viviparismo» que se presenta naturalmente en muchas plantas alpinas y de la tundra. Se sabe que esta proteína se sintetiza también en las raíces y las hojas de plántulas sometidas a una deshidratación lenta.

Como ya se ha mencionado en este apartado, existen algunos solutos especialmente eficaces a la hora de proteger de la desecación a las proteínas citoplasmáticas y las membranas celulares. Los déficit hídricos, al igual que otros factores de estrés ambientales, tienden a desviar el potencial redox celular a un estado más oxidado, y a aumentar las concentraciones de **radicales libres**, cambios, ambos, lesivos (véase el Capítulo 29). No obstante, las plantas poseen una serie de **mecanismos antioxidantes** que las protegen contra la producción de radicales de oxígeno, tales como : a) reductores solubles en agua, como los compuestos que contienen tiol (p. ej., glutatión) y el ascorbato; b) vitaminas solubles en grasas, por ejemplo α -tocoferol y β -caroteno, y c) antioxidantes enzimáticos, como la catalasa y la superóxido-dismutasa. Aunque hay datos que sugieren que las variaciones en la tolerancia a la sequía pueden radicar en una expresión diferencial de estas enzimas, es necesario esperar los resultados de nuevas investigaciones antes de formular unas conclusiones claras.

6.2.3. La eficiencia en el uso del agua y la resistencia a la sequía no suelen estar relacionadas

Cuando el suministro de agua es limitado, es importante considerar la **eficiencia en el uso del agua** (WUE *water use efficiency*), en términos de materia seca producida por unidad de agua utilizada en la evapotranspiración (véase el Capítulo 3). Frecuentemente, WUE y resistencia a la sequía se utilizan como sinónimos, aunque en la mayor parte de los casos no tienen relación entre sí. La WUE es un parámetro de producción, y un objetivo importante de la investigación en esta área consiste en alcanzar una elevada WUE manteniendo, al mismo tiempo, una elevada productividad. En cambio, la resistencia a la sequía se centra, como hemos visto anteriormente, en la supervivencia durante un período de escasez en el suministro de agua. De hecho, la capacidad para sobrevivir a intensos déficit hídricos suele estar inversamente relacionada con la productividad.

En la actualidad hay gran interés en la posibilidad de aumentar la resistencia a la sequía y la eficiencia en el uso del agua mediante la mejora vegetal y un manejo más adecuado de los cultivos. Un objetivo deseable, aunque difícil de alcanzar, sería poder combinar ciertas características de modo que la tolerancia a la deshidratación y la eficiencia en el uso del agua aumentasen, sin menoscabo del rendimiento.

6.2.4. Las halófitas toleran la salinidad porque mediante osmorregulación alcanzan potenciales hídricos muy bajos

En la mayoría de los suelos, el potencial osmótico no es lo suficientemente bajo como para inhibir la absorción de agua por las raíces, desencadenando un déficit hídrico importante en la planta. No obstante, existen situaciones en las que la concentración de sales en el suelo llega a ser tan elevada que impide o disminuye la absorción de agua, provocando la denominada **sequía osmótica**. Este efecto de los solutos disueltos es similar al de un déficit hídrico edáfico. Algunas plantas que se desarrollan en suelos salinos se pueden ajustar osmóticamente y, de esa manera, evitan la pérdida de turgencia.

No obstante, a esta sequía osmótica hay que añadir el efecto de iones específicos; cuando se acumulan en las células concentraciones lesivas de Na^+ , Cl^- o SO_4^{2-} . En condiciones no salinas, el citosol contiene 100-200mM de K^+ y 1 mM de Na^+ , un ambiente iónico en el cual pueden funcionar óptimamente muchas enzimas. Una relación anormalmente elevada de Na^+ a K^+ y altas concentraciones de sales totales inactivan las enzimas e inhiben la síntesis de proteínas.

La fotosíntesis es inhibida cuando concentraciones elevadas de Na^+ y Cl^- se acumulan en los cloroplastos. Puesto que el transporte electrónico fotosintético parece ser poco sensible a las sales, es posible que el metabolismo del carbono o la fotofosforilación se vean más afectados. Enzimas extraídas de especies tolerantes a la salinidad (**halófitas**) son tan sensibles a la presencia del NaCl como las enzimas de especies sensibles (**glicófitas**). Por tanto, la resistencia de las halófitas a las sales no es consecuencia de un metabolismo resistente a la salinidad.

Las plantas evitan la lesión por sales mediante la exclusión de iones en las hojas o mediante su compartimentación en las vacuolas. En el caso de las plantas sensibles, la resistencia a niveles moderados de salinidad en el suelo depende de la capacidad de las raíces para impedir la absorción de iones potencialmente dañinos (véase el Capítulo 7). Los iones Na^+ pueden entrar en las raíces pasivamente (siguiendo un gradiente decreciente de potencial electroquímico) y, por tanto, las células de las raíces han de utilizar energía para un transporte activo que devuelva el Na^+ a la solución externa. Por el contrario, la membrana plasmática de la raíz es muy poco permeable al Cl^- . Algunas halófitas pertenecientes a los géneros *Tamarix* y *Atriplex* no excluyen los iones a través de la raíz, sino que poseen glándulas salinas en las superficies de las hojas. Los iones son transportados a estas glándulas, en las que las sales cristalizan y dejan de ser lesivas.

Cuando las sales son excluidas de las hojas, las plantas utilizan sustancias orgánicas para disminuir el potencial osmótico del citoplasma y la vacuola, y conseguir así que el potencial hídrico foliar disminuya. Entre estos componentes orgánicos que no interfieren en el metabolismo celular en concentraciones elevadas se encuentran la glicina betaína,

la prolina, el sorbitol, la sacarosa, etc. La cantidad de carbono utilizada para la síntesis de estos solutos orgánicos puede ser elevada. En la vegetación natural esta desviación del carbono no afecta a la supervivencia, pero en los cultivos puede reducir la producción.

Muchas halófitas absorben iones y los acumulan en las hojas; no obstante, estos iones son secuestrados en las vacuolas de las células foliares, con lo que contribuyen al potencial osmótico celular sin lesionar las enzimas cloroplásticas y citosólicas sensibles a la salinidad. En estas hojas el equilibrio hídrico entre el citoplasma y la vacuola se mantiene, acumulándose en el citoplasma compuestos orgánicos como la prolina o la sacarosa. Dado que el volumen del citoplasma en una célula adulta vacuolada es pequeño, en comparación con el volumen de la vacuola, la cantidad de carbono necesaria para la síntesis de los compuestos orgánicos es mucho menor en estas plantas que en las que excluyen sales.

La exposición a NaCl o ABA induce la síntesis de proteínas. Especialmente importante parece ser una proteína de bajo peso molecular denominada **osmotina**, asociada a un aumento en la tolerancia al NaCl. En cultivo de tejidos ha sido posible aclimatar células de plantas de naranjo y tabaco para tolerar concentraciones elevadas de sales. Durante esta aclimatación se han detectado, mediante electroforesis en gel, varias proteínas sintetizadas *de novo*. Si se tratan las células con concentraciones bajas de ABA, antes de exponerlas a concentraciones elevadas de sales, su capacidad de aclimatación aumenta extraordinariamente. Además, el ABA estimula la síntesis de una o más proteínas que, aparentemente, son las mismas que se inducen durante la aclimatación al NaCl. De esta manera, parece posible que el ABA pueda desempeñar algún papel en la aclimatación. En las plantas intactas, las elevadas concentraciones de sales aumentan los niveles de ABA en las hojas. Esta respuesta a la salinidad es similar al aumento en la producción de ABA por las raíces y su transporte a la parte aérea, ya descrito anteriormente en relación con el déficit hídrico edáfico (véase también el Capítulo 22).

6.2.5. Las plantas expuestas a temperaturas muy bajas experimentan sequía por congelación

Es frecuente observar que, después de un período de exposición a temperaturas muy bajas, las hojas pertenecientes a especies vivaces de alta montaña se marchitan irremisiblemente. Esto ocurre porque experimentan **sequía por congelación**, situación que se presenta cuando el suelo congelado, o xilema congelado y bloqueado, impide que el agua alcance las hojas. Incluso con los estomas cerrados, las hojas pueden perder suficiente cantidad de agua a través de la cutícula como para disminuir su turgencia. Por tanto, en las regiones frías, las especies vivaces suelen poseer características xerofíticas, como cutículas gruesas, y la posibilidad de un cierre estomático completo, combinadas con la capacidad para tolerar la desecación parcial.

Por otra parte, el paso del agua desde las células vivas hacia los espacios intercelulares, una especie de deshidratación controlada, suele ser esencial para sobrevivir a la congelación, al impedir la formación de cristales de hielo en el interior de las células. En los espacios intercelulares se pueden formar grandes cristales de hielo, retornando el agua a las células cuando aquéllos se funden. De esta manera, la capacidad para tolerar la congelación va acompañada de cambios en la bioquímica celular que se desarrollan lentamente durante el otoño, en un proceso que se describe como **aclimatación al frío** (véase el Capítulo 29).

Al igual que en los casos de tolerancia a la salinidad y a la sequía, es importante destacar el papel que desempeñan los solutos compatibles que aparecen en muchas plantas durante la aclimatación al frío y que, en este caso, reciben el nombre de **crioprotectores**.

La aclimatación al frío puede ser inhibida por factores tales como la elevada fertilización nitrogenada o la poda, que estimulan el crecimiento de la planta. Las plantas varían en su grado de aclimatación, y no todas pueden alcanzar la resistencia a la congelación. Ello es de importancia considerable en la agricultura. Así, por ejemplo, los cereales de invierno, que producen hasta un 40% más que las variedades de primavera, no se pueden sembrar en muchas regiones más frías debido a su limitada tolerancia al frío. Si se pudiese aumentar su tolerancia, el impacto en la producción mundial de alimentos sería enorme.

6.2.6. En condiciones naturales, las plantas se encuentran sometidas a factores de estrés múltiples

La mayor parte de la investigación sobre el efecto de los factores ambientales en las plantas se ha centrado, hasta ahora, en las respuestas y las adaptaciones a factores aislados del ambiente, pero, en condiciones naturales, las plantas se encuentran sometidas a múltiples tipos de factores de estrés (véanse los Capítulos 13 y 29). Hay que tener en cuenta que los efectos de los factores ambientales en interacción no suelen ser aditivos. Así, por ejemplo, en la especie mediterránea *Nerium oleander*, la lesión por luz intensa o **fotoinhibición** aumenta extraordinariamente cuando va unida a déficit hídricos.

Pese a que la característica más importante de una región árida es que la precipitación es escasa o nula y la humedad atmosférica es muy baja, hay otros factores para los cuales también se requiere la adaptación, por ejemplo, las elevadas temperaturas, las altas intensidades luminosas, la reducida disponibilidad de nutrientes, etcétera.

Por otra parte, condiciones ambientales como la sequía, la salinidad, la inundación, las altas temperaturas, la alta demanda de evaporación en la atmósfera y el frío, pueden asociarse o conducir a una pérdida de turgencia en el tejido vegetal. Así pues, parece probable que las respuestas a estos factores de estrés ambientales puedan ser generales y comunes a las observadas en el caso de estrés hídrico (véase el Capítulo 29). De hecho, las investigaciones sobre proteínas de choque (*shock proteins*) revelan la existencia de proteínas comunes, independientemente de la especie vegetal o del tipo de factor de estrés.

RESUMEN



- La absorción de agua por las raíces depende de la naturaleza y las propiedades hidráulicas del sistema radical, así como de las propiedades y el estado hídrico del suelo y, en general, de las condiciones ambientales.
- La absorción de agua en las plantas con transpiración baja puede ser de origen osmótico, pero en las plantas con transpiración intensa es, en gran medida, un fenómeno pasivo. La absorción de agua debida a fuerzas osmóticas es responsable de la presión de raíz.
- El transporte de agua en la planta está regido por los gradientes de potencial hídrico y por las características anatómicas del xilema que controlan las propiedades hidráulicas. La capacidad del flujo en capilares semejantes a conductos xilemáticos aumenta a razón de la cuarta potencia del radio. Por tanto, los elementos xilemáticos amplios poseen un caudal muy alto.
- Las tensiones elevadas, la congelación del agua en el xilema o la acción de ciertos patógenos pueden inducir la ruptura de las columnas de agua y provocar embolias en los conductos xilemáticos. Se considera que la formación de embolias bajo tensión está relacionada con el tamaño de los poros en las punteaduras.
- La susceptibilidad a la cavitación y la tolerancia al embolismo son factores que han influido en el tipo y la distribución de las plantas terrestres en relación con la resistencia a la sequía y la congelación.
- A medida que la transpiración aumenta, la pérdida de agua excede su absorción, lo que origina una disminución del potencial hídrico. La causa de dicho retraso en la absorción es la resistencia elevada en las membranas de las células radicales.
- Cuando la radiación solar es variable, el potencial hídrico foliar fluctúa durante el día, incluso con una buena disponibilidad de agua. En condiciones de sequía, el potencial hídrico disminuye considerablemente, si bien su variación diaria se puede reducir a medida que la transpiración se anula como consecuencia del cierre estomático.
- Según su hábitat y sus características funcionales, existen plantas hidroestables, cuyo balance hídrico varía muy poco durante el día, y plantas hidrolábiles, que toleran grandes variaciones en el potencial hídrico.
- El déficit hídrico es la causa más importante de la reducción del crecimiento; se puede producir en diferentes situaciones: sequía, bajas temperaturas edáficas, salinidad y escasa aireación del suelo, en combinación con factores que estimulan la transpiración.
- Las especies difieren entre sí en el grado, los mecanismos y el período de resistencia a la sequía. En muchos casos se acumulan solutos (ajuste osmótico) y aparecen proteínas específicas que son inducidas rápidamente bajo los efectos del estrés. En general, los mecanismos que permiten mayor resistencia a la sequía originan una reducción en la capacidad de producción.
- La relación entre las características hídricas de la planta y los fenómenos metabólicos, la naturaleza de los sensores primarios, los cambios en la expresión génica que caracterizan la adaptación de las plantas a los diferentes factores de estrés ambientales relacionados con la pérdida de turgencia, así como los efectos de la interacción entre factores ambientales múltiples son aspectos de creciente atención en la investigación.

PROBLEMAS Y CUESTIONES

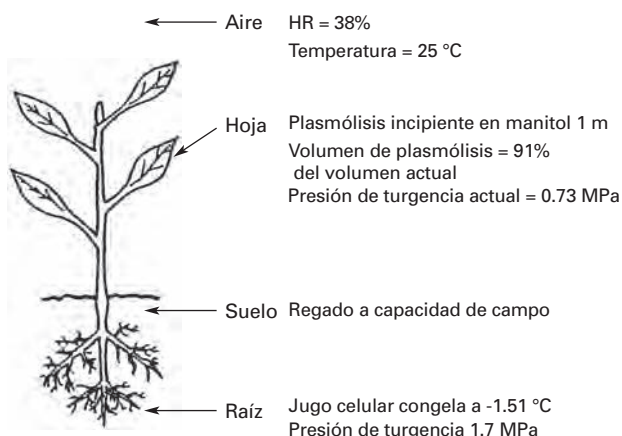


- 1 La ruta del agua y los solutos desde el suelo al tejido conductor de la raíz es:
- a) Suelo---pelo radical---córtex---endodermis---periciclo---protoxilema---floema.
- b) Suelo---pelo radical---córtex---periciclo---endodermis---protoxilema---metaxilema.
- c) Suelo---células epidérmicas de la raíz---córtex---endodermis---periciclo---protoxilema---metaxilema---xilema secundario.
- d) Suelo---pelo radical---córtex---endodermis---periciclo---protoxilema---metaxilema.



PROBLEMAS Y CUESTIONES (Cont.)

- 2) Con los datos disponibles calcule el potencial hídrico, expresado en MPa, en las siguientes zonas del SPAC: suelo, raíz, hoja y atmósfera.



Considérese m no sustituible por M
 $R = 8.31 \text{ J } ^\circ\text{K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$

- 3) ¿Cuál de los siguientes fenómenos es responsable de la absorción pasiva del agua en las plantas?
- actividad radical.
 - presión radical.
 - tirón transpiratorio.

- 4) Sugiera explicaciones para las siguientes afirmaciones:
- Las plantas en maceta expuestas al sol se pueden marchitar si se riegan al mediodía con agua muy fría.
 - Las plantas de jardín o en maceta que se desarrollan de forma natural en hábitat sombríos se marchitan con frecuencia a pleno sol, incluso aunque el suelo esté húmedo.
 - Muchas plantas de jardín son más susceptibles a la sequía y se desarrollan con más dificultad en lugares con viento que en zonas protegidas.

- 5) Explique cómo es posible que el agua se mueva hasta la parte superior de un árbol de 100 m de altura pero que, en cambio, una bomba mecánica no pueda succionar agua hasta una altura superior a 10.3 m. ¿Qué es lo que impide que se rompa la columna de agua en un árbol? ¿En qué condiciones se puede romper la columna de agua y, si se rompe, cómo se restablece?

- 6) ¿Cuál se puede considerar como mecanismo más adecuado para tolerar el estrés hídrico: un aumento o una disminución del módulo de elasticidad, ϵ ?



RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES

- d) Suelo---pelo radical---córte---endodermis---periciclo---protoxilema---metaxilema.
- Aire = -133.1 MPa.
 Hoja = -1.5 MPa.
 Suelo = -0.033 MPa.
 Raíz = -0.29 MPa.
- c) Tirón transpiratorio.
- a) El contacto de la raíz con el agua fría en una planta expuesta al sol hace que la planta se marchite por un mayor retraso en la absorción de agua.
- b) Las plantas que se desarrollan en sombra poseen características foliares tales como hojas anchas y delgadas, menor grosor de la cutícula y mayor densidad estomática, de forma que, cuando se exponen al sol intenso, sufren un exceso de pérdida de agua, con el consiguiente retraso en la absorción y, eventualmente, lesión del aparato fotosintético por exceso de luz, que afecta, entre otros aspectos, al funcionamiento de las células oclusivas.
- c) En las plantas expuestas a fuerte viento se exalta la transpiración y se produce un déficit hídrico como consecuencia de un retraso más acusado en la absorción de agua.

RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES (Cont.)



5 El agua puede subir hasta la parte superior de un árbol de 100 m de alto gracias a la elevada cohesión de sus moléculas. Cuando el agua se halla confinada en tubos con diámetro estrecho y paredes humedecibles (tales como los vasos y las traqueidas xilemáticas), al producirse el tirón transpiratorio, la tensión se transmitirá a través de la columna sin que se pierda el contacto con la pared del tubo (fuerzas de adhesión). En cambio, en una tubería convencional, una bomba mecánica no puede succionar agua hasta una altura superior a 10.3 m porque la tensión necesaria (0.1 MPa para vencer la fuerza de la gravedad),

sería superior a la fuerza de cohesión de la columna de agua en dicha tubería. No obstante, la columna de agua se puede llegar a romper (cavitar) en situaciones de tensión extrema debido a una transpiración muy elevada. La continuidad de dicha columna se restablece por la noche como consecuencia de la aparición de presión positiva en el xilema a causa de la presión de raíz.

6 El mejor mecanismo para tolerar el estrés hídrico es el aumento del módulo de elasticidad, ϵ (aumento en la rigidez de las paredes celulares) (véase el Capítulo 2).

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA



1. Azcón-Bieto J, Talón M. *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. Madrid, McGraw-Hill/Interamericana y Edicions Universitat de Barcelona, 2000.
2. Brouwer R. Water movement across the root. *Symposia of the Society for Experimental Biology* 1965; 19:131-149.
3. Hopkins WG (ed.). *Introduction to Plant Physiology*. New York, John Wiley & Sons, Inc., 1995.
4. Kramer PJ, Boyer JS. *Water Relations of Plants and Soils*. New York, Academic Press, 1995.
5. Kramer PJ. The relation between rate of transpiration and rate of absorption of water in plants. *American Journal of Botany* 1937; 24:10-15.
6. Larcher W. *Physiological Plant Ecology*. 4^a ed. Berlin, Springer-Verlag, 2003.
7. Morgan JM. Osmoregulation. *Annual Review of Plant Physiology* 1984; 35:299-319.
8. Ridge I. (ed.). *Plants*. Oxford, Oxford University Press, 2002.
9. Steudle E, Peterson CA. How does water get through roots? *Journal of Experimental Botany* 1998; 49:775-788.

Transporte en el floema

AMPARO GARCÍA LUIS Y JOSÉ LUIS GUARDIOLA



1. El floema como sistema conductor. 2. Estructura del floema. 3. Sustancias transportadas en el floema. 4. El movimiento de fotoasimilados. Fuentes y sumideros. 5. Mecanismo de transporte. 6. Longevidad e inactivación de los tubos cribosos. 7. El floema y la señalización en las plantas.

1. EL FLOEMA COMO SISTEMA CONDUCTOR

La necesidad de un sistema de transporte a larga distancia para el movimiento de las sustancias orgánicas es consecuencia de la especialización funcional. En los organismos fotosintéticos más primitivos, unicelulares o talófitos, todas las células realizan la fijación fotosintética del carbono, por lo que los lugares de síntesis y de utilización están muy próximos y el transporte no representa ningún problema. En las plantas vasculares, por el contrario, los **fotoasimilados** producidos en las hojas (véase el Capítulo 11) se transportan a otros órganos (frutos, raíces y zonas de almacenamiento) a distancias que oscilan entre unos pocos centímetros y varias decenas de metros. Ni los procesos de difusión, ni el transporte célula a célula permiten mover con eficacia las sustancias a distancias tan considerables. Por su cuantía, este transporte sólo es posible si los solutos recorren aquellas distancias arrastrados por el agua en el lumen de conductos especializados, al igual que los elementos minerales absorbidos por las raíces se transportan en sentido acrópeto en los vasos del xilema arrastrados por la corriente transpiratoria, o como la glucosa se distribuye en los organismos animales en el plasma de la sangre.

1.1. Los experimentos de anillado permitieron establecer que los fotoasimilados se transportan en el floema

Los estudios sobre el transporte de los fotoasimilados se remontan a los experimentos de anillado realizados por M.

Malpighi a mediados del siglo XVII. En el tronco y las ramas de las plantas leñosas es factible separar la corteza del leño en la zona del cámbium vascular. Malpighi comprobó que la eliminación de un anillo de corteza alrededor de la base del tallo no tenía un efecto inmediato en el transporte ascendente de agua en el xilema, por lo que la planta no se marchitaba, y que al mismo tiempo provocaba un hinchamiento característico de la corteza en la región situada inmediatamente por encima del anillado (Fig. 5-1).

En 1928, Mason y Maskell demostraron que este tratamiento interrumpe el transporte basípeto de azúcares (fundamentalmente de sacarosa) que tiene lugar en la capa más interna de la corteza, constituida por el floema secundario, lo que provoca la acumulación de carbohidratos por encima de la región anillada y su agotamiento por debajo de ella. Como Hartig había demostrado que los elementos cribosos forman un conducto celular continuo que, cuando se corta, secreta un fluido con un contenido en azúcares de hasta el 33%, y dado que éstos son numerosos en el floema, se supuso que el transporte tiene lugar en su lumen.

Estas observaciones permitieron establecer la función del floema en el transporte de los azúcares y otras sustancias orgánicas y minerales, y determinar algunas de las características del transporte, tales como:

- la existencia de un conducto constituido por células vivas;
- la elevada concentración de azúcares en la solución de transporte;
- la presión positiva, superior a la atmosférica, a la que se encuentra ese contenido, y

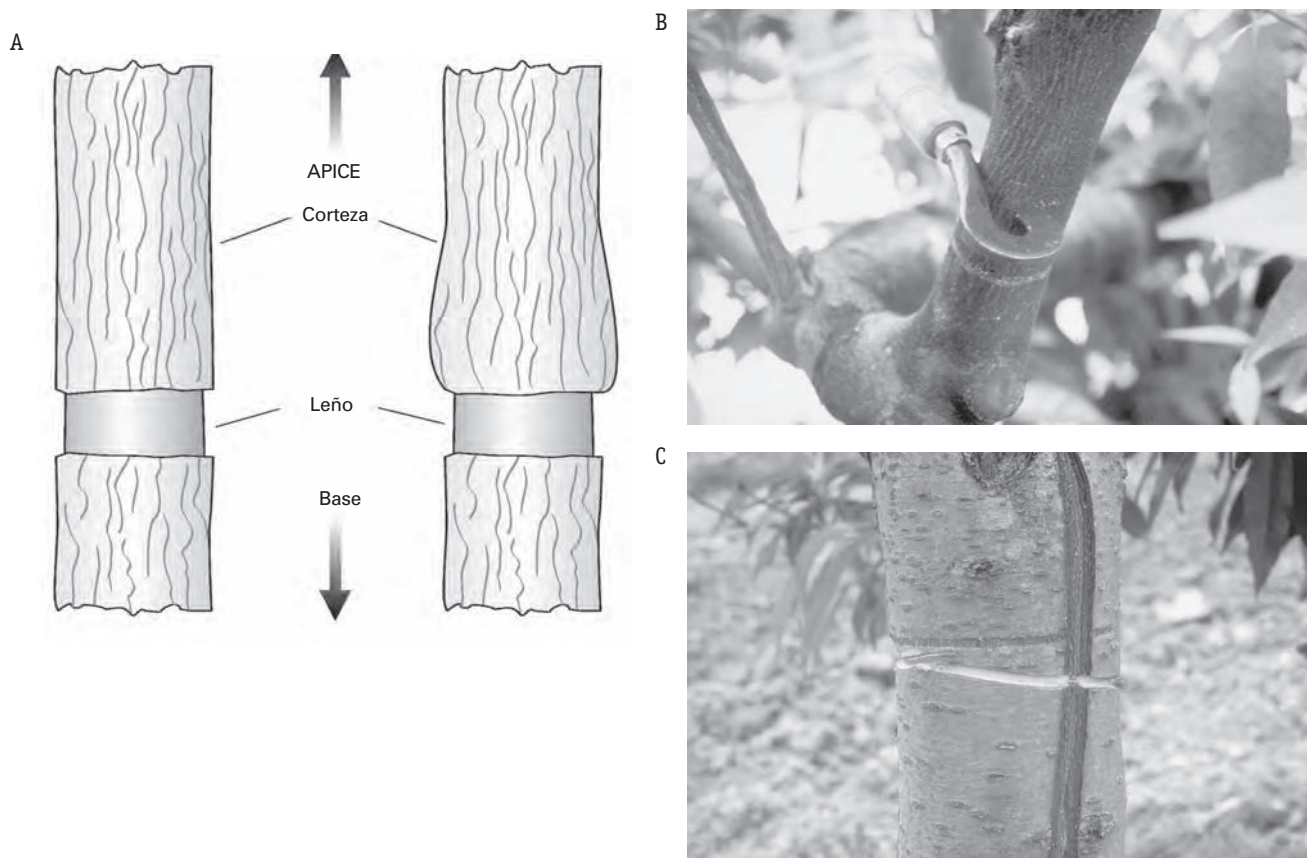


Figura 5-1. A. Diagrama de los experimentos de Malpighi. La separación de un anillo de corteza en el tallo o la base de una rama de una planta leñosa (izquierda) interrumpe el transporte basípeto de nutrientes y hormonas, provocando la proliferación de los tejidos inmediatamente por encima del corte (derecha). B. En la práctica agrícola esta operación, denominada **anillado**, se realiza con cuchillas, como la que se muestra en la fotografía, que con un corte circular eliminan un anillo de corteza de la anchura deseada. La acumulación de carbohidratos en la porción distal de la rama respecto al corte aumenta el cuajado y el crecimiento del fruto. Si la anchura del anillo no es excesiva, el callo cicatricial que se forma a partir de la parte superior permite la regeneración de los tejidos eliminados, restableciendo las conexiones vasculares. C. Aspecto de una rama de melocotonero que muestra el leño intacto en la región recién anillada. Inmediatamente por encima del anillo se aprecia la cicatriz del anillado realizado el año anterior.

- el sentido basípeto del transporte, opuesto a la corriente transpiratoria, en la base del tallo.

Todos estos aspectos han sido confirmados posteriormente utilizando técnicas más precisas.

1.2. Las técnicas autorradiográficas demuestran que el transporte se realiza en los elementos cribosos

La función de los **tubos cribosos** en el transporte de fotoasimilados es una conclusión lógica de los experimentos descritos, pero no queda demostrada de un modo fehaciente y, durante algún tiempo, fue cuestionada por razones anatómicas y ultraestructurales. El diámetro de los tubos cribosos, que normalmente no supera los 10 μm , es considerablemente menor que el de los elementos traqueales o los vasos sanguíneos de los animales, lo que, unido a la presencia

de citoplasma, aumenta considerablemente la resistencia al movimiento de los fluidos en su lumen y reduce su capacidad de transporte. Además, en las primeras observaciones ultraestructurales, las placas cribosas aparecían obturadas por calosa y por diversos componentes citoplasmáticos, lo que resulta incompatible con la función propuesta.

La demostración de que el transporte tiene lugar en el lumen fue posible gracias a la disponibilidad de marcadores radiactivos a partir de la década de los cuarenta, mediante el uso de técnicas autorradiográficas. Después de la exposición de una hoja durante un breve período a una atmósfera con $^{14}\text{CO}_2$, los fotoasimilados marcados que se transportan en el pecíolo o el tallo se inmovilizan mediante congelación rápida (p. ej., sumergiendo el tejido en nitrógeno líquido) y se visualizan incubando secciones ultrafinas del tejido con una capa de emulsión fotográfica (Fig. 5-2). Si el tiempo transcurrido desde la presentación del $^{14}\text{CO}_2$ hasta la fijación es suficientemente corto, la radiactividad se localiza exclusivamente en los elementos cribosos (y en sus células

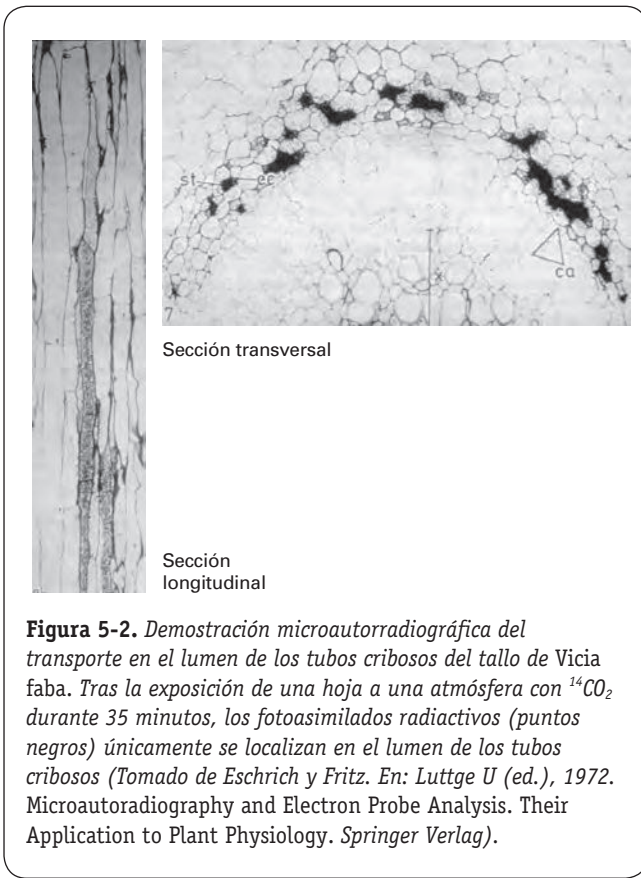


Figura 5-2. Demostración microautorradiográfica del transporte en el lumen de los tubos cribosos del tallo de *Vicia faba*. Tras la exposición de una hoja a una atmósfera con $^{14}\text{CO}_2$ durante 35 minutos, los fotoasimilados radiactivos (puntos negros) únicamente se localizan en el lumen de los tubos cribosos (Tomado de Eschrich y Fritz. En: Luttge U (ed.), 1972. Microautoradiography and Electron Probe Analysis. Their Application to Plant Physiology. Springer Verlag).

de compañía), lo que demuestra su función como canal de transporte de los fotoasimilados. Cuando el tiempo de transporte se prolonga, la radiactividad se encuentra también en las células del parénquima próximas a los elementos cribosos. Además de su función en el transporte longitudinal a larga distancia, los elementos cribosos proporcionan fotoasimilados y otras sustancias a los tejidos que los rodean, lo que permite el mantenimiento de sus funciones vitales.

Por último, el sellado de las placas cribosas con proteína y calosa que se apreciaba en las primeras observaciones ultraestructurales, se considera un artefacto provocado por la manipulación de las muestras. Los elementos cribosos son estructuras muy lábiles y extremadamente sensibles a cualquier manipulación, lo que provoca cambios ultraestructurales muy rápidos con pérdida de su funcionalidad. Esta labilidad hace muy difícil las investigaciones sobre su funcionamiento y la caracterización de su ultraestructura. No obstante, la mejora de las técnicas de microscopía electrónica ha permitido establecer que, en condiciones naturales, los poros de las placas cribosas habitualmente se encuentran abiertos. La observación de los tubos cribosos *in situ* mediante la técnica de microscopía confocal de barrido, que permite observar el transporte *in vivo* de un colorante apropiado, demuestra que los depósitos de proteína que se encuentran en las placas cribosas no las obstruyen por completo; presentan corredores por los que circula el fluido y permiten el paso del colorante junto con las demás sustancias disueltas (Knoblauch y van Bel, *Plant Cell* 10:35-50,1998).

2. ESTRUCTURA DEL FLOEMA

La presencia de elementos cribosos es la característica distintiva del floema. Junto a éstos se encuentran, en proporción variable, células parenquimáticas, fibras y, en algunas especies, laticíferos. Sólo los elementos cribosos están directamente implicados en el transporte. No obstante, algunas células parenquimáticas están estrechamente relacionadas con los elementos cribosos, interviniendo en la regulación de su metabolismo y en la carga de los fotoasimilados.

En el floema de las angiospermas, el canal de transporte es el **tubo criboso**, serie longitudinal de elementos cribosos unidos por sus paredes terminales, que están profundamente perforadas formando las **placas cribosas** (Fig. 5-3). Cada una de las células del tubo criboso recibe el nombre de **elemento de los tubos**. En el floema primario, el tubo criboso se forma a partir de los elementos del procambium, y su diferenciación procede en sentido acrópeto de modo gradual hasta la inmediata vecindad de los meristemos apicales. En el floema secundario, los tubos cribosos se originan por la diferenciación simultánea de una serie longitudinal de derivadas fusiformes del cámbium vascular, que se extienden desde el ápice del tallo y las hojas hasta el extremo de la raíz. Los elementos de los tubos tienen entre 100 y 500 μm de longitud y de 5 a 20 μm de espesor.

En las gimnospermas y las pteridófitas, los elementos cribosos, notablemente alargados, no están ordenados en filas. Estos elementos, que reciben el nombre de **células cribosas**, están interconectados por **áreas cribosas** en las paredes laterales adyacentes (Fig. 5-4).

En el sistema axial de la planta (tallos, raíces, pecíolos y pedúnculos), los tubos cribosos se ordenan paralelamente respecto al eje de los órganos. En el floema secundario del tallo de las angiospermas, los tubos cribosos representan entre el 20 y el 80% de la sección transversal del tejido. En los órganos laterales (hojas y frutos), los tubos cribosos forman con frecuencia un retículo intensamente anastomosado. En las hojas, los tejidos vasculares se asocian a otros tipos celulares, formando las venas, y a menudo están rodeados por una o varias filas de células muy compactas que constituyen la **vaina del haz**. La distancia intervenal tiene un valor medio de 130 μm , lo que facilita el transporte desde las células del mesófilo a los elementos cribosos.

2.1. La estructura de los elementos cribosos está adaptada para el transporte

Cuando se observan con el microscopio electrónico, los elementos cribosos parecen casi desprovistos de contenido, en marcado contraste con la estructura rica en orgánulos de las células parenquimáticas vecinas. Esta estructura, aparentemente muy simple, es el resultado de un proceso de diferenciación a partir de las derivadas del cámbium que provoca su adaptación para el flujo de una solución en sentido longitudinal.

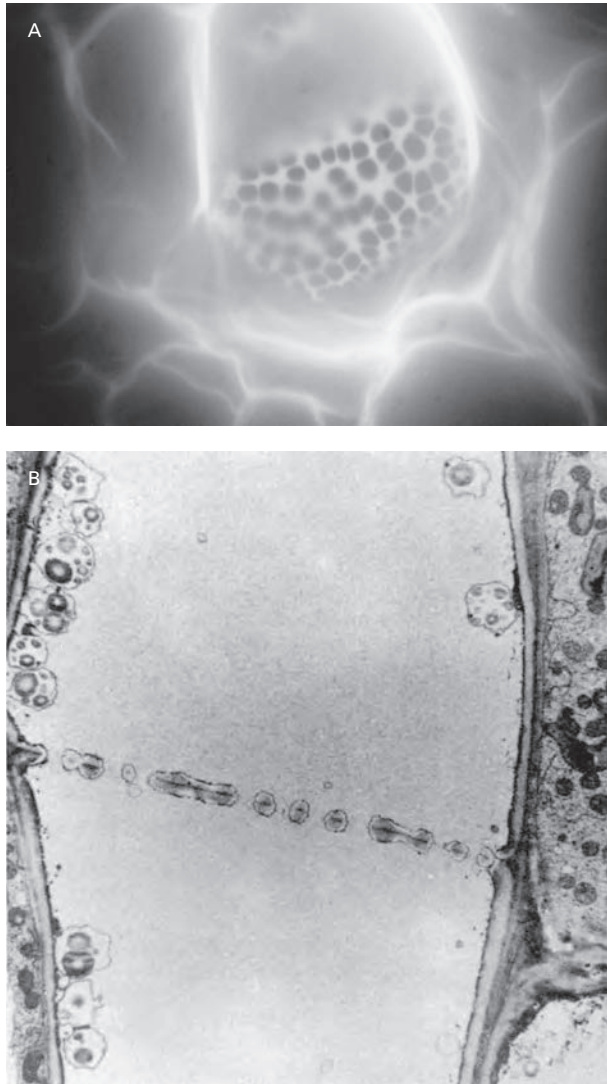


Figura 5-3. Placa cribosa en la pared de separación de dos elementos cribosos. **A.** Vista frontal de una placa cribosa de *Cucumis melo* observada con el microscopio óptico. **B.** Sección transversal de una placa cribosa de *Cucurbita maxima* observada con microscopio electrónico. En la preparación, fijada por inmersión en nitrógeno líquido, se observan los poros rodeados por un depósito de calosa pero abiertos y libres de proteína floemática, que se encuentra en el lumen celular en forma dispersa. En los elementos de los tubos se observan plastos con almidón. (Tomado de Anderson y Cronshaw, 1970. *Journal of Ultrastructural Research* 29:50-59.)

La diferenciación de esta estructura tiene lugar en una secuencia bien definida. Las derivadas del cámbium tienen un núcleo prominente, abundantes mitocondrias, plastos, ribosomas y dictiosomas, un retículo endoplasmático bien desarrollado y una vacuola claramente distinguible rodeada por el tonoplasto. El primer signo de diferenciación es la presencia de plasmodesmos muy destacados en las regiones en que se formarán áreas cribosas. Los poros se forman por el ensanchamiento gradual de las punteaduras, que se rellenan

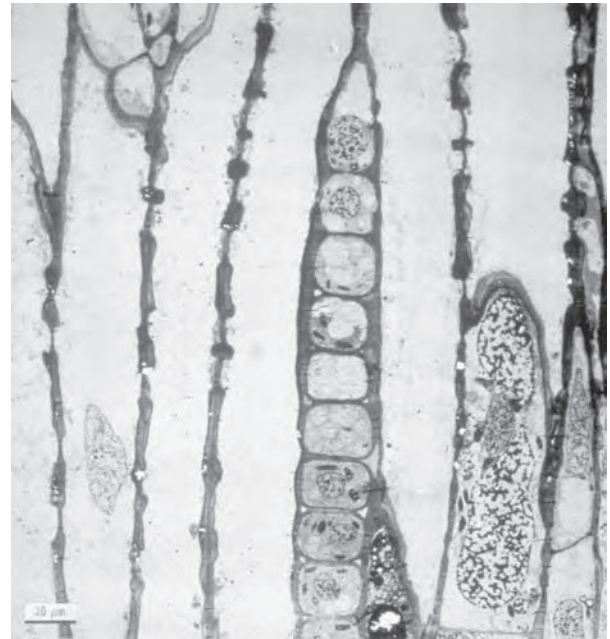


Figura 5-4. Áreas cribosas en las paredes laterales de las células cribosas del floema inmaduro de la raíz de *Picea abies*. Algunas de ellas todavía presentan el núcleo y pequeñas vacuolas. (Tomado de Behnke y Sjolund (eds.), 1990. *Sieve Elements. Comparative Structure, Induction and Development*, Springer-Verlag, por cortesía del Dr. Schulz.)

transitoriamente con **calosa** (β 1-3 glucano), mientras que la pared se engruesa considerablemente debido al depósito de capas ricas en celulosa con propiedades refractivas características (**capa nacarada**). El tonoplasto se degrada, por lo que la vacuola desaparece. Finalmente se abren los poros por la disolución de la calosa, el núcleo degenera y los dictiosomas y los ribosomas desaparecen.

Los elementos cribosos maduros carecen, pues, de muchas de las estructuras celulares; han perdido la información genética y la capacidad de síntesis de las proteínas. De pared a menudo engrosada, pero nunca lignificada, tienen plasmalema y conservan mitocondrias modificadas, de cuya funcionalidad se duda, así como plastos de aspecto muy variable y que contienen bien almidón únicamente (plastos tipo S), o proteína, a veces junto con almidón (plastos tipo P) y algo de retículo endoplasmático liso. Estos orgánulos siempre están situados en posición parietal, quedando anclados en esa posición por unas extensiones de las membranas de unos 7 nm de longitud (Elers y cols., *Protoplasma* 214:80-92, 2000).

En la mayor parte de las angiospermas se encuentran presentes distintas formas de proteínas estructurales específicas del floema, denominadas **proteínas P**. Estas proteínas se acumulan durante la ontogenia, y en los tubos maduros se encuentran dispersas en su contenido. En alrededor del 10% de las especies de dicotiledóneas estudiadas, las formas solubles parecen estar en equilibrio con los agregados fibrilares, bien amorfos o cristalinos (*Fabaceae*). Aunque existen diferencias entre las proteínas de las distintas especies, en todos los

casos parecen actuar como un sistema de inactivación rápida de los elementos cribosos (véase el apartado 6.2). Algunas de estas proteínas presentan actividad como hemaglutinina (lectina), por lo que podrían actuar como un sistema de defensa de las plantas. Su presencia no debe de ser esencial para la función de transporte, pues no se encuentran en las gimnospermas ni en ciertas monocotiledóneas (Fig. 5-5).

Una característica distintiva de los elementos cribosos maduros, de la que deriva su nombre, es la presencia de áreas cribosas, regiones con numerosos poros de gran diámetro (Fig. 5-3). Son particularmente prominentes en las paredes transversales de los elementos de los tubos cribosos (**placas cribosas**) en que los poros, con un diámetro de entre 0.1 y 5 μm , ocupan cerca del 50% de la superficie de la pared. Pese a que en algunas preparaciones estos poros se hallan obturados por calosa, hoy se considera que generalmente están despejados, como se indicó anteriormente, permitiendo la continuidad citoplasmática entre los elementos cribosos contiguos.

2.2. Células parenquimáticas especializadas se asocian a los elementos cribosos

Los elementos de los tubos se asocian normalmente a células parenquimáticas especializadas denominadas **células de compañía**, que se originan mediante una división lon-

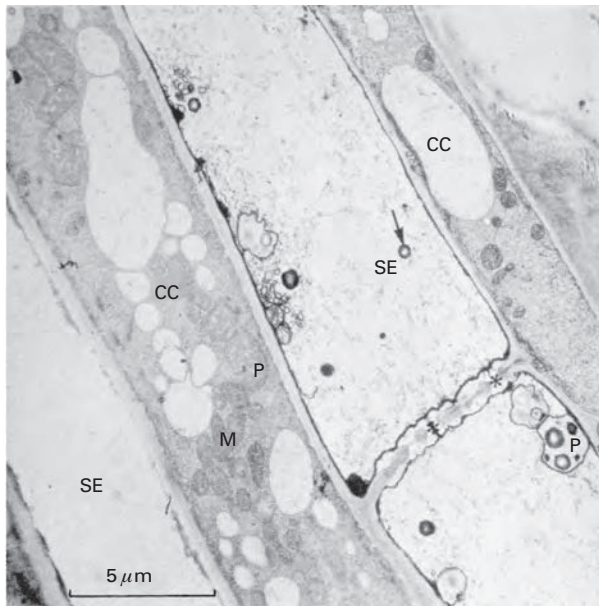


Figura 5-5. Microfotografía electrónica de la sección longitudinal de elementos de los tubos (SE) y células de compañía (CC) de *Acer pseudoplatanus*. Los poros de la placa cribosa están obturados por calosa, mientras que la proteína floemática está dispersa en el lumen de los elementos cribosos. En éstos y en las células de compañía, de citoplasma más denso, se observan plastos (P), mitocondrias (M) y membranas de retículo endoplasmático liso. (Tomado de Wooding, 1971. *Phloem*, Oxford University Press.)

gitudinal desigual de las iniciales del cámbium, previa a la diferenciación del elemento del tubo. Estas células, de citoplasma muy denso, abundantes mitocondrias y gran número de orgánulos y estructuras subcelulares (Fig. 5-5), están unidas al elemento del tubo correspondiente por numerosas conexiones plasmodésmicas. Estos plasmodesmos presentan un aspecto característico, con un único poro, ensanchado y sin desmotúbulo, en la parte de pared correspondiente al elemento criboso, que está conectado a una cavidad central. De ésta salen varias ramas provistas de desmotúbulo hacia la célula de compañía (Fig. 5-6). Estos plasmodesmos permiten el intercambio rápido y eficaz de sustancias entre las dos células, incluidas las macromoléculas (proteínas y RNAs).

La interdependencia entre ambos tipos de células se refleja en su muerte simultánea, mientras que las células parenquimáticas vecinas sobreviven; por ello, es frecuente considerarlas como un **complejo tubo criboso-célula de compañía (TC/CC)**. Las células de compañía desempeñan funciones metabólicas, como la síntesis de proteínas, que no puede realizar el elemento criboso. Además, es probable que sus numerosas mitocondrias proporcionen ATP a los elementos cribosos.

Las características del complejo TC/CC dependen de la posición en la planta. En las venas menores de las hojas, las células de compañía tienen un diámetro notablemente mayor que los tubos cribosos, y se cree que están implicadas en la carga de fotoasimilados. Como se indica a continuación (véase el apartado 2.3), su estructura y el grado de conexión simplástica con las células parenquimáticas de la vaina presentan diferencias muy acusadas entre especies.

En el tallo, por el contrario, las células de compañía son mucho menores que los elementos del tubo, y el complejo TC/CC está simplásticamente aislado de las células parenquimáticas que lo rodean; las células de compañía están implicadas en la recuperación de parte de la sacarosa que se pierde por las membranas durante el transporte.

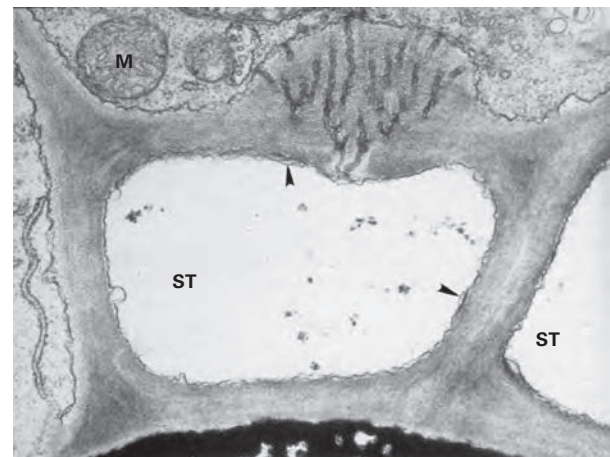


Figura 5-6. Plasmodesmo ramificado entre un tubo criboso (ST) y su célula de compañía. (Tomado de Russin y Evert, 1985. *American Journal of Botany* 72:1232-1247.)

Todavía de menor tamaño son las células de compañía en los sumideros. No se han observado células de compañía en los elementos cribosos del protofloema de los ápices caular y radical.

En las gimnospermas, las funciones que hemos descrito para las células de compañía las desempeñan las **células albuminosas**. A diferencia de las células de compañía, las células albuminosas no proceden de la misma célula madre que los elementos cribosos.

2.3. En las venas menores de las hojas existen diversos tipos de células de compañía

En las venas menores de las hojas se distinguen varios tipos de células de compañía que difieren en su ultraestructura y en la frecuencia de conexiones plasmodésmicas con las células vecinas, excepción hecha del tubo criboso, con el que siempre están profusamente conectadas. En función de estas características, se distinguen varios tipos de configuración de las venas menores, en las que el número indica la cantidad de conexiones simplásticas entre la célula de compañía y las células de la vaina del haz: tipo 1 (configuración abierta), cuando son numerosas, y tipo 2 (configuración cerrada), cuando son escasas. Esta configuración de las venas menores está relacionada con el mecanismo de incorporación de los azúcares al complejo TC/CC y con su naturaleza (véase el apartado 5.1).

Las células de compañía de mayor tamaño son las que se encuentran en la configuración de **tipo 1** (abierta). Estas células reciben el nombre de **células intermediarias**. Presentan numerosas conexiones plasmodésmicas con las células de la vaina del haz (más de 10 por μm^2), por lo que se establece una continuidad simplástica entre las células del mesófilo y los elementos conductores. Otras características citológicas de estas células son sus paredes lisas, la presencia de numerosos laberintos de retículo endoplasmático y la ausencia de cloroplastos y de granos de almidón. Las células de compañía sintetizan rafinosa y otros galactosil-oligosacáridos que, junto con la sacarosa y, en ocasiones, con los polialcoholes, son la forma de transporte de los azúcares en estas plantas. La concentración de éstos en el complejo TC/CC es ligeramente mayor que en las células del mesófilo. El 80% de las especies con este tipo de configuración son leñosas, habiéndose hallado, entre otras, en las familias *Oleaceae* (p. ej., *Fraxinus ornus*), *Cucurbitaceae* (*Cucurbita pepo*) y *Lamiaceae* (*Coleous blumei*). En *Salix babylonica* (*Salicaceae*), que presenta este tipo de configuración, sólo se encuentra sacarosa en los tubos cribosos, y en menor concentración que en el mesófilo. La sacarosa es también el único azúcar transportado en otras especies con esta configuración, como *Vitis vinifera* (*Vitaceae*).

En la configuración de **tipo 1-2a** (intermedia) se encuentran **células de compañía ordinarias**, de paredes lisas, con varias vacuolas y cloroplastos con membranas tilacoidales. El número de conexiones plasmodésmicas oscila entre 4 y 8 por μm^2 . Generalmente la sacarosa es el azúcar de transporte,

y no se acumula en el complejo TC/CC en concentración mayor que la del mesófilo. Se ha descrito esta configuración en *Gossipium hirsutum* (*Malvaceae*) y *Ricinus communis* (*Euphorbiaceae*).

En la configuración de **tipo 2a** (cerrada primitiva), las características estructurales de las células de compañía son similares a las descritas en las especies del grupo anterior, pero difieren de aquéllas en la práctica ausencia de conexiones plasmodésmicas con la vaina (menos de 0.1 por μm^2). La mayor parte de las especies de este tipo son herbáceas, entre ellas el tabaco y la patata (*Solanaceae*) y la remolacha (*Chenopodiaceae*) (Fig. 5-7). En la configuración de **tipo 2b** (cerrada avanzada), las células de compañía, que reciben el nombre de **células de transferencia**, presentan numerosas invaginaciones en la pared, particularmente en las regiones en las que no están en contacto con el tubo criboso, lo que aumenta la superficie del plasmalema (Fig. 5-8). Se ha descrito esta configuración en especies de las familias *Fabaceae* (*Pisum sativum*) y *Asteraceae* (*Lactuca sativa* y *Helianthus annuus*), *Balsaminaceae*, *Boraginaceae* y *Geraniaceae*, entre otras. Las especies con una configuración cerrada transpor-

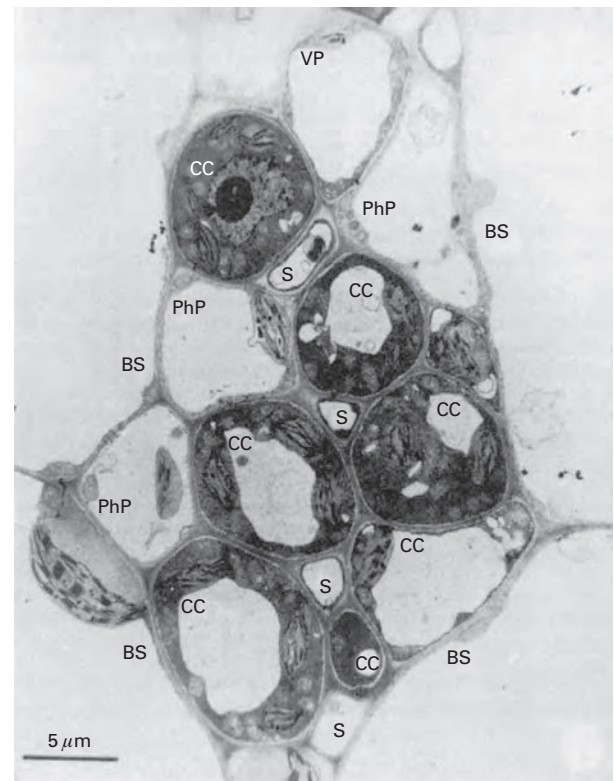


Figura 5-7. Microfotografía de la sección transversal de una vena menor de la hoja de *Beta vulgaris*. Las células de compañía (CC), de mayor tamaño que los elementos cribosos (S), tienen un citoplasma denso en el que se observan cloroplastos y paredes de espesor uniforme. Se observan en la preparación células del parénquima floemático (PhP) y del parénquima vascular (VP). La vena está rodeada por las células de la vaina (BS). (Tomado de Evert y Mierwa, 1986. En: Cronshaw, Lucas y Giaquinta (eds.), *Phloem Transport*. New York, Alan R. Liss.)



Figura 5-8. Microfotografía electrónica de una sección transversal del floema de la hoja de remolacha azucarera. Las células de compañía (CC), de mayor tamaño que los elementos de los tubos (SE), tienen numerosas invaginaciones en las paredes. (Tomado de Wooding, 1971. *Phloem*, Oxford University Press.)

tan sacarosa, que en el lumen de los tubos se encuentra en mucha mayor concentración que en el mesófilo.

Se ha especulado con el significado evolutivo que pudieran tener la frecuencia en el número de plasmodesmos y la naturaleza de los azúcares transportados. Se considera que las configuraciones de tipo intermedio representarían la situación más primitiva, en que la continuidad simplástica permitiría el llenado de los tubos cribosos a favor de un gradiente de concentración de sacarosa, sin que se produzca una acumulación en sentido estricto. La acumulación contra un gradiente de concentraciones sería consecuencia, por un lado, del desarrollo de un metabolismo específico de síntesis de azúcares en las células de compañía (configuración del tipo 1) y, por otro, con el aislamiento simplástico del complejo TC/CC (configuraciones de tipo 2). Este aislamiento simplástico del complejo TC/CC permite la acumulación de sacarosa en el tubo criboso a mayor concentración que las configuraciones abiertas. Las formas de los tipos 1 y 2 serían, por tanto, más evolucionadas, y su aparición sería resultado de dos procesos de evolución diferentes.

Aunque esta hipótesis sobre la evolución de la estructura del complejo TC/CC es atractiva, está en contradicción con algunas observaciones experimentales. La relación entre

la configuración de las venas menores y la taxonomía no parece ser estricta. Así, la carga del floema en la especie *Liriodendron tulipifera*, que pertenece a la familia primitiva *Magnoliaceae*, se ha descrito como apoplástica, tipo de carga característico de las venas con aislamiento simplástico y considerado más avanzado (véase el apartado 5.1). Por otro lado, en la familia *Scrophulariaceae* se encuentran especies con los tres tipos de configuración descritos. Además, en una misma planta pueden encontrarse al mismo tiempo células de transferencia y células intermediarias.

3. SUSTANCIAS TRANSPORTADAS EN EL FLOEMA

La naturaleza de las sustancias que se transportan en el floema se ha dilucidado analizando su contenido. Como las sustancias son arrastradas en el lumen del tubo criboso por un flujo de agua, toda sustancia en solución será transportada. Para determinar su composición, es necesario disponer de un volumen suficiente de fluido de floema no contaminado.

3.1. El fluido del floema se obtiene cortando los tubos cribosos

Como el contenido de los tubos cribosos se encuentra sometido a una presión positiva, se libera cuando aquéllos se cortan. De este modo es posible obtener un volumen apreciable de fluido del floema en *Fraxinus sp.*, *Ricinus sp.*, diversas cucurbitáceas y muchas palmas, en las que tal exudación se mantiene durante algunas horas o incluso días (Fig. 5-9). En otros casos, el volumen de fluido obtenido es muy escaso,

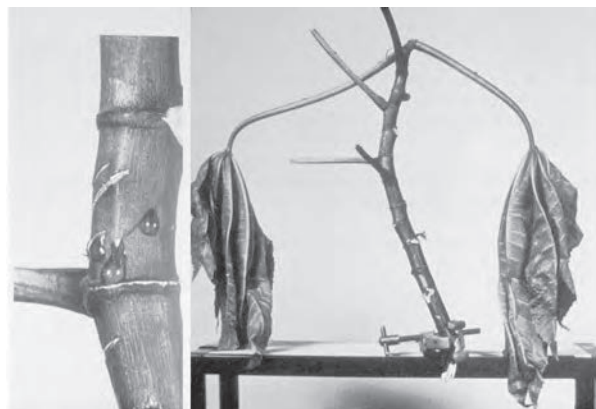


Figura 5-9. Exudación de fluido del floema en el tallo de *Ricinus communis* provocada por una incisión en la corteza. Esta exudación se produce aun cuando el tallo presenta un déficit hídrico acusado (fotografía de la derecha), lo que prueba la capacidad de los elementos cribosos para mantener la turgencia en estas condiciones. (Tomado de Milburn, 1974. *Planta* 117:303-319.)

debido al sellado rápido de los tubos cortados por la acumulación de proteínas P y la síntesis de calosa. Este sellado puede evitarse aplicando un agente quelante (p. ej., EDTA) en la superficie de corte, ya que la síntesis de calosa precisa iones calcio. De este modo, el volumen de exudado obtenido aumenta considerablemente.

El principal inconveniente de este procedimiento de obtención es que el fluido recolectado está contaminado por el contenido de otras células que resultan también afectadas por el corte. Además, el corte del tubo criboso causa la extravasación rápida de su contenido y, como consecuencia de ello, una disminución abrupta de la presión de turgencia, lo cual provoca la entrada de agua desde las células vecinas y la dilución de su contenido, y posiblemente el arrastre de componentes y orgánulos que, en condiciones de flujo normales, permanecen fijos, anclados en las paredes laterales.

3.2. Los áfidos permiten obtener fluido del floema sin contaminar

Es posible obtener fluido del floema no contaminado por el contenido de las células vecinas gracias a la colabora-

ción involuntaria de los áfidos. Estos insectos insertan su estilete (piezas bucales) directamente en el interior del elemento criboso, y se alimentan del fluido del floema que circula pasivamente por su tubo digestivo. Si se corta el estilete evitando que el áfido se mueva, el extremo del estilete continúa exudando durante varios días, obteniéndose así fluido sin contaminar de un único elemento criboso (Fig. 5-10). La inserción del estilete no desencadena el mecanismo de sellado de los tubos cribosos. El volumen de fluido que se obtiene de este modo es de hasta 5 μL por hora, cantidad muy pequeña desde el punto de vista analítico, pero considerable desde el punto de vista celular. Representa unas 50 000 veces el volumen de un elemento criboso, lo que significa que éste se rellena nada menos que diez veces por segundo. Este valor demuestra la eficacia de los elementos cribosos para el transporte de un fluido en sentido longitudinal.

3.3. Composición del fluido del floema

La composición del fluido del floema es muy variable, dependiendo de la especie, la edad y el estado fisiológico del

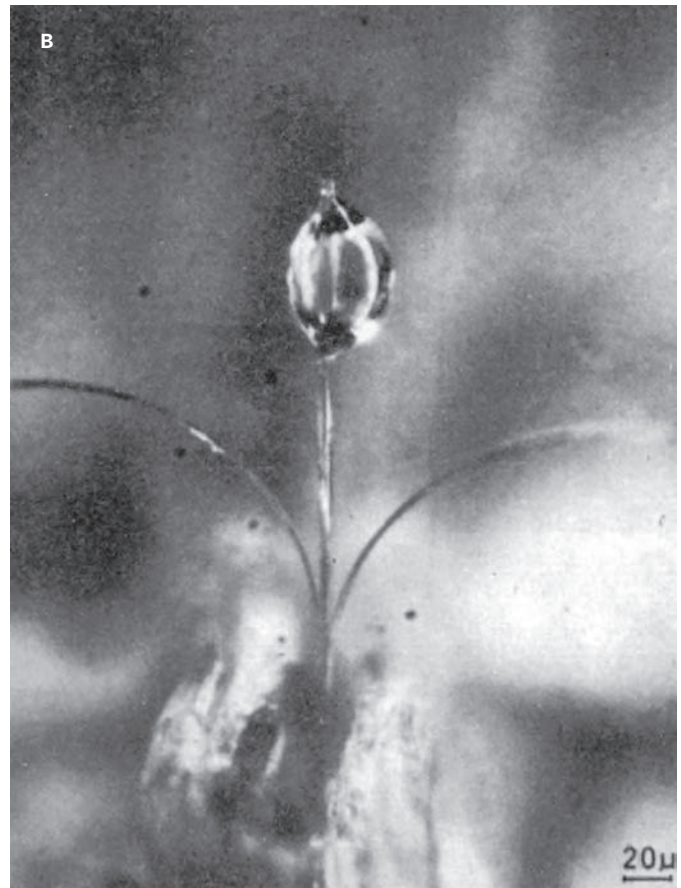
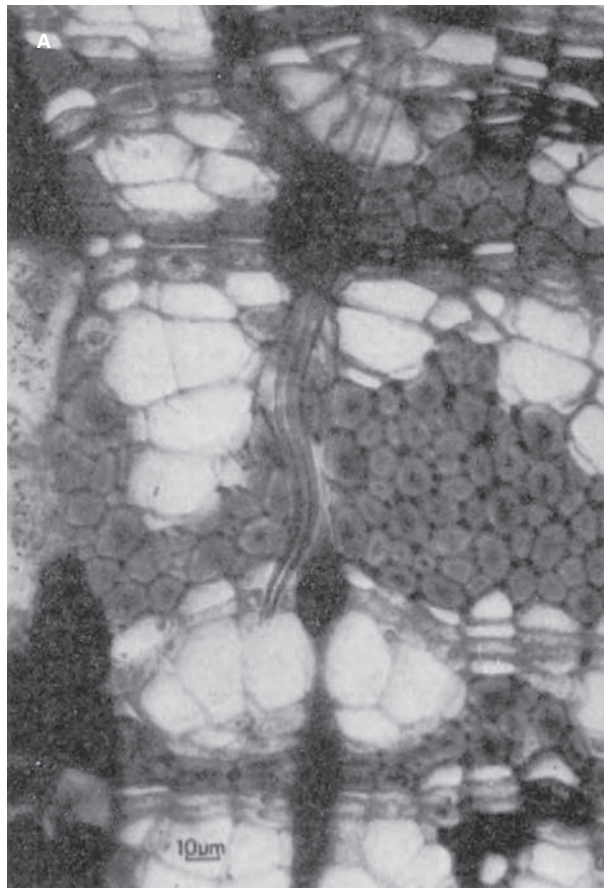


Figura 5-10. Extremo del canal maxilar de un áfido en el lumen de un tubo criboso (A) y exudación en el extremo de un estilete cortado (B). (Tomado de Zimmermann y Milburn, 1975. *Transport in Plants. I. Phloem Transport*, Berlin, Springer-Verlag, *Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, Vol. 1*; y Kollmann y Dörr, 1966. *Zeitschrift Pflanzenphysiologie*, 55:131-141.)

tejido que se analiza. Presenta, sin embargo, una serie de características comunes en todos los casos: un pH próximo a 8, superior al pH del citosol de las células del parénquima y mucho mayor que el pH del fluido de xilema, que oscila entre 5 y 6; un elevado contenido en materia seca, normalmente entre el 10 y el 25 %; un bajo peso molecular de las sustancias disueltas, que determina un potencial osmótico muy negativo de la solución, entre -1 y -3 MPa; y una viscosidad elevada, hasta dos veces superior a la del agua.

Los azúcares son el componente mayoritario del fluido del floema, ya que normalmente representan entre el 80 y el 90% de la materia seca total. En proporciones menores se encuentran proteínas, aminoácidos y amidas, ácido málico y diversos aniones y cationes inorgánicos. También se encuentran fosfatos de nucleótidos, fundamentalmente ADP y ATP y, en concentraciones muy bajas, diversas hormonas vegetales, entre ellas auxinas, citoquininas, giberelinas y ácido abscísico. (Cuadro 5-1). El marcado isotópico ha permitido demostrar que la mayor parte de estas sustancias se transporta realmente en el lumen de los tubos cribosos, pero en algunos casos son componentes que se movilizan como consecuencia del corte del tubo criboso.

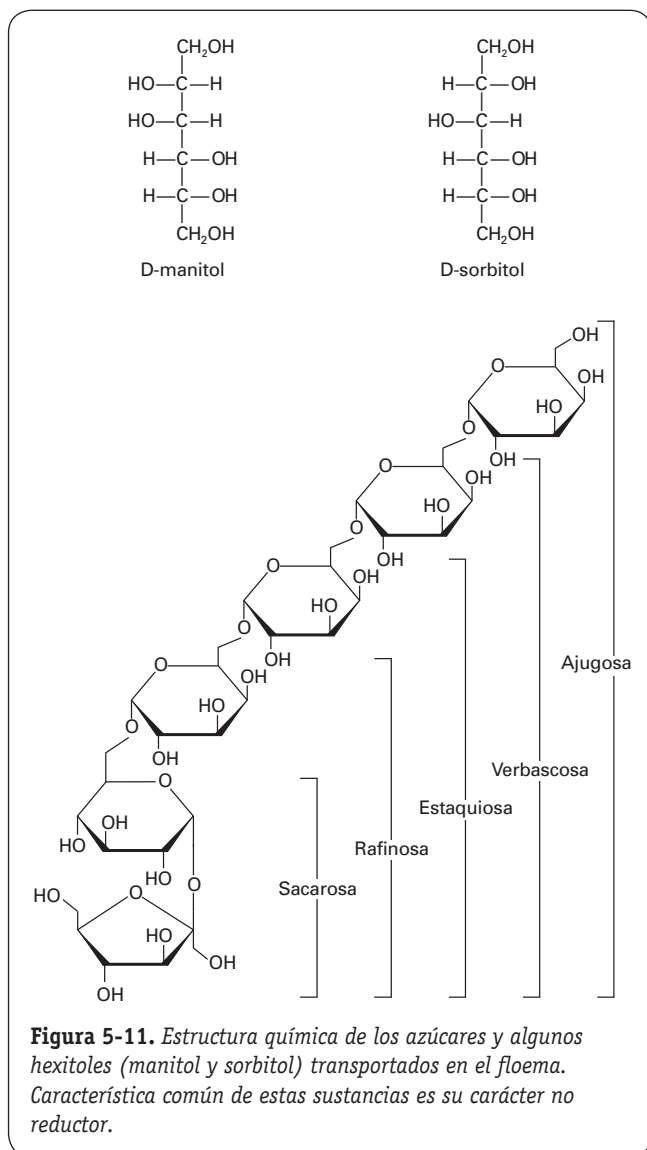
3.3.1. Los azúcares del floema no tienen carácter reductor

La sacarosa es, por lo general, el azúcar más abundante (en ocasiones el único) del fluido del floema. Se encuentran, asimismo, cantidades variables de azúcares de la serie de rafinosa (rafinosa, estaquiosa y verbascosa; Fig. 5-11). Desde el punto de vista estructural y biosintético, estos azúcares derivan de la sacarosa por la adición de moléculas de galactosa, y son particularmente abundantes en las plantas con células intermediarias en las venas de las hojas; en las cucurbitáceas, la estaquiosa es el azúcar predominante en el floema. En algunas familias, junto a la sacarosa se transportan alditoles como el manitol (en la familia *Oleaceae*), el sorbitol (en especies leñosas de la familia *Rosaceae*) o el dulcitol (en *Celastraceae*).

Una característica de estos compuestos es su carácter reductor, ya que los carbonos anoméricos (grupos aldehído y cetona) están combinados formando un enlace glucosídico. No se encuentran azúcares reductores, y se considera que las pequeñas cantidades de fructosa y glucosa detectadas en ocasiones en el fluido del floema proceden de la contaminación de la muestra o de la hidrólisis de la sacarosa durante la

CUADRO 5-1. Composición química y características del exudado de floema de *Ricinus communis* y de *Yucca flaccida*. (Tomado de Hall y Baker, 1972. *Planta* 106: 131-140; y de Van Die y Tammes, 1975. En: Zimmermann y Milburn (eds.), *Transport in Plants. I. Phloem Transport*. Berlin, Springer-Verlag, Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, Vol. 1:196-222.)

	<i>Ricinus communis</i>	<i>Yucca flaccida</i>
Materia seca total (%)	10-12.5	17.1-19.1
Sacarosa (%)	8.0-10.6	15.0-18.0
Azúcares reductores (glucosa + fructosa) (%)	Ausentes	0.4-0.8
Hexosas-fosfato	—	Trazas
Aminoácidos y amidas (molar)	0.037	0.05-0.08
Ureidos	—	Trazas
Proteína total (%)	0.15-0.22	0.05-0.08
Ácidos orgánicos (mEq L ⁻¹)	30-47	ca. 7.0
Fosfato (mEq L ⁻¹)	7.4-11.4	
Sulfato (mEq L ⁻¹)	0.5-1.0	
Cloruro (mEq L ⁻¹)	10-19	
Nitrato (mEq L ⁻¹)	Ausente	
Bicarbonato (mEq L ⁻¹)	1.7	
Potasio (mEq L ⁻¹)	60-122	
Sodio (mEq L ⁻¹)	2-12	
Calcio (mEq L ⁻¹)	1.0-4.6	
Magnesio (mEq L ⁻¹)	9-10	
Amonio (mEq L ⁻¹)	1.6	
Auxinas (milimolar)	0.60×10^{-4}	
Giberelinas (milimolar)	0.67×10^{-5}	
Citoquininas (milimolar)	0.52×10^{-4}	
ATP (milimolar)	0.40-0.60	
pH	8.0-8.2	8-0-8.2
Conductividad	$1.32 \text{ mS} \cdot \text{m}^{-1}$ (a 18 °C)	
Potencial osmótico	-1.42 a -1.52 MPa	
Viscosidad	$1.34 \times 10^{-3} \text{ N} \cdot \text{s} \cdot \text{m}^{-2}$ (a 20 °C)	



extracción. No se conoce la razón por la que estos azúcares no se incorporan a los tubos cribosos.

3.3.2. El potasio es el elemento mineral más abundante

En todos los casos se encuentran cantidades variables, pero significativas, de cationes y aniones inorgánicos. El contenido en cationes es siempre más elevado, y la solución se equilibra eléctricamente por la contribución de los aniones orgánicos, particularmente de malato. El catión más abundante es invariablemente el potasio; su concentración oscila entre 50 y 100 mM, por lo que contribuye significativamente al potencial osmótico del fluido. En concentraciones menores se encuentran el magnesio y el sodio. El fosfato y el cloruro son los aniones más abundantes.

La concentración de algunos iones, como el calcio y el hierro, es siempre muy baja. El ion nitrato, que es la forma

en que se transporta el nitrógeno en el xilema de muchas plantas, no se incorpora al floema.

3.3.3. El nitrógeno se transporta en forma de aminoácidos

En el fluido del floema se encuentra gran número de aminoácidos. Los más abundantes son el glutamato y el aspartato, bien en forma libre o como amidas (glutamina y asparagina). Ésta es también la forma en que se transporta el nitrógeno en el xilema de muchas especies.

El contenido en aminoácidos del fluido del floema varía ampliamente según la especie y el estado de desarrollo. Normalmente, su concentración oscila entre el 0.2 y el 0.5%, pero durante la senescencia de las hojas puede aumentar hasta el 5%.

3.3.4. En el floema se transportan proteínas

El contenido de proteínas en el exudado del floema oscila entre 0.2 y 2 gramos por litro. Los valores más elevados corresponden a los exudados de *Cucurbita*, *Ricinus* y *Lupinus*, especies en las que se ha realizado gran parte de los estudios de caracterización. Al principio se consideraba que estas proteínas, o al menos algunas (entre ellas las proteínas P), no se movían en los tubos cribosos, y que su presencia en el exudado era consecuencia del aumento brusco de velocidad que se produce al cortarlos para obtener el contenido. Su presencia en los exudados obtenidos utilizando estiletos de áfidos, sistema que apenas altera la velocidad del transporte, y la comprobación de que las proteínas P pasan a través del injerto entre especies diferentes de *Cucurbitaceae*, demuestra que se transportan (Golecki y cols., *Planta* 206:630-640, 1998).

Se encuentran entre 100 y 200 moléculas de proteína diferentes, que tienen un significado muy diverso. Entre ellas hay proteínas estructurales (proteínas P), como se ha indicado anteriormente, que bloquean los tubos cribosos dañados, proceso que depende del calcio, diversas enzimas relacionadas con el metabolismo de los carbohidratos (sintetasa de sacarosa, deshidrogenasa de manitol, etc.) y diversas proteínas de mantenimiento. En este grupo se incluye un sistema de protección oxidativa (tioredoxina-h, reductasa de glutatión, Cu/Zn superóxido dismutasa, peroxidasa) y varios inhibidores de proteasas.

Las proteínas que se encuentran en los elementos cribosos se sintetizan en las células de compañía y se incorporan al tubo criboso por los plasmodesmos. En algunos casos, la incorporación a los tubos cribosos es un proceso regulado, y el movimiento en los plasmodesmos puede estar asistido por una proteína acompañante (*chaperone*). Otras proteínas, por el contrario, pueden entrar de modo no regulado por difusión en los mismos plasmodesmos. Este movimiento de difusión sería facilitado por la presencia de algunas proteínas del floema, que son capaces de abrir los poros aumentando el límite de exclusión molecular hasta un valor en

el rango de 20-40 kDa (Fisher y Cash-Cark, *Plant Physiology* 123: 135-138, 2000; Lucas y Lee, *Nature Review of Molecular Cell Biology* 2: 849-857, 2004).

3.3.5. En el floema se transporta RNA

En el fluido del floema se encuentran más de 1500 moléculas distintas de mRNA, así como varios millares de moléculas de RNA de pequeño tamaño.

Las moléculas de mRNA presentes en el floema se sintetizan en las células de compañía, y son transportadas al tubo criboso por los plasmodesmos asistidas por proteínas; en el tubo criboso, estas moléculas de RNA serían estables, ya que la actividad ribonucleasa es muy baja. Entre los transcritos identificados se encuentra el del transportador de sacarosa SUT1, así como transcritos de genes que controlan el ciclo celular, de reguladores transcripcionales y de respuesta a las fitohormonas. Por otra parte, no deben ejercer una función reguladora en su metabolismo, dado que los tubos cribosos adultos carecen de ribosomas y, por tanto, son incapaces de sintetizar proteínas.

Las moléculas de RNA de pequeño tamaño tienen un tamaño de entre 19 y 25 nucleótidos, y forman una población muy heterogénea y dinámica. Se encuentran moléculas de **mi-RNA** (micro RNAs), y de **si-RNA** (*small interfering RNAs*). Estos dos grupos de moléculas, que difieren en sus precursores y biogénesis, se unen a proteínas formando complejos que reprimen la expresión génica. Las moléculas de mi-RNA afectan a la producción de factores de transcripción y de otras proteínas reguladoras, alterando de este modo el desarrollo. Las moléculas de si-RNA están implicadas en la defensa frente a las infecciones. Junto a éstas, se encuentran otras moléculas de RNA de significado desconocido. (Couzin, *Science* 298: 2296-2297, 2002; Bartel, *Cell* 116:281-297, 2004.)

3.3.6. En el fluido del floema se encuentran sustancias no producidas por las plantas

Algunas moléculas orgánicas de síntesis se incorporan al tubo criboso y se distribuyen de este modo por la planta. Entre ellas se encuentran sustancias con efecto herbicida o plaguicida que, por el hecho de transportarse en el floema, reciben el nombre de sistémicas.

También se han detectado partículas virales. El floema es, en muchos casos, la vía de expansión de los virus en la planta.

4. EL MOVIMIENTO DE FOTOASIMILADOS. FUENTES Y SUMIDEROS

El transporte en el floema tiene lugar desde las fuentes a los sumideros.

Los **fuentes** son órganos en los que los azúcares se incorporan al tubo criboso. Ello implica la síntesis de formas de transporte, comúnmente **sacarosa**, y la disponibilidad de car-

bohidratos en cantidad superior a la necesaria para cubrir las necesidades metabólicas. Los carbohidratos pueden proceder directamente de la fotosíntesis (p. ej., en las hojas adultas) o de la movilización de reservas acumuladas anteriormente.

Los **sumideros** son órganos «importadores» de carbohidratos, en los que se produce la salida de azúcares del tubo criboso. Estos azúcares pueden ser utilizados en el metabolismo y el crecimiento (sumideros consuntivos) o almacenarse como reservas (sumideros de almacenamiento). En algunos sumideros, las reservas tienen la misma estructura química que el azúcar de transporte. Son ejemplos de ello muchos frutos, los entrenudos de la caña de azúcar y la raíz napiforme de la remolacha, que acumulan grandes cantidades de sacarosa. En otros casos, las sustancias acumuladas son diferentes a la forma de transporte, y pueden ser de menor peso molecular (la glucosa es el azúcar más abundante del fruto de la vid) o de peso molecular más elevado (el almidón es la forma de almacenamiento en los tubérculos de la patata y en los cotiledones y el endospermo de muchas semillas).

El hecho de que en algunos casos el transporte tenga lugar hacia órganos con una concentración de sacarosa superior a la de los órganos fuente (las hojas) demuestra que, más que la concentración, es la capacidad para acumular o tomar azúcares de los tubos cribosos el factor que determina que un órgano se comporte como fuente o como sumidero.

4.1. La posición de fuentes y sumideros varía durante la ontogenia

Durante las etapas iniciales de su formación, todos los órganos actúan como sumideros, y su desarrollo depende de los carbohidratos que reciben del resto de la planta. Después, algunos órganos pasan a comportarse como fuentes, convirtiéndose en exportadores netos de carbohidratos. Otros órganos, por el contrario, nunca llegan a ser fuente: son los llamados sumideros irreversibles. Los frutos constituyen un ejemplo característico de este comportamiento. A pesar del elevado contenido en sacarosa de muchos de ellos, ésta no puede ser recuperada por la planta madre en ninguna circunstancia.

La transición de sumidero a fuente ha sido bien estudiada en las hojas. En las hojas simples de las dicotiledóneas, dicha transición se inicia cuando la hoja no ha completado aún su expansión. Inicialmente, las regiones marginales de la hoja, de más edad, comienzan a exportar azúcares, mientras que las zonas basales, más jóvenes, actúan todavía como sumideros. En estos momentos, esas regiones reciben azúcares tanto desde las zonas marginales como, a través del pecíolo, del resto de la planta. Cuando la hoja alcanza una superficie de aproximadamente la mitad de la definitiva, se completa la transición y la hoja se convierte en exportadora neta. Esta transición implica cambios bioquímicos y estructurales. Aumenta la actividad de las enzimas que sintetizan sacarosa y disminuye la de las enzimas degradativas. Por tanto, se produce un aumento de la concentración de ese azúcar. Al mismo tiempo, se origina un cambio en el comportamiento del floema, que acumula sacarosa en vez de liberarla, lo que

en muchos casos coincide con el aislamiento simplástico de los tubos cribosos. Un proceso semejante tiene lugar en la raíz napiforme de muchas plantas bienales. Durante el primer año, de crecimiento vegetativo, estas plantas acumulan carbohidratos de reserva en la raíz. Durante el segundo año, en el que tienen lugar la floración y la fructificación, los carbohidratos de la raíz se movilizan hacia el tallo.

Estos cambios en el comportamiento se traducen en cambios en el sentido del transporte. En el tallo de las plantas bienales, es basípeto (del tallo hacia la raíz) durante el primer año y acrópeto (de la raíz hacia el tallo) durante el segundo. En el pecíolo de las hojas se observa un cambio similar en el sentido del transporte ligado al desarrollo, inicialmente hacia la lámina y posteriormente hacia el tallo. No existe, pues, una polaridad en el transporte del floema.

4.2. Las relaciones entre fuentes y sumideros dependen de la distancia y de las conexiones vasculares

El movimiento de los fotoasimilados en la planta viene determinado por la situación de las fuentes y los sumideros. En general, los sumideros son alimentados desde las fuentes más próximas; así, los ápices caulares y las hojas en desarrollo reciben la mayor parte de los metabolitos desde las hojas situadas en la región apical del vástago, mientras que las raíces los reciben desde las hojas más basales. Las hojas situadas en las regiones centrales del tallo exportan tanto hacia el ápice de éste como hacia las raíces (Fig. 5-12). Ello determina que el movimiento neto de los azúcares sea acrópeto en las regiones apicales y basípeto en las basales. Los flujos de transporte cambian durante la ontogenia de la planta al hacerle la posición de las fuentes y los sumideros, y pueden ser manipulados experimentalmente. De este modo, la ablación de las hojas de la región apical del tallo aumenta el transporte hacia el ápice desde las hojas situadas en posición más basal.

El movimiento de los fotoasimilados viene facilitado por la existencia de conexiones vasculares directas entre los órganos. Como en el tallo los tubos cribosos están próximos a la superficie y orientados longitudinalmente respecto al eje de aquél, las relaciones nutricionales son más intensas entre los órganos situados en el mismo ortóstico que entre órganos más próximos pero situados en ortósticos distintos. Un ejemplo de la importancia de este factor en el transporte se muestra en la Figura 5-13. Cuando se presenta una hoja adulta próxima al ápice del tallo con $^{14}\text{CO}_2$, los azúcares marcados se acumulan en los primordios foliares del mismo ortóstico y de ortósticos vecinos, pero apenas en los primordios formados en la parte opuesta del tallo.

4.3. No existe una relación específica entre fuentes y sumideros

Los elementos conductores del floema forman una red muy compleja que interconecta los distintos órganos de la planta.

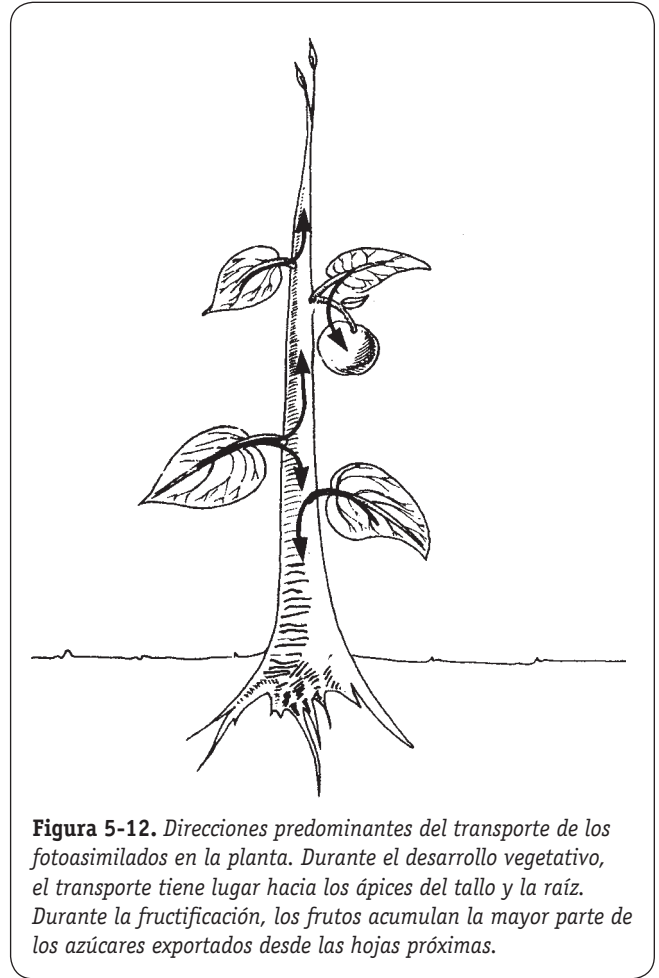


Figura 5-12. Direcciones predominantes del transporte de los fotoasimilados en la planta. Durante el desarrollo vegetativo, el transporte tiene lugar hacia los ápices del tallo y la raíz. Durante la fructificación, los frutos acumulan la mayor parte de los azúcares exportados desde las hojas próximas.

Junto a los flujos principales de transporte descritos coexisten otros, normalmente de menor importancia cuantitativa pero que, en determinadas circunstancias, pueden convertirse en la ruta preponderante del transporte. No existe una relación específica entre fuentes y sumideros; un sumidero puede ser suministrado, simultánea o alternativamente, desde varias fuentes.

El movimiento tangencial de los solutos en el tallo es posible gracias a la existencia de interconexiones, denominadas **anastomosis**, que son particularmente abundantes en los nudos. Estas interconexiones permiten la transferencia lateral de sustancias entre haces conductores y tubos cribosos, lo que facilita el movimiento de un lado a otro de la planta. Normalmente, el transporte por las anastomosis es de pequeña cuantía, pero aumenta considerablemente cuando el transporte en sentido longitudinal es bloqueado por alguna circunstancia (p. ej., una lesión). Ello es esencial para la supervivencia de las monocotiledóneas perennes (palmas), que no presentan crecimiento secundario y en las cuales el sistema conductor permanece funcional durante varias decenas de años, pues permite paliar el bloqueo del transporte en una región del tallo.

Un hecho repetidamente observado y confirmado mediante la utilización de marcadores es que parte de los fotoasimilados producidos en las hojas de la región apical del

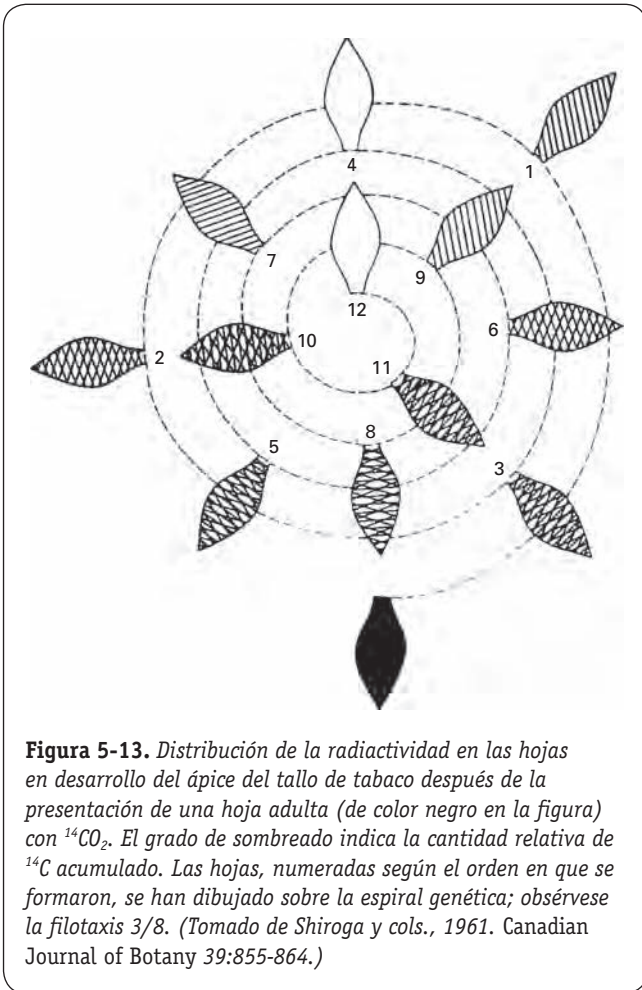


Figura 5-13. Distribución de la radiactividad en las hojas en desarrollo del ápice del tallo de tabaco después de la presentación de una hoja adulta (de color negro en la figura) con $^{14}\text{CO}_2$. El grado de sombreado indica la cantidad relativa de ^{14}C acumulado. Las hojas, numeradas según el orden en que se formaron, se han dibujado sobre la espiral genética; obsérvese la filotaxis 3/8. (Tomado de Shiroga y cols., 1961. Canadian Journal of Botany 39:855-864.)

tallo se transporta a la raíz, al mismo tiempo que desde las hojas más basales se exportan fotoasimilados hacia el ápice del tallo. En la región central del tallo se produce, por tanto, el movimiento simultáneo de sustancias en sentido opuesto (Fig. 5-14). Este **transporte bidireccional** ha sido muy estudiado en relación con el mecanismo de movimiento de las sustancias en los tubos cribosos, y actualmente se admite que tiene lugar por haces conductores o tubos cribosos diferentes, pero que en un tubo criboso todas las sustancias se mueven en el mismo sentido.

4.4. Los sumideros compiten por los fotoasimilados disponibles

La fotosíntesis impone un límite al desarrollo de la planta, y los sumideros compiten por una disponibilidad limitada, aunque no fija, de fotoasimilados. Una reducción en el número de sumideros aumenta el transporte de sustancias hacia los restantes, y es la base de prácticas hortícolas como el **aclareo** (la eliminación de parte de los frutos en desarrollo aumenta la velocidad de crecimiento y el tamaño final de los restantes) o el **despuntado** (al eliminar el ápice de los brotes, se reduce el consumo de metabolitos

en el desarrollo vegetativo, lo que favorece los procesos reproductivos, como el cuajado del fruto y la formación de semillas). Por el contrario, la eliminación de las flores y de los frutos en desarrollo aumenta la cantidad de metabolitos disponible para el desarrollo vegetativo de la planta y, de este modo, su velocidad de crecimiento y el porte de la misma.

La distribución de la materia seca (fundamentalmente de fotoasimilados) entre los distintos sumideros se denomina **partición**, parámetro de considerable importancia en la determinación de la productividad de las especies cultivadas. La mayor productividad de los cultivares más modernos se debe a un aumento en la proporción de fotoasimilados acumulados en las partes aprovechables, normalmente los frutos y las semillas, más que a un aumento en la fotosíntesis total de la planta, y este efecto es resultado de procesos de selección y mejora desarrollados mediante procedimientos empíricos. La comprensión de la regulación de la partición facilitaría, sin duda, el desarrollo de variedades más productivas.

La partición de metabolitos entre los distintos órganos depende, además de los factores de posición y distancia a las fuentes mencionadas anteriormente, de su **fuerza como sumidero**, que es la capacidad para atraer y acumular (o utilizar) metabolitos. No se conoce con precisión la naturaleza de los factores que determinan la fuerza de los sumideros, si bien hay pruebas de la implicación de factores anatómicos y metabólicos. Así, el tamaño final del fruto en el manzano está directamente relacionado con el número de células del fruto, factor éste que se determina durante las fases iniciales de su ontogenia. Por otro lado, mutantes de maíz que no sintetizan almidón en el endospermo tienen granos de menor tamaño que las líneas normales.

La fuerza que como sumidero tienen los órganos varía con el tiempo y es modificada, en ocasiones drásticamente, por la presencia de sumideros alternativos en la planta. A veces este efecto se debe a un fenómeno de competencia por los metabolitos disponibles, pero también hay mecanismos de regulación de naturaleza hormonal que permiten que un sumidero influya en otros y los controle. De este modo se explica la detención del crecimiento de la raíz en algunas especies, como el tomate y el pepino, cuando se inicia la fructificación.

Los sumideros también influyen en las fuentes: un aumento en la demanda de fotoasimilados aumenta la fotosíntesis en las hojas y la movilización de las reservas, mientras que la eliminación de los sumideros tiene el efecto contrario. El control de las fuentes por los sumideros implica distintas señales, tales como cambios en la turgencia, en los niveles de carbohidratos y en los de hormonas.

La partición de los fotoasimilados en la planta es un proceso regulado de modo complejo por la interacción entre sumideros, entre éstos y las fuentes y, probablemente, por la vía de transporte. Aunque se conoce la influencia de algunos factores en los procesos de carga y descarga, aún estamos lejos de comprender la regulación global de este proceso.

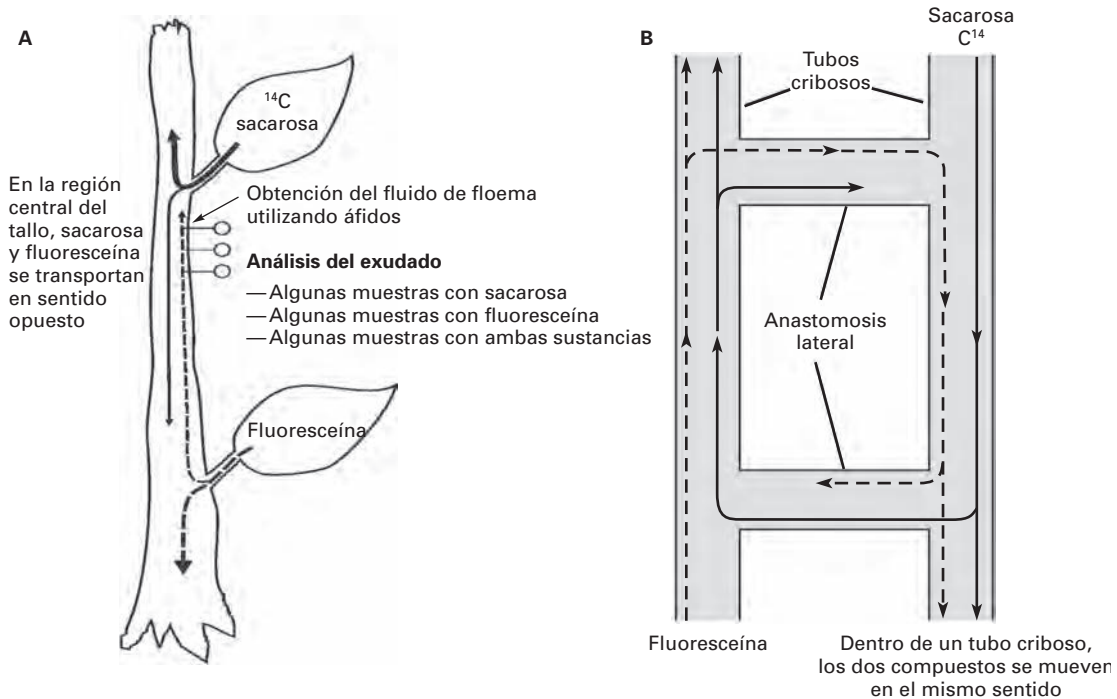


Figura 5-14. A. Dispositivo experimental para demostrar el transporte bidireccional en el floema. **B.** Explicación para la presencia simultánea de ambas sustancias en el exudado de un elemento criboso, compatible con el transporte unidireccional de todas las sustancias en él.

5. MECANISMO DE TRANSPORTE

El movimiento de fotoasimilados en la planta comprende tres procesos:

- En las fuentes, los azúcares se transportan del lugar de síntesis a las venas menores, donde se incorporan a los tubos cribosos, proceso que se denomina **carga del floema**. El transporte de los azúcares hasta el haz conductor es un proceso a corta distancia que, en las hojas, rara vez implica un recorrido superior a tres o cuatro veces el diámetro de las células (varias décimas de milímetro). En algunos órganos, este desplazamiento lateral puede ser de unos pocos centímetros.
- Los azúcares y las sustancias incorporadas al tubo criboso son exportados en su lumen hacia los sumideros. Este transporte es de larga distancia, en ocasiones de hasta varios metros.
- En los sumideros se produce la **descarga del floema**, proceso inverso al de carga, y las sustancias liberadas se incorporan a las células.

Estos procesos están relacionados de modo mecánico, pues la carga y la descarga de los tubos cribosos producen la fuerza para el movimiento del agua a larga distancia que tiene lugar en su lumen.

5.1. La carga de los tubos cribosos puede tener lugar desde el apoplasto o por vía simplástica

El movimiento de la sacarosa en las hojas, desde las células del mesófilo hasta el parénquima floemático, tiene lugar por los plasmodesmos a favor de un gradiente de concentración. El paso de este punto al interior del tubo criboso precisa un acoplamiento de energía, ya que en la mayor parte de las especies la concentración de los azúcares es mucho mayor en el tubo criboso que en las células del mesófilo. Esta incorporación puede tener lugar por los plasmodesmos, siguiendo la denominada **ruta simplástica** o, como alternativa, liberándose la sacarosa al apoplasto (paredes celulares), desde donde se incorpora al complejo tubo criboso-célula de compañía (**ruta apoplástica**). Como se señaló en el apartado 2.3, la ruta de incorporación está relacionada con la estructura de las células de compañía, con el aislamiento simplástico del complejo tubo criboso-célula de compañía y con la naturaleza de los azúcares transportados.

5.1.1. La carga apoplástica implica dos procesos de transporte a través de membranas

En la carga del floema por la ruta apoplástica, la molécula de sacarosa ha de atravesar el plasmalema en dos ocasiones:

al ser liberada al apoplasto y, de nuevo, al incorporarse al complejo tubo criboso-célula de compañía (Fig. 5-15).

No se conoce con precisión el lugar ni el modo de liberación de la sacarosa al apoplasto. Por razones anatómicas, es probable que tenga lugar en la inmediata vecindad de los tubos cribosos, desde las células de la vaina o del parénquima floemático, mediante un proceso de difusión facilitada estimulado por la presencia de K^+ en concentraciones relativamente bajas. Desde el apoplasto, la sacarosa se incorpora al complejo tubo criboso-célula de compañía mediante un cotransporte con protones. En este proceso, el movimiento de protones a favor de su gradiente de potencial químico proporciona la energía para el movimiento de la sacarosa contra su gradiente de concentración (al ser una molécula sin carga, el gradiente de potencial químico viene dado por el gradiente de concentración).

Diversas estrategias moleculares demuestran la presencia de varios cotransportadores H^+ -sacarosa en las venas menores de las hojas, donde tiene lugar la carga del floema. Estos transportadores se pueden agrupar en varias subfamilias, según sus características cinéticas. En la mayor parte de los casos la localización celular de estos transportadores se desconoce. En *Arabidopsis*, el transportador SUC2 se localiza específicamente en las células de compañía. En las solanáceas, un transportador de la misma subfamilia, SUT1, se encuentra en la membrana de los elementos cribosos, tanto en las hojas como en los sumideros y en la ruta de transporte. La expresión del gen *SUT1* tiene lugar en las células de compañía, y tanto su mRNA como la proteína pasan a los elementos cribosos por los plasmodesmos. Estos transportadores son miembros de la subfamilia de transportadores de alta afinidad, con un valor de K_m de entre 0.5-2 mM. Existen varios parálogos de estos transportadores que pueden localizarse en lugares distintos. Así, en *Plantago*, el transportador PmSUC2 está presente en las células de compañía, mientras que su parálogo PmSUC1 se localiza en los elementos cribosos.

Estos transportadores son esenciales para la carga de sacarosa, pues la represión de su síntesis mediante la inserción de DNA antisentido reduce el transporte de sacarosa y el crecimiento de la planta, y provoca la acumulación de almidón en las hojas. Su función la complementan los transportadores de la subfamilia SUT 4, de baja afinidad (valor de K_m próximo a 10 mM) y elevada capacidad, y que en las solanáceas se localiza, junto con el transportador SUT1, en los elementos cribosos, y los de la subfamilia SUT2/SUC3.

La energía para este transporte la proporcionan las bombas de protones, que son más abundantes en las membranas de las células de compañía que en los elementos cribosos. Estas últimas utilizan probablemente ATP sintetizado en las mitocondrias de las células de compañía y transportado por los plasmodesmos.

Diversas observaciones experimentales prueban que éste es el mecanismo probable de carga en especies como *Vicia faba*, *Beta vulgaris* y *Zea mays*, en las que el complejo tubo criboso-célula de compañía no posee conexiones simplásticas y transporta sacarosa. En estas especies:

- Se encuentra sacarosa en el apoplasto de las hojas.
- Cuando se añade sacarosa marcada al apoplasto de las hojas, este azúcar se incorpora a los tubos cribosos y se exporta desde las hojas, de modo similar a la sacarosa endógena.
- La aplicación de ácido paracloromercuribencenosulfónico (PCMBs), reactivo «no permeante» (y que, por tanto, no se incorpora al citoplasma) que bloquea el transporte de sacarosa a través de las membranas, inhibe el transporte desde las hojas tanto de la sacarosa endógena como de la aplicada exógenamente (Fig. 5-16).

Este comportamiento es compatible con la existencia de una etapa apoplástica en la carga del floema.

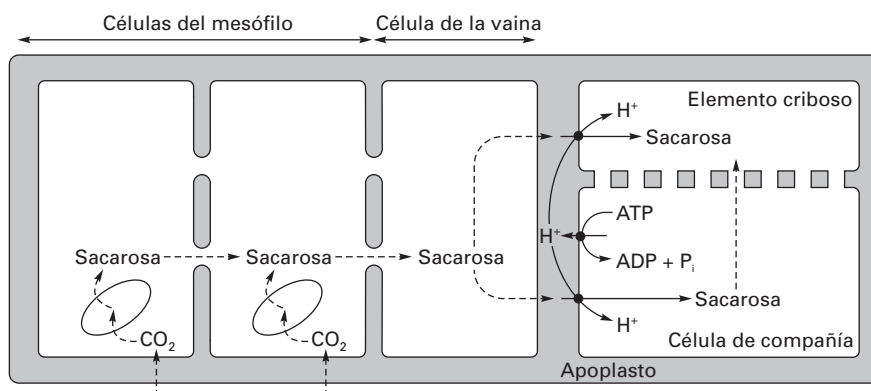


Figura 5-15. Modelo del mecanismo de carga apoplástica del floema. La sacarosa se difunde (línea de trazos) por el simplasto desde el mesófilo hasta las células de la vaina, donde se libera al apoplasto. Desde allí es incorporada al elemento criboso y la célula de compañía en contra de su gradiente de concentración mediante un cotransporte con protones. El gradiente de protones necesario es producido por una bomba de protones (ATPasa de membrana).

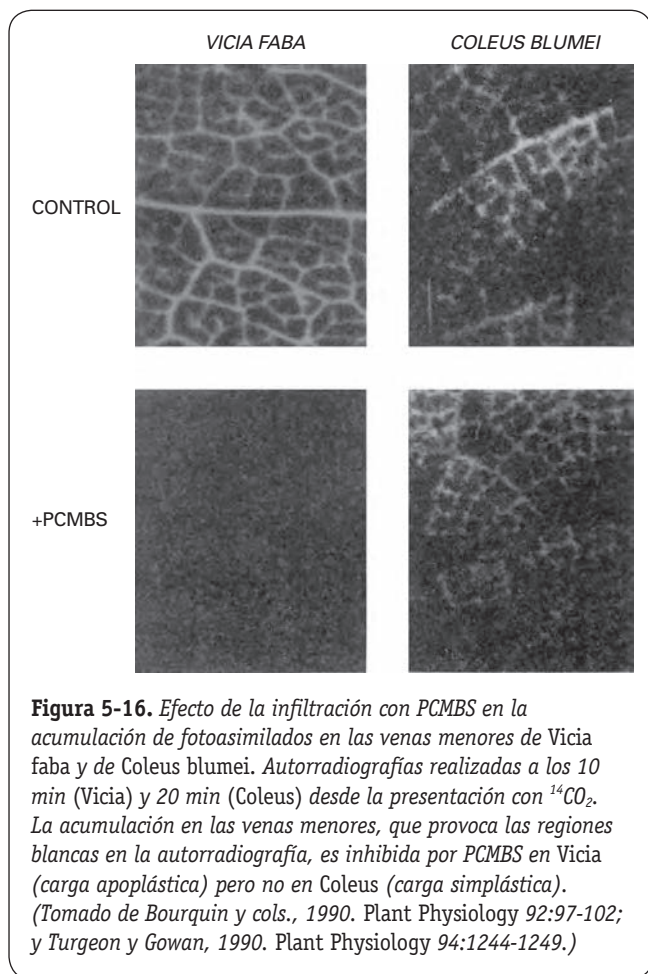


Figura 5-16. Efecto de la infiltración con PCMBs en la acumulación de fotoasimilados en las venas menores de *Vicia faba* y de *Coleus blumei*. Autorradiografías realizadas a los 10 min (*Vicia*) y 20 min (*Coleus*) desde la presentación con $^{14}\text{CO}_2$. La acumulación en las venas menores, que provoca las regiones blancas en la autorradiografía, es inhibida por PCMBs en *Vicia* (carga apoplástica) pero no en *Coleus* (carga simplástica). (Tomado de Bourquin y cols., 1990. *Plant Physiology* 92:97-102; y Turgeon y Gowan, 1990. *Plant Physiology* 94:1244-1249.)

5.1.2. En plantas con células intermediarias la carga es probablemente simplástica

En especies con células intermediarias como *Coleus blumei*, *Ipomea tricolor* y *Cucurbita pepo*, la incorporación de los fotoasimilados en las venas menores y la exportación desde las hojas es insensible a la aplicación del inhibidor PCMBs (véase la Fig. 5-16), lo que indica que los azúcares producidos en la fotosíntesis no se incorporan al tubo criboso desde el apoplasto. Dado que en estas especies las células intermediarias presentan numerosas conexiones citoplasmáticas con las células de la vaina, se supone que esta incorporación tendría lugar por los plasmodesmos en el simplasto.

No se conoce con certeza cómo se produce la incorporación de los azúcares en los tubos cribosos de estas plantas. En ellos se encuentra, junto a la sacarosa, una elevada proporción de azúcares de la serie de rafinosa. Se cree que la compartimentación de la síntesis de estas sustancias podría aportar energía para la carga de los azúcares en los tubos cribosos con una concentración mayor que la que presentan en las células del mesófilo. De acuerdo con el esquema de la Figura 5-17, la sacarosa, sintetizada en el mesófilo, se desplazaría por los plasmodesmos a favor del gradiente hasta las células intermediarias. En éstas, se utilizaría en la síntesis de rafinosa, estaquiosa y otros azúcares, de mayor peso mo-

lecular, que pasarían por los plasmodesmos al tubo criboso pero no podrían retornar al mesófilo, lo que requeriría que el límite de exclusión de los plasmodesmos entre las células de la vaina y las células intermediarias fuera inferior al valor normal (el límite de exclusión de los plasmodesmos es normalmente del orden de 1000 Da; el peso molecular de la rafinosa y la estaquiosa es de 504 y 666 Da, respectivamente).

Según este esquema (varios de cuyos aspectos aún no han sido confirmados experimentalmente), la síntesis de oligosacáridos mantendría el gradiente de difusión necesario para el transporte de sacarosa y de otros precursores. El mecanismo de trampa molecular descrito provocaría la acumulación de azúcares y generaría la turgencia necesaria para el transporte en el tubo criboso.

5.2. No existe un único mecanismo de descarga

Los fotoasimilados transportados en los tubos cribosos se descargan en los sumideros, donde se incorporan en las células. Los sumideros son de naturaleza muy variada, pues incluyen órganos vegetativos en crecimiento (ápices del tallo y raíz, hojas en desarrollo), órganos de almacenamiento y órganos reproductores (frutos y semillas). Esta variabilidad funcional va acompañada de notables diferencias en la estructura de los tejidos, en los puntos de descarga y en el grado de conexión plasmodésmica con las células de transporte.

Al igual que en el proceso de carga, estas diferencias estructurales determinan la existencia de distintos mecanismos de descarga (Fig. 5-18).

5.2.1. La descarga en los órganos vegetativos es simplástica

En los órganos vegetativos en crecimiento, el floema primario, en diferenciación continua, presenta numerosas conexiones plasmodésmicas con las células indiferenciadas del procám-bium y las del parénquima vecino. La descarga de los fotoasimilados es predominantemente simplástica, moviéndose la sacarosa a favor de un gradiente de concentración mantenido merced a su utilización en la respiración y en la síntesis de componentes estructurales de las células en crecimiento.

Este tipo de descarga se da en el ápice del tallo y en la raíz, así como en la mayor parte de las hojas en desarrollo. Los plasmodesmos de la zona de descarga tienen mayor conductancia y un **límite de exclusión molecular** más elevado que los plasmodesmos de otros tejidos de la planta. Este parámetro alcanza, en ocasiones, un valor de 10-20 kDa, lo que permite el paso de moléculas de proteína de pequeño tamaño.

5.2.2. En algunos órganos de reserva la descarga es apoplástica

En el parénquima de reserva del tallo de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) y de la raíz de la remolacha azucarera

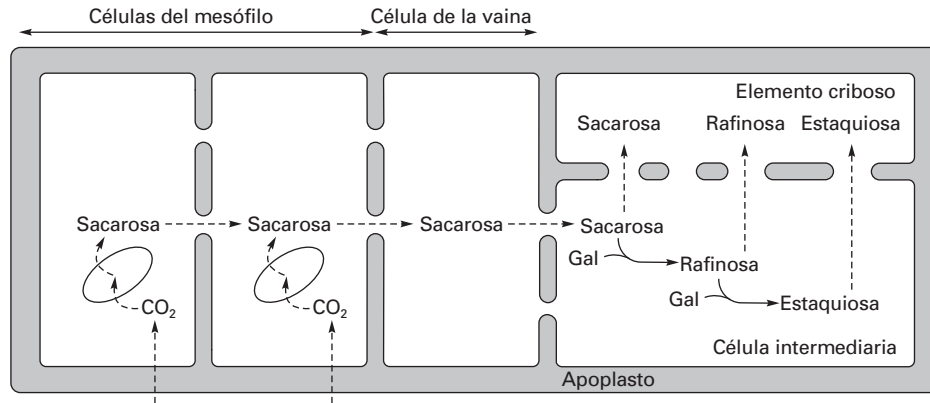


Figura 5-17. Modelo del mecanismo de carga simplástica del floema. La sacarosa se mueve por difusión (línea de trazos) hasta la célula intermediaria, donde se utiliza en la síntesis de rafinosa, estaquiosa, etc., manteniéndose de este modo el gradiente de concentración necesario para su movimiento. Los azúcares sintetizados (y también la sacarosa) pasan al elemento criboso, pero no se difunden hacia la vaina porque el canal de estos plasmodesmos es demasiado estrecho.

(*Beta vulgaris*), la sacarosa se libera al apoplasto desde el complejo tubo criboso-célula de compañía. En la raíz de la remolacha, esta sacarosa se acumula en las células del parénquima, manteniéndose así el gradiente de concentración necesario para su descarga continuada. En el tallo de la caña de azúcar, la sacarosa liberada al apoplasto es hidrolizada por una invertasa de pared, lo que mantiene el gradiente necesario para su descarga. La glucosa y la fructosa se incorporan a las células del parénquima, donde se utilizan en la síntesis de sacarosa, que se almacena en las vacuolas de estas células.

5.2.3. En las semillas en desarrollo la descarga es simplástica, y va seguida de una etapa apoplástica

La descarga de los tubos cribosos en los frutos y en las cubiertas seminales tiene lugar en el simplasto. En algunos frutos, los azúcares liberados pueden ser transportados por el simplasto a lo largo de varias filas de células, a una distancia de hasta varios centímetros, hasta su acumulación en las vacuolas de tejidos especializados.

La mayor parte de los azúcares descargados en las cubiertas seminales se utiliza en el desarrollo del embrión. Éste no tiene conexiones plasmodémicas con los tejidos maternos, por lo que los azúcares, después de un transporte simplástico en las cubiertas, son liberados al apoplasto en la cavidad seminal, de donde los toman las células del embrión o del endospermo. La eliminación quirúrgica del embrión permite recuperar las sustancias liberadas y estudiar el proceso de liberación.

Aunque en un sentido estricto no se estudia la descarga de los tubos cribosos, esta técnica, denominada de la **cubierta seminal vacía** (*empty ovule technique*), ha permitido determinar con precisión las características del transporte a los embriones en desarrollo. De este modo, se ha probado que, en la soja y en el haba, la sacarosa se libera al apoplasto mediante un proceso mediado por un transportador y dependiente de la energía metabólica. En el maíz, por el contrario, se liberan hexosas por un proceso pasivo. En ambos casos, la incorporación a las células del embrión es un proceso activo.

Una etapa simplástica en la descarga se encuentra, además de en la interfase entre generaciones durante la formación de las semillas que hemos citado, en los intercambios con las plantas que parasitan el floema y entre los componentes de las asociaciones mutualísticas.

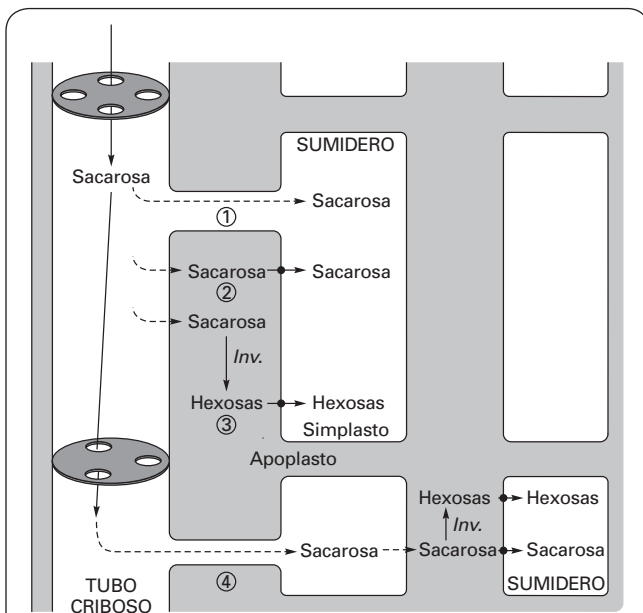


Figura 5-18. Tipos de descarga en los sumideros: 1) descarga simplástica; 2) descarga apoplástica; 3) descarga apoplástica con hidrólisis por la invertasa de pared (Inv.); 4) descarga simplástica seguida de liberación al apoplasto.

5.3. El movimiento en los tubos cribosos es un flujo másico provocado por un gradiente de presión

Los solutos se mueven a lo largo del tubo criboso como consecuencia de un flujo másico provocado por diferencias de presión hidrostática (turgencia) entre los extremos del tubo en las fuentes y los sumideros. Los aspectos más destacados del mecanismo de transporte se presentan en la Figura 5-19.

La elevada concentración osmótica en el interior de los tubos cribosos, debida a la acumulación de azúcares, provoca la entrada de agua, y como consecuencia de ello se produce una reacción elástica de las paredes que ejerce una presión sobre el contenido del tubo criboso. Esta presión es mayor en las fuentes que en los sumideros debido a la mayor concentración de solutos en aquéllas, y la diferencia

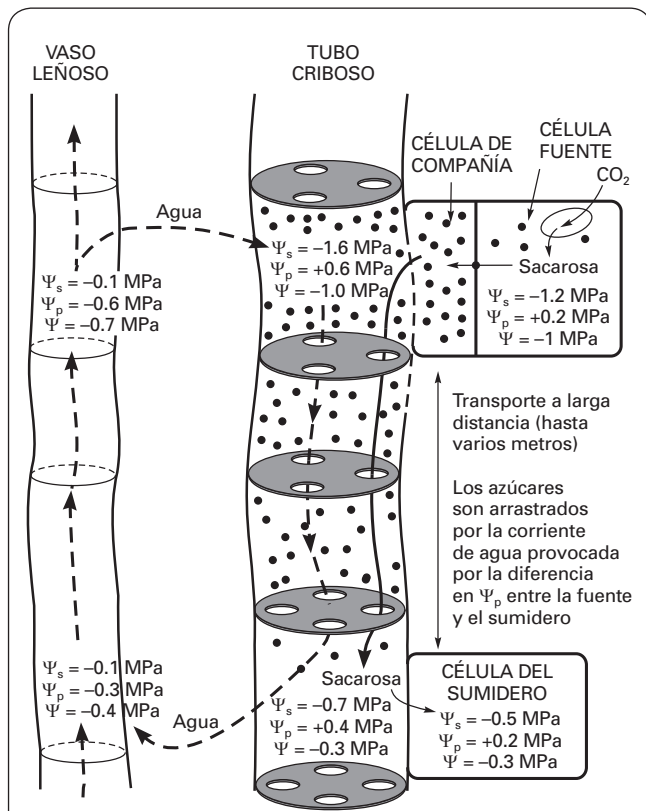


Figura 5-19. Diagrama esquemático de transporte en los tubos cribosos. La acumulación de azúcares (sacarosa) en las fuentes provoca la acumulación de agua por un proceso osmótico y el aumento de la presión de turgencia. La presión disminuye en los sumideros debido a la salida de los azúcares, a la que acompaña de la salida de agua. La diferencia de presión provoca el movimiento del agua de la fuente al sumidero, y los azúcares son arrastrados pasivamente por el agua. El agua transportada en los tubos cribosos se recicla en el xilema. Los intercambios entre el floema y el xilema están regulados por las diferencias de potencial hídrico; en las fuentes, el potencial hídrico es mayor en los vasos leñosos que en los tubos cribosos, mientras que en los sumideros ocurre lo contrario.

de presión así generada provoca el movimiento del agua y el arrastre de solutos. De este modo, el agua se incorpora a los tubos cribosos en las fuentes y sale de ellos en los sumideros, y el movimiento del agua se mantiene en tanto lo hace la diferencia de presiones, que a su vez depende de la diferencia de concentración. Ésta es mantenida merced a la incorporación continuada de solutos en las fuentes y su descarga en los sumideros. La interrupción de la carga o la descarga conduce, en un lapso de tiempo breve, a que se igualen las concentraciones y a la detención del transporte.

El movimiento de los solutos en el tubo criboso es, por tanto, un proceso pasivo que no requiere el aporte directo de energía metabólica. El transporte es «energizado» por la incorporación de azúcares en el tubo criboso; un mismo mecanismo de acumulación proporciona la energía para la incorporación de azúcares contra gradiente, y genera la presión que provoca su movimiento longitudinal por un flujo másico. De acuerdo con esta idea, se observa que en las plantas que toleran bajas temperaturas, la aplicación local de frío ($1-2$ °C) a un segmento corto del tallo o el pecíolo no altera el transporte. No obstante, cierta energía se utiliza a lo largo de la ruta de transporte para el mantenimiento de los tubos cribosos y, fundamentalmente, en la recuperación de los azúcares perdidos por difusión. En *Phaseolus* se ha comprobado que por cada centímetro de recorrido en el tallo se pierde el 6% de los azúcares transportados, recuperándose cerca del 70% de esta cantidad gracias a la acción de los transportadores de sacarosa del complejo TC/CC. El resto del azúcar, no recuperado, se utiliza en la nutrición de las células del tallo. El casi total aislamiento del complejo TC/CC en el tallo, y la presencia de transportadores de sacarosa, son congruentes con este comportamiento.

El agua transportada recircula en el xilema. En las fuentes, el potencial hídrico (véase el Capítulo 2) en los tubos cribosos es muy bajo debido a la elevada concentración osmótica, lo que le permite tomar agua del xilema. La salida de solutos en los sumideros aumenta el potencial hídrico en los tubos cribosos, y ello permite ceder agua al xilema. En todo caso, la elevada concentración osmótica en el tubo criboso mantiene en todos los puntos del recorrido una presión hidrostática positiva, que se mantiene incluso cuando la planta tiene un déficit hídrico muy acusado y las hojas están marchitas (Fig. 5-9).

Este mecanismo de transporte, propuesto inicialmente por Munch en 1930, se ha cuestionado a menudo por diversas razones (todavía en textos recientes se cita como **hipótesis de Munch**), pero tanto las observaciones experimentales como los análisis teóricos son congruentes con este mecanismo de transporte, que hoy es generalmente aceptado. Los cálculos teóricos, a partir de los valores del potencial hídrico y del potencial osmótico, así como las medidas experimentales directas utilizando micromanómetros conectados al estilete de los áfidos insertados en los tubos cribosos, indican que el gradiente de presión en su interior oscila entre 0.02 y 2.0 MPa \cdot m $^{-1}$. Estos gradientes son suficientes para el movimiento de la solución a una velocidad de entre 25 y 300 cm \cdot h $^{-1}$, valor encontrado en la mayor parte de las determinaciones experimentales (Cuadro 5-2).

CUADRO 5-2. Velocidades determinadas experimentalmente para el transporte de solutos en el floema. (Extractado de datos recopilados por Crafts y Crisp, 1971. *Phloem Transport in Plants*. San Francisco, California, WH Freeman.)

Especie	Velocidad (cm h ⁻¹)
<i>Salix</i> sp.	1.5-100
<i>Glycine max</i>	17-7200*
<i>Cucurbita pepo</i>	30-88
<i>Gossypium hirsutum</i>	35-40
<i>Heracleum mantegazzianum</i>	35-70
<i>Triticum aestivum</i> (hoja)	39-57
<i>Metasequoia glyptostroboides</i>	48-60
<i>Beta vulgaris</i>	50-135
<i>Phaseolus vulgaris</i>	60-80
<i>Saccharum officinarum</i>	60-360
<i>Triticum aestivum</i> (tallo)	87-190
<i>Cucurbita</i> sp.	88-300

* La cifra de 7200 cm h⁻¹ no corresponde probablemente a transporte en el floema.

Para ello es necesario que los poros de las placas cribosas estén abiertos, como lo confirman las preparaciones cuando la fijación se realiza adecuadamente (Fig. 5-3). De acuerdo con el modelo, no es posible el movimiento bidireccional en el lumen de un tubo criboso; su existencia, por otro lado, no ha sido probada en ningún caso de modo inequívoco. Todos los solutos se mueven a la misma velocidad en el sentido marcado por el gradiente de concentraciones, determinado fundamentalmente por los azúcares.

6. LONGEVIDAD E INACTIVACIÓN DE LOS TUBOS CRIBOSOS

6.1. La longevidad de los tubos cribosos oscila entre unos pocos días y varios años

En la mayor parte de las plantas, la vida de los tubos cribosos es muy corta; los elementos del protofloema son funcionales unos días o unas pocas semanas, mientras que los del metafloema y el floema secundario lo son durante unos pocos meses. La detención del transporte en el tubo criboso va acompañada de la incorporación de calosa y la desaparición del plasmalema y del contenido citoplasmático; finalmente, las paredes celulares son aplastadas como consecuencia de las presiones ejercidas por el crecimiento. En las plantas perennes, el transporte se mantiene gracias a la diferenciación continua de nuevos tubos cribosos debido a la actividad del cámbium. Esta renovación continua de los elementos conductores impide, por otra parte, la reducción progresiva de la capacidad del sistema de transporte, que se produciría

si aquélla no tuviera lugar, ya que estas células son incapaces de repararse y cualquier agresión que sufran provoca su muerte y la inactivación funcional de la región del tubo criboso afectada.

En algunas especies, no obstante, los tubos cribosos permanecen funcionales durante varios años. Ejemplos de longevidad prolongada se encuentran en el floema secundario de algunas gimnospermas y dicotiledóneas, como *Vitis* y *Tilia*. En *Vitis*, al cesar el transporte en el otoño, las placas cribosas se cubren de calosa, que se moviliza al inicio de la primavera al reanudarse el transporte.

Es notable al respecto el caso de algunas palmas en las que los tubos cribosos permanecen funcionales durante decenas de años. Debido a la ausencia de actividad del cámbium, en estas plantas no hay sustitución de los elementos conductores, y cualquier agresión se traduce en una inactivación irreversible de los elementos afectados. Esta situación es compensada por el elevado número de elementos conductores y por su distribución a lo largo de toda la sección del tallo. Dichos elementos están profundamente interconectados, de modo que en caso de lesión local el transporte se deriva hacia los elementos más próximos, bordeando la región lesionada.

6.2. La inactivación de los tubos cribosos reduce las pérdidas cuando existe una lesión

El contenido de los tubos cribosos se encuentra sometido a presión, por lo que cualquier lesión provoca su extravasación. Si ésta fuera prolongada, representaría una pérdida insostenible para la planta, pero a excepción de algunos casos notables, normalmente cesa al cabo de unos pocos minutos. Aun en muchas especies de dicotiledóneas, la exudación es inapreciable, por lo que no es posible obtener fluido del floema por este procedimiento.

La detención de la exudación se debe a la existencia de un mecanismo muy eficaz de **taponamiento** de las placas cribosas, que dificulta gradualmente y acaba imposibilitando el transporte a través de las más próximas a la lesión. Dos factores contribuyen al taponamiento de los poros. Inicialmente, la **proteína floemática** se moviliza como consecuencia del flujo asociado a la liberación instantánea de la presión en la lesión, desplazándose hacia ésta y acumulándose en el lumen y alrededor de los poros. A ello le sigue, en ocasiones de inmediato, el **depósito de calosa**, que contribuye al sellado definitivo y permanente de las placas cribosas.

Como la acumulación de proteína floemática en los poros depende del aumento brusco de flujo provocado por la liberación de presión, resulta comprensible que este mecanismo de taponamiento no sea desencadenado por los áfidos, ya que éstos apenas alteran el flujo en el tubo criboso. Tampoco en este caso se deposita calosa, lo que permite obtener exudado de los estiletes durante varios días. Estas observaciones parecen indicar que el depósito de calosa es desencadenado por la liberación de la presión.

7. EL FLOEMA Y LA SEÑALIZACIÓN EN LAS PLANTAS

La presencia de hormonas en el fluido del floema se conoce desde antiguo, y se ha considerado como un sistema de señalización entre distintos órganos de la planta. La demostración de la presencia y el transporte de proteínas y de RNAs de distintos tipos en los tubos cribosos, así como de su descarga en los sumideros, invita a pensar que actúan como un sistema adicional de señalización, más específico, que coordina el desarrollo de las plantas e integra la respuesta a los factores ambientales. Este tipo de regulación se ha demostrado en el control de la floración (véase el Capítulo 25) por el fotoperíodo en *Arabidopsis*. En un régimen de días largos se expresa el gen *CONSTANTS (CO)*, que codifica un factor de transcripción que controla la expresión del gen *FLOWERING LOCUS T (FT)*, que a su vez codifica una proteína inhibidora de quinasas del tipo Raf-1. Este proceso conduce finalmente a la expresión del gen *LEAFY*, de identidad del meristemo floral, y la floración. Los genes *CO* y *FT* se expresan en los tejidos conductores, en

particular en las células de compañía, y no en los meristemos. En *Arabidopsis*, la activación del gen *FT* de modo específico en una hoja que actúa como fuente, provoca la incorporación de la proteína FT y de su mRNA en los tubos cribosos, y su acumulación en los meristemos, desencadenando la floración. Así pues, es probable que el gen FT y su mRNA sean componentes de la llamada **hormona floracional**, cuya caracterización química no se ha establecido a pesar de los numerosos intentos de identificación que se han llevado a cabo (Takada y Goto, *Plant Cell* 15:2856-2865, 2003; Huang y cols., *Science* 309:1694-1696, 2005). Estudios más recientes realizados en el arroz y en *Arabidopsis* sugieren que el factor regulador sería la proteína (Pennisi, *Science* 316:350-351, 2007).

En la señalización de otros procesos del metabolismo y del desarrollo están implicados los micro-RNAs. Entre ellos se ha señalado el silenciamiento postranscripcional de algunos genes, proceso que implica la degradación de RNAs específicos y está relacionado con la defensa frente a patógenos, y la adquisición de nutrientes por la planta (Yoo y cols., *Plant Cell* 16:1979-2000, 2004).



RESUMEN

- El floema es un sistema conductor continuo, estrechamente interconectado, constituido por células vivas, que se extiende por todos los órganos de la planta y hasta unas pocas células de distancia del extremo del ápice del tallo y de la raíz.
- En el floema de las angiospermas, el canal de transporte es el **tubo criboso**, serie longitudinal de células (elementos de los tubos) con las paredes terminales modificadas en forma de placas cribosas, con perforaciones de un diámetro considerablemente mayor que los plasmodesmos.
- En las gimnospermas, los elementos conductores son las **células cribosas**. A diferencia de los tubos cribosos, estas células no están alineadas en filas longitudinales, y se encuentran interconectadas mediante áreas cribosas normalmente ubicadas en las paredes laterales.
- El transporte tiene lugar desde las zonas productoras de carbohidratos (fuentes) hasta las zonas de acumulación (sumideros).
- La incorporación en la fuente implica el transporte lateral (desde los cloroplastos de la hojas) hasta el haz vascular, y su ingreso en las células o los tubos cribosos mediante un proceso activo y selectivo.
- La acumulación de solutos en el interior del tubo criboso provoca el descenso del potencial hídrico y la entrada pasiva de agua, que dilata las paredes, generándose así una presión que impulsa la solución.
- El contenido del tubo criboso se mueve a lo largo de éste por un proceso de flujo másico (movimiento de la solución) a favor de un gradiente de presión generado por diferencias de concentración. La descarga de los solutos en los sumideros mantiene este gradiente de concentración y determina la dirección del transporte en la planta.
- Además de su función en la distribución de nutrientes orgánicos y minerales, el floema distribuye por la planta moléculas reguladoras y de información. Estas moléculas originan procesos de diferenciación en los tejidos diana, y afectan al metabolismo y al destino (*allocation*) de los nutrientes.



PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1 ¿Qué características determinan que un órgano se comporte como fuente o como sumidero?
- 2 El fluido del floema se mueve en el lumen de los tubos cribosos impulsado por la presión generada en

las fuentes, de modo similar a como lo hace el agua en las tuberías de nuestras casas. Para que suba hasta las viviendas, es necesario aplicar energía mediante el uso de bombas que generan la presión necesaria. ¿Cómo se aplica la energía en el caso del

PROBLEMAS Y CUESTIONES (Cont.)



transporte en el floema? (Considere por separado la situación en los procesos de carga apoplástica y simplástica.)

- 3 En el caso de que se produzca una reducción transitoria en el contenido en azúcares de un órgano que actúa como fuente (p. ej., al sombrear una hoja adulta), ¿se convierte en sumidero?
- 4 Un órgano que exporta carbohidratos y, por tanto, se comporta como fuente, ¿exporta también otras sustancias (p. ej., elementos minerales)?

RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES



- 1 En las fuentes se sintetizan los azúcares de transporte, que se incorporan en los elementos cribosos. En los sumideros, los azúcares de transporte salen de los elementos cribosos. De este modo, se mantiene en el interior de los tubos cribosos el gradiente de concentración que impulsa la solución de las fuentes a los sumideros. La salida continuada de los azúcares de transporte en los sumideros depende de su utilización o su acumulación en las vacuolas. En este último caso, la concentración de azúcares en algunas células de los sumideros llega a ser mayor que en las fuentes e incluso que en el fluido de floema; pero, al encontrarse compartimentados tras una membrana, no impiden la descarga.
- 2 La presión en los tubos cribosos se genera por un fenómeno osmótico, consecuencia de la acumulación de solutos (azúcares). La energía se aplica en el proceso de acumulación de los azúcares: en el caso de la carga apoplástica, mediante el cotransporte de sacarosa con protones, a favor del gradiente de potencial de éstos generado por una ATPasa de membrana; en la carga simplástica, mediante la reacción de síntesis de rafinosa y otros oligosacáridos en las células de transferencia, reacción que incorpora moléculas de galactosa «energizadas» a las moléculas de sacarosa que se difunden por los plasmodesmos desde las células del parénquima clorofílico.
- 3 La disminución del contenido de azúcares en un órgano fuente reduce el transporte desde dicho órgano, pero normalmente no lo convierte en sumidero. La transición de fuente a sumidero que se produce durante el desarrollo de las hojas implica cambios metabólicos y estructurales que, en la mayor parte de los casos, impiden que importen azúcares desde otros órganos (un caso singular es el de las hojas albinas de plantas con carga simplástica del floema).
- 4 Esta situación normalmente se da para aquellos elementos minerales que se transportan en los tubos cribosos, como el nitrógeno (en forma de aminoácidos), el fósforo (como fosfato) y el potasio (K). De este modo, las cantidades que se incorporan a las hojas adultas con la corriente transpiratoria por el xilema se reexportan por el floema, junto con los azúcares, hacia los órganos en crecimiento o de almacenamiento. Este transporte no se da con aquellos elementos minerales que, como el calcio o el boro, no son transportados en el floema. Por esta razón, el contenido de estos elementos en las hojas aumenta con la edad.

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA



- Baker DA, Milburn JA (eds.). *Transport of Photoassimilates*. Essex, Longman, 1989.
- Behnke HD, Sjolund RE (eds.). *Sieve Elements. Comparative Structure, Induction and Development*. Berlín, Springer Verlag, 1990.
- Behnke HD. Non dispersive protein bodies in sieve elements: a survey and review of their origin, distribution and taxonomic significance. *International Association of Wood Anatomists Bulletin* 1991; 12:143-175.
- Dunford S. Translocation in the phloem. En: Taiz L, Zeiger E. (eds.) *Plant Physiology* (3rd Edition). Sunderland (Massachusetts), Sinauer Associates, 2002; 193-219.
- Fisher DB. Long-distance transport. En: Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL (eds.) *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Rockville, Maryland, American Society of Plant Biologists, 2000; 730-784.
- Gamalei YV. Structure and function of leaf minor veins in trees and herbs. *Trees* 1991; 5:50-64.

**BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA (Cont.)**

7. Hall JL, Baker DA, Oparka KL. Transport of photoassimilates. *Journal of Experimental Botany*, 1996; 47, *Special Issue*, 1119-1333.
8. Lalonde S, Wipf D, Frommer WF. Transport mechanisms for organic forms of carbon and nitrogen between source and sink. *Annual Review of Plant Biology* 2004; 55:341-372.
9. Lough TJ, Lucas WJ. Integrative plant biology: role of phloem long-distance macromolecular trafficking. *Annual Review of Plant Biology*, 2006; 57:203-252.
10. Oparka KJ, Santa Cruz S. The great escape: phloem transport and unloading of macromolecules. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 2000; 51:323-347.
11. Patrick JW. Phloem unloading: sieve element unloading and post-sieve element transport. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 1997; 48:191-222.
12. Turgeon R, Medville R, Nixon KC. The evolution of minor vein phloem and phloem loading. *American Journal of Botany* 2001; 88:1331-1339.
13. Van Bel AJE. The phloem, a miracle of ingenuity. *Plant, Cell and Environment* 2003; 26:125-149.
14. Van Bel AJE, Knoblauch M. Sieve element and companion cell: the history of the comatose patient and the hyperactive nurse. *Australian Journal of Plant Physiology* 2000; 27:477-487.
15. Zamski E, Schaffer AA. *Photoassimilate Distribution in Plants and Crops. Source-sink Relationships*. New York, Marcel Dekker, 1996.

6

Introducción a la nutrición mineral de las plantas. Los elementos minerales

ILDEFONSO BONILLA



1. Introducción. 2. Soluciones nutritivas. 3. Elementos esenciales. 4. Elementos beneficiosos. 5. Otros elementos.

1. INTRODUCCIÓN

Los nutrientes de las plantas se clasifican en dos grandes grupos: orgánicos e inorgánicos. Los primeros representan entre el 90 y el 95% del peso seco de las plantas y están constituidos por los elementos carbono, oxígeno e hidrógeno, obtenidos a partir del CO₂ de la atmósfera (véase el Capítulo 11) y del agua del suelo (véase el Capítulo 4). El 5-10% restante constituye la denominada fracción mineral, que será estudiada en este capítulo y en los dos siguientes: en ellos destacaremos, en primer lugar, el papel de los elementos minerales en el metabolismo de las plantas y la razón de su esencialidad (Capítulo 6); su absorción, asimilación y transporte (Capítulo 7); y, por último, su relación con la producción agrícola, así como los síntomas y el diagnóstico de las alteraciones nutricionales (Capítulo 8). Evidentemente, el interés por la nutrición mineral de las plantas está muy relacionado con este último aspecto, y desde mediados del siglo pasado ha orientado los estudios en este campo, que han sentado las bases del conocimiento sobre la nutrición mineral de las plantas.

El efecto benéfico que sobre el crecimiento de las plantas produce la adición al suelo de elementos minerales, como cenizas de plantas o cal, así como el efecto tóxico de productos como la sal sobre los mismos cultivos, se conocen en la agricultura desde hace más de 2000 años. Sin embargo, hasta hace 150 años la función de los elementos minerales como nutrientes en el crecimiento de las plantas todavía era motivo de controversia científica. A finales del siglo XVIII, De Saussure (1767-1845), que estudió tanto la fotosíntesis

como la absorción de nutrientes, introdujo nuevas técnicas y métodos muy cuidadosos que lo convirtieron en uno de los pioneros en el análisis de los elementos de las plantas; a él se debe la idea de que algunos de estos elementos, pero no necesariamente todos, pueden ser indispensables. Surgió así el concepto de **elemento esencial** para el crecimiento de las plantas.

En la misma época, S. Sprengel (1787-1859), en Alemania, enunció la hipótesis de que un suelo podía ser improductivo, desde el punto de vista agrícola, por la ausencia exclusivamente de un elemento esencial, convirtiéndose así en el precursor de la ley del mínimo. Por los mismos años, el químico y agrónomo francés J. B. Boussingault estudiaba la relación entre la fertilización de los suelos, la absorción de nutrientes y el rendimiento de los cultivos. Boussingault, además, descubrió que las legumbres tienen la capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico, hecho corroborado después por la identificación de las bacterias fijadoras en los nódulos de las raíces de estas plantas (véanse los Capítulos 8 y 16). Pero hasta mediados del siglo XIX no empezó a configurarse una visión armónica de los problemas nutricionales de las plantas. En esa época surgieron figuras como Justus von Liebig (1803-1873), que enunció nuevamente la ley del mínimo (por lo que muchos le atribuyen su autoría) y J. Sachs, famoso botánico alemán que, en 1880, demostró por primera vez que las plantas podían crecer y desarrollarse en soluciones nutritivas totalmente carentes de suelo, lo que dio origen a una línea de investigación aún hoy vigente sobre el estudio de las necesidades de nutrientes: los cultivos hidropónicos. Sin embargo, la consagración de la nutrición

mineral de las plantas como disciplina científica se debe, sobre todo, al trabajo de recopilación y organización de Von Liebig, que reunió y estructuró toda la información existente en su época. También fue decisiva la contribución de Von Liebig al abandono definitivo de la teoría aristotélica del humus (1848). Este hecho condujo a un rápido aumento en el uso de fertilizantes minerales. A fines del siglo XIX, especialmente en Europa, se usaban en agricultura y horticultura grandes cantidades de potasa, superfosfato y, posteriormente, nitrógeno inorgánico, con el fin de mejorar el crecimiento y la productividad de los cultivos.

Von Liebig llegó a la conclusión de que los elementos minerales, como N, P, K, Ca, Mg, Si, Na y Fe, eran absolutamente indispensables para el crecimiento de las plantas; sin embargo, esa conclusión surgió más de la observación y la especulación que de la precisión de los experimentos realizados. El hecho de que la «teoría de los elementos minerales» estuviese basada en tan precarios cimientos fue una de las razones de que, a fines del siglo XIX, se acometieran otros muchos estudios. A partir de ellos y de otras extensas investigaciones sobre la composición mineral de diversas especies de plantas crecidas en diferentes suelos, se llegó a la conclusión, a principios del siglo XX, de que **ni la presencia ni la concentración de un elemento mineral son criterios para establecer su esencialidad**. Las plantas tienen una capacidad limitada para la absorción selectiva de minerales que no son necesarios para su crecimiento y que pueden llegar a ser tóxicos. En consecuencia, la composición mineral de los diferentes suelos en que crecen las plantas no permite establecer si un elemento mineral es esencial o no. Partiendo de esta premisa, se realizaron experimentos en agua y arena suprimiendo determinados elementos minerales. Mediante técnicas sencillas fue posible caracterizar de forma más precisa los elementos minerales esenciales y comprender mejor su papel en el metabolismo de las plantas.

El avance en estas investigaciones estuvo, y está, estrechamente relacionado con el desarrollo de la química analítica, particularmente con la purificación de los reactivos químicos y de los métodos de medida. Esta relación se refleja fielmente en la cronología de los descubrimientos sobre el carácter esencial de los distintos micronutrientes a lo largo de la primera mitad del siglo XX, en comparación con el estudio aislado del Fe en el siglo anterior.

El término **elemento mineral esencial** (que en este capítulo también denominaremos **nutriente mineral**, aunque, en sentido estricto, un nutriente es la forma química del elemento mineral esencial en que es disponible para la planta u organismo vegetal) fue propuesto por Arnon y Stout (1934). Estos investigadores sostenían que para que un elemento pudiera ser considerado esencial debía cumplir estos tres criterios:

1. En ausencia del elemento mineral considerado, la planta es incapaz de completar su ciclo vital.
2. La función que realiza dicho elemento no puede ser desempeñada por ningún otro mineral de reemplazo o de sustitución.
3. El elemento debe estar directamente implicado en el metabolismo –por ejemplo, como componente de una molécula esencial de la planta–, o ser necesario en una fase metabólica precisa, como, por ejemplo, una reacción enzimática.

Según esta estricta definición, los elementos minerales que compensen los efectos tóxicos de otros elementos o los que simplemente reemplacen a los nutrientes minerales en algunas de sus funciones específicas menores, tales como el mantenimiento de la presión osmótica, no son esenciales, aunque pueden ser considerados **elementos beneficiosos** (véase el apartado 4).

Todavía hoy es difícil establecer qué elementos son esenciales para el crecimiento normal de las plantas. Esto se hace particularmente evidente cuando comparamos las necesidades de las plantas superiores y las de otros organismos fotosintéticos, como las algas, o no fotosintéticos, como los hongos. En las plantas superiores está bien establecido que existen 17 elementos minerales esenciales, aunque el níquel sólo lo es en un número limitado de plantas. También el sodio y el silicio, muy abundantes en la biosfera, se comportan como esenciales para algunas especies de plantas (Cuadro 6-1).

Dadas las continuas mejoras en las técnicas analíticas y en la purificación de los compuestos químicos, esta relación bien podría ampliarse en el futuro e incluir a elementos minerales hoy no reconocidos como esenciales, pero que podrían serlo en muy bajas concentraciones, como es el caso de los **micronutrientes**. La mayor parte de estos micronutrientes son constituyentes enzimáticos y, en consecuencia, sólo son necesarios en cantidades muy pequeñas. En cambio, los denominados **macronutrientes** son elementos constituyentes de las biomoléculas estructurales, tales como proteínas, lípidos o carbohidratos, o actúan como osmolitos. Estas diferencias en su función quedan reflejadas en las distintas concentraciones medias que estos nutrientes presentan en los análisis de mineralización de un determinado vegetal (Cuadro 6-2) para conseguir su crecimiento adecuado (véase el Capítulo 8). Tales valores pueden variar considerablemente dependiendo de la especie, la edad de la planta y la concentración mineral de otros elementos (Cuadro 8-2).

2. SOLUCIONES NUTRITIVAS

Una vez establecida, a mediados del siglo XIX, la posibilidad de utilizar **soluciones nutritivas** sencillas, J. Sachs diseñó una solución acuosa muy simple, constituida por 6 sales inorgánicas (Cuadro 6-3), que permitiría a las plantas crecer y madurar en ausencia de suelo. Las variaciones sobre este sistema han dado lugar a los **cultivos hidropónicos**, herramienta principal a la hora de establecer el carácter esencial de los nutrientes. Por otra parte, la gran pureza que en estos momentos puede conseguirse en la síntesis de sales inorgánicas, con una bajísima concentración de impurezas, permite que el control sobre la composición de soluciones de dichas sales sea muy preciso. Hace un siglo, estas impurezas

CUADRO 6-1. Elementos esenciales y beneficiosos para plantas, algas y hongos.

Clasificación	Elementos	Plantas superiores	Algas y hongos
Macroelementos esenciales o macronutrientes	C, O, H, N, P, S, K, Mg, Ca	+	+ Excepto Ca para los hongos
Microelementos esenciales o micronutrientes	Fe, Mn, Zn, Cu, B, Mo, Cl, Ni	+	+ Excepto B para los hongos y las algas, con la excepción de las diatomeas
Elementos beneficiosos	Na, Si, Co, I, V, ...	±	±

(Adaptado de Marschner, 1995.)

bastaban para cubrir las necesidades de microelementos, pero dificultaban enormemente el estudio de la nutrición mineral. Las soluciones de Hoagland y Arnon (1950) y de Hewitt (1966) marcaron un hito en las investigaciones en este campo (Cuadro 6-4).

En la actualidad, lo más frecuente es hacer crecer las plantas sobre un sustrato normalmente inerte, del tipo arena de cuarzo, vermiculita o perlita, que no aporta nutrientes a la planta y que le sirve como soporte físico. En los cultivos de hidroponía pura no existe ese sustrato; la planta se suele sujetar sobre una superficie plástica agujereada, y las raíces, que exhiben un desarrollo muy superior a las del método anterior, se hallan inmersas en la solución nutritiva. En este caso es necesario un dispositivo de aireación, del tipo bomba de pecera, para evitar la anoxia.

Cada vez se emplean con más frecuencia distintas variaciones de la denominada *nutrient film technique* (técnica de lámina nutritiva), en la cual las raíces están continuamente bañadas por una fina película de solución nutritiva recirculante, que discurre por el fondo de unos canales plásticos;

con este método no existen problemas de anoxia, porque el oxígeno disuelto se repone cada vez que se bombea la solución a la cabecera del dispositivo (Fig. 6-1).

La utilización de los cultivos hidropónicos con fines de explotación agrícola, y sus modificaciones, como la fertilización en riego por goteo o la fertirrigación en cultivos hortícolas y plantas ornamentales, principalmente, se estudiarán en el Capítulo 8.

3. ELEMENTOS ESENCIALES

3.1. Los elementos presentes en mayor cantidad en las plantas se denominan macroelementos o macronutrientes

Tradicionalmente, los elementos esenciales se dividen en dos categorías: 1) macronutrientes, y 2) micronutrientes, elementos traza u oligoelementos. Esta distinción no tiene implicación cualitativa, ya que todos ellos son igualmente

CUADRO 6-2. Elementos esenciales en la mayoría de las plantas, formas de absorción y concentraciones que se consideran adecuadas. Las formas preferentes de absorción se resaltan en negrita.

Elemento	Símbolo químico	Forma de absorción	Peso atómico	Concentración en peso seco			N.º relativo de átomos respecto al Mo
				$\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$	$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (ppm)	%	
Molibdeno	Mo	MoO_4^-	95.95	0.001	0.1	–	1
Níquel	Ni	Ni^{2+}	58.70	~ 0.001	~ 0.1	–	1
Cobre	Cu	Cu^+ , Cu^{2+}	63.54	0.10	6	–	100
Cinc	Zn	Zn^{2+}	65.38	0.30	20	–	300
Manganeso	Mn	Mn^{2+}	54.94	1.0	50	–	1000
Hierro	Fe	Fe^{3+} , Fe^{2+}	55.85	2.0	100	–	2000
Boro	B	H_3BO_3	10.82	2.0	20	–	2000
Cloro	Cl	Cl^-	35.46	3.0	100	–	3000
Azufre	S	SO_4^-	32.07	30	–	0.1	30 000
Fósforo	P	H_2PO_4^- , HPO_4^-	30.98	60	–	0.2	60 000
Magnesio	Mg	Mg^{2+}	24.32	80	–	0.2	80 000
Calcio	Ca	Ca^{2+}	40.08	125	–	0.5	125 000
Potasio	K	K^+	39.10	250	–	1.0	250 000
Nitrógeno	N	NO_3^- , NH_4^+	14.01	1000	–	1.5	1 000 000
Oxígeno	O	O_2 , H_2O	16.00	30 000	–	45	30 000 000
Carbono	C	CO_2	12.01	40 000	–	45	40 000 000
Hidrógeno	H	H_2O	1.01	60 000	–	6	60 000 000

(Basado en Salisbury y Ross, 1992; Marschner, 1995, y Epstein, 2005).

CUADRO 6-3. Composición de la solución nutritiva de Sachs (1860).

Sales	Fórmula	Concentración aproximada (mM)
Nitrato potásico	K NO ₃	9.9
Fosfato cálcico	Ca ₃ (PO ₄) ₂	1.6
Sulfato magnésico	Mg SO ₄ · 7H ₂ O	2.0
Sulfato cálcico	Ca SO ₄	3.7
Cloruro sódico	Na Cl	4.3
Sulfato ferroso	Fe SO ₄	Trazas

esenciales, sino que refleja, exclusivamente, las concentraciones relativas halladas en los tejidos o que son necesarias en las soluciones nutritivas. Los seis elementos que estudiaremos a continuación (N, P, K, S, Ca, y Mg) constituyen, junto con H, C y O, la totalidad de macroelementos. Gran parte de ellos, aunque no de forma exclusiva, están implicados en la estructura de las moléculas, y su nombre hace referencia a que se necesitan en grandes cantidades; su presencia en los tejidos está siempre por encima del 0.1% (30 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de peso seco) (Cuadro 6-2). Al contrario de lo que sucede con los micronutrientes, se encuentran perfectamente definidos desde mediados del siglo XIX.

Nitrógeno

Después del agua, el nitrógeno es el nutriente más importante para el desarrollo de la planta, dada su abundancia en las principales biomoléculas de la materia viva; si a esto añadimos que los suelos suelen ser más deficientes en nitrógeno que en cualquier otro elemento, no resulta extraño que sea el nitrógeno, junto con el P y el K, el elemento clave en la nutrición mineral. Las formas iónicas preferentes de absorción de nitrógeno por la raíz son el nitrato (NO₃⁻) y el amonio (NH₄⁺) (véanse los Capítulos 7 y 15). Existe también la posibilidad de conseguir N₂ atmosférico, fijado simbióti-

camente por leguminosas y algunas otras familias de plantas gracias a microorganismos de géneros como *Rhizobium* y *Frankia* (véase el Capítulo 16), y también por la absorción de amoníaco (gas), que se introduce en la planta a través de los estomas; ambos terminan convirtiéndose en amonio. La asimilación del nitrato y del amonio se estudia detalladamente en el Capítulo 15. No resulta fácil determinar el estado nutricional de las plantas en lo que se refiere al nitrógeno, dado que la presencia del ion nitrato se ve regulada por aspectos como la desnitrificación hasta formas gaseosas de N, la inmovilización microbiana y la lixiviación, mientras que el ion amonio se ve afectado por su volatilización en forma de amoníaco, su absorción por el coloide arcilloso-húmico del suelo, y por la nitrificación.

La mayor parte del N del suelo se encuentra en la fracción de nitrógeno orgánico, no asimilable por las plantas. De ahí la importancia de los procesos de mineralización del N en el suelo, habitualmente controlados por microorganismos, que hacen muy difícil determinar el potencial nutritivo del N en el suelo, más aún si consideramos los procesos mencionados de desnitrificación y lixiviación. La lixiviación determina el enorme impacto ambiental que los nitratos de origen agrícola ejercen, entre otros, en la contaminación de los acuíferos subterráneos. Actualmente se buscan alternativas para evitar estos problemas ambientales, consecuencia de la utilización masiva de fertilizantes tanto en forma mineral como

CUADRO 6-4. Composición de la solución de Hoagland y Arnon (1950) ligeramente modificada.

Sales	Fórmula	Concentración (mM)	Elementos	Concentración (mg · L ⁻¹)
Nitrato cálcico	Ca (NO ₃) ₂	2.5	Ca	103
Fosfato potásico	KH ₂ PO ₄	0.5	N	105
Nitrato potásico	K NO ₃	2.5	K	118
Sulfato magnésico	Mg SO ₄	1.0	S	33
Sulfato de cinc	Zn SO ₄	0.00039	Mg	25
Sulfato manganoso	Mn SO ₄	0.0046	P	15
Sulfato cúprico	Cu SO ₄	0.00016	Fe	10
Ácido bórico	H ₃ BO ₃	0.0234	B	0.25
Ácido molíbdico	Mo O ₄ H ₂	0.000051	Mn	0.25
Sequestrene (Fe)	Fe	0.179	Zn	0.025
			Cu	0.01
			Mo	0.0052
			Cl	0.50



Figura 6-1. Vista general de los invernaderos de Solar Oasis en Tucson (Arizona). En primer término, cultivos crecidos con la técnica de nutrient film. En segundo término, cultivos crecidos en solución nutritiva sin soporte inerte. (Fotografía de I. Bonilla, 1986.)

orgánica. Una de ellas es la utilización conjunta de urea e inhibidores de la ureasa, promoviendo así una nutrición ureica de la planta. La respuesta de la planta a esta nutrición nitrogenada varía según la especie estudiada; no se han registrado diferencias de importancia en leguminosas, como el guisante, pero sí en la espinaca, en la que se produjo un menor crecimiento y un menor contenido proteico.

En la planta, el N se distribuye en tres grupos: más del 50% se halla en compuestos de elevado peso molecular (proteínas y ácidos nucleicos); el resto, en forma de N orgánico soluble (aminoácidos, amidas, aminos...) y N inorgánico (principalmente iones nitrato y amonio). Su contenido en el total del peso seco de la planta oscila entre el 1.5 y el 5%.

Los **síntomas de deficiencia** (véase el Capítulo 8) de N son los característicos de un elemento muy móvil: se produce clorosis en las hojas adultas que, con frecuencia, caen de la planta antes de volverse necróticas (Fig. 6-2). Algunas plantas, como el tomate y ciertas variedades de maíz, mues-

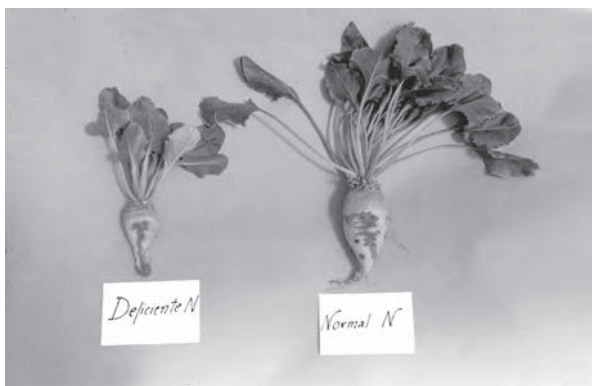


Figura 6-2. Impacto de la deficiencia de nitrógeno en el cultivo de remolacha azucarera (*Beta vulgaris*). El N, así como el K y el B, son los principales factores nutricionales limitantes del cultivo.

tran una coloración purpúrea causada por la acumulación de pigmentos antocianos.

Un exceso de nitrógeno se manifiesta por un exceso de follaje, con un rendimiento pobre en frutos, como sucede en cultivos tan diferentes como los de cítricos y patatas. En general, existe un desarrollo radicular mínimo, frente a un desarrollo foliar grande, con la consiguiente elevación en la proporción parte aérea-raíz, justo a la inversa de lo que sucede en condiciones de deficiencia (Fig. 6-2). En algunos cultivos, el exceso de nitrógeno también provoca un retardo en la floración y la formación de semillas.

Fósforo

El fósforo se encuentra disponible para la planta como ion fosfato, y se absorbe preferentemente como $H_2PO_4^-$ en suelos con un pH inferior a 7, y como anión divalente HPO_4^{2-} en suelos básicos, con un pH por encima de 7. En contraste con el nitrógeno, el fósforo no se encuentra en forma reducida en las plantas, sino que permanece como fosfato, ya sea en forma libre o como un compuesto orgánico, principalmente como éster fosfórico con grupos hidroxilos, o formando enlaces anhidridos ricos en energía, como es el caso del ATP o del ADP. Desempeña, por tanto, un papel clave en la fotosíntesis, en la respiración, y en todo el metabolismo energético.

Asimismo, el fósforo tiene un papel estructural importante en muchas moléculas y estructuras celulares, como los enlaces diéster presentes en los ácidos nucleicos y en los fosfolípidos, los cuales son fundamentales en las estructuras membranosas (véase el Capítulo 1). Con todo, una parte importante del fosfato de la planta se encuentra en forma iónica libre: el 75% en las vacuolas, y el 25% restante en la matriz y los orgánulos citoplasmáticos, en equilibrio con los ciclos metabólicos.

En la mayoría de las plantas el fosfato se redistribuye fácilmente de un órgano a otro acumulándose en las hojas jóvenes y en las flores y semillas en desarrollo; en consecuencia, los síntomas de deficiencia se presentan primero en las hojas adultas. Las plantas deficientes presentan enanismo y, en contraste con las deficientes en N, un color verde intenso, adquiriendo un color pardusco a medida que van muriendo. La madurez se ve retardada en comparación con la de las plantas control, aunque en muchas especies es la relación del P con el N la que regula la maduración: el exceso de nitrógeno la retrasa y la abundancia de fósforo la acelera (Fig. 6-3).

El exceso de fósforo origina, al contrario que en el caso del nitrógeno, un gran desarrollo de las raíces en relación con la parte aérea, lo que determina una baja proporción parte aérea-raíz. Sin embargo, en los suelos tropicales, caracterizados por una elevada acidez, la disponibilidad de fósforo es muy baja, y las estrategias para conseguir el escaso P asimilable del suelo consisten en la exudación radicular de ácidos orgánicos o en la emisión de fosfatasa ácida que posibiliten una mayor presencia de P disponible para la planta. También se ha observado un mayor desarrollo radical

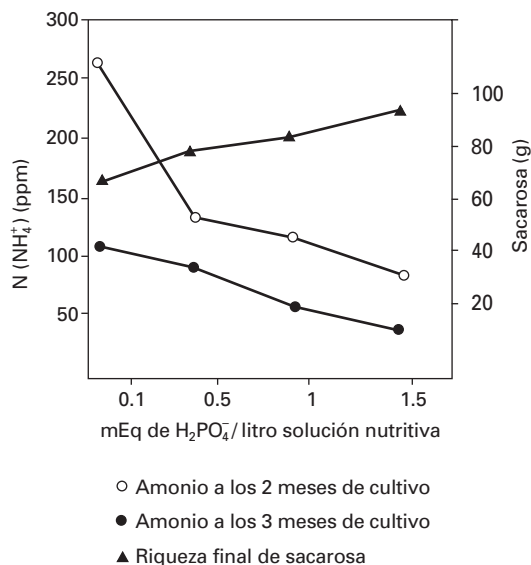


Figura 6-3. La interrelación P y N, observada en varios cultivos, queda aquí reflejada por los niveles de N expresado como NH_4^+ en savia. Existe una acumulación de NH_4^+ en el estado deficiente de P, que retrasa la maduración y la riqueza en sacarosa. (Bonilla, I. y cols., *Anales de Edafología y Agrobiología*, XXXIX, 217-237, 1980.)

en estas condiciones de deficiencia en P que favorece la absorción del bioelemento.

Un factor muy importante que facilita la absorción de fósforo en condiciones naturales es la presencia de micorrizas, que son asociaciones simbióticas entre hongos del suelo y las raíces de las plantas (véanse los Capítulos 7 y 8).

Potasio

Junto con el P y el N, constituye el contenido principal de los fertilizantes de máxima difusión comercial, dada la importancia de estos tres elementos (Fig. 6-4). Su comportamiento, a pesar de su naturaleza catiónica, es muy similar al que presentan el fósforo y el nitrógeno: se distribuye con suma facilidad de los órganos maduros a los juveniles, dada su solubilidad y su baja afinidad por los ligandos orgánicos, con los que se intercambia fácilmente. El catión es el más abundante en las plantas, pues puede representar hasta un 10% de su peso seco. Se acumula en la vacuola y el citoplasma, donde puede alcanzar concentraciones de 150 mM y entre 2000-5000 ppm en el xilema (p. ej., en la remolacha azucarera). Desempeña, pues, un papel clave en la osmorregulación que tiene lugar en los procesos de apertura y cierre estomáticos (Fig. 6-5; véase el Capítulo 3), así como en las nastias y tactismos (véase el Capítulo 24).

Por otra parte, el K activa más de 50 sistemas enzimáticos, entre los que destacan oxidorreductasas, deshidrogenasas, transferasas, sintetasas y quinasas. Aunque en algunos



Figura 6-4. Deficiencia de K en el cultivo de remolacha azucarera. Como puede observarse, el K constituye, junto con el N y el P, el principal nutriente de los cultivos; por esta razón, estos tres macroelementos están siempre presentes en los fertilizantes.

casos puede ser sustituido, pues sólo es necesario para el cambio conformacional de la apoenzima, debido a las altas concentraciones que son necesarias, a veces resulta difícil encontrar un sustituto *in vivo*.

La deficiencia de K en los cultivos se traduce en una mayor susceptibilidad al ataque de patógenos en la raíz, y en una debilidad de los tallos que hace a las plantas especialmente sensibles a la acción del viento, las lluvias, etc., principalmente en el caso de las monocotiledóneas. En las dicotiledóneas, los primeros síntomas de clorosis aparecen también en las hojas adultas, que posteriormente se hacen necróticas; el crecimiento se retrasa y se produce pérdida de turgencia y marchitamiento, mucho más acusados cuando existe un déficit hídrico.

En condiciones de exceso de K su consumo se incrementa, salvo en las semillas, y ese exceso de consumo puede interferir en la absorción y la disponibilidad fisiológica de Ca y Mg.

Actualmente se ha demostrado la existencia de transportadores específicos de K^+ en la membrana plasmática de las células radicales, algunos de ellos de alta afinidad, que sólo se expresan cuando la concentración extracelular del bioelemento es baja (micromolar) (véase el Capítulo 7). Pertenecen al grupo I de la familia de transportadores HAK.

Azufre

El azufre se absorbe en forma de anión sulfato (SO_4^{2-}) y, en esta forma, se transporta por el xilema. También puede ser absorbido por los estomas de las hojas bajo la forma de dióxido de azufre (SO_2), contaminante atmosférico resultante de la combustión del carbón, la madera y el petróleo. El SO_2 reacciona con el agua en el interior de las células formando bisulfito (HSO_3^-), que desplaza el magnesio de la clorofila y disminuye, en consecuencia, la fotosíntesis. El S como sulfato

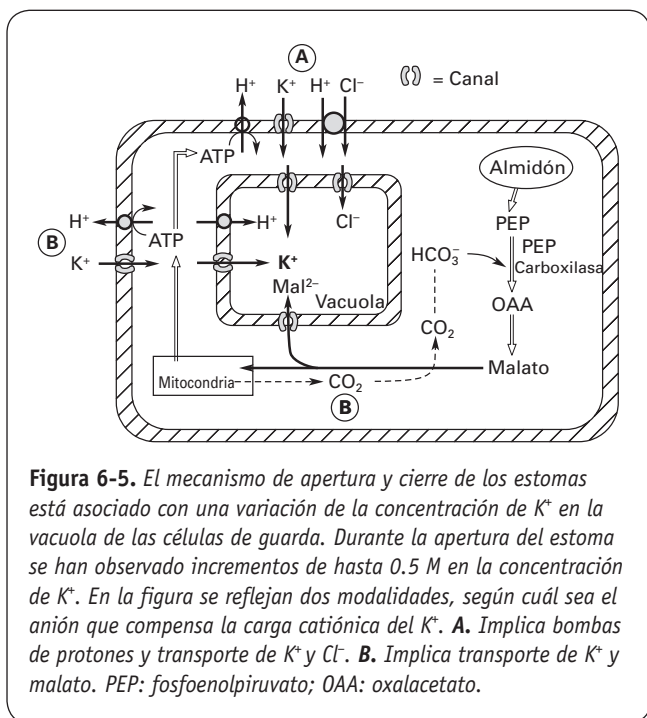


Figura 6-5. El mecanismo de apertura y cierre de los estomas está asociado con una variación de la concentración de K^+ en la vacuola de las células de guarda. Durante la apertura del estoma se han observado incrementos de hasta 0.5 M en la concentración de K^+ . En la figura se reflejan dos modalidades, según cuál sea el anión que compensa la carga catiónica del K^+ . **A.** Implica bombas de protones y transporte de K^+ y Cl^- . **B.** Implica transporte de K^+ y malato. PEP: fosfoenolpiruvato; OAA: oxalacetato.

forma parte de los sulfolípidos y los heteropolisacáridos y, en forma reducida, reducción que tiene lugar mayoritariamente en los cloroplastos (véase el Capítulo 15), se encuentra en aminoácidos como la cisteína y la metionina. Igualmente, se integra en diversas coenzimas como la tiamina, la biotina y la coenzima A, compuesto clave en la activación de los ácidos orgánicos y, por tanto, en los procesos de síntesis y degradación de los ácidos grasos y en la respiración celular. Los grupos -SH son clave en multitud de reacciones enzimáticas, determinando, según su forma (oxidada o reducida), la actividad de éstas. Finalmente, en los últimos años han suscitado gran interés las **fitoquelatinas**, unas proteínas de bajo peso molecular, pero con un elevado número de aminoácidos azufrados (cisteína principalmente), que forman complejos con metales pesados (Cd, Cu, Pb,...), constituyéndose así en uno de los principales mecanismos de defensa de las plantas frente a estos agentes, tóxicos en su mayoría.

Las deficiencias en azufre son poco habituales, dado que la presencia de sulfatos en el suelo resulta suficiente. Cuando se dan, en la planta aparece una clorosis muy generalizada en las hojas, incluidos los haces vasculares. La redistribución desde los tejidos maduros es, en muchas especies, peor que la observada en el fósforo y el potasio, por lo que los síntomas de deficiencia suelen apreciarse en primer lugar en las hojas más jóvenes. Las plantas presentan un menor crecimiento, y se hacen rígidas y quebradizas. A nivel celular, los orgánulos más afectados son los cloroplastos.

El margen de normalidad del contenido de azufre en muchos cultivos se encuentra en una quinceava parte del peso total del nitrógeno.

Como en el caso del potasio, recientemente también se han identificado transportadores de alta y baja afinidad del bioelemento HAST y LAST, respectivamente.

Calcio

El calcio se absorbe como ion divalente, Ca^{2+} . Es abundante en la mayoría de los suelos, y rara vez se comporta como un factor limitante, salvo en suelos ácidos con lluvias abundantes, donde resulta necesario el aporte de sales cálcicas, principalmente carbonatos, que elevan el pH. Es mucho más móvil en el apoplasto que en el simplasto, por lo que los órganos que reciben el agua principalmente por esta vía pueden presentar problemas en el suministro del catión. En los cultivos hidropónicos, la deficiencia de Ca se caracteriza por un pobre desarrollo radicular. Los síntomas de la deficiencia son siempre más evidentes en los tejidos jóvenes y las zonas meristemáticas de raíces, tallos y hojas. Existen dos razones principales que explican este hecho: por un lado, la división celular se ve afectada por la deficiencia de calcio, y en los tejidos mencionados el índice mitótico es alto; por otro, la lámina media que se forma entre dos células hijas, uno de cuyos principales componentes es el pectato cálcico, puede verse alterada.

Curiosamente, la concentración intracelular de calcio es muy baja, del orden de 1 μ molar (μ M), aunque se absorbe en grandes cantidades y su presencia en la planta es similar a la que puede tener el fósforo, el azufre o el magnesio, lo que puede significar hasta el 1% de la materia seca). La mayor parte del calcio se localiza por fuera de la pared celular, en los pectatos de la lámina media, como hemos indicado, y en las membranas (véase el Capítulo 1). En el interior de la célula, el calcio se encuentra en las vacuolas donde, dado el pH ácido de éstas, puede precipitar como sales de oxalato, fosfato, carbonato, sulfato, etc., según las especies. Sin embargo, en el citosol su concentración sigue siendo muy baja porque, si bien activa algunas enzimas, muchas otras son inhibidas con concentraciones de Ca por encima de 1 μ M (Fig. 6-6) (véase también el Capítulo 7). Estas bajas concentraciones de Ca se mantienen gracias a la escasa permeabilidad de las membranas a este ion, así como por la acción de transportadores de membrana (principalmente el Ca^{2+}/H^+ -ATPasas), que retiran Ca del citosol y lo expulsan al

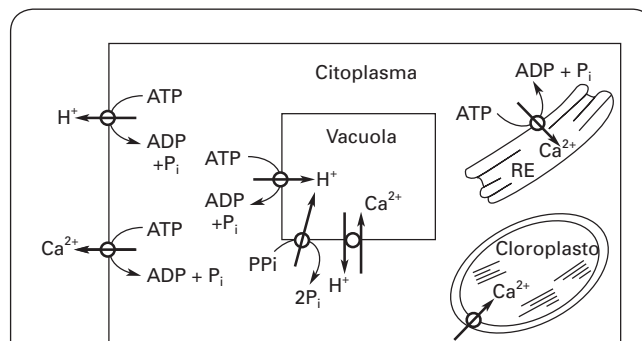


Figura 6-6. Regulación de la concentración intracelular de Ca^{2+} , que se acumula principalmente en la vacuola en forma de oxalato, carbonato, etc., pero también en el retículo endoplasmático (RE) y en el cloroplasto. Concentraciones de Ca^{2+} en el citosol superiores a 1 μ M pueden inhibir la acción de muchas enzimas.

apoplasto o a compartimientos intracelulares (vacuolas, retículo endoplasmático o cloroplasto). Además, las corrientes citoplasmáticas también se ven inhibidas con concentraciones por encima de ese valor, así como la formación de sales de calcio insolubles con ATP y otros fosfatos orgánicos.

El calcio también es necesario para la integridad y la funcionalidad de las membranas y, además, recientemente se ha visto que está implicado como segundo mensajero en el funcionamiento de algunas hormonas y en respuestas ambientales. Como segundo mensajero, el calcio está implicado en la fosforilación de algunas proteínas, de manera que puede desempeñar un papel importante en la actividad y la regulación de ciertas enzimas (véase el Capítulo 18). Su unión reversible a una pequeña proteína citosólica, la **calmodulina**, le permite ejercer una importante función como modulador enzimático y desempeñar un papel fundamental en las señales celulares y en el desarrollo vegetal, como ya se ha demostrado en la célula animal.

En la última década la investigación sobre el calcio ha experimentado un formidable desarrollo. Gracias a tecnologías que permiten apreciar cambios en la concentración del calcio intracelular ($[Ca^{2+}]_i$), se ha podido comprobar la implicación de este bioelemento como **segundo mensajero** en cascadas de señales de la planta dependientes del Ca. En este sentido, destaca el concepto de «firma de calcio» (« Ca^{2+} signature»), que explica cómo pequeñas variaciones del $[Ca^{2+}]_i$ son responsables, al menos en parte, de los mecanismos de adaptación y respuesta de la planta a cambios de pH, luz, temperatura y otros que puedan tener lugar en el medio.

Magnesio

El magnesio no es casi nunca un factor limitante para las plantas, salvo en los suelos muy ácidos o arenosos. Se absorbe como ion divalente, Mg^{2+} , y se comporta como un elemento muy móvil, tanto en la planta como en la célula. Las hojas adultas son las primeras en expresar situaciones de deficiencia, al emigrar el Mg a las hojas más jóvenes. Aquí, la clorosis es muy característica, porque se dispone de forma intervenal; por alguna razón, las células del mesófilo próximas a los vasos retienen la clorofila durante más tiempo. Aproximadamente el 20% del Mg total de las hojas se encuentra en los cloroplastos, aunque sólo entre el 10 y el 20% se presenta en las moléculas de clorofila (Fig. 6-7). El resto se encuentra localizado en forma iónica soluble en el espacio intratrilacoidal y, al iluminarse el cloroplasto, pasa al estroma, donde activa enzimas tan importantes como la rubisco, la fosfoenol-piruvato carboxilasa y la glutamato sintasa. La asignación fotosintética del carbono y el nitrógeno depende, en gran medida, de la concentración de Mg^{2+} en el cloroplasto. También interviene en el metabolismo energético de la planta, al formar complejos con el ATP, ya que las ATPasas utilizan como sustrato los complejos Mg-ATP. Incluso la propia fosforilación del ATP a partir del ADP necesita Mg^{2+} .

Esa propiedad de establecer uniones tanto iónicas como, especialmente, covalentes (caso de la clorofila), hace que el

magnesio esté presente en procesos claves, como la unión y estabilización de las subunidades del ribosoma, y por tanto en la biosíntesis de proteínas, e incluso en la transcripción del mensaje genético por la activación de la RNA polimerasa. Por ello, el incremento en la proporción de nitrógeno soluble no proteico puede ser un parámetro de diagnóstico químico en la deficiencia de magnesio.

3.2. Los elementos también esenciales, pero presentes en cantidades mínimas, se denominan microelementos o micronutrientes

Los ocho elementos esenciales restantes (Fe, Mn, Zn, Cu, B, Mo, Cl y Ni) se agrupan bajo la denominación de micronutrientes, elementos traza u oligoelementos. Resultan tan esenciales como cualquier macroelemento y, en consecuencia, deben cumplir los mismos requisitos que éstos. Su nombre hace referencia a la baja concentración en la que se encuentran en los tejidos, inferior al 0.1‰ (menos de $3 \mu\text{mol g}^{-1}$ de peso seco ó 0.1-100 ppm) (Cuadro 6-2).

A diferencia de los macroelementos, los micronutrientes no se han conocido por completo, a excepción del Fe, hasta bien entrado el siglo xx. Ello se debe a que, dadas las bajas concentraciones requeridas para alcanzar la normalidad, las impurezas de las sales utilizadas habitualmente en la constitución de las soluciones nutritivas bastan para cubrir las necesidades de las plantas y demás organismos fotosintéticos. Sin embargo, el desarrollo de las técnicas analíticas ha incrementado la sensibilidad para la detección de elementos en varios órdenes de magnitud; por otra parte, la extrema pureza con que actualmente se obtienen las sales empleadas en las soluciones nutritivas hacen que se descubran más micronutrientes. El último micronutriente aceptado como tal ha sido el Ni, en 1987.

No obstante, más que la aparición de nuevos microelementos interesa sobre todo su homeostasis en la planta. El tema es de gran trascendencia, sobre todo en las plantas de interés agrícola, porque estos aspectos ejercen un impacto importante sobre la cantidad y la calidad de la producción, y ello ha determinado un incremento en la utilización de fertilizantes con la adición de microelementos.

Los microelementos son esenciales para la planta, pero cuando se acumulan en exceso (lo que puede suceder con cierta facilidad), resultan tóxicos. Desde el punto de vista fisiológico, la regulación de la homeostasis requiere la coordinación de, al menos, cuatro procesos fundamentales: la movilización de los micronutrientes en la rizosfera y su adquisición por la raíz; su translocación y transporte en el xilema; su adquisición, utilización y almacenaje en la hoja; y, por último, su removilización vía floema. Si bien es mucho lo que se sabe sobre la adquisición de micronutrientes por la raíz y sobre la forma de almacenaje y localización en los órganos y células, no se conoce tan bien la forma de transporte a larga distancia, tanto en la savia del xilema como

en la del floema. De hecho, la tolerancia observada entre las distintas especies a concentraciones altas de estos elementos puede estar relacionada con la expresión de proteínas transportadoras que permitan una mejor distribución y compartimentación del elemento en cuestión.

Hierro

Entre todos los micronutrientes, el hierro es el que se necesita en mayor cantidad, hasta el punto de que en algunas plantas se considera un macronutriente. El hierro puede ser absorbido como Fe^{3+} (Fe III) y, más fácilmente, dada su mayor solubilidad, como Fe^{2+} o ion ferroso (Fe II) (véanse los Capítulos 7 y 8).

Su deficiencia en los suelos calizos es muy habitual porque la solubilidad del Fe es muy baja a pH básico. De hecho, fue uno de los primeros que se reconoció como esencial, por lo frecuente de sus deficiencias y por la especificidad de sus síntomas. Las plantas deficientes en Fe se caracterizan por una clorosis intervenal en las hojas jóvenes seguida, en ocasiones, por una clorosis en las venas, que confiere a la totalidad de la hoja un aspecto amarillento. En casos extremos, la hoja puede llegar a ponerse casi blanca, como sucede a veces en los cítricos.

El hierro se acumula en las hojas más antiguas y es relativamente inmóvil en el floema por la formación de óxidos o fosfatos férricos, aunque esta cuestión no está suficientemente dilucidada. Una forma estable y abundante de hierro

es la que se acumula en los cloroplastos; cerca del 80% del hierro de las hojas se localiza en estos orgánulos como fitoferritina. La deficiencia de Fe modifica la estructura de los cloroplastos, dando lugar a la llamada **clorosis férrica**, uno de los signos más característicos de aquella. Cultivos como los cítricos son especialmente sensibles a esta deficiencia, dado el pH básico en el que son habituales, y sólo la formación de **quelatos** (complejos orgánicos con hierro; véanse los Capítulos 7 y 8) es capaz de solucionar el problema de la absorción del hierro en estas circunstancias.

La importancia del Fe en la planta, al igual que en los animales, radica en dos importantes funciones:

- Forma parte de los grupos catalíticos de muchas enzimas redox del tipo **hemoproteínas**, como citocromos (tanto mitocondriales como cloroplásticos), catalasas, peroxidasas, etc., que presentan un grupo hierro-porfirina como núcleo prostético, el grupo hemo (Fig. 6-7).
- El Fe se encuentra unido a grupos tiólicos de la cisteína en otras proteínas, hierro-azufre, las **sulfo-ferro proteínas**. Estas proteínas son clave en la fotosíntesis (como ocurre en el caso de la ferredoxina, la nitrito reductasa y la sulfito reductasa); en la fijación de nitrógeno (caso de la nitrogenasa) y en la respiración. Los estados redox $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ explican su presencia en estos sistemas enzimáticos, tanto de un tipo como de otro, al actuar como transportador de electrones en ellos (Fig. 6-8).

BOX 6-1 HIERRO

Son muchos los datos cinéticos y bioquímicos que permiten explicar la adquisición de microelementos por las raíces. En dicho proceso intervienen transportadores de baja y alta afinidad, la mayoría de ellos desconocidos a nivel molecular. A excepción del B, que se absorbe mayoritariamente de forma pasiva, en la absorción del resto de los micronutrientes están involucradas proteínas transportadoras de cationes o aniones, en general poco selectivas. Excepto para el cloro, los mecanismos de absorción de micronutrientes no han sido totalmente identificados. Mención aparte merece el caso del Fe, puesto que las plantas desarrollan dos estrategias distintas para su adquisición en condiciones de deficiencia en dicho oligoelemento: (I) la inducción de una reductasa férrica y (II) la inducción de la excreción de fitosideróforos (Barton, L.L. y Abadía, J. *Iron Nutrition in Plants and Rhizospheric Microorganisms*. Springer, The Netherlands, 2006).

La estrategia I es característica de las dicotiledóneas y las monocotiledóneas no gramíneas. Cuando estas especies crecen en suelos con bajas concentraciones de Fe, aumentan en la parte subapical de las raíces tanto el poder de reducción del Fe como la actividad ATPasa, que tiende a disminuir el pH del medio y, consecuentemente, acidifica la rizosfera incrementando la solubilidad del Fe III.

El pH apoplástico radicular desempeña un papel clave en la toma de Fe; en ese espacio se realiza la reducción de Fe III a Fe II por medio de una Fe III-quelato reductasa (FCR) presente en la membrana plasmática; esta forma Fe II es bastante más soluble que la forma Fe III. Por último, existe un transportador de membrana que introduce el Fe II en el interior de la célula. Estos tres sistemas (H^+ -ATPasa, FCR y el transportador de membrana) se inducen en condiciones de deficiencia de Fe en el medio.

Por otro lado, las especies de estrategia I acumulan o excretan, o ambas cosas a la vez, compuestos fenólicos y flavinas, y acumulan ácidos orgánicos, principalmente malato y citrato. Aunque la causa de esta acumulación no está clara, se ha relacionado con la alta actividad de fosfoenol-piruvato carboxilasa detectada en algunas zonas de las raíces deficientes en Fe, que conduciría a un aumento de la fijación de carbono en dichas raíces. Plantas características que desarrollan esta estrategia son, por ejemplo, el guisante, el tomate y la soja.

La estrategia II, desarrollada por las gramíneas (maíz, avena, cebada), se caracteriza por liberar, en condiciones de deficiencia de Fe, fitosideróforos (FS), que son aminoácidos no proteinogénicos que quelan el Fe III presente en el suelo. Su naturaleza química depende de la especie, y el mecanismo de excreción no está todavía claro, si bien se ha sugerido un mecanismo de vesículas. Se ha demostrado que existe proporcionalidad entre la cantidad de fitosideróforos liberados y el grado de clorosis férrica en la planta.

Posteriormente, estos complejos, Fe III-fitosideróforos, son absorbidos sin reducción previa a través de un sistema de transporte de alta afinidad. Una vez que el complejo llega al citosol, se libera el Fe III y el fitosideróforo se degrada o se excreta nuevamente al exterior. Se ha comprobado que la velocidad de absorción de estos complejos también está en relación directa con el grado de deficiencia de Fe.

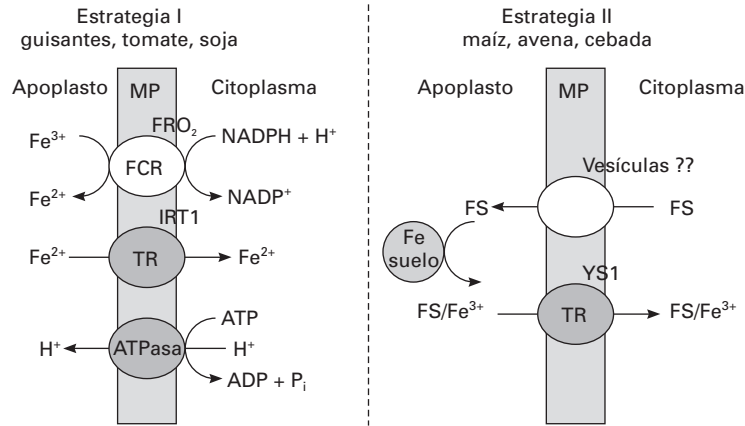


Figura. Modelos de absorción del Fe por las raíces de las plantas que desarrollan las denominadas estrategias I y II en condiciones de deficiencia en Fe. El proceso de excreción de fitosideróforos (FS) no ha sido aún identificado. Sin embargo, en *Arabidopsis thaliana* sí se conocen los genes que codifican para FCR y los distintos transportadores (TR) de membrana. (Esquema cedido por J. Abadía y JJ. Lucena.)

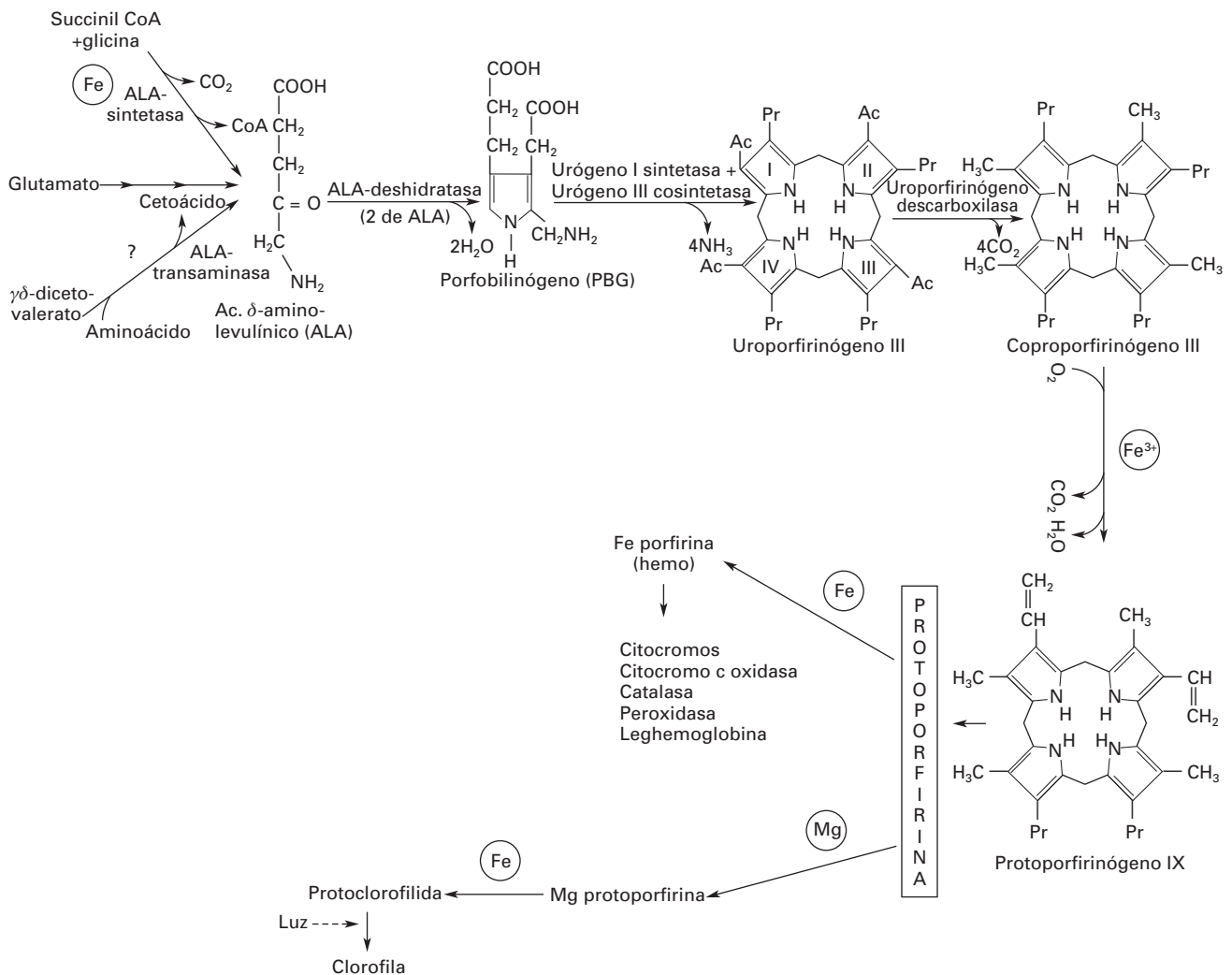
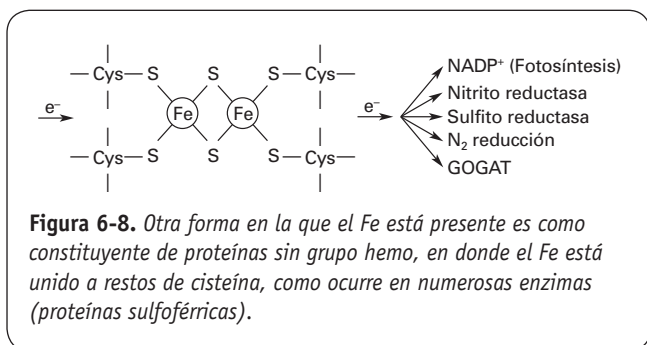


Figura 6-7. Tanto el Fe como el Mg desempeñan un papel clave en la síntesis de la molécula de clorofila. A partir de la protoporfirina encontramos Fe como constituyente del grupo hemo en los sistemas redox, pero no de la clorofila.



Existe, además, otra razón para explicar la esencialidad del Fe, que resulta exclusiva del mundo vegetal, y es su papel en la biosíntesis de la molécula de clorofila, ya que regula la actividad del sistema enzimático encargado de la formación del ácido δ -aminolevulínico (ALA), precursor de las porfirinas, y el paso de la protoporfirina-Mg a la protoclorofilida (Fig. 6-7).

Manganeso

El manganeso existe en varios estados de oxidación; configura distintos óxidos del suelo que resultan insolubles y es absorbido, principalmente, como catión divalente (Mn^{2+}) después de la reducción de estos óxidos en la superficie de las raíces.

El síntoma más significativo de la deficiencia de manganeso es la clorosis intervenal asociada con el desarrollo de pequeñas manchas necróticas. Esta deficiencia puede constituir un factor limitante en suelos ácidos con un pH por debajo de 6 y con un alto contenido orgánico.

Con el microscopio electrónico se observa que la deficiencia en manganeso produce, específicamente, una desorganización de las membranas del tilacoide, y también de las membranas del núcleo y de las mitocondrias, aunque en estos dos últimos casos de forma no tan acusada.

Aunque el Mn activa numerosas enzimas, sólo ha podido demostrarse su presencia en dos. La primera es el complejo manganeso-proteína que transporta los electrones desde el agua al fotosistema II, el cual requiere no menos de cuatro átomos de Mn por centro de reacción (véanse los Capítulos 9 y 10). Así, por ejemplo, en los heterocistos, células especializadas en la fijación del nitrógeno en las cianobacterias filamentosas, no existe fotosistema II ni, en consecuencia, manganeso. En segundo lugar, el manganeso se encuentra formando parte de la Mn-SOD (Mn superóxido dismutasa), una de las isoenzimas de la SOD presente en las mitocondrias y los peroxisomas y, de forma más irregular, en los cloroplastos. Así, por ejemplo, existe en el tabaco, pero no se encuentra en el guisante. Junto con otras formas que contienen Fe, Cu o Zn, constituye un conjunto de enzimas implicadas en la defensa de la planta contra la presencia de radicales superóxido (O_2^-) formados en diversas reacciones enzimáticas (véase el Capítulo 29).

El Mn está igualmente implicado como activador de muchas enzimas respiratorias del ciclo de Krebs (descarboxi-

lasas y deshidrogenasas), aunque puede ser reemplazado (como ocurre en la isocitrato deshidrogenasa) por otros cationes divalentes, principalmente el Mg^{2+} . Asimismo, está implicado en la actividad de la arginasa, enzima clave del ciclo de la urea que escinde la arginina en urea y ornitina, y en la enzima málica dependiente de NAD en plantas C4 (véase el Capítulo 12).

Con todo, las deficiencias de Mn pueden suplirse con Mg^{2+} , y el problema estriba en no superar determinados límites, que producirían efectos competitivos con el Fe.

Cobre

Las plantas rara vez presentan deficiencias de cobre, debido, principalmente, a la escasa necesidad de este elemento y a que está disponible en la mayoría de los suelos. En consecuencia, sólo a través de experimentos con soluciones nutritivas y en condiciones controladas podemos conocer los resultados de los estados deficientes.

El Cu es absorbido como catión divalente (Cu^{2+}) en suelos aireados o como ion cuproso (Cu^+) en suelos pobres en oxígeno o con alto contenido en agua, como los suelos inundados de los manglares. La forma divalente es fácil que forme quelatos con varios componentes del suelo, y lo mismo sucede en las soluciones nutritivas, fenómeno que se debe vigilar para evitar estados de toxicidad.

La esencialidad del Cu se explica por su presencia en diversas proteínas y enzimas implicadas en procesos de oxidación/reducción. Dos sistemas clave en este sentido son la **plastocianina**, una proteína cloroplástica involucrada en el transporte electrónico de la fotosíntesis entre el fotosistema II y el fotosistema I (véanse los Capítulos 9 y 10), y la enzima **citocromo c oxidasa**, una enzima respiratoria que cataliza la transferencia de electrones hasta el oxígeno en las crestas mitocondriales (véase el Capítulo 14). Por otra parte, el Cu es un componente del complejo enzimático fenolasa, que oxida fenoles, y se relaciona con la biosíntesis de lignina, ya que forma algunos de sus precursores. En este sentido, entre los primeros signos de la deficiencia de Cu están la reducción en la lignificación y una acumulación de fenoles, al igual que sucede en la deficiencia de boro.

Cinc

El cinc es absorbido como catión divalente (Zn^{2+}), la mayoría de las veces probablemente en forma de quelato. Su disponibilidad es mayor a un pH bajo (ácido).

La deficiencia de Zn produce clorosis intervenales fáciles de observar en el maíz, la judía, el sorgo y los árboles frutales, lo que se ha relacionado con un papel estabilizador del Zn sobre la molécula de clorofila. Las alteraciones más típicas son la disminución en el crecimiento de las hojas y el acortamiento en la longitud de los entrenudos, especialmente en las especies leñosas. Esta reducción del tallo se ha relacionado con la producción de ácido indolacético (AIA),

una de las auxinas más habituales (véase el Capítulo 19). Hay una clara relación entre los niveles de Zn y la concentración de auxinas, que incluso llega a disminuir antes de que se manifieste la deficiencia de cinc en la planta. Existen pruebas de su papel en la síntesis del triptófano, aminoácido precursor de la hormona.

Por otra parte, el Zn es necesario para la actividad de, al menos, ochenta sistemas enzimáticos (normalmente formando parte de su estructura, aunque no sufre cambios en su estado de oxidación); por ejemplo, la NADH-deshidrogenasa (véase el Capítulo 14), la alcohol-deshidrogenasa, que cataliza el paso del acetaldehído a etanol en la fermentación alcohólica, y las cinco anhidrasas carbónicas, descritas hasta el momento, que aceleran la hidratación reversible del dióxido de carbono a bicarbonato en la fotosíntesis (Fig. 6-9) (véanse también los Capítulos 7 y 12). Junto con el Cu, constituye algunos tipos de superóxido dismutasas (SOD), presentes en distintos orgánulos y en el citoplasma de la célula vegetal e implicadas en la defensa contra los radicales superóxidos (véase el Capítulo 29).

Por último, cabe destacar la participación del Zn en la estabilidad del ribosoma y su presencia en la RNA polimerasa, lo que le convierte en un regulador de la expresión génica.

Molibdeno

El molibdeno existe en el suelo principalmente como sales de molibdato (MoO_4^{2-}) o (HMoO_4^-), y como MoS_2 molibdenita, uno de los principales minerales que lo contiene. Es el único microelemento que aumenta su solubilidad con el pH. En la primera forma, el molibdeno presenta valencia 6^+ , mientras que en las sales de sulfuro se presenta como Mo^{4+} . Su función en las plantas deriva principalmente de su participación en las reacciones de tipo redox como constituyente de sistemas enzimáticos esenciales para las plantas superiores, algas y cianobacterias.

Debido a los mínimos requerimientos de Mo, se sabe muy poco de las formas en las que se absorbe y transforma en la célula vegetal. A pesar de esos bajísimos requerimientos y de que resulta extraño encontrar situaciones de deficiencia, salvo en zonas del Este y Sur de Estados Unidos y Australia en cultivos como la coliflor y el brócoli, su esencialidad es indudable. Forma parte de una enzima clave en la asimilación del nitrato, la **nitrato reductasa**, responsable de la reducción de los nitratos a nitritos (véase el Capítulo 15). Asimismo, forma parte de la enzima **nitrogenasa**, fundamental en la fijación biológica del nitrógeno y presente en todos los mi-

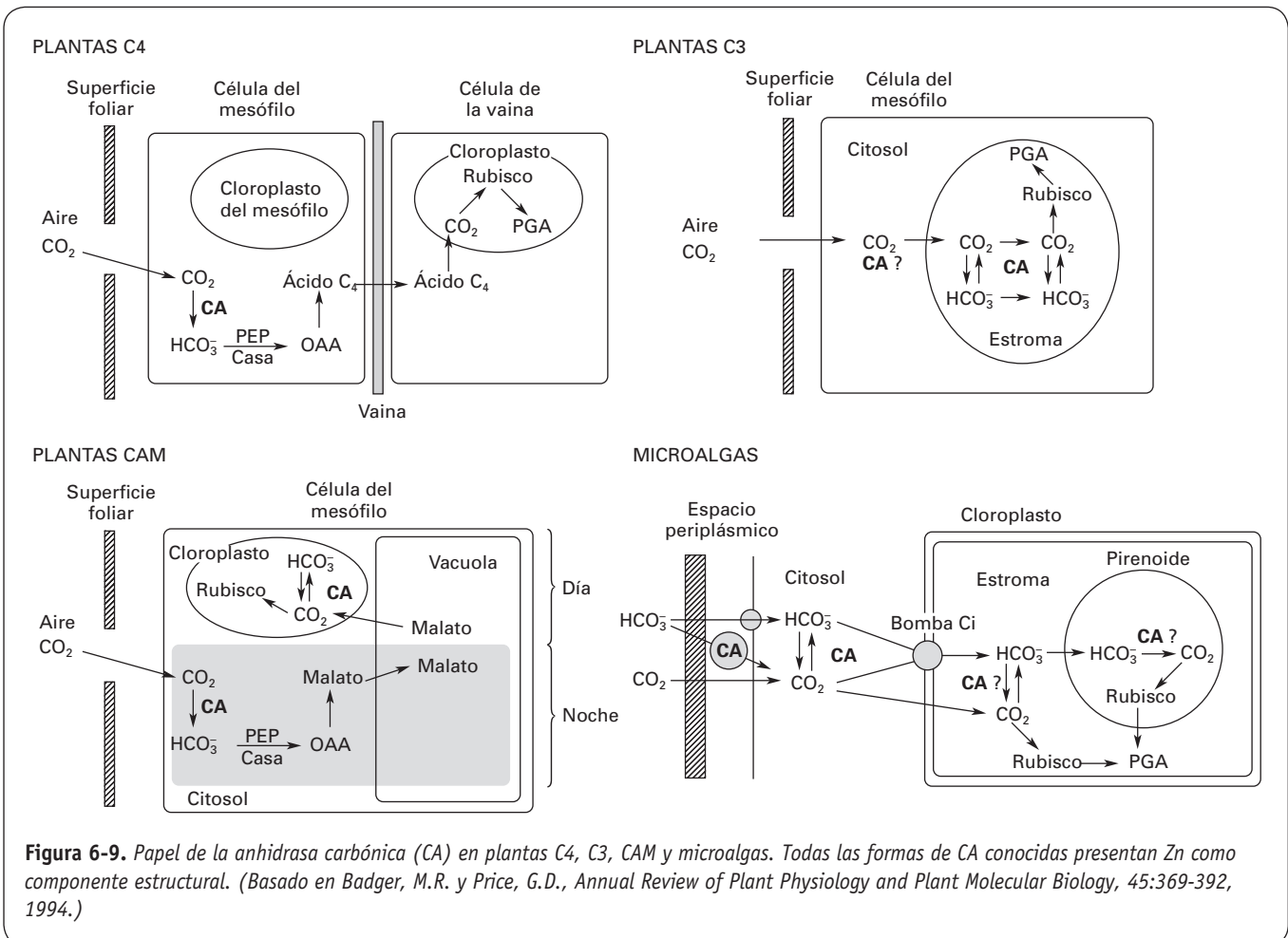


Figura 6-9. Papel de la anhidrasa carbónica (CA) en plantas C4, C3, CAM y microalgas. Todas las formas de CA conocidas presentan Zn como componente estructural. (Basado en Badger, M.R. y Price, G.D., *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 45:369-392, 1994.)

croorganismos capaces de realizar este proceso de fijación, tanto en forma libre como en simbiosis (véase el Capítulo 16). También está implicado en la degradación de bases púricas como la adenina y la guanina, como constituyente de la enzima xantín deshidrogenasa oxidasa, responsable del catabolismo de aquéllas. Por último, parece estar implicado en la formación del ABA al ser parte estructural de la enzima que genera el ácido abscísico (véase el Capítulo 22).

Boro

A pesar de haber sido definido como esencial hace más de 80 años, el boro es probablemente el microelemento cuyo papel fisiológico y bioquímico en las plantas se conoce peor. Presenta, junto con el carbono, la química más interesante y diversa de los elementos; por ello, y por el hecho de que sólo parece ser esencial en plantas vasculares, diatomeas y cianobacterias filamentosas fijadoras de nitrógeno, pero no en bacterias en general, algas verdes, hongos y animales, no es extraño el interés que todavía despierta su estudio.

Dado que el 95% del boro se encuentra en las paredes celulares, se cree que su papel es básicamente estructural. El hecho de que las monocotiledóneas tengan menos necesidades de B y, al mismo tiempo, una fracción de pectinas inferior a la existente en las dicotiledóneas hace pensar que

el B está unido preferentemente a esta importante fracción de la pared. La capacidad para establecer enlaces éster entre el boro y los grupos *cis*-dioles explicaría la necesidad del microelemento en la estabilidad de la pared.

Al no formar parte estructural de ningún sistema enzimático o coenzimático, ya que no posee cambio de valencia, se pensó que el B podría estar implicado de forma directa en el funcionamiento de ellos. Sin embargo, se ha demostrado que la deficiencia de B libera de inhibición a la 6-P-gluconato deshidrogenasa al disminuir la concentración de complejos formados entre el B y la 6-P-gluconato. Todo ello determina una preponderancia de la vía de las pentosas sobre la glucólisis en el metabolismo de la glucosa, con la consiguiente acumulación de compuestos fenólicos, que son extremadamente tóxicos tanto en la raíz como en los tallos, incluso en concentraciones de 1 μM , lo que explicaría por sí solo el estrés que sufre la planta en condiciones de deficiencia de boro. Además, esta deficiencia va acompañada de un incremento en los niveles de auxinas (AIA), por una inhibición de la indolacético oxidasa producida por la acumulación de fenoles, ácido caféico y clorogénico, principalmente.

Por otra parte, el boro se ha relacionado con los principales procesos de la fisiología vegetal: división y crecimiento celular, germinación, regulación hormonal, etcétera. Así, las plantas con deficiencia en boro presentan una amplia gama de

BOX 6-2 BORO

En los últimos años se han acumulado pruebas que demuestran que el boro resulta esencial no sólo en plantas y bacterias, sino también en los animales, incluido el ser humano. Estos experimentos muestran que el boro es un elemento traza muy dinámico que afecta a una amplia gama de funciones biológicas, lo que sugiere un efecto pleiotrópico del microelemento.

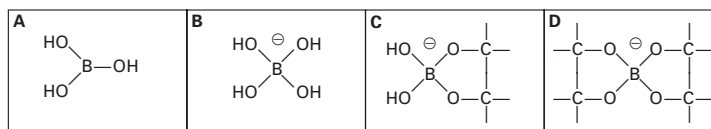


Figura. Estructura química del ácido bórico (A), el anión borato (B), las formas éster-diol (C, D).

Nuestra hipótesis sobre un papel primario del oligoelemento en los sistemas biológicos se basa en la estabilización de moléculas, algunas de ellas muy complejas, a través de la formación de enlaces éster con grupos *cis*-diol presentes en ellas, con independencia de la función biológica de dichas moléculas. Así, se ha demostrado que la presencia de boro es esencial para la estabilidad de la pared celular a través de su unión a restos de apiosa y la configuración del dímero borato-ramnogalacturonano (RG-II), componente clave de la fracción pectínica, así como para la estabilización de glicoproteínas estructurales de la pared celular (O'Neill, M.A., Eberhard, S., Albersheim, P. y Darvill, A.G., *Science* 294:846-849, 2001). El boro es también esencial como ligando en la molécula señal AI-2, identificada como un furanosil borato diéster, que permite el *quórum sensing* bacteriano (Chen, X. y cols., *Nature* 415:545-549, 2002), y en el *targeting* de vesículas o transporte transmembrana en el simbiosoma, estructura clave de la simbiosis del nitrógeno en las leguminosas (Bolaños, L., Cebrián, A., Redondo-Nieto, M., Rivilla, R. y Bonilla, I., *Molecular Plant-Microbe Interactions* 14:663-670, 2001).

Es muy posible que, debido a su pequeño volumen atómico y a su especial química con esta función de ligazón, con una gran capacidad para realizar enlaces químicos muy estables con grupos *cis*-dioles, el boro pueda interactuar con moléculas esenciales, como glicolípidos, glicoproteínas, fosfoinositoles y otras. En este sentido, se han propuesto distintas funciones para el boro, difíciles de confirmar dada su escasísima proporción, pero que resultan de enorme importancia: por ejemplo, la estabilización de los ciclos de ribosa en el RNA o la transducción de señales por su posible interacción con el fosfoinositol IP₃ o con el segundo mensajero GMP. La posible interacción con estas moléculas abre un amplio campo de investigación sobre este oligoelemento.

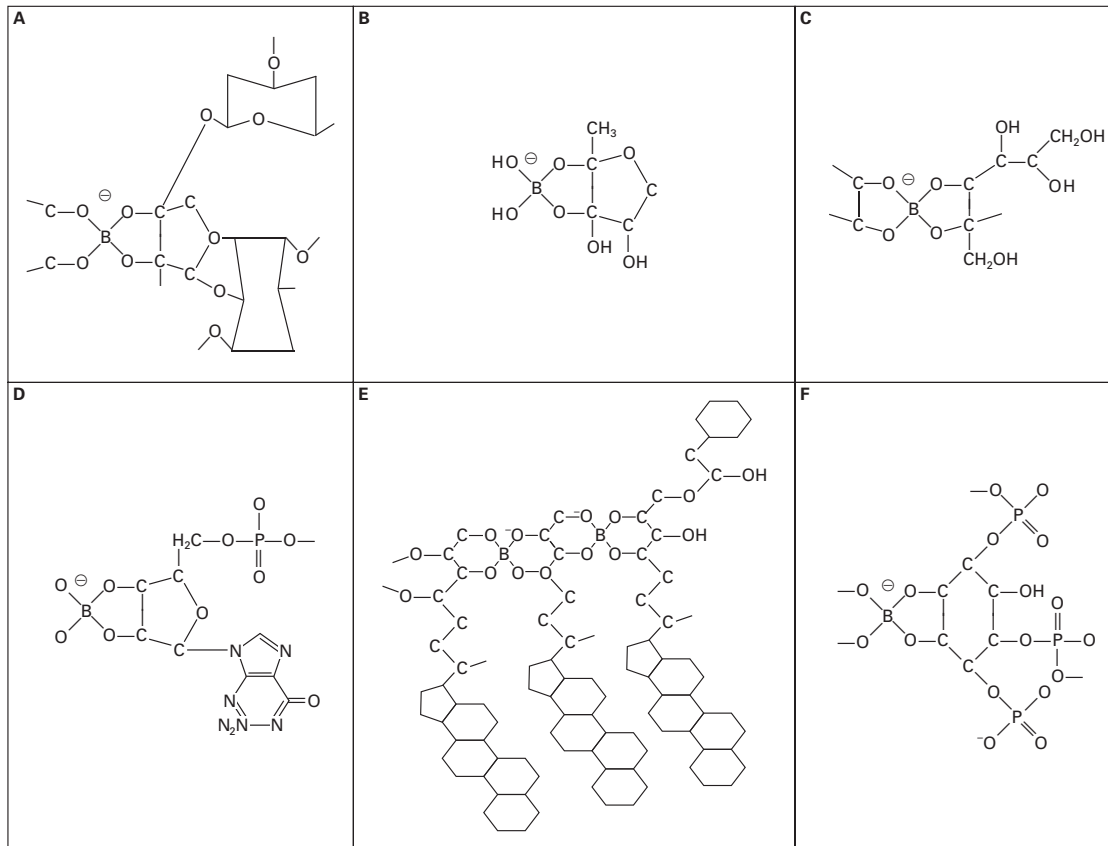


Figura. Lugares de unión del boro en las estructuras biológicas: pared celular, complejo borato-ramnogalacturonano, RG-II, **(A)**; molécula señal del quórum sensing bacteriano AI-2 **(B)**; complejo con sorbitol para el transporte del boro vía floema **(C)**; modelos hipotéticos de la unión del boro con el segundo mensajero GMP **(D)**; de la unión del boro con bacteriohopanoideos componentes de la cubierta de Frankia **(E)**, y con fosfoinositol IP-3 **(F)**.

(Esquemas adaptados de Bolaños, L., Lukaszewski, K., Bonilla, I. y Blevins, D., *Plant Physiology and Biochemistry* 42: 907-912, 2004.)

síntomas, dependiendo de la edad y del tipo de planta. Uno de los primeros signos de la deficiencia de B es, por ejemplo, la inhibición en el crecimiento y desarrollo de las raíces, tanto primarias como secundarias. La división celular en los tallos y en las hojas jóvenes cesa, y a ello le siguen la necrosis y la muerte de los meristemas, lo que se relaciona con su posible papel en la síntesis de uracilo precursor del RNA. Si a esto añadimos el hecho de que estimula el alargamiento del tubo polínico y la germinación, podemos comprender por qué los síntomas de la deficiencia de boro resultan tan llamativos. Así ocurre en el llamado «mal de corazón» de la remolacha azucarera, donde existe una raíz prácticamente hueca que impide la acumulación de sacarosa (Fig. 6-10). Actualmente existen datos sobre una relación B/Ca que debe desempeñar un papel importante no sólo a nivel estructural, sino también en la transducción de señales.

Cloro

El ion cloruro es ubicuo en la naturaleza y altamente soluble. Aunque como micronutriente es esencial para las plantas, su presencia, relacionada con más de 130 compuestos orgáni-

cos descritos en ellas, **habitualmente alcanza concentraciones** de macronutriente. Casi todas las plantas absorben entre 10 y 100 veces más Cl^- del que necesitan. Por otra parte, su solubilidad es alta, y en forma de anión se transporta tanto por el xilema como por el floema. Esta gran movilidad le confiere dos funciones principales:

1. Mantenimiento del gradiente de pH existente entre el citosol y la vacuola por activación de la Mg, Mn ATPasa del tonoplasto (Fig. 6-11).
2. Como soluto osmóticamente activo de gran importancia. Así, está implicado en el mecanismo de apertura/cierre de las estomas junto con el potasio (Fig. 6-5), y en diversos movimientos o nastias (véanse los Capítulos 3 y 24).

Sin embargo, el papel principal del Cl^- es su participación en la fotólisis del agua con emisión de oxígeno en el fotosistema II, demostrado muy tempranamente por Warburg, en 1944, aunque el mecanismo exacto todavía se desconoce (véanse los Capítulos 9 y 10). En cualquier caso, su presencia es imprescindible para la estabilidad del cloroplasto, probablemente como protector de la oxidación de los componentes lipoproteicos de las membranas tilacoides.



Figura 6-10. **A.** Cultivo de judía (*Phaseolus vulgaris*): la forma deficiente en B presenta menor desarrollo radicular y menor porte. Crecidas en condiciones de fijación de N_2 atmosférico e inoculadas con *Rhizobium*, también puede observarse un menor número de nódulos en la planta deficiente. **B.** El cultivo de vid (*Vitis vinifera*) se ve claramente afectado por la deficiencia de B, tanto en la floración como en la maduración del fruto y la producción de azúcar. **C.** El cultivo de remolacha azucarera (*Beta vulgaris*) es uno de los más sensibles a la deficiencia de B, presentando el llamado «mal de corazón», con raíces prácticamente huecas que arruinan la producción. Las plantas están crecidas con solución nutritiva en tiestos tipo Riviera.

Las deficiencias de cloro son raras en la naturaleza, dada su disponibilidad y su elevada solubilidad en los suelos; normalmente sólo pueden ser observadas en estudios realizados, muy cuidadosamente, con soluciones nutritivas. En una situación de deficiencia de Cl^- , el desarrollo de las raíces se ve muy reducido en su longitud, aunque se engrosan en las zonas apicales. Las hojas presentan un desarrollo reducido,

con manchones cloróticos y necróticos, llegando a presentar, a menudo, un color bronceado generalizado.

Níquel

El níquel ha sido añadido recientemente a la lista de elementos esenciales para las plantas. Es un elemento metálico (Ni) abundante en la naturaleza y siempre presente en los tejidos vegetales, aunque con valores muy bajos, de 0.05 a 5.0 $mg\ kg^{-1}$ de peso seco. Una de las principales dificultades para establecer su papel esencial son sus bajos requerimientos, que se han estimado en, aproximadamente, 200 μg para el ciclo vital completo de una planta, cantidad que puede encontrarse contenida, en muchos casos, en la semilla. Ante necesidades tan bajas, no resulta extraño que aunque no haya sido añadido de manera expresa a los medios de cultivo, las propias impurezas de las otras sales hayan cubierto las necesidades de las plantas estudiadas.

Los datos provienen de estudios realizados en cereales y legumbres, principalmente aquellas que desarrollan nódulos

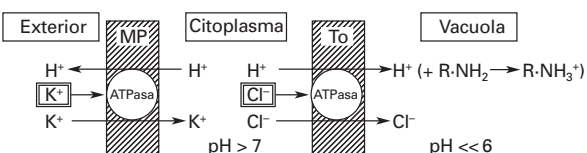


Figura 6-11. Relación existente entre la presencia de KCl y la actividad $ATPasa$ en células de la raíz. En la membrana plasmática (MP), la $ATPasa$ se ve activada por la presencia de K^+ y en el tonoplasto (To) por Cl^- .

determinados como la judía y la soja (véase el Capítulo 16). En estas leguminosas, la forma de transporte del NH_4^+ fijado en los nódulos de la raíz son los ureidos (ácido alantoico y citrulina, principalmente), los cuales se transportan por el xilema hasta las hojas y, también pasan, vía floema, de las hojas más viejas a las más jóvenes y a las semillas en desarrollo. El metabolismo de dichos ureidos implica la formación de urea, que sólo puede hidrolizarse en presencia de **ureasa**, enzima que contiene Ni. Si el metal no se encuentra presente, la concentración de urea aumenta y se comporta como un compuesto tóxico que produce necrosis en las puntas de las hojas. Como la degradación de las bases púricas (adenina, guanina) se produce en las plantas a través de los ureidos, parece probable que todas las plantas, y no sólo las leguminosas, presenten Ni, y en consecuencia lo necesiten para su funcionamiento. En este sentido, los experimentos realizados en la cebada, pese a que obligan a llegar a la tercera generación para obtener semillas incapaces de germinar y con importantes anomalías estructurales, demuestran que el Ni cumple el primer criterio de esencialidad de un nutriente.

En algunas microalgas verde-azules (cianobacterias), como *Oscillatoria*, concentraciones de $0.05 \mu\text{M}$ de Ni también resultan óptimas para el crecimiento, con independencia de la fuente de nitrógeno presente en el medio. Asimismo, diversas bacterias presentan una clara dependencia de la presencia de Ni, siendo la mejor conocida la de *Rhizobium*, especie en la que el Ni forma parte de la enzima hidrogenasa, responsable de la recuperación del hidrógeno implicado en el proceso de fijación de nitrógeno (Capítulo 16).

4. ELEMENTOS BENEFICIOSOS

Además de los 17 elementos esenciales descritos, algunas plantas presentan requerimientos adicionales. Dado que estos elementos suplementarios no son necesarios para la generalidad de las plantas, no se pueden considerar elementos esenciales, y por eso se definen como **elementos beneficiosos**. Otra posibilidad es que el elemento en cuestión sea capaz de suplir, al menos parcialmente, la falta de otro elemento esencial, o de aumentar la tolerancia en los excesos de absorción de algún otro u otros elementos, como sería el caso del silicio frente a concentraciones elevadas de Mn o Fe, habituales en los suelos ácidos en los que el silicio reduce los síntomas de toxicidad de estos elementos.

Sodio

Se encuentra como catión monovalente, Na^+ , y algunas plantas lo contienen en concentraciones más propias de un macronutriente (p. ej., las halófitas). Sin embargo, esto se debe a un mecanismo adaptativo de control osmótico, aunque en general se tiende a absorber selectivamente más potasio que sodio. Existen pruebas de su esencialidad como micronutriente en *Atriplex* y en algunas otras plantas pertenecientes al grupo de la C_4 , donde parece que interviene en el acoplamiento del

transporte de metabolitos, ácido pirúvico, entre el mesófilo y la vaina. Algo similar ocurre en las plantas CAM, si bien no resulta esencial para las plantas con fotosíntesis tipo C_3 . En las cianobacterias (microalgas verde-azules) existe un requerimiento específico de Na^+ , implicado en procesos clave como la fotosíntesis, el transporte de HCO_3^- y CO_2 , la absorción y asimilación de nitratos y fosfatos, y la fijación de nitrógeno en especies filamentosas con los heterocistos.

Silicio

El silicio es el segundo elemento más abundante en la corteza terrestre. No resulta extraño, pues, que muchas plantas lo absorban en grandes cantidades. El Si puede significar entre el 1 y el 2% de la materia seca del maíz, e incluso porcentajes superiores en pastos, y hasta el 16% en las cenizas de *Equisetum arvense*. Debido a su ubicuidad, resulta muy difícil realizar experimentos de deficiencia de Si, incluso en el laboratorio, por el material de boro-silicato que se utiliza habitualmente. Numerosos trabajos demuestran su esencialidad en las gramíneas, donde en forma de óxido hidratado ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) se acumula en la pared aumentando su impermeabilidad y la resistencia al ataque de los hongos, no sólo por constituir una barrera física, sino también por configurar compuestos silico-orgánicos que son muy estables frente a las enzimas de los patógenos (véanse el Capítulo 8 y la Fig. 8-8). Ese aumento de la resistencia mecánica de los tejidos en los cereales disminuye el denominado encamado de éstos. Asimismo, las algas diatomeas necesitan silicio para configurar sus cubiertas, de modo que es esencial para este grupo, al igual que sucede con el boro, también con valor de excepción.

Cobalto

Aunque el Co resulta esencial en los animales por su presencia en el núcleo de corrina de la cianocobalamina, vitamina B_{12} , no parece esencial en los vegetales, salvo para las leguminosas en condiciones de fijación de nitrógeno en simbiosis, si bien es el microorganismo el verdadero receptor de ese elemento. En el alga *Euglena* también resulta esencial; su deficiencia determina un descenso en la síntesis de RNA y DNA, por alteraciones en la síntesis de timina y ribósidos. Si en un principio se pensó que podría ser esencial en formas fijadoras de nitrógeno, concretamente en las cianobacterias, hoy se sabe que se requiere como otros bioelementos, pero no resulta esencial.

Aluminio

Se encuentra en muy bajas concentraciones en forma soluble, aunque es un elemento muy abundante en la corteza terrestre. A un pH inferior a 5 se solubiliza y puede afectar de forma muy negativa a un gran número de plantas. Es una de las principales consecuencias de las denominadas lluvias ácidas en muchas zonas de Europa Central. Sin embargo, en

pequeñas dosis puede ser altamente beneficioso porque, al igual que sucede en el caso del Si, reduce la toxicidad producida por el exceso de Ca, Mg o P.

Selenio

Aunque el selenio es generalmente tóxico para la mayoría de las plantas, existe un grupo de ellas, las denominadas plantas seleníferas (cuyo género más representativo es el *Astragalus*), que lo acumulan. Dado que entre las seleníferas existen varios cientos de especies, la diferencia entre ellas a la hora de acumular Se es muy grande. Algunas especies, como *A. racemosus*, pueden acumular Se por encima del 0.5% del peso seco, por lo que son peligrosas para el ganado, para el que pueden llegar a ser letales. Sin embargo, no está definitivamente establecido que el Se resulte esencial en estas plantas. El Se desplaza al azufre y configura seleno-aminoácidos del tipo selenometionina y selenocisteína. El primero de ellos, en su forma reticulada, es el principal depósito de Se en las plantas acumuladoras. En las bacterias se ha observado la presencia de selenoproteínas que contienen estos aminoácidos, que resultan esenciales al igual que en los animales, estando implicados en procesos de oxidorreducción.

Titanio

El titanio no cumple ninguno de los tres criterios establecidos por Arnon (1939) sobre la esencialidad de los elementos; sin embargo, se ha podido comprobar que, por ejemplo, en el pimiento (*Capsicum annuum* L.), bajo la forma de Ti (IV), incrementa la absorción de nutrientes y, en consecuencia, la producción de biomasa. Tiene también un efecto activador de pigmentos fotosintéticos, con una acumulación de Fe^{2+} (hierro activo) hasta cinco veces superior a la que presentan los orgánulos de las plantas sin tratar.

5. OTROS ELEMENTOS

Existen pruebas suficientes que demuestran la esencialidad del yodo (I) y el vanadio (V) en algas marinas y hongos, y en algas de agua dulce, respectivamente; sin embargo, en las plantas superiores estos datos son más imprecisos. En los últimos años se ha prestado un interés especial a las tierras raras, cerio (Ce), y lantano (La), principalmente. La mezcla de ambos elementos en dosis de micronutrientes se utiliza con aparente éxito en China como fertilizante foliar en diversos cultivos.

RESUMEN



- El conjunto de elementos o nutrientes que se consideran esenciales para las plantas son objeto central de la Fisiología Vegetal y constituyen la denominada nutrición mineral de las plantas, uno de los aspectos que más contribuyen a entender su funcionamiento.
- Sin embargo, su estudio es muy complejo, porque implica no sólo a fisiólogos vegetales sino también a bioquímicos, químicos inorgánicos, especialistas del suelo, microbiólogos y ecólogos.
- Hemos visto en primer lugar los criterios que definen a un elemento como esencial, haciendo especial mención de las soluciones nutritivas como método habitual de trabajo a la hora de definir tales elementos.
- Se explican las causas por las que se ha establecido una división entre macroelementos y microelementos, división basada en las necesidades cuantitativas específicas de las plantas. Asimismo, se resumen las razones de orden fisiológico, bioquímico o molecular que hacen esenciales a dichos bioelementos. Por último, se establecen las diferencias con los denominados elementos beneficiosos y se estudian éstos en detalle, al igual que un pequeño grupo de otros elementos implicados en la mejora de la producción vegetal.

PROBLEMAS Y CUESTIONES



- 1 ¿Cuándo se considera que un elemento es esencial para las plantas?
- 2 ¿Cuál es la diferencia entre elemento esencial y elemento beneficioso?
- 3 Enuncie los 17 elementos esenciales para las plantas superiores e indique, al menos, una razón de la esencialidad de 2 macroelementos y 3 microelementos.
- 4 Las deficiencias de Fe, Mg y N producen, todas ellas, clorosis; sin embargo, existen diferencias muy acusadas entre la que está producida por el Fe y la que se produce por el Mg y el N. Defina estas diferentes formas de clorosis y explique sus posibles causas.



PROBLEMAS Y CUESTIONES (Cont.)

- 5 En estos momentos existen 17 elementos definidos como esenciales para el crecimiento de las plantas. ¿Cree posible que algún otro elemento pueda añadirse a esta lista en el futuro? Razone la respuesta.
- 6 ¿Es posible que la cantidad de algún oligoelemento existente en el suelo provoque situaciones de toxicidad en la planta? Razone la respuesta.
- 7 ¿Qué microelemento es necesario para configurar la estructura funcional de la nitrato reductasa y de la nitrogenasa?
- 8 Explique el posible papel del Ca como segundo mensajero en la célula vegetal.
- 9 Cite tres elementos beneficiosos dando, al menos, una razón por la que lo son.
- 10 ¿Cuál es la razón por la que deben airearse las soluciones nutritivas empleadas en el crecimiento de plantas mantenidas sin soporte mecánico?



RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1 Un elemento se considera esencial:
 - a) cuando su ausencia determina la incapacidad de la planta para desarrollar un ciclo vital completo;
 - b) cuando no puede ser reemplazado por otro elemento mineral;
 - c) cuando está directamente implicado en el metabolismo, ya sea como componente de un metabolito, ya sea en el funcionamiento de una enzima.
- 2 La diferencia principal entre elementos esenciales y beneficiosos es que los últimos no son necesarios para la generalidad de las plantas.
- 3 Macroelementos: C, O, H, N, P, K, S, Ca y Mg.
 Microelementos: Cu, Zn, Mn, Fe, B, Cl, Mo, Ni.
 Mg: biosíntesis de clorofila.
 K: osmorregulación, apertura y cierre estomáticos.
 Mn: transporte de electrones entre el fotosistema II y el agua.
 Zn: relacionado con la concentración de auxinas.
 Cu: relacionado con la estructura de la plastocianina.
- 4 La clorosis ocasionada por una deficiencia de hierro se presenta exclusivamente entre las venas de las hojas jóvenes, mientras que la clorosis producida por una deficiencia tanto de magnesio como de nitrógeno se desarrolla principalmente en las hojas viejas. Esto se debe a que la movilidad del hierro en la planta es menor que la del magnesio y la del nitrógeno.
- 5 Sí, es posible que llegue a ampliarse esta lista, dada la precisión y la sensibilidad de las técnicas de medida actuales, así como la pureza de las sales minerales utilizadas en la producción de las soluciones nutritivas. Todo ello nos permite detectar las necesidades de un elemento, por pequeñas que sean.
- 6 Sí, podemos encontrar situaciones de toxicidad de un oligoelemento, como ocurre en el caso del boro, que tiene un margen de normalidad muy estrecho y, en consecuencia, se puede pasar fácilmente de situaciones de deficiencia a situaciones de toxicidad.
- 7 El oligoelemento es el molibdeno.
- 8 El calcio puede actuar como segundo mensajero de ciertas hormonas, como respuesta a los cambios ambientales; estaría implicado en la fosforilación de proteínas tales como las quininas, que desempeñan un papel clave en la transducción de señales en la planta.
- 9 Na: regula el acoplamiento del transporte de metabolitos en las plantas C4.
 Si: aumenta la resistencia al ataque de los hongos, fundamentalmente en gramíneas.
 Ti: incrementa la absorción de nutrientes.
- 10 Las soluciones nutritivas deben ser burbujeadas con aire para evitar la anoxia que inhibe la respiración de las células de la raíz y reduce la absorción de nutrientes.

**BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA**

1. Barceló J, Nicolás G, Sabater B *et al.* Nutrición mineral. En: *Fisiología Vegetal*. 9ª ed. Madrid, Ediciones Pirámide, 2001; 150-167.
2. Clarkson DT. Factors affecting mineral nutrient acquisition by plants. *Annual Review of Plant Physiology* 1985; 36:77-115.
3. Epstein E, Bloom AJ. *Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives*. Sinauer Associates, Inc. Publishers, 2005.
4. Gil F. Nutrición mineral. En: *Elementos de Fisiología Vegetal*. Madrid-México-Barcelona, Ediciones Mundi-Prensa, 1995; 249-283.
5. Guardiola JL, García A. Absorción, transporte y metabolismo de los elementos minerales. En: *Fisiología Vegetal I: Nutrición y Transporte*. Madrid, Editorial Síntesis, 1990; 201-294.
6. Hopkins WG. Plants and inorganic nutrients. En: *Introduction to Plant Physiology*. New York, John Wiley & Sons, 1995; 66-80.
7. Marschner H. *Mineral Nutrition in Higher Plants*, 2ª ed. London, Academic Press, 1995.
8. Mengel K, Kirkby EA (eds.). *Principles of Plant Nutrition*. 5ª ed. Kluwer, Academic Press, 2001.
9. Salisbury FB, Ross CW. Mineral nutrition. En: *Plant Physiology*. 4ª ed. California, Wadsworth International, 1992; 96-113.
10. Taiz L, Zeiger E. Mineral nutrition. En: *Plant Physiology*. 4ª ed. Sinauer Associates, Inc., 2006.

Absorción y transporte de nutrientes minerales

JOSÉ ANTONIO FERNÁNDEZ, MARÍA JESÚS GARCÍA SÁNCHEZ Y JOSÉ MARÍA MALDONADO



1. Introducción. 2. Criterio termodinámico para distinguir entre transporte activo y pasivo. 3. Cinéticas del transporte activo y pasivo. 4. Energética de las membranas vegetales. 5. Papel de las bombas primarias en la generación del potencial de membrana. 6. Transporte secundario de iones. 7. Transporte de agua a través de acuaporinas. 8. Transporte a través de membranas y señalización. 9. Sistemas redox del plasmalema. 10. Flujo de iones en la raíz. 11. Visión molecular de bombas, canales y transportadores.

1. INTRODUCCIÓN

Las plantas terrestres toman del suelo los componentes esenciales de su biomasa, a excepción del carbono. Macronutrientes y micronutrientes son incorporados desde la solución salina del suelo hasta el interior de las células, donde son almacenados, metabolizados o transportados a otras células, tejidos u órganos.

Una característica que comparten todas las células vivas es su capacidad para mantener en su interior iones y moléculas notablemente fuera del equilibrio. Esa propiedad se debe, en gran medida, a las características estructurales y funcionales de la membrana plasmática, denominada **plasmalema** en las células vegetales (véase el Capítulo 1). El plasmalema es algo más que una doble capa lipídica compuesta por diferentes fosfolípidos y esteroides; contiene distintos tipos de proteínas, algunas de ellas con una marcada actividad enzimática, a través de las cuales existe un continuo tráfico de iones que permite a las células incorporar y acumular nutrientes, excluir iones o sustancias tóxicas, o intervenir en diversas respuestas a los estímulos hormonales o medioambientales.

No todos los iones son transportados a través del plasmalema de la misma forma ni a través del mismo tipo de proteína. Algunos son transportados y acumulados en condiciones cercanas al equilibrio, otros se transportan y se acumulan muy por encima o muy por debajo del equilibrio. En el primer caso se habla de **transporte pasivo** o **difusivo**; en el segundo, de **transporte activo**.

2. CRITERIO TERMODINÁMICO PARA DISTINGUIR ENTRE TRANSPORTE ACTIVO Y PASIVO

Un ion se mueve de forma pasiva si lo hace a favor de la fuerza física que actúa sobre él, denominada **fuerza ion motriz**. En cambio, un ion es transportado de forma activa si su movimiento se realiza en contra de dicha fuerza, para lo cual las células vivas emplean energía metabólica. Para distinguir ambos tipos de transporte es imprescindible saber calcular la fuerza ion motriz. Como se verá más adelante, la fuerza ion motriz es la diferencia entre el **potencial de membrana** de las células y el **potencial de Nernst** para el ion problema.

2.1. La ecuación de Nernst expresa asimetrías de concentración de iones en términos de voltaje

Los iones tienden a moverse cuando hay una fuerza que los empuja. La energía asociada a un ion (j) depende, aparte de sus características intrínsecas, de su concentración (C_j) y de las condiciones eléctricas que existen allí donde se encuentra (ψ). La suma de esos tres componentes se denomina potencial electroquímico ($\tilde{\mu}_j$), y cuantifica la capacidad de trabajo (o energía libre) que posee un ion:

$$\tilde{\mu}_j = \tilde{\mu}_j^* + RT \ln C_j + zF\psi$$

donde $\tilde{\mu}_j^*$ es el potencial electroquímico en condiciones estándar; R , la constante de la ecuación general de los gases ($8.31 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$); T , la temperatura absoluta (K); z , la carga del ion; F , la constante de Faraday ($96.5 \text{ J mol}^{-1} \text{ mV}^{-1}$) y ψ , el campo eléctrico en que se encuentra el ion. Por tanto, las unidades en que se expresa el potencial químico son J mol^{-1} .

Si se tienen dos compartimientos «e» e «i», separados por una membrana semipermeable y el ion está en equilibrio termodinámico, los potenciales electroquímicos en ambos compartimientos son iguales (Fig. 7-1):

$$\tilde{\mu}_j^i = \tilde{\mu}_j^e$$

Así pues, puede formularse la siguiente ecuación:

$$\tilde{\mu}_j^* + RT \ln C_j^i + zF \psi^i = \tilde{\mu}_j^* + RT \ln C_j^e + zF \psi^e$$

Agrupando los términos eléctricos a la izquierda y los de concentración a la derecha, la expresión anterior puede simplificarse:

$$zF (\psi^i - \psi^e) = RT (\ln C_j^e - \ln C_j^i)$$

y, por tanto,

$$E_j^N = \frac{RT}{zF} \ln \frac{C_j^e}{C_j^i}$$

Esta ecuación es una de las más citadas en la literatura biológica, y se denomina **ecuación de Nernst**. El término $\psi^i - \psi^e$ es la diferencia de potencial eléctrico entre los dos compartimientos o, potencial de membrana, con el que el ion «j» estaría en equilibrio; se denomina **potencial de Nernst**, que se abrevia E_j^N y se expresa en mV. Para facilitar los cálculos es frecuente formular la ecuación con logaritmos decimales:

$$E_j^N = \frac{RT}{zF} 2.303 \log_{10} \frac{C_j^e}{C_j^i}$$

Así, para un ion catión monovalente ($z = +1$), y a una temperatura de $20 \text{ }^\circ\text{C}$, RT/zF vale 25.2 mV y, multiplicado por 2.303, se obtiene un valor de 58 mV .

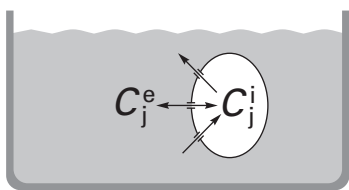


Figura 7-1. Esquema de dos compartimientos, uno exterior («e») y otro interior («i»), separados por una membrana semipermeable, a través de la cual el ion «j» puede fluir hasta alcanzar el equilibrio termodinámico.

Esta ecuación puede leerse de izquierda a derecha o de derecha a izquierda. En el primer caso, si se tiene un potencial de referencia, puede calcularse la asimetría de concentración de un ion que existiría entre ambos compartimientos en equilibrio con dicho potencial. En el segundo caso, esta ecuación permite, a partir de una asimetría de concentración, calcular un potencial con el cual el ion «j» estaría en equilibrio termodinámico. Es decir, la ecuación de Nernst permite expresar un cociente de concentraciones como potencial eléctrico, y viceversa. Nótese que una variación de diez veces en la asimetría de un ion monovalente significa una variación de 58 mV en el potencial de Nernst. Es ilustrativo pensar que una asimetría de $1/100$ para un catión monovalente, como el K^+ , estaría en equilibrio con un potencial de -116 mV . En cambio, una asimetría similar se mantiene para un catión bivalente, como el Ca^{2+} , con sólo -58 mV . Para un anión monovalente como el Cl^- , un potencial de -116 mV mantendría una asimetría $100/1$. Es evidente que un compartimiento cargado negativamente (interior con respecto al exterior) tiende a acumular iones positivos y a excluir iones negativos.

2.2. La fuerza ion motriz es la diferencia entre el potencial de membrana y el potencial de Nernst

En los sistemas vivos, la mayoría de los iones no está en equilibrio. La magnitud de la desigualdad puede calcularse a partir de la diferencia entre el potencial electroquímico de un ion en los dos compartimientos involucrados. El **gradiente de potencial electroquímico** sería la diferencia entre ambos compartimientos, y se calcula entre el compartimiento interno (interior de la célula) y el externo:

$$\Delta\tilde{\mu}_j = [\tilde{\mu}_j^* + RT \ln C_j^i + zF \psi^i] - [\tilde{\mu}_j^* + RT \ln C_j^e + zF \psi^e]$$

Agrupando los términos eléctricos y de concentración, se obtiene:

$$\Delta\tilde{\mu}_j = [zF (\psi^i - \psi^e)] - [RT \ln \frac{C_j^e}{C_j^i}]$$

En esta última expresión, según la ecuación de Nernst, $RT \ln C_j^e/C_j^i$ puede ser sustituido por su valor expresado en términos eléctricos: $E_j^N zF$, es decir:

$$\Delta\tilde{\mu}_j = [zF (\psi^i - \psi^e)] - [E_j^N zF]$$

donde $\psi^i - \psi^e$ es la diferencia de potencial eléctrico que existe entre ambos compartimientos, o **potencial de membrana** (E_m), y puede medirse independientemente. Finalmente, la expresión quedaría así:

$$\Delta\tilde{\mu}_j/F = z(E_m - E_j^N)$$

El gradiente de potencial electroquímico para un ion, o fuerza ion motriz, expresado en mV ($\Delta\tilde{\mu}_j/F$), es la dife-

rencia entre el potencial de membrana (E_m) y el potencial de Nernst (E_j^N) para el ion, multiplicado por la carga de dicho ion. Nótese que cuando el potencial de Nernst para un ion y el potencial de membrana son iguales, el gradiente de potencial electroquímico es cero y el ion está en equilibrio. Sin embargo, cuando el potencial de membrana es distinto al potencial de Nernst, el ion no está en equilibrio y la fuerza ion motriz puede adquirir signo negativo o positivo. Si el signo de la fuerza ion motriz es positivo, el ion tenderá a salir del compartimiento «i», mientras que si es negativo, tenderá a entrar en dicho compartimiento (Fig. 7-2).

El transporte pasivo o difusivo de un ion se produce a favor del gradiente de potencial electroquímico o fuerza ion motriz. El transporte pasivo implica, asimismo, que el ion tiende a acumularse en las células en una concentración próxima al equilibrio para un potencial de membrana determinado. La razón de ello es que el transporte pasivo tiende a igualar el potencial de Nernst del ion que se mueve (E_j^N) con el potencial de membrana (E_m). Una variación en la concentración externa o interna determina una nueva reorganización de las concentraciones a ambos lados de la membrana hasta alcanzar, de nuevo, el equilibrio.

En una situación real (p. ej., si consideramos una célula de la raíz), la concentración de un determinado ion en el suelo cambia continuamente debido a la dilución, la adsorción, el transporte y la movilización. Al mismo tiempo, dentro de la célula la concentración también cambia, debido principalmente al transporte (dentro o fuera de la célula) o al metabolismo. En una célula viva, el equilibrio para un ion es una situación dinámica en la que el ion fluye continuamente a través del plasmalema.

No obstante, es importante tener en cuenta que hay muy pocos iones que se comporten de esa forma. Un ejemplo podría ser el del K^+ , cuando hay una cantidad suficiente en el suelo. En todas las plantas, y para casi todos los nutrientes, el potencial de membrana siempre es más negativo que el potencial de Nernst, lo que los sitúa fuera del equilibrio.

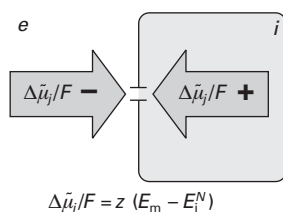


Figura 7-2. El gradiente de potencial electroquímico para el ion «j», o fuerza ion motriz, es la diferencia entre el potencial de membrana (E_m) y el potencial de Nernst (E_j^N), multiplicada por la carga del ion (z). Cuando esta variable adquiere un valor positivo, el ion está sometido a una fuerza física que tiende a sacarlo del compartimiento «i». Cuando tiene valor negativo, el ion se ve empujado a entrar en «i».

En el caso del transporte activo, el ion se mueve en sentido opuesto al de la fuerza física que actúa sobre él, es decir, en contra del gradiente de potencial electroquímico o fuerza ion motriz. La existencia de este tipo de transporte es esencial para las células vegetales, pues para que el funcionamiento de las principales rutas metabólicas sea adecuado es necesario que las concentraciones internas de muchos iones o moléculas estén muy por encima o por debajo de la concentración interna de equilibrio.

A través de las membranas vegetales también se transportan moléculas sin carga (por ejemplo, sacarosa). El criterio termodinámico para distinguir entre transporte activo y pasivo es el mismo, salvo que en la expresión de la energía asociada al soluto el término eléctrico es cero ($z = 0$; $zF\psi = 0$). El soluto se desplazaría de manera pasiva a favor de su gradiente de potencial químico, mientras que para desplazar la molécula en contra del gradiente habría que aplicar energía asociada a un ion motriz (protones, en el caso de la sacarosa).

3. CINÉTICAS DEL TRANSPORTE ACTIVO Y PASIVO

A finales de la década de los cincuenta, Emanuel Epstein, uno de los pioneros del estudio del transporte de iones en las plantas, observó que en las raíces de la cebada el K^+ se transportaba de dos formas distintas en función de la concentración externa. Cuando la concentración externa de KCl era inferior a 0.2-0.5 mM, los incrementos en la concentración externa de K^+ generaban un aumento muy rápido de la tasa de incorporación que, no obstante, se saturaba a medida que la concentración externa de K^+ crecía. La velocidad de incorporación sólo se incrementaba de nuevo si se añadían concentraciones de K^+ bastante más altas, y seguía creciendo hasta alcanzar una concentración de KCl de 50 mM. Este tipo de **cinética** de incorporación se denominó **bifásica** (Fig. 7-3).

Basándose en el estudio cinético de la incorporación de K^+ , Epstein propuso la existencia de dos mecanismos de transporte. El primero, que denominó de tipo 1, sería capaz de extraer K^+ del suelo en concentraciones muy bajas, y sería saturable. El segundo, que funcionaría con concentraciones de K^+ altas, se denominó de tipo 2 (Fig. 7-3). Este último, con el margen habitual de concentraciones en el suelo, presentaría una cinética prácticamente lineal y sólo se saturaría con concentraciones de K^+ muy altas. Una de las contribuciones más importantes de Epstein fue aplicar el modelo de análisis de la cinética enzimática al transporte iónico. Así, observó que la cinética descrita para el mecanismo 1 se ajustaba a una curva de Michaelis-Menten:

$$v = V_{\text{máx}} S / (K_m + S)$$

donde v y $V_{\text{máx}}$ serían la velocidad de incorporación y la máxima velocidad de incorporación del ion, respectivamente; K_m sería la concentración iónica en el medio externo

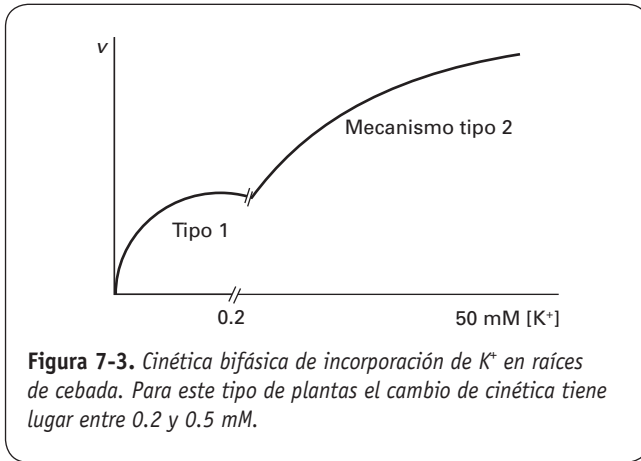


Figura 7-3. Cinética bifásica de incorporación de K^+ en raíces de cebada. Para este tipo de plantas el cambio de cinética tiene lugar entre 0.2 y 0.5 mM.

que produce una velocidad de incorporación igual a la mitad de la máxima, y S sería la concentración del ion en el medio externo. La evidente analogía con los sistemas enzimáticos sugería que el transporte iónico de tipo 1 podría estar mediado por proteínas de membrana que tendrían una relación de especificidad por los iones similar a la que existe entre una enzima y el sustrato. En lugar de catalizar su transformación en producto, las proteínas de transporte catalizarían el tránsito de los iones de un lado a otro de las membranas. Este tipo de proteínas recibió el nombre de **transportadores** (*carriers*) o **permeasas**, y su actividad se relacionó con el transporte activo.

El mecanismo de tipo 2, mucho menos específico y mucho más dependiente de la concentración externa, se asoció al transporte pasivo (difusivo). No obstante, algunos autores de la época, utilizando métodos más específicos, fueron capaces de resolver el componente lineal en más de una cinética y denominaron a la cinética, globalmente, **multifásica**, lo que parecía sugerir un esquema más complejo.

Gracias a los estudios de Epstein se habló por primera vez de afinidad en referencia a los sistemas de transporte, variable que, como se verá en el Capítulo 8, es de extraordinaria importancia para explicar correctamente el uso de los recursos minerales del suelo, la competencia y la productividad de las especies vegetales.

4. ENERGÉTICA DE LAS MEMBRANAS VEGETALES

El transporte de solutos, ya sea pasivo o activo, requiere energía, física en el primer caso y metabólica en el segundo. En una célula, la fuente de energía es el metabolismo, que produce energía química y poder reductor. La energía metabólica se transforma en energía útil para el transporte de solutos en las membranas gracias a la actividad de las **bombas primarias**. Estas bombas son proteínas de membrana que mueven iones (masa y carga) en contra de su gradiente de potencial electroquímico, utilizando energía metabólica y generando gradientes tanto de concentración como eléctricos. El transporte de iones que tiene lugar a través de las bombas primarias se denomina **transporte primario**. De-

bido a la capacidad de las bombas primarias para generar diferencias de potencial eléctrico al tiempo que catalizan la hidrólisis del ATP, las bombas primarias reciben el nombre de **electroenzimas**.

La bomba primaria de las células animales es la bomba Na^+K^+ que impulsa la salida de tres iones Na^+ y la entrada de dos iones K^+ consumiendo ATP (Fig. 7-4). La energía contenida en el enlace rico en energía del ATP se acumula en la membrana, generando al mismo tiempo un gradiente de concentración de iones Na^+ y K^+ y cargando la membrana negativamente en su interior. La entrada de K^+ compensa parcialmente el déficit de carga positiva del citoplasma que produce la salida de Na^+ , y ello hace que la actividad de la Na^+K^+ ATPasa de las células animales sea poco electrogénica. La energía acumulada asociada al Na^+ puede expresarse, por tanto, como el gradiente de potencial electroquímico para el Na^+ o fuerza Na^+ motriz, en la que el componente asociado a la asimetría de concentración de Na^+ es más importante que el componente eléctrico.

4.1. La bomba primaria que carga de energía al plasmalema es una ATPasa de protones

Las células vegetales no tienen bombas Na^+K^+ . La bomba primaria del plasmalema es una bomba de protones que los extrae del citoplasma y los vierte al exterior consumiendo ATP (**ATP fosfohidrolasa de protones** o **H^+ -ATPasa**) (Figs. 7-4 y 7-5). En el caso de las membranas vegetales, la energía metabólica se acumula en forma de asimetría en la concentración de H^+ y como diferencia de potencial eléctrico entre el citoplasma y el exterior, es decir, como gradiente de potencial electroquímico de protones o fuerza H^+ motriz:

$$\Delta\tilde{\mu}_{H^+}/F = E_m - E_{H^+}^N$$

En el caso de las células vegetales, el componente eléctrico es mucho más importante que la asimetría de concen-

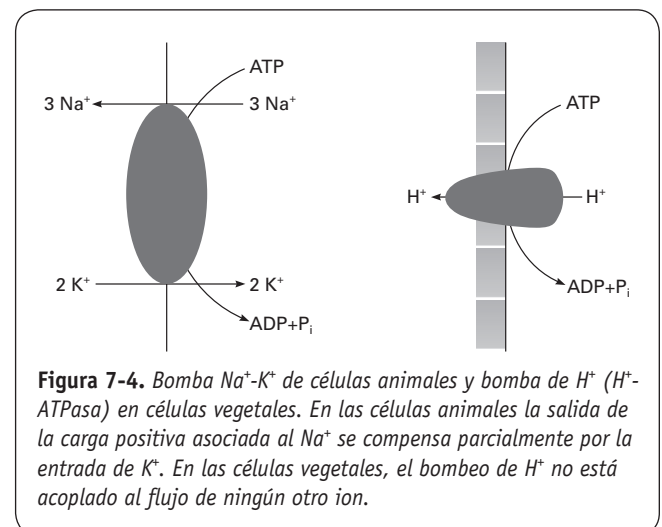


Figura 7-4. Bomba Na^+K^+ de células animales y bomba de H^+ (H^+ -ATPasa) en células vegetales. En las células animales la salida de la carga positiva asociada al Na^+ se compensa parcialmente por la entrada de K^+ . En las células vegetales, el bombeo de H^+ no está acoplado al flujo de ningún otro ion.

tración, por dos razones. En primer lugar, en el funcionamiento de la H^+ -ATPasa no existe un flujo asociado de otro ion que compense, ni siquiera parcialmente (como en las células animales), el déficit de carga positiva del citoplasma. Esto hace que el potencial de membrana de las células vegetales sea muy negativo, entre -160 y -250 mV según la especie. En segundo lugar, la asimetría de protones que genera la bomba se disipa parcialmente debido a la capacidad amortiguadora del medio externo, por un lado, y a los mecanismos de homeostasis del pH del citoplasma, por otro (véanse el apartado 8.2 y la Fig. 7-5).

En la literatura bioquímica, las H^+ -ATPasas del plasmalema se denominan de **tipo P** porque forman una unión covalente con el fosfato, proveniente del ATP, durante cada ciclo de bombeo de H^+ al exterior. Debido a la particular unión con el P_i durante la catálisis, las H^+ -ATPasas del plasmalema son sensibles a la presencia de ortovanadato, ya que este ion bloquearía el lugar de unión para el fosfato. En vesículas aisladas del plasmalema, la presencia de este ion en concentraciones de orden micromolar (μM) inhibe la actividad de la bomba, si bien *in vivo* la inhibición es mucho más pequeña debido, probablemente, a la escasa permeabilidad de las membranas a este ion. Por esta razón, cuando se pretende lograr la inhibición de la bomba se utilizan inhibidores de la respiración (cianuro o azida, por ejemplo), que interrumpen el suministro de ATP a la bomba incluso en células fotosintéticas iluminadas. Es importante destacar que la actividad

de la H^+ -ATPasa y, en consecuencia, el E_m de las células vegetales, sean fotosintéticas o no, se mantiene en la oscuridad; por tanto, al igual que en las células animales, el ATP que usan proviene mayoritariamente del metabolismo respiratorio (véase el Capítulo 14). La H^+ -ATPasa del plasmalema se activa en dos pasos: la fosforilación del penúltimo residuo aminoacídico y la posterior unión a la proteína reguladora 14-3-3 (Fig. 7-6; véase también el apartado 8.1). La fitotoxina *fusicocina* es un agonista de la H^+ -ATPasa del plasmalema porque estabiliza de manera irreversible la unión con dicha proteína. Concentraciones micromolares de fusicocina hiperpolarizan de manera crónica el potencial de membrana de las plantas; sin embargo, la H^+ -ATPasa de los hongos es insensible a dicha toxina.

Algunos hongos, cuando se adaptan a un medio alcalino y con Na^+ , expresan una bomba primaria en la que el flujo de salida de Na^+ está acoplado a la entrada de H^+ con consumo de ATP. El funcionamiento de esta **bomba de sodio** es simultáneo al funcionamiento de la H^+ -ATPasa de la membrana citoplasmática, y la bomba es electroneutra, es decir, no contribuye al E_m . Su función está relacionada con la disminución de la concentración interna de Na^+ , que entra de forma pasiva a través de los canales de K^+ .

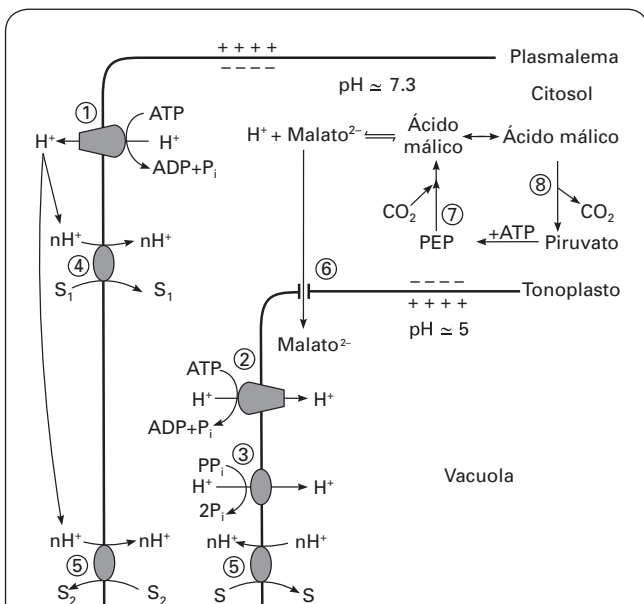


Figura 7-5. Flujo de protones y regulación del pH citoplasmático de una célula vegetal. 1) H^+ -ATPasa de tipo P, bomba primaria que transforma la energía metabólica (ATP) en fuerza protón motriz ($\Delta\tilde{\mu}_{H^+}/F$) en el plasmalema. 2) H^+ -ATPasa, tipo V, del tonoplasto. 3) Pirofosfatasa. 4) Sistema de cotransporte (simporte). 5) Sistema de transporte invertido o antiporte. 6) Canal aniónico permeable al malato. 7) Fosfoenolpiruvato carboxilasa. 8) Enzima málica.

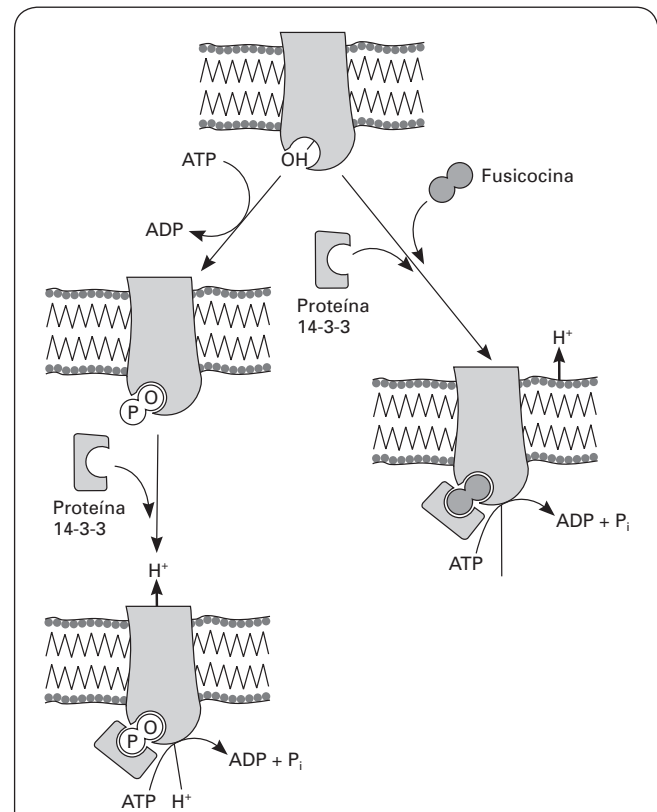


Figura 7-6. Esquema del mecanismo de activación de la H^+ -ATPasa de protones del plasmalema. La activación tiene lugar tras la unión de la molécula fosforilada de la enzima a una proteína 14-3-3. La presencia de fusicocina estabiliza dicha unión, que hiperpolariza la membrana de la planta de manera crónica.

El alga verde marina *Acetabularia* constituye una excepción entre los vegetales porque, en lugar de una bomba de protones, emplea, como sistema para cargar de energía al plasmalema, una Cl^- -ATPasa que emplea ATP en el transporte electrogénico de Cl^- . Aunque esta bomba ha sido bien caracterizada desde el punto de vista funcional, aún no se conoce bien el sistema de reciclado del Cl^- . Algunos autores sugieren que la salida de Cl^- del citoplasma se produce coincidiendo con despolarizaciones periódicas que se producen espontáneamente en esta especie y parecen coincidir con disminuciones en la turgencia. Otros sostienen que el Cl^- es acumulado en vesículas intracelulares y liberado al medio por exocitosis.

4.2. Las bombas primarias del tonoplasto son una ATPasa de protones y una pirofosfatasa

El **tonoplasto** es la membrana que delimita la vacuola. Aunque se sabe desde hace mucho que la vacuola es el compartimiento en el que las células vegetales almacenan agua y solutos (véanse los Capítulos 1 y 2), sólo desde hace relativamente poco tiempo se conocen los mecanismos, asociados al tonoplasto, responsables de dicha función.

La fuerza que impulsa la acumulación de agua y la génesis de turgencia en las células vegetales es osmótica (véase el Capítulo 2). A su vez, el origen del potencial osmótico es la acumulación de iones, principalmente K^+ , en la vacuola. La energía que se emplea en el tonoplasto para mover iones está asociada a la actividad de bombas primarias. En el tonoplasto existen dos tipos de bomba primaria que bombean protones hacia el interior de la vacuola (Fig. 7-5); por esta razón, el lumen vacuolar es típicamente ácido y positivo. Las mediciones directas del pH de la vacuola con microelectrodos indican que se encuentra alrededor de 5, aunque en los frutos de algunos cítricos puede ser más ácido (pH 2), e incluso hay organismos vegetales que pueden llegar a tener un pH de 1, como es el caso del alga parda marina *Desmarestia*, que acumula gran cantidad de SO_4^{2-} en forma de ácido sulfúrico. El potencial de membrana que soporta el tonoplasto es mucho menor que el que soporta el plasmalema, y oscila, según especies, entre 5 y 30 mV (dentro de la vacuola positivo).

De las dos bombas de protones del tonoplasto, una tiene actividad ATPasa y la otra, pirofosfatasa (Fig. 7-5). La **H^+ -ATPasa** de la vacuola difiere de la (P) H^+ -ATPasa del plasmalema en su estructura, mecanismo de reacción y relación con los inhibidores. Se denomina de **tipo V** y se parece mucho a otras bombas de protones presentes en las endomembranas de las células eucariotas. Mientras que las H^+ -ATPasa de tipo P, presentes en el plasmalema, son un polipéptido simple de unos 100 kDa, las ATPasa del tipo V se componen de un complejo que atraviesa la membrana proporcionando un poro para los protones y una fracción externa, fácilmente separable de la primera, donde reside la capacidad para hidrolizar ATP. Se parecen a las ATPasas que existen en los tilacoides y en la membrana interna de la mitocondria (que

se denominan de tipo F; véanse los Capítulos 9, 10 y 14) y, por eso, se cree que tienen un origen común.

La **pirofosfatasa** de la vacuola (H^+ -PP_iasa) también cataliza el transporte de H^+ al interior de la vacuola, pero emplea pirofosfato (PP_i) como fuente de energía (Fig. 7-5). Esta enzima, exclusiva de las plantas, se compone de un polipéptido simple de unos 80 kDa y su actividad requiere la presencia indispensable de Mg^{2+} y K^+ . El papel fisiológico de la H^+ -PP_iasa está aún por determinar. ¿Por qué existen dos bombas primarias en una membrana con (aparentemente) la misma función? Algunos autores sugieren que sirve para acumular la energía asociada al PP_i como fuerza motriz en el tonoplasto, lo que ayudaría a estabilizar los niveles citoplasmáticos de PP_i en equilibrio con la actividad de otras enzimas relacionadas. La generación de PP_i es especialmente elevada en los tejidos en crecimiento, donde se ha encontrado que la actividad H^+ -PP_iasa es mayor que en los tejidos maduros. Así, la hidrólisis de PP_i mantendría el intenso transporte de protones necesario para la acumulación de solutos en la vacuola y, por tanto, para la expansión celular. En el tejido maduro, la H^+ -ATPasa asumiría ese papel, aunque ambas bombas permanecerían activas.

4.3. Otras bombas primarias presentes en el plasmalema, el tonoplasto y otras endomembranas tienen como principal función el transporte de iones o moléculas

Además de la H^+ -ATPasa, las plantas poseen en el plasmalema otros tipos de bomba primaria. En primer lugar, existe una **Ca^{2+} - H^+ -ATPasa** que extrae Ca^{2+} del citoplasma al tiempo que incorpora H^+ en un proceso igualmente dependiente de ATP (Fig. 7-7). Esta bomba, al igual que la H^+ -ATPasa, es de tipo P, ya que el bombeo de Ca^{2+} requiere la formación de un intermediario fosfatado durante la catálisis. La contribución de esta bomba a la acumulación de energía en el plasmalema es muy pequeña porque, además de ser menos electrogénica que la H^+ -ATPasa, es mucho menos activa que ésta. Su función es evacuar Ca^{2+} del citoplasma, manteniendo así su concentración en torno a 0.1 μM en este compartimiento celular. Las Ca^{2+} -ATPasas están presentes también en la membrana interna del cloroplasto y en las membranas del retículo endoplasmático, de forma que contribuyen al almacenamiento de Ca^{2+} dentro de estos orgánulos y a su retirada del citoplasma (véase el apartado 8.2; Fig. 7-7). Estas bombas, junto con otras proteínas transportadoras de calcio, desempeñan un papel fundamental en la transmisión de señales dentro de la célula vegetal (véase el Capítulo 18).

Recientemente se han descrito otras bombas de tipo P que están presentes en el plasmalema. Estas bombas se han denominado P_{1B}-ATPasas y, al igual que las Ca^{2+} -ATPasas, se han encontrado en otras membranas, como el tonoplasto o las membranas cloroplastídicas. Son capaces de transportar metales de transición que son esenciales para las plantas, como Cu, Zn o Mn, en contra de su gradiente de poten-

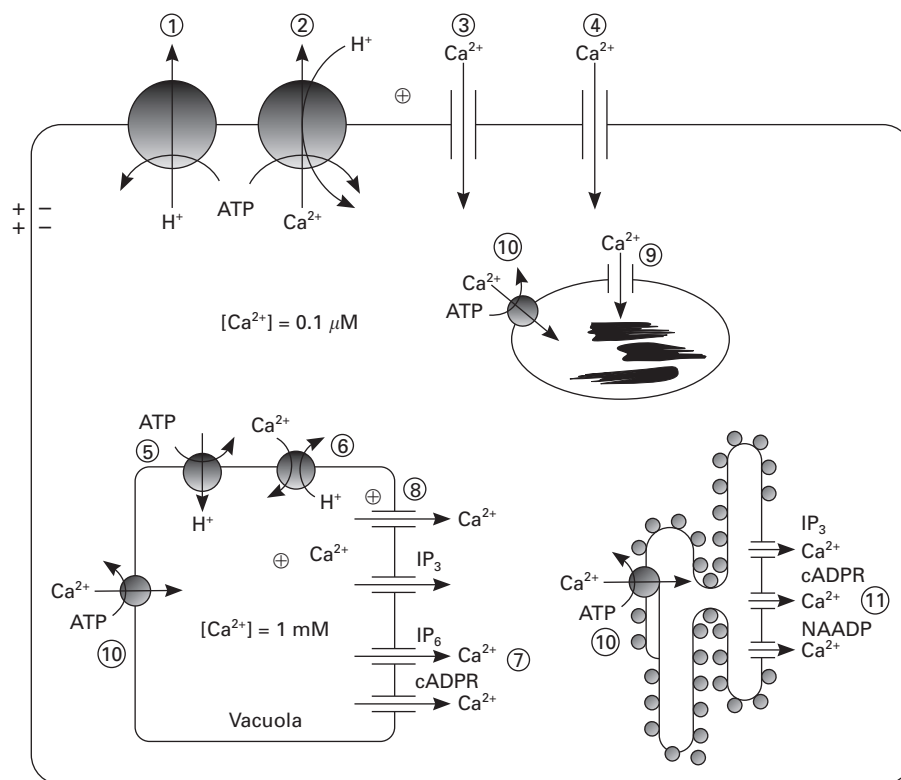


Figura 7-7. Tráfico de Ca^{2+} en una célula vegetal. 1) H^+ -ATPasa que carga de energía al plasmalema e impone un gradiente de potencial electroquímico para H^+ y un potencial de membrana (E_m) negativo en el citoplasma con respecto al exterior. 2) Ca^{2+} - H^+ ATPasa del plasmalema. 3) y 4) Distintos tipos de canales de Ca^{2+} del plasmalema. 5) H^+ -ATPasa de la vacuola. 6) Antiporte Ca^{2+} - H^+ del tonoplasto. 7) y 8) Canales de Ca^{2+} del tonoplasto; el signo «+», IP_3 , IP_6 y cADPR indica que los canales se activan por voltaje, inositol trifosfato, inositol hexafosfato y la ADP ribosa cíclica, respectivamente. 9) Canal de Ca^{2+} en el cloroplasto. 10) Ca^{2+} -ATPasa de retículo endoplasmático, vacuola y cloroplasto. 11) Canales de Ca^{2+} del retículo endoplasmático; IP_3 , cADPR y NAADP significan que los canales se activan por inositol trifosfato, ADP ribosa cíclica y ácido nicotínico-adenina dinucleótido fosfato, respectivamente.

cial electroquímico. Estos metales, aun siendo esenciales, pueden llegar a ser tóxicos a concentraciones no muy altas. Estas bombas tendrían, pues, un papel detoxificante (también transportan Cd, Pb y Co), al retirar esos metales del citoplasma cuando su concentración alcanzara niveles demasiado elevados (véase el Capítulo 29). También se les ha asignado un papel en el transporte de metales desde la raíz al resto de la planta o al interior de compartimentos específicos. Por ejemplo, se ha localizado una $\text{P}_{1\text{B}}$ -ATPasa en la membrana del cloroplasto que suministraría Cu a proteínas como la **plastocianina** (véase el Capítulo 9), que lo necesitan para su actividad.

En el tonoplasto existen otras bombas primarias que son capaces de transportar moléculas orgánicas de gran tamaño en contra de gradiente de potencial electroquímico, y que quedan almacenadas en la vacuola. Estas bombas, aunque hidrolizan ATP en el proceso de transporte de sus sustratos, se conocen como transportadores ABC, y fueron identificadas originariamente en células de mamíferos, bacterias y levaduras. El acrónimo ABC (*ATP binding cassette*) hace referencia a una secuencia aminoacídica conservada que constituye el lugar de unión del ATP. Existen transportadores ABC que son capaces de transpor-

tar moléculas específicas, mientras que otros transportan moléculas conjugadas con **glutatión**, un tripéptido que funciona como un importante antioxidante (véanse los Capítulos 15 y 29). El transportador ABC reconoce la molécula de glutatión, y las moléculas, unidas a éste por un enlace covalente, son introducidas en la vacuola. Entre las moléculas transportadas se encuentran pigmentos, herbicidas o xenobióticos.

5. PAPEL DE LAS BOMBAS PRIMARIAS EN LA GENERACIÓN DEL POTENCIAL DE MEMBRANA

En todas las células vivas, el potencial de membrana es siempre negativo en el citoplasma con respecto al medio externo. La adición de inhibidores de la actividad de la H^+ -ATPasa o de la respiración produce, en las células vegetales, una despolarización parcial del plasmalema (Fig. 7-8). El potencial residual que queda cuando la bomba primaria está inhibida se denomina **potencial de difusión** (E_D), y refleja la asimetría de concentración de todos los iones entre el citoplasma y el exterior de las células. Los iones que más contribuyen al

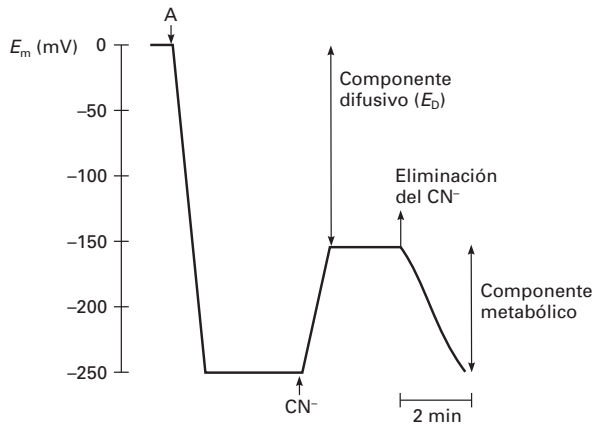


Figura 7-8. Registro continuo del potencial de membrana (E_m) de una célula vegetal, medido con un microelectrodo que se introduce en A. La adición de 0.1 mM de NaCN determina una despolarización del plasmalema de unos 90 mV como consecuencia de la inhibición de la respiración. El efecto es reversible, ya que, tras lavar el cianuro, el E_m vuelve a su valor de reposo. Este experimento permite observar los dos componentes del E_m en las células vegetales, uno dependiente directamente del metabolismo y otro difusivo, que depende de la asimetría de iones positivos y negativos dentro y fuera de la célula, potencial de difusión (E_D) que puede calcularse mediante la ecuación de Goldman.

E_D son tres: K^+ , Na^+ y Cl^- , aunque en la mayoría de las plantas la contribución del K^+ es la más importante, debido a que la permeabilidad de las membranas vegetales al K^+ es mayor que a cualquier otro ion. El potencial de difusión puede calcularse a partir de la asimetría de estos tres iones mediante la **ecuación de Goldman**:

$$E_D = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_{K^+} C_{K^+}^e + P_{Na^+} C_{Na^+}^e + P_{Cl^-} C_{Cl^-}^i}{P_{K^+} C_{K^+}^i + P_{Na^+} C_{Na^+}^i + P_{Cl^-} C_{Cl^-}^e}$$

donde P_{K^+} , P_{Na^+} y P_{Cl^-} son las permeabilidades de la membrana para el K^+ , el Na^+ y el Cl^- , respectivamente.

El origen del potencial de difusión es la asimetría en la concentración de los iones que impone la actividad de la H^+ -ATPasa en el plasmalema. El déficit de carga positiva en el interior de las células tiende a ser compensado por flujos pasivos de iones que tenderán a estar en equilibrio. El ion cuya permeabilidad es mayor tendrá mayor velocidad de difusión a través de la membrana y, por tanto, es el que responderá más rápidamente a las variaciones en la fuerza ion motriz. En una hipotética membrana semipermeable para el K^+ , el Na^+ y el Cl^- , donde la permeabilidad relativa sea 1, 0.1 y 0.01, respectivamente, la actividad de una H^+ -ATPasa que genere un potencial de membrana de -100 mV permitiría, en equilibrio, acumular 100 veces la concentración externa de K^+ y Na^+ y excluir 100 veces la concentración interna de Cl^- .

El potencial de membrana se mide de dos formas: mediante cationes lipofílicos o directamente mediante micro-

electrodos. En el primer caso, se añade al medio de ensayo, que contiene las células cuyo potencial se quiere medir, una sustancia a la cual sean permeables las membranas y que, además, esté cargada positivamente. Tal ion se distribuirá a ambos lados de la membrana hasta alcanzar el equilibrio. Conociendo la cantidad que ha quedado fuera de la célula y la que se ha incorporado, se aplica la ecuación de Nernst para calcular el potencial de membrana. Uno de los cationes lipofílicos más usados es el TPP⁺ (tetrafenilfosfonio), cuya concentración se mide por potenciometría o marcándolo con un isótopo radiactivo. Esta técnica se emplea en células procariontas o en orgánulos procedentes de células eucariotas. Su principal limitación para calcular el E_m de las células eucariotas reside en que, una vez incorporado al citoplasma, el catión lipofílico tiende a acumularse, a su vez, en los distintos orgánulos según el E_m de cada uno de ellos. En este caso, la ecuación de Nernst no puede aplicarse, y han de utilizarse sistemas más complejos y menos fiables para calcular el E_m .

El segundo método consiste en medir directamente el E_m mediante **microelectrodos** (Fig. 7-9). Éstos se fabrican calentando un capilar de vidrio y estirándolo hasta que el diámetro de la punta alcanza entre 0.2 y 0.6 μm . El interior se llena de una solución 0.5 M de KCl. Fuera de la célula,

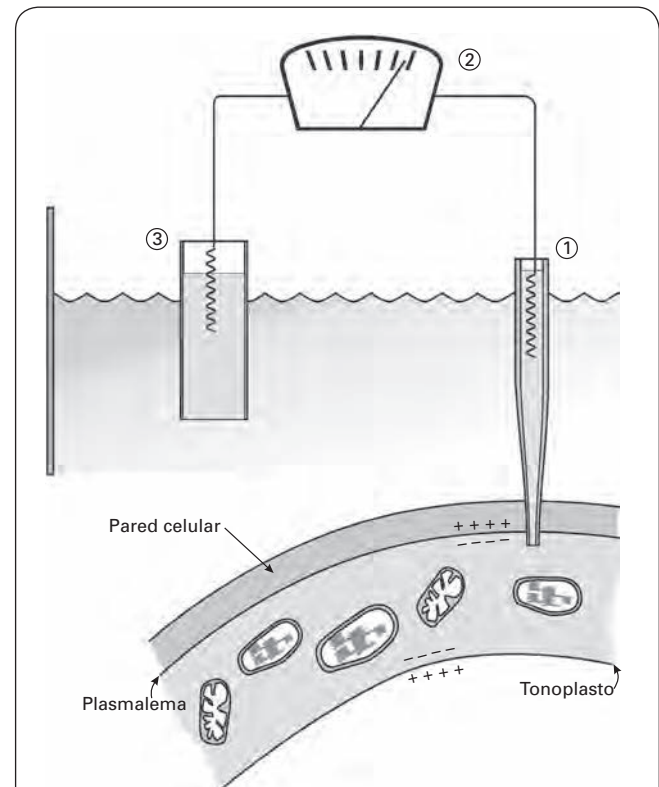


Figura 7-9. Medida del potencial de membrana en células vegetales mediante microelectrodos. Tanto éstos (1) como el electrodo de referencia (3) se llenan de KCl 0.5 M y se conectan a un voltímetro de alta impedancia (2). El microelectrodo ha de atravesar la pared celular y alojarse en el plasmalema en contacto con el citoplasma, sin tocar el tonoplasto.

e inmerso en el medio de ensayo, se sitúa un electrodo de referencia, lleno con la misma solución solidificada con agar al 3%. El microelectrodo y el electrodo de referencia se conectan a un voltímetro de alta impedancia que medirá directamente el potencial de membrana. A principios del siglo pasado, los microelectrodos se hacían a mano y se insertaban dentro de células vegetales gigantes; ésa es la razón de que *Chara* y *Nitella* sean tan empleadas en experimentos de electrofisiología. Hoy día, los microelectrodos se fabrican con aparatos especialmente diseñados que permiten estandarizar tanto la forma como el diámetro de la punta. Además, el uso de micromanipuladores acoplados a microscopios permite la medida de potenciales de membrana en un número creciente de especies y tipos celulares.

Un problema clásico que surge cuando se mide el E_m de las células vegetales es la localización de los microelectrodos. En las plantas, la vacuola ocupa muchas veces más del 90% del volumen del citoplasma; por eso, muchos autores pensaban que lo que medían era la diferencia de potencial entre la vacuola y el exterior, y no entre el citoplasma y el medio externo. A finales de la década de 1980, el uso frecuente de microelectrodos de pH demostró que, en casi todos los casos, los microelectrodos se situaban en el citoplasma, ya que éste era ligeramente alcalino (en torno a un pH de 7.3), frente al pH ácido (en torno a 5) que se mide en la vacuola.

6. TRANSPORTE SECUNDARIO DE IONES

El transporte secundario consume la energía acumulada en las membranas por las bombas primarias. El consumo de energía debido a la actividad del transporte secundario se refleja en la despolarización de la membrana. A diferencia del transporte primario, que genera una diferencia de potencial eléctrico y es, por tanto, electrogénico, el transporte secundario disipa la diferencia de potencial acumulada en la membrana y es, por consiguiente, **electroforético**. El transporte secundario de iones se establece a través de dos tipos de proteínas de membrana: **canales iónicos**, en el transporte pasivo, y **transportadores** (*carriers*), en el transporte activo.

6.1. El flujo pasivo de iones tiene lugar a través de canales

Los **canales** son proteínas que funcionan como poros selectivos en la membrana. Su distribución es prácticamente universal en las membranas de todas las células y orgánulos celulares. En las plantas se han descrito hasta la fecha distintos tipos de canales para K^+ , para Ca^{2+} (véase la Fig. 7-7) y para aniones. Los canales iónicos no sólo aparecen en el plasmalema, sino que también están presentes en el tonoplasto, el retículo endoplasmático, la mitocondria, la membrana interna del cloroplasto y la membrana tilacoidal. Un canal de K^+ típico estaría constituido por cuatro subunidades de entre 65 y 100 kDa que formarían el poro y que conten-

drían un filtro de selectividad y sensores para distintos tipos de estímulos.

A finales de los años setenta, dos investigadores alemanes, Neher y Sakmann, utilizaron una técnica nueva para estudiar los flujos iónicos en las membranas, denominada *patch-clamp*, en la que, en vez de insertar electrodos muy finos dentro de las células, se adhería un electrodo de punta roma a la superficie de éstas. Para aplicar dicha técnica a las células vegetales es preciso disgregar las células del tejido y eliminar la pared celular mediante un tratamiento con diversas enzimas celulolíticas. Se obtiene así una célula vegetal sin pared que se denomina **protoplasto**.

La adhesión firme del electrodo a la superficie del protoplasto se denomina **sellado**, y se detecta por la alta resistencia que presenta al paso de la corriente eléctrica, que se sitúa alrededor de 10^9 ohmios ($G\Omega$). Mediante esta técnica es posible, fijando el valor del potencial de membrana, medir la corriente asociada al flujo de iones a través de la pequeña superficie que queda sellada por el electrodo y que se debe a la actividad de unos pocos canales. También es posible, haciendo un agujero en la membrana del protoplasto, registrar el paso de la corriente a través de todo el plasmalema (Fig. 7-10).

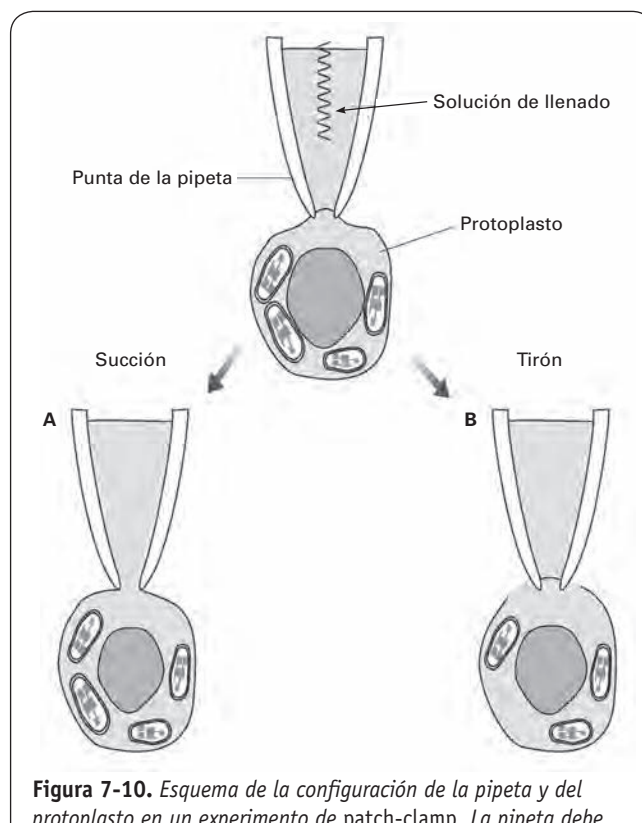


Figura 7-10. Esquema de la configuración de la pipeta y del protoplasto en un experimento de patch-clamp. La pipeta debe quedar firmemente adherida al exterior de la célula (sellado), tras lo cual, succionando o tirando, se puede acceder al interior de la célula (A) o retirar una pequeña porción del plasmalema (B). En el primer caso se registra la actividad de los sistemas de transporte de toda la célula y, en el segundo, la actividad de los que se encuentran incluidos en el pequeño trozo que se retira.

Los experimentos de *patch-clamp* revelan que los canales están abriéndose y cerrándose continuamente a una velocidad altísima (Fig. 7-11). Esta propiedad de los canales se denomina *gating*; la probabilidad de apertura refleja la actividad del canal.

El flujo de iones a través de los canales es, pues, un proceso discontinuo. La cantidad de iones que fluyen a través de un canal cuando está abierto viene determinada por su conductancia y por la magnitud de la fuerza ion motriz. La intensidad de la corriente que atraviesa los canales en función del voltaje aplicado se representa gráficamente mediante las denominadas curvas I-V (intensidad-voltaje), cuya pendiente es una medida de la conductancia del canal (Fig. 7-11). Asumiendo que el flujo de iones a través de la doble capa lipídica de las membranas es prácticamente nulo, la permeabilidad de una membrana para un determinado ion es un valor integrado del número de canales, su conductancia y su actividad (*gating*).

Tanto en el plasmalema como en el tonoplasto, los canales más abundantes son los de K^+ . A diferencia de los canales de K^+ de las células animales, los de las plantas son permeables a un gran número de cationes monovalentes. Por ejemplo, en *Nitella*, los canales de K^+ son permeables, en orden decreciente, a Rb^+ , NH_4^+ , Na^+ , Li^+ y Cs^+ .

6.1.1. La actividad de los canales es sensible a una serie de estímulos ambientales o fisiológicos

Los canales desempeñan un papel muy importante en la regulación del potencial de membrana, en la homeostasis iónica y en la mayoría de las cadenas de transducción de señales ambientales o endógenas. Esta función clave pueden ejercerla porque existen canales cuya actividad está regulada por voltaje o por la unión de ligandos. En ambos casos, tanto un cambio en el potencial de membrana como la unión de una molécula específica al canal dan lugar a un cambio conformacional que implica el paso del estado abierto al cerrado, o viceversa. Además, la actividad de ambos tipos de canales se puede ver modificada por otros factores, tales como pH, fosforilación, Ca^{2+} , proteínas G y calmodulinas, e incluso por el mismo ion que transportan.

Un ejemplo de canales regulados por voltaje es el de los canales de potasio del plasmalema. Los canales de entrada de potasio se abren a potenciales de membrana muy negativos (más negativos de -100 mV), y están cerrados a valores más positivos. Es decir, cuando la membrana se hiperpolariza, se produce la entrada de potasio, y la entrada de carga positiva contribuye a que el potencial de

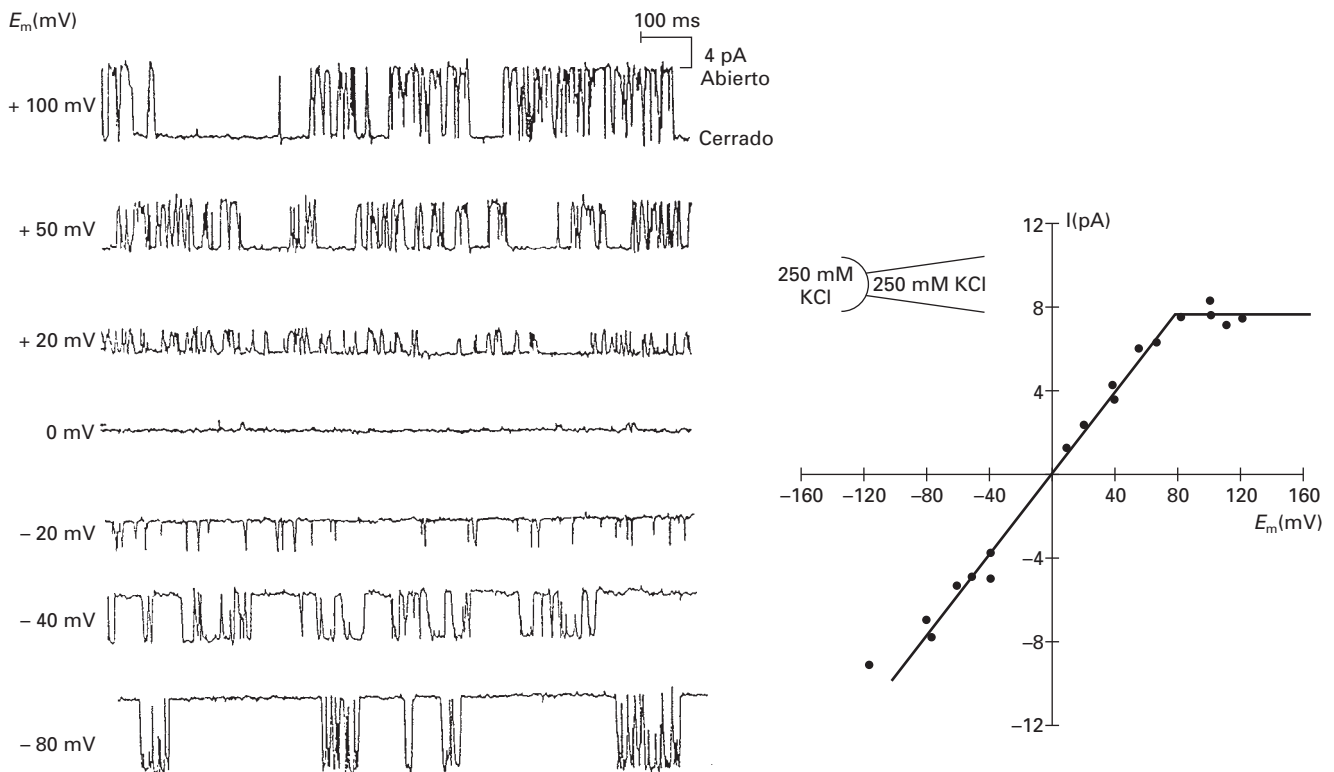


Figura 7-11. Registro continuo de la intensidad de corriente asociada al flujo de K^+ a través de un pequeño trozo de plasmalema durante un experimento de *patch-clamp*. La intensidad de corriente que atraviesa los canales (I , en pA) es proporcional a la diferencia de potencial eléctrico que se aplica a ambos lados de la membrana (E_m , en mV). En este caso se trata de un canal reversible, que permite el paso de iones hacia dentro o hacia fuera de la célula. La representación gráfica de la intensidad de corriente que atraviesa los canales, en función del voltaje aplicado, da lugar a las curvas I-V, cuya pendiente es un estimador de la conductancia del canal.

membrana alcance su valor inicial. En cambio, los canales de salida de potasio sólo se abren cuando el potencial de membrana alcanza valores más positivos, esto es, cuando la membrana se despolariza. La salida de carga positiva (K^+) a través de estos canales hace que el potencial de membrana vuelva a su valor de partida. Es decir, los canales de entrada y salida de potasio actúan como válvulas que regulan el potencial de membrana, y por ello reciben el nombre de canales rectificadores.

Otro ejemplo de canales regulados por voltaje son los canales aniónicos del plasmalema. Estos canales aniónicos son sensibles a la hiperpolarización, y también a la turgencia, de forma que cuando la membrana sobrepasa un determinado valor negativo de E_m o la turgencia es demasiado alta, los canales aniónicos se abren, dejan escapar una cierta cantidad de Cl^- que despolariza la membrana, se libera K^+ por los canales de salida y, como consecuencia, se elimina agua. Otros canales regulados por voltaje son los canales de potasio vacuolares y los canales de Ca^{2+} presentes en el plasmalema.

Los canales regulados por ligandos mejor caracterizados son los canales de Ca^{2+} . Así, existen distintos tipos de canales regulados por inositol 1,4,5-trifosfato (IP_3), ADP-ribosa cíclica (cADPR) y ácido nicotínico-adenín dinucleótido fosfato (NAADP) (Fig. 7-7). También se conocen canales no selectivos que pueden ser modulados por nucleótidos cíclicos, como GMPc y AMPc. Los canales regulados por ligandos son cruciales cuando la transmisión de una señal tiene que ser rápida, y especialmente cuando alguna debe convertirse o transducirse en una señal de otro tipo.

Como se ha indicado antes, la concentración de Ca^{2+} en el citoplasma es determinante para la regulación de los canales tanto del plasmalema como del tonoplasto. Un incremento en la concentración de Ca^{2+} libre en el citoplasma de las células oclusivas, como respuesta frente a la oscuridad o la hormona vegetal ABA (ácido abscísico), induce el cierre de canales de entrada de K^+ y la apertura de canales de salida de K^+ y de canales aniónicos, lo que determina la pérdida de turgencia de las células oclusivas y, en consecuencia, el cierre del estoma (véase el Capítulo 3). El máximo de Ca^{2+} que induce el cierre de los estomas puede estar ocasionado por la activación de proteínas G, inositol-1,4,5-trifosfato (IP_3) o ABA, ya que todos ellos inducen la entrada de Ca^{2+} en el citoplasma y, en el caso del IP_3 , también la liberación de Ca^{2+} de la vacuola (véanse los Capítulos 18 y 22).

6.2. El transporte activo secundario tiene lugar a través de transportadores

Además de las bombas primarias y de los canales iónicos, los transportadores (*carriers*) son el tercer gran grupo de proteínas de membrana que intervienen en el tráfico de iones en la célula. Su función es incorporar o liberar iones o moléculas en contra del gradiente de potencial electroquímico; por tanto, transportan los iones y moléculas de forma activa, empleando para ello la energía acumulada en la membrana

por la actividad de las bombas primarias. En el caso de las plantas, esta energía se acumula como fuerza protón motriz ($\Delta\tilde{\mu}_{H^+}/F$) y son, por tanto, protones los iones que impulsan el transporte activo secundario en la célula vegetal.

Según sea el sentido del flujo del **ion motriz** con respecto al ion que se transporta, se distinguen dos modelos funcionales de transportador: **simporte** y transporte invertido o **antiporte**. En el primer caso, la entrada a la célula del ion motriz impulsa la entrada de un ion o molécula en contra del gradiente de potencial electroquímico. En el segundo caso, la entrada en la célula del ion motriz impulsa la salida de la célula de un ion o una molécula en contra del gradiente de potencial electroquímico (véase la Fig. 7-5). El transporte del soluto implica la unión específica del soluto a la proteína transportadora, que sufre un cambio conformacional. Ello explica la saturabilidad del proceso y la menor velocidad de transporte, que es inferior en varios órdenes de magnitud a la de los canales.

Desde el punto de vista energético, es imprescindible que la energía asociada al ion motriz sea mayor que la energía necesaria para mover el ion que se transporta. El balance energético entre ambos iones determinará, a su vez, la estequiometría entre ambos. Veamos un ejemplo:

En las plantas, el NO_3^- es incorporado a las células en simporte con protones (véase el Capítulo 15). Si la célula tiene un potencial de membrana de -200 mV, un pH citoplasmático de 7.3 y una concentración citoplasmática de NO_3^- de 1 mM, y la situamos en un medio que contiene 0.1 mM de NO_3^- a pH 7.3, se necesitarán dos protones para que la incorporación de una molécula de NO_3^- sea termodinámicamente posible. En esas condiciones, la fuerza asociada al ion motriz, $\Delta\tilde{\mu}_{H^+}/F$, es igual a $nz(E_m - E_j^N)$, siendo «n» el número de H^+ implicados en el transporte. Si el pH es el mismo dentro y fuera de la célula, E_j^N vale cero y $\Delta\tilde{\mu}_{H^+}/F$ es igual al potencial de membrana: -200 mV. En cambio, el potencial del Nernst para el NO_3^- es $+58$ mV, con lo que la fuerza ion motriz que actúa sobre este ion será $+258$ mV. En estas condiciones, un solo protón será incapaz de impulsar el transporte de NO_3^- . Sin embargo, dos protones duplicarían la fuerza protón motriz, que sería ya más que suficiente para que el NO_3^- se incorporase.

Los principales nutrientes que necesitan las plantas se incorporan en simporte con protones. Así parecen incorporarse, según el mecanismo de alta afinidad (o mecanismo 1, según la terminología de Epstein), NO_3^- , $H_2PO_4^-$, SO_4^{2-} , Cl^- , K^+ y también metabolitos tales como azúcares, aminoácidos, bases púricas y pirimidínicas. De esta forma se transporta la sacarosa al interior de las células del floema, siendo este mecanismo esencial para la **carga** de éste.

Debido al sentido en que se orienta la fuerza protón motriz, los sistemas de transporte invertido o antiporte son especialmente abundantes en el tonoplasto (Fig. 7-5). En esa membrana, el flujo de salida de H^+ está acoplado al flujo de entrada de K^+ y Na^+ . No obstante, el proceso de exclusión de Na^+ del citoplasma parece estar también asociado a la existencia de un antiporte H^+ - Na^+ en el plasmalema.

6.3. La fuerza Na^+ motriz puede ser una fuente alternativa de energía para el transporte secundario

Aunque el ion motriz universal en las plantas es el H^+ , se ha descubierto que en algunas de ellas el Na^+ puede actuar también como ion motriz. En las cianobacterias, por ejemplo, el NO_3^- y el HCO_3^- se incorporan impulsados por el gradiente electroquímico para el Na^+ . Las algas de agua dulce *Chara* y *Nitella* presentan mecanismos de transporte de K^+ de alta afinidad, en simporte con el Na^+ . En *Nitella*, urea y lisina se transportan de la misma forma. Por último, se ha descrito recientemente que, en la fanerógama acuática *Zostera marina*, el transporte de nitrato y fosfato es impulsado por el Na^+ .

Estos sistemas de transporte, cuya importancia fisiológica está aun por determinar, parece que aprovechan el gradiente de potencial electroquímico favorable a la entrada de Na^+ para impulsar la incorporación de determinados nutrientes. En el caso de las plantas marinas, el gradiente de potencial electroquímico para el Na^+ puede ser incluso mayor que el de los protones, dado que el pH del agua marina es alcalino (en torno a 8) y la concentración de sodio llega a 0.5 M. En las algas dulciacuícolas y en los hongos, estos sistemas se expresan cuando el medio es alcalino y rico en Na^+ , y parecen conferir a las plantas una cierta resistencia a la salinidad, no se sabe bien si por sí mismos o porque su funcionamiento depende de la existencia en el plasmalema de un sistema de bombeo de Na^+ al exterior impulsado, a su vez, por protones.

6.4. Algunas plantas acuáticas incorporan el carbono inorgánico para la fotosíntesis a través de transportadores

La fuente de carbono inorgánico para la fotosíntesis de las plantas terrestres es el CO_2 ; sin embargo, las plantas acuáticas están expuestas a otras formas de carbono inorgánico en función del pH del medio en que viven. A medida que el pH del medio aumenta, el CO_2 disuelto en el agua se hidrata y forma HCO_3^- . Con un pH ligeramente superior a 8, prácticamente todo el carbono inorgánico disponible para la fotosíntesis es HCO_3^- . Para tener acceso a esta fuente de carbono, algunas plantas dulciacuícolas alcalófilas y ciertas plantas marinas desarrollan estrategias diversas (véase el Capítulo 12). Algunas segregan al espacio periplásmico la enzima **anhidrasa carbónica** (CA), que cataliza la interconversión de CO_2 en HCO_3^- ; el bicarbonato es deshidratado externamente y el CO_2 difunde a través del plasmalema al citoplasma. Éste parece ser el caso del alga parda marina *Phyllariopsis* o de la angiosperma dulciacuícola *Potamogeton* (Fig. 7-12).

En las caráceas, el HCO_3^- se incorpora al citoplasma en simporte con H^+ ; el HCO_3^- es deshidratado internamente en una reacción catalizada por la CA interna y los OH^- que se generan se liberan al exterior, a favor del gradiente de

potencial electroquímico, a través de canales aniónicos. Los mecanismos de incorporación de HCO_3^- y de liberación de OH^- están separados espacialmente, lo que da lugar a regiones ácidas y regiones alcalinas. En *Monoraphidium*, el sistema de transporte de HCO_3^- parece estar estimulado por la luz azul. Por último, el alga marina *Ulva*, cuando se aclimata a un pH de 9, desarrolla un sistema de incorporación directa de HCO_3^- que consiste en un antiporte, donde la entrada de HCO_3^- está impulsada por la salida de Cl^- del citoplasma (Fig. 7-12).

7. TRANSPORTE DEL AGUA A TRAVÉS DE ACUAPORINAS

El movimiento del agua en la célula, y a través de toda la planta, se produce de manera pasiva, tal como hemos visto anteriormente para las moléculas no cargadas, a favor de gradiente de potencial químico (aunque en Fisiología Vegetal este gradiente de energía libre se suele expresar como gradiente de potencial hídrico; véase el Capítulo 2). Dado que la permeabilidad de la bicapa lipídica al agua (y también a los gases) es muy alta, durante mucho tiempo se pensó que éste era el único mecanismo implicado en el transporte del agua. No obstante, en los años noventa se detectó la existencia de canales específicos para el agua, denominados **acuaporinas**, que facilitan la difusión de esta molécula a través de las membranas.

Las acuaporinas están presentes no sólo en las plantas, sino también en las membranas de todos los organismos, desde bacterias a mamíferos. Estas proteínas son de pequeño tamaño (entre 25 y 30 kDa), presentan una estructura muy conservada, y casi todas son inhibidas por el Hg^{2+} . En las plantas, las acuaporinas se localizan en la membrana plasmática y en el tonoplasto, donde son más abundantes y confieren mayor permeabilidad al agua, y parecen desempeñar una función fundamental en el control del transporte de agua a través de

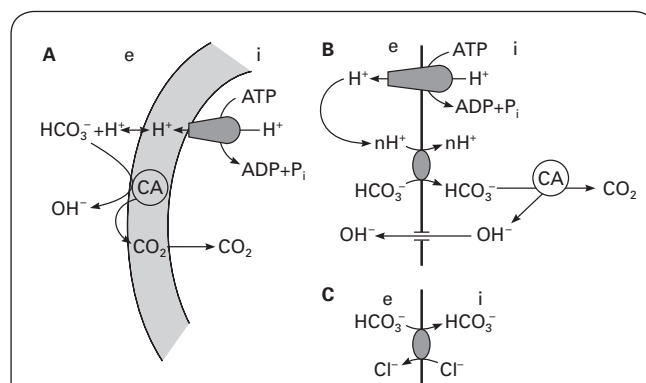


Figura 7-12. Modelos de incorporación de carbono en plantas acuáticas. Deshidratación externa de HCO_3^- y difusión de CO_2 a través del plasmalema en *Potamogeton* y *Phyllariopsis* (A). Simporte $\text{HCO}_3^- - \text{H}^+$ en las bandas ácidas de *Chara* (B) y antiporte $\text{HCO}_3^- - \text{Cl}^-$ de *Ulva* (C).

las células. Aunque se ha señalado que la permeabilidad de las membranas al agua es muy alta, la presencia de estos canales puede facilitar aún más el paso del agua en determinadas circunstancias. Así, las acuaporinas son muy abundantes en las células radiculares, donde contribuyen a la absorción de agua del suelo. Por otra parte, las acuaporinas presentes en el tonoplasto facilitan el trasvase rápido de agua entre la vacuola, que actúa como reservorio de agua, y el citoplasma. Se ha demostrado también que la actividad de las acuaporinas puede regularse por fosforilación reversible de la proteína y por el pH citoplasmático y el Ca^{2+} .

A pesar de que son sumamente selectivas para el transporte de agua, las acuaporinas también son capaces de transportar pequeñas moléculas sin carga y gases, por lo que podrían actuar como canales con funciones diversas. De hecho, recientemente se ha demostrado que algunas acuaporinas pueden contribuir a la difusión de CO_2 en células foliares, a facilitar el transporte de NH_3 a través del tonoplasto o a incorporar el ácido bórico a través de las raíces (Uehlein, N. y cols., *Nature* 425:734-737, 2003; Loqué, D. y cols., *Plant Physiology* 137:671-680, 2005; Takano, J. y cols., *Plant Cell* 18:1498-1509, 2006).

8. TRANSPORTE A TRAVÉS DE MEMBRANAS Y SEÑALIZACIÓN

Las células vegetales presentan un valor determinado de potencial de membrana, que se considera el potencial de membrana en reposo. Este valor puede ser distinto para cada especie, y dentro de una misma planta, el potencial puede variar en distintos tejidos. Este potencial se mantiene porque existen mecanismos en la célula que permiten restablecerlo ante cualquier perturbación. De igual forma, la concentración de calcio libre citoplasmática se mantiene baja y estable mediante mecanismos homeostáticos, y lo mismo se puede decir del pH citoplasmático, que en todas las células vegetales presenta valores entre 7.2-7.5. Así, una variación en el potencial de membrana, el Ca^{2+} citoplasmático o el pH pueden constituir una señal que dispare otros procesos en la célula, o ser por sí mismos la causa directa de ciertas respuestas fisiológicas.

8.1. Muchas señales reguladoras tienen como primera diana a la H^+ -ATPasa y afectan al potencial de membrana

En las células vegetales el potencial de membrana se mantiene constante porque los desajustes en el balance de cargas asociadas al flujo de iones se compensan con variaciones en la actividad de las bombas primarias y de los canales de K^+ y Cl^- (canales aniónicos). Cuando la membrana se despolariza debido al transporte masivo de un ion, a través de un canal o asociada a la entrada de protones, se incrementa la actividad de la H^+ -ATPasa del plasmalema, ya que bombea

protones en contra de una menor fuerza protón motriz, y además, esta electroenzima presenta un grado óptimo de actividad a pH 6.6. Al mismo tiempo, se abren los canales de salida de K^+ (apartado 6.1.1), lo que permite una rápida repolarización de la membrana. En cambio, cuando la membrana se hiperpolariza, el funcionamiento de la H^+ -ATPasa del plasmalema se ralentiza (bombea protones en contra de una mayor fuerza protón motriz) y se abren canales aniónicos (lo que permite una salida de iones negativos, principalmente Cl^-), y también los canales de entrada de K^+ , que despolariza parcialmente la membrana.

Las hormonas vegetales, la luz, las fitotoxinas y ciertas situaciones de estrés ambiental influyen en el gradiente de potencial electroquímico para protones, es decir, al afectar a la actividad de la H^+ -ATPasa, y por tanto al potencial de membrana, dan lugar a determinadas respuestas fisiológicas. La actividad de la bomba puede ser regulada a nivel transcripcional, como se ha demostrado para la hormona auxina. Esta hormona promueve la elongación celular. Uno de sus efectos es inducir un descenso en el pH del apoplasto, que a su vez activa ciertas enzimas que dan lugar a un ablandamiento de la pared celular (véase el Capítulo 19). Este descenso del pH del apoplasto es inducido por una mayor síntesis de proteínas H^+ -ATPasas, aunque las auxinas pueden ejercer asimismo un efecto rápido sobre la actividad de la bomba.

La bomba de protones puede ser regulada también mediante la modificación del extremo C-terminal de la proteína, que constituye un dominio autoinhibidor. Se ha demostrado que la eliminación de este extremo conduce a un aumento de su velocidad máxima y de su afinidad por el ATP. *In vivo*, la regulación a través de este dominio se produce mediante pequeñas proteínas denominadas 14-3-3 (véanse la Figura 7-6 y el apartado 4.1). Esta proteína interacciona con el dominio autoinhibidor, desplazándolo del resto de la molécula y dando lugar así a la activación de la bomba. A su vez, la unión de la proteína 14-3-3 se ve facilitada por la fosforilación de un aminoácido específico de la H^+ -ATPasa. Así, los distintos factores internos o externos mencionados anteriormente pueden dar lugar a la activación o desactivación de determinadas proteínas quinasas, fosfatasa, o ambas, (véase el Capítulo 18) específicas para la bomba de protones, que alteren el estado de fosforilación de la H^+ -ATPasa y, por tanto, su actividad. Por ejemplo, en las células oclusivas, se ha demostrado que la luz azul induce la fosforilación de la H^+ -ATPasa, favoreciendo la unión de la proteína 14-3-3 y la activación de la bomba de protones; ello produce una hiperpolarización del plasmalema, lo que dispara el proceso de apertura estomática (véase el Capítulo 3). Por otro lado, la fitotoxina fusicocina, que induce el marchitamiento de las plantas infectadas por el hongo que la secreta, ejerce su función estabilizando la unión de la proteína 14-3-3 a la H^+ -ATPasa, manteniéndola siempre en estado activo y estimulando así de manera constante la secreción de protones (Kinoshita, T. y Shimazaki, K. *EMBO Journal* 18: 5548-5558, 1999).

8.2. Los canales de Ca^{2+} permiten un incremento rápido de su concentración en el citoplasma en el proceso de transducción de señales. Las variaciones de pH también pueden participar en los procesos de señalización

El Ca^{2+} actúa como mensajero secundario en un gran número de respuestas de las células vegetales frente a estímulos ambientales y fisiológicos, mediados o no por hormonas. Para que un máximo en la concentración del Ca^{2+} libre en el citoplasma genere una respuesta, la concentración basal en reposo debe ser baja y constante. En las células vegetales se han descrito tres sistemas de transporte activo de Ca^{2+} que mantienen dicha concentración en torno a $0.1 \mu\text{M}$. Se trata de la bomba de Ca^{2+} del plasmalema (descrita en el apartado 4.1), un antiporte Ca^{2+} - H^+ localizado en el tonoplasto y otras Ca^{2+} -ATPasas que catalizan la acumulación de Ca^{2+} en el retículo endoplasmático (RE) y el cloroplasto con consumo de ATP. Estos sistemas evacúan Ca^{2+} del citoplasma y lo acumulan en distintos compartimientos o lo vierten al exterior (véase la Fig. 7-7). Distintos estímulos, como la oscuridad o el ABA en las células oclusivas (véase el Capítulo 3), o las auxinas en coleóptilos de avena (véase el Capítulo 19), inducen directa o indirectamente (vía IP_3 , por ejemplo) una apertura de los canales de Ca^{2+} situados en el plasmalema, las vacuolas y el RE; ello permite un rápido flujo pasivo de Ca^{2+} que ocasiona un aumento de la concentración de Ca^{2+} del citoplasma de varios órdenes de magnitud. Este aumento de la concentración de calcio activa enzimas específicas que inician la respuesta celular frente al estímulo.

La existencia de distintos tipos de canales de Ca^{2+} , sensibles al voltaje o a distintos ligandos (véase el apartado 6.1.1.), podría explicar cómo distintos estímulos que utilizan el calcio como segundo mensajero pueden dar lugar a respuestas celulares diferentes. Así, la activación de distintos tipos de canales de Ca^{2+} podría producir variaciones en el patrón de aumento de la concentración de calcio, dando lugar a respuestas específicas para cada estímulo.

El pH citoplasmático puede actuar también como segundo mensajero en algunos casos y modular la actividad de los canales. Por ejemplo, el ácido abscísico (ABA), induce una alcalinización del citoplasma de las células oclusivas que, a su vez, activa los canales de salida de potasio, lo que contribuye al cierre de los estomas. Estas variaciones del pH suelen ser pequeñas, pues el pH del citoplasma de las células vegetales se mantiene mediante mecanismos homeostáticos en un valor constante que no parece diferir mucho entre especies, valor que siempre se halla entre 7.2-7.5. Las bombas primarias situadas tanto en el plasmalema como en el tonoplasto evacúan constantemente protones del citoplasma (véase la Fig. 7-5). Una buena parte de los protones que se liberan al apoplasto o al lumen vacuolar vuelve al citoplasma a través de los sistemas de transporte activo secundario del plasmalema y el tonoplasto. El déficit citoplasmático de H^+ originado por la dilución en el apoplasto, o por la diversa estequiometría de los transportadores, es compensado con

la síntesis de ácidos orgánicos de bajo peso molecular como, por ejemplo, el ácido málico. Así, una alcalinización del citoplasma estimularía la carboxilación del fosfoenolpiruvato (PEP) para formar oxalacetato, que sería reducido a ácido málico. La disociación del ácido málico generaría protones y malato, que entrarían a la vacuola de forma pasiva. A su vez, un descenso del pH inhibiría la actividad fosfoenolpiruvato carboxilasa y activaría la de la enzima málica, que catalizaría la descarboxilación del ácido málico (véase la Fig. 7-5).

9. SISTEMAS REDOX DEL PLASMALEMA

Además de energía química en forma de ATP, el plasmalema acumula energía procedente del poder reductor acumulado en el citoplasma. En el plasmalema de las células vegetales existen proteínas con actividad deshidrogenasa capaces de oxidar NAD(P)H. Los electrones provenientes de la oxidación del NAD(P)H endógeno son transportados a la parte externa del plasmalema a través de una serie de proteínas que tienen como grupos prostéticos FAD y el citocromo *b*. El funcionamiento de esta minicadena de transporte de electrones del plasmalema da lugar a una salida de protones al exterior, ya sea a través de un mecanismo acoplado a alguno de sus componentes o indirectamente por activación de la H^+ -ATPasa. El aceptor final de electrones puede ser el O_2 (como en el caso de las deshidrogenasas solubles), o cualquier otro agente oxidado, porque la transferencia de electrones en la parte externa del plasmalema es muy inespecífica. Este mecanismo es una bomba redox, que puede catalogarse como un mecanismo primario de transporte, ya que acumula en la membrana poder reductor proveniente de la actividad metabólica, como diferencia de potencial eléctrico y, posiblemente, como asimetría de la concentración de protones. La actividad reductora del plasmalema se relaciona con la capacidad para movilizar determinados iones que son insolubles cuando están oxidados, como el hierro o el manganeso (véanse el apartado 11 y los Capítulos 6 y 8). En las plantas sometidas a un déficit de hierro se observa un incremento en la capacidad reductora del plasmalema de las células de la epidermis radicular, al tiempo que se liberan al exterior determinadas moléculas de acción quelante que secuestran el hierro y lo concentran cerca de la zona de absorción de la raíz.

10. FLUJO DE IONES EN LA RAÍZ

Los iones alcanzan la zona de absorción de la raíz mediante difusión a través de la solución salina del suelo, son arrastrados por el movimiento del agua hacia la raíz o entran en contacto con las zonas de absorción a medida que la raíz crece. Los nutrientes minerales se distribuyen por toda la planta a través del xilema, impulsados por la corriente ascendente de agua que genera el flujo de transpiración (véase el Capítulo 4). Así, de la misma forma que el agua debe transportarse radialmente en la raíz para alcanzar el xilema, los iones siguen un camino similar. Al igual que el agua, el transporte radial de iones por la raíz tiene lugar a través del apoplasto y del simplasto (véase el Capítulo 4).

Las células vegetales están separadas por la pared celular, que forma una matriz porosa continua denominada **espacio libre aparente, espacio periplásmico** o **apoplasto**. El agua, los iones y las moléculas de pequeño tamaño pueden difundir libremente a través del apoplasto, de forma que, en teoría, un ion puede viajar radialmente en la raíz por esta vía (Fig. 7-13). A lo largo de este recorrido, los iones pueden ser absorbidos por las células tanto de la epidermis como del córtex. La existencia de la **banda de Caspari** en las células de la endodermis supone una barrera infranqueable en el camino hacia el xilema: tanto el agua como los nutrientes deben obligatoriamente atravesar el plasmalema de las células que componen la endodermis. La permeabilidad, la selectividad y la afinidad de los canales y los transportadores localizados en el plasmalema de las células de la endodermis determinan, en última instancia, qué solutos se incorporan o liberan y a qué velocidad lo hacen.

Otra vía posible para la entrada de iones es la **simplástica** (Fig. 7-13). En este caso, los iones son primero incorporados a las células de la epidermis, o incluso del córtex, y luego son transportados, célula a célula, a través del córtex, la endodermis y el periciclo, hasta el xilema. El transporte de una célula a otra se produce a través de los **plasmodesmos**, que son conexiones tubulares (de 20 a 60 nm de diámetro) entre células, que atraviesan la pared celular y la lámina media y que en la mayoría de las plantas ponen en contacto los citoplasmas de dos células adyacentes. Dentro de los plasmodesmos hay otro tubo que parece estar ocluido, denominado **desmotúbulo**, formado por membranas del retículo endoplasmático, que se extendería así de una célula a otra. La densidad de plasmodesmos es muy alta (unos 15 por μm^2) y, cuantitativamente, parecen ser la vía principal para el transporte transcelular de agua e iones.

Además de conferir resistencia a la sequía y a algunas enfermedades, la existencia de **micorrizas** (véase el Capítulo 8) confiere a las plantas cierta ventaja para la absorción y el transporte de iones. Las micorrizas de tipo arbuscular expresan un transportador de fosfato de alta afinidad en la parte externa de las hifas del hongo. El fosfato incorporado por el hongo se transporta hacia los arbusculos probablemente en forma de polifosfato. A ese nivel, el plasmalema de las células de la raíz se diferencia y se pliega para formar una membrana periarbuscular, pero separada de la membrana del hongo por un espacio apoplástico. En las raíces micorrizadas se ha comprobado que se expresan genes extra que codifican sistemas de transporte de fosfato. Por último, la presencia del hongo induce la sobreexpresión de H^+ -ATPasas en células corticales de la raíz en algunas plantas, lo que asegura un suplemento adicional de energía para el transporte. La estrategia adaptativa de las plantas con micorrizas para la incorporación de nutrientes sería, pues, triple: incremento de la superficie de intercambio hongo-planta, incremento del número de transportadores e incremento de la energía disponible en la membrana para el transporte secundario de iones.

Una vez que los iones alcanzan la proximidad del xilema, deben ser vertidos a los elementos conductores de éste, es decir, a los vasos y traqueidas. El vertido se realiza desde las células del periciclo o desde las células vivas del xilema. El mecanismo de secreción de iones desde estas células es aún materia de debate. Algunos autores piensan que los iones se vierten a la relativamente diluida solución del xilema de forma pasiva, impulsados por un gradiente de potencial electroquímico favorable. Éste parece ser el caso del K^+ , Cl^- , Na^+ , SO_4^{2-} y NO_3^- . Otros autores sugieren que la secreción de iones al xilema incluye algún tipo de transporte activo, ya que los inhibidores de la respiración también parecen inhibir dicha secreción.

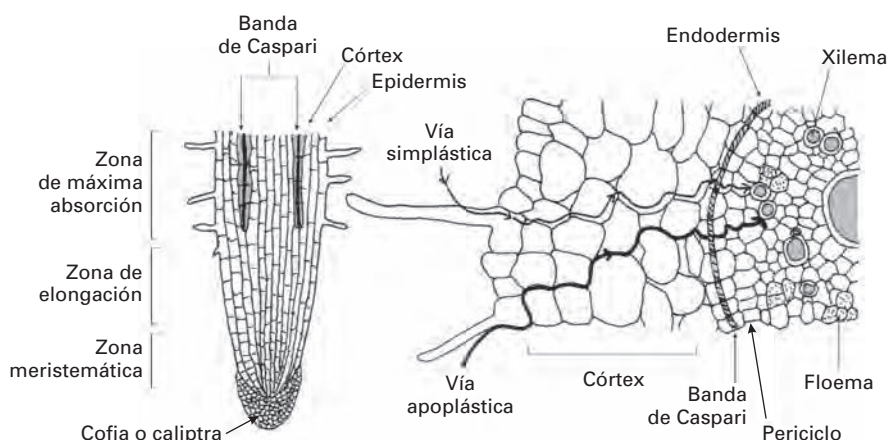


Figura 7-13. Esquema de las vías simplástica y apoplástica para la incorporación de nutrientes a través de la raíz. En la primera, los iones son incorporados a través de los pelos radicales o de otras células de la epidermis y transportados célula a célula hasta los elementos conductores del xilema. La vía apoplástica contempla la posibilidad de un transporte extracelular de los iones hasta la endodermis, donde la existencia de una banda impermeable en el apoplasto (la banda de Caspari), obliga al paso a través del plasmalema. Una vez en el periciclo, los iones pueden seguir la vía extracelular hasta los elementos conductores del xilema.

11. VISIÓN MOLECULAR DE BOMBAS, CANALES Y TRANSPORTADORES

Aunque los conocimientos sobre el funcionamiento de canales y transportadores y, en general, los fenómenos del transporte de iones a través de la membrana, han experimentado grandes avances durante los últimos veinte años, gracias a las técnicas electrofisiológicas (medida del potencial de membrana, *patch-clamp* y otras), las modernas técnicas de biología molecular, en combinación con las técnicas mencionadas anteriormente, han permitido descubrir muchos de los genes que codifican las proteínas de membrana (canales, transportadores y bombas) implicadas en el transporte. Se ha podido determinar también cómo regulan éstos su expresión a nivel celular y en toda la planta, pero en cuanto a su función fisiológica específica, sólo se conoce la de muy pocos genes.

Uno de los aspectos más sorprendentes es que existen numerosos genes implicados en la misma actividad. Por ejemplo, en el caso de la H^+ -ATPasa se han descubierto once genes distintos que codifican diversas isoformas de esta proteína en la planta modelo *Arabidopsis*. Algunos de estos genes se expresan específica o preferentemente en algún tipo celular; otros, sin embargo, se expresan en muchos tipos celulares. Se ignora todavía el papel fisiológico de las distintas isoformas, aunque se ha observado que éstas se regulan de modo diferente en función del estrés ambiental. No obstante, se sabe que hay células o tejidos cuyas membranas celulares presentan mayor concentración de bombas de protones. Así ocurre en la epidermis, la endodermis, los pelos radiculares, el floema y las células oclusivas. Estas zonas están relacionadas con la incorporación de iones o moléculas o con su transporte hacia otras partes de la planta, procesos en los que se requiere una acumulación continua de energía para el transporte en forma de fuerza protón-motriz.

Las acuaporinas de las membranas de las células vegetales, que se han descubierto hace relativamente poco tiempo y cuya función fisiológica aún está en discusión, presentan también numerosas isoformas. Así, el genoma de *Arabidopsis* codifica hasta 35 homólogos, y se presume que en otras especies existe parecida diversidad. Aunque se han hallado hasta cuatro familias génicas distintas, las más abundantes son las correspondientes a las acuaporinas del tonoplasto y las del plasmalema.

Las distintas bombas de Ca^{2+} mencionadas en los apartados 4.3 y 8.2 son codificadas por genes distintos, y se han identificado también los genes que codifican los antiportadores de Ca^{2+} presentes en el tonoplasto. No obstante, se desconoce todavía qué genes son responsables de la síntesis de los distintos canales de Ca^{2+} del plasmalema y las endomembranas.

11.1. En el transporte de potasio están implicados numerosos canales y transportadores

La hipótesis que Epstein formuló en los años cincuenta, en la que implicaba a dos únicos sistemas en el transporte de potasio,

uno de alta y otro de baja afinidad, ha resultado ser mucho más compleja. Así, en el transporte de este nutriente están implicados numerosos tipos de canales, y también distintos tipos de transportadores, que pueden ser tanto de alta como de baja afinidad. Esta variedad de proteínas implicadas refleja la diversidad de funciones fisiológicas que este macronutriente desempeña en las plantas (véase el Capítulo 6) y la necesidad de una regulación estricta de su transporte desde la raíz al resto de la planta, así como al interior de las células y orgánulos.

Existen dos familias génicas de canales de potasio. La más numerosa y mejor caracterizada comprende canales muy similares a algunos canales de potasio presentes en las células animales. Todos ellos muestran una región muy conservada, la que forma parte del poro del canal y determina su selectividad para el potasio, así como un sensor de voltaje, por lo que su actividad es muy dependiente de éste. A esa familia pertenecen canales de salida o entrada de potasio localizados en la membrana plasmática y que también son regulados por diferentes estímulos (luz, estrés salino, ABA, auxinas, deficiencia de potasio). Algunos se expresan en todos los órganos de la planta; otros, en un órgano determinado e incluso, dentro de éste, en un tejido específico. Se conoce el papel fisiológico concreto de algunos de estos canales. Así, se han identificado los canales que participan en la incorporación de K^+ por la raíz (AKT1), en la carga de K^+ al xilema (SKOR), en el desarrollo del tubo polínico (SPIK) o en la entrada (KAT2) y salida (GORK) de potasio en las células oclusivas. La segunda familia de canales no es tan numerosa, y sus miembros se caracterizan por presentar no una, sino dos regiones conservadas, que forman parte del poro del canal, y también por estar regulados por calcio.

En general, los canales descritos presentan una especificidad muy alta para el potasio, mientras que los transportadores son menos específicos y pueden transportar otros iones, como cesio, rubidio o sodio. En las plantas existen dos familias de transportadores de potasio. La más numerosa comprende transportadores tanto de alta como de baja afinidad, que son regulados principalmente por una deficiencia de potasio y estrés salino, y que parecen actuar en simporte con protones. La principal función que se les ha atribuido es la incorporación de potasio a través de la raíz, pues la expresión de muchos de ellos se localiza en los pelos radiculares. La segunda familia es más reducida, sus miembros son más permeables al sodio e incluso algunos son considerados transportadores de sodio más que de potasio; su mecanismo de transporte, así como su papel fisiológico, están aún en discusión.

En cuanto a los transportadores encargados de la incorporación de otros macronutrientes como nitrato, amonio, sulfato y fosfato, también se ha determinado la existencia de diversos genes que codifican para transportadores con distinta afinidad por dichos nutrientes, o que se expresan de forma constitutiva o bien inducida. En general, la síntesis de muchos de estos transportadores está relacionada con la disponibilidad de nutrientes; sin embargo, la respuesta varía según cada nutriente. Por ejemplo, los transportadores de nitrato se inducen al aportar pequeñas cantidades de esta forma de nitrógeno a plantas que presentan una deficiencia de él; en cambio, la expresión de

algunos transportadores de amonio, fosfato y sulfato se induce cuando existe una deficiencia de estos nutrientes.

11.2. Los micronutrientes también son transportados por proteínas específicas

Aunque las plantas necesitan una cantidad pequeña de los metales considerados esenciales, durante los últimos años se han descubierto muchas familias de genes que codifican transportadores implicados en su transporte. La entrada de estos metales al citoplasma se produciría a través de hasta cuatro familias distintas de transportadores, que se localizan en el plasmalema y pueden transportar el metal en forma libre, o bien asociado a fitosideróforos (véase más adelante). Al igual que para otros nutrientes, los genes que codifican estos transportadores varían en sus patrones de expresión, localización celular o especificidad por el sustrato. Así, algunos pueden ser específicos para el Zn, otros para el Fe y otros para el Mn, pero otros pueden transportar Zn y Fe. Ya se ha mencionado (véase el apartado 4.3) que existen bombas específicas para los metales pesados, las denominadas P_{1B} -ATPasas, de las que en *Arabidopsis* hay hasta ocho isoformas. Igualmente se han identificado genes que codifican para transportadores que funcionan en antiporte con protones, cuya función, tal como se indicó para las P_{1B} -ATPasas, sería también la evacuación de metales del citoplasma, evitando así que lleguen a alcanzar concentraciones tóxicas.

Un caso de especial interés es el del transporte de hierro. En presencia de oxígeno, este metal se encuentra en la forma Fe^{3+} , mientras que en el organismo es necesario que

esté en su forma reducida Fe^{2+} . Además, la forma oxidada Fe^{3+} presenta una solubilidad muy baja a pH neutro, con lo cual el transporte de hierro en condiciones fisiológicas requiere un paso previo de quelación del Fe^{3+} , es decir, la unión a una molécula (agente quelante), que sí es soluble (véanse los Capítulos 6 y 8), o una acidificación de la rizosfera. Cuando hay suficiente Fe, todas las plantas son capaces de reducir los quelatos de Fe^{3+} y transportar el Fe^{2+} resultante a través de un transportador específico. Sin embargo, cuando el Fe escasea, se dan dos estrategias diferentes. En la primera, las plantas acidifican el suelo mediante la activación de la bomba de protones del plasmalema, que hace que aumente la solubilidad del hierro. Los quelatos de Fe^{3+} son reducidos por una reductasa específica que transfiere electrones desde el NAD(P)H del citoplasma al Fe^{3+} , y el Fe^{2+} resultante es incorporado a través del plasmalema. En la segunda estrategia, las plantas secretan a la rizosfera unas moléculas pequeñas llamadas **fitosideróforos**. Estas sustancias forman quelatos de Fe^{3+} , que son introducidos al interior de la célula por otro tipo de transportadores específicos que funcionan en simporte con protones.

Aunque se sabe que el transporte de cloro se produce a través de canales aniónicos y de transportadores que funcionan en simporte con protones, los genes que codifican para estas proteínas transportadoras son todavía una incógnita. El transporte de boro es aún más desconocido. El descubrimiento casual de un mutante que necesitaba gran cantidad de boro para su crecimiento normal, permitió identificar el primer gen implicado en el transporte de este micronutriente (BOR1), en concreto, en su entrada al interior del xilema (Takano, J. y cols., *Nature* 420:337-340, 2002).

CUADRO 1-1. Clasificación energética y funcional de los sistemas de transporte a través de membrana en las plantas.

Tipo	Características	Cinética	Energía que se usa	Ejemplos
Canales iónicos	Pasivo (difusivo) Secundario Electroforético	Lineal (saturable sólo a altas concentraciones)	Física Fuerza ion motriz $\Delta\tilde{\mu}_i/F$	Canales de K^+ , Cl^- y Ca^{2+} en plasmalema y endomembranas
Canales de agua (cuaporinas)	Pasivo Electroneutro en el caso del transporte de agua		Física Gradiente de potencial hídrico $\Delta\psi$	Acuaporinas del plasmalema y el tonoplasto
Transportadores (<i>carriers</i>) – Con transporte: – Simporte – Antiporte	Activo Secundario Electroforético	Saturable (Michaelis-Menten)	Indirectamente energía metabólica Fuerza H^+ o Na^+ motriz $\Delta\tilde{\mu}_{H^+}/F$ o $\Delta\tilde{\mu}_{Na^+}/F$	Sistemas de incorporación de NO_3^- , $H_2PO_4^-$, SO_4^{2-} , HCO_3^- , Cl^- , K^+ , aminoácidos, glucosa y acetato
Bombas iónicas	Activo Primario Electrogénico	Saturable (Michaelis-Menten)	Energía metabólica ATP o NAD(P)H en bombas redox	H^+ -ATPasa de plasmalema y tonoplasto Ca^{2+} - H^+ -ATPasa Na^+ - H^+ -ATPasa de hongos P_{1B} -ATPasas H^+ -PP _i asa del tonoplasto Cl^- -ATPasa de <i>Acetabularia</i> Bombas redox

En resumen, el número de transportadores identificados a nivel molecular en los últimos años se ha incrementado mucho. Para un nutriente dado, existe en el plasmalema un conjunto de potenciales vías distintas de transporte, incluso dentro de una misma especie. Por una parte, esta complejidad refleja la presencia de isoformas que se expresan en determinados tejidos

o tipos celulares. Tales isoformas pueden ser reguladas a nivel transcripcional como respuesta a señales ambientales o de desarrollo. Por otra parte, la existencia de distintas clases de transportadores, como en el caso del potasio o el nitrato, puede reflejar el amplio rango de concentraciones de nutrientes a las que pueden estar expuestas las plantas.



RESUMEN

- El transporte de iones en las células vegetales puede ser pasivo o activo (véase el Cuadro 7-1, en el que se resumen los sistemas de transporte a través de la membrana en las plantas). En el primer caso, los iones fluyen a favor de la fuerza física que actúa sobre ellos y atraviesan las membranas a través de poros selectivos denominados **canales**, siendo la cinética del transporte prácticamente lineal.
- El transporte activo requiere la aplicación de energía metabólica. Dicha energía se acumula en las membranas vegetales en forma de fuerza protón motriz debido a la actividad de **bombas iónicas** que extraen H^+ del citoplasma hacia el exterior o lo vierten a la vacuola consumiendo ATP o pirofosfato.
- La energía acumulada en las membranas se utiliza, con carácter secundario, para el movimiento de iones en contra del gradiente mediante **simporte** o **antiporte**.
- Los sistemas de transporte activo siguen una cinética de tipo Michaelis-Menten.
- De esta forma, a través de las células de la raíz se incorporan los principales nutrientes que las plantas necesitan para mantener su biomasa y crecer.



PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1 Explique el origen y los componentes del potencial de membrana (E_m) en las células vegetales.
- 2 Explique las diferencias funcionales entre transportadores, canales y bombas iónicas. Ponga un ejemplo de cada tipo.
- 3 Identifique el ion (o iones) motriz en el plasmalema y el tonoplasto de las células vegetales.
- 4 Las células epidérmicas de la raíz de una planta vascular terrestre tienen un potencial de membrana (E_m) de -174 mV. La concentración de K^+ en el medio externo es 0.1 mM, y en el citoplasma, 100 mM. Asumiendo que a 20 °C, RT/zF multiplicado por 2.303 tiene un valor de 58 mV, indique el sentido de la fuerza ion motriz, $\Delta\tilde{\mu}_{H^+}/F$, que actúa sobre el K^+ .
- 5 Las células de una planta de agua dulce tienen un potencial de membrana de -232 mV. La concentración de $H_2PO_4^-$ en el medio es 15 μ M, mientras que la concentración citoplasmática de este ion es 1.5 mM. El pH del medio es 7.3 , igual que el pH citoplasmático. Asumiendo que RT/zF multiplicado por 2.303 tiene un valor de -58 mV, indique el valor de la fuerza motriz que impulsa al $H_2PO_4^-$, $\Delta\tilde{\mu}_{H_2PO_4^-}/F$, la fuerza asociada al ion motriz $\Delta\tilde{\mu}_{H^+}/F$ y el número de H^+ que han de emplearse para que la incorporación de $H_2PO_4^-$ sea termodinámicamente posible.



RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1 El potencial de membrana de las células vegetales tiene dos componentes: uno que depende del funcionamiento de la bomba primaria, la H^+ -ATPasa del plasmalema, y que podría denominarse componente *metabólico*, y otro *difusivo*, que está generado por la asimetría de carga asociada a K^+ , Na^+ y Cl^- . Dicha asimetría se genera como consecuencia del déficit de carga positiva en el citoplasma, que genera la actividad de la bomba de protones y la diferente permeabilidad de la mem-

RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES



brana a dichos iones. El componente difusivo se denomina *potencial de difusión* (E_D) y puede medirse en presencia de inhibidores de la respiración.

- 2 Las bombas iónicas acoplan directamente el consumo de energía metabólica (ATP, NAD(P)H) al transporte de iones y, por ello, son las responsables de la carga de energía a las membranas. Los transportadores disipan dicha energía, que está asociada al gradiente de potencial electroquímico para el ion motriz, y son capaces de transportar solutos en contra de su gradiente de potencial electroquímico. Los canales son poros selectivos que atraviesan las membranas, a través de los cuales fluyen iones a favor del gradiente de potencial electroquímico.
- 3 Las bombas primarias que cargan de energía tanto al plasmalema como al tonoplasto son bombas de protones; por tanto, el ion motriz disponible para el transporte será el H^+ . Algunas plantas, sometidas a un fuerte gradiente Na^+ , usan este ion para impulsar el transporte de determinados solutos.
- 4 La fuerza física que empuja al ion K^+ a moverse es el gradiente de potencial electroquímico para dicho ion, $\Delta\tilde{\mu}_{K^+}/F$, que es la diferencia entre el potencial de membrana y el potencial de Nernst para el K^+ ,

$$\Delta\tilde{\mu}_{K^+}/F = E_m - E_{K^+}^N$$

Puesto que el potencial de membrana y el potencial de Nernst tienen el mismo valor (-174 mV), el gradiente de potencial electroquímico para el K^+ es cero, y el ion está en equilibrio.

- 5 La fuerza que actúa sobre el $H_2PO_4^-$ es la diferencia entre el potencial de membrana y el potencial de Nernst para el ion,

$$\Delta\tilde{\mu}_{H_2PO_4^-}/F = (-1) [-232 \text{ mV} - (+116 \text{ mV})] = +348 \text{ mV}$$

La fuerza que empuja al ion está dirigida hacia fuera y tiene una magnitud de 348 mV.

Sin embargo, la fuerza motriz disponible para el transporte es el gradiente de potencial electroquímico para protones $\Delta\tilde{\mu}_{H^+}/F$, que, para cada protón, a igualdad de pH entre el medio externo y el citoplasma, es igual al potencial de membrana, E_m , y vale -232 mV.

$$\Delta\tilde{\mu}_{H^+}/F = E_m = -232 \text{ mV}$$

Para que el transporte de $H_2PO_4^-$ fuese termodinámicamente posible, serían necesarios, al menos, dos protones para vencer la fuerza que tiende a sacar de la célula a dicha forma de fósforo.

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA



1. Maathuis FJ, Sanders D. Plant membrane transport. *Current Opinion in Cell Biology* 1992; 4:661-669.
2. Neher E, Sakmann B. La técnica del pinzamiento de membrana. *Investigación y Ciencia* 1992; 188:14-22.
3. Palmgren MG. Plant plasma membrane H^+ -ATPases: powerhouses for nutrient uptake. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 2001; 52:817-845.
4. Rodríguez-Navarro A. Potassium transport in fungi and plants. *Biochimica et Biophysica Acta* 2000; 1469:1-30.
5. Sanders D, Bethke P. Membrane transport. En «*Biochemistry and Molecular Biology of Plants*». Buchanan BB, Gruissem GJ, Jones RL. (eds.) *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland, 2000; 110-158.
6. Serrano R, Villalba JM. Bomba de protones de la membrana vegetal. *Investigación y Ciencia* 1993; 196:62-69.

Nutrición mineral y producción vegetal

AGUSTÍN GÁRATE E ILDEFONSO BONILLA



1. Introducción. 2. Diagnóstico de nutrición. 3. Suministro de nutrientes en la producción agrícola. 4. Interacción planta-microorganismo. 5. Problemas de producción en condiciones de estrés. 6. Genética y nutrición. 7. Nutrición mineral y su relación con las enfermedades y las plagas.

1. INTRODUCCIÓN

La forma en que las plantas adquieren y asimilan los nutrientes minerales para crecer y desarrollarse es parte fundamental de la Fisiología Vegetal (véanse los Capítulos 6 y 7). La ampliación de los conocimientos sobre la nutrición mineral de las plantas ha sido, además, el punto de partida de la gran expansión que ha experimentado la agricultura moderna, cuya mejora se basa en un conocimiento más profundo de tales procesos. Dada la complejidad de la nutrición mineral de las plantas, su estudio no sólo atañe a los fisiólogos vegetales, sino también a bioquímicos, químicos, edafólogos, agrónomos, microbiólogos y ecólogos. En consecuencia, aspectos aparentemente tan dispares como el estudio de los fertilizantes, las micorrizas, los quelatos, la salinidad o la fijación del N_2 atmosférico, deben ser tratados de forma armónica, con el fin de lograr una mayor y mejor producción de los cultivos con el menor impacto negativo posible sobre el medio.

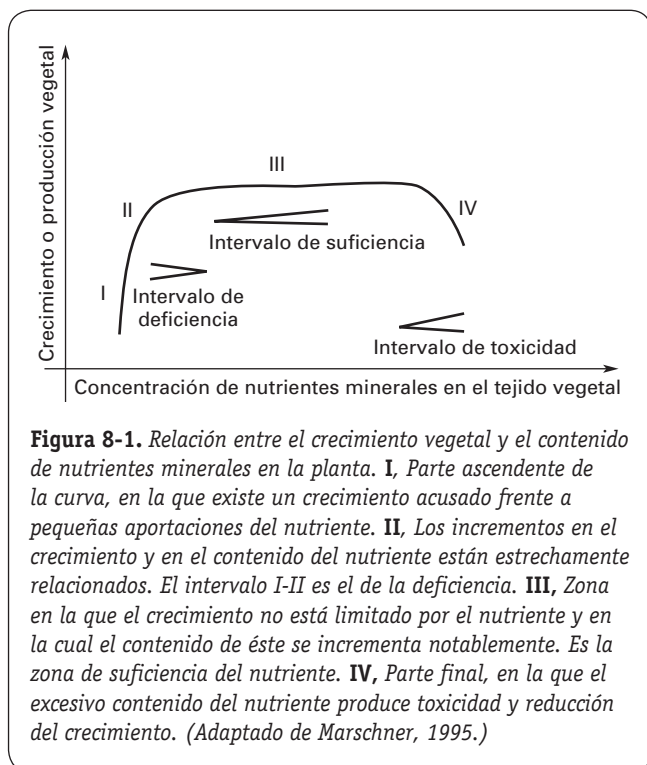
1.1. Contenido de nutrientes minerales y crecimiento vegetal

El crecimiento de las plantas depende de varios factores, que van desde la regulación génica hasta los factores edafoclimáticos. Para una especie vegetal y en un ambiente dado, los factores de crecimiento más importantes son la luz, el agua, el CO_2 y los nutrientes minerales.

Mitscherlich (1920) intentó dar forma matemática a la denominada ley del mínimo, enunciada por Liebig en 1840,

y a la ley de los tres puntos de Sachs, en las que se explica cómo cualquier factor ambiental limitante del crecimiento tendrá una respuesta mínima, óptima o máxima sobre la planta. Mitscherlich estableció una relación matemática entre el nutriente aplicado y el rendimiento de la cosecha para demostrar que, en la zona de deficiencia, el efecto positivo del aporte de un nutriente es tanto mayor cuanto más grave es la deficiencia del nutriente en cuestión. El paradigma de las relaciones entre el crecimiento o la producción de una planta y el contenido de nutrientes minerales se muestra en la Figura 8-1.

Las curvas de respuesta de la producción al aporte de nutrientes presentan distintas pendientes: las curvas de mayor pendiente corresponden a los oligoelementos, mientras que las de menor pendiente corresponden al nitrógeno (Fig. 8-2). Este comportamiento indica que las plantas tienen necesidades diferentes de cada nutriente. No obstante, las curvas reales de respuesta del crecimiento al aporte de nutrientes no presentan una pendiente constante ni son siempre asintóticas, porque existen interacciones con otros factores de crecimiento. Todos estos planteamientos son igualmente válidos en el ámbito agrícola, en el que la nutrición mineral tiene una influencia decisiva sobre la cosecha. La producción de biomasa total, peso total de la planta (**índice biológico**), está directamente relacionada con el contenido de nutrientes, si bien en agricultura la cosecha se determina por la producción de materia seca de determinados órganos o tejidos (**índice de cosecha**), por ejemplo, de tubérculos o granos. Si consideramos la planta de remolacha azucarera (*Beta vulgaris*), el rendimiento agrícola (índice de cosecha)



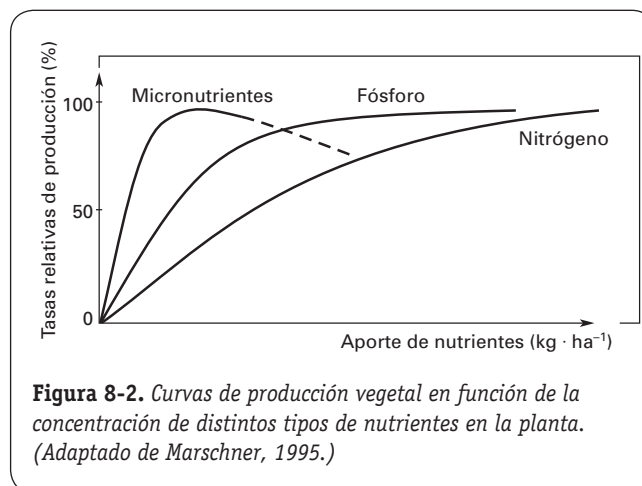
será mayor cuanto mayor sea el peso de la raíz y su concentración de sacarosa. La consecución de un índice biológico elevado podría afectar negativamente a dicho rendimiento, ya que, por ejemplo, un gran desarrollo foliar puede restar peso y riqueza en sacarosa a la raíz.

1.2. Factores que afectan al contenido mineral de las plantas

El contenido de nutrientes esenciales en los tejidos vegetales viene determinado por varios factores, entre los que podemos destacar: a) la dotación génica de la planta; b) la disponibilidad de nutrientes en el suelo o el medio de cultivo, y c) el momento fenológico o edad de la planta y el órgano o tejido vegetal que se considere.

Dotación génica de la planta. Los contenidos minerales entre las especies vegetales varían, incluso cuando las comparaciones se establecen utilizando los mismos órganos y de la misma edad fisiológica. Estas variaciones se basan fundamentalmente en diferencias en el metabolismo y en la constitución de la planta, por ejemplo, las diferencias en la demanda genotípica de B y Ca de la pared celular. El contenido de boro en la materia seca de hojas recientemente maduras, crecidas en las mismas condiciones, es de $3.0 \mu\text{g g}^{-1}$ en el trigo y $5.0 \mu\text{g g}^{-1}$ en el arroz, pero llegan a $25 \mu\text{g g}^{-1}$ en la soja y hasta $34 \mu\text{g g}^{-1}$ en el girasol. En el Cuadro 8-2, que se explica más adelante, se pueden apreciar las diferencias en el contenido de nutrientes de distintas especies vegetales.

En otro epígrafe posterior se estudian aspectos genéticos de las plantas relacionados con la adaptación de distintas variedades de una misma especie al estrés nutricional.



Disponibilidad de nutrientes en el suelo. El suelo es el soporte natural de las plantas, y de él toman las raíces el agua y los nutrientes minerales. El desarrollo óptimo de un cultivo viene genéticamente determinado, al igual que su capacidad para captar nutrientes del medio externo. Pero este potencial de desarrollo está limitado, fundamentalmente, por la disponibilidad de nutrientes del medio y, también, por otros factores de estrés que se tratarán más adelante.

En este sentido, saber qué cantidad total de un nutriente hay en el suelo resulta casi siempre irrelevante. Por ejemplo, en el caso del hierro, en casi todos los suelos existen cantidades totales de Fe elevadas, ya que es el cuarto elemento más abundante de la corteza terrestre. Sin embargo, la concentración de Fe^{3+} libre en la disolución del suelo, salvo contadas excepciones, es inferior a 10^{-9} M, y lo mismo ocurre con otros elementos. En consecuencia, la planta sólo puede captar una pequeña parte de la cantidad total de nutrientes presentes en el suelo; esta parte recibe el nombre de **elemento disponible o asimilable**.

Momento fenológico y órgano de la planta. La edad fisiológica de la planta y la parte de la planta son, después del aporte de nutrientes, los factores que más afectan al contenido de nutrientes minerales en el tejido vegetal. Normalmente, a medida que la planta va envejeciendo se produce un descenso en la concentración de nutrientes (contenido en peso seco), excepto del Ca y, a veces, del B y el Fe. Esta tendencia a la baja viene provocada, principalmente, por el aumento relativo del porcentaje de peso seco del material estructural, la pared celular y la lignina, y de los compuestos de reserva, como el almidón. Por ejemplo, en la cebada cultivada en campo con un suministro adecuado de potasio, el contenido de K en la parte aérea pasa desde el 5-6% en la planta joven hasta cerca del 1% en la maduración. En este caso, la disminución exclusivamente se debe a un efecto de dilución, ya que la concentración de K en el extracto acuoso de tejido (mayoritariamente, jugo vacuolar) permanece constante a lo largo del ciclo, con un valor aproximado de $100 \mu\text{M}$. El reparto de fotoasimilados o fotosintetizados es fundamental para el índice de cosecha y está relacionado con la distribución **fuentesumidero**

(*source-sink*). Se denomina «fuente» a los tejidos fotosintéticos, las hojas y los tallos, en los que se producen hidratos de carbono (los fotoasimilados), y «sumidero», a los órganos reproductores, los de reserva y los ápices de crecimiento, que son consumidores netos de fotoasimilados (véase el Capítulo 5). En los cultivos en los que se cosechan frutos, semillas o tubérculos, los efectos del aporte de nutrientes en el índice de cosecha son, a menudo, reflejo de las limitaciones del sumidero, ocasionadas por un aporte deficiente o excesivo durante un período crítico del desarrollo, como el inicio de la floración, la polinización o el inicio de la tuberización.

Los órganos reproductores y los de reserva presentan unos contenidos minerales estables en comparación con los órganos vegetativos, que reflejan mejor las fluctuaciones en el aporte externo de nutrientes. En este sentido, la hoja es el órgano que mejor representa el estado de nutrición de la planta, de ahí que sea el más utilizado en el análisis vegetal.

2. DIAGNÓSTICO DE NUTRICIÓN

El diagnóstico del estado nutritivo de las plantas se realiza principalmente con fines agrícolas, pero también para investigar distintos aspectos de la nutrición mineral. Puede dividirse en dos etapas: la primera es la de obtención de datos, fundamentalmente mediante el análisis químico del material vegetal (**análisis foliar**), que puede complementarse con el **análisis del suelo**. La segunda etapa es la de interpretación de los resultados, y en ella se comparan los datos del análisis con unos valores de referencia. Esta comparación se puede establecer siguiendo distintos criterios, que dan lugar a los diferentes métodos de diagnóstico.

2.1. Análisis del suelo

El análisis del suelo permite evaluar su potencial nutricional, es decir, su capacidad para suministrar nutrientes a la planta durante un ciclo de cultivo. La determinación de la composición y las propiedades del suelo, como pH, textura (composición centesimal de las partículas sólidas del suelo en función de su diámetro), conductividad eléctrica (EC) y materia orgánica, proporciona una información básica para conocer el potencial agrícola de un suelo, ya que tales propiedades marcan las condiciones en que tendrán lugar los procesos fisicoquímicos relacionados con la disponibilidad de nutrientes.

Los nutrientes minerales que toman las raíces de las plantas se encuentran en disolución y en equilibrio con los nutrientes de la fase coloidal del suelo, compuesta, sobre todo, por las arcillas y las sustancias húmicas. Cuando la concentración de un ion en la disolución del suelo disminuye debido a la absorción radicular, este ion es repuesto desde los coloides edáficos. Por tanto, tenemos un proceso dinámico regulado por factores diversos, que dificulta el diagnóstico del potencial nutricional de los suelos, más aún si tenemos en cuenta la gran variedad de suelos existente.

El análisis del suelo debe suministrar información acerca de los nutrientes disponibles o asimilables por la planta, no sólo de los que puede haber en un momento dado, sino también del ritmo de incorporación de los nutrientes a la disolución del suelo. Los métodos de extracción de nutrientes asimilables del suelo normalmente consisten en la agitación de éste con sustancias químicas extractoras, como ácidos o agentes quelantes. En la disolución que obtenemos después de la extracción se determinan los distintos nutrientes.

2.2. Análisis foliar

El empleo del análisis químico del material vegetal con el fin de realizar un diagnóstico de nutrición se basa en la asunción de que existe una relación entre el crecimiento de las plantas y el contenido de los nutrientes en la materia vegetal seca o fresca.

En general, el estado nutricional de una planta se refleja mejor por el contenido de los elementos de las hojas que por el de otros órganos (véase el apartado 1.2.). No obstante, distintos factores, como el tipo de elemento, la edad y la especie vegetal, pueden hacer ocasionalmente recomendable el muestreo de otro órgano o parte de la planta.

El empleo de hojas jóvenes sólo es aconsejable para nutrientes que presentan un grado reducido de movilidad desde las hojas adultas hacia las zonas de nuevo desarrollo. La situación es otra para los elementos K, N y Mg, puesto que sus contenidos permanecen estables en las hojas jóvenes expandidas. Para estos nutrientes móviles, las hojas adultas son las que mejor indican el estado nutricional de la planta. Si se sospecha que pueden existir problemas de toxicidad, las hojas adultas son las más recomendables para el análisis foliar.

El análisis mineral de la hoja o de un tejido vegetal se realiza en tres etapas:

1. **La toma de muestra vegetal** es clave para la validez de todo el **diagnóstico de nutrición**. Es necesario establecer un procedimiento normalizado de muestreo que asegure un material vegetal comparable y que considere los factores que afectan al contenido de nutrientes de los órganos y tejidos. La normalización del muestreo debe realizarse por cultivos, dada las diferencias existentes, por ejemplo, entre un frutal y una hortaliza.
2. **La preparación de la muestra**, previa al análisis químico, contempla los siguientes pasos: a) el transporte al laboratorio, generalmente en envases plásticos; b) el lavado de la muestra con agua destilada, sobre todo si se trata de muestras de planta desarrolladas en condiciones de campo, manchadas con polvo o rociados foliares; y c) el secado y molido si, como sucede normalmente, el análisis se hace a partir de material seco.
3. **El análisis foliar**, propiamente dicho, consiste en una mineralización de la materia orgánica vegetal por vía seca o por vía húmeda. En la vía seca, la muestra de hoja se reduce a cenizas en un horno-mufla y, posteriormen-

te, éstas se someten a una digestión ácida, para realizar finalmente el análisis de nutrientes en el extracto resultante. En la vía húmeda, el tejido vegetal se trata con una mezcla de ácidos (sulfúrico, nítrico y clorhídrico, fundamentalmente), para acabar con la medida analítica de los nutrientes. Los nutrientes metálicos se determinan por espectrometría de absorción atómica (Fe, Cu, Mn, Zn y Mo), de emisión por llama (K, Na, Ca y Mg), o de plasma inducido (todos ellos), mientras que los no metálicos (N, P y B) se analizan por colorimetría. Actualmente existen otros métodos capaces de medir conjuntamente aniones y cationes, entre los que podemos destacar la cromatografía líquida (HPLC) y la electroforesis capilar. Existe un procedimiento normalizado recogido en los Métodos Oficiales de Análisis (1993).

2.3. Métodos de diagnóstico

Los métodos de diagnóstico pueden ser cualitativos, mediante la observación de los síntomas visibles de alteraciones nutricionales, o cuantitativos, basados en los resultados del análisis químico del material vegetal, por comparación con normas o valores de referencia.

2.3.1. Síntomas visibles de alteraciones nutricionales

Las alteraciones nutricionales que reducen ligeramente el crecimiento y la producción no presentan síntomas visibles

claros. Normalmente, los síntomas se hacen patentes cuando la deficiencia nutricional es aguda y el ritmo de crecimiento y la producción disminuyen significativamente. Además, muchas especies vegetales naturales, sobre todo las adaptadas a lugares pobres en nutrientes, ajustan su crecimiento al nutriente limitante, por lo que no se desarrollan síntomas visibles.

Con objeto de diferenciar los síntomas de alteraciones nutricionales de otros síntomas, es importante tener en cuenta que los causados por las alteraciones nutricionales siempre tienen un patrón de distribución simétrico: las hojas de una planta en posiciones iguales o similares, de la misma edad fisiológica, presentarán una distribución de síntomas casi idéntica.

El diagnóstico del estado nutricional de una planta basado en los síntomas visibles requiere una aproximación sistemática, como se resume en el Cuadro 8-1. Los síntomas aparecen, preferentemente, en las hojas jóvenes o viejas, en función de la capacidad del nutriente para movilizarse por el floema.

La **clorosis** (amarilleamiento de las hojas) y la **necrosis** (manchas de color variable, normalmente de marrón a negro), así como el patrón de distribución de ambas, son criterios importantes para el diagnóstico nutricional. Como norma general, los síntomas visibles de la deficiencia de un nutriente son más específicos que los de su toxicidad.

El diagnóstico puede ser especialmente complicado en cultivos agrícolas y en condiciones de campo, cuando se encuentra más de un nutriente en un nivel deficiente, o cuando se producen simultáneamente la deficiencia de un nutriente y la toxicidad de otro. El diagnóstico basado en los síntomas

CUADRO 8-1. Síntomas visibles de las alteraciones nutricionales.

Parte de la planta	Síntoma predominante	Deficiencia nutricional	
Hojas adultas	Clorosis	Uniforme	N (S)
		Intervenal o en manchas	Mg (Mn)
	Necrosis	Bordes y puntas	K
		Intervenal	Mg (Mn)
Hojas jóvenes y ápices	Clorosis	Uniforme	Fe (S)
		Intervenal o en manchas	Zn (Mn)
	Necrosis (o clorosis)	Ca, B, Cu	
	Deformaciones	Mo (Zn, B)	

		Toxicidad nutricional	
Hojas adultas	Necrosis	Manchas	Mn (B)
		Bordes y puntas	B, salinidad
	Clorosis, necrosis	Toxicidad inespecífica	

visibles también se complica con la presencia de plagas y enfermedades, o por otros daños provocados, por ejemplo, por el uso de rociados foliares.

2.3.2. Diagnóstico foliar. Nivel crítico e intervalo de suficiencia

La comparación de los resultados del análisis foliar con la norma o referencia se viene realizando de distintas maneras. Algunas implican una mera comparación entre concentraciones de un solo elemento y su norma, pero otras utilizan relaciones entre dos elementos o, incluso, son multicomponentes. Al primer tipo pertenecen los métodos tradicionales del nivel crítico y del intervalo de suficiencia, y al segundo, el método DRIS (véase el apartado 2.3.3).

El método del **nivel crítico** es el más extendido, y se basa en la comparación de la concentración de un nutriente, obtenida mediante análisis foliar, con un valor de referencia que se denomina nivel crítico, y que normalmente supone el 90% del máximo de cosecha en peso seco. El problema es que los valores de referencia no son universales y, en consecuencia, no pueden aplicarse directamente a los mismos cultivos de distintas zonas geográficas. Los métodos tradicionales presentan serias limitaciones, ya que las concentraciones de los nutrientes sufren fluctuaciones debido a distintos factores, como los mencionados anteriormente. Parece más lógico y realista utilizar un intervalo de valores de referencia, en lugar de un valor aislado.

El método del **intervalo de suficiencia** tiene la misma base que el del nivel crítico, pero aquí el dato analítico se compara con un intervalo de concentraciones del nutriente en el que no se aprecia una reducción en la producción o la cosecha.

En el Cuadro 8-2 se muestran los intervalos de concentración de los nutrientes más frecuentemente analizados y que se consideran adecuados o suficientes para distintas especies vegetales. Los valores de los macronutrientes vienen expresados en porcentajes en peso seco y los de los

micronutrientes, en partes por millón (ppm) o miligramos de nutriente por kilogramo de peso seco de tejido vegetal. La relación de unidades de macro a micronutrientes es de 10^4 , factor por el que habría que multiplicar los porcentajes para expresarlos en ppm. En las distintas especies los intervalos de macronutrientes son de órdenes de magnitud similares. El calcio es una excepción, pues presenta un contenido sustancialmente menor en las monocotiledóneas (calcífugas frente a calcícolas, véase el apartado 5.2.). En todas las especies, el N presenta el intervalo más estrecho; cabe recordar que los contenidos altos de N pueden tener efectos desfavorables bien en el crecimiento y la composición de la planta, o bien sobre la sensibilidad de la planta a las plagas y las enfermedades (véase el apartado 7.1.). En la hoja de manzano, por ejemplo, un contenido de N superior al 2.4% a menudo afecta negativamente tanto al color como al almacenaje de los frutos. Los contenidos de micronutrientes en los intervalos de adecuación varían por un factor de 2, o mayor. El Mn es el nutriente que muestra intervalos más amplios.

2.3.3. Relación entre nutrientes. Método DRIS (Diagnosis and Recommendation Integrated System)

Entre los nutrientes minerales de las plantas existen numerosas interacciones, específicas e inespecíficas, que afectan a las concentraciones de éstos y a la producción vegetal. Así, en el maíz, cuando los contenidos de P son bajos, un aumento de N en la hoja bandera del 2.1 al 2.9% tiene poca repercusión sobre la producción; sin embargo, cuando los contenidos de P son altos, la producción crece si el porcentaje de N en la hoja bandera pasa del 3.0%.

Las interacciones entre dos nutrientes son importantes cuando los contenidos de ambos se encuentran cercanos al intervalo de deficiencia. El aumento del aporte de uno de los nutrientes estimula el crecimiento, lo que podría provocar o inducir la deficiencia del otro por un efecto de dilución. En principio, estas interacciones inespecíficas son válidas

CUADRO 8-2. Intervalos de suficiencia de la concentración de nutrientes en tejidos vegetales de distintos tipos de planta.

Especie (órgano)	Contenidos (% en peso seco)					Contenidos (mg · kg ⁻¹ peso seco)				
	N	P	K	Ca	Mg	Mn	Zn	Cu	B	Mo
Trigo (toda la parte aérea)	3.0-4.5	0.3-0.5	2.9-3.8	0.4-1.0	0.15-0.3	30-100	20-70	5-10	5-10	0.1-0.3
Maíz (hoja madura) ^a	2.7-3.5	0.4-0.7	2.5-3.5	0.7-1.0	0.20-0.5	30-300	20-150	5-25	8-25	0.5-1.0
Remolacha (hoja madura)	4.0-6.0	0.35-0.6	3.5-6.0 ^b	0.7-2.0	0.30-0.70	40-100	20-80	7-15	40-100	0.25-1.0
Algodón (hoja madura)	3.6-4.7	0.3-0.5	1.7-3.5	0.6-1.5	0.35-0.8	35-100	25-80	8-20	20-80	0.6-2.0
Tomate (hoja madura)	4.0-5.5	0.4-0.65	3.0-6.0	3.0-4.0	0.3-0.8	40-100	30-80	6-12	40-80	0.3-1.0
Alfalfa (parte aérea)	3.5-5.0	0.3-0.6	2.5-3.8	1.0-2.5	0.3-0.8	30-100	25-70	6-15	35-80	0.5-2.0
Manzano (hoja madura)	2.2-2.8	0.18-0.30	1.1-1.5	1.3-2.2	0.20-0.35	35-100	20-50	5-12	30-50	0.1-0.3
Naranja (hoja madura)	2.4-3.5	0.15-0.3	1.2-2.0	3.0-7.0	0.25-0.7	25-125	25-60	6-15	30-70	0.2-0.5
Abeto (acículas de 1-2 años)	1.35-1.7	0.13-0.25	0.5-1.2	0.35-0.8	0.1-0.25	50-500	15-60	4-10	15-50	0.04-0.2

^a De Jones *et al.* 1991.

^b Contenido de Na por debajo del 1.5% (Adaptado de Marschner, H., 1995.)

para cualquiera de los nutrientes minerales de las plantas. Por tanto, las relaciones óptimas entre nutrientes muchas veces son tan importantes como los contenidos absolutos. Por ejemplo, una relación N/S próxima a 17 se considera adecuada para la nutrición azufrada del trigo y la soja. Sin embargo, las relaciones óptimas consideradas de forma aislada son insuficientes, porque pueden conseguirse cuando ambos nutrientes se encuentren en intervalos deficientes, o bien, en intervalos de toxicidad.

Dada la importancia que tiene la relación entre los nutrientes para el análisis de la planta con fines de diagnóstico, se ha introducido un nuevo concepto: el de **sistema integrado de diagnóstico y recomendación** (DRIS). Este sistema se basa en la recogida del mayor número posible de datos respecto a los contenidos de nutrientes minerales en la planta (hasta ahora, macronutrientes), y el uso de esos datos para calcular las relaciones óptimas entre nutrientes (índices nutritivos o relaciones normalizadas), por ejemplo, las relaciones N/P, N/K, etc. Los índices de nutrientes calculados por el método DRIS son menos sensibles a los cambios que se producen durante la maduración de la hoja y la ontogénesis, pero dependen en cierto grado de la localización, que afecta sobre todo a los factores edafoclimáticos. Por ejemplo, el índice N/P para la hoja bandera de maíz tiene un valor medio de 10.13, pero es de 8.91 en Sudáfrica y de 11.13 en el sudoeste de Estados Unidos.

Las relaciones normalizadas o índices nutritivos son valores medios obtenidos a partir de varios miles de experimentos de campo. Actualmente, el uso de modelos informatizados facilita la obtención y el manejo de estos índices. Para determinados cultivos y en ciertas condiciones (lugares de alta producción, sistemas de cultivo a gran escala), puede resultar rentable una elevada inversión económica en medios analíticos, ya que sistemas como el DRIS permiten una interpretación más ajustada de los resultados y, por tanto, una recomendación adecuada de abonado, como se ha podido comprobar para la remolacha azucarera, el maíz y los frutales. Sin embargo, con otras condiciones ambientales, los resultados obtenidos con el DRIS han sido menos favorables; de hecho, no es el método más recomendable para sistemas de producción con una gran diversidad de cultivos anuales, o para sistemas de producción reducida y de cultivo a pequeña escala.

2.4. Otros métodos de análisis y de diagnóstico de nutrición

El contenido total de un nutriente en la hoja es lo que con mayor frecuencia se determina en el análisis vegetal. No obstante, existen otros métodos de estudio para conocer el estado nutricional de las plantas, como: a) la fracción de nutrientes, b) el análisis de savia, y c) los métodos histológicos y bioquímicos.

Fracción de nutrientes. La determinación única y exclusiva de una parte o fracción del contenido total de un nutriente en la hoja (p. ej., la que es soluble en agua o en un ácido diluido o en un agente quelante), a veces, refleja

mejor el estado nutricional de la planta. En el análisis de la planta como base para una recomendación de abonado, esta afirmación es aplicable para el nitrato, que en muchas especies vegetales es la forma principal del N de reserva. Las limitaciones más importantes que puede tener este método surgen cuando se trata de especies que reducen el nitrato preferentemente en las raíces, como algunos miembros de las rosáceas, o cuando se fertiliza con N amoniacal y éste se absorbe antes de ser nitrificado en el suelo. Algo similar podría darse en suelos con alto contenido en N orgánico y con tasas elevadas de mineralización durante los períodos en los que el cultivo tiene una alta demanda de nitrógeno. La determinación de una fracción definida de nutriente permite no sólo caracterizar mejor las reservas almacenadas en la planta (p. ej., N-nitrato o S-sulfato), sino también conocer la disponibilidad fisiológica del nutriente en el tejido. Por ejemplo, la extracción de Fe (II) de hojas con ácidos diluidos o con agentes quelantes, para caracterizar la denominada «fracción activa» de Fe, se relaciona mejor con el contenido de clorofilas en las hojas que el Fe total de éstas.

Análisis de savia. De entre los métodos propuestos para la extracción de savia, destacan dos: la savia de presión y el exudado de xilema. En el primer método, los tejidos conductores, tallos y pecíolos, se someten a presión en un medio éter etílico y, posteriormente, por decantación del medio acuoso, se obtiene lo que se denomina «savia». Más bien se trata de un jugo de tejidos conductores, en el que, además del fluido de xilema, obtendremos contenidos celulares, sobre todo vacuolares, de las muestras prensadas.

La savia del xilema se puede obtener mediante decapitación de la planta a unos 2 ó 3 cm por encima del comienzo de la raíz, y la subsiguiente recolección del exudado que fluye del corte. Aquí, el líquido que extraemos se encuentra más diluido que en la savia de presión.

La hoja, a través del análisis foliar, proporciona información sobre lo que ha ocurrido hasta el momento del muestreo, pero difícilmente reflejará las alteraciones ocasionales que pueden afectar a los sumideros. En cambio, la savia informa de lo que está ocurriendo en la planta en el momento preciso de la toma de la muestra. Se ha utilizado en el estudio de antagonismos nitrato-cloruro y calcio-potasio, en el análisis de N-nitrato como indicador de fertilización nitrogenada en el cultivo de remolacha, etc. En los cultivos leñosos, el nivel de N orgánico en la savia corresponde al N proteico y de aminoácidos que, junto a los azúcares, reductores y totales, nos informa acerca de las reservas del cultivo. El análisis de la savia permite, por tanto, un diagnóstico precoz de nutrición y, eventualmente, la introducción de medidas de corrección en el abonado o en el riego, con el fin de mejorar la producción en el mismo ciclo de cultivo.

Métodos histoquímicos y bioquímicos. Por lo general, las alteraciones nutricionales están relacionadas con cambios característicos tanto en la estructura fina de la célula y de sus orgánulos, como en los tejidos vegetales. Los estudios con microscopio óptico de las modificaciones en la anatomía y la morfología de la hoja pueden ser útiles para el diagnóstico de las deficiencias de Ca, Cu, B y Mo.

Los métodos enzimáticos relacionados con enzimas marcadoras constituyen otro medio para conocer el estado nutricional de las plantas. Estos métodos se basan en el hecho de que la actividad de ciertas enzimas es menor o mayor (dependiendo del nutriente) en los tejidos normales que en los deficientes. Existen ejemplos para el Cu y la ascorbato oxidasa, el Zn y la aldolasa o la anhidrasa carbónica, y para el Mo y la nitrato reductasa. Los métodos enzimáticos se basan en la determinación de la actividad actual de la enzima en el tejido después de la extracción, o en la determinación de la actividad inducible de la enzima después de que el tejido se haya incubado con el nutriente en cuestión, como la actividad peroxidasa con el Fe o la nitrato reductasa con el Mo. Para determinar el estado nutricional de Mn, se puede utilizar como marcador bioquímico la actividad superóxido dismutasa (SOD-Mn) en las hojas.

También pueden emplearse métodos bioquímicos para determinar el estado nutricional de macronutrientes. La acumulación de putrescina (véase el Capítulo 22) en plantas deficientes en K se ha empleado como indicador bioquímico de las necesidades de K de la alfalfa. La actividad inducible de la nitrato reductasa puede ser utilizada como indicador del estado nutricional de N.

Por el momento, la utilidad de los métodos bioquímicos, biofísicos y enzimáticos radica en la resolución de algún caso particular de alteración nutricional, y hay que considerarlos más como complemento que como alternativa al análisis foliar, dados los problemas de calibración que presentan.

3. SUMINISTRO DE NUTRIENTES EN LA PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

Según las previsiones de Naciones Unidas (ONU), el crecimiento demográfico, unido al incremento del nivel de vida, hará que la demanda de alimentos y otros productos agrícolas aumente a un ritmo anual del 3.1%. Durante los últimos años, la producción de alimentos creció a razón de una tasa anual media del 3.2% en los países en vías de desarrollo, y del 2% en los países desarrollados. La Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO) indica que un tercio de ese incremento se debe a una expansión de la superficie cultivada, y dos tercios al aumento específico del rendimiento de los cultivos. Es evidente que para sostener o mejorar estos resultados se necesitan nuevos fertilizantes y nuevas técnicas de fertilización que, respetando las buenas prácticas agrícolas, mantengan o aumenten las cosechas con el menor impacto ambiental posible.

Otro gran factor limitante es el agua. Aunque actualmente sólo el 15% de la tierra arable del mundo es de regadío, ésta produce el 36% del rendimiento total de las cosechas. Por otra parte, la utilización adecuada de los fertilizantes exige que los cultivos tengan un suministro suficiente de agua. Por tanto, existe una estrecha relación entre ambos aportes. Dado que la agricultura absorbe aproximadamente el 75% de todo el consumo de agua, el riego puede ser muy caro, y su control, complejo. Problemas como la salinidad, la

erosión, la excesiva utilización de agua freática y su contaminación, o las inundaciones, causadas en muchos casos por una deforestación desmesurada, son aspectos que condicionan la utilización del agua de riego en la agricultura.

En síntesis, el crecimiento y el rendimiento de los cultivos están regulados no sólo por las condiciones ambientales y por las nuevas variedades de planta, sino también por la disponibilidad de agua y nutrientes. Así, por ejemplo, en el caso de los cereales, básicos en la alimentación, se ha pasado, en los países desarrollados, de una producción de 1.2 toneladas/ha/año, a mediados del siglo XX, a 2.5 toneladas/ha/año en la actualidad.

La aplicación de macro y micronutrientes ha contribuido de forma sustancial al enorme incremento de la producción de alimentos que ha tenido lugar en los últimos cien años. Sin embargo, en ciertas zonas de los países desarrollados el uso excesivo de fertilizantes ha creado graves problemas de contaminación de nutrientes. En estos lugares, se ha convertido en una prioridad mantener el equilibrio entre los nutrientes en el suelo y los nutrientes en el cultivo, de forma que se minimicen las pérdidas al medio ambiente incluso disminuyendo la fertilización y utilizando cultivares eficientes capaces de aprovechar los altos niveles de nutrientes existentes en el suelo. En cambio, en los países poco desarrollados o en vías de desarrollo, el principal factor que limita la producción agrícola es la escasa fertilidad de los suelos. Aquí, el objetivo de aumentar la producción depende de la introducción de tecnologías disponibles, que van desde los métodos de diagnóstico de la fertilidad de los suelos hasta el empleo de una cantidad mínima de fertilizantes, así como del desarrollo de cultivares que sean eficientes en suelos deficitarios en nutrientes, o que toleren los estreses naturales. La preocupación que existe en los países desarrollados por la contaminación a veces impide reconocer la urgente necesidad de productos agroquímicos y de estudios de fertilidad que tienen los países en vías de desarrollo para producir más alimentos por hectárea, como alternativa a otros procedimientos para obtener más tierra cultivable, como la tala y el quemado de áreas forestales.

3.1. Nuevas técnicas de producción agrícola. Fertirrigación

La fertirrigación es una técnica de cultivo que permite realizar una fertilización día a día, en función del proceso fotosintético, y exactamente a la medida de un cultivo, de un sustrato y de un agua de riego definidos y para unas condiciones ambientales determinadas. La técnica permite una dosificación adecuada de fertilizantes y fitosanitarios en un sistema de riego localizado, que ofrece numerosas ventajas frente al riego tradicional en cuanto a la cantidad y la calidad del agua que emplea. Por ejemplo, se calcula que el ahorro de agua de riego está por encima del 50% y, además, es posible el uso de aguas con elevada conductividad eléctrica en los sistemas gota a gota.

Se calcula que en España existen unas 300 000 ha de superficie fertirrigada, es decir, un 6% de la superficie total de

regadío, de las que más de 50 000 ha lo son de invernadero, correspondiendo a Almería prácticamente la mitad de esta superficie. En estos momentos, España es el segundo país del mundo en superficie fertirrigada, después de Estados Unidos, que, con 900 000 ha, ocupa el primer lugar. Normalmente, la fertirrigación se utiliza en cultivos intensivos, de elevado coste y rendimiento, en instalaciones bajo cubierta plástica, aunque también puede hacerse en campo abierto. La mayor parte de los cultivos de nueva plantación de viñas, olivos y frutales se está realizando con sistemas de fertirrigación. Los componentes fundamentales de un sistema de cultivo con fertirrigación son el sustrato de cultivo (orgánico o inorgánico), la disolución fertilizante, el sistema de riego (bomba de agua, filtros, inyector, electroválvulas, goteros, etc.) y la planta (Fig. 8-3).

En este sistema de cultivo se utilizan sustratos artificiales distintos del suelo debido a: 1) la necesidad de transportar plantas; 2) la existencia de factores limitantes para la continuidad de los cultivos intensivos en un suelo natural, como agotamiento, salinización y enfermedades, y 3) la posibilidad de un mayor control del ambiente radicular, en aspectos relacionados con el suministro de agua y nutrientes. Los sustratos más utilizados son turbas, arena, lana de roca o *rock-wool*, perlita y otros materiales alternativos, como corteza de pino, fibra de coco, escorias de fundición, etc.

El cabezal de riego en un sistema de fertirrigación consta de distintos módulos para la dosificación y la mezcla de los fertilizantes con el agua de riego, con ayuda de un programa de tiempos y diluciones, como se observa en la Figura 8-3. Los distintos tipos de disolución fertilizante que se utilizan en fertirrigación toman como modelo las disoluciones nutritivas que se emplean en hidroponía (como la que se menciona en el Cuadro 6-4). Actualmente se comercializan nuevos fertilizantes para

uso específico en fertirrigación que deben ser solubles. Como es lógico, en el diseño de las disoluciones se tienen en cuenta los contenidos salinos del agua de riego, las interacciones con el sustrato y las necesidades del cultivo.

La fertirrigación permite aprovechar mejor los fertilizantes, dada la precisión en la incorporación de éstos cerca de las raíces, lo que disminuye las pérdidas por lixiviación y volatilización. Con ello se puede conseguir una adecuación continua del abonado a las necesidades del cultivo. Algo parecido sucede con el gasto de agua, ya que se necesitan menores cantidades para mantener húmeda la raíz, lo que implica una reducción en las pérdidas por percolación y por evaporación, así como una distribución controlada del agua en la zona radicular. También existe la posibilidad de adicionar a los cultivos, a través del agua de riego, otros productos (fitosanitarios, bioestimulantes, etc.). En resumen, con esta técnica de cultivo es posible reducir la contaminación difusa del suelo y de las aguas freáticas e incrementar el rendimiento de los cultivos.

Los principales inconvenientes de la fertirrigación son el elevado coste de la instalación y el mantenimiento del sistema, y el hecho de que exige una cualificación técnica del agricultor para su uso correcto. Además, se producen cantidades considerables de distintos tipos de residuos: disoluciones de fertilizantes que se desechan, restos de poda, plásticos y sustratos de cultivo, que tienen una vida comercial corta.

3.2. Macro y micronutrientes. Quelatos

Los fertilizantes que se emplean en fertirrigación han de ser solubles en agua o líquidos. La industria ha desarrollado una serie de productos para uso en los sistemas de riego, de mayor calidad y variedad que los fertilizantes tradicionales.

Los fertilizantes sólidos de macronutrientes, además de ser perfectamente solubles, han de cumplir dos requisitos. En primer lugar, deben ser compatibles entre sí, sin originar reacciones cruzadas que den lugar a precipitaciones indeseadas. Normalmente, se preparan dos disoluciones concentradas, separando las sales cálcicas de las de fosfato y sulfato. En segundo lugar, la concentración salina que proporcionan al mezclarse con el agua de riego no debe superar los valores críticos de salinidad de cada cultivo.

En fertirrigación, más que en ningún otro sistema de cultivo, se hace necesaria la aplicación de micronutrientes, ya que las raíces de las plantas, confinadas en el bulbo de goteo, sólo van a poder explorar una pequeña parte del sustrato, cuyo contenido en micronutrientes puede ser insuficiente para el buen desarrollo del cultivo. Además, los fertilizantes de macronutrientes que se emplean en fertirrigación son más puros que los tradicionales y contienen menos micronutrientes como impurezas. Es decir, los micronutrientes que en muchos cultivos pueden pasar inadvertidos, pues se necesitan en mucha menor cantidad que los macronutrientes, aquí se necesitan en mayor medida, dado que el sistema asegura el suministro de los elementos mayores. En consecuencia, es

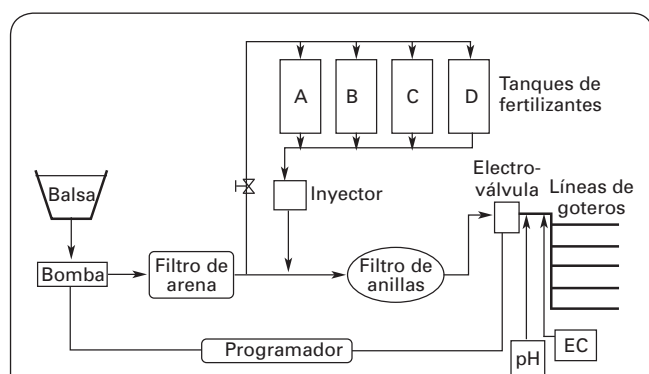


Figura 8-3. Esquema de un sistema de **fertirrigación**. Tanques A, B y C para las disoluciones de nutrientes, que son entre 100 y 1000 veces superiores a las requeridas por los cultivos. Suele existir un cuarto tanque con ácido nítrico o ácido fosfórico, cuya misión es desobstruir los goteros y controlar el pH de la disolución nutritiva. El inyector permite la mezcla de los fertilizantes con el agua de riego, dando lugar a la disolución nutritiva que se desea. Las electroválvulas regulan y distribuyen el flujo de disolución hacia los goteros. Se sitúan medidores de control del pH y conductividad eléctrica (EC).

más probable que los micronutrientes se conviertan en factores limitantes de la producción. Las sales solubles de micronutrientes, sobre todo las de hierro, tienden a precipitar como hidróxido de Fe, y pueden interferir con otros nutrientes como el fósforo, con lo que no estarán disponibles para la planta y provocarán, además, la obturación de los goteros. De ahí que el Fe se añada como quelato de hierro.

Un quelato es una molécula en la que un ion metálico (Fe, Cu, Zn, Mn, etc.) se une mediante varios enlaces a una molécula orgánica (agente quelante), de manera que el ion quelado cambia sus propiedades y, normalmente, aumenta su estabilidad en disolución. Esto ocurre con el Mg en las clorofilas y con el Fe en las hemoglobinas, que se pueden considerar quelatos naturales. Los quelatos sintéticos más utilizados son los derivados poliaminocarboxílicos; el EDTA (ácido etilén-diamino-tetraacetato) es el agente quelante más conocido, si bien hay otros con los que se obtienen mejores resultados en agricultura, como el EDDHA (ácido etilén-diamino-di-ortohidroxi-fenilacético) (Fig. 8-4), que forma con el Fe un quelato más estable que el EDTA. En la actualidad se recomienda el uso exclusivo de quelatos solubles para la aplicación de los nutrientes metálicos en fertirrigación. En el *Vademécum* de productos fitosanitarios y nutricionales de Liñán, de 2005, aparecen 262 productos férricos con distintos agentes quelantes o complejos orgánicos (en 1990 había 56 productos), a pesar de su precio relativamente elevado, y ninguna sal inorgánica de Fe. En cuanto al resto de los metales (Mn, Cu y Zn), la mayoría de los fertilizantes también se comercializan como complejos y quelatos, y sólo unos pocos como productos inorgánicos. Incluso los nutrientes B y Mo se comercializan como complejos con diferentes materiales orgánicos.

La clorosis férrica es una alteración nutricional relacionada con un aporte deficiente de Fe a la planta, que se manifiesta por la pérdida del color verde en la zona intervenal de las hojas. Afecta a cultivos de gran interés económico, como vides, cítricos y frutales. Sin embargo, el problema no es que falte Fe en el suelo, ya que el Fe es el cuarto elemento más abundante de la corteza terrestre, sino que existen factores que afectan a su disponibilidad, absorción y uso metabólico dentro de la planta. La clorosis férrica es uno de los factores nutricionales limitantes de la producción agrícola más importantes en España y en otros países. En nuestro país, en el año 2004 el gasto en tratamientos correctores de la carencia de Fe se calcula que fue de 26 millones de euros; de hecho, España es el segundo país del mundo que más gasta en quelatos férricos. Además de su importancia económica en agronomía, el estudio de la quelación y de los quelatos está en la base de la investigación del funcionamiento metabólico del hierro en los seres vivos (véase BOX 8-1).

4. INTERACCIÓN PLANTA-MICROORGANISMO

Existe una región del suelo, la **rizosfera**, en la que se ponen de manifiesto numerosas interacciones entre las raíces de la planta y los microorganismos del suelo, especialmente bac-

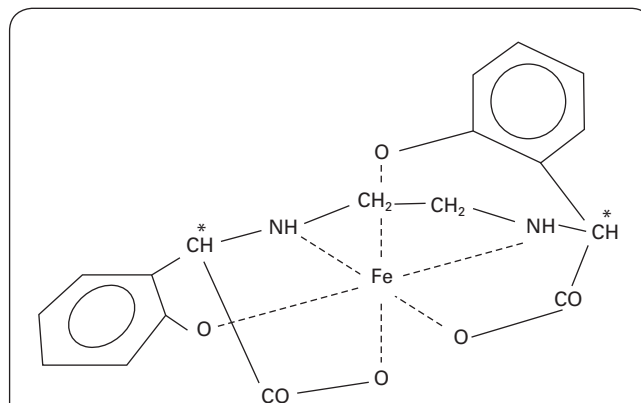


Figura 8-4. Fórmula desarrollada de la molécula del quelato Fe-EDDHA (EDDHA = ácido etilén-diamino-di-ortohidroxi-fenilacético). El átomo de hierro está unido a 4 átomos de oxígeno y a 2 de nitrógeno.

terias y hongos. Estas interacciones raíz-microorganismos resultan, a veces, extraordinariamente complejas e implican en muchos casos la invasión de la raíz por dichos microorganismos, o bien permanecen libres en el suelo. En cualquier caso, las interacciones pueden producir un beneficio a la planta o, por el contrario, lesiones o enfermedades. Desde hace mucho tiempo estos sistemas habían atraído la atención de los microbiólogos, pero, salvo en el caso de los organismos fijadores de nitrógeno, sólo en los últimos años han despertado el interés de los fisiólogos vegetales. En este sentido, el estudio de las **micorrizas** ha demostrado su importante papel en la nutrición mineral de numerosas familias de plantas, de interés tanto en agricultura como, principalmente, en silvicultura.

El objetivo actual de alcanzar y mantener una **agricultura sostenible** se basa especialmente en un conocimiento más amplio de estos dos aspectos de la interacción planta-microorganismos, que se tratan a continuación: la fijación biológica del nitrógeno en simbiosis y las micorrizas.

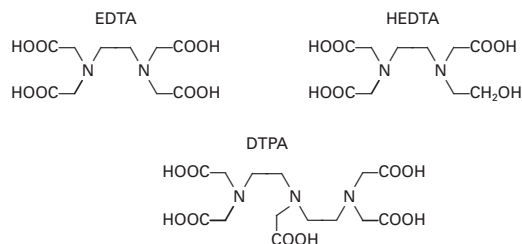
4.1. Fijación biológica del nitrógeno

Como ya se expuso en el Capítulo 6, las plantas toman el nitrógeno preferentemente como NO_3^- y también, aunque de forma secundaria, como NH_4^+ (véase el Capítulo 15). Sin embargo, gracias a las asociaciones simbióticas de determinados organismos, algunas plantas, principalmente las leguminosas, son capaces de reducir el N_2 atmosférico y asimilarlo. Aunque ese aspecto se trata de forma exhaustiva en el Capítulo 16, en este apartado describiremos la repercusión agrícola de la fijación de N_2 .

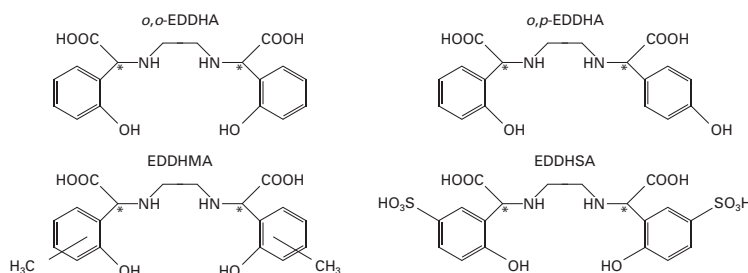
El nitrógeno y el déficit hídrico son los principales factores limitadores de la producción agrícola. En consecuencia, el nitrógeno inorgánico se ha convertido en el fertilizante más utilizado, con resultados verdaderamente espectaculares. Así, aunque entre 1945 y 1970 la superficie cultivada sólo aumentó un 10%, la producción mundial de cereales se

BOX 8-1 QUELATOS DE HIERRO

Ejemplos de agentes quelantes poliaminocarboxílicos que forman quelatos estables con Fe (III) son EDTA, HEDTA y DTPA. El más conocido es el EDTA, ácido etilén-diamino-tetraacético.



Los agentes quelantes poliaminocarboxílicos que contienen grupos fenólicos son los que dan quelatos férricos más estables. En el esquema inferior figuran aquellos que, recogidos en nuestra legislación, se encuentran en los productos comerciales que se usan para la corrección de la clorosis férrica: *o,o*-EDDHA, *o,p*-EDDHA, EDDHMA y EDDHSA. Los asteriscos corresponden a carbonos quirales. Las moléculas con carbonos quirales o asimétricos dan lugar a isómeros ópticos, que al unirse al Fe forman quelatos de distinta estabilidad.



En el quelato [Fe (III)-*o,o*-EDDHA], el hierro está unido al agente quelante por seis enlaces, mientras que en el quelato con *o,p*-EDDHA, isómero estructural del anterior, lo está por cinco enlaces. Lógicamente, este último quelato es menos estable que el primero. Cuando se añaden juntos, como ocurre en varias formulaciones comerciales, el isómero *orto-para*, menos estable, ejerce una función de choque por su mayor facilidad para ceder el Fe a la planta, mientras que el isómero *orto-orto*, más estable, representa una reserva de Fe en disolución, capaz de suministrar Fe a la planta a más largo plazo.

Una vez añadido al suelo el quelato de hierro Q-Fe, en el que el Fe está oxidado como Fe (III), éste es reducido por la raíz, que lo absorbe como Fe (II) (etapa 1 del esquema inferior). Los electrones son aportados por una enzima reductasa de la raíz. Cabe recordar que los quelatos de Fe (II) son, en general, mucho menos estables que los de Fe (III). El agente quelante libre (Q) puede captar Fe nativo del suelo y formar de nuevo el quelato férrico, que volvería a poner el Fe a disposición de la planta (reacción 2 del esquema). El agente quelante Q también podría formar quelatos con otros metales que estuvieran disponibles en el suelo, como Cu, Zn u otros metales pesados (etapa 3). Las reacciones 4 y 5 corresponden a la posible destrucción del quelato de Fe; la 4, para dar hidróxido férrico, fase sólida muy insoluble, y la 5, de adsorción del quelato sobre los coloides de la fase sólida del suelo, arcillas y materia orgánica.

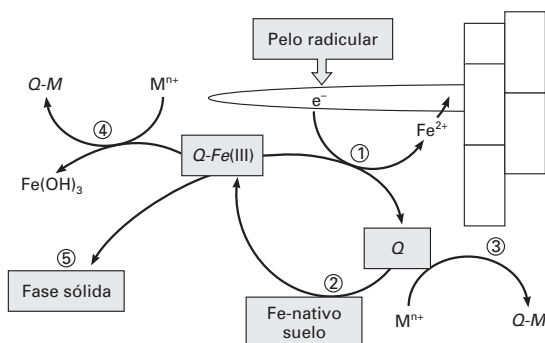


Figura. Esquema del comportamiento de los quelatos de Fe en el suelo y la absorción de Fe por las raíces de las plantas de estrategia I (véase el Capítulo 6). (Adaptado de Barton, L.L. y Abadía, J. Iron Nutrition in Plants and Rhizospheric Microorganisms. Springer, The Netherlands, 2006.)

duplicó, al pasar el aporte nitrogenado de los 8 kg/ha/año que se empleaban al finalizar la Segunda Guerra Mundial, a los 125 kg/ha/año utilizados en la década de los setenta. Actualmente, en los países desarrollados se viene utilizando un promedio de 250 kg/ha/año.

Frente a los métodos industriales para la obtención de fertilizantes nitrogenados (principalmente el método de Haber-Bosch), que resultan muy caros desde el punto de vista energético, y potencialmente contaminantes de las aguas y del suelo, la fijación biológica del nitrógeno representa una alternativa económicamente rentable y ecológicamente limpia. La fijación total de nitrógeno en la biosfera se eleva a más de 300 millones de toneladas anuales; de ellas, 200 millones corresponden a la fijación biológica, 80 millones a la fijación industrial y unos 30 millones a la fijación espontánea. Es decir, la fijación biológica supone algo más del 65%, y la mitad de ella corresponde a la simbiosis del sistema *Rhizobium*-leguminosas. Desde hace más de veinte siglos, las leguminosas se vienen utilizando empíricamente en la cuenca del Mediterráneo y en otros lugares para restaurar la fertilidad de los suelos mediante la **rotación de los cultivos**. El análisis de la producción mundial de leguminosas revela que serían necesarias algo más de 500 millones de toneladas para alimentar a la población mundial, frente a la actual producción anual de algo más de 200 millones de toneladas. Sin embargo, la producción de leguminosas en los últimos años sólo ha aumentado un 20% debido, entre otras causas, a su compleja nutrición nitrogenada. La **judía**, que es la leguminosa de grano más importante para el consumo humano, ocupa el noveno lugar entre las especies más sembradas, y en 2004 tuvo una producción de algo más de 26 millones de toneladas, seguida del garbanzo, con la mitad de esta producción.

Los principales **sistemas simbióticos** son los siguientes:

- Simbiosis *Rhizobium*-leguminosas.** Es la más estudiada y, por ello, la mejor conocida, aunque plantea una serie de problemas de índole ecofisiológica, bioquímica y molecular que aún están por resolver, lo que permitiría mejorar notablemente la producción. Actualmente, el aislamiento de mutantes más eficaces de *Rhizobium* y los adelantos en genética molecular están proporcionando algunas claves para comprender el proceso y para obtener mayor rentabilidad en la producción de leguminosas (Fig. 8-5 A). El promedio del nitrógeno fijado mediante esta modalidad se puede establecer entre 50-250 kg/ha/año. Los cultivos más habituales en condiciones de fijación de N₂ ofrecen los siguientes valores promedio: *Arachys hypogea*, cacahuete, 109; *Cajanus cajan*, frijol gandul, 224; *Cicer arietum*, garbanzo, 104; *Glycine max*, soja, 99; *Lens culinaris*, lenteja, 83; *Lupinus angustifolius*, altramuz, 160; *Phaseolus vulgaris*, alubia, 49; *Pisum sativum*, guisante, 75; *Vicia faba*, haba, 114; *Vigna unguiculata*, Cowpea, 198 kg/ha/año.
- Simbiosis *Frankia*-no leguminosas.** *Frankia* es una bacteria filamentosa que establece simbiosis con plantas no leguminosas, todas ellas leñosas, por lo que tiene gran importancia en las áreas forestales y para la regeneración de suelos pobres. La biología de *Frankia* se conoce mucho menos que

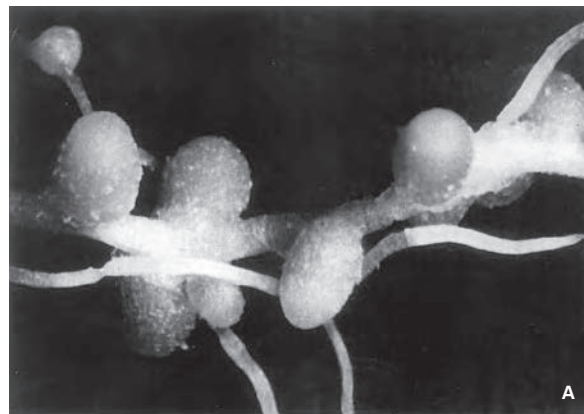


Figura 8-5. A. Detalle de los nódulos resultantes de la simbiosis entre la planta de guisante (*Pisum sativum*) y *Rhizobium leguminosarum*. (Fotografía de L. Bolaños, 1992.)
B. *Anabaena*, cianobacteria filamentosa con heterocistos, células especializadas en las que se realiza la fijación biológica del nitrógeno. Microscopía de fluorescencia, x 1000. (Fotografía de I. Bonilla, 1986.)

la de *Rhizobium*, porque, a diferencia de ésta, no fue aislada y cultivada *in vitro* hasta que en 1968 lo hizo el grupo de J. Torrey, de la Universidad de Harvard. La simbiosis que establece con las plantas del género *Casuarina* es la más conocida. Se trata de plantas originarias de Australia y el Sudeste Asiático, árboles de crecimiento rápido que en las regiones de predesierto pueden servir de cortavientos, para proteger los cultivos frente a la arena. También sirven para fijar suelos erosionados y dunas. Cuenta con unas 70 especies, que actualmente están aclimatadas a todas las regiones tropicales y subtropicales. Existe también simbiosis de *Frankia* con otras plantas, siempre leñosas, de diversos órdenes (*Rosales*, *Fagales* y *Myricales*, etc.). El promedio de nitrógeno fijado por esta modalidad puede establecerse entre 30-230 kg/ha/año.

- Simbiosis cianobacterias-Azolla.** Ya 2000 años a. de C., en los arrozales chinos y vietnamitas, se utilizaba el helecho acuático *Azolla*, que establece una simbiosis con cianobacterias fijadoras de nitrógeno, principalmente del género *Anabaena* (Fig. 8-5 B). Tanto en simbiosis como en forma libre, estas cianobacterias aportan a los

arrozales unos 30 kg/ha/año; sin embargo, estudios actuales indican que la inoculación previa en los arrozales incrementa un 14% el rendimiento de grano, lo que equivale a 450 kg de grano/ha/año. El promedio de nitrógeno fijado por esta modalidad de simbiosis es de entre 10-200 kg/ha/año.

4.2. Micorrizas

De todas las interacciones entre plantas y microorganismos, la de mayor proyección nutricional es probablemente la que se presenta entre las raíces y los hongos del suelo, en una forma de mutualismo que conocemos como micorriza. A diferencia de lo que sucede con la fijación biológica de dinitrógeno, en la que sólo unas pocas familias, principalmente leguminosas, presentan la asociación simbiótica, se han observado micorrizas en más del 80% de las especies estudiadas, incluidas prácticamente todas las plantas de interés agrícola y forestal.

Las micorrizas fueron descubiertas en el siglo XIX por el botánico alemán Frank; éste observó que la inoculación con micorrizas estimulaba la germinación y el crecimiento de las plántulas. Aunque al principio sus observaciones no fueron aceptadas, han sido confirmadas por los estudios actuales realizados con árboles, tanto en Estados Unidos como en Australia y en la antigua URSS, donde, en semillas inoculadas, se han obtenido aumentos en el crecimiento de un 30

a un 150% respecto a los controles sin inocular. Similares resultados se han conseguido en plantas como el maíz. Sabemos que el papel beneficioso de las micorrizas se debe a que aumenta considerablemente la zona de la raíz que es capaz de absorber nutrientes minerales, al establecerse una interacción de las hifas con los pelos radiculares de la planta (Fig. 8-6). Existen dos formas de micorrizas: ectomicorrizas y endomicorrizas.

Las **ectomicorrizas** están restringidas a muy pocas familias (sólo el 3% de las fanerógamas), son propias de zonas templadas y aparecen sobre todo en árboles y arbustos, como pinos (Fig. 8-6 C), hayas (Fagáceas) y sauces. Suelen ser cortas y muy ramificadas, y las hifas del hongo sólo penetran en el espacio libre radicular (hasta la banda de Caspari), formando en el apoplasto una red intercelular que se denomina **red de Hartig** (Fig. 8-6 A), pero sin penetrar realmente en el interior de las células. Por lo general, el hongo es un basidiomiceto, aunque en algunos casos pueden ser ascomicetos.

Las **endomicorrizas** se encuentran en especies de casi todas las familias de angiospermas y en la mayoría de las gimnospermas, excepto las pináceas. Son, sin duda, las más abundantes, y se dan en todos los climas y continentes, a excepción de la Antártida. Aparecen en el 90% de las plantas terrestres, y el componente fúngico más habitual en ellas es un cigomiceto. Presentan tres tipos, el más numeroso de los cuales es el de las micorrizas vesículo-arbusculares (VA). Los hongos de las micorrizas VA pertenecen al orden *Glomales*,

BOX 8-2 LAS MICORRIZAS Y LA ABSORCIÓN DE NUTRIENTES

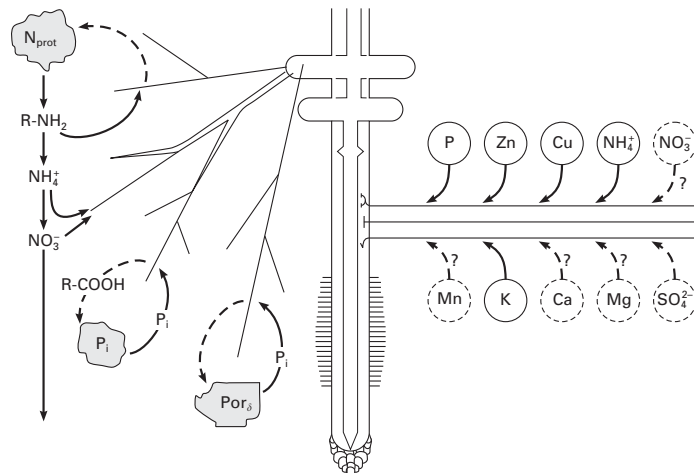


Figura. Representación esquemática de ectomicorrizas (izquierda) y endomicorrizas-MA (derecha).

Los componentes de la adquisición de nutrientes del suelo por las raíces micorrizadas arbusculares (MA) se representan con círculos; el grosor de los círculos que rodean los nutrientes indica la importancia de la MA en la adquisición de estos nutrientes. El signo «?» implica que no se dispone de información concluyente.

Las ectomicorrizas excretan enzimas hidrolíticas que permiten utilizar formas orgánicas tanto de N como de P, y ácidos orgánicos quelantes, que solubilizan formas inorgánicas y orgánicas de fósforo. (Adaptado de Lambers H. y cols. *Plant Physiological Ecology*, 2000.)

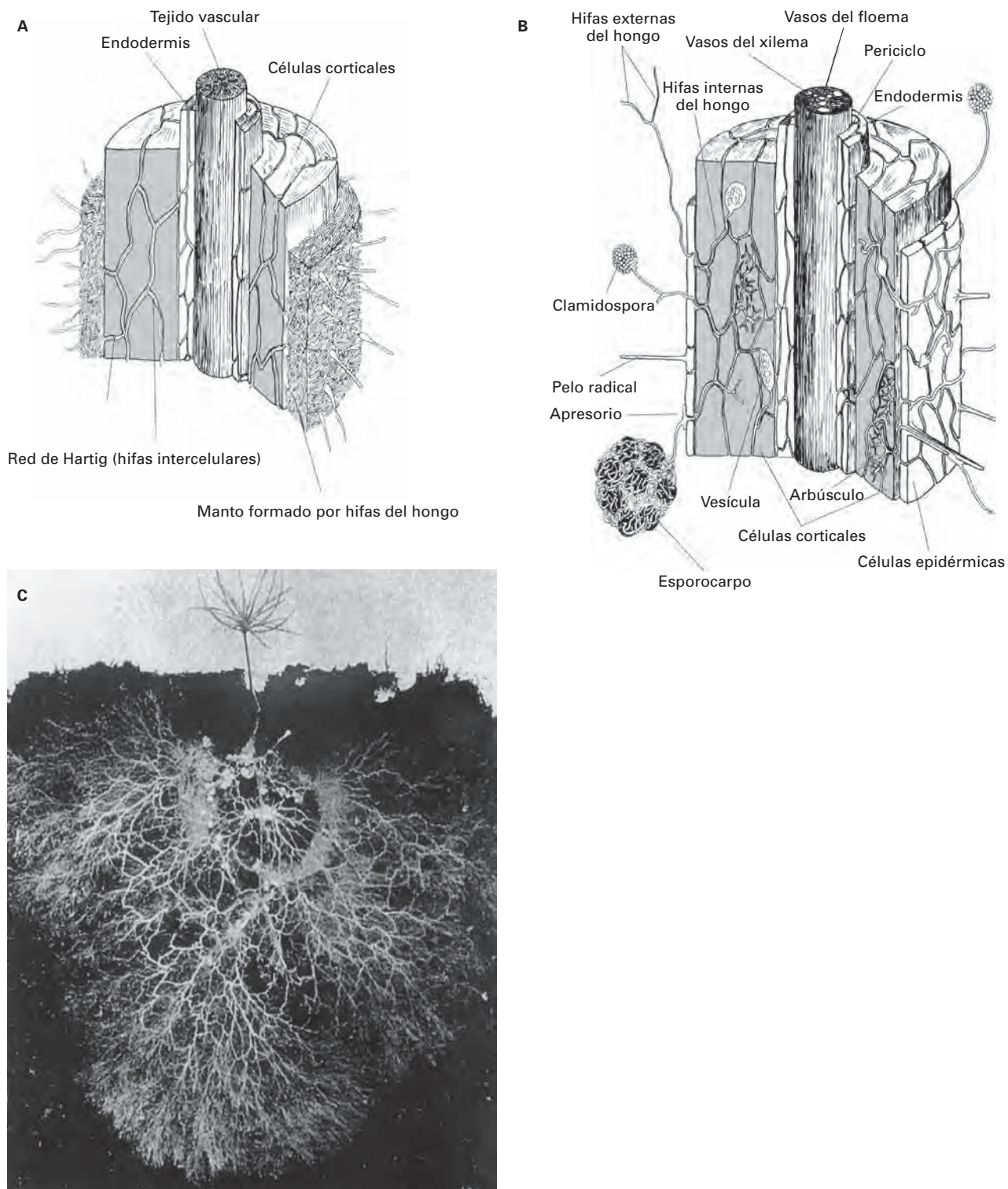


Figura 8-6. **A.** Las *ectomicorrizas* se caracterizan por el manto de hifas que el hongo produce cubriendo la raíz. El hongo se desarrolla intercelularmente configurando la llamada **red de Hartig**. Sólo forman estas micorrizas un 3% de las plantas superiores, principalmente árboles: pinos, hayas, robles, etc. **B.** Las *endomycorrizas* no forman, como las anteriores, un manto externo de hifas, sino que se desarrollan en el interior de la raíz, inter e intracelularmente, dando lugar a los elementos morfológicos característicos de la infección: vesículas y arbusculos. Representan la mayor parte de las micorrizas, ya que el 96% de las plantas existentes en la naturaleza las poseen. (A y B adaptados de C. Azcón de Aguilar y JM. Barea, *Biología Vegetal, Libros de Investigación y Ciencia*, 1988) **C.** Corte lateral de una plántula de 4 cm, de *Pinus contorta*, que muestra un extraordinario desarrollo de sus raíces colonizadas por micorrizas. (Adaptado de Brock, *Microbiología*, 1992.)

siendo el género *Glomus* el más abundante. A diferencia de las ectomicorizas, penetran directamente en el citosol de las células corticales, donde configuran las formas arbusculares y vesicales que les dan nombre. Las hifas quedan rodeadas de una membrana plasmática invaginada de las células corticales (Fig. 8-6 B). En algunos casos, las vesículas están ausentes, razón por la cual estas micorizas reciben también el nombre de arbusculares, o simplemente MA.

En los últimos años se ha potenciado mucho la investigación de este tipo de micorizas vesículo-arbusculares (VAM en inglés). Deben su nombre a la formación de vesículas y arbusculos, estructuras que se encuentran intercelularmente en el córtex de la raíz. Se considera que son las asociaciones simbióticas más antiguas, y que ya existían en el Devónico, hace 400 millones de años. Son pocas las especies de plantas que han evolucionado sin que en sus raíces hubiera algún hongo causante de una micorriza de este tipo, lo que lleva a plantear interesantes hipótesis acerca de la evolución conjunta de estos hongos y las plantas vasculares, y sobre la posibilidad de que las micorizas puedan haber sido un paso clave en la conquista (colonización) de suelos estériles o desérticos por las plantas. Por otra parte, no hay que olvidar que la existencia del hongo es absolutamente dependiente de la planta, ya que ha perdido por completo su capacidad para fijar carbono inorgánico. En consecuencia, en los experimentos sobre MVA realizados en laboratorio, la presencia de una planta hospedadora, o al menos de partes de la raíz, es absolutamente indispensable.

Tanto en las ectomicorizas como en las endomicorizas, la planta suministra azúcares para mantener el metabolismo del hongo, y éste, por su parte, mejora la capacidad de la raíz para absorber iones de difusión lenta o iones que la planta necesita en cantidades elevadas, como fosfato, amonio, nitrato y potasio (véase el Capítulo 7). Muchas comunidades de árboles no crecerían sin la ayuda de las micorizas, como sucede en numerosos suelos poco fértiles o en árboles crecidos en terrenos que no son los suyos originarios, como ocurre con los árboles europeos introducidos en América, que no crecen hasta que no son inoculados con los hongos tomados de sus suelos originarios. Como puede verse, se trata de una relación simbiótica y mutualista, con un claro beneficio para ambas partes: el hongo recibe nutrientes orgánicos de la planta, y ésta ve mejorada su capacidad de absorción de agua y sales minerales.

Las zonas muy degradadas ambientalmente, como los márgenes de las carreteras, o contaminadas por rellenos industriales, mineros, sanitarios, etc., se regeneran más fácilmente gracias a la introducción de **plantas micorizadas**. El uso de micorizas, así como la fijación biológica del dinitrógeno, se han convertido en dos de las estrategias científicamente aceptadas para alcanzar una agricultura sostenible.

5. PROBLEMAS DE PRODUCCIÓN EN CONDICIONES DE ESTRÉS

La incapacidad para desplazarse es una característica específica de las plantas que condiciona de forma absoluta su

relación con el medio y hace que su desarrollo dependa de su capacidad de adaptación a condiciones externas variables, como la luz, la temperatura, o la disponibilidad de agua y sales minerales (véase el Capítulo 13). En consecuencia, las variaciones ambientales producen situaciones diversas de estrés, a las cuales se enfrentan las plantas con mayor o menor éxito, según se lo permita la flexibilidad adaptativa de su genoma.

Como se verá con más detalle en el Capítulo 29, entre las causas más frecuentes de estrés en las plantas destacan el estrés hídrico (también tratado en el Capítulo 4), las bajas temperaturas, la salinidad y la acidez de los suelos, aspecto este último estrechamente relacionado con los metales pesados. Dada su importancia, en este apartado estudiaremos la relación existente entre la producción agrícola y las condiciones de salinidad, acidez y basicidad de los suelos.

5.1. Salinidad

La salinidad es, tal vez, el más antiguo de los factores de contaminación de los suelos agrícolas. Las sales presentes en el agua de riego se acumulan a un ritmo más o menos acelerado y determinan la degradación y la pérdida de valor agrícola de los suelos. Este problema es más acuciante en zonas áridas y semiáridas, donde las precipitaciones son insuficientes para lavar las sales solubles aportadas al suelo. La historia de las grandes civilizaciones es, en gran medida, la historia de la agricultura de irrigación, y ésta no puede perdurar ilimitadamente sin un control adecuado del equilibrio entre la salinidad de las aguas de riego, la salinidad nativa del suelo y la capacidad de drenaje de éste para permitir que el exceso de sales sea lixiviado de la zona radicular de los cultivos.

La salinidad de un suelo viene determinada por la conductividad eléctrica (EC) de su fase acuosa. Un suelo agrícola debe presentar un valor de EC inferior a 2 miliSiemens (mS), lo que representa menos del 10% de la salinidad del agua del mar, valor suficiente para que sólo las plantas tolerantes a la salinidad puedan desarrollarse en estas condiciones. La utilización de nuevas variedades y, sobre todo, de nuevas tecnologías de riego, está permitiendo mejorar estos niveles de tolerancia.

Un problema todavía más grave que el exceso de sales es la carga de sodio (sodicidad), que tiene efectos directos sobre la estructura del suelo, sobre todo cuando éste es arcilloso, lo que provoca un descenso de la permeabilidad; como consecuencia de ello, el desarrollo radicular es menor, lo que a su vez dificulta la absorción de nutrientes, principalmente K, Ca y P.

Por tanto, el efecto negativo de la salinidad en los cultivos se debe a dos tipos de estrés: 1) el estrés hídrico, al reducirse la absorción de agua por el efecto osmótico, y 2) la toxicidad iónica relacionada con la excesiva absorción de sodio, que desencadena un desequilibrio iónico en la planta (Fig. 8-7). En el primer caso, la respuesta de la planta consiste en incrementar la producción intracelular de sustancias solubles, como betaína, prolina, sacarosa, manitol, glicerol, etc., que disminuyen el potencial hídrico intracelular y faci-

BOX 8-3 MICORRIZAS ARBUSCULARES (MA)

Aproximadamente 150 especies de hongos MA colonizan una población de plantas calculada en 225 000 especies, lo que lleva a la conclusión de que los hongos MA pueden adaptarse a una gran variedad de hospedajes. Así pues, la especificidad entre micro y macrosimbionte no es tan restringida como la que existe en las simbiosis nitrogenadas. Actualmente se admite que los hongos MA desempeñan un papel clave en la supervivencia de la planta, en su desarrollo y, por consiguiente, en la productividad, tanto de ecosistemas naturales como de agrosistemas. Asimismo, participan de forma muy activa en el reciclaje de nutrientes y en el aumento de la capacidad de resistencia de las plantas a los distintos tipos de estrés.

La simbiosis entre el hongo y las raíces de la planta se establece a través de una serie de fases. El **proceso de colonización** comienza con la activación del micelio del hongo, procedente de la germinación de una espora o de fragmentos de raíces ya micorrizadas. Cuando el micelio entra en contacto con la superficie de una raíz susceptible de colonización, se diferencia una estructura denominada **apresorio**, a partir de la cual se forma la hifa de penetración. Este reconocimiento entre micro y macrosimbionte implica una relación molecular similar a la observada en la otra simbiosis mutualista, la fijación de N_2 , y como en ésta, tiene lugar antes de que exista contacto físico entre los simbiosntes. Pese a que en principio se pensó que, igual que en esta simbiosis, la molécula inductora excretada por la planta podría ser un flavonoide, recientemente se ha comprobado que la molécula implicada en la ramificación de la hifa es una lactona, como ocurre en el caso del *quórum-sensing*. Los hongos MA también emiten una molécula que la planta detecta, y que es igualmente necesaria para el establecimiento de la simbiosis. Esa molécula se denomina factor *myc*, y todavía no se ha determinado su estructura química.

Una vez configurada la hifa de penetración, comienza la colonización. La hifa atraviesa las células epidérmicas o las bordea a nivel del apoplasto hasta alcanzar el córtex. Allí, en las zonas más internas, atraviesa las paredes celulares y desarrolla, por división dicotómica de la hifa, **los arbuscúlos**, que son las estructuras clave de la simbiosis y en las que se supone que tiene lugar el intercambio de nutrientes entre la planta y el hongo. Algunas especies de hongo dan lugar a unas estructuras de reserva, **las vesículas**, originando las formas de MVA.

Aparte de este crecimiento en el interior de la raíz, el hongo induce fuera de ella un crecimiento del micelio, que es el que explora el suelo en busca de nutrientes, dando lugar a unas estructuras llamadas **estructuras ramificadas de absorción** (BAS, sigla que corresponde a su denominación en inglés), que son el elemento más activo en la captación de nutrientes por parte del microsimbionte. Finalmente, algunas hifas dan lugar a esporas de resistencia, con lo que el ciclo se cierra.

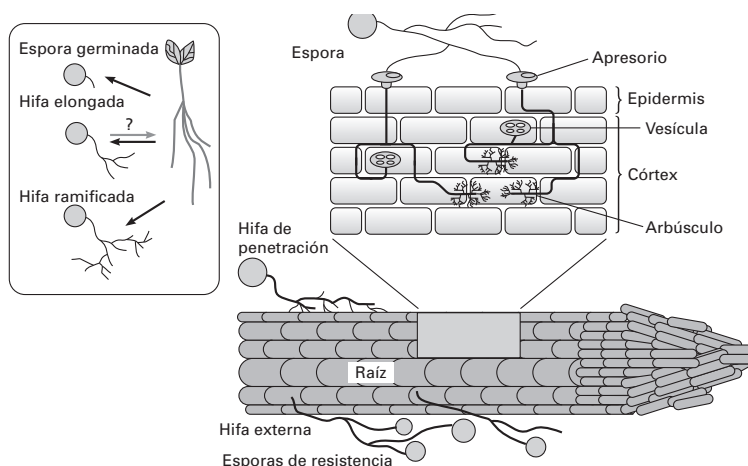
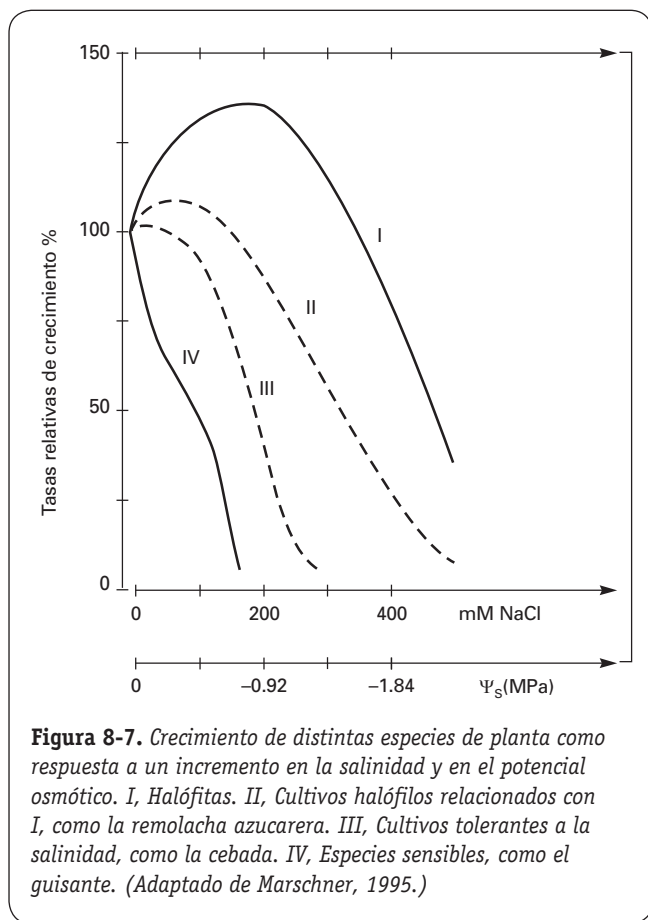


Figura. Colonización de una raíz por un hongo productor de micorrizas arbusculares (MA). (Esquema adaptado de Gadkar V. y cols. *Plant Physiology* 127:1493-1499, 2001.)

litan la entrada del agua; de lo contrario, no sólo no entraría agua del medio exterior, sino que ésta tendería a salir de las células radiculares, y la planta se secaría. Los cultivos de hortalizas, legumbres y frutales son especialmente sensibles a la salinidad. En el segundo caso (2), el Na puede desplazar el Ca de las membranas celulares, modificando la absorción de nutrientes como el K. Sin embargo, se ha observado que si existe un aporte suplementario de Ca, el proceso de captación de K funciona bien, en detrimento del Na, que compete con el K por medio de un mecanismo de baja afinidad. Así pues, la fertilización con Ca mejora la producción agrícola

al incrementar la absorción de K y reducir el eflujo de nitrato y fosfato, e incluso del propio K. Recientemente se ha propuesto que el efecto positivo del Ca puede deberse a su capacidad para reactivar las **acuaporinas**, proteínas que forman canales de agua en las membranas y que permiten el paso libre de agua como respuesta a cambios de la presión osmótica e hidrostática. Estas acuaporinas se ven rápidamente inactivadas ante la presencia de NaCl y, aunque todavía se sabe muy poco sobre su regulación, se ha observado que su apertura depende de la fosforilación que, en último término, viene regulada por la concentración de Ca intracelular.



Las estrategias más habituales que han seguido las plantas halófilas (*halófitas*) para adaptarse al crecimiento en zonas salinas son, en resumen, las siguientes:

- Disminución de la absorción de Na^+ mediante el desarrollo de transportadores muy específicos para el K^+ .
- Presencia de bombas de extrusión de Na^+ en la membrana plasmática de las células del córtex. El sodio será bombeado activamente fuera de la célula, mientras que su entrada será pasiva; esto es lo que ocurre en *Agropyrum junceiforme*.
- Excreción de NaCl por las glándulas secretoras (hidátodos) en las hojas, como sucede en los géneros *Atriplex*, *Tamaris*, *Spartina*, etc.
- Acumulación del exceso de sodio en las vacuolas.
- Sustitución parcial del K^+ por el Na^+ en las funciones específicas del K^+ en el citoplasma.

A menudo, las plantas silvestres adaptadas a la salinidad poseen una o varias de estas estrategias para poder desarrollarse en situaciones de estrés salino. Hoy se conocen genes resistentes a la salinidad en las levaduras, como los genes TRK1, que codifican un transportador altamente selectivo de K^+ frente a Na^+ , y los genes ENA, que codifican una bomba de extrusión de Na^+ . En las plantas, se han descubierto seis genes, pertenecientes a la familia *NHX* en *A. thaliana*, que difieren en su localización celular y en su patrón de expresi-

ón. Las isoformas *NHX1* y *NHX2* se localizan en el tonoplasto, y su actividad permite la acumulación de Na^+ y K^+ en la vacuola gracias al intercambio con el H^+ , contribuyendo así al control del pH vacuolar y a la acumulación de osmolitos. Los mutantes deficientes en estos genes son extremadamente sensibles a la salinidad.

Por otra parte, se ha descubierto el sistema SOS, que parece ubicuo en todas las especies vegetales. La proteína SOS1, antiportador Na^+/K^+ de la membrana plasmática, regulada por el complejo SOS2/SOS3, es esencial para la tolerancia al ClNa , la nutrición de K^+ y el control del transporte xilemático del Na^+ . Se intentan conseguir plantas transgénicas que incorporen de manera armónica estos sistemas SOS y *NHX*, lo que las convertiría en plantas sumamente resistentes a la salinidad.

5.2. Acidez y basicidad

La mayoría de las plantas crece en suelos cuyo pH oscila entre 4 y 8. En los extremos de este intervalo se producen situaciones de estrés a las que se han adaptado diversas especies. Los mecanismos de competencia han determinado, seguramente, que existan dos tipos de plantas: **basófilas**, que son las que viven en suelos con valores de pH entre 8 y 9; y **acidófilas**, que viven en suelos con un pH inferior a 4.

El hecho de que exista una estrecha relación entre el pH básico y la presencia de Ca ha llevado a hablar indistintamente de plantas calcícolas o basófilas, por un lado, y calcifugas o acidófilas, por otro. Pero esto no siempre es correcto, porque pueden existir suelos con un pH elevado, como los suelos de serpentina, y bajos contenidos de Ca. Si consideramos específicamente la presencia de calcio, en las **plantas calcifugas**, típicas de suelos pobres en Ca, la concentración intracelular de Ca sería baja. Sin embargo, las **plantas calcícolas** tolerarían altas concentraciones de Ca en el suelo y, por tanto, muy probablemente tendrían también altos requerimientos de Ca, que mantendrían en disolución en el ámbito intracelular (vacuola y RE) gracias a la formación de malato cálcico. Asimismo, en la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa el Ca desempeña un papel aún no bien comprendido que favorece el desarrollo de los nódulos radiculares. Es probable que ciertas características del suelo, como su textura, tengan una influencia más acusada sobre el crecimiento de las plantas que la propia concentración de H^+ por sí mismo; no obstante, el pH del suelo incide considerablemente en la solubilidad de numerosos elementos, que estarán o no disponibles para la planta según sea éste. Así, los metales como el Fe y el Cu son menos solubles en suelos alcalinos que en suelos ácidos; ello impide, por ejemplo, que en los suelos calcáreos se desarrollen plantas calcifugas, al no poder utilizar éstas el Fe, que en esos suelos se encuentra escasamente disponible, lo que provoca intensas clorosis que no manifiestan las plantas calcícolas. Asimismo, el anión ortofosfato diácido (H_2PO_4^-) se absorbe mejor con valores de pH de entre 5.5 y 6.5; en cambio, en los suelos básicos se encuentra mayoritariamente como HPO_4^{2-} , que se absorbe peor.

Por otra parte, la disponibilidad de elementos nocivos para la planta, como el aluminio y los metales pesados, aumenta a medida que el pH del suelo disminuye. En el caso del aluminio, el incremento de las lluvias ácidas en Europa Central ha causado graves problemas de toxicidad por Al, al alterarse la absorción de fósforo y calcio por las plantas. Aunque no se conocen con exactitud los mecanismos que permiten a las plantas tolerar los efectos de estos metales pesados, existen pruebas del modo en que resisten a ellos. Así, algunas plantas acumulan el metal en la pared celular, evitando de esta forma su paso al interior de la célula. En otros casos, los metales pesados son absorbidos en cantidades muy pequeñas, aunque su concentración externa sea muy grande. También, complementando a los anteriores, pueden existir sistemas activos de extrusión de metales. Con mucha frecuencia se observa una compartimentación, siendo las vacuolas el principal lugar de acumulación. En combinación con alguno de los anteriores actúan otros mecanismos de formación de quelatos, cuyo principal exponente son las fitoquelatinas. Las **fitoquelatinas** son pequeños péptidos ricos en cisteína: poseen entre 2 y 8 restos de cisteína situados en posición central respecto a un ácido glutámico, y una glicocola en los extremos amino y carboxiterminales, respectivamente. Los grupos-SH de las cisteínas constituyen los puentes por los que se unen a los distintos metales. Las fitoquelatinas se inducen en presencia de metales pesados, y su papel es similar al de las metalotioquinas de los animales.

Las plantas que poseen algún mecanismo de tolerancia a los metales pesados tienden a ser excluidas de los suelos normales por las que no los toleran, dado que éstas son más vigorosas y presentan mayor tasa de crecimiento. Sin embargo, las especies o variedades tolerantes son muy útiles, ya que pueden crecer en suelos ácidos o afectados por la presencia de metales pesados, o ambas cosas. Recientemente se ha atribuido a los metales pesados una función beneficiosa frente al estrés biótico producido por el ataque de patógenos o herbívoros, siempre que la planta posea un buen nivel de homeostasis del metal en cuestión y que los efectos de éste sean menos negativos que los del patógeno (Poschenrieder, Ch. y cols. *Trends in Plant Science*, 11:288-295, 2006).

6. GENÉTICA Y NUTRICIÓN

La tolerancia a un determinado estrés nutricional (como la salinidad, la alcalinidad, los niveles tóxicos o deficientes, etc.), así como las necesidades específicas de elementos esenciales, se encuentran sometidas a control genético, y constituyen uno de los campos de investigación en Fisiología Vegetal en los que es más necesaria la contribución de las nuevas tecnologías.

En este ámbito podemos trazar una división entre plantas ineficientes y plantas eficientes. El estudio de las plantas ineficientes se basa principalmente en trabajos con mutantes obtenidos en laboratorio. Así, tenemos mutantes de la soja ineficientes respecto del Fe, mutantes del maíz ineficientes para el Mg, y de tomates respecto al B. Los mutantes

de estas plantas –por ejemplo, de la soja– injertados sobre una raíz normal no manifestaron los síntomas de clorosis que produce la ausencia de Fe, al ser la raíz la que regula la eficiencia en la absorción y utilización del Fe. Por otra parte, las plantas eficientes pueden encontrarse de forma natural en hábitat pobres en nutrientes o en hábitat con cantidades tóxicas de metales pesados, salinos, alcalinos, etc., es decir, en unas condiciones que podrían provocar la muerte de otras especies e, incluso, de otras variedades de la misma especie. Esto quiere decir que se ha producido un mecanismo adaptativo, regulado por la selección natural. En plantas cultivadas de valor agrícola se han obtenido variedades resistentes por selección dirigida.

Las variaciones genéticas que explican el comportamiento de ambos tipos de plantas, eficientes e ineficientes, frente a un estrés nutricional, se han atribuido a diversos mecanismos, que se pueden agrupar en tres grandes categorías:

- a) Modificación de la absorción radicular debida a cambios en la morfología de la raíz o del mecanismo de absorción y transporte de iones. Por ejemplo, en las plantas resistentes al arsenato, el mecanismo de tolerancia va ligado a una supresión del sistema de absorción del fosfato de alta afinidad, el cual permite que el arsenato sea transportado dentro de la célula. La hipótesis más extendida es que en las especies tolerantes existe un gen supresor de la síntesis del transportador del que carecen las no tolerantes.
- b) Alteración del movimiento de los nutrientes a través de las raíces, alteración de su liberación al xilema, y también, de la distribución de los nutrientes en la parte aérea. Así, en los casos de deficiencia, en las especies eficientes la elevada capacidad de redistribución desde las hojas y partes senescentes hacia las zonas de crecimiento sería muy importante para la supervivencia frente a las especies ineficientes, de baja capacidad distributiva. De igual forma, la capacidad para movilizar reservas de Ca, P y otras, desde la vacuola hacia el citoplasma, determinaría la eficiencia de unas plantas frente a otras en situaciones de deficiencias nutricionales.
- c) Cambios en la utilización de nutrientes durante el metabolismo y el crecimiento. Existen diferencias entre especies que, sometidas a estados de deficiencia, son capaces de realizar un metabolismo normal con una escasa concentración de nutrientes. Así sucede, por ejemplo, entre distintas variedades de tomate, que pueden ofrecer cosechas normales con concentraciones de K muy bajas.

Otra posible adaptación radica en la capacidad para sustituir un elemento por otro. Los casos mejor conocidos son los de la sustitución de Na por K en algas halófilas, así como los de las plantas del género *Astragalus*, capaces de reemplazar el azufre por selenio en los denominados selenoaminoácidos.

Estas potencialidades genéticas se han aprovechado para obtener plantas de interés agrícola capaces de desarrollarse en zonas deficientes o tóxicas en nutrientes o metales pesados. Actualmente, en vez de las técnicas clásicas de selec-

ción tradicional, se están empleando técnicas de cultivos *in vitro* y de ingeniería genética que permitirán, en un futuro muy próximo, regenerar suelos contaminados o con altos niveles de estrés, gracias a la utilización de plantas transgénicas capaces de desarrollarse en esas condiciones limitantes para las plantas normales.

7. NUTRICIÓN MINERAL Y SU RELACIÓN CON LAS ENFERMEDADES Y LAS PLAGAS

La nutrición mineral puede aumentar o disminuir la resistencia o la tolerancia de las plantas a las plagas y las enfermedades. Mientras que la **resistencia** se relaciona con la habilidad del huésped para limitar la penetración, el desarrollo y la reproducción del patógeno invasor, o para limitar la alimentación de las plagas, la **tolerancia** se caracteriza por la habilidad de la planta huésped para mantener su crecimiento a pesar de la infección o el ataque de una plaga. Aunque la resistencia y la tolerancia están controladas genéticamente, los factores ambientales ejercen una influencia considerable sobre ellas. La nutrición mineral es uno de los factores ambientales que puede manipularse con relativa facilidad.

Una nutrición mineral equilibrada asegura un crecimiento óptimo de la planta y, al mismo tiempo, permite una resistencia óptima, aunque hay excepciones. En cuanto a la tolerancia, existe una regla general según la cual las plantas que sufren una deficiencia nutricional presentan menor tolerancia a las plagas y las enfermedades. La tolerancia puede aumentarse mediante el aporte del nutriente deficitario, ya que una planta que crece de forma más vigorosa tiene mayor capacidad para compensar la pérdida de fotoasimilados o la disminución de superficie foliar producida por una infección.

7.1. Enfermedades fúngicas, bacterianas y víricas

Las enfermedades de las plantas pueden ser causadas por hongos, bacterias y virus; las más importantes de todas ellas son las fúngicas. La germinación de esporas de hongos en la superficie de la hoja o en la raíz es estimulada por la presencia de exudados. La velocidad de flujo y la composición de los exudados dependen de la concentración celular. Por ejemplo, la concentración de aminoácidos y azúcares es grande en las hojas con deficiencia de potasio. También se acumulan aminoácidos cuando el aporte de N es excesivo. La salida de fotoasimilados al apoplasto depende de la permeabilidad de la membrana plasmática, y puede incrementarse cuando existe una deficiencia de Ca y B, que aumentan la permeabilidad de la membrana, y con la deficiencia de K, que desacopla la síntesis de polímeros.

La mayoría de los parásitos sólo tiene acceso a las células epidérmicas, que poseen un alto contenido de compuestos fenólicos y flavonoides (véase el Capítulo 17), los cuales se caracterizan por sus propiedades fungistáticas. El metabolismo de los compuestos fenólicos está relacionado, entre

otros, con el Cu y el B. La invasión del apoplasto por hongos, y también por bacterias, tiene que ver con la emisión de enzimas pectolíticas que disuelven la lámina media de la pared celular (Fig. 8-8). La actividad de estas enzimas está fuertemente inhibida por el catión Ca^{2+} . No obstante, las enzimas pécticas u otras toxinas fúngicas también pueden aumentar la permeabilidad de la membrana, y provocar así la salida de K^+ o de H^+ que, a su vez, pueden desencadenar reacciones de hipersensibilidad, tales como necrosis localizadas.

Otro mecanismo de defensa, en la respuesta a la infección, es la producción de radicales superóxido, que contribuirán a la hipersensibilidad, a la lignificación de la pared celular o a la muerte del patógeno. Teniendo en cuenta el papel del Cu, el Zn, el Mn y el Fe en la generación y destrucción de los radicales superóxido, estos nutrientes, como constituyentes de las superóxido dismutasas (SOD), estarán relacionados con la resistencia de la planta en los supuestos planteados.

La lignificación y la acumulación y depósito de sílice en las células epidérmicas pueden formar una barrera física frente a la penetración de las hifas (Fig. 8-8). Estos procesos, relacionados con la nutrición mineral, constituyen la principal resistencia estructural de las plantas frente a las plagas y las enfermedades, sobre todo en las gramíneas y en la endodermis de la raíz.

El N y el K afectan a la resistencia de los cultivos frente a las enfermedades, y tienen mucha importancia como fertilizantes. El aumento del nivel de K en la hoja incrementa la resistencia de la planta frente a los parásitos, sean facultativos (*Fusarium*) u obligatorios (*Puccinia*). Los efectos del N, en cambio, varían según el tipo de parásitos: su incremento aumenta la resistencia a los parásitos facultativos, pero reduce la resistencia ante los obligatorios (Cuadro 8-3). La planta deficiente en N es la más resistente a los parásitos obligatorios porque éstos se nutren de los asimilados de células vivas, mientras que los facultativos, que son semisaprófitos, prefieren los tejidos senescentes. Por tanto, todo lo que favorezca la actividad metabólica de la célula huésped y retrase la senescencia de la planta aumentará la resistencia o la tolerancia a los parásitos facultativos.

Los cultivos con deficiencia de K son muy sensibles a los ataques de los hongos. La aplicación de fertilizantes potásicos a estos cultivos disminuye drásticamente la incidencia de ambos tipos de parásito, obligatorio y facultativo. En las plantas deficientes en K, la síntesis de compuestos de alto peso molecular (proteínas, almidón y celulosa) se desacopla, con lo que se acumulan compuestos de bajo peso molecular que favorecen la invasión y el crecimiento de los hongos. Una aplicación de K por encima del nivel óptimo no produce mayor resistencia de la planta frente a las enfermedades y puede, en cambio, crear competencia con el calcio o el magnesio, y provocar alteraciones fisiológicas que conduzcan a una mayor susceptibilidad de la planta.

El contenido de Ca en los tejidos afecta a la incidencia de parásitos en dos formas: a) el Ca es esencial para la estabilidad de las biomembranas; cuando la concentración de Ca es baja, se favorece la salida de compuestos de bajo peso

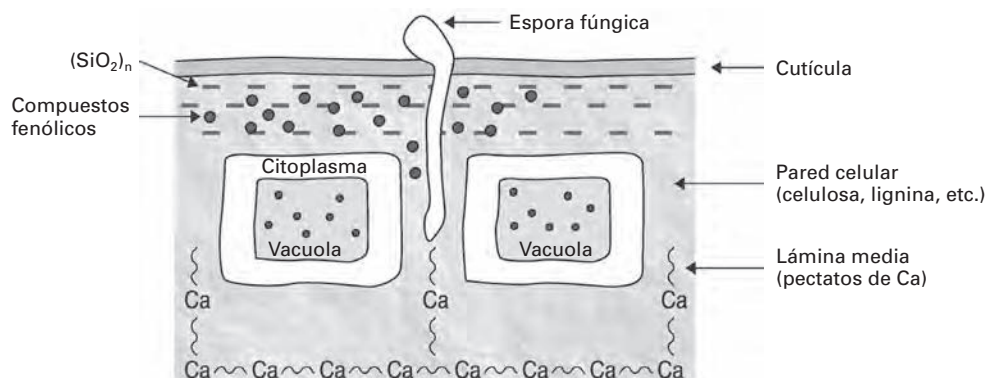


Figura 8-8. Esquema de la penetración de una hifa fúngica desde la superficie foliar hacia las células epidérmicas (apoplasto), y algunos de los factores que afectan al crecimiento del hongo y que están relacionados con la nutrición mineral. (Adaptado de Marschner, 1995.)

molecular, como azúcares, apoplasto, y b) para estabilizar la lámina media de la pared celular se necesitan poligalacturonatos de calcio (Fig. 8-8). Muchos hongos y bacterias invaden los tejidos mediante la producción de enzimas pectolíticas de tipo poligalacturonasas, que disuelven la lámina media. El Ca inhibe drásticamente la actividad de estas enzimas. Los tejidos vegetales con deficiencia de Ca son más susceptibles que los que poseen niveles normales a sufrir las enfermedades parasitarias también durante el almacenado. Esto es muy importante para preservar a los frutos carnosos de las distintas podredumbres. Un remedio eficaz consiste en dar a los frutos un tratamiento de calcio antes del almacenado.

Existen numerosas referencias de los efectos de los micronutrientes sobre las enfermedades parasitarias de las plantas. De los mecanismos de defensa propuestos, el mejor conocido es el del metabolismo de los fenoles y la síntesis de lignina, al menos en relación con el B, el Mn y el Cu. El cobre ha sido y es muy utilizado como fungicida; como tal, se emplea en dosis 100 veces superiores a las que requiere la planta como nutriente.

7.2. Plagas

Las plagas son animales (insectos, arácnidos, nematodos, etc.) que, al contrario que las bacterias y los hongos, poseen sistemas digestivo y excretor, y cuya dieta es menos específica. Factores como el color de las hojas pueden ser importantes para reconocer la plaga o tener una orientación sobre ella. Los mecanismos de resistencia de las plantas frente a las plagas son: a) físicos, como el color, las propiedades de superficie, o los pelos; b) mecánicos, como la fibra o la sílice, y c) químicos o bioquímicos, como el contenido de estimulantes, toxinas o repelentes.

En general, las plantas jóvenes o de crecimiento rápido tienen mayor probabilidad de ser atacadas por las plagas que las plantas viejas o de crecimiento lento. Por tanto, se encuentra una buena correlación entre la aplicación de N y el ataque de las plagas. Sin embargo, los cultivos con K suficiente sufren menos ataques que los deficientes en K. El contenido en aminoácidos es más importante que el de azúcares frente a los insectos chupadores. El incremento del

CUADRO 8-3. Efectos de la concentración de nitrógeno y potasio sobre el grado de patogenicidad de parásitos en diversos cultivos.

Patógeno/Enfermedades	Nivel de N		Nivel de K	
	Bajo	Alto	Bajo	Alto
Parásitos obligatorios				
<i>Puccinia</i> spp./roya	+	+++	++++	+
<i>Erysiphe graminis</i> /mildeu	+	+++	++++	+
Parásitos facultativos				
<i>Alternaria</i> spp./moteado de hoja	+++	+	++++	+
<i>Fusarium oxysporum</i> /podredumbre y marchitamiento	+++	+	++++	+
<i>Xanthomonas</i> spp./moteado y marchitamiento	+++	+	++++	+

Diferente intensidad (+ → ++++).
(Adaptado de Marschner, 1995.)

contenido de aminoácidos es característico de un aporte alto de N o de una anomalía en la síntesis de proteínas, como la que se debe a ciertas deficiencias de K, S o Zn. Cualquier alteración nutricional que disminuya la presencia de K o produzca directamente el incremento de aminoácidos reducirá la resistencia del cultivo a las plagas. Las relaciones planta-plaga son complejas, y por ello lo observado en cada caso no se puede extrapolar a otras plantas o ecosistemas. Así, se ha comunicado que los aportes elevados de N no aumentaban la susceptibilidad de los pinos al ataque de los insectos herbívoros, posiblemente porque el aporte de N no sólo incrementaba el N de la planta, sino también el contenido de diterpenoides, que actúan como aleloquímicos (compuestos del metabolismo secundario que interactúan con otros organismos) (véase el Capítulo 17). Las células epidérmicas que contienen depósitos de sílice actúan como barrera mecánica frente a los insectos mordedores y chupadores. Los rociados foliares con compuestos de silicio reducen la incidencia de los ataques, por ejemplo, de áfidos.

Cabe recordar que los insectos actúan como vectores de virosis, lo que supone una amenaza añadida a la de una plaga de insectos chupadores. En muchas ocasiones, el estado nutricional de la planta influye indirectamente en la enfermedad vírica a través de los vectores, que son hongos o insectos, sobre todo áfidos, responsables del 60% de las virosis.

7.3. Aplicación de fertilizantes y su relación con las plagas y las enfermedades

La adición de fertilizantes en condiciones de campo afecta a las plagas y las enfermedades directamente, al repercutir

en el estado nutritivo de la planta, e indirectamente, al producir alteraciones, por ejemplo, en la recepción de la luz y en la humedad del cultivo. Además, la época de aplicación (calendario de fertilización) y el tipo de compuesto empleado son factores importantes, fundamentalmente para el N. En la mayor parte de los casos, el abonado nitrogenado se añade en dos fracciones, en otoño y en primavera. Así, el nitrógeno aplicado a los cereales en zonas de clima templado al comienzo del ciclo de cultivo, normalmente en otoño (abonado de sementera), favorece el ahijado y el desarrollo del aparato vegetativo, lo que a su vez favorece la incidencia de enfermedades, sobre todo de ataques fúngicos. En estos casos es necesario el uso de productos químicos, para el control de plagas y enfermedades, a fin de proteger el cultivo y obtener una cosecha rentable. La aplicación del abonado nitrogenado en primavera (abonado de cobertera), cuando la planta está formada, permite aprovechar mejor el fertilizante y se reduce la aparición de enfermedades, de modo que la necesidad de usar productos plaguicidas se reduce respecto al abonado de sementera, en otoño. La aplicación de plaguicidas hace que se recuperen las cosechas de los cultivos fertilizados con nitrógeno.

Por otra parte, la forma del N aplicado al suelo puede tener implicaciones en los patógenos de la parte aérea de la planta. Así, la solubilidad de la sílice depende de varios factores, y aumenta a medida que el pH del suelo disminuye. En consecuencia, el contenido de sílice de la planta no sólo depende de la fertilización silíceica, sino también de la forma de fertilizante nitrogenado añadido. El sulfato de amonio acidifica el suelo, mientras que el nitrato cálcico lo alcaliniza. Por tanto, la aplicación de fertilizantes minerales puede suplir, o al menos reducir, la necesidad de plaguicidas.



RESUMEN

- En este capítulo se estudia la relación existente entre los diferentes elementos esenciales contenidos en la planta (descritos en el Capítulo 6) y la producción vegetal. Establecer la concentración de nutrientes adecuada para conseguir cosechas excelentes en calidad y cantidad es un aspecto clave e imprescindible para poder realizar un diagnóstico que refleje el estado nutricional de un cultivo y para formular la recomendación de abonado correspondiente.
- La elección del tejido o material adecuado, así como las condiciones de la toma de la muestra y la representatividad de ésta, se tratan de forma exhaustiva, dada su relevancia. Además, el predominio de los monocultivos en la agricultura moderna obliga a contemplar aspectos como los fertilizantes, los quelatos y las enfermedades y plagas más habituales en los cultivos.
- Por otra parte, el impacto ambiental negativo producido por el uso abusivo de productos químicos en la agricultura obliga a proponer nuevas técnicas de producción más respetuosas con el medio ambiente, como la fertirrigación, muy adecuada para la producción de hortalizas y de plantas ornamentales.
- Asimismo, se estudian las bases científicas para lograr una agricultura sostenible, entre las que destacan la fijación biológica del nitrógeno y las micorrizas.
- Por último, se estudia también la producción en condiciones de estrés (salinidad y metales pesados), estrechamente relacionada con el uso agrícola e industrial, así como la incidencia que la dotación génica tiene sobre todos estos agentes.

PROBLEMAS Y CUESTIONES



- 1 Señale los principales factores que afectan al contenido mineral de un tejido vegetal.
- 2 Problema de unidades: a) Exprese el valor de 3.5% de N en hoja (peso seco), como partes por millón (ppm o mg de N por kg de peso seco de hoja; b) Cambie las unidades de concentración de boro en la hoja. Si el valor es de 85 ppm, ¿qué valor tendría, expresado en tanto por ciento?
- 3 ¿De qué factor dependen los síntomas visibles de deficiencia de un nutriente en las hojas de distinta edad?
- 4 Defina los conceptos de nivel crítico e intervalo de suficiencia de un nutriente. ¿Qué elemento presenta el intervalo de suficiencia más amplio?
- 5 Indique las características del análisis de savia y los inconvenientes de las medidas enzimáticas para una recomendación de abonado.
- 6 Explique qué es un quelato, señalando sus principales propiedades.
- 7 ¿Qué formas de simbiosis se conocen en la fijación biológica del nitrógeno? ¿Qué diferencias esenciales presentan?
- 8 Explique qué son las micorrizas y describa los dos tipos de micorrizas más habituales.
- 9 ¿Qué dos tipos de estrés produce la salinidad?
- 10 ¿Qué relación existe entre la toxicidad de los metales pesados y el pH de los suelos?
- 11 Defina el concepto de plantas resistentes y tolerantes a las enfermedades.

RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES



- 1 El contenido de nutrientes en los tejidos vegetales viene determinado por varios factores, tales como los factores genéticos, la disponibilidad de nutrientes en el medio de cultivo y la edad u órgano de la planta que se considere.
- 2 a) 35 000 ppm N; b) 0.0085% B.
- 3 Los síntomas visibles de deficiencia pueden aparecer en hojas jóvenes o viejas, dependiendo de que la movilidad del nutriente por la planta sea escasa o elevada, respectivamente.
- 4 El nivel crítico se basa en comparar la concentración de un nutriente obtenida por análisis foliar con un valor de referencia, que normalmente supone el 90 % del máximo de la cosecha en peso seco. En cambio, para el intervalo de suficiencia, aunque con la misma base que el método del nivel crítico, la comparación se establece frente a un intervalo de concentraciones de nutriente que no implica una reducción en la producción.
El manganeso es el nutriente que muestra un intervalo de suficiencia más amplio.
- 5 El análisis de savia informa de lo que está sucediendo en la planta en el instante de la toma de la muestra, y puede ofrecer, además, un diagnóstico precoz de nutrición y calidad, con la posibilidad de introducir correcciones en el abonado que rectifiquen las alteraciones detectadas. El principal problema que presentan las medidas enzimáticas utilizadas en el diagnóstico reside en la calibración de dichos métodos.
- 6 Los quelatos son el resultado de la unión entre un ion metálico (Fe, Co, Cu, Zn, Mn) y una molécula orgánica, denominada agente quelante o ligando, que, mediante varios enlaces con el metal, aumenta su estabilidad en disolución. El quelato formado resiste la acción de los microorganismos del suelo, es estable frente a las reacciones de hidrólisis y precipitación, y proporciona una forma química asimilable por la planta. Los quelatos férricos son los más utilizados.
- 7 Los principales sistemas simbióticos capaces de llevar a cabo la fijación biológica del nitrógeno son:
 - *Rhizobium*-leguminosas. Es el más estudiado y, en consecuencia, el mejor conocido; presenta el mayor promedio de fijación de nitrógeno.
 - *Frankia*-no leguminosas. Es un sistema peor conocido, pero que se está configurando como el más importante en las áreas forestales y para la regeneración de suelos pobres. El promedio de nitrógeno fijado puede ser similar, aunque algo inferior, al anterior.



RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES (Cont.)

- Cianobacterias-Azolla. Restringida a las zonas de arrozales, esta simbiosis es probablemente la más antigua de las que se conocen. El promedio de nitrógeno fijado es inferior al de las dos anteriores.

- 8) Las micorrizas son una forma de mutualismo que se presenta entre las raíces de las plantas y los hongos del suelo y es, muy probablemente, la interacción planta-microorganismo con mayor proyección nutricional.

Existen dos formas de micorrizas. Las ectomicorrizas están restringidas a muy pocas familias, propias de zonas templadas, y aparecen principalmente en árboles, como pinos y hayas. En este caso las hifas del hongo sólo penetran en el espacio libre radicular, pero no en el interior de las células, formando en el apoplasto la denominada «red de Hartig». Las endomicorrizas se encuentran prácticamente en todas las familias de angiospermas y en la mayoría de las gimnospermas, salvo en las pináceas. En este caso, las hifas del hongo penetran de manera directa en el citosol de las células corticales, donde configuran

formas arbusculares y vesicales que dan nombre a uno de los tipos de estas micorrizas (vesículoarbusculares).

- 9) El efecto negativo de la salinidad se produce por dos tipos de estrés:

- a) El estrés hídrico, al reducirse la absorción de agua por efecto osmótico.
- b) La toxicidad iónica, relacionada con la excesiva absorción de sodio.

- 10) A medida que el pH del suelo disminuye, la disponibilidad de metales pesados en la planta aumenta. Así, metales como el Al, el Cu o el Cd son más solubles en los suelos ácidos.

- 11) Llamamos plantas resistentes a aquellas que tienen la capacidad de limitar la penetración, el desarrollo y la reproducción de patógenos invasores, o de limitar la alimentación de las plagas. Las plantas tolerantes se caracterizan por su capacidad para mantener su crecimiento a pesar de los procesos de infección o los ataques de las plagas.



BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA

1. Alloway BJ. *Heavy Metals in Soils*. 2ª ed. London, Blackie Academic & Professional, 1995.
2. Cadahía C. *Fertirrigación. Cultivos Hortícolas, Frutales y Ornamentales*. Madrid, Mundi-Prensa, 2005.
3. François LE, Maas EV. Crop response to salt stress. En: Pessaraki M. (ed.). *Handbook of Plant and Crop Stress*. New York, M. Dekker Inc., 1994; 149-182.
4. Hubber DM. The role of nutrition in the take-all disease of wheat and other small grains. En: Engelhard AW. (ed.). *Soilborne Plant Pathogens: Management of Diseases with Macro and Microelements*. St. Paul (Minnesota), APS Press. The American Phytopathological Society, 1989.
5. Jones JB Jr, Wolf B, Mills HA. *Plant Analysis Handbook. Methods of Plant Analysis and Interpretation*. GA (USA), Micro-Macro Publishing Athens, 1991.
6. Lambers H, Chapin III FS, Pons TL. *Plant Physiological Ecology*. New York, Springer-Verlag, 2000.
7. Loneragan JF. Plant nutrition in the 20th and perspectives for the 21st century. *Plant and Soil*. 1997; 196:163-174.
8. Marschner H. *Mineral Nutrition in Higher Plants*. 2ª ed. London, American Press, 1995.
9. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. *Métodos Oficiales de Análisis. Suelos, Aguas, Fertilizantes y Plantas*. Madrid, MAPA, 1993.
10. Poschenrieder Ch, Tolrá R, Barceló J. Can metals defend plant against biotic stress? *Trends in Plant Science* 2006; 11:288-295.
11. Reigosa MJ, Pedrol N, Sánchez A (Coord.). *La Ecofisiología Vegetal. Una Ciencia de Síntesis*. Ed. Thomson Paraninfo, 2004.
12. Thompson, JP. What is the potential for management of mycorrhizas in agriculture? En: Robson AD, Abbott LK, Malajczuk N (eds.). *Management of Mycorrhiza in Agriculture, Horticulture and Forestry*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 1993; 191-200.
13. Varios autores: *Fijación de Nitrógeno: Fundamentos y Aplicaciones*. Sociedad Española de Fijación de Nitrógeno (SEFIN). Granada, 2006.

La luz y el aparato fotosintético

JAVIER DE LAS RIVAS



1. Luz y fotosíntesis. 2. Energía luminosa y pigmentos. 3. Estructuración del aparato fotosintético vegetal. 4. Elementos del aparato fotosintético en los tilacoides. 5. Genética y origen del aparato fotosintético vegetal.

1. LUZ Y FOTOSÍNTESIS

1.1. La luz solar es la fuente principal de energía para la biosfera

La luz es la fuente primaria de energía para la vida sobre la Tierra. La biosfera en la que vivimos es un sistema cerrado y en equilibrio dinámico constante desde el punto de vista termodinámico. Ser un sistema cerrado significa que no intercambia materia con el exterior, pero sí recibe energía. Esta energía «extraterrestre» es esencial para la dinámica tanto geológica como biológica de este planeta, que alberga algo tan genuino como la vida. El Sol es el astro del que recibimos prácticamente la totalidad de esa energía «extraterrestre». La radiación solar que llega a la Tierra abarca una amplia franja del espectro radiativo electromagnético; normalmente, dentro de ella, una parte significativa (aproximadamente un 40%) es la radiación luminosa, llamada luz.

La fuerza de la luz solar se puede comprobar comparando su intensidad con la intensidad de una luz artificial. Por ejemplo, un día de sol proporciona al aire libre unos **2000 μmol de fotones de luz por metro cuadrado por segundo** ($2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; en potencia, unos 1000 W m^{-2}). Por contraste, una lámpara con una bombilla de 100 vatios situada a un metro de una mesa de un metro cuadrado nos proporciona unos **20 μmol de fotones por segundo** ($20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 10 W m^{-2} de luz). Es decir, la distancia hasta el Sol es de muchos miles de millones de metros, pero su luz es 100 veces más intensa que la de la lámpara.

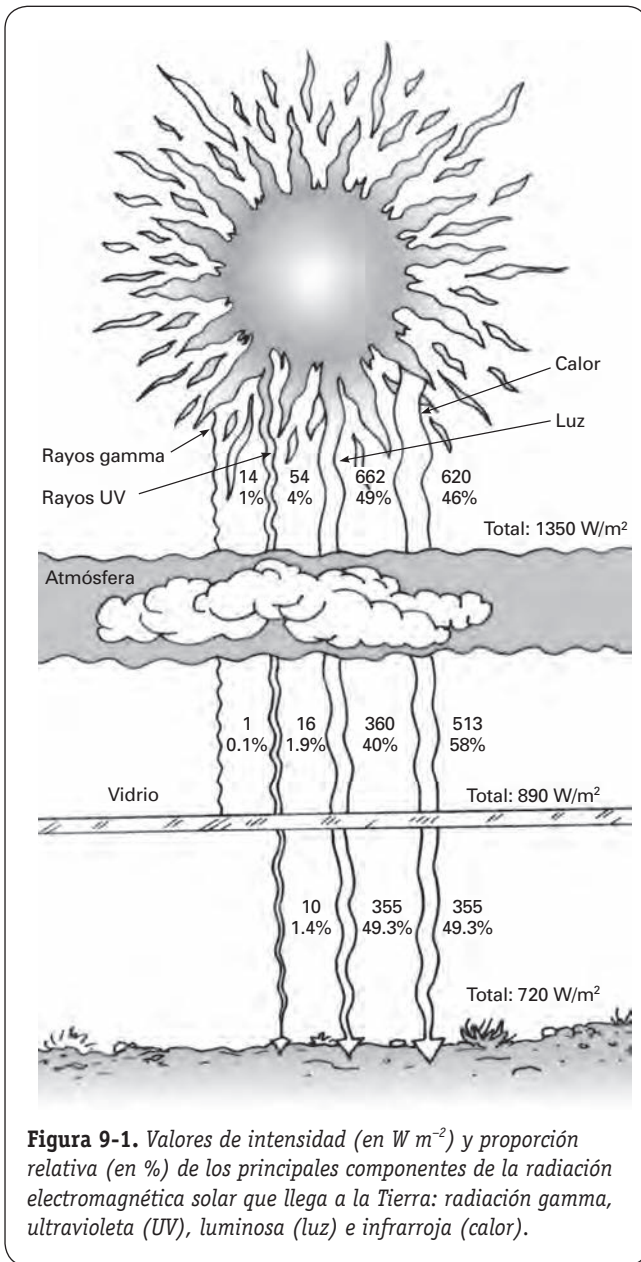
La Figura 9-1 presenta, desglosados, los valores de intensidad y la proporción de los distintos componentes de la radiación solar: radiación gamma (γ), ultravioleta (UV), luminosa (VIS) e infrarroja (IR, calor).

El total de energía radiante solar que alcanza nuestro planeta es enorme. Esta energía es considerada una constante (llamada **constante solar**), y se suele expresar como energía recibida por unidad de tiempo y por unidad de área perpendicular a la radiación. Se calcula que la energía total que llega a la superficie de la Tierra en un día (8 horas de radiación en toda su superficie) equivale a la energía contenida en 300 000 millones de toneladas de carbón, es decir, unos 100 000 000 millones en un año. El consumo energético mundial anual equivale a unos 10 000 millones de toneladas de carbón, es decir, es inferior en cuatro órdenes de magnitud ($\times 10^4$) a la energía que nos llega del Sol.

1.2. La luz es un conjunto de ondas electromagnéticas que vemos y cuyas longitudes van de 400 a 700 nm

El espectro electromagnético está constituido por ondas electromagnéticas de distinta frecuencia, ν (o distinta longitud de onda, $\lambda = 1/\nu$), y abarca desde las ondas de mayor longitud y menor energía, como las ondas de radio y televisión, hasta las de menor longitud y mayor energía, como los rayos gamma (véase la Fig. 9-2).

La radiación luminosa ocupa una pequeña franja del espectro, que va desde los 400 a los 700 nm, se sitúa entre las



radiaciones ultravioletas (UV) y las infrarrojas (IR), y constituye la llamada **radiación fotosintéticamente activa (PAR)**.

La radiación luminosa también se denomina radiación visible (VIS), porque el ojo humano es un órgano fotodetector que nos permite ver esa radiación. La luz blanca está constituida por la conjunción de todas las radiaciones luminosas de distinto color: luz violeta, azul, verde, amarilla, naranja y roja (véase la Fig. 9-2). La luz blanca se puede descomponer en todo el arco cromático de luces de color por difracción a través de un prisma cristalino. Un compuesto o sustancia con color absorbe la luz del color complementario a la del color que muestra, es decir, ese compuesto es del color de la luz no absorbida, que es la que vemos reflejada o transmitida. Esto nos permite entender por qué las hojas de las plantas son verdes, ya que la luz que no absorben es la luz verde.

1.3. Las plantas son organismos autótrofos fotosintéticos

Mediante un único y complejo proceso fisiológico denominado fotosíntesis, determinados organismos vivos autótrofos, (también llamados **fotoergónicos** o **fotosintéticos**), son capaces de absorber y utilizar la energía luminosa. Cualquier fuente de luz visible (por ejemplo, una lámpara incandescente o fluorescente) sirve a los organismos fotosintéticos para realizar la fotosíntesis. Así pues, nada hay de específico o misterioso en el Sol. Esos organismos simplemente usan su luz, si bien la luz solar tiene una intensidad y un espectro difíciles de alcanzar o de imitar con la iluminación artificial.

Entre los organismos fotosintéticos, los **vegetales** constituyen el grupo principal y el más abundante. La fotosíntesis es un proceso distintivo del reino vegetal, que en buena parte determina los rasgos característicos de la estructura y la fisiología de las plantas. El tipo de fotosíntesis que realizan los vegetales se caracteriza por la formación de oxígeno (O_2) como subproducto que se desprende a la atmósfera. Este tipo de fotosíntesis se denomina **fotosíntesis oxigénica** y no está restringido a las **plantas superiores**, pues se da también en las **algas** y en los organismos procariotas, como las **cianobacterias** y las **bacterias verdes-oxifotosintéticas**. Existe también la modalidad de **fotosíntesis anoxigénica**, que llevan a cabo ciertas bacterias que viven en condiciones anaerobias y no producen oxígeno. La similitud de los procesos fotosintéticos fundamentales es bastante grande entre ambas modalidades de fotosíntesis. Por tratarse de un libro de Fisiología vegetal, en el presente capítulo nos referiremos exclusivamente a la fotosíntesis oxigénica.

Al observar la organización global de los seres vivos en la biosfera, se constata que el origen y el desarrollo de los sistemas biológicos se sustentan en la existencia de organismos autótrofos fotosintéticos, los únicos que asimilan la energía radiante solar. Gracias a esta capacidad, los vegetales, y sus antepasados en la evolución han permitido el desarrollo de otras formas de vida no autótrofas. Los más antiguos restos de vida encontrados en la Tierra corresponden, precisamente, a antepasados de las cianobacterias, que son **organismos procariotas fotosintéticos**. Los estudios zoológicos y ecológicos muestran que prácticamente toda la cadena trófica tiene a los sistemas vegetales en sus pilares.

Los organismos fotosintéticos transforman en biomasa la energía solar que absorben y asimilan. Anualmente, en la Tierra se almacena, por fotosíntesis, el equivalente energético a 80 000 millones de toneladas de carbón, lo que corresponde a la asimilación de unas 10^{10} toneladas de carbono de azúcares y otras fuentes de materia orgánica. Aproximadamente la mitad de la biomasa vegetal es sintetizada por el ecosistema terrestre (cultivos agrícolas, bosques, sabanas y matorrales); la otra mitad es producida en las capas superiores de lagos y océanos por los ecosistemas acuáticos (fitoplancton y macrófitas). La energía acumulada en esta biomasa es distribuida luego, más o menos directamente, al resto de los organismos vivos.

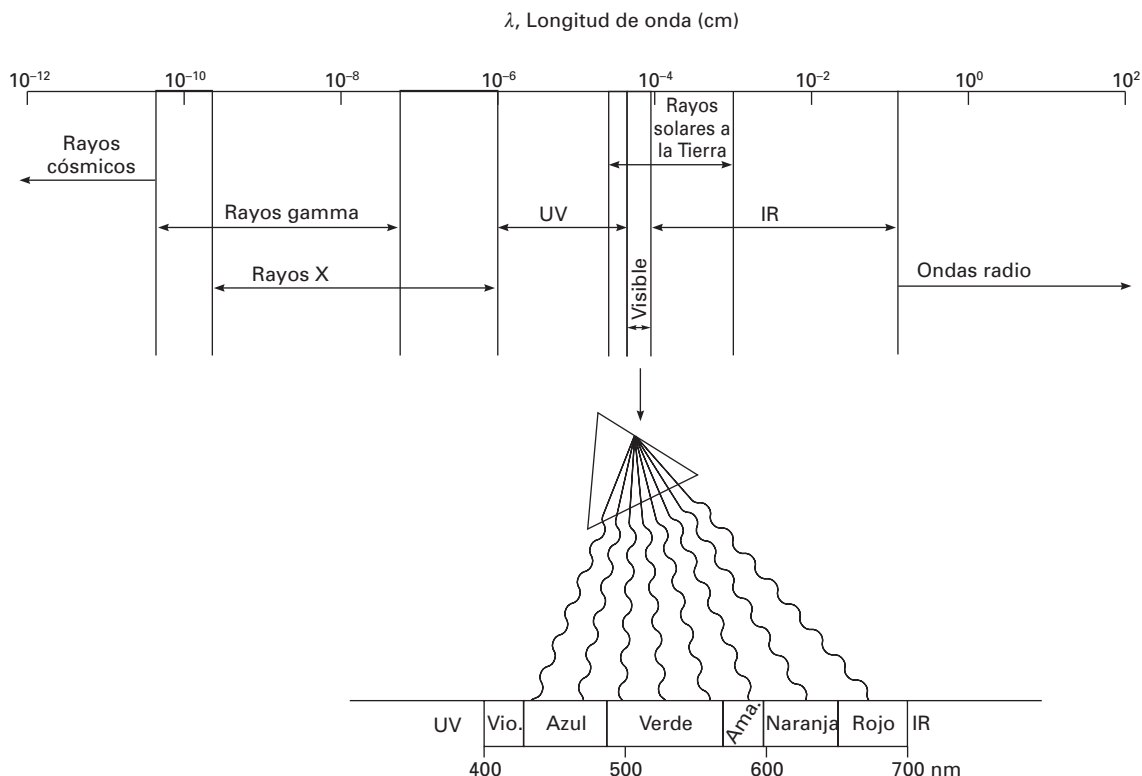


Figura 9-2. Espectro de ondas electromagnéticas, con la escala de longitud de onda. La radiación luminosa ocupa una pequeña franja del espectro, que va desde los 400 a los 700 nm, y se sitúa entre las radiaciones ultravioleta (UV) e infrarroja (IR).

1.4. La fotosíntesis es un proceso biológico de fotoabsorción y fotoasimilación que consta de dos fases

La fotosíntesis es un proceso biológico complejo en el que pueden distinguirse dos fases bien diferenciadas: una primera de absorción y conversión de la energía, y otra de toma y asimilación biológica de los elementos constitutivos de la materia orgánica (C, H, O, N, S, etc.). La energía luminosa es absorbida por biomoléculas fotosensibles y transformada en una forma de energía bioquímica estable. Los elementos constitutivos se toman de fuentes minerales inorgánicas (agua, H₂O; dióxido de carbono, CO₂; nitratos, NO₃⁻; sulfatos, SO₄²⁻, etc.) y se incorporan a biomoléculas orgánicas metabolizables (véase el Capítulo 6). Ambas fases, la toma de energía y la toma de elementos, están perfectamente coordinadas e interrelacionadas. Tradicionalmente, estas fases se han denominado fase luminosa y fase oscura; pero esta nomenclatura no es del todo exacta, ya que actualmente sabemos que la luz es un factor esencial en toda la fotosíntesis como elemento de regulación y control de ambas fases. Así, se puede decir que existe una fotoabsorción de energía y una fotoasimilación de los elementos esenciales.

La **primera fase** es un proceso de conversión de energía luminosa en energía electroquímica. Se inicia con la absorción de la luz por ciertos complejos pigmento-proteína denominados **antenas**, «cosechadores» de luz (LHC, *Light Harvesting*

Complexes), y continúa con la canalización de la energía de los fotones hacia los **centros de reacción** de los fotosistemas, donde la energía se transforma en una corriente de electrones y protones entre moléculas oxidorreductoras. Las reacciones de oxidorreducción producen, en último término, dos biomoléculas estables (NADPH y ATP) que se van acumulando. Estas biomoléculas son útiles como fuente de «energía asimiladora», ya que proporcionan **poder de reducción** (el NADPH) y **poder de enlace** (el ATP), necesarios para la siguiente fase.

En la **segunda fase** de la fotosíntesis se produce toda una serie de reacciones de asimilación de elementos necesarios para la construcción biomolecular: C, H, O, N, S, etc. El elemento esencial y predominante en la materia orgánica es el carbono. En la fotosíntesis, el carbono se toma del dióxido de carbono (CO₂) del aire. El proceso de fijación y asimilación fotosintética del carbono se estudia en los Capítulos 11 y 12.

1.5. Las reacciones fotosintéticas pueden expresarse en una ecuación global que incluye los componentes esenciales del proceso

La ecuación global de la fotosíntesis es:



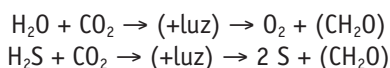
Esta ecuación corresponde a la fotosíntesis que hemos denominado oxigénica, en la que el oxígeno es el producto final, desprendido y liberado a la atmósfera y útil para el proceso biológico de la respiración (véase el Capítulo 14). En esta ecuación, $(\text{CH}_2\text{O})_n$ representa un azúcar como producto final fotosintetizado, genéricamente llamado fotosintato o **fotoasimilado**. Los monosacáridos glucosa y fructosa, el disacárido sacarosa o el polisacárido almidón son algunos de los azúcares fotosintetizados más frecuentes. El caso más sencillo de síntesis de un monosacárido puede expresarse mediante la siguiente ecuación:



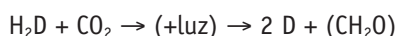
Esta ecuación es endergónica, es decir, necesita un aporte de energía libre ($-\Delta G$) para moverse en el sentido indicado por la flecha. Esta energía es aportada por la luz absorbida fotosintéticamente.

Desde el punto de vista histórico, la ecuación fue formulada por vez primera por el ginebrino Théodore de Saussure, que descubrió el papel del H_2O en la fotosíntesis vegetal y completó la reacción en torno a 1804, tomando los datos de varios bioquímicos vanguardistas de su época: el también ginebrino Jean Senebier, que había indicado que el «aire fijado» –es decir, el CO_2 – se incorporaba a la fotosíntesis; el holandés Jan Ingen-Housz, que había descubierto la acción de la luz solar en el proceso, y el inglés Joseph Priestley, que ya en 1771 había comprobado la producción de un «nuevo gas» –el oxígeno (O_2)– por las plantas, que eran capaces de «renovar» el «aire viciado», causado por la combustión de una vela, que un ratón no era capaz de respirar.

Sin embargo, hasta el siglo XX no se llevó a cabo un análisis más profundo del proceso fotosintético. En los años treinta, la ecuación básica global se estudió de nuevo y se desglosó en dos partes perfectamente diferenciables. En 1931, Cornelis van Niel realizó estudios comparativos entre la fotosíntesis de las plantas verdes y la fotosíntesis de las bacterias sulfúreas, y escribió las ecuaciones globales de ambos procesos:



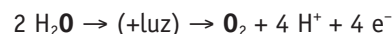
A la vista de estas ecuaciones, consideró que el azufre formado por las bacterias era análogo al oxígeno producido por las plantas, y que, de modo más general, podía escribir y proponer la siguiente ecuación:



donde H_2D es una molécula reducida dadora de hidrógeno (Blankenship, R. E. *Photosynthesis Research* 33:91-111, 1992). De este modo, la fotosíntesis en las plantas podía explicarse como una reacción en la que el CO_2 era reducido por el hidrógeno procedente del agua. La liberación de oxígeno sería, pues, una consecuencia necesaria del proceso de deshidrogenación del agua. Lo esencial de este aspecto de

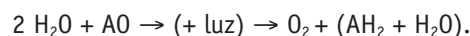
la fotosíntesis es que la molécula de agua es escindida por la luz.

En 1939, Robert Hill descubrió que cloroplastos aislados de hojas son capaces de producir oxígeno al ser iluminados en presencia de un adecuado compuesto químico aceptor artificial de electrones, tal como el ferricianuro. La reacción produce la reducción del ferricianuro a ferrocianuro. Partiendo de ello, Hill formuló la siguiente ecuación:



La ecuación de Hill fue de gran importancia científica, porque fraccionaba la fotosíntesis en dos fases, al mostrar que la liberación de oxígeno podía realizarse sin reducción del CO_2 . También confirmó que todo el oxígeno producido procede del agua, y no del CO_2 . La reacción de Hill puso de manifiesto que el hecho primario en la fotosíntesis es la transferencia de electrones y protones de una sustancia a otra en contra de un gradiente de potencial redox químico, transferencia que es posible gracias a la energía de activación de la luz (es decir, en dirección termodinámicamente desfavorable). Electrones más protones equivalen a átomos de hidrógeno ($\text{H} = \text{H}^+ + \text{e}^-$), que es lo que aporta el agua, H_2O .

Finalmente, se puede escribir una **reacción global integradora** de toda la fotosíntesis vegetal haciendo referencia de modo general a su segunda fase, en la cual se lleva a cabo la asimilación de los distintos elementos a partir de fuentes inorgánicas (CO_2 , NO_3^- , SO_4^{2-}):



La molécula AO incluye el elemento aceptor final de electrones y protones ($\text{A} = \text{C}, \text{N}, \text{S}$) que es reducido parcialmente, como en el caso del carbono en un azúcar $(\text{CH}_2\text{O})_n$, o totalmente, como en el caso del nitrógeno, que da lugar a NH_4^+ , o del azufre, que da SH_2 . Como se ve, el oxígeno, (O), procede de las fuentes inorgánicas citadas.

Dada la amplitud del tema, en los Capítulos 9 y 10 estudiaremos la primera fase del proceso fotosintético; en los Capítulos 11 y 12 la segunda fase fotosintética de asimilación de carbono, y en los Capítulos 15 y 16 la fijación-asimilación de nitrógeno y azufre, que constituyen parte esencial del anabolismo fotosintético vegetal.

2. ENERGÍA LUMINOSA Y PIGMENTOS

2.1. La energía luminosa se mide y expresa cuantitativamente en unidades de luz: fotones

En 1900, Max Planck enunció la teoría por la cual toda transferencia de energía radiante de un objeto a otro implicaba unidades «discretas» de energía a las que llamó cuantos. Las ondas electromagnéticas son radiaciones y, por tanto, se transmiten de manera cuántica, en unidades discretas. La

teoría cuántica de Planck se expresa matemáticamente como $E = h \cdot \nu$, siendo E la energía de una unidad o partícula cuántica de radiación, ν la frecuencia de la radiación (es decir, el número de ondas transmitido por unidad de tiempo) y h una constante (constante de Planck, de valor $h = 6.6262 \times 10^{-34}$ J s). La frecuencia de una radiación corresponde también a la velocidad de dicha radiación dividida por la longitud de onda, es decir, $\nu = c/\lambda$. La velocidad de todas las radiaciones electromagnéticas, c , es la misma, es decir, es una constante ($c = 2.9979 \times 10^8$ m s⁻¹). De este modo, la energía de una radiación se puede también expresar como $E = h \cdot c/\lambda$.

La luz, como el resto de las radiaciones electromagnéticas, está compuesta de paquetes elementales de energía denominados fotones, de modo que un fotón individual interacciona con una molécula, y no se puede producir la absorción o emisión de fracciones de fotones. Aunque aquí sólo nos vamos a referir a moléculas, casi todo lo que se dice sobre los procesos de absorción y transferencia de energía también es aplicable a agrupaciones atómicas o moleculares que funcionen como una unidad.

Si se pretende que la energía de un fotón pueda ser utilizada para impulsar una transformación física o química, lo primero que hay que conseguir es que interactúe con una molécula que lo absorba. Lógicamente, en el momento en que es absorbido, el fotón deja de ser un fotón, y su energía se suma a la que ya tiene la molécula. Este exceso de energía localizado en la molécula tras la absorción se denomina energía de excitación o, más brevemente, **excitón**.

Cada fotón de luz tiene una energía propia, que corresponde a su longitud de onda específica y que puede ser calculada a partir de la ecuación de Planck, según la expresión antes descrita $E = h \cdot c/\lambda$. En el Cuadro 9-1 se presenta el cálculo de la energía de la luz de varias longitudes de onda dentro del arco cromático, entre 700 y 400 nm. También se ofrece un cálculo de la energía de una radiación más larga, infrarroja (IR), y de otras dos cortas, ultravioleta (UV) cercano y lejano. La energía de un fotón es muy pequeña y, por ello, en vez de expresarse en julios (J), se puede expresar en electrones voltio (eV), que es la unidad de energía más pequeña y que se define como la energía adquirida por un electrón (unidad de

carga elemental) cuando se mueve a través de un potencial de 1 voltio, $1 \text{ eV} = 1.6022 \times 10^{-19}$ J. De este modo, un fotón rojo de 700 nm tiene una energía de 1.77 eV.

2.2. El espectro de absorción de una molécula indica el tipo de fotones que absorbe, y el tipo de transiciones energéticas que sufre depende de su estructura electrónica

La **absorción (A)** de un fotón por una molécula supone la transición desde su estado fundamental (S_0) de mínima energía, a uno de sus estados excitados (S_1 , S_2 , etc.), de mayor contenido energético (Fig. 9-3 A). Los estados electrónicos S son de tipo **singlete (S)**, es decir, constan de dos electrones de espín opuesto. La transición que resulta útil para promover transformaciones químicas, tanto si se trata de fotosíntesis como si se trata de un sistema no biológico, es un cambio en la configuración de los **electrones de valencia**, es decir, los que ocupan los orbitales más externos, ya que esos electrones son los que intervienen en el establecimiento de enlaces químicos. En la transición, el electrón perteneciente al orbital periférico pasa a uno de los orbitales desocupados de mayor energía, y el salto energético entre orbitales es idéntico a la cantidad de energía del fotón absorbido (Fig. 9-3 A).

El **estado excitado** que resulta de la absorción de un fotón es muy inestable, por lo que la molécula excitada tiene una marcada tendencia a ceder el exceso de energía y volver al estado fundamental. Existen varias rutas o formas de llevar a cabo esta relajación o desexcitación. Una descripción esquemática de tales rutas aparece en la Figura 9-3 A. La vuelta directa al estado fundamental, con la emisión de un fotón idéntico al absorbido, es muy improbable. Lo normal es una **relajación de la vibración** dentro del mismo estado electrónico, que supone una pérdida de energía en forma de calor (energía no radiante) (**RV**). También se puede producir la relajación mediante saltos descendentes cortos entre estados electrónicos próximos, soltando de nuevo energía en forma no radiante, en pequeños paquetes, a grupos atómicos de la misma molécula o de moléculas adyacentes; es

CUADRO 9-1. Color, frecuencia, longitud de onda y energía de los fotones de radiación visible, infrarroja y ultravioleta.

Color	Frecuencia $\nu \times 10^{-15} (\text{s}^{-1})$	Longitud de onda λ (nm)	Energía	
			(eV · fotón ⁻¹)	(kJ · mol fotones ⁻¹)
Infrarrojo	0.300	1000	1.24	120
Rojo	0.428	700	1.77	171
Naranja	0.484	620	2.00	193
Amarillo	0.517	580	2.14	206
Verde	0.566	530	2.34	226
Azul	0.638	470	2.64	255
Violeta	0.749	400	3.10	299
UV cercano	1.000	300	4.14	399
UV lejano	1.500	200	6.21	599

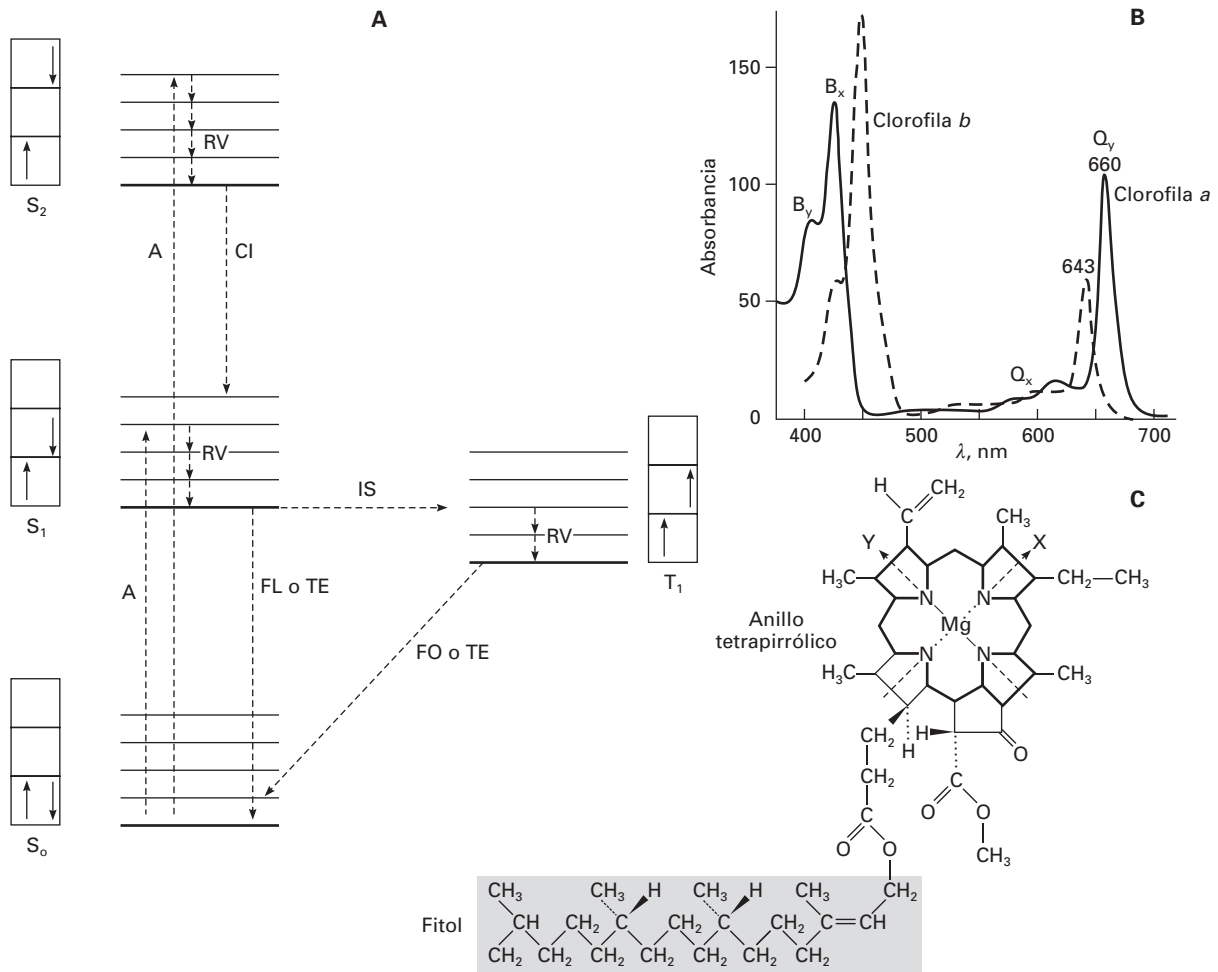


Figura 9-3. A. Representación del estado fundamental, de mínima energía (S_0), de un par de electrones periféricos de una molécula y de dos estados excitados consecutivos (S_1 , S_2), de mayor contenido energético. Todos ellos son formas singlete, frente a la forma triplete (T_1), en la cual los electrones tienen el mismo espín. Las transiciones que se producen (A, RV, CI, FL, IS, FO, TE) se explican en el texto. **B.** Espectro de absorción de las clorofilas a y b, con la longitud de onda del pico máximo en el rojo (660 y 643 nm). Cada espectro presenta 4 bandas principales, mencionadas en el texto (Q_y , Q_x , B_x , B_y). **C.** Estructura molecular de la clorofila a; en el anillo porfirínico se indican los ejes X e Y, que corresponden a las bandas de absorción. Los dobles enlaces conjugados del anillo porfirínico no se muestran en esta figura (véase también la Fig. 9-4).

lo que se conoce como **conversión interna (CI)**. Alguno de los saltos puede producirse entre estados suficientemente separados, y la energía cedida puede entonces ser emitida en forma radiante como fotón visible, siempre de menor energía que el que causó la formación del estado excitado (proceso denominado **fluorescencia, FL**). Las clorofilas son moléculas que pierden fácilmente su energía de excitación por esta vía, emitiendo luz fluorescente roja de longitud de onda normalmente superior a 660 nm.

La relajación puede también transcurrir por vías indirectas, como la que supone una **inversión del espín** del electrón excitado, originando un estado **triplete (T)** que tiene dos electrones con el mismo espín. El triplete normalmente presenta un nivel de energía menor, y el paso de la configuración singlete (S) a triplete (T) conlleva el llamado **cruce intersistemas (IS)**. La relajación de vuelta desde el triplete al estado basal singlete puede producirse con la nueva emi-

sión de una energía radiante, es decir, de un fotón visible. Este proceso de emisión de luz se denomina **fosforescencia (FO)**. La vuelta de triplete a singlete también se puede dar de modo no radiante, por simple conversión interna. En general, estas conversiones son poco frecuentes debido a su complejidad, ya que tienen que producirse dos cambios de configuración electrónica.

Finalmente, la relajación, tanto desde la forma singlete excitada (S_1) como desde la forma triplete excitada (T_1), puede darse por la cesión o transferencia de la energía de excitación a otra molécula que esté suficientemente cerca. Este modo o vía se llama de **transferencia excitónica (TE)** y es la vía clave para el funcionamiento de las **antenas fotosintéticas**, cuyos pigmentos están ordenados y dispuestos de forma próxima, es decir, acoplados excitónicamente de modo que unos a otros se pueden transmitir esos cuantos o paquetes de energía de excitación (llamados **excitones**).

La probabilidad de que un fotón sea o no absorbido varía dependiendo de la estructura electrónica de la molécula, es decir, la estructura molecular determina la eficiencia con la que cada especie química absorbe los fotones de distintas energías. La representación gráfica utilizada normalmente para ilustrar la capacidad para absorber luz de una especie química (o de una mezcla) se denomina **espectro de absorción**. En él se representa la intensidad de la absorción (como absorbancia, absorción fraccional o porcentaje de transmisión) frente a la energía del fotón expresada por su frecuencia, (ν), en s^{-1} , o por su longitud de onda, (λ), en nm. La Figura 9-3 B muestra el espectro de absorción de los pigmentos fotosintéticos más comunes, las clorofilas *a* y *b* (véase el apartado 2.3). El contenido energético de los diferentes estados de una molécula está influido por el entorno en que se encuentra (es decir, por otras moléculas próximas) y, por ello, el espectro de absorción de una determinada especie química en disolución también varía según el disolvente. Igualmente, las interacciones entre moléculas idénticas en oligómeros, o entre moléculas distintas en complejos no covalentes, pueden modificar sustancialmente el espectro de absorción, como ocurre de hecho con los pigmentos fotosintéticos cuando están insertados en proteínas.

Al ser un reflejo de las diferencias de energía entre los distintos estados moleculares, los espectros de absorción facilitan información valiosa sobre las propiedades de las moléculas y sobre su entorno inmediato. Por ello, son de enorme utilidad y tienen numerosas aplicaciones en el estudio de la materia, tanto viva como inanimada.

2.3. Los principales pigmentos fotosintéticos son las clorofilas (verdes) y los carotenoides (amarillo-anaranjados)

En las plantas, la luz destinada a impulsar el proceso fotosintético es absorbida por dos tipos principales de pigmentos: **clorofilas** y **carotenoides**, que son moléculas cromóforas sensibles a la radiación luminosa y genéricamente llamadas pigmentos fotosintéticos.

Estos pigmentos no están libres en el aparato fotosintético, sino que se encuentran engarzados dentro de las proteínas fotosintéticas formando los **complejos pigmento-proteína**. La asociación de estos pigmentos con los polipéptidos es de tipo no covalente, por lo que, al desnaturalizarse la proteína, los pigmentos se liberan.

El pigmento fotosintético más importante es la **clorofila**, ya que es la biomolécula cromófora que interviene más directamente en el proceso de absorción y conversión de la energía luminosa. Existen distintos tipos de clorofilas, pero todos ellos se caracterizan por tener un anillo tetrapirrólico cíclico, de tipo porfirina (similar al grupo hemo), con un catión metálico de magnesio ligado en el centro del anillo (Mg^{2+}) (Fig. 9-4). También cuentan en su estructura con una larga cadena hidrófoba de fitol (véase el Capítulo 17) que les facilita el anclaje dentro de zonas o estructuras poco polares. Debido a esta estructura molecular, las clorofilas son ca-

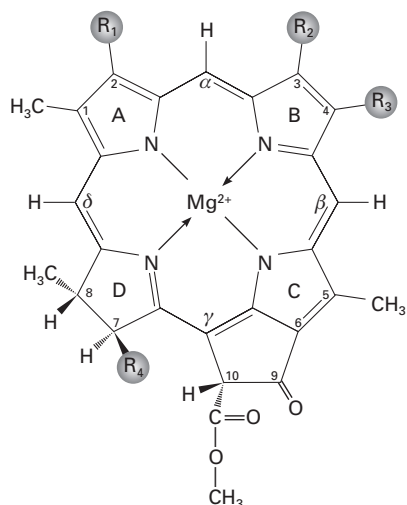
paces de absorber la radiación luminosa en la zona del azul y también en la zona del rojo; por ello, son de color verde, y dan al reino vegetal ese color característico.

En los vegetales existen dos tipos de clorofilas, la clorofila *a* y la clorofila *b* (Fig. 9-4). Habitualmente, todas las clorofilas están asociadas de modo no covalente a los polipéptidos constitutivos de las antenas. La principal función de las clorofilas es la absorción de luz en dichas antenas. Fuera de las plantas superiores, en diversos microorganismos fototróficos existen otros tipos de clorofilas, como la clorofila *c* o la bacterioclorofila.

Los **carotenoides** son compuestos de cuarenta átomos de carbono (C_{40}) que tienen una estructura principal lineal con grupos metilo laterales cada 4 carbonos. Desde el punto de vista biosintético, son derivados de la fusión de ocho unidades de **isopreno** (molécula de 5 C) (Fig. 9-5) (véase el Capítulo 17). Por ello, son lípidos isoprenoides. Los extremos de la molécula de un carotenoide pueden formar anillos o llevar sustituyentes oxigenados. Los carotenoides con algún grupo oxigenado se denominan **xantofilas**, mientras que los hidrocarburos sin oxígeno son los **carotenos**. Los principales carotenoides presentes en todo cloroplasto vegetal son el α -caroteno, el β -caroteno y cinco xantofilas: luteína, violaxantina, anteraxantina, zeaxantina y neoxantina. En la Figura 9-5 se muestran las estructuras de estos compuestos. Los carotenos son más abundantes en los centros de reacción de los fotosistemas, y las xantofilas abundan más en las antenas. Además de estos carotenoides, comunes a todas las plantas superiores, en ciertas especies vegetales se dan algunos otros tipos. La función fotosintética principal de los carotenoides es proteger el aparato fotosensible mediante mecanismos de disipación y extinción de energía. De modo secundario, también tienen la función de ser antenas alternativas, sobre todo en el espectro de luz entre 450 y 500 nm, en el cual las clorofilas absorben poco. Debido a que absorben en esta zona del espectro, que corresponde a la luz azul-verde, los carotenoides de los cloroplastos son de color amarillo y anaranjado.

2.4. Las clorofilas y los carotenoides son pigmentos que por su estructura molecular absorben muy eficazmente la luz

Tanto las clorofilas como los carotenoides poseen en su estructura sistemas de **dobles enlaces conjugados** (es decir, dobles enlaces alternados con enlaces sencillos) que se extienden por gran parte de la molécula. La presencia de estos sistemas conjugados es lo que confiere a esos pigmentos su capacidad para absorber luz visible (es decir, absorber fotones). Cada doble enlace $C=C$ está constituido por un orbital molecular de tipo σ y otro de tipo π . Los numerosos orbitales moleculares del tipo π del sistema conjugado (tantos como átomos de C participan en este sistema) dan lugar a un gran número de electrones π deslocalizados que tienen niveles energéticos próximos, de forma que cuantos



Tipos de clorofilas	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Pérdida de hidrógenos en C ₇ y C ₈ dando doble enlace
a	-CH = CH ₂	-CH ₃	-CH ₂ CH ₃	X	No
b	-CH = CH ₂	-CHO	-CH ₂ CH ₃	X	No
c ₁	-CH = CH ₂	-CH ₃	-CH ₂ CH ₃	-CH = CH-COOH	Sí
c ₂	-CH = CH ₂	-CH ₃	-CH = CH ₂	-CH = CH-COOH	Sí
d	-CHO	-CH ₃	-CH ₂ CH ₃	X	No

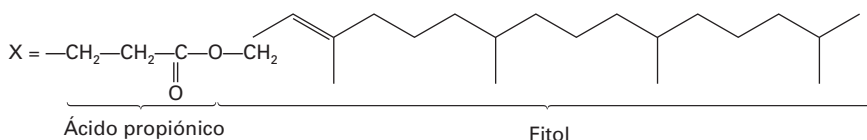


Figura 9-4. Estructura molecular de las clorofilas, en la que se muestran: los dobles enlaces conjugados del anillo porfirínico (que incluye cuatro pirroles A, B, C y D), la unión coordinada al átomo de magnesio, y los distintos radicales (R) que cambian en cada tipo de clorofila: a, b, c₁, c₂, d.

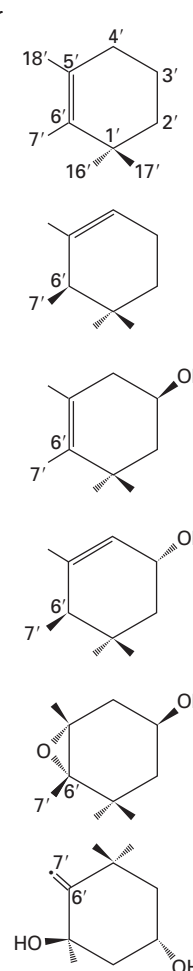
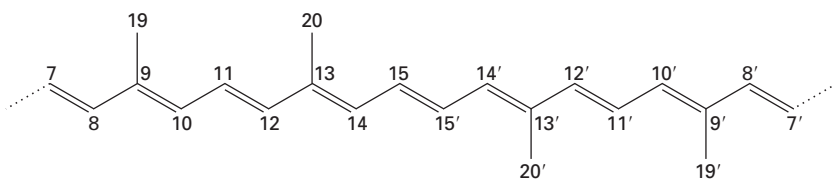
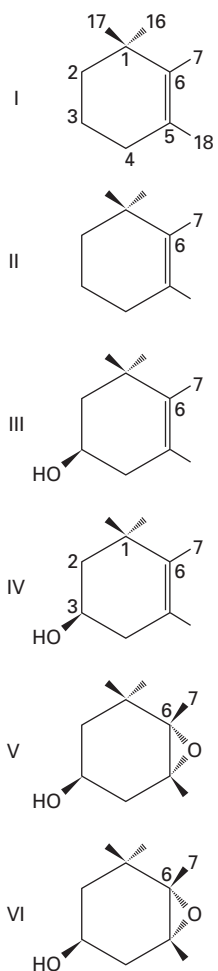


Figura 9-5. Estructura molecular de los carotenoides más comunes en las hojas: I: β-caroteno; II: α-caroteno; III: zeaxantina; IV: luteína; V: violaxantina; VI: neoxantina.

más enlaces conjugados existen, la diferencia de energía entre el orbital ocupado superior (π , enlazante) y el orbital desocupado inferior (π^* , antienlazante) es menor. A partir de siete o más dobles enlaces conjugados, la energía de la radiación visible (fotones) es suficiente para promover la transición de un electrón desde un orbital ocupado π a un orbital desocupado π^* . Según el tipo de fotón (entre rojo y azul) que cada pigmento absorbe, así es la energía de sus transiciones π - π^* , que oscilan entre 1.7 y 3.1 eV fotón⁻¹ (véase el Cuadro 9-1). En otras moléculas orgánicas con menos dobles enlaces conjugados, los intervalos de energía entre los distintos estados electrónicos son mayores y se necesitan fotones ultravioleta, más energéticos, para promover transiciones electrónicas π - π^* .

Desde un punto de vista molecular, en las clorofilas y los carotenoides existen claras diferencias de simetría entre el **estado fundamental** y algunos o todos los **estados excitados** que participan en las transiciones visibles. Esto confiere a dichas transiciones un marcado carácter dipolar. Por otra parte, los orbitales π están deslocalizados en una gran área de la molécula, por lo que el efecto del cambio de configuración electrónica se reparte entre muchos átomos, y no ocasiona alteraciones marcadas de la geometría nuclear. Además, las regiones del espacio ocupadas por los orbitales π y π^* coinciden bastante, lo que también favorece la transición. Todas estas circunstancias contribuyen a que clorofilas y carotenoides sean pigmentos extraordinariamente eficaces para la absorción de luz. En el caso de las clorofilas, su espectro visible de absorción muestra cuatro bandas principales más o menos intensas que corresponden a distintas transiciones electrónicas, denominadas, por orden de energía creciente, Q_y , Q_x , B_x y B_y (véase la Fig. 9-3 B). Los **coeficientes molares de absorción** (ϵ) de las bandas roja (Q_y) y azul (B o banda Soret) de las clorofilas están, junto con los de los carotenoides, entre los más altos de los observados en los pigmentos naturales. El espectro de absorción de los carotenoides exhibe una banda que oscila entre 400 y 550 nm, con tres componentes vibratorios principales, cuya localización varía según la especie química concreta de que se trate (véase la Fig. 9-6). Como puede apreciarse al superponer sus espectros, la presencia simultánea de ambos tipos de pigmentos, clorofilas y carotenoides, en el aparato fotosintético amplía la gama de energía de fotones visibles que pueden ser absorbidos (Fig. 9-6).

3. ESTRUCTURACIÓN DEL APARATO FOTOSINTÉTICO VEGETAL

3.1. Las hojas son el órgano vegetal especializado en realizar la fotosíntesis

En las plantas superiores la fotosíntesis tiene lugar en los tejidos fotosintéticos, presentes en su mayor parte en las **hojas**, que son órganos especializados en la fotosíntesis. La luz solar es una radiación que se dispersa en toda la atmósfera terrestre; para aprovecharla al máximo es necesario exponer la

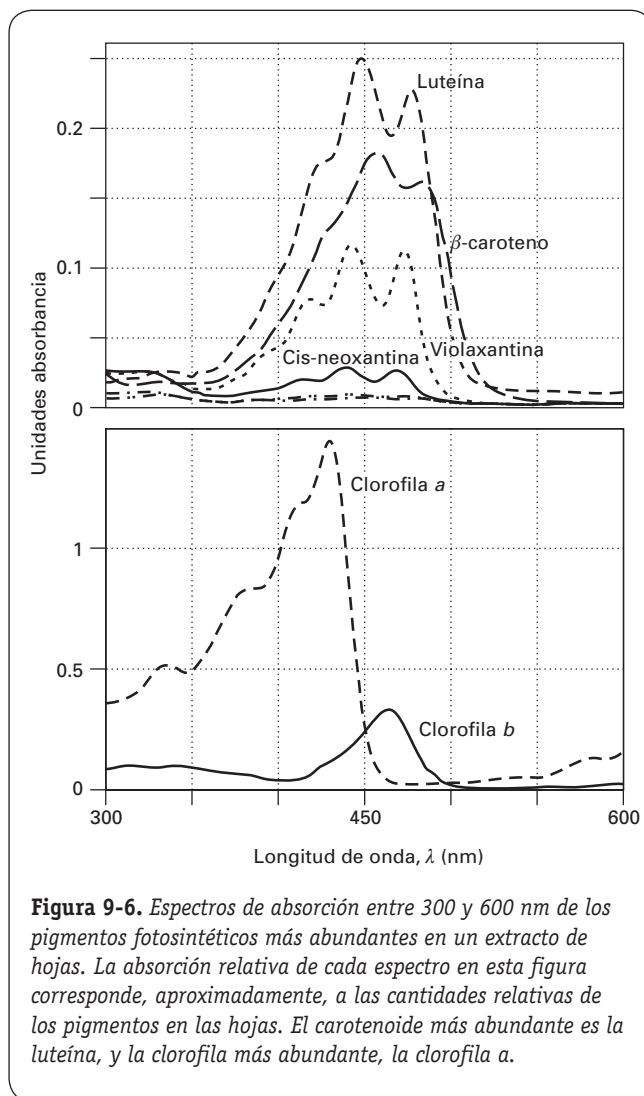


Figura 9-6. Espectros de absorción entre 300 y 600 nm de los pigmentos fotosintéticos más abundantes en un extracto de hojas. La absorción relativa de cada espectro en esta figura corresponde, aproximadamente, a las cantidades relativas de los pigmentos en las hojas. El carotenoide más abundante es la luteína, y la clorofila más abundante, la clorofila a.

mayor cantidad posible de tejido a los fotones incidentes; de ahí la gran superficie foliar que suelen tener los vegetales. Las hojas son también, por esta razón, generalmente planas, como pequeños **paneles solares** que se pueden orientar hacia los rayos solares para tratar de absorber de modo óptimo toda la luz que necesitan. Además, las plantas tienen habitualmente muchas hojas pequeñas para lograr otras ventajas funcionales: a) distintas hojas pueden tomar distintas orientaciones, adaptándose a la **incidencia luminosa**, que cambia a lo largo del día con el movimiento del sol, y b) la **disipación térmica** de un elemento sometido a radiación solar es mucho más eficaz si es pequeño y tiene, proporcionalmente, una gran superficie en contacto con el aire.

La Figura 9-7 A muestra una hoja con los compuestos que intervienen en la reacción global fotosintética. Dos son gases (CO_2 y O_2) intercambiados con la atmósfera; el producto final es un sólido hidrosoluble, el azúcar $[(\text{CH}_2\text{O})_n]$; y el sustrato primero (agua, H_2O) es un líquido tomado por las raíces, que se puede transformar en gas (vapor de agua) por evapotranspiración, según las necesidades hídricas y metabólicas de la planta (véanse los Capítulos 3 y 4). En la Figura 9-7 B se

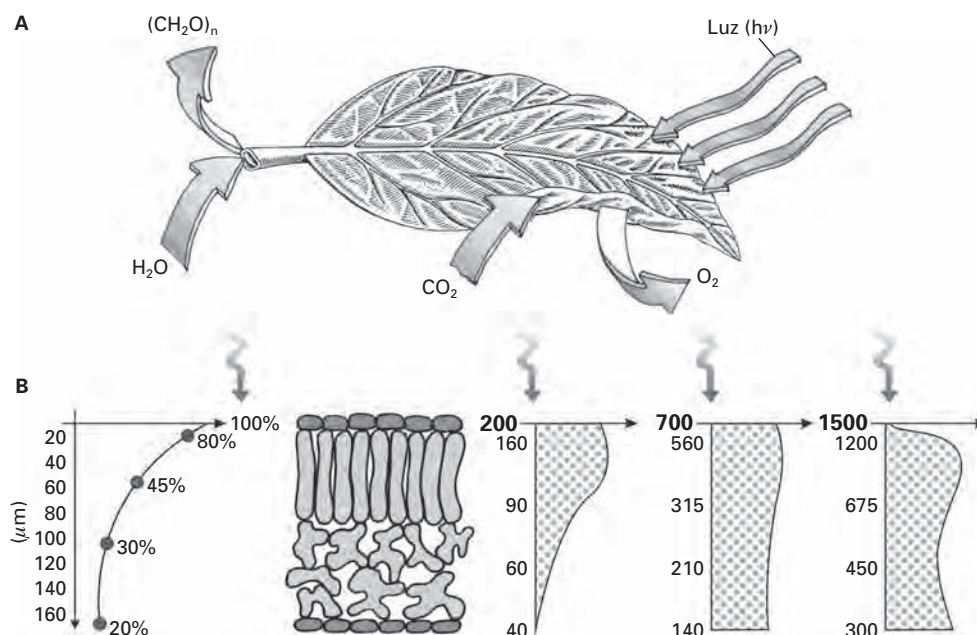


Figura 9-7. A. Dibujo de una hoja con los compuestos que intervienen en la reacción global fotosintética. Dos gases (CO_2 y O_2) intercambiados con la atmósfera; el producto final, azúcar $[(\text{CH}_2\text{O})_n]$; y el sustrato primero, (H_2O) tomada por las raíces. B. Penetración de luz incidente en una hoja. La sección media de la hoja ($160 \mu\text{m}$ desde el haz al envés) se relaciona con el gradiente de penetración de luz calculado para tres densidades de flujo fotónico fotosintético (PAR): 200, 700 y 1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. El gradiente es dependiente de la estructura tisular a lo largo de la sección de la hoja y de la longitud de onda de la luz.

muestra la penetración de la luz incidente en una hoja. La sección media de la hoja (unos $160 \mu\text{m}$ desde el haz al envés) se relaciona con el gradiente de penetración de la luz calculado para tres intensidades de luz blanca (radiación PAR) incidente: 200, 700 y 1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. El gradiente es dependiente de la estructura tisular de la sección de la hoja. Primero están las células del mesófilo en empalizada, cercanas al haz, alargadas, compactadas y con una gran densidad de cloroplastos. Luego, las células del mesófilo lagunar, cercanas al envés, que son irregulares y dejan muchos huecos o espacios llamados cámaras subestomáticas, esenciales para el intercambio gaseoso regulado por los estomas (véase el Capítulo 3). A este segundo tipo tisular le llega menos luz y, por ello, tiene menor densidad de orgánulos fotosintéticos.

3.2. Los cloroplastos son orgánulos subcelulares en los que se encuentra todo el aparato biomolecular fotosintético

Para estudiar y entender propiamente la fisiología o funcionamiento del **aparato fotosintético** vegetal es necesario, en primer lugar, localizar y caracterizar estructuralmente dicho aparato. Ya hemos dicho que, a nivel macroscópico, al observar cualquier vegetal se distinguen las hojas como órgano especializado en la fotosíntesis. Las hojas están constituidas esencialmente por tejidos fotosintéticos, es decir, por células que tienen en su interior la maquinaria

necesaria para la fotosíntesis. A nivel celular, esta maquinaria se localiza específica y exclusivamente en unos orgánulos subcelulares llamados **cloroplastos**. Estos orgánulos son el elemento común presente en todas las células fotosintéticas eucariotas, desde las plantas superiores hasta las algas pluricelulares y unicelulares. Los cloroplastos son, por tanto, unos plastidios especializados en la función fotosintética en eucariotas.

3.3. Las biomembranas fotosintéticas son las membranas tilacoidales y están organizadas en lamelas apiladas, grana, y en lamelas no apiladas, estromáticas

Los cloroplastos son orgánulos separados del citosol celular por una doble membrana denominada envuelta o envoltura cloroplástica. La membrana externa es bastante permeable (debido a la presencia de la proteína porina) y rodea a la membrana interna, cuya permeabilidad es más selectiva. Esta última, a su vez, parece estar en conexión con un complejo sistema membranoso que constituye una parte esencial del interior cloroplástico. Las membranas del interior del cloroplasto son los **tilacoides o membranas tilacoidales** (del griego *thylakos*, saco) y forman un sistema intrincado de membranas que se pliegan dando dobles membranas a modo de láminas paralelas, más o menos separadas o apiladas. Los tilacoides plegados formando esas láminas paralelas de do-

bles membranas se denominan lamelas. Existen dos tipos de lamelas: las **lamelas grana**, que son apilamientos de numerosas láminas a modo de discos, y las **lamelas estromáticas**, que son láminas simples más extensas que interconectan con zonas de lamelas apiladas (Trissl, H. W. y Wilhelm, C. *Trends in Biochemical Sciences*, 18:415-419, 1993).

La Figura 9-8 muestra las distintas estructuras vegetales que contienen el aparato fotosintético desde lo macroscópico a lo microscópico, es decir, desde las hojas hasta los tilacoides, pasando por el tejido foliar y los cloroplastos. En la figura se indican las dimensiones de estas estructuras, cada vez más pequeñas. Las membranas tilacoidales son las biomembranas fotosintéticas, porque en ellas y en su entorno se incluye todo el aparato biomolecular necesario para llevar a cabo la primera fase de la fotosíntesis (véase el apartado 4.1).

3.4. Las membranas tilacoidales son bicapas lipídicas, formadas por glicerolípidos especiales, en donde se insertan las proteínas fotosintéticas

Los tilacoides están constituidos por **biomembranas**, es decir, bicapas lipídicas (véase el Capítulo 1). Gran parte de la función fotosintética realizada en los tilacoides sólo es posible precisamente por el hecho de que son biomembranas. Las membranas biológicas están constituidas por una doble capa de lípidos anfipáticos, es decir, lípidos que tienen una cabeza polar en contacto con el medio acuoso y una cola hidrófoba que se sitúa hacia el interior de la membrana, en contacto con la cola de la capa opuesta. Por estas características químicas, las membranas son **barreras semipermeables** entre espacios acuosos que compartimentan el medio interno celular, o lo separan del exterior (véase el Capítulo 1). Además, junto a los lípidos, los tilacoides contienen los complejos proteicos fotosintéticos, que están insertados transversalmente en las membranas lipídicas y son los que realizan propiamente las reacciones fotosintéticas. Con esta inserción, los complejos quedan en contacto con dos espacios acuosos diferentes. Además, las membranas son un fluido bidimensional en el que los complejos fotosintéticos pueden moverse o «nadar». Este **movimiento lateral** dentro de la matriz bidimensional de la membrana tilacoidal permite cambiar y regular la función de las proteínas fotosintéticas como respuesta a distintas situaciones metabólicas, pues con el movimiento, se pueden producir variaciones en las conexiones entre los distintos elementos.

La composición lipídica es determinante de la fluidez de la membrana y de la movilidad de las proteínas insertadas en ella. Los tilacoides son membranas constituidas por lípidos polares muy específicos, principalmente de tipo glicerolípidos: galactolípidos, sulfolípidos y fosfolípidos (Webb, M. S. y Green, B. R. *Biochimica et Biophysica Acta* 1060:133-158, 1991).

Los principales **galactolípidos** son el monogalactosil diacilglicerol (MGDG) y el digalactosil diacilglicerol (DGDG)

(Fig. 9-9). Estos galactolípidos constituyen el 80% de los glicerolípidos de la membrana tilacoidal, siendo el MGDG el predominante (un 50%). Una característica muy peculiar de estos galactolípidos es que tienen un alto contenido de **ácidos grasos poliinsaturados**, como el **ácido linolénico** (C18:3, Fig. 9-9), que, en algunas especies, alcanza el 95% de los ácidos grasos totales del cloroplasto. El alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados da una gran fluidez a la membrana tilacoidal. El **sulfolípido** más importante encontrado en tilacoides de plantas es el sulfoquinovosil diacilglicerol (SQDG), que constituye en torno a un 7% de todos los glicerolípidos que forman la bicapa. Este lípido, a pH fisiológico, está cargado negativamente en su grupo sulfónico. Los **fosfolípidos** son lípidos muy comunes y abundantes en muchos tipos de biomembranas; sin embargo, en el caso de los tilacoides, sólo representan un 7-10% del total. El más importante es el fosfatidil glicerol (PG), que tiene también carga negativa. El tipo de ácidos grasos que este lípido presenta en los tilacoides es muy distinto a su composición en otras membranas de células eucariotas; un ejemplo es el **ácido transhexadecenoico** (C16:1t). La sensibilidad al frío que presentan algunas plantas parece estar relacionada con la presencia de PG con ácidos grasos tipo C16:0 y C16:1t. Por otro lado, el PG parece ser necesario para que LHClI forme trímeros (véase el apartado 4.4). Otros fosfolípidos, como la fosfatidilcolina (PC), apenas se encuentran en los tilacoides, pero en cambio PC es el glicerolípidos más abundante (32%) en la membrana externa de la envuelta cloroplástica.

Junto a estos lípidos que forman la bicapa, en los tilacoides existen otros lípidos con funciones distintas, como son la pareja plastoquinona/plastoquinol, que son transportadores redox (véase el apartado 4.6), o el tocoferol, que es una molécula de tipo prenilquinona que tiene una función antioxidante (véase el Capítulo 29). También son lípidos los pigmentos fotosintéticos clorofilas y carotenoides, ya citados.

3.5. Los tilacoides separan dos espacios acuosos en el interior cloroplástico: el estroma y el lumen

Las lamelas grana y estromática, al estar formadas por dobles membranas tilacoidales plegadas, dejan un espacio acuoso en su interior denominado **lumen**, que queda separado del espacio acuoso interno general del cloroplasto, llamado estroma. El **estroma** es la matriz acuosa principal del cloroplasto, ocupa el mayor volumen y puede ser considerado análogo al citosol de una célula. En el estroma se localiza, en disolución, el aparato biomolecular que realiza la segunda fase de la fotosíntesis, incluida la vía principal de fijación del dióxido de carbono por el ciclo de Calvin (véase el Capítulo 11). El lumen es un espacio separado diferente, en el que la reacción más significativa es la fotólisis del agua, que produce oxígeno (como se explica en el Capítulo 10).

Los tilacoides son, por tanto, biomembranas que separan dos espacios con claras diferencias en cuanto a composición y función. Por otra parte, los tilacoides no son iguales u homogéneos en todo el cloroplasto, sino que son asimétricos, presentando internamente una **polaridad transversal** y una distribución zonal lateral. En los tilacoides, los lípidos de la bicapa exterior, hacia el estroma, no son iguales que los lípidos que se encuentran en la bicapa interior, orientados hacia el lumen. También las proteínas insertadas y que atraviesan de un lado a otro los tilacoides (llamadas proteínas intrínsecas de membrana o transmembrana) presentan una asimetría o polaridad transversal, con dos polos o lados funcionalmente distintos: un lado luminal y un lado estromático. En los tilacoides también se distinguen lateralmente zonas que, estructural y funcionalmente, tienen distintas propiedades. Estas zonas corresponden a las lamelas grana y estromática ya mencionadas (véanse las Figs. 9-8 y 9-10). Cuando las lamelas de los tilacoides se apilan formando las lamelas grana, dejan de estar en contacto con el estroma porque quedan pegadas. El apilamiento es un factor que cambia la topología de los tilacoides. En el Capítulo 10 se explica con más detalle la diferente composición de las proteínas de estas dos zonas tilacoidales, grana y estromática.

4. ELEMENTOS DEL APARATO FOTOSINTÉTICO EN LOS TILACOIDES

4.1. Insertados en las membranas tilacoidales se encuentran los cuatro complejos proteínicos que llevan a cabo la primera fase fotosintética

La primera fase de la fotosíntesis es una fase de conversión de energía que consta de una cadena redox de transferencia de electrones y la consecuente generación de un gradiente de concentración de protones. Para esta conversión energética, los tilacoides contienen los complejos proteínicos que llevan a cabo ese manejo de electrones y protones gracias a las biomoléculas cofactores con actividad redox y ácido-base que están engarzados en los polipéptidos de cada complejo.

Los complejos proteínicos incluidos en los tilacoides son cuatro y, por su complejidad estructural y funcional, así como por su gran tamaño molecular, se pueden denominar macrocomplejos. Los tres primeros están implicados en la transferencia electrónica a lo largo de la membrana y en la transferencia protónica a través de la membrana (del estroma al lumen). Para realizar dichas transferencias estos comple-

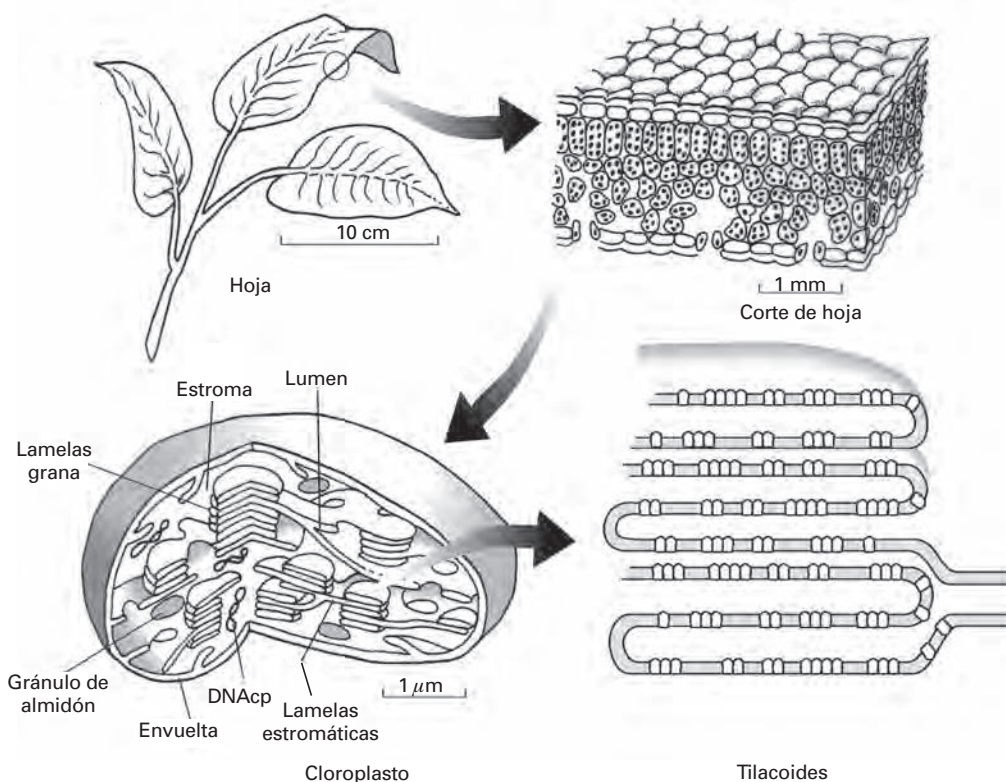


Figura 9-8. Estructuras vegetales que contienen el aparato fotosintético: hojas, tejido foliar (corte de hoja), cloroplasto y tilacoides. Se indican las dimensiones de las estructuras, que son cada vez más pequeñas.

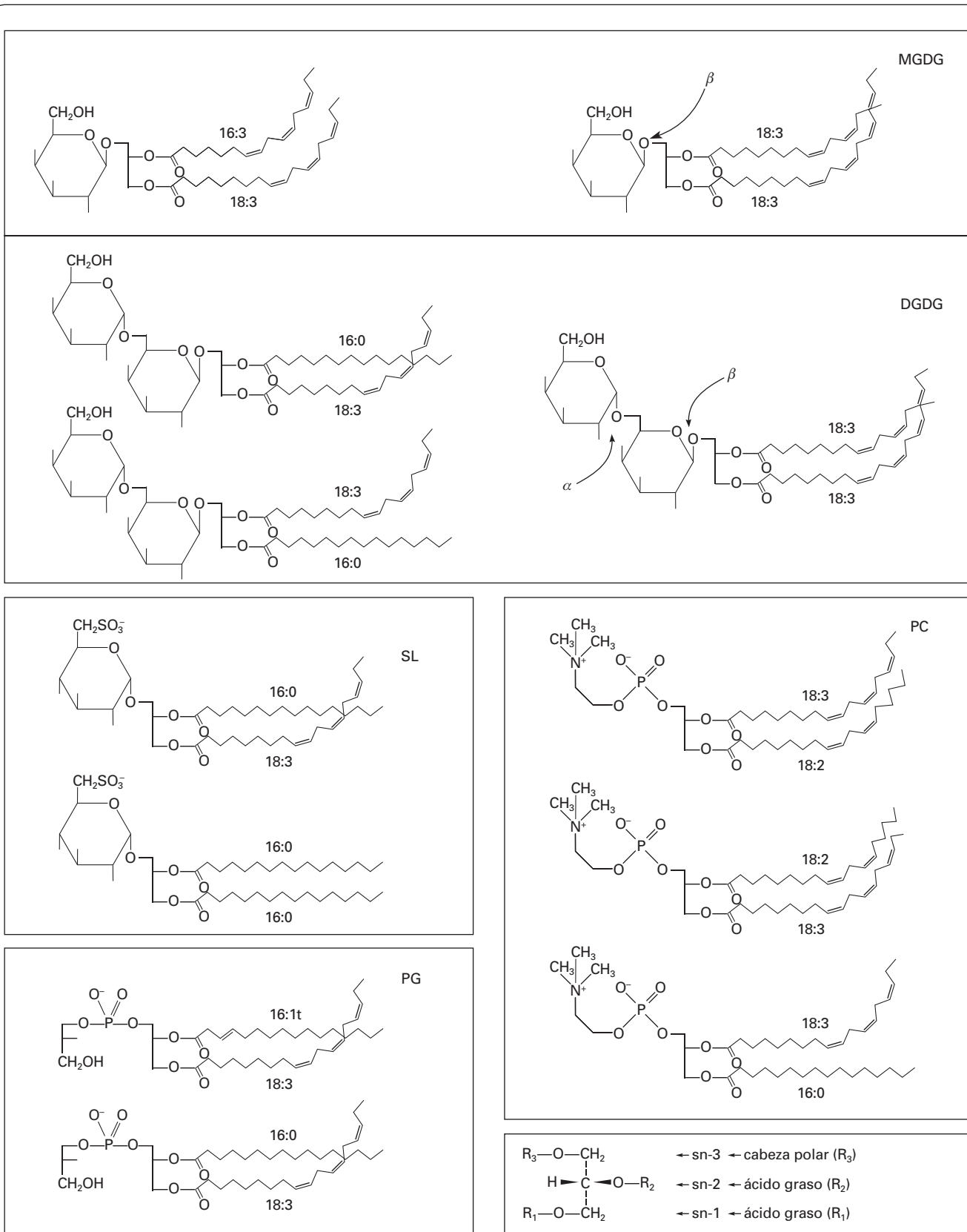


Figura 9-9. Estructura molecular de los principales tipos de glicerolípidos constitutivos de las membranas tilacoidales: galactolípidos: monogalactosil diacilglicerol (MGDG), digalactosil diacilglicerol (DGDG); sulfolípidos: sulfoquinovosil diacilglicerol (SQDG o SL); fosfolípidos: fosfatidilglicerol (PG) y fosfatidilcolina (PC).

jos contienen engarzadas en su esqueleto proteínico diversas moléculas, átomos o agrupaciones atómicas que tienen capacidad reductora-oxidativa y acidobásica reversible.

Dos de estos complejos son, además, **fotosistemas**, es decir, sistemas capaces de absorber y transformar la energía fotónica en energía electroquímica redox; y se denominan **fotosistema I** y **fotosistema II** (Nelson, N. y Yocum, C.F. *Annual Review of Plant Biology* 57:521-565, 2006). A cada uno de los fotosistemas se asocian de modo dinámico las antenas extrínsecas respectivas «*light harvesting complexes*»: LHCI, normalmente asociada al fotosistema I, y LHCII, normalmente asociada al fotosistema II; que son unidades funcional y estructuralmente separadas encargadas de la absorción de fotones y de la recolección-canalización hacia los fotosistemas (véase más adelante). El tercer complejo es un sistema conector entre los dos fotosistemas, llamado **complejo citocromo b₆f**.

Finalmente, existe un cuarto complejo proteínico, distinto de los otros porque no interviene en las transferencias citadas, sino que utiliza el gradiente de protones que los otros complejos han formado a través del tilacoide. Los protones, al fluir de vuelta del lumen al estroma a favor del gradiente, proporcionan una energía (**fuerza protón-motriz**) que el cuarto complejo utiliza para sintetizar ATP a partir de ADP y P_i. Este complejo es, por ello, una **ATP sintasa** (ATPasa).

El ATP es una biomolécula útil para multitud de trabajos metabólicos y celulares, es decir, se trata de un combustible bioquímico estable casi universal.

La Figura 9-10 muestra los cuatro complejos insertados en la membrana tilacooidal, indicando, de modo esquemático, las transferencias y el flujo de electrones y protones mencionados. Las membranas dibujadas corresponden a una sección que incluye parte de la lamela grana y parte de la lamela estromática.

Cada complejo fotosintético está codificado por una familia de genes específica denominada *psa* para el fotosistema I (excepto LHCI); *psb* para el fotosistema II (excepto LHCII); *pet* para el citocromo b₆f; *atp* para la ATPasa; *Lhca* para LHCI y *Lhcb* para LHCII. La primera letra se suele escribir en mayúscula si el gen está en el núcleo, y en minúscula si está en el cloroplasto. Cada gen concreto se designa con una letra mayúscula a continuación del nombre de la familia: *psaA*, *psaB*, etc. A los polipéptidos se les aplica esta nomenclatura quitando el tipo cursiva y con la primera letra en mayúscula: **PsaA**, **PsaB**, etc.

En la última década se ha avanzado mucho en el descubrimiento y la caracterización de cada uno de los componentes de estos complejos fotosintéticos. Para la identificación sistemática ha sido muy útil la secuenciación total del genoma completo de los cloroplastos (DNAcP) y del genoma nuclear

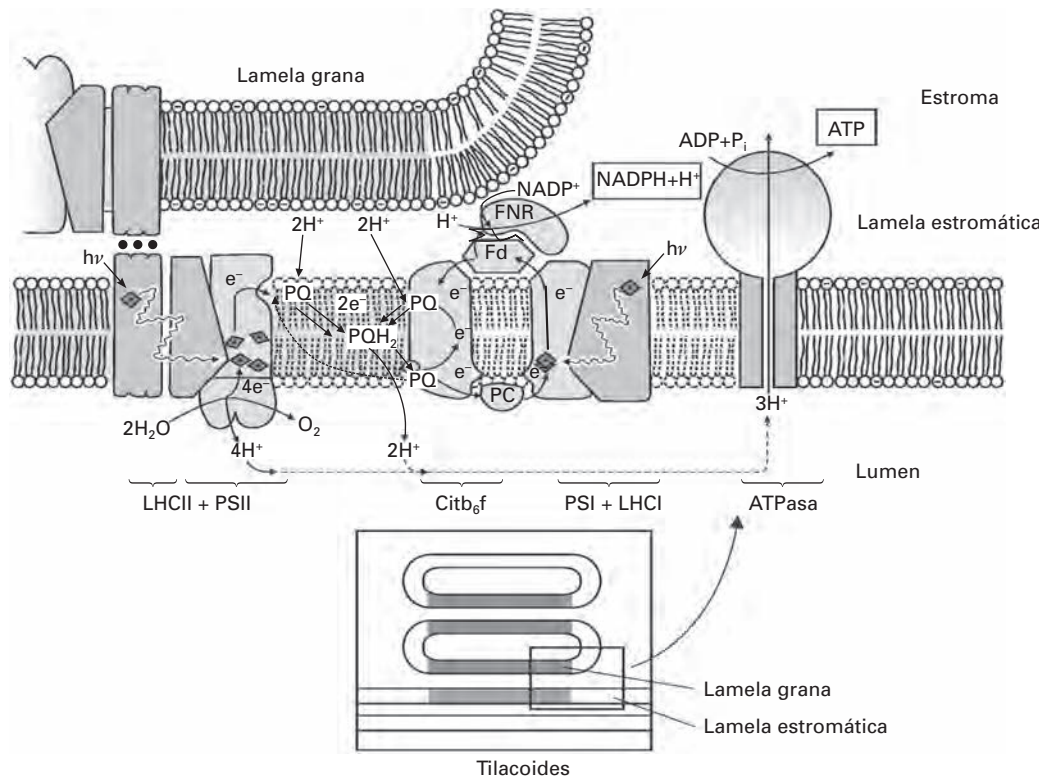


Figura 9-10. Cuatro complejos proteínicos enzimáticos insertados en la membrana tilacooidal. Se indican de modo esquemático las transferencias y el flujo de electrones y protones explicados en el texto. Las membranas dibujadas corresponden a una sección que incluye parte de lamela grana y parte de lamela estromática.

completo de algunas plantas, como *Arabidopsis thaliana* y *Oryza sativa* (arroz). A pesar de estos logros, la función de algunos de los polipéptidos es todavía desconocida, y también es probable que falten algunos por descubrir, especialmente si tienen peso molecular pequeño, ya que en ese caso pueden quedar fácilmente enmascarados.

4.2. El fotosistema II (PSII) es un complejo constituido por 17 polipéptidos, y en términos enzimáticos se conoce como agua-plastoquinona oxidoreductasa

El fotosistema II es un macrocomplejo que, por su actividad bioquímica, puede ser denominado agua-plastoquinona oxidoreductasa, ya que cataliza enzimáticamente la oxidación del agua y la reducción de la plastoquinona, de modo fotoinducido. Este fotosistema se encuentra en todos los organismos verdes autótrofos, tanto plantas superiores como algas verdes y cianobacterias. En él tienen lugar dos procesos de especial significación para el conjunto de la fotosíntesis: 1) la **primera separación de carga**, consecuencia de la transducción de energía luminosa en energía redox, es decir, la transformación del flujo fotónico en flujo electrónico (con esta primera separación de carga se inicia el transporte electrónico), y 2) la **hidrólisis del agua**, que da electrones y protones y también produce oxígeno molecular liberado a la atmósfera como producto residual de la reacción. Ambos procesos son esenciales para el desarrollo y el mantenimiento de la vida sobre el planeta porque, a través de ellos, se hace posible el aprovechamiento de la luz solar como fuente de energía, así como la existencia de una atmósfera rica en oxígeno molecular (O_2). El oxígeno es necesario para los procesos oxidativos, esencialmente para la respiración, que es la principal fuente de energía de los sistemas vivos heterótrofos (véase el Capítulo 14).

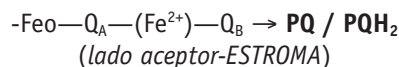
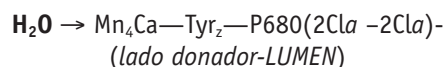
Desde el punto de vista estructural, el fotosistema II de las plantas está constituido por 17 polipéptidos principales, sin contar las antenas conectoras ni las antenas extrínsecas (LHCII) (Fig. 9-11). De ellos, 13 son proteínas intrínsecas de membrana. Las dos proteínas centrales que unen los principales cofactores implicados en las reacciones redox son las proteínas D1 y D2, cuyo tamaño es de 30-32 kDa. A ellas está íntimamente asociado un grupo de proteínas de pesos moleculares pequeños, entre 4 y 9 kDa, como por ejemplo la fosfoproteína PsbI, que une fosfato; y el citocromo b559, que tiene un grupo hemo redox y dos polipéptidos (PsbE y PsbF). Luego están las proteínas que unen específicamente clorofilas (llamadas clorofiloproteínas: CP), que constituyen la antena intrínseca del fotosistema II: CP47 y CP43 (el número que aparece tras CP indica el peso molecular aparente). Todas las proteínas citadas forman el «núcleo» (*core*) del centro de reacción del fotosistema, que tiene un tamaño de unos 6-8 nm (Fig. 9-11). La estructura tridimensional (3D) del fotosistema II de las cianobacterias ha sido recientemente determinada por difracción de rayos X y se puede consul-

tar en detalle en la base de datos de las estructuras de macromoléculas PDB (Protein Data Bank- <http://www.rcsb.org/pdb/>) en los archivos: 1S5L y 2AXT (Ferreira, K.N., y cols. *Science* 303:1831-1838, 2004; Loll, B. y cols. *Nature* 438: 1040-1044, 2005). El fotosistema II de las plantas se considera muy similar al de las cianobacterias, especialmente en toda su arquitectura de la región intrínseca de la membrana, que es la principal. Estructural y funcionalmente forma un dímero, que es la forma más estable y la que se considera activa formando un super complejo con su antena extrínseca LHCII en los grana tilacoidales.

Las mayores diferencias entre cianobacterias y plantas radican en las proteínas extrínsecas asociadas en la zona del lumen (De Las Rivas, J. y cols. *Trends in Plant Science* 9: 18-25, 2004). En las plantas, asociadas al fotosistema II por el lado del lumen, hay tres proteínas extrínsecas de membrana. Estas proteínas favorecen la función de fotólisis del agua y la producción de oxígeno, y se denominan proteínas extrínsecas estabilizadoras del desprendimiento de oxígeno (en inglés, OEEp). Tienen pesos moleculares de 33, 23 y 16 kDa y, por los genes que las codifican, se conocen como: PsbO, PsbP y PsbQ. Finalmente, también se ha identificado en el fotosistema II de las plantas la proteína PsbR, cuyo peso molecular es de 10 kDa y que tiene una parte integrada en la membrana y otra extrínseca.

Existen otras clorofiloproteínas más pequeñas (CP29, CP26, CP24 y CP22), implicadas en la interconexión del fotosistema II con su antena extrínseca LHCII (véase el apartado 4.4). La disposición y el número de estas CP varían según el estado funcional del fotosistema II y su unión a LHCII; sin embargo, la antena intrínseca (CP47 y CP43) y el resto de las proteínas centrales son constantes.

Los cofactores o grupos prostéticos implicados en la transferencia electrónica desde el agua a la plastoquinona en el fotosistema II son:



Todos estos elementos son agrupaciones atómicas o moleculares capaces de oxidarse y reducirse reversiblemente. Sus características químicas y su modo de funcionamiento en la transferencia electrónica fotosintética se explican en el Capítulo 10. Como grupos o cofactores prostéticos, están unidos a las dos proteínas centrales del fotosistema II, D1 y D2 (PsbA y PsbD). Los tipos de enlace en estas uniones son dispares, predominando las uniones no covalentes. Las proteínas D1 y D2 son estructuralmente gemelas, y cada una de ellas contiene una serie de cofactores que, por ello, están duplicados. Es decir, hay dos tirosinas, cuatro clorofilas, dos feofitinas y dos quinonas: 2Tyr(Z y D)-2Cl_a-2Cl_a-2Feo-2Q(A y B). La proteína D1 es la que une la serie de cofactores directamente implicados en la transferencia electrónica (Tyr_Z-Cl_a-Cl_a-Feo-Q_B), que forman así la llamada **rama activa**. Los

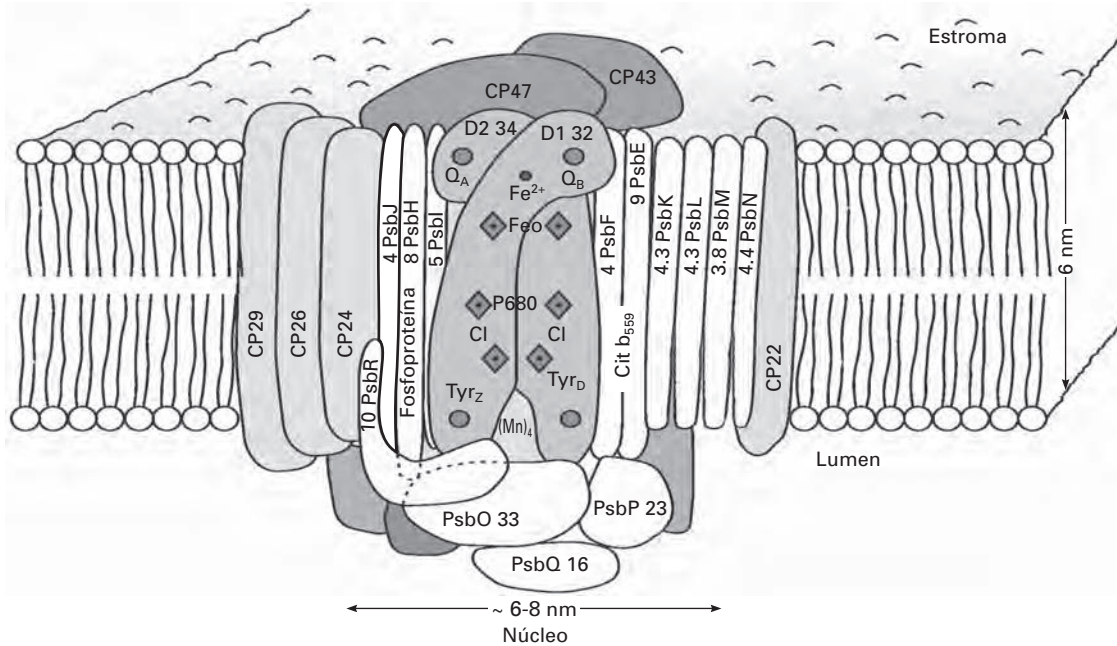


Figura 9-11. Dibujo esquemático del fotosistema II insertado en la membrana tilacoidal. Se incluyen los 17 polipéptidos principales que constituyen este macrocomplejo multienzimático en las plantas, indicándose sus pesos moleculares en kDa. Los polipéptidos centrales D1 y D2 unen los principales cofactores o grupos prostéticos implicados en los procesos foto-redox de transferencia de electrones. Aparecen sombreadas tanto las clorofiloproteínas de la antena intrínseca propia del fotosistema II (CP47, también llamada PsbB, y CP43, llamada PsbC), como las antenas conectoras (CP29, CP26, CP24 y CP22) que sirven de enlace con la antena extrínseca principal asociada al fotosistema II de plantas LHClI (que no se muestra en esta figura). La estructura tridimensional del fotosistema II de las cianobacterias ha sido recientemente determinada por difracción de rayos X. Para una visión detallada de este complejo multienzimático consúltese la base de datos de estructuras de macromoléculas PDB («Protein Data Bank», <http://www.rcsb.org/pdb/>), archivos: 1S5L (de 2004) y 2AXT (de 2005).

otros cofactores unidos a D2 (Tyr_D-Cl_A-Cl_B-Feo), a excepción de la Q_A, no intervienen en el flujo electrónico, sino dando protección y estabilidad al sistema; por ello, constituyen la **rama protectora**. El hierro no hemínico (Fe²⁺) es único y está entre las dos ramas, entre las dos quinonas en el lado donador, participando en el paso final de reducción y protonación que da lugar al plastoquinol PQH₂ que se libera como producto. De este modo, el dímero D1-D2 es un sistema estructuralmente duplicado pero funcionalmente asimétrico porque los electrones fluyen principalmente por un lado o rama del dímero. Además, cerca del tetrámero de clorofilas central (P680), a ambos lados, es decir, en cada rama, hay otra clorofila (llamada Chl_Z) y un β-caroteno, que por ello también están duplicados. Estos cofactores, que han sido ubicados recientemente en la estructura 3D (ver PDB 2AXT), ejercen asimismo importantes funciones protectoras.

4.3. El fotosistema I (PSI) es un complejo constituido por 13 polipéptidos, enzimáticamente llamado plastocianina-ferredoxina oxidoreductasa

El segundo fotosistema constituyente del aparato fotosintético vegetal es el fotosistema I. Por su función enzimática

puede ser denominado plastocianina-ferredoxina oxidoreductasa, ya que interviene en la parte final de la transferencia electrónica fotosintética tomando los electrones de la proteína del lumen **plastocianina** y cediéndolos a la proteína del estroma **ferredoxina**.

Estructuralmente, este fotosistema está constituido por dos proteínas centrales grandes, de un peso molecular de 83 kDa (PsaA) y 82 kDa (PsaB) (Fig. 9-12). Estas proteínas unen los principales cofactores redox implicados en la transferencia electrónica, y también un gran número de clorofilas que funcionan como antena intrínseca del fotosistema. De este modo, la arquitectura del núcleo central, PsaA-PsaB, es similar a la del fotosistema II considerando los polipéptidos PsbA-PsbB-PsbC-PsbD, y esto refleja un diseño común para el núcleo funcional de ambos fotosistemas, que probablemente se corresponda con un origen evolutivo común. La estructura tridimensional del fotosistema I ha sido determinada por difracción de rayos X a alta resolución (2.5 Å) en el caso de las cianobacterias (Jordan, P. y cols. *Nature* 411:909-917, 2001) y a menor resolución (4.4 Å) en el caso de las plantas (Ben-Shem, A. y cols. *Nature* 426:630-635, 2003). Estas estructuras se pueden consultar en detalle en la base de datos PDB, en los archivos 1JB0 y 1QZV, respectivamente. Estructuralmente, el fotosistema I de las cianobacterias forma un trímero, pero el de las plantas es monomérico

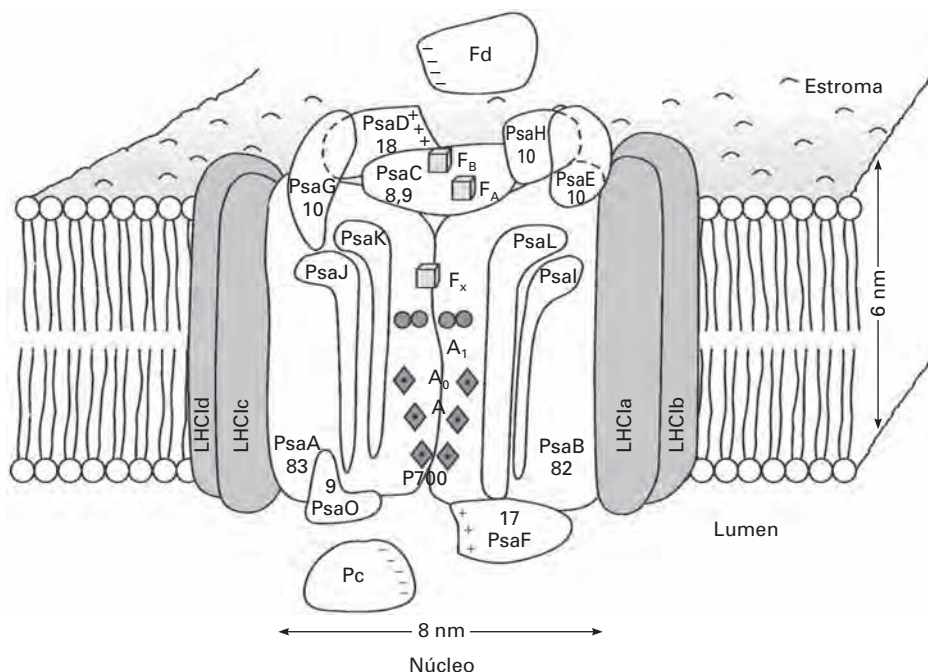


Figura 9-12. Dibujo esquemático del fotosistema I con las antenas LHCI insertadas en la membrana tilacoidal. En el fotosistema se incluyen los 13 polipéptidos principales que constituyen este macrocomplejo multienzimático, indicándose sus pesos moleculares en kDa. Los polipéptidos centrales son PsaA, PsaB y PsaC, que unen los principales cofactores implicados en el proceso de transferencia de electrones. Sombreadas aparecen las clorofiloproteínas correspondientes a las antenas extrínsecas LHCIa-d, normalmente asociadas al fotosistema I. También se representan las dos proteínas que dan y reciben electrones de este fotosistema: plastocianina (Pc, donadora en el lumen) y ferredoxina (Fd, receptora en el estroma). La estructura tridimensional del fotosistema I ha sido determinada a resolución 2.5 Å y de plantas a 4.4 Å. Para una visión detallada de este complejo multienzimático consúltese de cianobacterias PDB (<http://www.rcsb.org/pdb/>), archivos: 1JB0 (de 2001) y 1QZV (de 2003).

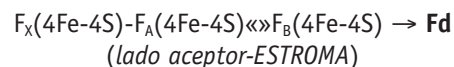
y está íntimamente asociado con su antena extrínseca LHCI, formando un supercomplejo que sobre todo se localiza en las lamela estromáticas de los tilacoidales.

En el lado estromático, integrada con PsaA y PsaB, hay otra proteína pequeña, PsaC (8.9 kDa), que liga los dos últimos cofactores redox sulfoferro (Fe_4S_4) del fotosistema. Asociados a estas proteínas centrales están algunos polipéptidos transmembrana de pequeño tamaño: PsaI (4.6 kDa), PsaJ (3.3 kDa), PsaK (5.6 kDa) y PsaL (15.4 kDa). También asociados al dímero central PsaA-PsaB tanto por el lumen como por el estroma, se encuentran otros polipéptidos que posibilitan la interacción (o *docking*) y la transferencia redox de la plastocianina y la ferredoxina con el fotosistema I. Estos polipéptidos son, en el estroma, PsaD (17.9 kDa), PsaE (9.7 kDa), PsaG (10.8 kDa) y PsaH (10.2 kDa), y en el lumen, PsaF (17.3 kDa) y PsaO (9.0 kDa) (véase la Fig. 9-12). PsaG y PsaO no son totalmente extrínsecos, porque tienen un dominio transmembrana. Los polipéptidos PsaG y PsaH del estroma sólo se encuentran en el fotosistema I de las plantas, pero no en el de las cianobacterias. En el lado del lumen, PsaF tiene también una hélice transmembrana y es la subunidad polipeptídica principalmente implicada en el *docking* y unión electrostática con la proteína donadora del fotosistema I, plastocianina. En el lado del estroma, PsaD es la subunidad principalmente implicada en el *docking* y la

unión con la proteína aceptora de electrones, ferredoxina. Estas dos subunidades tienen regiones propias de las plantas que no se encuentran en las cianobacterias.

La antena o complejo de clorofiloproteínas colectoras de luz asociado al fotosistema I se denomina LHCI. Su estructura se describe en el apartado 4.4.

Los cofactores o grupos prostéticos implicados en la transferencia electrónica desde plastocianina (Pc) a la ferredoxina (Fd) dentro del fotosistema I son:



Todos estos grupos prostéticos están unidos a las proteínas centrales del fotosistema I, PsaA y PsaB, y a la pequeña proteína extrínseca PsaC. Al igual que en el fotosistema II, las dos proteínas centrales son estructuralmente gemelas, y en ellas algunos cofactores están también duplicados. Así, hay dos clorofilas accesorias (Cl_{acc} y $\text{Cl}_{\text{acc}'}$), dos A_1 (A_1 y A_1') y dos A_0 (A_0 y A_0'). El flujo electrónico es asimétrico y sólo se produce a través de una de las ramas: $\text{Cl}_{\text{acc}} - \text{A}_0 - \text{A}_1$.

4.4. Los complejos antena LHCI y LHCII son sistemas colectores de luz

Asociadas a cada fotosistema están las **antenas periféricas o extrínsecas**, llamadas **LHC** (del inglés *light harvesting complexes*: complejos cosechadores de luz) I y II. Estas antenas complementan la función de captación y absorción de luz que también tienen las antenas intrínsecas de cada fotosistema ya citadas.

Las LHC contienen una variedad relativamente alta de polipéptidos que se pueden asociar de manera diversa según el estado funcional. Por ello, hay varios tipos de LHCI y de LHCII que se combinan y ensamblan de modo múltiple. La LHCI está constituida por polipéptidos de cuatro tipos: Lhca1, Lhca2, Lhca3 y Lhca4, con pesos moleculares de entre 22 y 25 kDa. Normalmente, estos polipéptidos Lhca forman dímeros. La LHCII está constituida por polipéptidos de tres tipos: Lhcb1, Lhcb2 y Lhcb3, con pesos moleculares de entre 25 y 28 kDa. Los Lhcb forman normalmente trímeros. Todos estos polipéptidos están codificados por genes nucleares.

Generalmente, el complejo antena LHCI está asociado al fotosistema I. La posición y las asociaciones tridimensionales precisas de los distintos tipos de Lhca con el fotosistema I se han determinado recientemente, ya que LHCI se ha cristalizado conjuntamente con el fotosistema I en la estructura mencionada del PDB, archivo 1QZV, la cual corresponde al supercomplejo PSI-LHCI del guisante (*Pisum sativum*) (Ben-Shem, A. y cols. *Nature* 426:630-635, 2003). En esta estructura las cuatro proteínas antena Lhca forman dímeros y se unen al fotosistema I formando como una media luna en disposición Lhca1-Lhca4-Lhca2-Lhca3, que rodea uno de los lados del fotosistema.

El complejo antena LHCII es de composición más variable y se puede mover por dentro de los tilacoides independientemente del fotosistema II, sufriendo redistribuciones como respuesta a los estímulos ambientales. En general, forma trímeros constituidos por los polipéptidos Lhcb1 y Lhcb2. El polipéptido Lhcb3 cumple principalmente el papel de interconexión entre los trímeros móviles de la antena extrínseca, y también contribuye a la conexión con la antena intrínseca del fotosistema II, junto con CP29, CP26 y CP24. La estructura tridimensional detallada de la LHCII del guisante ha sido recientemente determinada a alta resolución (2.5 Å) y puede ser explorada en detalle en el PDB, archivo 2BHW (Standfuss, J. y cols. *EMBO Journal* 24:919-928, 2005).

Los principales pigmentos fotosintéticos asociados a estos complejos de antena son las clorofilas (clorofila *a* y clorofila *b*) que se encuentran engarzadas en la matriz polipeptídica de las LHC. Estos polipéptidos también unen pigmentos carotenoides y glicerolípidos. El trímero de LHCII, según la estructura determinada para el guisante, une un total de 24 clorofilas *a*, 18 clorofilas *b*, 6 luteínas, 3 neoxantinas, 3 violaxantinas/zeaxantinas, 3 DGDG (digalactosil diacilglicerol) y 3 PG (1,2-dipalmitoil fosfatidilglicerol). Estos números divididos por 3 corresponden a la cantidad presente en cada monómero de LHCII. La cadena polipeptídica de cada Lhcb tiene tres α -hélices transmembrana largas principales, dos

con 32 residuos y otra con 21 residuos, que unen en el centro las clorofilas *a* y, más periféricamente, las clorofilas *b*. El número y el tipo de pigmentos y lípidos asociados a la LHCI de las plantas se conoce con menos precisión por la resolución todavía baja de su estructura (4.4 Å), de modo que sólo se han asignado las clorofilas.

Se puede hacer un cálculo aproximado del tamaño de las antenas completas de los dos fotosistemas en las plantas. El número de clorofilas asociadas a cada conjunto LHCI incluido en un supercomplejo PSI-LHCI es de 74 clorofilas, a las que se añaden 93 clorofilas como antena intrínseca del PSI, dando un total de 167 clorofilas en el supercomplejo (mayoritariamente, clorofilas de tipo *a*). El número de clorofilas asociadas a cada dos trímeros LHCII incluidos en un supercomplejo PSII-LHCII es de 48 clorofilas *a* y 36 clorofilas *b*, a las que se añaden 72 clorofilas *a* del dímero de PSII como antena intrínseca (según los datos correspondientes a las cianobacterias), dando un total de 156 clorofilas.

Existe una diferencia funcional importante entre LHCI y LHCII respecto a los fotosistemas. LHCI es una antena extrínseca que habitualmente está asociada al fotosistema I (Figs. 9-10 y 9-12) formando el supercomplejo PSI-LHCI. Sin embargo, LHCII es una antena extrínseca asociada al fotosistema II, formando el supercomplejo dimérico PSII-LHCII en el estado activo PSII _{α} en los grana; pero cuando se producen las transiciones de fase y el fotosistema II pasa a su estado PSII _{β} , la antena LHCII se desconecta del PSII. El reciente trabajo estructural sobre las LHCII ha ayudado mucho a entender cuáles son los mecanismos moleculares de la acción recolectora de luz en estas antenas fotosintéticas, y también su importante papel en la disipación de la energía luminosa sobrante y en la fotoprotección. Todos estos aspectos se desarrollan en el Capítulo 10.

4.5. El complejo citocromo b_6f hace de puente entre los dos fotosistemas y regula su interconexión

El tercer complejo implicado en la transferencia electrónica fotosintética en los tilacoides es el **complejo citocromo b_6f** . Su principal función es conectar los dos fotosistemas, oxidando el plastoquinol (PQH₂) producido en el fotosistema II y reduciendo la plastocianina (Pc), que se oxidará en el fotosistema I. Este complejo no es exclusivamente fotosintético, ya que es análogo a la ubiquinol-citocromo *c* reductasa de la membrana respiratoria de mitocondrias y bacterias (véase el Capítulo 14). De hecho, las bacterias fototróficas purpúreas utilizan esta última proteína tanto para la respiración como para la fotosíntesis, y lo mismo se ha observado en el citocromo b_6f de las cianobacterias, procariontes que realizan fotosíntesis oxigénica.

La Figura 9-13 muestra esquemáticamente cómo se empaquetan en la membrana tilacoidal los cuatro polipéptidos principales que componen el complejo citocromo b_6f y sus cofactores o grupos prostéticos. Estos componentes son cuatro: el citocromo *f* (de peso molecular 31.3 kDa), con un

grupo hemo tipo *c* localizado extrínsecamente en el lumen; el citocromo b_6 (23.7 kDa), con dos grupos hemo tipo *b* localizados dentro de la membrana; la proteína Rieske (18.8 kDa), que tiene un centro sulfoferro 2Fe-2S, y la subunidad IV (15.2 kDa), que interviene en la unión de las quinonas. La familia de genes que codifica estas proteínas abarca, en el orden antes citado: *petA*, *petB*, *petC* y *petD*. El gen de la proteína Rieske (*petC*) está en el genoma nuclear y el resto, en el DNA cloroplástico. Además, el complejo incluye otras cuatro subunidades pequeñas, de tamaño 25-35 residuos, codificadas por los genes: *petG*, *petM*, *petN* y *petL*. La estructura tridimensional detallada de este complejo, incluidos sus cofactores, ha sido obtenida en las cianobacterias (PDB archivo 1VF5) y se supone bastante homóloga al de las plantas (Kurusu G. y cols. *Science* 302:1009-1014, 2003). En las plantas también se ha descrito la presencia de otro polipéptido pequeño (4 kDa), llamado subunidad V, derivado del gen *petE*, cuya función no está claramente definida.

En la Figura 9-13 se muestran esquemáticamente las porciones de cada polipéptido que atraviesan la membrana tilacoide y la localización aproximada de los grupos prostéticos: 3 hemos, 1 sulfoferro y las zonas de unión de las 2 quinonas (Q_i y Q_o).

4.6. Entre los complejos de la cadena fotosintética hay una serie de conectores redox: plastoquinona, plastocianina, ferredoxina y FNR

Para lograr el flujo global de la cadena fotosintética, desde la oxidación del H_2O hasta la reducción de $NADP^+$, es necesaria la presencia de pequeñas moléculas móviles que interconecten los tres complejos fotosintéticos. Las biomoléculas intermedias encargadas de esta conexión redox son la plastoquinona (PQ) y tres proteínas pequeñas: plastocianina (Pc); ferredoxina (Fd) y ferredoxina- $NADP^+$ reductasa (FNR).

La **plastoquinona** (PQ) es una molécula de carácter anfipático, que tiene una cabeza polar de tipo cetobenceno, con dos grupos ceto en el anillo bencénico (quinona) capaces de reducirse para dar un difenol con dos grupos hidroxilo (hidroquinona). Esta molécula también tiene unida, como sustituyente del anillo, una cola no polar hidrocarburo $-[CH_2-CH=C(CH_3)-CH_2]_n-H$. Por su carácter anfipático (polar + no polar), la plastoquinona se mezcla y difunde bien en la fase lipídica de la membrana del tilacoide. El número de plastoquinonas por centro de reacción es más de uno; se calcula que existe un acervo (en inglés, *pool*) de plastoquinonas del orden de 10 por fotosistema II, que se va reduciendo y oxidando según el estado funcional del aparato fotosintético. Por su papel interconector, el *pool* de plastoquinonas ejerce una acción reguladora importante en el funcionamiento de la cadena de oxidorreducción fotosintética y es, en muchos casos, un punto de cruce de esta vía con otras vías redox.

La **plastocianina** (Pc) es una proteína oxidorreductasa pequeña, que se asocia de modo extrínseco a la membrana

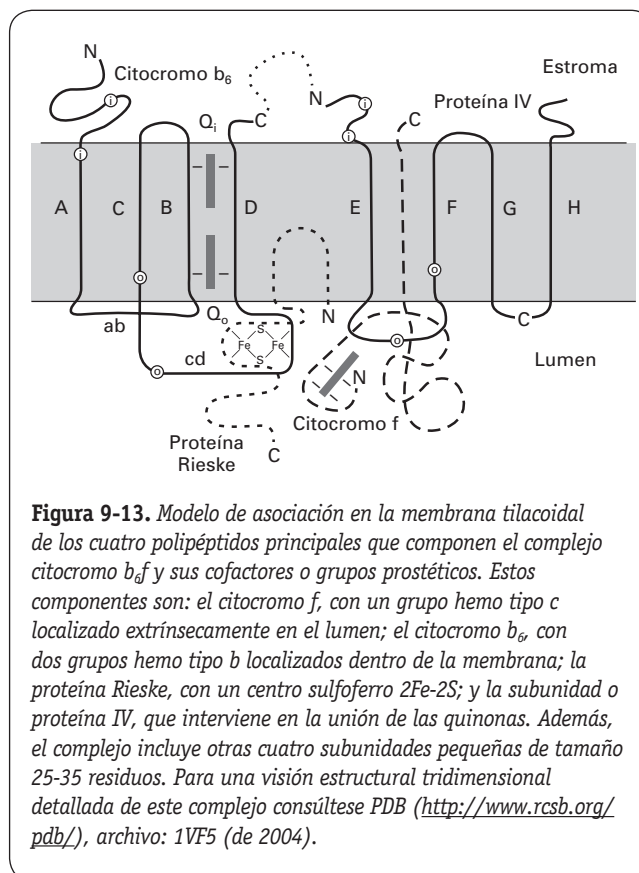


Figura 9-13. Modelo de asociación en la membrana tilacoide de los cuatro polipéptidos principales que componen el complejo citocromo b_6/f y sus cofactores o grupos prostéticos. Estos componentes son: el citocromo *f*, con un grupo hemo tipo *c* localizado extrínsecamente en el lumen; el citocromo b_6 , con dos grupos hemo tipo *b* localizados dentro de la membrana; la proteína Rieske, con un centro sulfoferro 2Fe-2S; y la subunidad o proteína IV, que interviene en la unión de las quinonas. Además, el complejo incluye otras cuatro subunidades pequeñas de tamaño 25-35 residuos. Para una visión estructural tridimensional detallada de este complejo consúltese PDB (<http://www.rcsb.org/pdb/>), archivo: 1VF5 (de 2004).

tilacoide en el lado del lumen y hace de puente redox entre el complejo citocromo b_6/f y el fotosistema I. Es una proteína soluble en agua, de peso molecular 10 kDa, que funciona como un transportador electrónico móvil tomando un electrón del citocromo *f*, que la reduce, y dándolo al P700 del fotosistema I, que la oxida. El grupo prostético reactivo de la plastocianina es un átomo de cobre (Cu) ligado a 4 residuos aminoacídicos (dos histidinas H, una cisteína C y una metionina M), en una geometría casi tetraédrica. Debido a su unión al cobre, la proteína tiene un color azul. La estructura tridimensional de esta proteína se puede consultar en PDB, archivo 1AG6, que corresponde a la plastocianina de espinaca a resolución 1.7 Å.

La **ferredoxina** (Fd) es otra proteína oxidorreductasa pequeña, de peso molecular 11 kDa, que contiene un centro sulfoferro de bajo potencial tipo $[2Fe-2S]$ y actúa como aceptor de los electrones del fotosistema I en el lado estromático de la membrana tilacoide. El centro sulfoferro está constituido por 2 átomos de hierro coordinados, cada uno con 4 azufres: 2 átomos de azufre inorgánico centrales compartidos y otros 2 azufres dados por radicales cisteína a cada hierro. De este modo, cada átomo de hierro presenta una geometría tetraédrica. La ferredoxina, igual que la plastocianina, es una proteína extrínseca de membrana, soluble en agua y, por ello, móvil, capaz de transportar electrones entre dos sistemas redox. La principal función de la ferredoxina dentro de la cadena electrónica fotosintética consiste en interco-

nectar el fotosistema I con la enzima final que reduce el NADP^+ , llamada ferredoxina- NADP^+ oxidoreductasa (FNR). La ferredoxina no tiene como única función reducir la FNR, sino que es una proteína redox multifuncional, involucrada en la reducción de una serie de enzimas solubles presentes en el estroma cloroplástico, llamadas enzimas dependientes de ferredoxina. Estas enzimas son la citada FNR; la ferredoxina-nitrito oxidoreductasa, o nitrito reductasa (implicada en el metabolismo del nitrógeno), la glutamina α -cetoglutarato aminotransferasa, o glutamato sintasa (implicada también en el metabolismo del nitrógeno) y la ferredoxina-tiorredoxina oxidoreductasa, o tiorredoxina reductasa (implicada en el metabolismo del azufre) (véase el Capítulo 15). La estructura tridimensional de la ferredoxina de espinaca a resolución 1.7 Å se puede consultar en PDB, archivo 1A70.

La **ferredoxina- NADP^+ reductasa (FNR)** es la última proteína implicada en el flujo fotosintético electrónico lineal al reducir NADP^+ para dar NADPH . Para esta reducción son necesarios 2 electrones y 1 protón; por ello, la FNR debe interactuar con 2 ferredoxinas reducidas, cada una de las cuales le cede un electrón. El H^+ es tomado del medio acuoso estromático, produciéndose un aumento del pH que contribuye a incrementar la diferencia de pH transtilacoide (ΔpH). La FNR de 35 kDa de peso molecular tiene como único grupo prostético una molécula de FAD ligada de modo no covalente. En la FNR de las cianobacterias se ha distinguido un dominio especial de unos 85 aminoácidos, localizado hacia el extremo amino, implicado en el anclaje de la proteína a la membrana. Este dominio parece no estar presente en la FNR de las plantas. La estructura tridimensional de la FNR del guisante a resolución 2.5 Å es un dímero de 2 cadenas polipeptídicas idénticas que unen 2 FAD. Se puede consultar en PDB, archivo 1QG0.

4.7. La ATP sintasa es un complejo enzimático con una parte en el tilacoide y otra en el estroma

La síntesis fotoinducida del ATP se produce tras el flujo redox fotosintético y es catalizada por el complejo enzimático **ATP sintasa** (o, simplemente, ATPasa). Su función se conoce con bastante detalle por ser una enzima homóloga de la ATP sintasa mitocondrial asociada a la cadena respiratoria, que ha sido muy estudiada (véase el Capítulo 14). La estructura tridimensional de la ATPasa de espinaca se ha resuelto, en parte, en su dominio CF_1 a resolución 3.2 Å (véase PDB, archivo 1FX0), basándose en los datos estructurales de la homóloga ATPasa mitocondrial, que se conoce mejor.

El mecanismo que mueve y posibilita la catálisis de la ATPasa es el gradiente de protones transversal originado por el flujo electrónico en el tilacoide (véase el Capítulo 10). En la Figura 9-14 se muestra un esquema estructural de la ATP sintasa cloroplástica, que consta de dos partes o dominios diferenciados: un dominio extrínseco ubicado en el estroma, llamado CF_1 , y otro dominio intrínseco insertado en la mem-

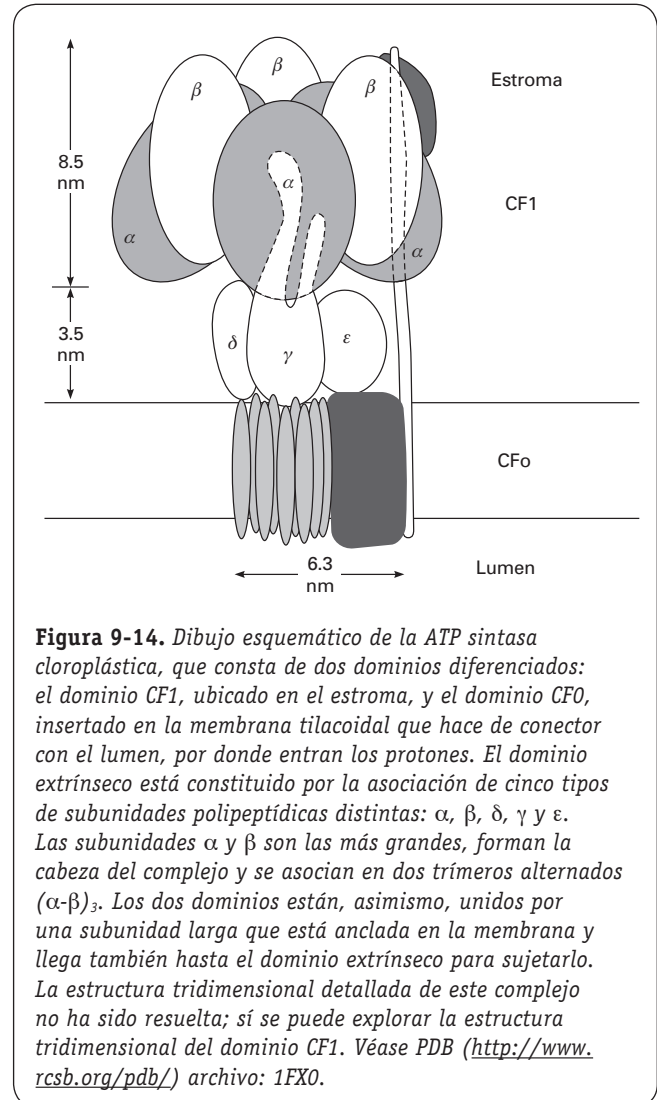


Figura 9-14. Dibujo esquemático de la ATP sintasa cloroplástica, que consta de dos dominios diferenciados: el dominio CF_1 , ubicado en el estroma, y el dominio CF_0 , insertado en la membrana tilacoide que hace de conector con el lumen, por donde entran los protones. El dominio extrínseco está constituido por la asociación de cinco tipos de subunidades polipeptídicas distintas: α , β , γ , δ y ϵ . Las subunidades α y β son las más grandes, forman la cabeza del complejo y se asocian en dos trímeros alternados $(\alpha\text{-}\beta)_3$. Los dos dominios están, asimismo, unidos por una subunidad larga que está anclada en la membrana y llega también hasta el dominio extrínseco para sujetarlo. La estructura tridimensional detallada de este complejo no ha sido resuelta; si se puede explorar la estructura tridimensional del dominio CF_1 . Véase PDB (<http://www.rcsb.org/pdb/>) archivo: 1FX0.

brana tilacoide, llamado CF_0 , que hace de conector con el lumen y por el cual entran los protones. El dominio extrínseco está constituido por la asociación de cinco tipos de subunidades polipeptídicas distintas: α , β , γ , δ , ϵ . Las subunidades α y β son las más grandes; forman la cabeza del complejo y se asocian en dos trímeros alternados $(\alpha\text{-}\beta)_3$. A ellas se unen los cofactores ADP y P_i , necesarios para formar el ATP. Las subunidades γ , δ y ϵ sirven de conexión con el dominio CF_0 . Este dominio intrínseco está constituido por cuatro tipos de subunidades polipeptídicas: I, II, III y IV, y actúa como un canal que permite el paso o flujo regulado de los protones, moviéndose a modo de rotor por la acción de ese flujo. Este giro o rotación es transmitido al dominio estromático para inducir cambios de conformación en la cabeza de la ATP sintasa que posibilitan la catálisis enzimática. La familia de los genes que codifican las 9 subunidades polipeptídicas mencionadas de la ATP sintasa (5 de CF_1 y 4 de CF_0) se denomina *atp*, y comprende 9 genes: *atpA*, *B*, *C*, *D*, *E*, *F*, *G*, *H* e *I*. Los genes *atpC*, *atpD* y *atpG* y *atpG* son codificados por el genoma nuclear celular, y el resto por el DNA del cloroplasto.

5. GENÉTICA Y ORIGEN DEL APARATO FOTOSINTÉTICO VEGETAL

5.1. Los complejos proteínicos del tilacoide están codificados por el DNA cloroplástico y por el DNA nuclear de las células vegetales

Los polipéptidos que integran los complejos proteínicos del tilacoide están codificados por dos genomas distintos: el DNA presente en el estroma del cloroplasto, llamado DNA cloroplástico (DNAcp), y el DNA nuclear de cada célula vegetal. En la Figura 9-15 se muestra, para cada uno de los cuatro complejos fotosintéticos (PSII, citocromo b_6f , PSI y ATPasa), qué polipéptidos están codificados por el genoma nuclear y cuáles por el genoma cloroplástico.

Los polipéptidos nucleares se traducen en el citosol mediante la acción de los ribosomas celulares, de tamaño 80S. Tras la traducción, estos polipéptidos son importados al cloroplasto y procesados para poder ser ensamblados. El procesamiento está relacionado con el corte de una secuencia señal de transporte al cloroplasto (de entre 30 y 80 aminoácidos) que estos polipéptidos llevan. Para el caso de los polipéptidos cloroplásticos, la traducción se realiza en el estroma mediante la acción de los ribosomas del cloroplasto, de tamaño 70S. Es significativo que todos los complejos tengan algunos polipéptidos codificados en el núcleo y otros en el cloroplasto. El fotosistema I es el único que tiene más polipéptidos codificados por el DNA nuclear que por el DNA cloroplástico. El complejo citocromo b_6f tan sólo tiene un gen nuclear. Esta mezcla de genes de dos procedencias para la formación de un determinado complejo multipolipeptídico hace que la expresión de estos genes deba estar muy bien regulada y

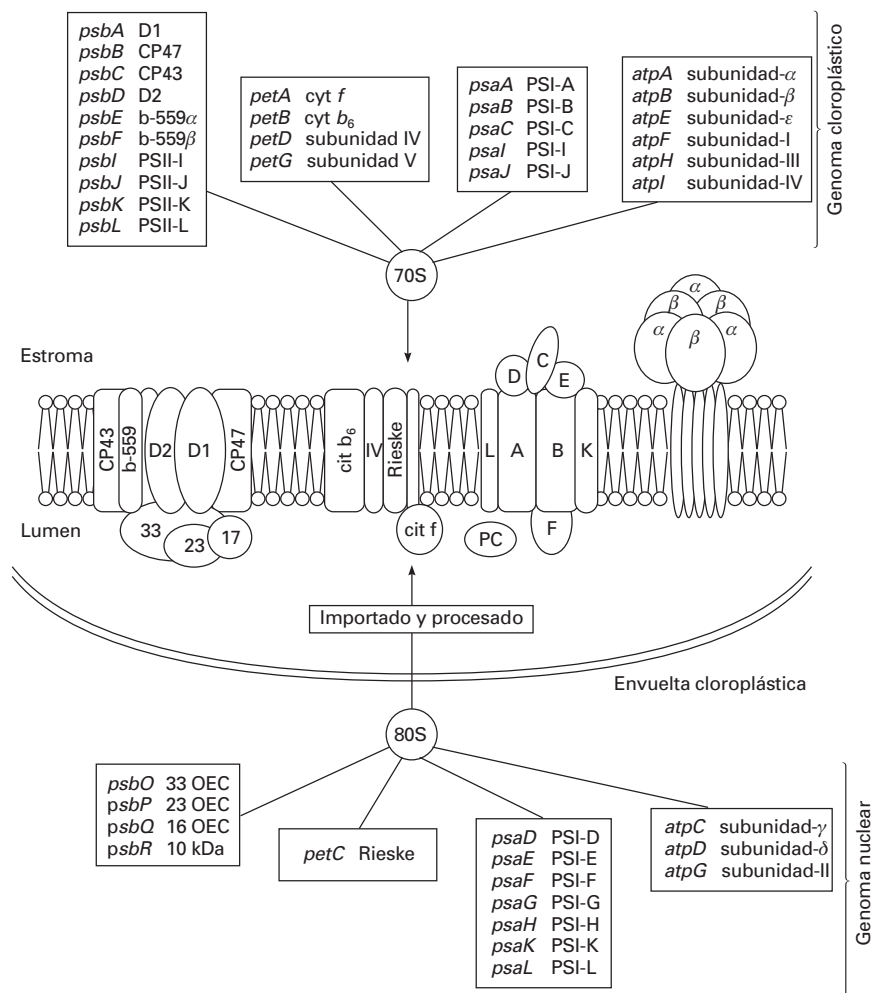


Figura 9-15. Esquema que sitúa los polipéptidos principales que integran los cuatro complejos fotosintéticos del tilacoide (PSII, Cit b_6f , PSI y ATPasa) según estén codificados por el genoma cloroplástico (DNAcp), o por el genoma nuclear de cada célula vegetal. La traducción del genoma nuclear tiene lugar en el citosol, y está mediada por los ribosomas tipo 80S; la traducción del genoma cloroplástico tiene lugar en el estroma del cloroplasto, y está mediada por los ribosomas 70S.

coordinada, para evitar retrasos o la falta de algún elemento polipeptídico que pudieran provocar errores en el ensamblaje de los complejos.

El **DNA cloroplástico** (DNAcp) es un DNA circular que tiene un tamaño de entre 130 000 y 160 000 pares de bases y que, por estas características, se asemeja a un DNA bacteriano (De Las Rivas, J. y cols. *Genome Research* 12:567-583, 2002). En la Figura 9-16 se muestra un mapa del DNAcp del arroz (*Oryza sativa*). En este DNAcp de doble hebra, unos genes están codificados en la hebra A, leída en sentido contrario a las agujas del reloj (estos genes se anotan en la Figura

9-16 fuera del círculo); otros genes están codificados en la hebra B, leída en el sentido de las agujas del reloj (estos genes se anotan dentro del círculo). Además, en el DNAcp se distinguen dos regiones: una más larga, que codifica genes no repetidos (genes de copia simple) y consta de dos fragmentos (LSC y SSC: *large single copy region* y *small single copy region*, respectivamente), y otra región que está duplicada (genes de copia duplicada) (IR_A e IR_B). Las metodologías para la transformación y la mutación génicas en el DNA de cloroplastos se han desarrollado mucho en los últimos años y están permitiendo obtener numerosas plantas transgénicas

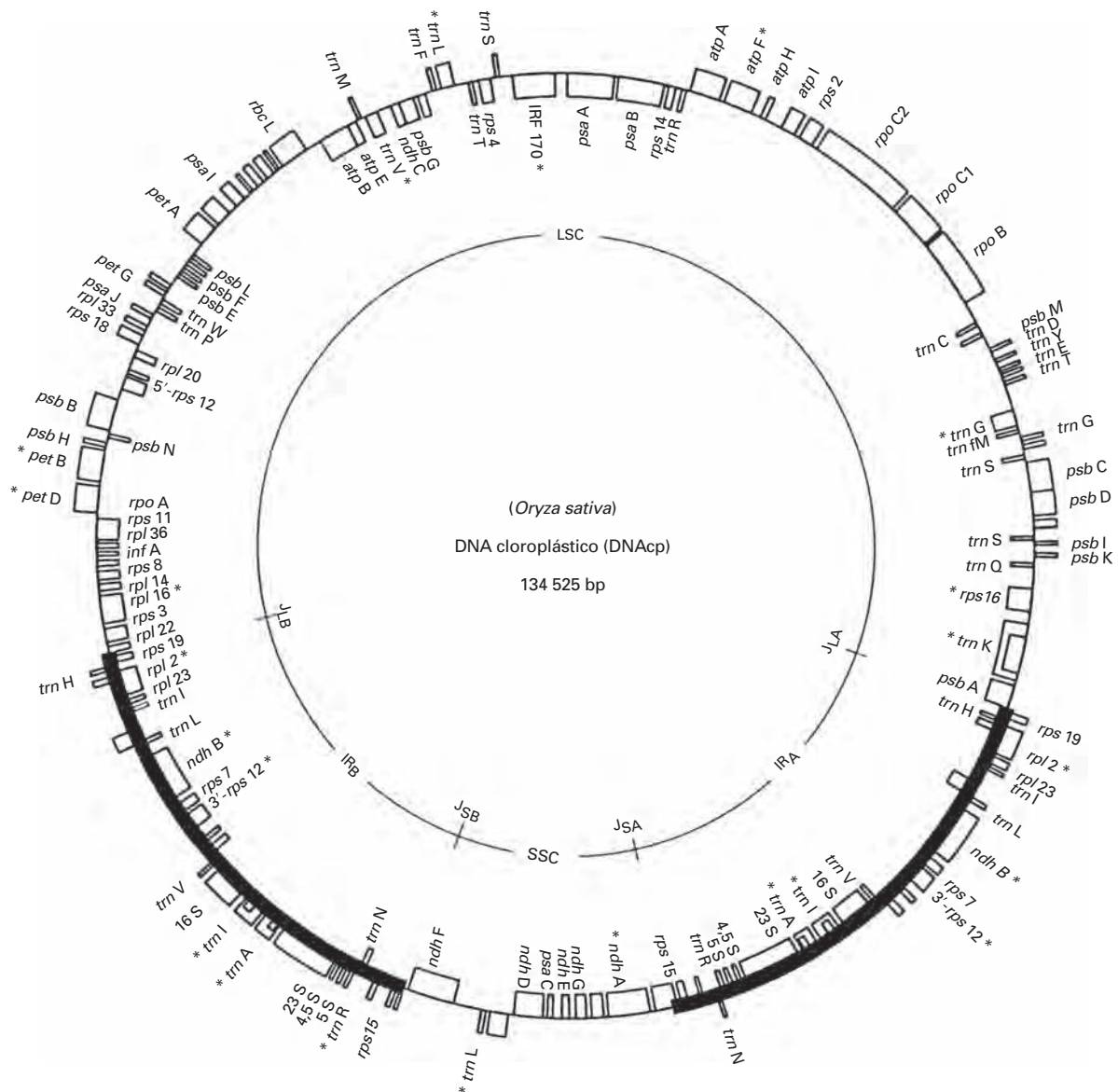


Figura 9-16. Mapa genético del DNA cloroplástico (DNAcp) del arroz (*Oryza sativa*). En este genoma circular de doble hebra unos genes están codificados en la hebra A, leída en sentido contrario a las agujas del reloj (indicados fuera del círculo), y otros genes están codificados en la hebra B, leída en el sentido de las agujas del reloj (indicados dentro del círculo). En el DNAcp se distinguen dos regiones: una región larga que codifica genes no repetidos (genes de copia simple) y consta de dos fragmentos (LSC y SSC: *large single copy region* y *small single copy region*), respectivamente, y otra región que está duplicada (genes de copia duplicada) (IR_A e IR_B).

mutadas específicamente en ciertas proteínas fotosintéticas, lo cual facilita mucho los estudios funcionales.

5.2. Desde el punto de vista de la evolución, los cloroplastos proceden de un organismo unicelular fotosintético arcaico que invadió un ancestro eucariótico otorgándole capacidad fotosintética. Es la teoría endosimbionte

La presencia de dos genomas independientes en las células vegetales, un genoma nuclear típicamente eucariótico y otro genoma cloroplástico parecido a los genomas de las procariontas, hace pensar en la posibilidad de un origen evolutivo propio para los cloroplastos, distinto al del resto de las células vegetales. La presencia de ribosomas tipo 70S dentro de la maquinaria de transcripción de los **cloroplastos** corrobora la suposición de un **origen procariótico** para estos orgánulos, ya que este tipo de ribosomas es semejante al de las bacterias y distinto del 80S eucariótico. Otro razonamiento que favorece esta hipótesis sobre el origen es que los cloroplastos son plastidios con una doble membrana, una de ellas externa, y que es análoga estructural y funcionalmente a una membrana plasmática, aunque presenta una mayor permeabilidad. La presencia de esta membrana externa indica que el orgánulo ha podido estar en contacto, en algún momento, con un medio extracelular.

Por lo que se refiere a la fotosíntesis, llama la atención que todo este proceso fisiológico tan trascendental para la vida y la caracterización de los vegetales se lleve a cabo completamente dentro de un orgánulo celular, de modo que el resto de la célula, aunque la regula y controla, no realiza fotosíntesis. Es decir, no hay enzimas o elementos fotosintéticos activos fuera del cloroplasto.

Todos estos argumentos han llevado a postular una hipótesis sobre el origen en la evolución de las células vegetales eucariotas. La hipótesis mantiene que un organismo unicelular fotosintético procariótico arcaico habría sido fagocitado por un ancestro eucariótico unicelular no fotosintético, quedando incluido en su citoplasma. Ambos organismos iniciarían así una relación de simbiosis que, con el tiempo, daría lugar a un solo organismo integrado, con toda una serie de capacidades metabólicas fruto de la combinación de ambos predecesores, especialmente la capacidad fotosintética aportada por el organismo autótrofo fotosintético. Este organismo procariótico podría ser del tipo de las cianobacterias, que son los microorganismos oxifotosintéticos más antiguos conocidos. La teoría se denomina **teoría endosimbionte**.

La hipótesis de un origen endosimbionte también se ha utilizado para explicar el origen de las mitocondrias, que constituyen el otro orgánulo implicado en la bioenergética celular, donde tiene lugar la respiración. Los vegetales también tienen mitocondrias en sus células, con las que respiran. La respiración es el proceso energético alternativo contrario a la fotosíntesis, en el que se consume oxígeno y se realiza la combustión de materia biomolecular (véase el Capítulo 14).

RESUMEN



- La radiación solar que llega a la Tierra abarca una amplia franja del espectro radiactivo electromagnético, una parte significativa del cual es la **radiación luminosa**. Esta luz es fuente de energía primaria para la biosfera ya que, mediante el proceso fisiológico denominado **fotosíntesis**, determinados organismos vivos autótrofos son capaces de absorber y utilizar parte de esa energía luminosa solar. Entre los organismos fotosintéticos, los vegetales son los principales, y la fotosíntesis distingue y define el reino vegetal, determinando la estructura y la fisiología de las plantas.
- El tipo de fotosíntesis que realizan los vegetales se caracteriza por la formación de oxígeno molecular como subproducto; por ello se denomina **fotosíntesis oxigénica**. En el proceso de la fotosíntesis se pueden distinguir dos fases: una primera de absorción y conversión de energía luminosa en energía electroquímica redox y acidobásica, y otra segunda, de asimilación de elementos químicos esenciales para la síntesis biomolecular.
- En las plantas superiores, la fotosíntesis tiene lugar en los tejidos fotosintéticos, localizados principalmente en las hojas, que son órganos especializados en esta función. A nivel celular, la maquinaria fotosintética se localiza en los orgánulos subcelulares llamados **cloroplastos**, separados del citosol por una envoltura de doble membrana. Los cloroplastos contienen también un intrincado sistema de membranas internas, denominadas **membranas tilacoidales**, que se pliegan dando dobles membranas (lamelas), las cuales pueden formar láminas paralelas separadas (lamelas estromáticas) o apiladas en discos (lamelas grana).
- Las membranas tilacoidales contienen todo el aparato biomolecular necesario para llevar a cabo la primera fase de la fotosíntesis, es decir, son las membranas fotosintéticas en las que se encuentran los cuatro complejos proteínicos que funcionan hasta producir NADPH y ATP. Los tres primeros están implicados en la transferencia electrónica y protónica a través de la membrana tilacoide en contra del gradiente. Realizan estas transferencias porque son complejos proteínicos transmembrana que contienen engarzada en su esqueleto una serie de moléculas con capacidad redox y acidobásica reversible. Dos de estos complejos son fotosistemas: el **fotosistema I** y el **fotosistema II**. El tercer complejo es un



RESUMEN (Cont.)

sistema conector entre ambos fotosistemas, llamado complejo **citocromo b₆f**. El cuarto complejo, la **ATP sintasa**, es distinto, pues no interviene en las transferencias citadas, sino que utiliza el gradiente de protones que los otros complejos han originado para sintetizar ATP en el lado estromático a partir de ADP y P_i.

- En los últimos años, la determinación de la estructura tridimensional de muchos de estos complejos mediante técnicas de cristalografía de proteínas y difracción de rayos X han contribuido a obtener una idea mucho más detallada sobre su arquitectura molecular y su función. Los numerosos polipéptidos que integran estos cuatro complejos proteínicos fotosintéticos están codificados por dos genomas: el DNA que existe dentro del cloroplasto, llamado DNA cloroplástico (DNAcp), y el DNA nuclear de cada célula vegetal.



PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1 ¿Qué diferencia de intensidad de luz hay en una mesa iluminada con una lámpara de 50 vatios con respecto a una mesa puesta al aire libre en un día de sol sin nubes?
- 2 Basándose en la ecuación de la fotosíntesis, calcule cuánto oxígeno se desprende a la atmósfera por litro de agua utilizado por una planta en la primera fase de la fotosíntesis.
- 3 La fotólisis del agua y la reducción del NADP⁺ tiene lugar en espacios subcelulares distintos. ¿Cuáles son esos espacios diferenciados y qué implicaciones tiene esta distribución por zonas en la función fotosintética global?
- 4 ¿Cuáles son las proteínas que unen los principales cofactores del *core* o núcleo central del fotosistema I y del fotosistema II?
- 5 ¿Cuál es la explicación actual más verosímil sobre el origen de los cloroplastos en los vegetales?



RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1 Con la luz solar se logra unas 200 veces más intensidad.
- 2 889 g de O₂.
- 3 La primera reacción se produce en el lumen y la segunda en el estroma. Esta distribución por zonas permite la existencia de un gradiente de protones entre ambos espacios separados por la membrana tilacoidal. El gradiente de protones servirá para generar ATP.
- 4 PsbA (D1) y PsbD (D2) en el fotosistema II; PsaA y PsaB en el fotosistema I.
- 5 La teoría endosimbionte (véase el apartado 5.2.).

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA



1. Arellano JB, De las Rivas J. Plantas y cambio climático. *Investigación y Ciencia* 2006; 354:42-50.
2. Ben-Shem A, Frolov F, Nelson N. Crystal structure of plant photosystem I. *Nature* 2003; 426:630-635 (PDB = 1QZV).
3. Blankenship RE. Origin and early evolution of photosynthesis. *Photosynthesis Research* 1992; 33:91-111.
4. De las Rivas J, Balsera M, Barber J. Evolution of oxygenic photosynthesis: genome-wide analysis of the OEC extrinsic proteins. *Trends in Plant Science* 2004; 9:18-25.
5. De las Rivas J, Lozano JJ, Ortiz AR. Comparative analysis of chloroplast genomes: functional annotation, genome-based phylogeny, and deduced evolutionary patterns. *Genome Research* 2002; 12:567-583.
6. Ferreira KN, Iverson TM, Maghlaoui K *et al.* Architecture of the photosynthetic oxygen-evolving center. *Science* 2004; 303:1831-1838 (PDB = 1S5L).
7. Jordan P, Fromme P, Witt HT *et al.* Three-dimensional structure of cyanobacterial photosystem I at 2.5 Å resolution. *Nature* 2001; 411:909-917 (PDB = 1JB0).
8. Kurisu G, Zhang H, Smith JL *et al.* Structure of the cytochrome b_6/f complex of oxygenic photosynthesis: tuning the cavity. *Science* 2003; 302:1009-1014 (PDB = 1VF5).
9. Loll B, Kern J, Saenger W *et al.* Towards complete co-factor arrangement in the 3.0 Å resolution structure of photosystem II. *Nature* 2005; 438:1040-1044 (PDB = 2AXT).
10. Nelson N, Yocum CF. Structure and function of photosystem I and II. *Annual Review of Plant Biology* 2006; 57:521-565.
11. Nitschke W, Rutherford AW. Photosynthetic reaction centres: variations on a common structural theme?. *Trends in Biochemical Sciences* 1991; 16:241-245.
12. Standfuss J, Terwisscha van Scheltinga AC, Lamborghini M *et al.* Mechanisms of photoprotection and nonphotochemical quenching in pea light-harvesting complex at 2.5 Å resolution. *EMBO Journal* 2005; 24:919-928 (PDB = 2BHW).
13. Trissl HW, Wilhelm C. Why do thylakoid membranes from higher plants form grana stacks? *Trends in Biochemical Science* 1993; 18:415-419.
14. Webb MS, Green BR. Biochemical and biophysical properties of thylakoid acyl lipids. *Biochimica et Biophysica Acta* 1991; 1060:133-158.

Utilización de la energía luminosa en la fotosíntesis

JAVIER DE LAS RIVAS



1. Absorción y conversión de la energía luminosa.
2. Cadena de transporte electrónico fotosintético.
3. Dinámica del aparato fotosintético.
4. Fotoprotección y fotoinhibición del aparato fotosintético.
5. Coordinación y proporción en la producción de ATP y NADPH, y equilibrio O_2/CO_2 .

Este capítulo se centra en explicar cómo funciona el aparato fotosintético de las plantas, cuyos elementos constitutivos, con su morfología y su estructura biomolecular, han sido ya tratados con detalle en el Capítulo 9.

1. ABSORCIÓN Y CONVERSIÓN DE LA ENERGÍA LUMINOSA

1.1. Un fotosistema está constituido, por una antena asociada a un centro de reacción

Para que la fotosíntesis sea posible, es esencial que una parte del aparato biomolecular fotosintético sea sensible a la luz. Esta fotosensibilidad viene dada por la existencia de sistemas moleculares capaces de absorber la luz (energía luminosa), transmitir la energía absorbida y convertirla en una energía no radiante, estable y acumulable, como es la energía química.

El sistema o unidad básica esencial para el funcionamiento de todo aparato fotosintético es, precisamente, el fotosistema, el cual es capaz de realizar estos pasos de absorción, transmisión y conversión (Van Grondelle, R. y cols. *Biochimica et Biophysica Acta* 1187:1-66, 1994).

Funcionalmente, un **fotosistema** está constituido por un elemento nuclear o central llamado **centro de reacción**, hacia donde se canaliza la **energía de excitación** (*) y en donde dicha energía pasa a transformarse en energía química

de tipo redox mediante una cadena de transportadores de electrones. Asociado a este elemento central, el fotosistema tiene un elemento llamado **antena**, que es colector o cosechador de luz capaz de absorber los fotones que le llegan cuando está sometido a iluminación, y de transmitir la energía absorbida en forma de excitones hasta el centro de reacción. En la Figura 10-1 se muestra un esquema general de la integración de los dos componentes de un fotosistema: antena y centro de reacción.

Los dos fotosistemas de las plantas, el fotosistema I y el fotosistema II (descritos en el apartado 4 del Capítulo 9), están constituidos por un centro de reacción al que se asocian, respectivamente, un complejo antena LHCI y LHCII. Tanto las antenas como los centros de reacción tienen pigmentos fotosintéticos (clorofilas y carotenoides) como elementos fotosensibles, es decir, moléculas que absorben parte de la radiación luminosa. Por otro lado, los centros de reacción contienen en sus polipéptidos centrales una serie de elementos o grupos redox especiales que realizan el transporte electrónico fotosintético originado tras la conversión energética de excitones en electrones (véase el Capítulo 9).

Dada la complejidad de los fotosistemas y demás proteínas fotosintéticas, no es de extrañar que no haya todavía acuerdo completo entre los distintos investigadores sobre la identidad exacta de los elementos o grupos redox que participan en cada una de las etapas individuales de transferencia de electrones. Así, a determinados elementos redox, detectados por algunas propiedades espectrales y fotoquímicas, se les designa todavía con un símbolo arbitrario que dice poco sobre su naturaleza química. De hecho, la diversidad

química de los elementos redox es muy grande. Pueden ser átomos, moléculas, agrupaciones atómicas o moleculares o, incluso, grupos activos de los mismos residuos aminoácidos integrantes de los polipéptidos. Por esta razón, también es difícil decidir si son o no cofactores o grupos prostéticos, considerando los fotosistemas como enzimas.

En el apartado 1.2 se describe el funcionamiento de las antenas en la absorción y la transmisión de energía, y en el apartado 1.3, la conversión fotoelectroquímica realizada en los centros de reacción. En la sección 2 de este capítulo se explica el funcionamiento de la cadena de transporte electrónico fotosintético, describiendo los elementos redox activos que la componen.

1.2. Las antenas, colectores de luz, absorben fotones y transmiten excitones

El funcionamiento de una antena comienza con la absorción de la luz que le llega. La absorción de luz por un pigmento es la absorción de la energía de los **fotones** con longitudes de onda capaces de excitar dicha molécula pigmento, es decir, de alterar la energía de los **electrones** de sus orbitales moleculares más externos. El espectro de absorción global de una antena es el resultado de la suma de los espectros de absorción de todos los pigmentos que la constituyen o integran. Como se ha explicado en el Capítulo 9, el resultado de la absorción de un fotón por un pigmento es la transición de la molécula desde el estado electrónico fundamental o basal (S_0) de mínima energía, a uno de los estados excitados predeterminados (S_1 , S_2 , etc.), de mayor contenido energético.

Los diversos procesos que median la relajación del **estado excitado** de una molécula compiten entre sí, predominando entre ellos los más rápidos. Cualquier utilización con fines metabólicos del **excitón** o energía extra del estado excitado debe evitar la relajación fútil, lo que sólo es posible si se ofrece una ruta conservadora de energía que sea aún más rápida que los procesos disipadores (véase el apartado 2.2 del Capítulo 9). Los factores que determinan la contribución de cada uno de los procesos alternativos de relajación son tanto intrínsecos (dependientes del propio pigmento) como extrínsecos (es decir, dependientes de las interacciones con otras moléculas cercanas). En general, la vida media de un estado excitado singlete de una molécula aislada no suele exceder de una fracción de microsegundo, lo que da idea de las altas constantes de velocidad de las rutas por las que transcurre su relajación ($k \geq 10^{-6}$ s). Para las clorofilas, la vida media del estado excitado es aún menor, del orden de nanosegundos (10^{-9} s), y más corta todavía es la de los carotenoides. La razón de la rapidez de estos procesos es que no están detenidos por barreras de activación, ya que sólo implican saltos electrónicos entre orbitales de la misma molécula y cambios vibratorios de los enlaces. Cuando varias moléculas de clorofila están acopladas excitónicamente (como ocurre en las antenas), la vida media de sus estados excitados se hace mucho más corta y pasa al orden de picosegundos (puede oscilar entre 1 y 100

$\times 10^{-12}$ s). De este modo, la vía de transferencia excitónica es la más rápida y predominante, por ser la más eficaz para que moléculas de clorofila interconectadas se transmitan la energía absorbida de modo ultrarrápido. Por todo ello, éste es el mecanismo clave de funcionamiento de una antena, que es como un mosaico de clorofilas engarzadas sobre el cual los excitones se mueven al azar, en picosegundos, de una clorofila a las contiguas (Van Grondelle, R. y cols. *Biochimica et Biophysica Acta* 1187:1-66, 1994). La Figura 10-2 A muestra esta idea.

Organizando las clorofilas de modo acoplado, se logra también un importante efecto cooperativo en la absorción de la radiación luminosa incidente. Se ha calculado que, para una irradiación solar de $2000 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (valor en un día claro de sol a mediodía), una molécula de clorofila *a* absorbe aproximadamente unos 10 fotones por segundo. Si los fotosistemas I y II estuviesen constituidos por una sola clorofila, con 10 fotones por segundo, no serían capaces de mantener las tasas de asimilación fotosintética que se observan en las hojas. El efecto cooperativo logrado con el acoplamiento excitónico de múltiples clorofilas en las antenas permite disponer de aproximadamente 200 clorofilas por fotosistema. De este modo, en un segundo se pueden absorber hasta 2000 fotones por centro de reacción.

Dentro de las clorofilas contenidas en las antenas se ha observado también una jerarquización basada en una modulación del nivel energético de absorción de ciertos grupos de clorofilas (véanse las Figs. 10-1 y 10-2). Así, en las LHC se han detectado grupos de clorofilas que tienen un máximo de absorción distinto, con longitudes de onda crecientes: clorofilas *b* de 650 nm; clorofilas *a* de 662 nm; clorofilas *a* de 670 nm; clorofilas *a* de 677 nm. Es decir, se trata de grupos de clorofilas con niveles energéticos ligeramente decrecientes, lo que permite una canalización de la energía de excitación por esa pendiente energética hacia el centro de reacción. De hecho, se ha detectado que los grupos de clorofilas de mayor energía tienden a localizarse en la periferia (antena extrínseca), y los de menor energía, más cercanos a los centros de reacción (antena intrínseca). Finalmente, en el núcleo de cada fotosistema existe un grupo especial de clorofilas que tienen un nivel energético claramente menor que el resto de la antena, y que están implicadas en el último paso de la función de la antena y en el primer paso del centro de reacción. Su función se describe a continuación.

1.3. La conversión de excitones en electrones se produce con la primera separación de carga en los centros de reacción

Existe la posibilidad de que la relajación del estado excitado de una molécula conduzca a una nueva configuración electrónica estable (esto es, a un estado fundamental) distinta de la original. Esta nueva configuración supone una transformación fisicoquímica, ya que se modifica la distribución de los electrones de valencia (véase Fig. 10-2 B). Si el producto de la reacción fotoquímica contiene más energía interna que

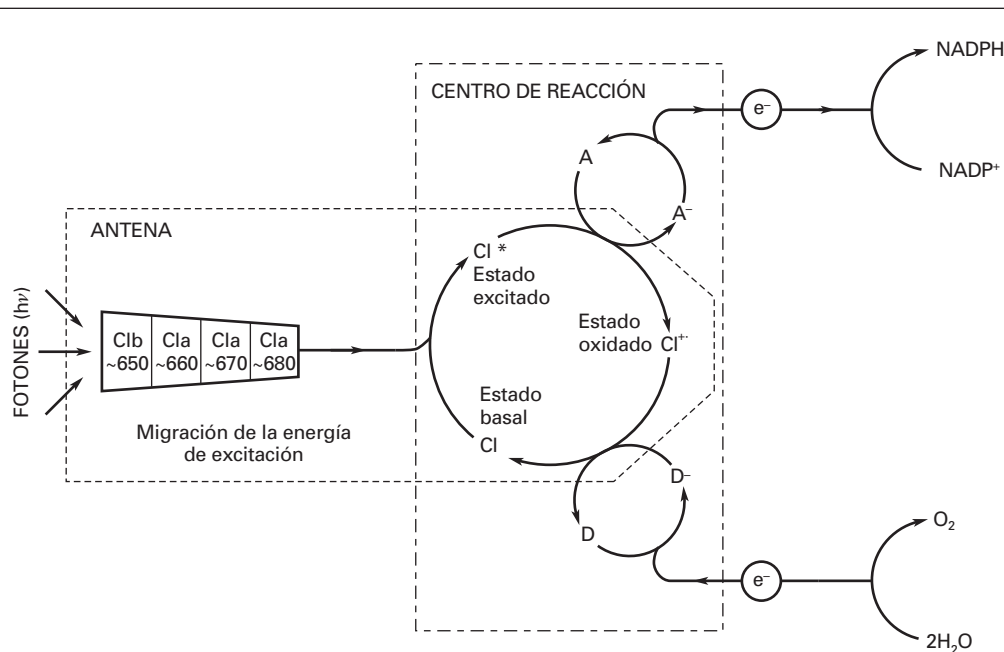


Figura 10-1. Esquema que integra los dos componentes de un fotosistema: antena y centro de reacción. Las clorofilas (Cl) de la antena se agrupan en conjuntos de longitud de onda creciente (650, 660, 670, 680 nm) y ceden su excitón a las clorofilas centrales del centro de reacción, que pasan al estado excitado (Cl^*) y, tras ceder un electrón, al estado oxidado catión (Cl^+). Los siguientes elementos redox, aceptores (A) y donadores (D), están asociados en cadena hasta oxidar agua y reducir $NADP^+$.

el pigmento que absorbió originalmente el fotón, tal producto conserva como energía química de enlace parte de la energía de la luz absorbida. Tal es la base de la conversión o **transducción de energía**, que tiene lugar en los centros de reacción fotosintéticos.

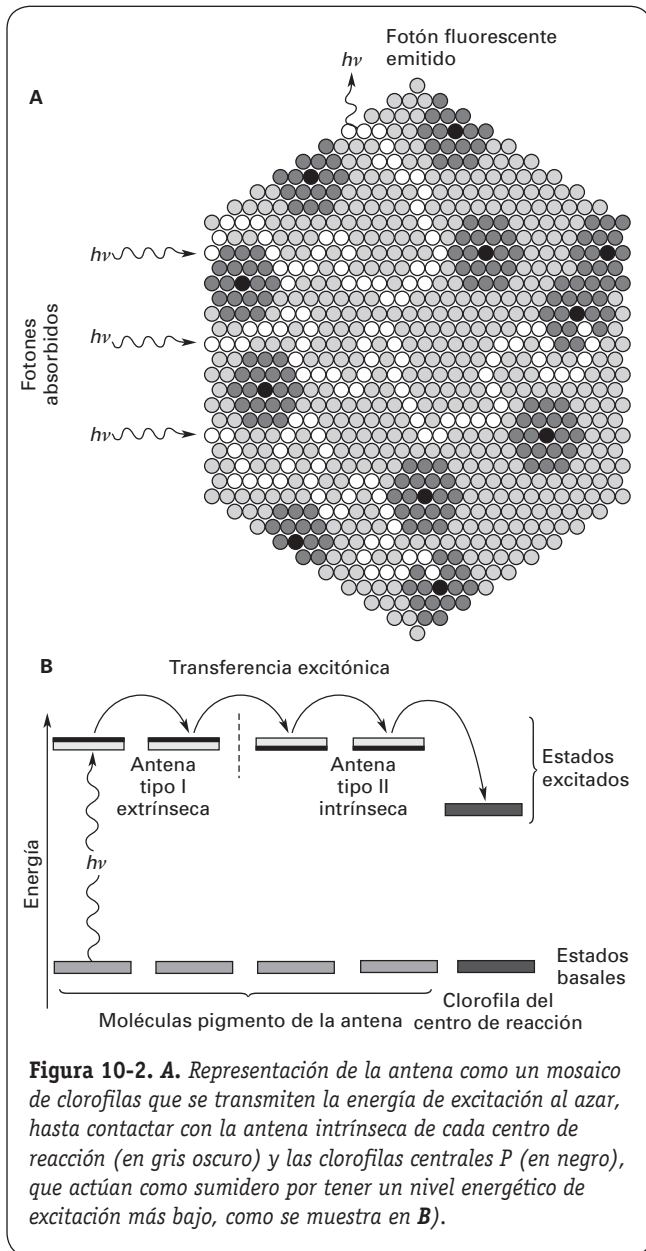
La Figura 10-1 muestra que la zona común, donde se realiza la interconexión entre la antena y el centro de reacción de un fotosistema, está constituida por unas clorofilas especiales que constituyen el punto de término de la transferencia de energía de excitación ($Chl + h\nu = Chl^*$) y el punto de inicio de la primera separación de carga y transferencia de un electrón ($Chl^* - 1e^- = Chl^+$). Gracias a estas clorofilas especiales, se produce la conversión de la **energía excitónica** en **energía electroquímica** redox.

Estas clorofilas especiales de los fotosistema I y II se llaman P700 y P680, respectivamente. La P viene de pigmento y 700 ó 680, de la longitud de onda (en nm) en la que estas clorofilas alcanzan su máximo de absorción en la zona roja del espectro. Estas clorofilas, en su estado excitado (P^*) tienen un nivel energético más bajo que todas las clorofilas de las antenas (Fig. 10-2B). Por ello, se diferencian marcadamente de ellas, y actúan como sumidero o trampa energética, ya que en ellas el excitón queda atrapado de modo irreversible.

En las inmediaciones de estas clorofilas (P) se encuentra otra molécula (A), con un orbital vacante de menor energía que el ocupado por el electrón excitado desapareado de P^* , de modo que se puede producir la transferencia de ese electrón entre P y A. En esta transferencia, la clorofilas especiales excitadas (P^*) actúan como agente altamente reduc-

tor **donador** del electrón y pasan a estado oxidado (P^+); la molécula que gana un electrón, el **aceptor** primario, queda en estado reducido (A^-) (véase la Fig. 10-1). Ambas moléculas, P y A, quedan con un electrón desapareado, es decir, como radicales libres: el donador como catión y el aceptor como anión. Tanto en la fotosíntesis oxigénica de las plantas como en la anoxigénica de las bacterias, las reacciones fotoquímicas primarias son siempre **separaciones de carga eléctrica** de este tipo. Los radicales iónicos producidos en la primera reacción fotoquímica (P^+A^-) conservan una fracción importante de la energía del fotón absorbido, pero convertida en una energía química redox que se puede medir por la **diferencia de potencial redox** (ΔE) existente entre P^+ y A^- . Normalmente, P^+ es altamente positivo (es decir, altamente **oxidante**) y A^- es altamente negativo (es decir, altamente **reductor**) y, por ello, a continuación promueven una serie de transformaciones electroquímicas redox en cadena, secundarias, que son **exergónicas espontáneas** porque van a favor del potencial redox.

Las clorofilas especiales oxidadas (P^+), tras ceder el electrón, actúan en un segundo paso como fuertes agentes oxidantes que captan un electrón de un primer donador cercano (D), siendo así re-reducidas. Con ello recobran su estado basal original (P) en el que podrán ser excitadas de nuevo si reciben otro excitón. Con este segundo paso se llega al estado $D_1^+PA_1^-$ que luego pasará a $D_2^+D_1PA_1A_2^-$, y así sucesivamente. De este modo, toda la serie de elementos donadores y aceptores redox contenidos en los centros de reacción se conecta creando una **cadena de transporte electrónico** en cada fotosistema. Los componentes de la cadena electró-



nica fotosintética se explican en los apartados siguientes. La Figura 10-1 muestra el donador inicial (agua, H_2O) y el aceptor final de electrones ($NADP^+$) de esta cadena.

Es importante recalcar que la clave de este proceso de conversión energética está en la existencia de esas clorofilas especiales (P), capaces de absorber irreversiblemente un excitón para convertirse en un agente altamente reductor (P^*) y, luego, en un agente altamente oxidante (P^+). Es decir, se mueven de modo cíclico en tres estados (mostrados en la Fig. 10-1). Las clorofilas son las biomoléculas inventadas por la naturaleza que reúnen las propiedades fisicoquímicas especiales para esta función y, de hecho, se han encontrado en todos los centros de reacción de los organismos fotótrofos conocidos.

Existe diferencia entre el salto energético (ΔE_0^-) que cada uno de los sistemas P conocidos es capaz de realizar (Fig. 10-3). La amplitud de este salto está relacionada con los do-

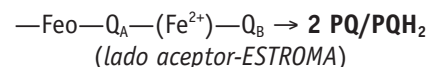
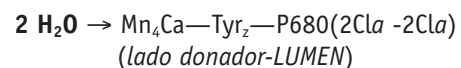
nadores y los aceptores secundarios de los que dispone cada fotosistema, así como con la naturaleza molecular específica del núcleo central de cada fotosistema. En la Figura 10-3 se observa que el salto energético más grande de los conocidos corresponde al P680 del fotosistema II, en comparación con los saltos realizados por el P700 del fotosistema I, el P840 de las bacterias verdes y el P870 de las bacterias púrpúreas.

Las clorofilas aisladas en disolución no son capaces de realizar esta función fotoquímica. La fugacidad del estado excitado de P hace necesario mantener a los donadores y los aceptores a la distancia precisa y con la orientación adecuada para que los orbitales implicados se solapen y el salto electrónico entre ellos se vea favorecido. La forma en que esto se consigue es haciendo que los elementos reactantes (A, P, D) formen parte de las **proteínas**, a las que se unen interactuando específicamente con residuos polipeptídicos, con lo cual mantienen una disposición espacial adecuada. Ello significa que las proteínas del aparato fotosintético integrado en la membrana tilacoidal de los cloroplastos constituyen la sede específica de la cadena electroquímica fotosintética. Con las clorofilas P asociadas a las proteínas, la separación inicial de cargas tiene lugar en pocos picosegundos ($1 \text{ ps} = 10^{-12} \text{ s}$), un período que es varios órdenes de magnitud más corto que lo que tardan en ser operativas las rutas alternativas de relajación del estado excitado de P. Por ello, con las clorofilas engarzadas en las proteínas fotosintéticas se consigue la mayor eficacia y rapidez en el aprovechamiento de la energía fotónica que absorben.

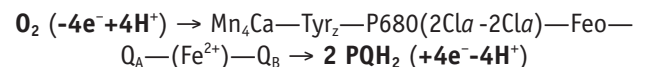
2. CADENA DE TRANSPORTE ELECTRÓNICO FOTOSINTÉTICO

2.1. El fotosistema II contiene los primeros elementos redox implicados en la cadena fotosintética desde el agua a la plastoquinona

Los elementos redox implicados en la transferencia electrónica desde el agua a la plastoquinona dentro del fotosistema II son, por orden, los siguientes:



que, tras el proceso global de oxidorreducción, se transforman en O_2 y PQH_2 :



Estequiométricamente, se trata de una reacción global de cuatro electrones que fluyen de uno en uno y pasan del

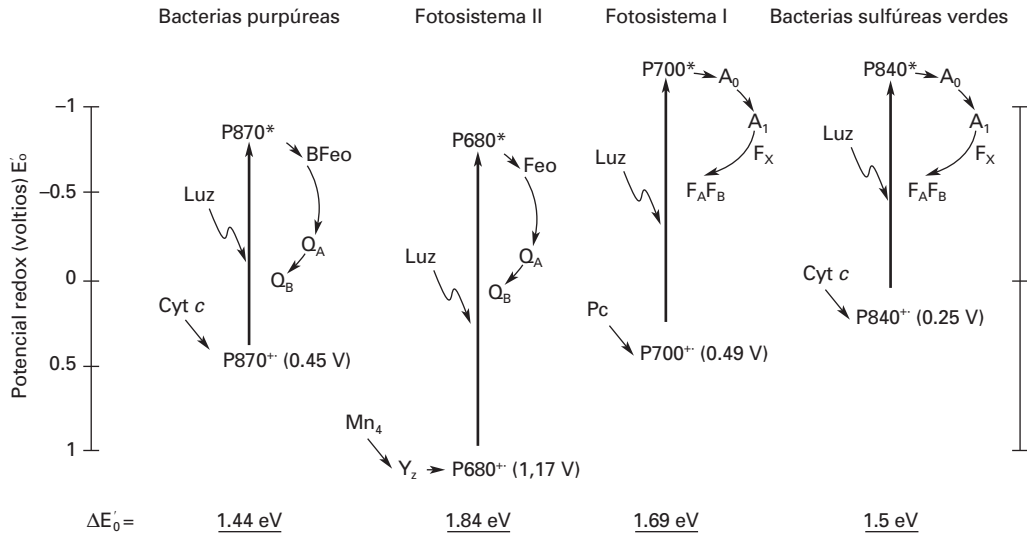
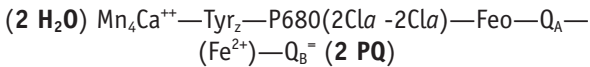
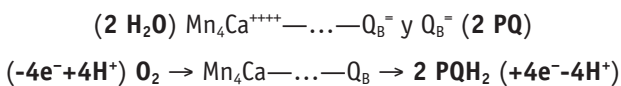


Figura 10-3. Salto energético (ΔE_0) de los principales sistemas P conocidos de centros de reacción fotosintéticos: P680 del fotosistema II; P700 del fotosistema I; P840 de las bacterias verdes sulfúreas; P870 de las bacterias purpúreas.

lado del lumen al estroma (donador a aceptor). A su vez, los cuatro protones generados se quedan en el lumen bajando el pH y se toman en el estroma subiendo el pH. Es una reacción que se repite en ciclos de cuatro veces, iniciándose cada vez con la primera separación de carga desde P680*. Sobre P680 se realiza la conversión de la energía de excitación (*) en una transferencia electrónica, para dar un primer radical catión (P680⁺) y el primer anión, que es la feofitina (Feo⁻, clorofila sin Mg). Este doble radical se va transmitiendo luego a los respectivos elementos redox anejos aceptores (derecha) y donadores (izquierda) hasta Mn₄ y Q_B. Las primeras cargas se acumulan en los extremos, y llega otro fotón que produce una segunda separación de carga consecutiva:



Entonces, la quinona del lado aceptor toma dos protones (2 H⁺) del estroma y da plastoquinol (PQH₂), que se libera del fotosistema II, y una segunda molécula de plastoquinona oxidada (PQ = Q_B) entra en su lugar. El fotosistema vuelve a asimilar otros dos fotones que inducen otras dos separaciones de carga iguales a las descritas, que se vuelven a acumular en los extremos. Con cuatro cargas acumuladas, el cluster de manganeso (Mn₄⁺⁺⁺) es capaz de oxidar dos moléculas de agua (2 H₂O) liberando una molécula de oxígeno (O₂) y cuatro protones en el lado donador (lumen, +4 H⁺):

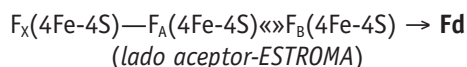
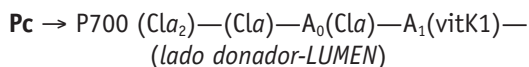


Desde el punto de vista molecular, el elemento central, P680, está constituido por un conjunto de clorofilas. Los datos más recientes parecen indicar que se trata de, al menos, cua-

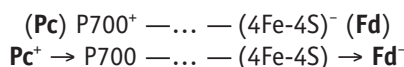
tro clorofilas asociadas multiméricamente, es decir, 4 clorofilas cuyas nubes electrónicas están acopladas y tras absorber la energía excitónica (P680*) se comportan como un elemento unitario capaz de liberar un electrón y dar lugar a un radical catiónico P680⁺ altamente oxidante. El electrón liberado pasa a una feofitina (Feo⁻), que es como una clorofila, pero sin magnesio en el anillo tetrapirrol. El siguiente aceptor es una plastoquinona fija, Q_A, y el último aceptor, otra plastoquinona móvil, Q_B; cuando ésta se reduce, se intercambia por otra del conjunto (pool) de plastoquinonas (PQ) libres que nadan en la membrana tilacoidal (unas 10 moléculas por fotosistema II). Entre ambas quinonas, Q_A y Q_B, hay un átomo de hierro no hemínico (Fe²⁺) que interviene en la canalización del transporte electrónico entre ellas. El que da el primer electrón a P680⁺, por el lado donador, es un aminoácido tirosina de la proteína D1, llamada Tyr_z. A su vez, la tirosina toma el electrón del cluster de manganeso, constituido por cuatro átomos de manganeso (Mn₄), y además un átomo de calcio (Ca), posiblemente coordinados con hidroxilos o agua. Este conjunto de cuatro manganesos coordinados es capaz de oxidarse cuatro veces consecutivas, cediendo un electrón cada vez, y acumulando un estado final tetraoxidado (Mn₄Ca⁺⁺⁺⁺), que es el que arranca los electrones del agua (Rutherford, A. W. *Trends in Biochemical Sciences* 14: 227-232, 1989).

2.2. El fotosistema I contiene los últimos elementos redox de la cadena fotosintética entre plastocianina y ferredoxina

Los elementos redox implicados en la transferencia electrónica desde **plastocianina** (Pc) a **ferredoxina** (Fd) dentro del fotosistema I son, por orden, los siguientes:



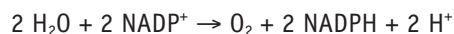
Al igual que en el otro fotosistema, tiene lugar una reacción global de transferencia de un electrón, que pasa de un elemento redox al siguiente; iniciándose la separación de carga en el elemento central, P700, cuando le llega la energía de un fotón-excitón desde las antenas (P700*). El radical catión-anión se va transmitiendo desde P700 a los respectivos elementos anejos, hasta oxidar la plastocianina (Pc) y reducir la ferredoxina (Fd), que son dos proteínas redox que se encuentran ya fuera del fotosistema I. La plastocianina se oxida, cediendo un electrón a P700, y la ferredoxina se reduce, tomando un electrón de F_A/F_B; con ello, concluye el flujo electrónico a lo largo del fotosistema I:



El elemento central, P700, es un dímero de clorofilas *a* acopladas excitónicamente. Estas clorofilas absorben la energía excitónica (P700*) y se comportan como un elemento unitario capaz de liberar un electrón y dar lugar a un radical catiónico oxidante P700*. El electrón liberado pasa a A₀, que es también una clorofila *a*. Esta transferencia se realiza, tal vez, a través de otra clorofila accesoria intermedia. A₀ cede el electrón a una filoquinona (vitamina K1) denominada A₁. A continuación intervienen en la transferencia tres *cluster* sulfoférricos, constituidos por cuatro átomos de hierro y cuatro átomos de azufre (4Fe-4S), denominados, F_x, F_A, F_B (a veces también llamados A₂, A₃ y A₄). Tras la reducción de F_x, los siguientes cofactores, F_A y F_B, no reciben los electrones consecutivamente, sino alternativamente, es decir, el flujo electrónico pasa por uno u otro de modo alterno en equilibrio.

2.3. El esquema en Z contiene los dos fotosistemas y el resto de los elementos que completan la cadena fotosintética desde H₂O a NADP⁺

Toda la serie de elementos que se oxidan y se reducen alternativamente, presentes tanto en los dos fotosistemas como en el complejo intermedio citocromo b₆f, y los elementos unitarios intermediarios entre ellos (plastoquinona, plastocianina, ferredoxina y FNR), constituyen la cadena de transporte electrónico fotosintético. En esta cadena completa, el primer donador de electrones es el H₂O, que se oxida en el lumen, y el último aceptor es el NADP⁺ que se reduce en el estroma. De este modo se produce un flujo electrónico lineal desde H₂O a NADP⁺, hasta transformarlos en O₂ y NADPH. Estequiométricamente, la reacción global se puede escribir como:



Esta reacción supone un flujo de paso o de intercambio de cuatro electrones (4 e⁻) entre los dos reactantes que está acoplado a un intercambio transversal lumen-estroma de 8 protones (8 H⁺) (véanse los apartados 2.4 y 5).

Cada uno de los elementos oxidorreductores de la cadena fotosintética tiene un determinado potencial redox (E₀'), de modo que, si se representan gráficamente todos ellos en una escala de potenciales, se obtiene el llamado **esquema en Z o esquema Z** (Fig. 10-4), en el que la cadena queda representada como una Z invertida, correspondiendo los dos palos a los dos saltos energéticos que tienen lugar en cada elemento P del núcleo de cada fotosistema. Estos dos elementos, P680 y P700, son los que reciben los excitones y realizan las primeras separaciones de carga que mueven la cadena fotosintética. Ya se ha comentado que las formas P* son altamente reductoras y las formas P⁺ altamente oxidantes. De hecho, P680* tiene un potencial redox en torno a -0.67 V y P680⁺ un potencial en torno a +1.17 V; de modo análogo, P700* tiene un potencial redox en torno a -1.20 V, y P700⁺ un potencial en torno a +0.49 V. Con la absorción de la energía de un excitón, cada uno de los dos fotosistemas hace de bomba impulsora del flujo electrónico, al originar un salto de potencial redox contra gradiente (de valores positivos de E₀' a valores más negativos). Estos saltos originan diferencias de potencial de valor: ΔE₀' = 1.84 V en el fotosistema II y ΔE₀' = 1.69 V en el fotosistema I (Nelson, N. y Yocum, C.F. *Annual Review of Plant Biology* 57: 521-565, 2006). El resto de las transferencias redox se produce a favor del gradiente de potencial (de valores más negativos a más positivos) y, por ello, se producen de modo espontáneo son reacciones **exergónicas**). La Figura 10-4 muestra el esquema en Z, con los saltos energéticos mencionados y el resto de los elementos redox incluidos en la cadena fotosintética.

El flujo principal es lineal desde H₂O hasta NADP⁺; pero, en ciertas circunstancias, el flujo electrónico puede seguir las llamadas **vías cíclicas**. En estas vías cíclicas los electrones no llegan hasta NADP⁺, sino que fluyen de modo cíclico en torno a un fotosistema mediante una reconexión hacia atrás, desde elementos redox de potencial negativo que han recibido los electrones de P*, hacia elementos redox de potencial más positivo que son donadores de P*. En general, se puede decir que las vías cíclicas están diseñadas para generar un mayor gradiente de protones entre el lumen y el estroma y, por ello, son vías de obtención de mayor poder energético ATP, sin necesidad de obtener a la vez poder reductor NADPH. La producción de ATP está directamente asociada a la generación del gradiente de protones por la **fuerza protón-motriz** que aprovecha la ATPasa (véase el apartado 2.5). Junto al incremento en la translocación de protones, las vías cíclicas también parecen tener una función de disipación de exceso de energía, pues se ha comprobado que la transducción energética global en los flujos cíclicos es menor que en el flujo lineal normal.

El primer flujo electrónico cíclico fue descrito hace más de treinta años por D. I. Arnon en el fotosistema I. En este

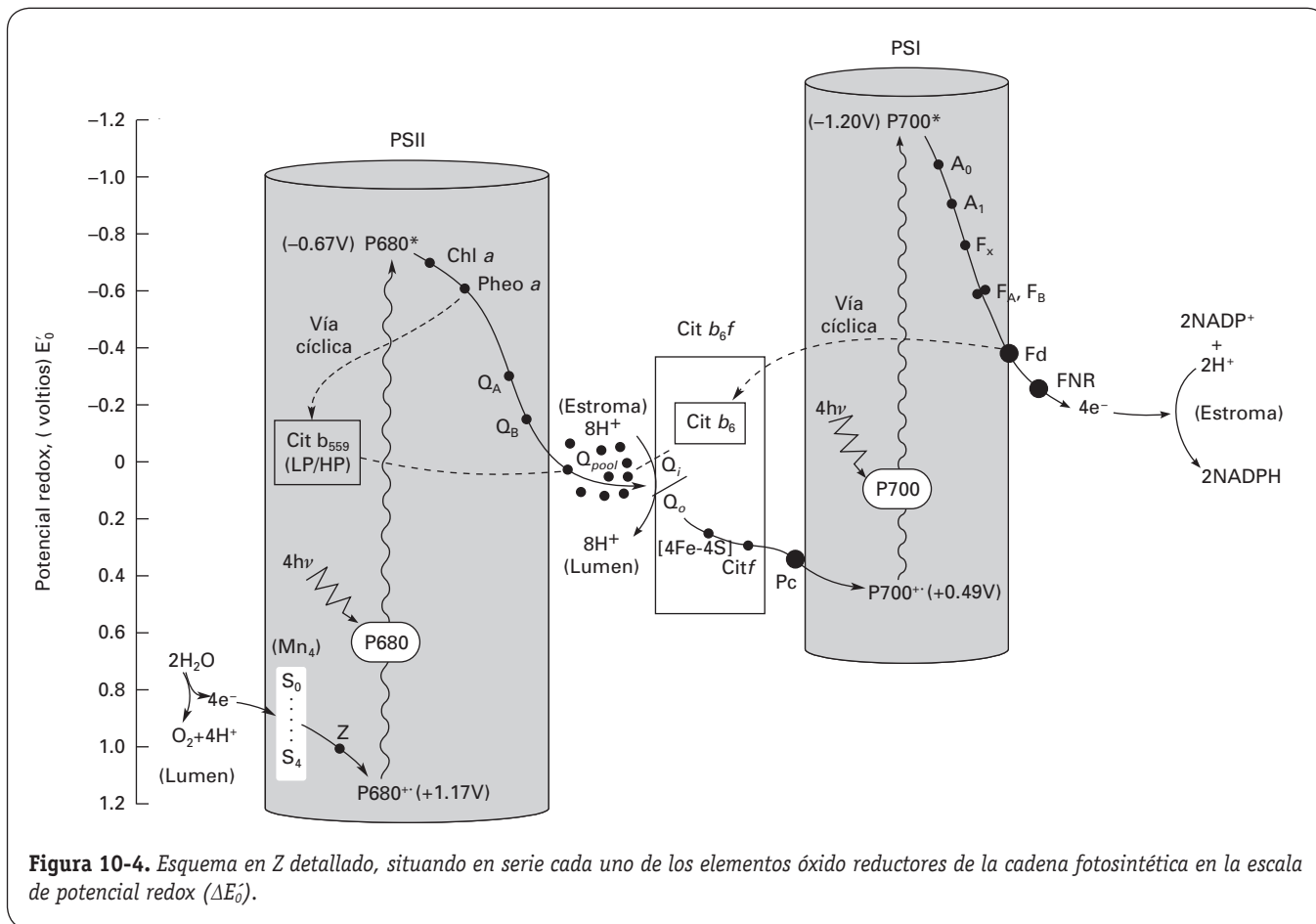


Figura 10-4. Esquema en Z detallado, situando en serie cada uno de los elementos óxido reductores de la cadena fotosintética en la escala de potencial redox ($\Delta E'_0$).

flujo, junto al fotosistema I intervienen de modo particular el complejo citocromo b_6f y el reservorio de plastoquinonas (*pool* de plastoquinonas « Q_{pool} »), posibilitando una mayor **translocación de protones** a través de la membrana, mediada por conversiones PQH_2/PQ , en lo que se denomina ciclo de las quinonas.

Más recientemente se ha postulado la existencia, en torno al fotosistema II, de otro flujo electrónico cíclico en el cual intervendrían también un citocromo (citocromo b_{559}) y el *pool* de plastoquinonas (véase la Fig. 10-4). La posible existencia de esta segunda vía cíclica y su función parecen estar relacionadas con procesos de **fotoprotección** y **fotoinhibición**, descritos en el apartado 4.

2.4. La fotólisis del H_2O produce oxígeno molecular, O_2 , y los electrones y protones que se transmiten hasta $NADP^+$ para dar NADPH

Un punto especialmente importante y significativo de la cadena redox fotosintética es la primera reacción, en la cual se produce la oxidación del agua, también llamada **fotólisis del agua** (Barber J. *Biochimica et Biophysica Acta* 1655: 123-132, 2004). En esta reacción, los vegetales originan,

como subproducto, oxígeno molecular (O_2), gas que se difunde fuera del cloroplasto y de la célula y es liberado a la atmósfera a través de los estomas. El aporte de oxígeno a la atmósfera por la acción de los organismos fotosintéticos oxigénicos es un hecho trascendental para la dinámica y el equilibrio de la biosfera, tal y como hoy la conocemos. Todos los organismos heterótrofos dependen de ese oxígeno para sus procesos vitales, ya que su bioenergética celular se basa en la respiración, que necesita oxígeno como sustrato esencial.

La oxidación del agua (H_2O) requiere la extracción de cuatro electrones para formar una molécula de oxígeno (O_2), pero el fotosistema II proporciona las cargas positivas una por una, separando una carga eléctrica por cada fotón absorbido en el centro de reacción. Para comprender el mecanismo de esta reacción es necesario relacionar la producción de oxígeno con el consumo de los electrones. En 1969, Pierre Joliot y colaboradores demostraron que, si se dejan cloroplastos en la oscuridad durante algunos minutos y después se iluminan mediante destellos o flases intensos y breves (10 microsegundos o menos), de manera que todos los centros de reacción del fotosistema II queden excitados una sola vez, la producción de oxígeno es casi nula después de los dos primeros destellos, alcanza un máximo después del tercero y, a continuación, presenta un comportamiento oscilante de período 4 durante la iluminación con los destellos siguientes

—es decir, el máximo se alcanza cada cuatro destellos—. La interpretación sencilla de estos resultados fue que el ciclo de oxidación del agua incluía cinco estados S (representados de S_0 a S_4), correspondientes a cinco formas transitorias cada vez más oxidadas del fotosistema II (Fig. 10-5). El retorno del estado S_4 , el más oxidado (el menos rico en electrones), al estado S_0 iría acompañado de la producción de oxígeno. Por el tipo de señal que emitían estos estados, se llegó a la conclusión de que el elemento químico principal que intervenía era el manganeso (Mn). En efecto, posteriormente se demostró que el fotosistema II activo tiene cuatro átomos de manganeso unidos a su estructura proteica, constituyendo lo que se denomina *cluster* o centro de manganeso. Si los manganesos se extraen mediante tratamientos químicos (pH superior a 9, adición de amins o de agentes reductores), desaparece la capacidad del fotosistema II para oxidar el agua.

El manganeso es un metal susceptible de presentar numerosos estados de oxidación, es decir, que puede ceder de 2 a 7 electrones a otros compuestos. Varios de estos estados son altamente oxidantes (propicios a captar electrones), lo que hace del manganeso un elemento ideal para efectuar la oxidación del agua. La configuración química de los átomos de manganeso en los diferentes estados S corresponde a distintos valores de oxidación de dichos átomos. Es difícil precisar el grado de oxidación de cada átomo en cada estado S; existen muchos modelos que tratan de explicarlo con detalle molecular, proponiendo distintas arquitecturas para el

cluster de manganeso, que además incluye otros elementos que se han encontrado asociados a él, como el calcio (Ca) y el bicarbonato (HCO_3^-).

Se ha observado que los estados S dependen no sólo de la oxidación del manganeso, sino también de la presencia de iones calcio y cloruro (Brudvig, G. W. y cols. *Annual Review of Biophysics and Biophysical Chemistry*, 18:25-46, 1989). Así, se ha establecido que la ausencia de estos iones inhibe la transición de S_3 a S_4 y a S_0 . Actualmente prosiguen las investigaciones sobre las funciones complementarias de los iones calcio y cloruro. La principal hipótesis atribuye a estos iones el papel de pantalla: protegerían el centro de manganeso, muy reactivo, del acceso demasiado precoz (es decir, antes de que se acumulen cuatro cargas positivas) de moléculas de agua. Un acceso anticipado del agua podría provocar la formación de peróxido de hidrógeno (agua oxigenada, H_2O_2), tóxico para la célula, y de manganeso Mn (II) inestable, que afectaría al fotosistema II. Por otra parte, el calcio y el cloruro podrían tener efectos de «compensación de carga» durante el ciclo de los estados S.

En cuanto a cómo es posible que la oxidación de dos moléculas de agua provoque la liberación de una molécula de oxígeno y de cuatro protones, los análisis fisicoquímicos más actuales demuestran que es el manganeso el que es oxidado etapa a etapa, y no el agua. Estas observaciones permiten suponer que la oxidación del agua se hace químicamente en una sola etapa, en una reacción concertada de cuatro electrones. Lamentablemente, esta reacción de liberación del oxígeno es muy difícil de analizar, ya que tiene lugar con extraordinaria rapidez: cuando el fotosistema II se encuentra en el estado S_3 y recibe un destello, la liberación se efectúa en unos milisegundos, por lo que todavía no ha podido descubrirse ningún intermediario de dicha reacción. Por otra parte, si la oxidación del agua se efectúa en una sola etapa, los cuatro protones resultantes deberían ser liberados de una sola vez, al mismo tiempo que la molécula de oxígeno; pero no es así. La liberación de protones puede seguirse si se mide con precisión la acidificación del medio durante la excitación del fotosistema II por un tren de destellos o flases. Estas mediciones indican que los protones son liberados progresivamente (Fig. 10-5). Incluso se ha demostrado que el número de protones liberados por centro de fotosistema II no es exactamente un número entero. Por este motivo, la mayoría de los investigadores piensa que los protones liberados no provienen directamente de la disociación del agua, sino de grupos acidobásicos susceptibles de intercambiar protones de aminoácidos próximos al *cluster* de manganeso. Por tanto, los protones liberados por oxidación del agua pasan al medio, pero a través de un proceso complejo en el que intervienen ciertos aminoácidos de las proteínas del lado del lumen del fotosistema II (principalmente las proteínas D1 y Psb0), dando lugar a un canal hacia el lumen para los protones que son producidos en la fotólisis del agua.

Finalmente, cabe señalar que, como se observa en la Figura 10-5, en la adecuada coordinación de todas estas reacciones fotoelectroquímicas son muy importantes las

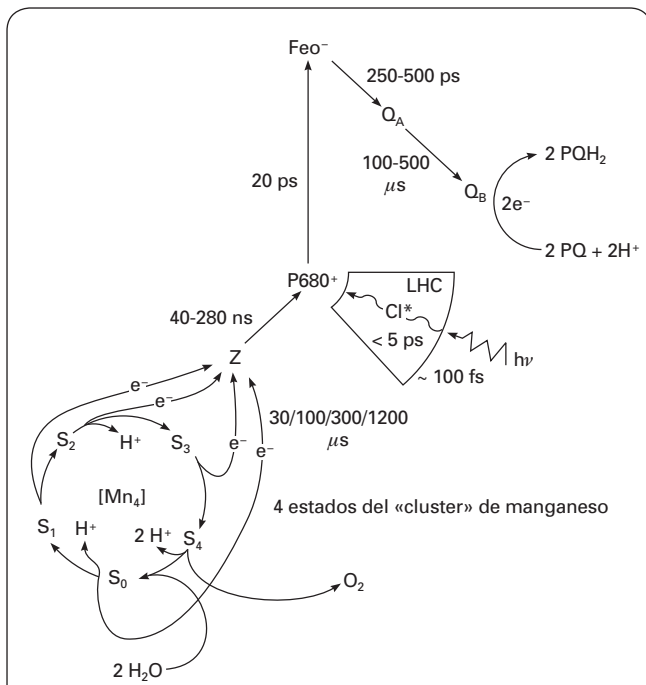
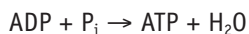


Figura 10-5. Esquema de los elementos redox que transportan electrones dentro del fotosistema II desde el agua a la plastoquinona, incluyendo los cinco estados (de S_0 a S_4) del *cluster* o centro de manganeso (Mn_4) que oxida el agua. Junto a las flechas se indican los tiempos o intervalos de tiempo en los que se produce cada transferencia.

velocidades propias de cada paso. Así, se observa que las reacciones más rápidas son las primeras que tienen lugar, de modo que el orden en la sucesión de acontecimientos está regido por el tiempo (con valores crecientes: pico-nano-micro-milisegundos, *ps-ns-μs-ms*). De este modo, tras la absorción fotónica (en femtosegundos) y la transmisión excitónica en la antena (en picosegundos), el proceso de transferencia electrónica empieza con la formación del primer radical doble (catión/anión, $P680^+/\text{Feo}^-$), que sucede en torno a unos 20 ps; continúa con la cesión a la primera quinona, en 250-500 ps, y con la captación desde la tirosina Z, en 40-280 ns. La cesión electrónica desde el *cluster* de manganeso es la más lenta; empieza hacia los 30 μs y termina en torno a 1200 μs. Es decir, el último paso que libera el oxígeno tarda más de un milisegundo. En el lado aceptor, cuatro electrones formarán dos moléculas de plastoquinona reducida (2 PQH_2); el tiempo de formación ($2 \times 500 \mu\text{s}$) coincide aproximadamente con el tiempo de producción de O_2 , de modo que todo el proceso queda coordinado. Este tipo de **coordinación de los tiempos de las reacciones** también se da en el funcionamiento del fotosistema I.

2.5. La ATP sintasa es un motor biomolecular movido por el gradiente de protones originado por el flujo electrónico fotosintético

Estrechamente acoplada al flujo fotosintético de electrones se encuentra la síntesis de adenosina-trifosfato (ATP) a partir de adenosina-difosfato (ADP) y fosfato inorgánico (P_i):



Esta fosforilación, al estar promovida por la luz, se denomina **fotofosforilación** o fosforilación fotosintética. Es catalizada por el último macrocomplejo enzimático anclado en la membrana tilacoide, que es la **ATP sintasa**. Ésta no interviene en el flujo electrónico, sino que utiliza la energía acumulada por la cadena redox fotosintética en forma de **fuerza protón-motriz**, es decir, la energía derivada del movimiento de protones desde el lumen al estroma a favor del gradiente.

El mecanismo íntimo de la fotofosforilación ha podido ser comprendido gracias a la **teoría quimiosmótica** formulada en el año 1961 por el bioquímico inglés Mitchell (galardonado con el Premio Nobel de Química en 1978), que establece que la energía de oxidorreducción que se libera cuando los electrones caen de nivel no se utiliza directamente en la síntesis de ATP, sino que se almacena, como etapa intermedia, en la energía acidobásica que se crea al establecerse una diferencia de concentración de protones (o potencial electroquímico protónico) entre uno y otro lado de las membranas biológicas.

A lo largo de la cadena de transporte electrónico fotosintético existen determinados puntos (los llamados **si-**

tios de acoplamiento), en los que el flujo de electrones se acopla con el movimiento de los protones a través de la membrana tilacoide. Aunque la localización exacta de los sitios de acoplamiento no se conoce, es muy probable que uno de los principales se sitúe a nivel de la plastoquinona. La plastoquinona/plastoquinol (PQ/PQH_2) es un transportador móvil que, en el lado estromático de la membrana, acepta electrones procedentes del fotosistema II y adquiere carga protónica, para después ceder los electrones al citocromo b_6f y descargarse de protones en el lado del lumen. En esta translocación de protones mediada por quinonas, el complejo citocromo b_6f desempeña un papel esencial, ya que tiene dos centros oxidorreductores de quinona, uno a cada lado de la membrana. Además, el citocromo b_6f está situado, en la cadena fotosintética, entre los dos fotosistemas. Por otro lado, físicamente asociado al fotosistema II, hay otro citocromo transmembrana, el citocromo $b559$, que también podría estar implicado en la translocación de protones.

Además de los sitios de acoplamiento, la propia fotooxidación del agua en el lumen tilacoide y la reducción de los piridinucleótidos (NADP^+) en el estroma cloroplástico son reacciones que implican liberación y captación de protones como producto y sustrato, respectivamente. Estas reacciones contribuyen, asimismo, a la creación del potencial electroquímico de protones a través de la membrana del tilacoide.

2.6. La fuerza protón-motriz sirve para la generación de ATP. Estequiometrías entre protones/electrones y ATP/NADPH

De acuerdo con la **teoría quimiosmótica** de Mitchell, el transporte unidireccional de protones a través de las membranas tilacoidales tiene lugar **desde el estroma al lumen** del tilacoide y, como se ha mencionado, lo llevan a cabo transportadores redox incluidos en los complejos fotosintéticos (PSII, Cit b_6f y PSI) que, de manera transversal-vectorial, se reducen y toman protones del estroma y, luego, se oxidan y liberan protones en el lumen. En una segunda etapa, el potencial o gradiente de protones así creado —el pH del lumen (pH 5.5-6.0) en cloroplastos iluminados es unas tres unidades más ácido que el pH del estroma (pH 8.0-8.5)— es utilizado en sentido contrario como fuerza **protón-motriz (Δp)**, y suministra la energía necesaria para la síntesis de ATP, catalizada por la **ATP sintasa** (también llamada **ATPasa**). La estructura molecular de esta enzima se expone en el Capítulo 9. Funcionalmente, el dominio de la ATP sintasa insertado en la membrana tilacoide, CF_0 , hace de conector lumen-estroma, y por él los protones del lumen vuelven al estroma a favor del gradiente. Es decir, CF_0 actúa como un canal que permite el paso o flujo regulado de los protones, y utiliza la energía de ese flujo para moverse a modo de rotor. Este movimiento de giro o rotación originado en el CF_0 de la ATPasa al pasar 3 H^+ se transmite a su dominio extrínseco, situado en el estroma, CF_1 , induciendo cambios

de conformación en la cabeza de la ATPasa que posibilitan la catálisis enzimática de unión de ADP y P_i para formar una molécula de ATP. Según lo anterior, se estima que la estequiometría de la transformación del **gradiente de protones** en una **síntesis de ATP** es de unos tres protones por molécula de ATP ($3 H^+/1 ATP$). Aplicando de modo cuantitativo la teoría de Mitchell, se obtiene la ecuación:

$$\Delta p = \Delta E_m - (2.3 R T / F) \Delta pH = \Delta E_m - 59 \Delta pH = \Delta E_m - 59 (pH_{in} - pH_{out})$$

donde Δp es la fuerza o energía **protón-motriz**, ΔE_m es el potencial eléctrico transmembrana y ΔpH es el gradiente de protones medido como gradiente de pH dentro (pH_{in} , en el lumen) frente a fuera (pH_{out} , en el estroma). A una temperatura estándar de 25 °C (298 °K), el valor de $2.3 R T / F$ es 59 mV, siendo R la constante de Boltzmann ($R = 8.3144 J \cdot K^{-1} \cdot mol^{-1}$) y F la constante de Faraday ($F = 96485 J \cdot mol^{-1}$ de electrones).

Es decir, la fuerza protón-motriz corresponde a unos 59 mV por unidad de pH ($\Delta pH = pH_{in} - pH_{out} = 1$), de modo que una diferencia de pH transmembranal de 1 es equivalente a un potencial eléctrico de membrana de 59 mV. En condiciones de transporte electrónico normal en los cloroplastos, el potencial eléctrico transmembrana (ΔE_m) es muy pequeño, y por eso la fuerza protón-motriz (Δp) viene generada casi exclusivamente por el ΔpH .

Respecto a la estequiometría entre protones y electrones H^+/e^- generados en el flujo de la cadena fotosintética, se ha calculado que con el **flujo lineal** se produce una translocación de cuatro protones por cada dos electrones transferidos desde H_2O a $NADP^+$ (es decir, $4 H^+/2 e^-$). Sin embargo, con el **flujo cíclico** que desde los fotosistemas (principalmente desde el fotosistema I) vuelve hacia el citocromo b_6f y las plastoquinonas, se produce una mayor translocación: seis protones cada dos electrones transferidos ($6 H^+/2 e^-$) sin producirse NADPH. (Nicholls, D. G. y Ferguson, S. J. En: *Bioenergetics 2*, Cap. 6:157-187, 1992.)

Con estos valores de translocación de protones, y dado que para producir un ATP se necesitan en torno a tres protones ($3 H^+/1 ATP$), se puede calcular que el flujo lineal produce algo más de 1 ATP (1.3) cada dos electrones, mientras que el flujo cíclico produce en torno a 2 ATP cada dos electrones. Todo ello tiene bastante importancia para el equilibrio y la homeostasis global de la fotosíntesis en sus dos fases, pues, como se indica en el Capítulo 11, en el ciclo de **Calvin** para la fijación de CO_2 se requieren tres moléculas de ATP por cada dos de NADPH. Es decir, se necesita más ATP que NADPH; pero como el flujo fotosintético lineal da casi un ATP y un NADPH, este flujo, si se mantuviera constante, daría lugar a una **escasez o falta de ATP**. Así se entiende la importante función del flujo cíclico fotosintético, que no da NADPH pero permite aumentar la producción de ATP, reequilibrando el desequilibrio señalado entre las necesidades de poder energético (ATP) y de poder reductor (NADPH) para la fijación de CO_2 .

3. DINÁMICA DEL APARATO FOTOSINTÉTICO

3.1. La distribución de proteínas en la membrana tilacooidal es dinámica y varía según el estado fotosintético: estado I y estado II

La distribución de proteínas en la membrana tilacooidal no es uniforme (Melis, A. *Biochimica et Biophysica Acta* 1058:87-106, 1991). Mientras que el complejo citocromo b_6f aparece distribuido más o menos uniformemente por toda la membrana, cada fotosistema se concentra en una zona distinta. El fotosistema II es más abundante en los tilacoides apilados, o **lamelas grana**, mientras que el fotosistema I abunda más en los tilacoides sin apilar, o **lamelas estromáticas**. En el Capítulo 9 (apartado 3.5) se ha descrito esta distribución lateral por zonas en los tilacoides. La Figura 10-6 muestra los dos tipos de lamelas y la diferente distribución de los fotosistemas en cada zona.

Además de la distribución por zonas, existe una posibilidad de movimiento y redistribución de los fotosistemas que hace que los tilacoides no sean un sistema estático, sino un sistema dinámico regulado por la cantidad y la calidad de la luz que les llega. Cuando la energía que llega al fotosistema II excede la que recibe el fotosistema I, la plastoquinona se acumula en forma reducida de plastoquinol (PQH_2), ya que el fotosistema I, por medio de la plastocianina y del citocromo b_6f , no puede oxidarla a suficiente velocidad. El exceso de plastoquinol activa una enzima quinasa que **fosforila LHCII** y modifica su estructura, por lo que disminuye su afinidad por el núcleo del fotosistema II, del que se disocia. La misma **fosforilación** induce la asociación de LHCII al fotosistema I. Este cambio en los tilacoides se denomina cambio de **estado I a estado II**, y en él el principal elemento móvil es el LHCII (Fig. 10-6 B). La antena asociada al fotosistema I incrementa la frecuencia con la que recibe excitones y, por consiguiente, causa un aumento de su velocidad de funcionamiento respecto al fotosistema II (que se ve frenado); con ello, el plastoquinol se oxida más rápidamente y la plastoquinona se reduce más lentamente. Suben así los niveles de plastoquinona, que induce la desfosforilación de LHCII y la reversión del proceso que acabamos de describir. Por tanto, el par redox plastoquinona/plastoquinol (PQ/PQH_2) parece actuar como un importante sensor que detecta los posibles desajustes entre las actividades de los dos fotosistemas y dispara este mecanismo corrector que redistribuye la energía.

Algunos datos indican que los dominios estromáticos de la LHCII no fosforilada tienen afinidad por sí mismos, de tal manera que la asociación de dos antenas (LHCII-LHCII) por sus regiones expuestas al estroma, entre LHCII de tilacoides distintos, provocaría la unión tilacoide-tilacoide para formar los apilamientos o grana. También se ha observado que cuando el tejido fotosintético se somete durante varios minutos a iluminación con luz azul, alternada con períodos similares de iluminación roja (para excitar preferentemente las

antenas del fotosistema II con luz azul o del fotosistema I con luz roja), se inducen cambios alternos en la abundancia de tilacoides apilados y no apilados. Estos hechos indican que existe una relación entre los cambios morfológicos en los tilacoides y las situaciones de exceso de energía sobre uno u otro fotosistema.

3.2. El estado funcional de los fotosistemas provoca también una distinción entre formas α y formas β

Los fotosistemas I y II, como complejos enzimáticos, pueden estar en **forma activa funcional** o en **forma inactiva no funcional**. De hecho, en los tilacoides se han diferenciado dos tipos de fotosistema II (PSII), que se han encontrado distribuidos de manera distinta: la forma principal y mayoritaria, denominada PSII $_{\alpha}$, que se encuentra en las lamelas grana, y otra forma mucho menos abundante que se encuentra en las lamelas estromáticas, denominada PSII $_{\beta}$ (Fig. 10-6 B). La segunda forma, PSII $_{\beta}$, parece que no es fotoquímicamente activa, y está relacionada con el **proceso de recambio** (en inglés, *turnover*) de algunas de las proteínas del fotosistema. Este recambio de proteínas se produce cuando alguna de ellas deja de funcionar adecuadamente por sufrir una alteración química. El recambio es especialmente frecuente en el caso de las subunidades proteicas que realizan el mayor esfuerzo de conversión energética dentro de los fotosistemas. En el fotosistema II esta subunidad proteica es la **proteína D1**, la cual contiene como grupos prostéticos las moléculas redox implicadas en los primeros pasos de la transferencia electrónica fotosintética (véase el Capítulo 9, apartado 4.2). La proteína D1 es la que tiene una mayor **tasa de recambio** de todas las proteínas del cloroplasto. Este hecho está relacionado con el proceso fisiológico de la **fotoinhibición**, que se explica en la siguiente sección de este capítulo.

Toda la síntesis de proteínas tilacoidales nuevas está asociada a las lamelas estromáticas, ya que el recambio se realiza en esta zona de los tilacoides. Los ribosomas presentes en el estroma cloroplástico que leen los mRNA se acercan a las lamelas estromáticas para facilitar la inserción en los tilacoides de las proteínas de membrana nuevas, que van luego a ensamblarse en los complejos fotosintéticos. Las formas β de PSII y, también, de PSI (PSII $_{\beta}$, PSI $_{\beta}$), corresponderían a estos complejos que están en las lamelas estromáticas en proceso de ensamblaje o desensamblaje. En la Figura 10-7 se ilustra cómo se produce este proceso en sus distintas etapas para el caso del fotosistema II, que es el más significativo. Una vez montados, los fotosistemas pasan a la forma α activa. El PSII $_{\alpha}$ se mueve hasta los grana y el PSI $_{\alpha}$ se queda en las lamelas estromáticas. Existen bastantes datos experimentales que indican que, cuando el fotosistema II pasa a los grana, además de conectarse a su antena LHCII, se asocia en dímeros, de modo que en su estado funcional activo PSII $_{\alpha}$ sería dímérico.

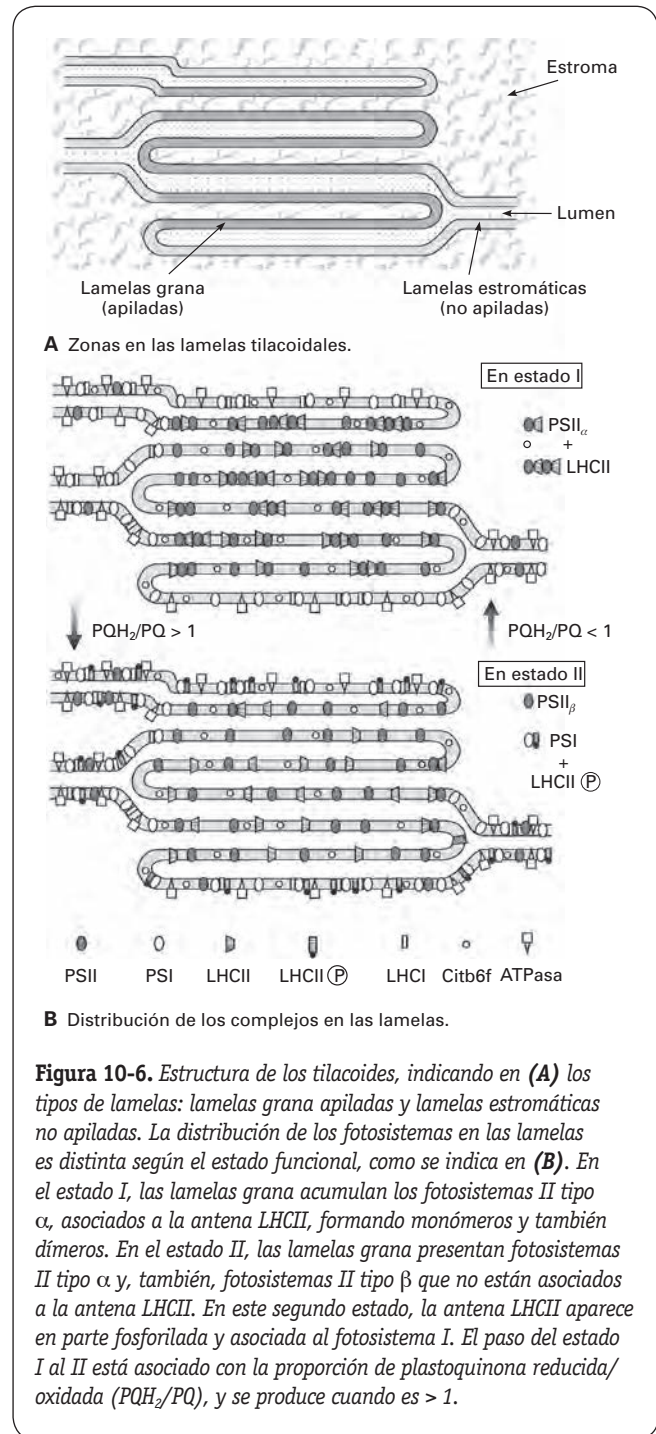


Figura 10-6. Estructura de los tilacoides, indicando en (A) los tipos de lamelas: lamelas grana apiladas y lamelas estromáticas no apiladas. La distribución de los fotosistemas en las lamelas es distinta según el estado funcional, como se indica en (B). En el estado I, las lamelas grana acumulan los fotosistemas II tipo α , asociados a la antena LHCII, formando monómeros y también dímeros. En el estado II, las lamelas grana presentan fotosistemas II tipo α y, también, fotosistemas II tipo β que no están asociados a la antena LHCII. En este segundo estado, la antena LHCII aparece en parte fosforilada y asociada al fotosistema I. El paso del estado I al II está asociado con la proporción de plastoquinona reducida/oxidada (PQH_2/PQ), y se produce cuando es > 1 .

4. FOTOPROTECCIÓN Y FOTOINHIBICIÓN DEL APARATO FOTOSINTÉTICO

4.1. La tasa global fotosintética de un vegetal es una medida de su capacidad para crecer

Las dos fases de la fotosíntesis en las plantas, la **primera**, de **transducción de energía**, y la **segunda**, de **asimilación de**

elementos constitutivos, están íntimamente entrelazadas y coordinadas, como partes de un proceso global de nutrición autotrófica. Para analizarlas cuantitativamente se pueden considerar dos variables generales como expresión de la función de cada «fase»:

- El rendimiento cuántico fotoelectroquímico, Φ .
- La tasa de asimilación metabólica, P_m .

La primera variable (Φ) es una expresión de la velocidad de las reacciones fotoquímicas y, a veces, se denomina eficacia fotosintética. La segunda (P_m) es expresión de la velocidad de las reacciones de asimilación. La **tasa global fotosintética** de un vegetal, que se relaciona con su tasa de crecimiento, viene dada por la combinación de ambas variables (Φ y P_m), de modo que el frenado o la disminución de cualquiera de ellas se manifiesta en una **inhibición fotosintética**.

La luz es el principal factor limitante de la primera variable, y los nutrientes inorgánicos, entre ellos el dióxido de carbono, CO_2 , y el agua, H_2O , son los principales factores limitantes de la segunda. Es claro que el defecto de uno de estos elementos (luz o nutrientes) es perjudicial para las plantas, pero cada vez se van perfilando más ejemplos en los que también el exceso de uno de ellos disminuye la actividad vegetal (véase también el Capítulo 13). Por otro lado, cada vez se van descubriendo en las plantas más **sistemas biomoleculares de regulación fotosintética** ante las distintas circunstancias de luz y nutrientes. Muchos de estos sistemas estimulan la **fotoprotección** ante excesos de luz o falta de nutrientes (véanse los Capítulos 13 y 29).

4.2. El aparato fotosintético está regulado, en primer lugar, por la luz, que puede ser un factor tanto limitante como estresante

En este capítulo estamos estudiando la **primera fase** de la fotosíntesis (la segunda fase se aborda en los capítulos siguientes). Para entender bien el funcionamiento de esta fase es preciso conocer cómo regulan las plantas el uso de su primera fuente, la **luz**, ya que las plantas, al contrario que muchas algas, que nadan libres en medios acuáticos, no pueden moverse para huir de la luz cuando llega en exceso o para buscarla cuando falta en una zona sombreada (véanse los Capítulos 13 y 29).

La energía luminosa que llega del sol y es absorbida por una planta sólo puede seguir dos caminos o vías posibles: 1) ser **transformada** eficazmente en otra forma de energía acumulable (energía química) mediante el proceso de conversión fotoelectroquímica de la fotosíntesis; o 2) ser **disipada** por conversión a otras formas de energía radiante no acumulable (como radiación de luz fluorescente o radiación de calor).

Estas dos vías están en continuo equilibrio y en relación inversa, cuando aumenta la primera (transformación eficaz), disminuye la segunda (disipación), y viceversa. La tasa global fotosintética de una planta sana y con suficientes nutrientes inorgánicos aumenta linealmente desde la oscuridad con la

cantidad de luz (llamada **densidad de flujo fotónico fotosintético, PPF**) hasta llegar a un nivel de saturación, en el cual la energía sobrante no puede ser utilizada. El nivel de saturación depende de las características propias de cada especie o variedad, y del estado fisiológico y las condiciones nutricionales específicas de cada planta. El exceso de luz tiene que ser disipado porque, si no, puede «quemar» la planta. De hecho, en esto consiste propiamente el fenómeno fisiológico denominado **fotoinhibición**, en el cual el daño provocado por la excesiva luz hace disminuir la tasa fotosintética de las plantas (Barber, J. y Andersson, B. *Trends in Biochemical Sciences* 17:61-66, 1992).

4.3. El fotosistema II es el centro fotorregulador en el que tiene lugar el proceso de fotoinhibición a nivel molecular

Como centros de reacción, los fotosistemas puede ser comparados con un «reactor» de una central nuclear que está sometido a una tensión energética muy grande. El reactor tiene que tener numerosos sistemas de seguridad que lo apaguen o lo cierren en caso de emergencia, para evitar que la energía se canalice hacia lugares no previstos.

Algo así sucede en las plantas con el fotosistema II, que es un reactor natural fotosintético muy bien protegido y, también, el que tiene más probabilidades de ser dañado. De todos los fotosistemas conocidos (véase la Fig. 10-3), el fotosistema II es el que tiene que realizar un mayor trabajo energético (medido en $\Delta E_0'$, aproximadamente 2 voltios, 1.84 V, por cada cuanto de luz absorbido), ya que debe ser capaz de oxidar el agua (a un potencial redox de aproximadamente -1.2 V) y reducir una feofitina (a un potencial redox de aproximadamente $+0.7$ V). Los restantes fotosistemas conocidos, incluido el fotosistema I de las plantas, ejercen un trabajo energético menor de 1.7 V ($\Delta E_0'$). Por ello, se puede decir que el fotosistema II es el de mayor esfuerzo y el punto débil del aparato fotosintético, como el filamento de una bombilla, que es lo que primero se puede romper (Aro, E. M. y cols. *Biochimica et Biophysica Acta* 1143:113-134, 1993).

Debido a estas propiedades, el fotosistema II es el centro fotosensible regulador más importante de la actividad fotosintética, siendo su **fotosensibilidad** el medio de control que tienen las plantas para «encender» o «apagar» el proceso de transformación de energía luminosa en energía electroquímica. Cuando la intensidad de la luz sobrepasa la capacidad de absorción y transformación de la planta, se desencadena en torno al fotosistema II toda una serie de mecanismos de **desacoplamiento** y **desactivación**, con objeto de maximizar la disipación de energía y minimizar el daño global sobre el aparato fotosintético y, de este modo, proteger a la planta. Así pues, la especial sensibilidad del fotosistema II está asociada al disparo de los mecanismos moleculares de **fotoprotección**.

A los sistemas de **protección** se añaden los sistemas de **reparación**: para mantener la función a pesar del daño, la planta cuenta con una maquinaria de reparación que arre-

gla continuamente el daño sufrido. De hecho, el fotosistema II resulta dañado con relativa frecuencia, en su polipéptido central D1. La ruptura del polipéptido D1 es una manera de proteger todo el complejo, a modo de un fusible que evita que todo el sistema se «queme» y que hace que sólo se necesite un recambio pequeño. Las plantas minimizan así el daño, centrándolo en un solo polipéptido, de los más de veinte que contiene el fotosistema II. La proteína D1 forma parte del centro de reacción del fotosistema II y en su estructura molecular se insertan, como grupos prostéticos, clorofila, feofitina, caroteno y quinonas, las moléculas implicadas en los primeros pasos del transporte electrónico. El recambio molecular de D1 se produce continuamente, incluso cuando las plantas reciben intensidades de luz normales no fotoinhibitorias. Por ello, esta proteína tiene una tasa de recambio superior en varios órdenes de magnitud a las del resto de las proteínas de la membrana tilacooidal. El proceso de daño y sustitución de D1 se ilustra en la Figura 10-7.

Considerando la extensión y el volumen del reino vegetal, se puede afirmar que D1 es la proteína más sintetizada en todo el planeta. Tal vez éste sea el precio que las plantas tienen que pagar por ser capaces de utilizar el agua como fuente de protones y electrones, genera «residualmente» una molécula tan peligrosa como el oxígeno molecular gas (O_2).

Cuando los mecanismos de desacoplamiento o de reparación fallan o no son suficientes para aguantar la intensidad de energía luminosa que llega a una planta, ésta sufre el citado proceso de fotoinhibición efectivo, que disminuye su eficacia fotosintética y su capacidad asimiladora. Estos procesos fotoinhibitorios pueden disminuir drásticamente la producción vegetal y suelen estar inducidos por la combinación de un **exceso de luz** con distintos tipos de **estrés nutricional**, como falta de agua (hídrico), falta de algún nutriente esencial (nitrato, hierro, etc), exceso de sales en el suelo (salino), etc. (véase el Capítulo 29).

4.4. Los mecanismos de desacoplamiento permiten la disipación del exceso de energía y protegen contra la fotoinhibición

Los procesos de disipación activa de energía se denominan procesos de **protección fotodinámica** del aparato fotosintético, y funcionan cuando éste no puede asimilar convenientemente la energía que recibe.

Hemos visto que para la asimilación de energía fotosintética se pueden distinguir dos pasos: 1) la absorción y transferencia de fotones en las antenas, y 2) la conversión fotoeléctrica y la transferencia redox de electrones en los centros de reacción de los fotosistemas. En correspondencia con estos dos pasos existen dos **mecanismos de desacoplamiento** que permiten la disipación de la energía:

- 1) mecanismos de desacoplamiento de la transferencia de fotones **en las antenas**;

- 2) mecanismos de desacoplamiento de la transferencia de electrones **en los centros de reacción**.

En los apartados siguientes se explican estos mecanismos de protección que protegen a las plantas contra la fotoinhibición.

4.5. El aumento de la emisión de fluorescencia es un modo de disipar energía en las antenas

Son mecanismos de desacoplamiento de la transferencia de fotones en las antenas (primer tipo de desacoplamiento citado) los procesos de **extinción de estados excitados de clorofilas** por cambios de estado de las antenas. En este sentido, la **migración** de antenas, que se da con los cambios o transiciones entre estado I y estado II ya descritos, sirve para modular la energía que llega a cada fotosistema. También la **agregación** de antenas, que está mediada por variaciones en el ciclo de las xantofilas y en el gradiente de pH del tilacoide, es un mecanismo necesario para aumentar la extinción de las clorofilas excitadas.

Las clorofilas son pigmentos que tienen la propiedad de poder extinguir su estado excitado emitiendo energía en forma de una luz de mayor longitud de onda que la que absorben. Esta emisión se denomina **fluorescencia** (véase apartado 2.2 del Capítulo 9). Normalmente, las clorofilas engarzadas en los complejos fotosintéticos apenas emiten fluorescencia, porque están dispuestas para transmitir rápidamente la energía de su estado excitado hasta los centros de reacción, convertirla allí en energía electroquímica y realizar así la fotosíntesis. Sin embargo, se ha comprobado que las plantas pueden aumentar la emisión de fluorescencia de sus clorofilas modificando el estado o la estructura de las antenas, y éste es un modo eficaz de disipar energía cuando hay un exceso de luz (Szabo, I. y cols. *EMBO Reports* 6:629-634, 2005) (véase el Capítulo 13).

La modificación del estado o la morfología molecular de las antenas se asocia a dos fenómenos bioquímicos en el tilacoide:

- 1) la concentración de gran número de protones en el lumen que genera un fuerte gradiente de pH;
- 2) la transformación de la xantofila violaxantina en zeaxantina por desepoxidación (en el llamado **ciclo de las xantofilas**) (véase el Capítulo 29).

Se ha demostrado que ambos procesos son fotoinducidos, y que afectan drásticamente y directamente al estado de agregación y a la conformación de LHClI y, por ello, a su capacidad para emitir fluorescencia. Cuando en el lumen el pH es bajo (5.0-6.0) y la proporción de zeaxantina/violaxantina asociada a la antena está aumentada, la LHClI emite más fluorescencia y, con ello, aumenta la disipación de energía radiante y descendiendo el rendimiento fotosintético.

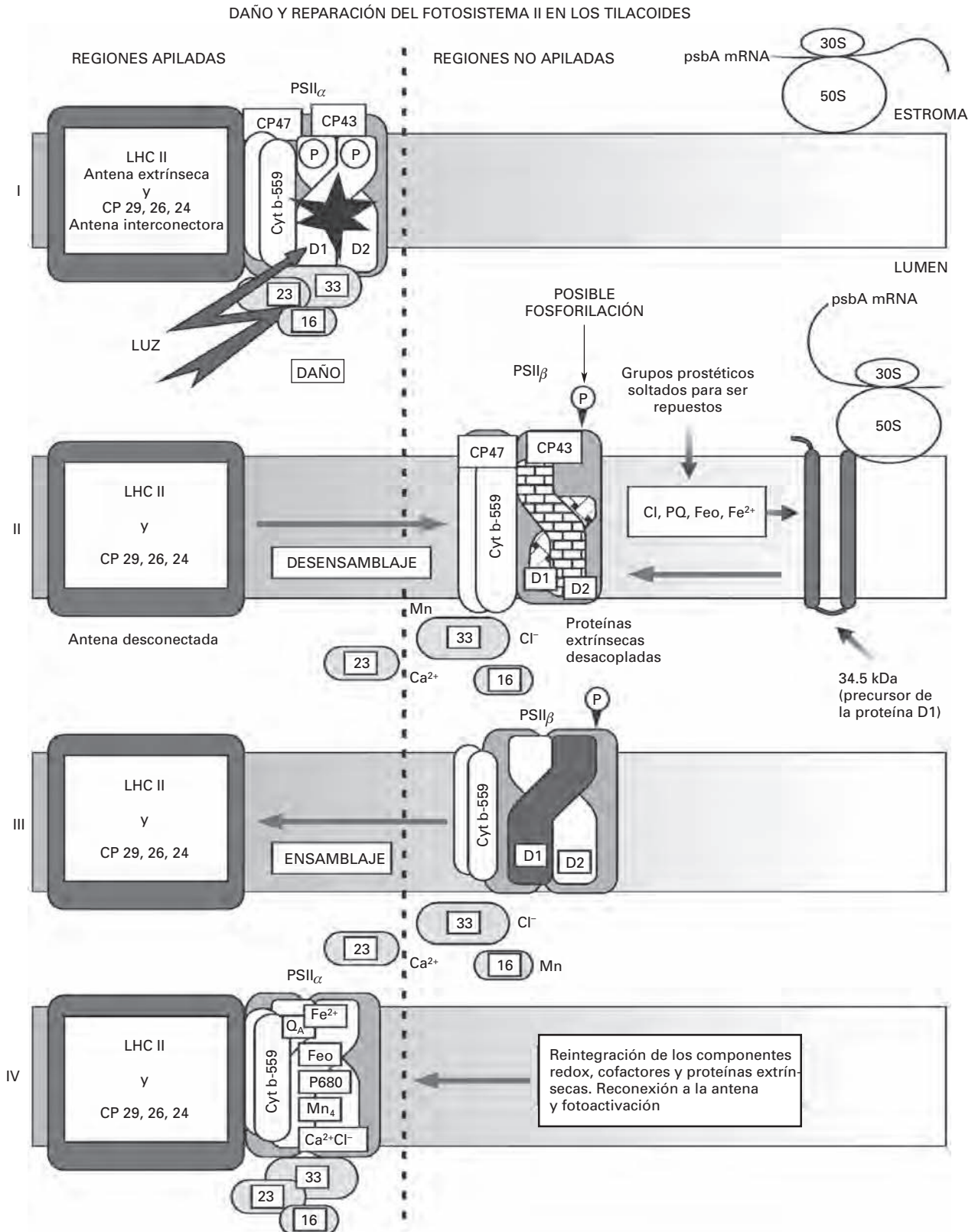


Figura 10-7. Modelo del proceso de fotolesión del fotosistema II y sustitución de la proteína D1. Tras el daño fotoquímico, el fotosistema II se desconecta de la antena LHCII y pasa a desensamblarse a la lamela estromática, donde una nueva D1 recién sintetizada sustituye a la inactivada. El fotosistema II reparado, todavía no activo, regresa a la lamela grana y se reconecta con la LHCII para reiniciar su actividad fotoelectroquímica.

4.6. Los flujos cíclicos de electrones en torno a los centros de reacción son también válvulas de escape en situaciones fotoinhibitorias

Mecanismos de desacoplamiento energético del segundo tipo son los procesos de **interrupción del transporte electrónico lineal** normal (desde H_2O hasta $NADP^+$) entre los fotosistemas I y II. Entre los tipos de interrupción conocidos se encuentran los **flujos cíclicos**, que provocan que en un cierto paso redox, el electrón vuelva a ser tomado por un elemento de la cadena por el cual ya había pasado. Estos flujos disipan parte de la energía porque suponen un considerable incremento de la entropía de la reacción fotosintética global. Asimismo, los procesos de **extinción de los radicales iónicos** libres, es decir, los procesos que facilitan la desionización, inducen la interrupción del transporte electrónico.

El flujo cíclico de electrones en torno al fotosistema I es bien conocido, y consiste en que los electrones sean devueltos desde la ferredoxina hacia elementos anteriores de la cadena fotosintética, en un ciclo mediado por el *pool* de plastoquinonas y por su complejo intermediario citocromo b_6f (véase la Fig. 10-4). Este flujo cíclico no produce NADPH, sino que utiliza parte de la energía redox acumulada después del fotosistema I para bombear protones a través de la membrana fotosintética y, a la vez, disipa el resto de la energía en forma de calor (por el aumento de entropía en el proceso cíclico). Como se ha señalado en el apartado 2.6, este movimiento de protones aumenta el gradiente de pH utilizado posteriormente por la ATP sintasa para obtener ATP, lo que da lugar a la llamada fotofosforilación cíclica, que desde el punto de vista energético es menos eficiente que la lineal, ya que una parte importante de la energía es disipada en forma de calor.

Hasta 1990 no se habían obtenido datos experimentales que avalasen la existencia de algún tipo de flujo cíclico de electrones en torno al fotosistema II. Sin embargo, estudios moleculares posteriores sobre la fotoinhibición indicaron que existía una interrupción frecuente del transporte electrónico lineal normal en el fotosistema II. De ello se podía deducir la existencia de algún mecanismo de disipación alternativo similar al descrito para el fotosistema I.

Investigaciones recientes sobre la función del **citocromo b559** lo han implicado en un camino alternativo para los electrones en torno al fotosistema II, planteando la posibilidad de que exista otra vía de disipación de energía, similar tal vez a un «segundo flujo cíclico» a través de dicho fotosistema (Fig. 10-8). Este citocromo aparece siempre estrechamente asociado al centro de reacción del fotosistema II. Con métodos experimentales se ha caracterizado la existencia de este citocromo en dos formas de distinto potencial redox: una de **bajo potencial** (LP), que en la oscuridad está oxidada, y otra de **alto potencial** (HP), que en la oscuridad tiende a estar reducida. Se ha demostrado también que, en ciertas condiciones, se puede dar una fotorreducción y una fotooxidación alternativas de este citocromo, y que existe una clara influencia del pH sobre estos procesos redox. Además, se ha visto que el funcionamiento de

este flujo alternativo fotoinducido de electrones hacia el citocromo b559 está íntimamente ligado a la interrupción del flujo electrónico lineal en el fotosistema II, es decir, a procesos de fotoinhibición de su actividad normal. Todos estos descubrimientos han permitido proponer un nuevo modelo funcional para el enigmático citocromo b559, que durante casi treinta años ha sido un punto oscuro en la investigación sobre la fotosíntesis (Barber, J. y De Las Rivas, J. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* 90:10942-10946, 1993). En la Figura 10-8 se presentan dos esquemas que ilustran el modelo funcional del citocromo b559 postulado. Como se ve, el citocromo se sitúa en paralelo al flujo electrónico lineal normal en el fotosistema II. Su funcionamiento estaría, así, ligado al desacoplamiento de este transporte electrónico lineal en condiciones fotoinhibitorias del lado aceptor o del lado donador del

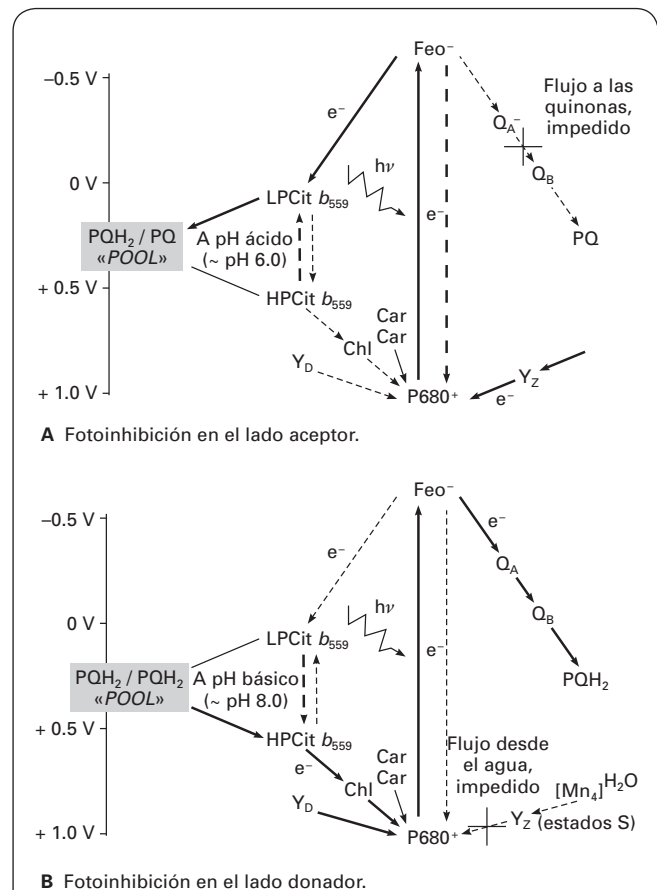


Figura 10-8. Esquema de dos modos alternativos de transferencia electrónica en torno al fotosistema II en caso de alteración por fotoinhibición del transporte electrónico normal. Ambos casos implican la función del citocromo b559 como aceptor, alternativo de electrones en (A), o donador, en (B). **A.** La forma LP de bajo potencial del citocromo está oxidada a pH ácido y es capaz de tomar un electrón. **B.** La forma HP del alto potencial del citocromo está reducida a pH básico y es capaz de ceder un electrón. El potencial redox de las formas LP y HP del citocromo están justo por encima de PQ y justo por debajo de PQH_2 , respectivamente, de modo que en la oscuridad ceden o toman electrones del pool de plastoquinona.

fotosistema II, es decir, al fallo de los aceptores o los donadores secundarios. La vía alternativa de transferencia hasta o desde el citocromo estaría luego conectada y en equilibrio con el *pool* de plastoquinona/plastoquinol presente en los tilacoides, que actuaría como un amortiguador redox de electrones. Como se ve en la Figura 10-8, se trata propiamente de un pseudociclo ya que, según el modelo, no se dan a la vez una oxidación y una reducción consecutiva del citocromo, sino que éstas tienen lugar en dos situaciones distintas, existiendo un mecanismo molecular (a modo de «interruptor») que hace que el citocromo pase de un estado a otro. Sin embargo, según ciertos autores, sí puede ocurrir que la alternancia de oxidación y reducción del citocromo vaya acompañada de una translocación de protones, lo cual daría a todo este proceso una función parecida a la descrita en el flujo cíclico en torno al fotosistema I. Estas ideas son tema de investigación actual y están en discusión.

5. COORDINACIÓN Y PROPORCIÓN EN LA PRODUCCIÓN DE ATP Y NADPH Y EQUILIBRIO O₂/CO₂

Cuando los fotosistemas PSI y PSII funcionan en serie, por cada molécula de NADP⁺ que se reduce a NADPH (con dos electrones transferidos desde una molécula de H₂O), normalmente se produce la fosforilación de 1.33 moléculas de ADP a ATP. Este número se deduce de los datos del acoplamiento de la fosforilación con la cadena electrónica fotosintética a través del gradiente de protones. En este acoplamiento, se calcula que en la ATP sintasa se necesitan 3 H⁺ por ATP producido (como se ha indicado en el apartado 2.6), y que en el transporte electrónico fotosintético lineal se translocan unos 4 H⁺ por cada dos electrones que pasan por la cadena. De este modo, el rendimiento en ATP por cada dos electrones que atraviesan la cadena fotosintética de forma lineal es $4/3 = 1.33$. Esta formación de ATP acoplada a la reducción de NADP⁺ se denomina **foto fosforilación no cíclica**.

Debido a la dinámica del aparato fotosintético (véase el apartado 3), se entiende que los dos fotosistemas, PSI y PSII, no tienen que funcionar siempre exactamente a la misma velocidad. Las relaciones entre las cantidades de ATP y NADPH que requieren las distintas rutas biosintéticas del cloroplasto no tienen por qué coincidir con 1.33. Por ejemplo, como ya se ha indicado, en la ruta de **asimilación del CO₂**, que es la más importante desde el punto de vista cuantitativo y la que en mayor grado determina el consumo global de energía metabólica, la relación ATP/NADPH consumidos es de $3/2 = 1.5$ (véanse el apartado 2.6 y el Capítulo 11). Así pues, en este caso hace falta una mayor proporción de ATP respecto a lo que puede producir la transferencia lineal de electrones desde el H₂O hasta el NADP⁺. Ese ATP adicional puede obtenerse del funcionamiento cíclico de los electrones en torno a un fotosistema que produce un incremento en el gradiente de protones transtilacoidal, que servirá para aumentar la producción de ATP en la llamada **foto fosforilación cíclica**.

El flujo electrónico cíclico se da, fundamentalmente, en torno al PSI, lo que exige que una fracción de los excitones

que llegan al PSI se dedique a reoxidar ferredoxina reducida, en vez de plastoquinol, y que el número total de excitones procesados por el PSI sea superior a los que utiliza el PSII.

El rendimiento energético global del flujo cíclico es menor que el del flujo lineal, y por ello este tipo de flujo es análogo a los llamados ciclos metabólicos **fútiles**, que sirven, entre otras cosas, para producir calor y disipar energía. Como se ha comentado en el apartado 4, la disipación del exceso de energía es también una función esencial de los flujos cíclicos de los fotosistemas.

Otras situaciones que modifican la proporción ATP/NADPH son aquellas en las que la planta no puede utilizar la energía metabólica producida en la membrana fotosintética, ATP y NADPH, por una falta de nutrientes que conduce a la carencia de los sustratos metabólicos adecuados. Tal es la situación de la planta sometida a **escasez de agua**, que reacciona restringiendo el intercambio de gases para frenar la desecación y que, como consecuencia de tal restricción, queda desnutrida de CO₂ al cerrar los estomas. Al no fijarse tanto CO₂, se acumulan sin gastarse ATP y NADPH, lo que hace que los niveles de NADP⁺ y ADP se agoten, que son los sustratos finales de la cadena fotosintética. Con ello se impide el funcionamiento normal de la transferencia electrónica.

En estas circunstancias de estrés se producen las condiciones metabólicas que favorecen los desajustes entre las etapas fotosintéticas, y se hace necesario utilizar activamente toda clase de mecanismos protectores (como los que se han descrito en el apartado 4). Entre éstos figuran, además de los ya mencionados, otras rutas o ciclos metabólicos fútiles en los que se consume NADPH, ATP, o ambos, sin un propósito necesariamente biosintético. Tal vez el ejemplo más extendido e importante de ruta fotosintética fútil sea el de la **fotorrespiración** (véase el Capítulo 12). Esta ruta metabólica opera preferentemente cuando descienden los niveles de CO₂ y aumentan los de O₂. En la fotorrespiración se consumen gran número de moléculas de ATP y de NADPH por cada oxigenación de ribulosa bisfosfato (véase el Capítulo 12). Por ello, resulta muy eficiente para la regeneración de ADP y de NADP⁺, así como para aliviar el bloqueo del sistema de transferencia electrónica e impedir la acumulación de poder reductor.

Alternativamente a la fotorrespiración, en la que la rubisco actúa como **oxigenasa** consumiendo O₂ (véase el Capítulo 12), existe en el PSI la posibilidad de una reducción directa del O₂ a ion superóxido (O₂⁻, véase también el Capítulo 29), de manera que el O₂ puede actuar como aceptor final de electrones en la fotosíntesis. La eliminación del ion superóxido mediante la enzima **superóxido dismutasa** (SOD) utiliza H⁺ y produce agua oxigenada (H₂O₂) (véanse el apartado 4.8 y el Capítulo 29). El conjunto de estas reacciones se conoce clásicamente como **reacción de Mehler**:



El funcionamiento excesivo o inadecuado de la reacción de Mehler es el origen de muchas **especies activadas del oxígeno** (véase el Capítulo 29), las cuales son peligrosas para muchas moléculas y membranas celulares. Por tanto, la producción de especies reactivas derivadas del O₂ debe ser

minimizada, y es necesario eliminarlas mediante mecanismos de detoxificación, para evitar procesos de fotooxidación y la consecuente fotoinhibición (véase el Capítulo 29).

Salvando el problema de la formación de radicales de O_2 , el transporte lineal de electrones desde el agua hasta el O_2 a través de los fotosistemas genera un gradiente protónico (al igual que el transporte desde el agua hasta el $NADP^+$) y, por tanto, se puede acoplar a la síntesis de ATP. Este tipo de fotofosforilación se denomina **pseudocíclica**, porque en

aparición se parece a la fotofosforilación cíclica, ya que el balance global de producción de O_2 es cero. Es decir, la producción de O_2 que tiene lugar en la fotólisis del agua se compensa con el consumo de O_2 a nivel del PSI en el llamado ciclo agua-agua de los cloroplastos (véase Asada, K., 1999). La cantidad de ATP que se forma por **fotofosforilación pseudocíclica** puede ser significativa y provechosa en circunstancias fisiológicas en las que la concentración del aceptor $NADP^+$ disminuye.

RESUMEN



- Para que la fotosíntesis funcione, los pigmentos fotosintéticos deben estar engarzados en sistemas biomoleculares capaces de absorber la **energía luminosa**, de transmitir la energía absorbida, y de convertirla en una energía no radiante, estable y acumulable en un organismo, como es la **energía química**.
- Estos sistemas biomoleculares compuestos por grandes complejos pigmento-proteína se denominan **fotosistemas**, y son las unidades básicas para la realización de la fotosíntesis. Funcionalmente están constituidos por un núcleo o **centro de reacción**, hacia donde se canaliza la energía de excitación y se transforma en energía química redox, y una **antena**, colectora de luz, capaz de absorber los fotones que le llegan y de transmitir la energía absorbida en forma de excitones hasta el centro de reacción.
- En las plantas existen dos fotosistemas: el fotosistema I y el fotosistema II (**PSI** y **PSII**), y sus antenas correspondientes son **LHCI** y **LHCII**, respectivamente. El mecanismo clave de funcionamiento de las antenas es el **acoplamiento excitónico**, de manera que son como un mosaico de clorofilas engarzadas sobre el cual los excitones se mueven al azar en picosegundos.
- La zona común de interconexión entre la antena y el centro de reacción de un fotosistema está constituida por unas **clorofilas especiales (P)**, que son el punto de término de la energía de excitación transmitida (P^*) y el punto de inicio de la primera separación de carga con transferencia de un electrón a un aceptor primario A (P^*A^-).
- En estas clorofilas especiales, denominadas P700 y P680 en PSI y PSII, respectivamente, se produce la conversión de la energía excitónica en energía electroquímica redox.
- A estas clorofilas se conecta toda una serie de elementos redox que se oxidan y se reducen alternativamente, y que están engarzados en la estructura proteínica de los tres grandes complejos fotosintéticos (PSI, PSII y Cit b_6/f) y de los intermediarios entre ellos (PQ, Pc, Fd y FNR).
- Todos estos elementos redox constituyen la **cadena de transporte electrónico fotosintético**. Si se representan los elementos de la cadena frente al potencial redox, se obtiene el llamado esquema en Z.
- El primer donador de esta cadena es el H_2O , que se oxida en el lumen tilacoidal alimentando al PSII; y el último aceptor es el $NADP^+$, que se reduce en el estroma recibiendo los electrones de Fd-FNR, que a su vez los reciben del PSI.
- La **fotólisis del agua**, que origina como subproducto oxígeno molecular (O_2), es mediada por un *cluster* de manganeso (Mn_4) ubicado en el PSII. Estrechamente acoplada al flujo fotosintético de electrones se encuentra la síntesis de ATP catalizada por la **ATP sintasa**. Para esta síntesis se utiliza la energía acumulada por la cadena redox en forma de energía o **fuerza protón-motriz**.
- La ubicación de las proteínas fotosintéticas en la membrana tilacoidal no es uniforme, y está sometida a cambios dependientes del estado funcional que, a su vez, es regulado por la cantidad y la calidad de la luz que les llega. La distribución de la energía de excitación entre los dos fotosistemas cambia según el estado de la plastoquinona y de LHCII, dando lugar a dos estados funcionales: estado I y estado II.
- Asimismo, el PSI y el PSII, como complejos enzimáticos que son, pueden estar en forma activa funcional o en forma inactiva no funcional, lo cual da lugar a dos tipos de fotosistemas: α y β ($PSII_\alpha$ y $PSII_\beta$). La inactivación está relacionada con un exceso de luz o con la incapacidad para absorber toda la luz incidente.
- La energía en exceso debe ser disipada porque, si no, puede provocar **fotoinhibición**, en la que el daño provocado por la excesiva luz hace disminuir la tasa fotosintética global. El PSII es el principal centro fotosensible regulador de la actividad fotosintética, siendo su fotosensibilidad el mecanismo de control que tienen las plantas para conseguir esa regulación.
- Cuando la intensidad de luz sobrepasa la capacidad de absorción, se pone en marcha una serie de mecanismos de desacoplamiento y desactivación con el fin de maximizar la disipación de energía y minimizar el daño global sobre el aparato fotosintético, protegiendo así a la planta. Estos **mecanismos de protección** operan a nivel molecular, provocando el desacoplamiento de la transferencia de fotones en las antenas y el desacoplamiento de la transferencia de electrones en los centros de reacción.



PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1 Calcule en eV la energía de un fotón de longitud de onda 430 nm y de otro de longitud de onda 680 nm. ¿A qué zona del espectro visible corresponden estos fotones?
- 2 ¿Cuál es la energía mínima necesaria que debe ser absorbida en el centro de reacción del fotosistema II para que un electrón circule por los diferentes transportadores, y cuál para el fotosistema I?
- 3 ¿Cuál es la característica que hace a una molécula fotosensible?
- 4 ¿Cuál es el elemento más oxidante en el esquema en Z fotosintético y cuál el más reductor, según la escala de potencial redox?
- 5 ¿Qué diferencias estructurales principales se dan en los tilacoides entre los denominados estado I y estado II?



RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1 $E_{430} = 2.88$ eV (es un fotón de luz azul); $E_{680} = 1.82$ eV (es un fotón rojo) (véase el Capítulo 9).
- 2 1.84 eV para el fotosistema II y 1.69 eV para el fotosistema I.
- 3 Tener la capacidad de absorber una radiación de luz visible. Esto sucede en una molécula cuando tiene siete o más dobles enlaces conjugados, de manera que los electrones π deslocalizados entre estos enlaces son sensibles a la energía de los fotones.
- 4 El más oxidante es P680⁺ y el más reductor es P700*.
- 5 La principal diferencia está en que en el estado I el LHCII está asociado al fotosistema II, mientras que en el estado II, el LHCII está fosforilado y asociado al fotosistema I.



BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA

1. Allen JF. Protein phosphorylation in regulation of photosynthesis. *Biochimica et Biophysica Acta* 1992; 1098: 275-335.
2. Arellano JB, De las Rivas J. Plantas y cambio climático. *Investigación y Ciencia* 2006; 354:42-50.
3. Aro E M *et al.* Photoinhibition of photosystem II. Inactivation, protein damage and turnover. *Biochimica et Biophysica Acta* 1993; 1143:113-134.
4. Asada K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 1999; 50:601-639.
5. Barber J. Water, water everywhere, and its remarkable chemistry. *Biochimica et Biophysica Acta* 2004; 1655:123-132.
6. Barber J, Anderson B. Too much of a good thing - Light can be bad for photosynthesis. *Trends in Biochemical Sciences* 1992; 17:61-66.
7. Barber J, De las Rivas J. A functional model for the role of cytochrome b-559 in the protection against donor and acceptor side photoinhibition. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* 1993; 90: 10942-10946.
8. Brudvig GW *et al.* Mechanism of photosynthetic water oxidation. *Annual Review of Biophysics and Biophysical Chemistry* 1989; 18:25-46.
9. Cramer WA *et al.* The enigmatic cytochrome b-559 of oxygenic photosynthesis. *Physiologia Plantarum* 1993; 88:705-711.
10. Melis A. Dynamics of photosynthetic membrane composition and function. *Biochimica et Biophysica Acta* 1991; 1058:87-106.
11. Nelson N, Yocum CF. Structure and function of photosystems I and II. *Annual Review of Plant Biology* 2006; 57:521-565.
12. Nicholls DG, Ferguson SJ. Photosynthetic generators of protonmotive force. En: *Bioenergetics 2*; Cap.6:157-187. London, Academic Press, 1992.
13. Niyogi KK. Photoprotection revisited: genetic and molecular approaches. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 1999; 50:333-359.

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA (Cont.)

14. Rutherford AW. Photosystem II, the water splitting enzyme. *Trends in Biochemical Sciences* 1989; 14:227-232.
15. Szabo I, Bergantino E, Giacometti GM. Light and oxygenic photosynthesis: energy dissipation as a protection mechanism against photo-oxidation. *EMBO Reports* 2005; 6:629-634.
16. Telfer A. Too much light? How beta-carotene protects the photosystem II reaction centre. *Photochemical and Photobiological Sciences* 2005; 4:950-956.
17. Van Grondelle R *et al.* Energy transfer and trapping in photosynthesis. *Biochimica et Biophysica Acta* 1994; 1187:1-66.

Fijación del dióxido de carbono y biosíntesis de fotoasimilados

HIPÓLITO MEDRANO, JERONI GALMÉS Y JAUME FLEXAS



1. Introducción. 2. Fotosíntesis en los cloroplastos: el ciclo de Calvin. 3. Biosíntesis de fotoasimilados. 4. Regulación de la asimilación del CO₂ y de la síntesis de fotoasimilados.

1. INTRODUCCIÓN

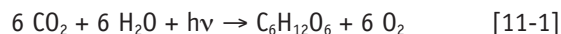
1.1. La fijación fotosintética del dióxido de carbono constituye el primer paso para la producción vegetal y la vida en la Tierra

Los organismos autótrofos, entre los que se encuentran la inmensa mayoría de los vegetales, constituyen la puerta por la que energía y materia se incorporan a la biosfera. Por un lado, estos organismos son capaces, como se ha visto, de transformar la energía lumínica procedente del sol en energía química utilizable para las reacciones metabólicas (véase el Capítulo 10). Por otra parte, el dióxido de carbono asimilado en los órganos fotosintéticos constituye, junto con el hidrógeno procedente del agua y los elementos minerales absorbidos por las raíces, la base estructural del crecimiento de los vegetales y, en consecuencia, de la producción primaria de los ecosistemas y la biosfera.

Por todo ello, la fotosíntesis es un proceso fundamental para la vida en la Tierra, hecho que ha suscitado un enorme interés por su estudio. Entre las múltiples aplicaciones derivadas del conocimiento o la manipulación de la fotosíntesis se encuentran la mejora de la producción de los cultivos, la comprensión de las diferencias de productividad entre los distintos ecosistemas, o la predicción de los efectos de los cambios ambientales sobre la composición y la productividad de las comunidades vegetales.

1.2. La combinación de agua y dióxido de carbono genera carbohidratos con la liberación de oxígeno

La fotosíntesis es un proceso complejo, en el que intervienen múltiples reacciones bioquímicas que, en conjunto, requieren una elevada energía (2879 kJ mol⁻¹). La resultante del conjunto de reacciones puede sintetizarse mediante la siguiente ecuación:



En general, en las plantas terrestres el CO₂ se incorpora desde la atmósfera a través de los **estomas** (véase el Capítulo 3). Las algas y las plantas acuáticas lo toman a partir del CO₂ disuelto en el agua circundante. El término $h\nu$ de la ecuación 11-1 representa la energía luminosa transformada en ATP y NADPH (véanse los Capítulos 9 y 10). C₆H₁₂O₆ es la fórmula general para designar a los carbohidratos sintetizados en este proceso. Según esta ecuación, la producción de un mol de carbohidratos (hexosas) requiere el consumo de seis moles de dióxido de carbono y seis de agua. El proceso lleva asociada la liberación de seis moles de oxígeno al ambiente mediante la fotólisis del agua (véase el Capítulo 10).

Esta liberación de O₂ se conocía incluso antes de que Lavoisier (1743-1794) diera nombre al oxígeno. Ya Stephen Hales (1677-1761) había intuido que las plantas «se alimentaban del aire», aunque fue Joseph Priestley (1733-1804) quien demostró que las plantas se alimentaban de aire «flo-

gisticado» (CO_2), el cual «purificaban» (desprendían O_2). A estas conclusiones llegó Priestley mediante un sistema experimental que consistía en una campana cerrada en la cual introducía una vela encendida, un ratoncito y, a veces, una planta verde. Descubrió que, en presencia de la planta, el ratón podía respirar y la vela permanecía encendida durante más tiempo que en ausencia de la planta (Fig. 11-1). Posteriormente, Jan Ingenhousz (1730-1799) demostró que las partes verdes de las plantas fijan CO_2 en presencia de luz, pero en la oscuridad realizan el proceso opuesto.

A pesar de estos conocimientos precoces, no fue hasta mediados del siglo xx cuando las nuevas técnicas permitieron dilucidar la ruta bioquímica de asimilación del CO_2 . Pero todavía quedan muchos aspectos por conocer acerca de este proceso que permite la vida de todos los organismos del planeta.

2. FOTOSÍNTESIS EN LOS CLOROPLASTOS: EL CICLO DE CALVIN

2.1. El ciclo fotosintético de reducción del CO_2 (CFRC) fue dilucidado en los años cincuenta gracias al uso del ^{14}C

El isótopo del carbono de peso atómico 14 (^{14}C) comenzó a utilizarse como marcador a mediados de este siglo. La ventaja de este isótopo frente al ^{12}C es que tiene un tiempo de vida muy largo (5730 años de período de semidesintegración), lo que hace de él una herramienta útil para la datación de materiales antiguos. Por otra parte, la ventaja del ^{14}C frente al ^{13}C es que éste es estable, mientras que el anterior es radiactivo, lo cual permite detectar su presencia sobre un cromatograma mediante autorradiografía. La utilización del ^{14}C permite marcar compuestos en los que se puede detectar su presencia de manera inmediata o años más tarde. Utilizando ^{14}C como marcador de los productos intermedios de la fotosíntesis, Melvin Calvin, Andrew Benson, James A. Bassham y otros investigadores de la Universidad de California, en Berkeley, lograron dilucidar la ruta del carbono en la fotosíntesis durante la década de 1950. Este trabajo le valió a Melvin Calvin el Premio Nobel de Química en 1961. Su diseño experimental consistió en suministrar CO_2 marcado con el isótopo radiactivo a un cultivo de algas del género *Chlorella*, las cuales lo utilizaban para la realización de la fotosíntesis, que se interrumpía rápidamente mediante inmersión en etanol hirviendo al 80%. A continuación se sometía un extracto de algas a cromatografía bidimensional en papel, que se revelaba mediante autorradiografía sobre una película de rayos X para ver en qué compuestos se localizaba la radiactividad procedente del ^{14}C . Si se realizaban los extractos un minuto después de que las algas fotosintetizaran con $^{14}\text{CO}_2$ aparecían muchos compuestos radiactivos. Acortando el tiempo transcurrido entre el suministro de $^{14}\text{CO}_2$ y la interrupción de la fotosíntesis, algunos de estos compuestos no mostraban radiactividad, lo que indicaba que se trataba de compuestos

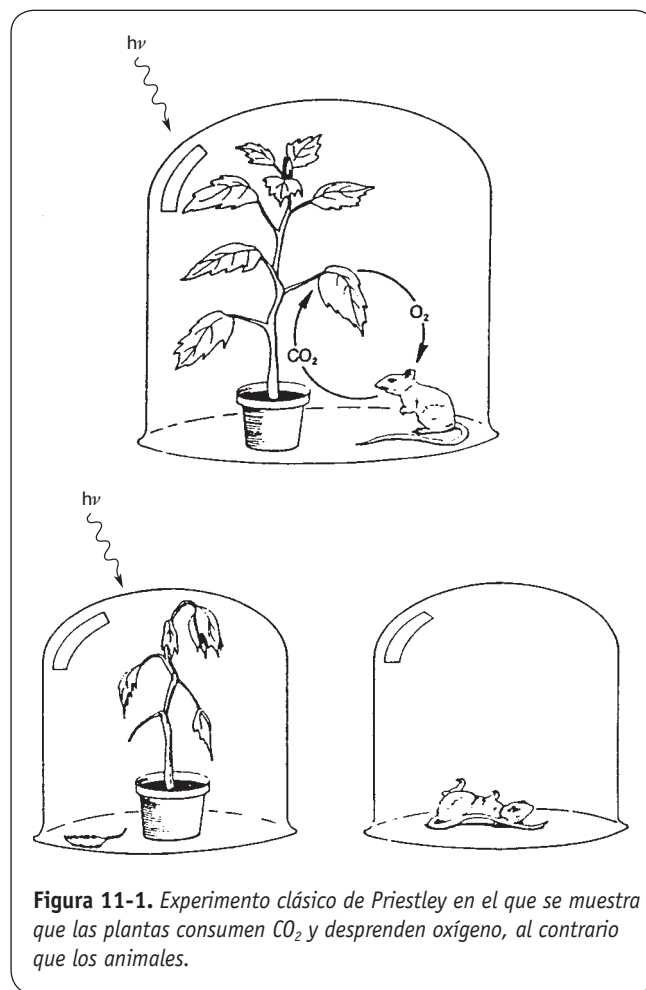
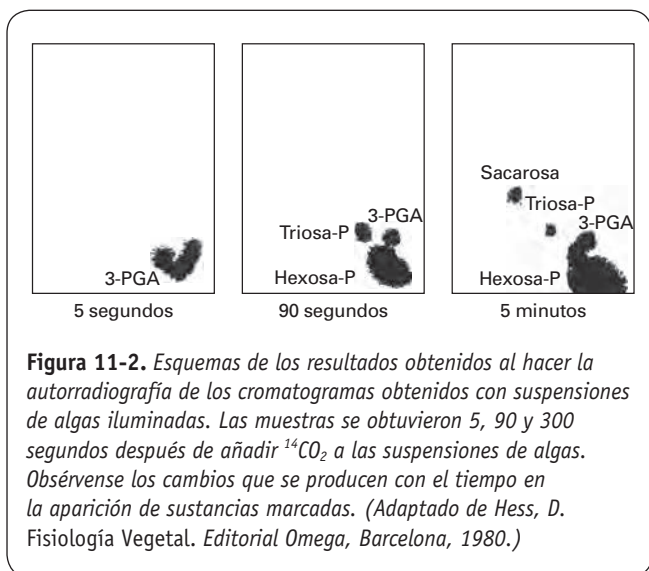


Figura 11-1. Experimento clásico de Priestley en el que se muestra que las plantas consumen CO_2 y desprenden oxígeno, al contrario que los animales.

que se sintetizaban en pasos tardíos de la ruta del carbono. Cuando el tiempo se acortaba a sólo dos segundos, la mayor parte de la radiactividad se concentraba en un compuesto de tres átomos de carbono (C_3), el **ácido-3-fosfoglicérico (3-PGA)** (Fig. 11-2). Éste debía de ser, por tanto, el primer compuesto resultante de la incorporación del CO_2 en la ruta fotosintética.

Tras buscar infructuosamente el compuesto de dos átomos de carbono que se unía con el CO_2 para originar el 3-PGA, se planteó la hipótesis de que, en realidad, el precursor fuera una molécula de cinco átomos de carbono que se escindía en dos moléculas de tres carbonos ($2 \times \text{C}_3$) tras la incorporación del CO_2 . Para identificar esta molécula, tras un tiempo en el que las algas habían realizado la fotosíntesis utilizando $^{14}\text{CO}_2$, se eliminó el suministro de CO_2 , interrumpiendo de esta manera su asimilación. En los extractos posteriores se encontró una progresiva disminución en los niveles de 3-PGA marcado. Curiosamente, al mismo tiempo se observaba un aumento de la concentración de un azúcar de 5 átomos de carbono fosforilado en cada uno de sus extremos, la **ribulosa-1,5-bisfosfato (RuBP)**. Interrumpiendo el suministro de luz, en vez del de CO_2 , se observaba un incremento inicial de la concentración de 3-PGA junto a una disminución progresiva de la RuBP (Fig. 11-3). Los incrementos de concentración



molar del 3-PGA eran el doble que las disminuciones de la concentración molar de la RuBP. Por otro lado, en cuanto la concentración de RuBP se hacía nula, la acumulación de 3-PGA disminuía drásticamente. Estos hechos hicieron pensar que la RuBP actuaba como aceptor del CO_2 y precursor del 3-PGA. Se estableció así la ruta metabólica que explicaba las reacciones químicas que conducen a la reducción del CO_2 , las que permiten la formación de los primeros carbohidratos y las que concluyen con la regeneración de la RuBP. Esta ruta, tras una serie de reacciones, generaba la RuBP, lo que demostraba que se trataba de un ciclo bioquímico. El ciclo recibió el nombre de sus descubridores Calvin-Benson, aunque en la actualidad se tiende a simplificar como ciclo fotosintético de reducción del CO_2 (CFRC) o ciclo de Calvin.

2.2. El CFRC contiene diversos pasos que consumen energía (ATP) y poder reductor (NADPH) generados en la cadena de transporte de electrones

Continuando con sus experimentos, Calvin y sus colaboradores, y otros grupos, consiguieron dilucidar la ruta completa de asimilación del dióxido de carbono, con todos sus intermediarios, así como las enzimas que catalizan las distintas reacciones (Fig. 11-4). En esta ruta se distinguen tres fases:

1. La **fijación del CO_2** , que tiene lugar por **carboxilación** de la RuBP.
2. La **reducción del carbono** fijado a hidratos de carbono, que requiere poder reductor y aporte de energía en forma de ATP, generados mediante la cadena de transporte electrónico y la fotofosforilación (véase el Capítulo 10).
3. La **regeneración de la RuBP**, que también requiere aporte energético (ATP).

Cada una de estas tres fases, que se encuentran resumidas en la Figura 11-4, se detallan a continuación en el texto y en las Figuras 11-5, 11-6 y 11-7.

La incorporación del CO_2 a la RuBP se denomina **carboxilación**. Este paso está catalizado por una enzima denominada **ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (RuBisCO)**. El nombre de carboxilasa/oxigenasa se debe a que la rubisco cataliza también la oxigenación de la RuBP (véase el Capítulo 12). La reacción de carboxilación se desarrolla en cinco pasos, todos los cuales están catalizados por la rubisco (Fig. 11-5).

Como se refleja en la Figura 11-4, desde el punto de vista estequiométrico es necesaria la fijación de tres moléculas

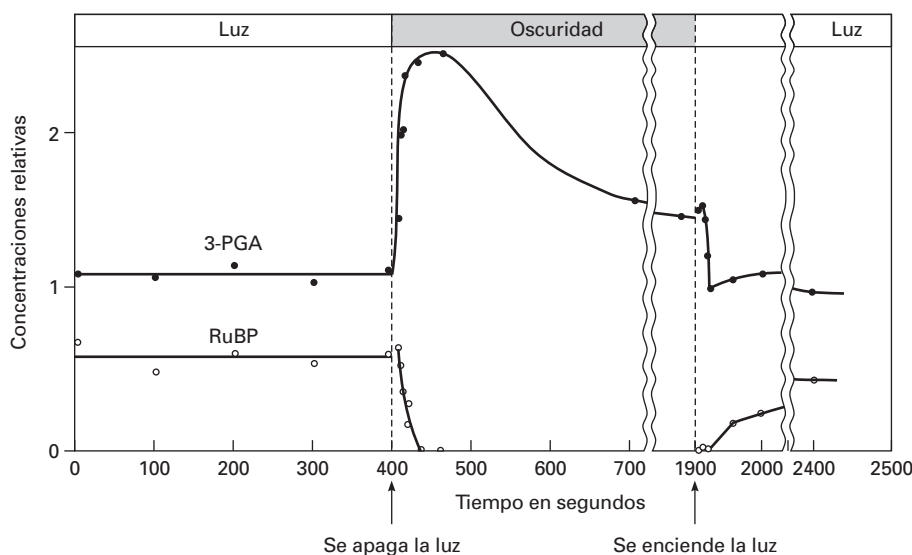


Figura 11-3. Esquema que representa las variaciones en las concentraciones de 3-PGA y RuBP en una suspensión de algas al apagar y encender la luz. (Adaptado de Bassham, J. A. y Calvin, M. The Path of Carbon in Photosynthesis. Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, 1957.)

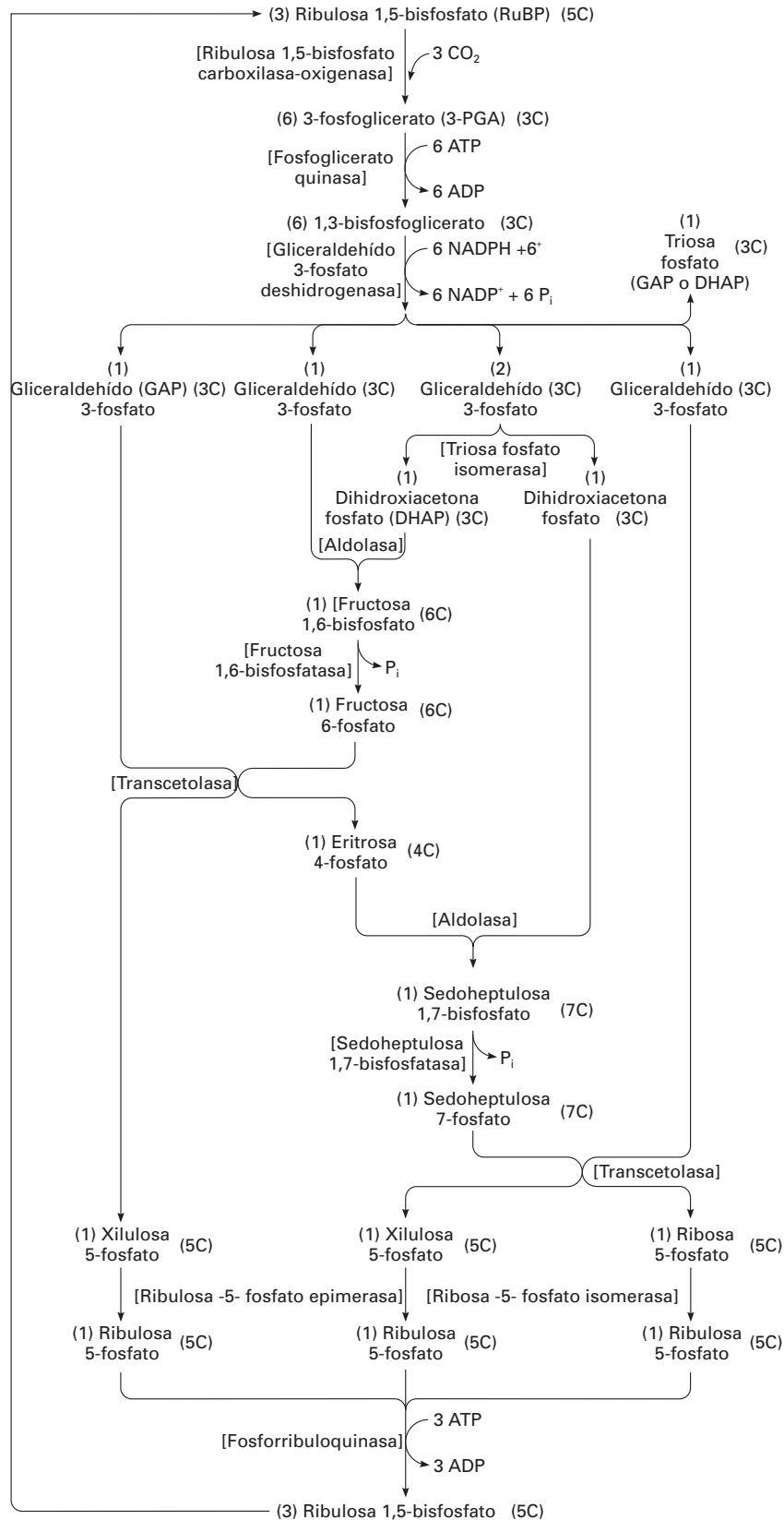


Figura 11-4. Esquema general del CFRC o ciclo de Calvin. Se muestran los productos intermedios y las enzimas implicadas en cada reacción del ciclo. A la derecha de cada compuesto intermedio se indica, entre paréntesis, el número de átomos de C de la molécula. El paréntesis a la izquierda o arriba indica el número de moléculas.

de CO_2 para que el carbono pueda avanzar hacia la síntesis de hidratos de carbono con la consiguiente regeneración completa de RuBP, ya que el primer carbohidrato de la síntesis es un compuesto fosforilado de tres átomos de carbono, la triosa fosfato (Fig. 11-4). Se describirá, pues, el CFRC en términos de fijación de tres moléculas de CO_2 . Tras la incorporación de tres moléculas de CO_2 a tres moléculas de RuBP se obtienen seis moléculas de 3-PGA. La mayor parte de la energía utilizada en el CFRC se consume durante la reducción del grupo carboxílico del 3-PGA. En primer lugar, cada una de las seis moléculas de 3-PGA es fosforilada con consumo de una molécula de ATP, en una reacción catalizada por la PGA quinasa. Cada una de las seis moléculas de 1,3-bisfosfoglicerato originadas es reducida entonces a gliceraldehído 3-fosfato (GAP) por la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa, que consume poder reductor en forma de NADPH (Fig. 11-6). De las seis moléculas formadas de GAP, una es derivada a la síntesis de carbohidratos (sacarosa y almidón, principalmente; véase el apartado 3), mientras que las otras cinco participan en la regeneración de RuBP en el estroma del cloroplasto.

Las reacciones implicadas en la regeneración de RuBP son similares a las de la vía de las pentosas fosfato, pre-

sente tanto en plantas como en animales (véase el Capítulo 14). Sólo la última enzima implicada en la fase de regeneración, la **fosforribuloquinasa** (Fig. 11-4), se encuentra exclusivamente en los cloroplastos. La fase de regeneración consta de una secuencia compleja de interconversiones entre moléculas de azúcares fosfato que tienen de tres a siete átomos de carbono. Para que pueda darse la regeneración, es necesaria la interconversión de GAP en dihidroxiacetona fosfato (DHAP) mediante la triosa fosfato isomerasa. La DHAP es un compuesto similar al GAP, salvo que posee el grupo carbonilo en el interior de la molécula (cetona), y no en un extremo (aldehído) (Fig. 11-7). Una molécula de GAP se une con una de DHAP para originar una molécula de fructosa 1,6-bisfosfato (seis carbonos), en una reacción catalizada por la aldolasa. La fructosa 1,6-bisfosfato pierde un grupo fosfato para originar fructosa 6-fosfato (Fig. 11-4), en una reacción catalizada por la fructosa 1,6-bisfosfatasa (Figs. 11-4 y 11-7). A continuación, la enzima transcetolasa cataliza una doble reacción: por una parte, la escisión de la fructosa 6-fosfato en una molécula de eritrosa 4-fosfato (cuatro carbonos) y un complejo glicodaldehído (Fig. 11-7); por otra, la combinación del complejo glicodaldehído con una

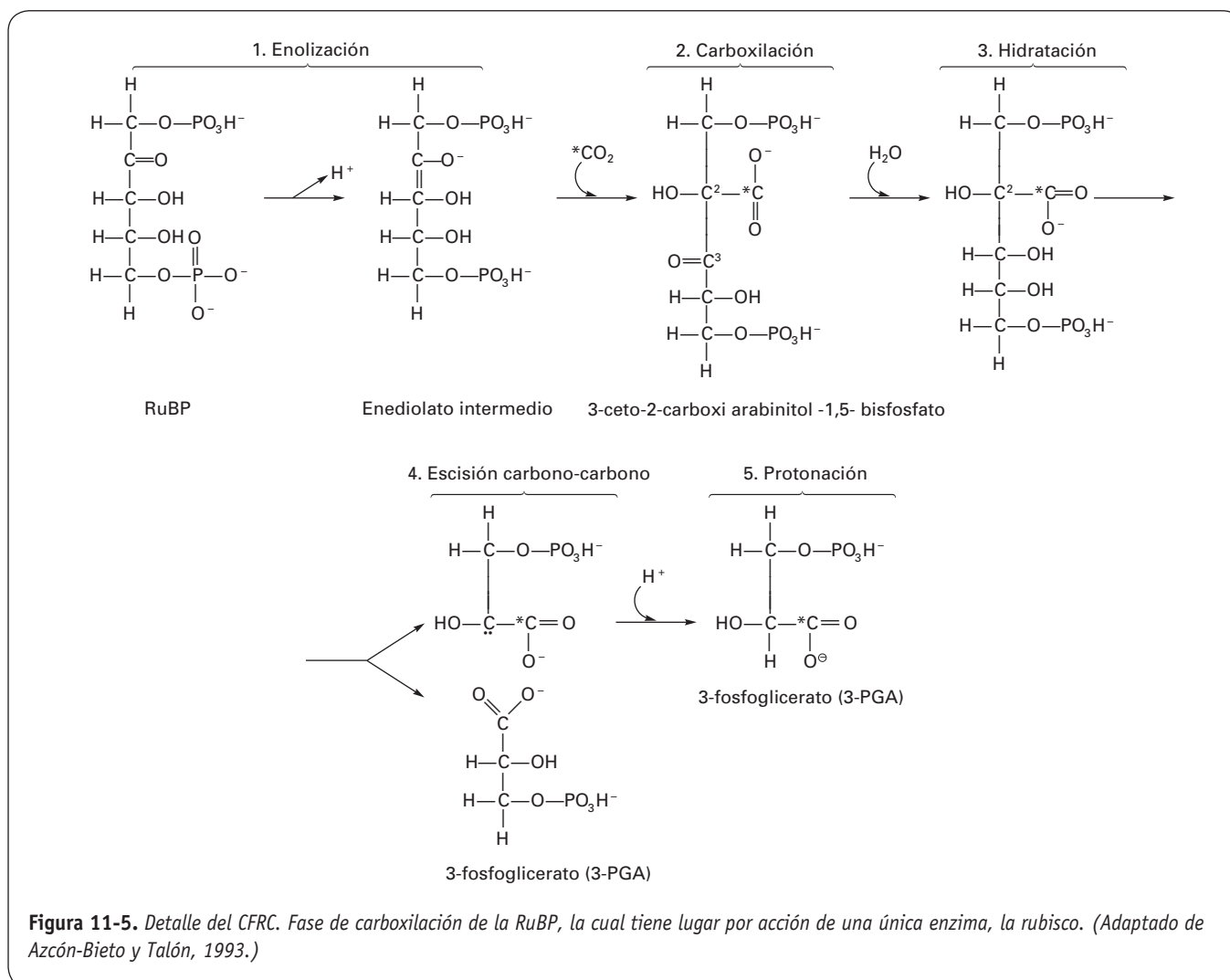


Figura 11-5. Detalle del CFRC. Fase de carboxilación de la RuBP, la cual tiene lugar por acción de una única enzima, la rubisco. (Adaptado de Azcón-Bieto y Talón, 1993.)

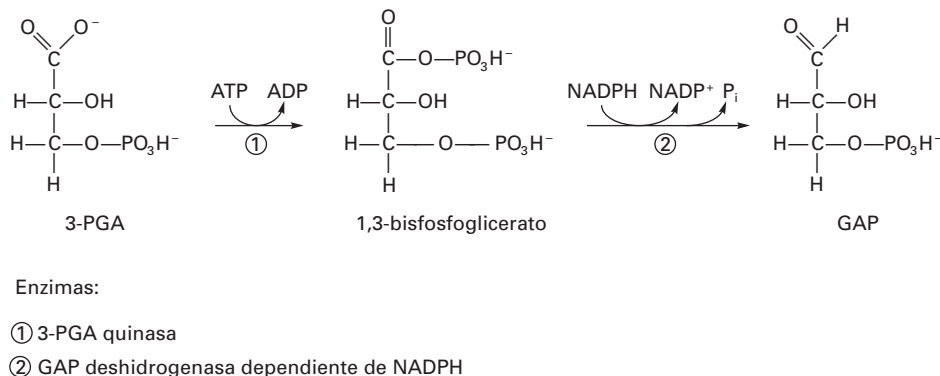
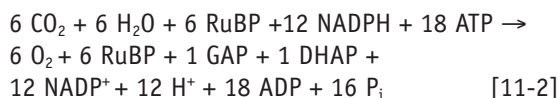


Figura 11-6. Detalle del CFRC. Fase de reducción del 3-PGA a GAP. (Adaptado de Azcón-Bieto y Talón, 1993.)

molécula de GAP, para originar una molécula de xilulosa 5-fosfato (cinco carbonos) (Fig. 11-7). La xilulosa 5-fosfato es transformada en su epímero ribulosa 5-fosfato con intervención de una epimerasa. Por otra parte, la eritrosa 4-fosfato formada se combina mediante la acción de una aldolasa con una molécula de DHAP para originar una molécula de sedoheptulosa 1,7-bisfosfato (siete carbonos). Ésta se convierte en sedoheptulosa 7-fosfato mediante la pérdida de un grupo fosfato. En un paso catalizado por la transcetolasa, la sedoheptulosa 1,7-bisfosfato reacciona con la molécula de GAP que queda sin utilizar, originándose dos compuestos de cinco átomos de carbono: una molécula de xilulosa 5-fosfato, que se convierte en ribulosa 5-fosfato por acción de la epimerasa, y una molécula de ribosa 5-fosfato que, a su vez, se transforma también en ribulosa 5-fosfato en una reacción catalizada por una isomerasa (Fig. 11-7). Así, este conjunto de reacciones origina, a partir de cinco moléculas de GAP, tres moléculas de ribulosa 5-fosfato. Estas tres moléculas son finalmente fosforiladas por la fosforribuloquinasa, con gasto de ATP, para regenerar las tres moléculas de RuBP, que pueden de este modo volver al comienzo del ciclo.

A partir de los ciclos descritos, la ecuación 11-1, que en síntesis expresaba la formación de carbohidratos a partir de CO_2 y H_2O en la fotosíntesis, puede concretarse, con mayor detalle, en la siguiente expresión:



3. BIOSÍNTESIS DE ASIMILADOS

3.1. La sacarosa y el almidón se sintetizan a partir de los compuestos obtenidos en el CFRC

Las triosas fosfato que se originan en el CFRC (ecuación 11-2) son utilizadas para la síntesis de **sacarosa** y **almidón**,

considerados los principales **productos finales** o terminales de la fotosíntesis.

La síntesis de sacarosa y otros productos que son transportados por el floema (Capítulo 5) tiene lugar en el citosol. Por ello es necesario que las triosas fosfato sintetizadas en el cloroplasto se exporten al citosol. Ello tiene lugar mediante un transportador localizado en la membrana o envoltura interna del cloroplasto que, a la vez que facilita la salida del 3-PGA, facilita la entrada del fósforo inorgánico (P_i) procedente del citosol; denomina por ello **translocador de fosfato** (Fig. 11-8). En el citosol, una molécula de GAP se combina con una molécula de DHAP para originar una molécula de fructosa-1,6-bisfosfato, en una reacción reversible (Fig. 11-9). A continuación, la fructosa-1,6-bisfosfato origina fructosa 6-fosfato, en una reacción irreversible catalizada por la fructosa bisfosfatasa. Los siguientes pasos de la síntesis, con sus enzimas correspondientes, se resumen en la Figura 11-9. El paso de glucosa 1-fosfato a UDP-glucosa es el único que exige un aporte energético, en forma de UTP. La reacción siguiente está catalizada por la **sacarosa fosfato sintasa (SPS)**, considerada el principal paso de regulación de la síntesis de sacarosa (véanse los apartados 4.6 y 4.7).

El exceso de triosa fosfato que no se utiliza en la síntesis de sacarosa se convierte en almidón, que actúa como sustancia de reserva de carbono, función análoga a la del glucógeno en las células de animales y hongos. La síntesis y el almacenamiento del almidón tienen lugar en el propio cloroplasto, donde se acumula durante el día para ser movilizado y exportado durante la noche. De esta manera los cloroplastos pueden proporcionar carbono reducido al resto de la planta, tanto de día como de noche. La síntesis de almidón es semejante a la de sacarosa (Fig. 11-9), sólo difiere en los últimos pasos. La transformación de la glucosa 1-fosfato utiliza ATP en vez de UTP, originándose ADP-glucosa. Este paso, catalizado por la **ADP-glucosa pirofosforilasa**, es el más importante en la regulación de la síntesis de almidón. El último paso de la síntesis de almidón consiste en la unión de moléculas de glucosa para formar un polímero con dos tipos de cadena: la **amilosa**, una cadena lineal de moléculas de glucosa unidas entre sí por los carbonos 1 y 4, y la **amilo-**

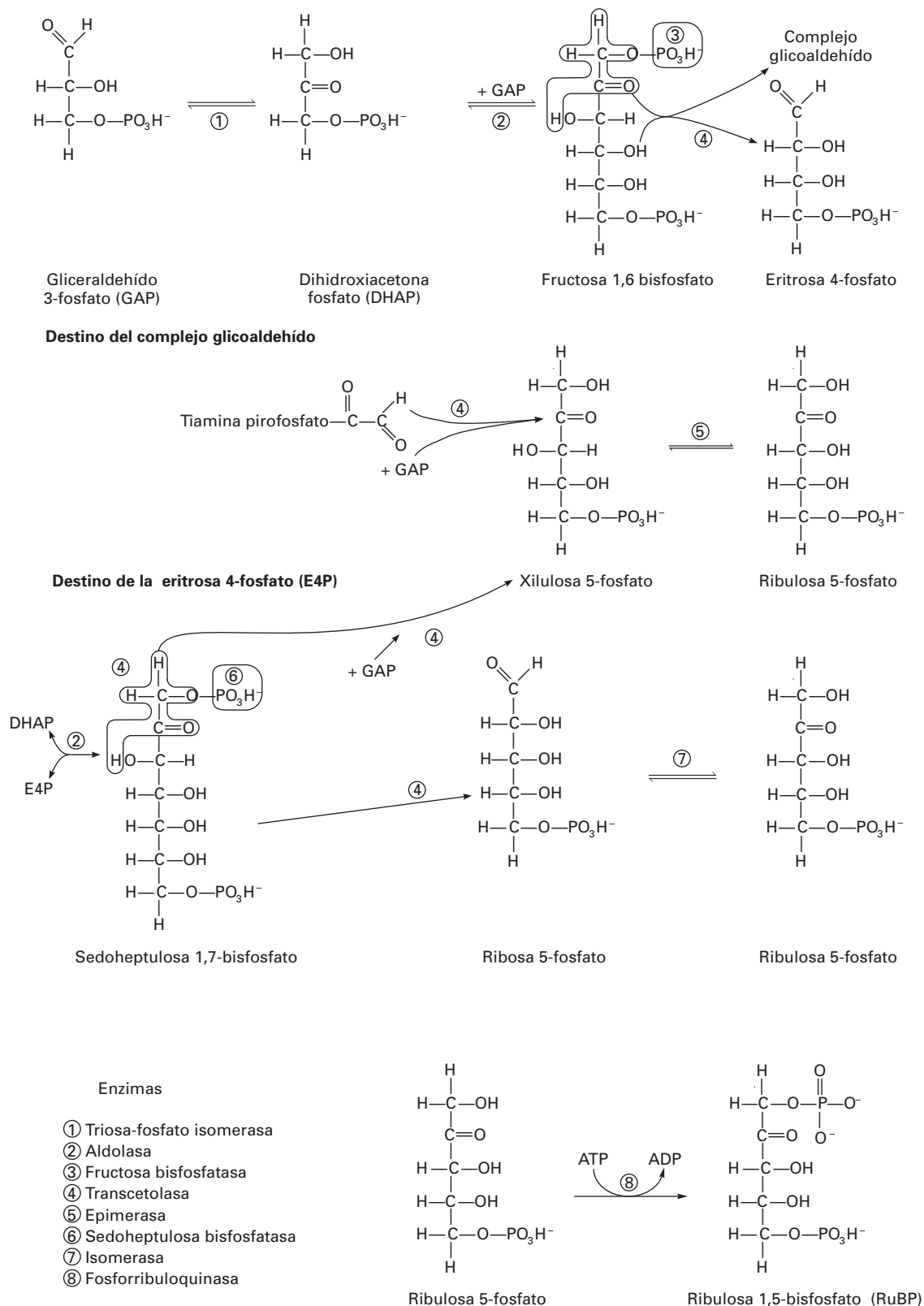


Figura 11-7. Detalle del CFRC. Fase de regeneración de RuBP a partir de GAP. (Adaptado de Azcón-Bieto y Talón, 1993.)

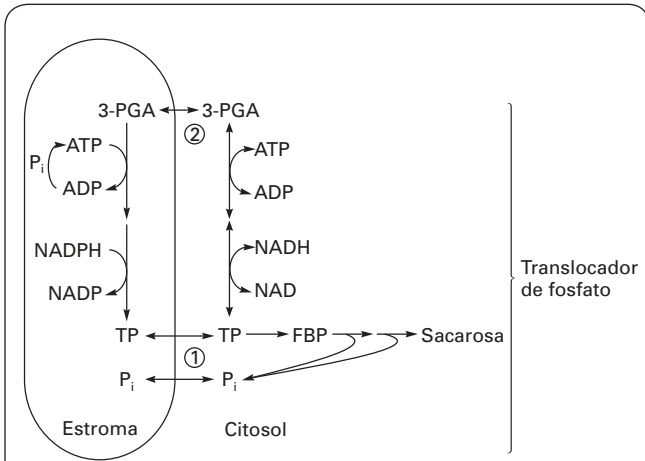


Figura 11-8. Esquema del funcionamiento del translocador de fosfato de los cloroplastos. Durante la fotosíntesis se produce triosa fosfato (TP) en el interior del cloroplasto. Durante la síntesis de sacarosa en el citosol se origina fosfato libre (Pi). Por tanto, el principal intercambio de fosfatos tiene lugar entre TP del cloroplasto y Pi del citosol (1). Algunas moléculas de TP pueden ser intercambiadas por 3-PGA del citosol (2) por el mismo transportador. Ello establece un ciclo en el que el 3-PGA es reducido en el estroma a TP, que sale al citosol, donde se reoxida a 3-PGA. De esta manera, se puede exportar al citosol poder reductor (NADH) y ATP. Todos los movimientos que se producen a través de este translocador tienen lugar mediante un riguroso intercambio en direcciones opuestas, de forma que la cantidad total de fosfato (libre o ligado) en el interior de los cloroplastos no varía. (Adaptado de Azcón-Bieto y Talón, 1993.)

pectina, que forma cadenas de ramificación lateral mediante uniones entre los carbonos 1 y 6 de la glucosa (Fig. 11-10). El almacenamiento de carbono en forma de almidón permite mantener velocidades altas de fotosíntesis aun cuando la síntesis de sacarosa sea más lenta (véase el apartado 4.7).

3.2. El carbono fijado en la fotosíntesis se utiliza también para la síntesis de compuestos no glucídicos en el cloroplasto

Además de los carbohidratos, algunos aminoácidos, ácidos grasos e isoprenoides se sintetizan en el cloroplasto a partir del carbono fijado en la fotosíntesis.

Algunos de los denominados **aminoácidos esenciales** (para la nutrición humana, por ejemplo) se sintetizan exclusivamente en los cloroplastos (leucina, isoleucina, valina y lisina). Asimismo, los **ácidos grasos** que se encuentran en los vegetales son sintetizados en los cloroplastos y en otros plastos o plastidios (véase el Capítulo 1). Finalmente, otro grupo de sustancias, los **isoprenoides** o **terpenos**, también se sintetizan en los cloroplastos, además de en el citoplasma (véase el Capítulo 17). Este último grupo de sustancias comprende algunas de interés esencial para la fotosíntesis, como los carotenos y las xantofilas (véase el Capítulo 9). Otros isoprenoides, como el ácido abscísico, las giberelinas o algunos esteroides (por ejemplo, los brasinoesteroides), cumplen funciones hormonales importantes. Algunas plantas acumulan o emiten, o ambas cosas, compuestos isoprenoides en grandes cantidades (por ejemplo, isopreno). Recientemente

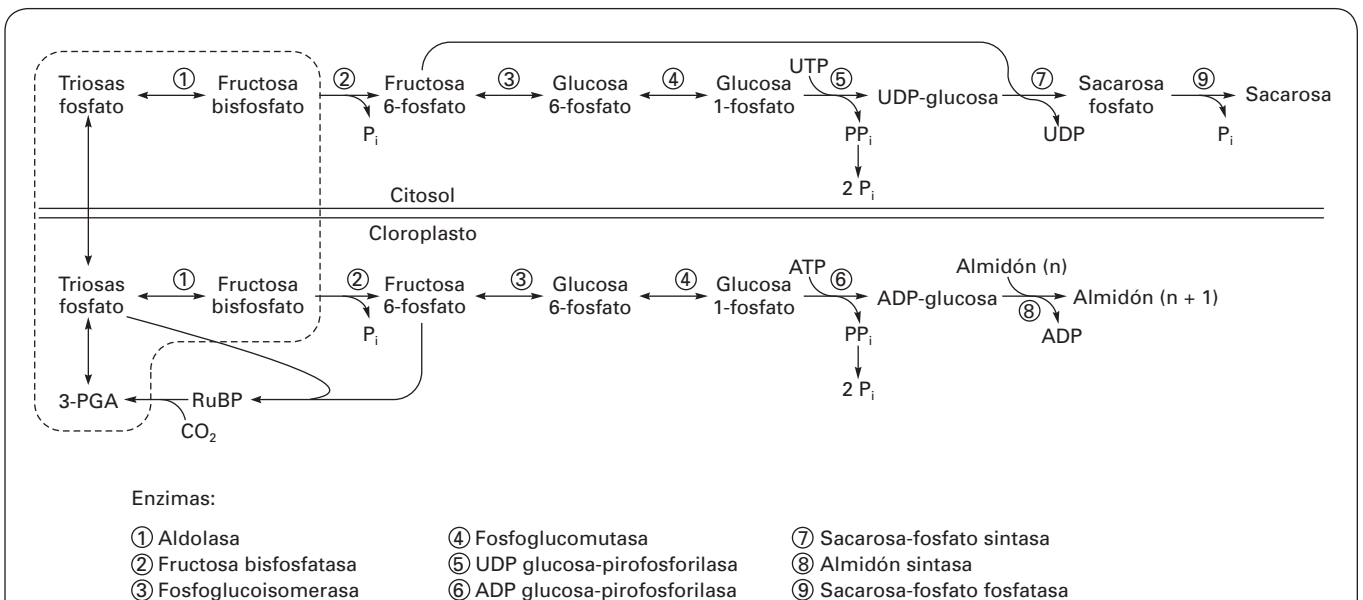
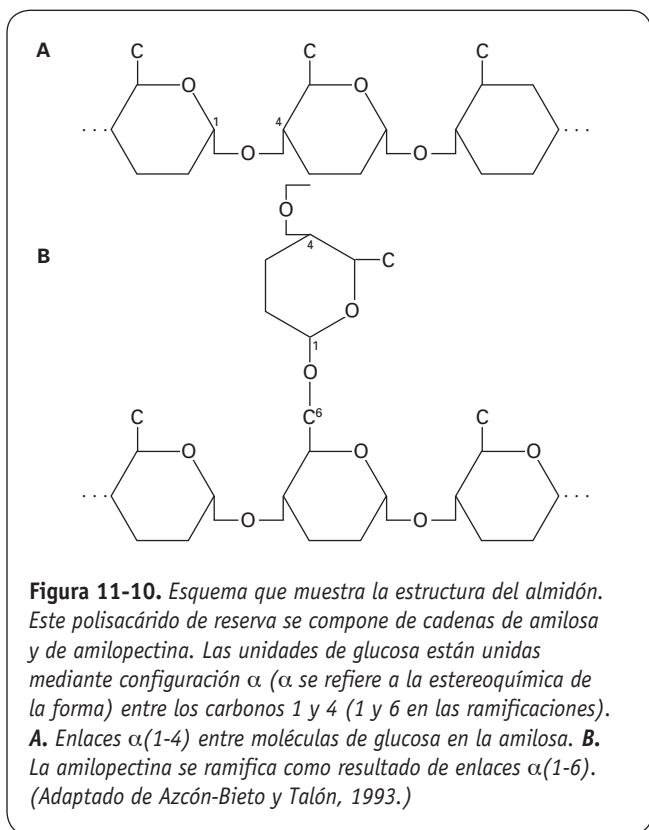


Figura 11-9. Esquema de la síntesis de sacarosa y almidón en el citosol y el cloroplasto, respectivamente. (Adaptado de Azcón-Bieto y Talón, 1993.)



se ha podido demostrar que el carbono utilizado para la síntesis de muchos isoprenoides es un carbono recién asimilado en la fotosíntesis.

4. REGULACIÓN DE LA ASIMILACIÓN DEL CO₂ Y DE LA SÍNTESIS DE FOTOASIMILADOS

4.1. Estructura de la rubisco

La rubisco constituye alrededor del 50% de la proteína soluble de las hojas de las plantas y, de hecho, se considera la proteína más abundante en la Naturaleza. Se conocen dos formas estructurales preponderantes de rubisco. La forma estructural I, presente en las plantas superiores y en la mayoría de las bacterias autótrofas y quimiótrofas, consiste en ocho subunidades grandes (L), de 55 kDa, y ocho subunidades pequeñas (S), de 14 kDa. La forma estructural II, presente en ciertos dinoflagelados y en determinadas bacterias autótrofas, sólo contiene subunidades L. Además, existen algunas variantes de estas dos formas estructurales mayoritarias, como la rubisco de las arqueobacterias, constituida por cinco dímeros de subunidades L.

En las algas verdes y las plantas superiores, la rubisco se encuentra localizada en el estroma cloroplástico, y su subunidad L está codificada por un solo gen (*rbcl*) en el genoma cloroplástico. En cambio, la subunidad S es codificada por una familia de genes *rbcS*, que consta de 2-12 genes nucleares; esta subunidad se sintetiza en forma de polipéptido

precursor en los ribosomas citosólicos, y debe ser importada posteriormente al cloroplasto, donde se incorpora a un núcleo de subunidades L ya existente para dar lugar a la holoenzima funcional.

Por los datos de estudios cristalográficos, se cree que la rubisco de las plantas superiores es un hexadecámero constituido por cuatro dímeros de subunidades L flanqueados por dos tetrámeros de subunidades S. En la interfase entre las subunidades L de cada dímero se encuentran dos centros catalíticos, de tal forma que, en la rubisco de las plantas superiores, se encuentran ocho centros catalíticos por complejo holoenzimático. Las actividades carboxilasa y oxigenasa de la rubisco tienen lugar en el mismo centro catalítico.

4.2. Mecanismo catalítico de la rubisco

Los estudios sobre rubiscos modificadas químicamente y mediante mutagénesis han permitido un gran avance en el conocimiento del mecanismo de activación y catálisis de esta enzima. Hoy en día se sabe que antes de que tenga lugar la catálisis (sea carboxilación u oxigenación), es necesaria la activación reversible de la enzima mediante la unión secuencial de CO₂ y Mg²⁺ (Fig. 11-11). Es importante destacar que la molécula de CO₂ que se une en este paso a la rubisco es distinta de la molécula de CO₂ que será fijada después como sustrato de la actividad carboxilasa. Dicha molécula de CO₂ queda unida covalentemente en forma de carbamato al grupo amino de un residuo aminoácido específico, la lisina-201, dentro del *locus* activo de la enzima. Esta unión supone la sustracción de dos protones y confiere así dos cargas electrónicas negativas, lo cual crea un lugar de unión para el Mg²⁺, que estabiliza el carbamato y completa el lugar activo de la enzima. Una vez activada, la rubisco se une a la RuBP antes de reaccionar con los sustratos gaseosos, CO₂ u O₂. El proceso catalítico de carboxilación (fijación de una molécula de CO₂ a la RuBP) y oxigenación (fijación de una molécula de O₂ a la RuBP) comienza con la enolización previa de la RuBP. Posteriormente, el CO₂ y el O₂ compiten por reaccionar con el enediol resultante (Fig. 11-11). Finalmente, una secuencia de intermediarios análogos, excepción hecha de una protonación final en el caso de la oxigenación, completa ambos procesos catalíticos.

La carbamilación inicial con CO₂ causa simplemente cambios menores en la conformación de la subunidad L. Por el contrario, la unión con la RuBP y otros ligandos fosforilados induce cambios mayores en el *locus* activo y sus alrededores. Como consecuencia de dichos cambios, el centro catalítico activo con la RuBP unida adquiere una conformación cerrada, y no volverá a adquirir la conformación abierta hasta que el producto de reacción sea liberado. No obstante, la conversión del *locus* catalítico desde la forma cerrada a la abierta es un proceso extraordinariamente lento, y para facilitar dicha conversión las plantas contienen **rubisco activasa**, una enzima dependiente de ATP que libera azúcares fosforilados fuertemente unidos al *locus* activo de la enzima. Cuando la rubisco activasa abre el *locus* activo cerrado, el

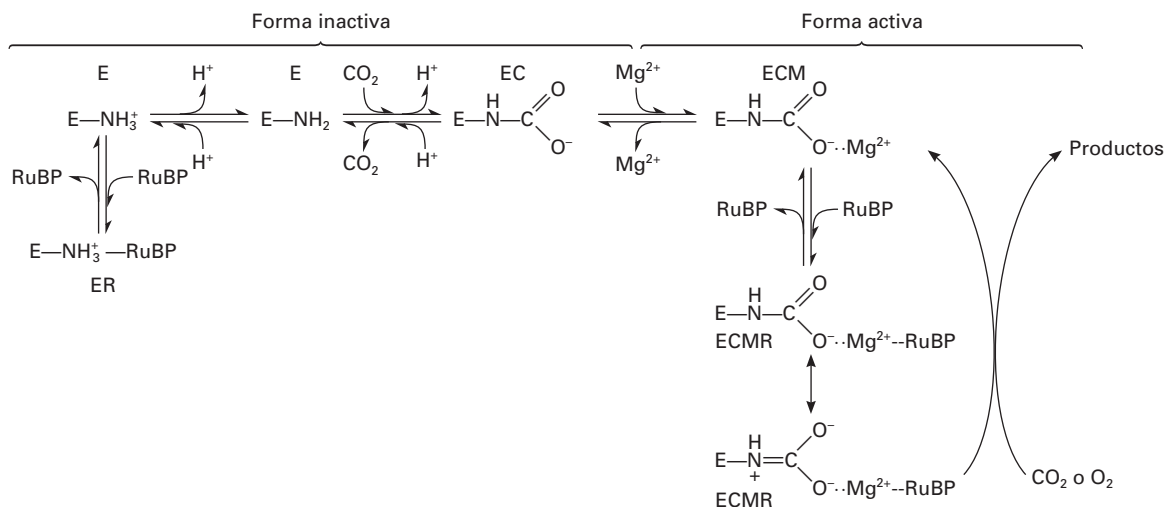


Figura 11-11. Esquema de la activación de la rubisco (E) mediante carbamilación de la lisina-201 (que produce EC), seguida de la unión de Mg²⁺ (que produce ECM). Mientras que la RuBP puede unirse tanto con la forma carbamilada (produciendo ECMR) como con la no carbamilada (produciendo ER), sólo la forma carbamilada es capaz de llevar a cabo la catálisis. El acceso del carbamato a una forma resonante con una carga negativa en ambos átomos de oxígeno resulta esencial para que tenga lugar la reacción catalítica. (Adaptado de Roy y Andrews, 2000.)

azúcar fosfato se disocia de la rubisco y libera así el *locus* de reacción para que pueda ser de nuevo activado mediante los procesos espontáneos de carbamilación y unión de Mg²⁺, iniciándose así el siguiente ciclo catalítico (véase también el apartado 4.3).

4.3. La rubisco es una enzima lenta e ineficiente que no distingue entre CO₂ y O₂

Como ya se ha comentado, aparte de su elemental función en la fijación de carbono atmosférico (CO₂) en las moléculas orgánicas (RuBP), la rubisco presenta una ineficiencia catalítica particular: su actividad carboxilasa es reducida por la reacción competitiva con otro gas atmosférico, el O₂. Como se explica en el Capítulo 12, la actividad oxigenasa de la rubisco cataliza la primera reacción de la vía fotorrespiratoria. El balance entre las dos reacciones determina la eficiencia del proceso fotosintético, que se conoce con el nombre de **factor específico** de la rubisco y depende de las propiedades cinéticas de la enzima, así como de las concentraciones de CO₂ y O₂ en el *locus* activo. Mucho se ha escrito sobre las causas de esta ineficiencia catalítica, formulándose diversas hipótesis acerca de la posible funcionalidad de la actividad oxigenasa (véase el Capítulo 12). Probablemente, la principal razón de dicha ineficiencia se deba a que la aparición y la evolución de la rubisco tuvieron lugar cuando la concentración de O₂ en la atmósfera era casi nula. Después de más de mil millones de años, principalmente debido al mismo proceso fotosintético, el O₂ apareció en concentraciones mayores en la atmósfera, y la gran complejidad de la proteína impidió seguramente una rápida adaptación de su centro catalítico para eliminar

la actividad oxigenasa. Como consecuencia de ello, la rubisco comenzó a ser ineficiente en los procesos de asimilación del carbono, y esta ineficiencia se hizo irreversible.

Las variaciones en cuanto a la complejidad estructural de la rubisco se corresponden, en general, con variaciones en el factor específico. En este sentido, la comparación entre los valores del factor específico de organismos con formas estructurales de rubisco distintas muestra un rango de variación de unas 20 veces. Así, se observa un incremento en el factor específico desde las formas fotosintéticas más primitivas (con la forma estructural II y valores de 10-20) hasta la rubisco más evolucionada, propia de las plantas superiores (con forma estructural I y valores de 90-100). En general, se considera que las formas de rubisco de menor especificidad se corresponden con las formas de vida más arcaicas y, por tanto, formadas en atmósferas extraordinariamente ricas en CO₂ y pobres en O₂ en comparación con las actuales. Esta observación está respaldada por el reciente descubrimiento de que las plantas superiores típicas de ambientes áridos y calurosos, con una menor concentración de CO₂ en los centros activos de la rubisco, presentan un factor específico mayor en comparación con las especies típicas de ambientes más húmedos y frescos, con un cociente CO₂/O₂ superior (Galmés, J. y cols. *Plant, Cell and Environment* 28: 571-579, 2005).

De forma análoga, las algas rojas termofílicas, de ambientes con elevada temperatura y con muy bajas concentraciones de CO₂, presentan los valores más elevados de factor específico, de aproximadamente 200.

Aparte de esta ineficiencia debida a la incapacidad para distinguir el CO₂ del O₂ como sustratos de reacción, la rubisco presenta otras anomalías catalíticas en forma de reacciones alternativas en las diferentes fases del proceso de reacción. La primera de ellas es la isomerización de la RuBP

fijada por la rubisco, que forma xilulosa-1,5-bisfosfato, la cual queda fuertemente unida al centro activo de la rubisco sin que la catálisis tenga lugar y quedando, por tanto, el *locus* catalítico inactivado durante algún tiempo. La segunda posible anomalía catalítica se debe a que, cuando la rubisco se encuentra en forma descarbamilada (es decir, antes de la unión de la primera molécula de CO_2), la RuBP y otros azúcares fosforilados pueden unirse fuertemente a ella y bloquear la adición de CO_2 y Mg^{2+} , provocando el cierre del *locus* activo de la enzima. Todas estas anomalías catalíticas permiten que la enzima esté sometida a un control metabólico más estricto, en coordinación con la fisiología y el estado energético celular. En ambos casos, la **rubisco activasa** parece ser la responsable de eliminar los ligandos unidos y de liberar así los centros activos, de modo que esta enzima desempeña un papel fundamental en la regulación fotosintética.

Aparte de estas anomalías para distinguir los sustratos de reacción, hay que mencionar también la velocidad de carboxilación de la rubisco. Su **número de recambio** o **constante catalítica** (k_{cat}) para el CO_2 es de sólo 2-5 s^{-1} por centro activo, lo que supone que cada centro activo solamente puede catalizar de 2 a 5 carboxilaciones por segundo, una tasa aproximadamente entre cien y mil veces inferior a la de la mayoría de las enzimas que se encuentran en los seres vivos. A causa de esta lentitud, las plantas deben invertir grandes cantidades de nitrógeno en la síntesis de rubisco, y se calcula que el contenido de rubisco es un 50% de la proteína soluble foliar.

4.4. La regulación de la rubisco condiciona la asimilación de CO_2

Salvo que no existan limitaciones en la disponibilidad de luz y energía procedentes de la cadena de transporte electrónico (véase el Capítulo 10), en la rubisco la velocidad de captura del CO_2 durante la fotosíntesis suele estar determinada por alguno de los siguientes factores:

1. La disponibilidad de CO_2 en los centros activos, y la proporción de concentraciones CO_2/O_2 (véase el Capítulo 12).
2. El aporte de RuBP.
3. La cantidad de rubisco presente.
4. El estado de activación de la rubisco.

En condiciones óptimas, la disponibilidad de CO_2 no resulta un factor limitante para la fotosíntesis, y aunque la ratio CO_2/O_2 es siempre baja (ya que la concentración de O_2 en la atmósfera es del 21%, mientras que la de CO_2 tan sólo es de 0.037-0.038%), la mayor afinidad de la rubisco por el CO_2 (**constante de Michaelis-Menten**, $K_M = 10\text{-}15 \mu\text{M}$) frente al O_2 ($K_M = 250 \mu\text{M}$) hace que la concentración de CO_2 sea suficiente para permitir la carboxilación. Sin embargo, cuando las resistencias foliares aumentan (p. ej., en condiciones de sequía; véanse los Capítulos 4 y 29), la concentración de CO_2 en el sitio de la carboxilación se reduce considerablemente, y disminuye la ratio CO_2/O_2 , de modo que la velocidad de la fotosíntesis se ve limitada por este factor.

Dado que tanto el CO_2 como la RuBP actúan como sustratos de la rubisco, el exceso de uno de ellos no puede compensar la deficiencia del otro. O, lo que es lo mismo, para una determinada concentración y grado de activación de la rubisco, la disponibilidad de uno de los dos sustratos resultará limitante para la velocidad fotosintética. Ya se ha hablado de la limitación en condiciones de baja disponibilidad de CO_2 . Ahora bien, si la velocidad de carboxilación es superior a la velocidad de regeneración de la RuBP, llegará un momento en el que la asimilación de CO_2 se verá limitada por la falta de RuBP disponible. Modificando la presión parcial de CO_2 en el aire que envuelve una hoja, y eliminando el O_2 para suprimir la oxigenación de la RuBP, puede averiguarse si el factor que limita la fotosíntesis es la disponibilidad de CO_2 o la disponibilidad de RuBP (Fig. 11-12). A bajas presiones parciales de CO_2 , al ir incrementando la concentración la velocidad de asimilación **aumenta linealmente**. Esta situación se conoce como **fotosíntesis limitada por la rubisco** o por la disponibilidad de CO_2 . Sin embargo, a partir de una determinada presión parcial de CO_2 , la velocidad de asimilación de CO_2 no aumenta, por más que se incremente su concentración. Esta situación indica una falta de disponibilidad del otro sustrato de la reacción, la RuBP, y se conoce como **fotosíntesis limitada por regeneración de RuBP**. En las concentraciones actuales de CO_2 en la atmósfera (alrededor de 0.037%), el factor limitante suele ser la disponibilidad de CO_2 , aun en condiciones de completa apertura estomática. Sin embargo, en determinadas condiciones de estrés, o en microhábitats con elevadas concentraciones de CO_2 , así como en un futuro a medio plazo, con previsiones de incrementos en la concentración de CO_2 en la atmósfera de hasta un 0.07% en 50-100 años, la fotosíntesis podría estar limitada por la regeneración de la RuBP.

En condiciones normales, la cantidad de rubisco presente en los cloroplastos no es un factor limitante. Sin embargo, en situaciones de estrés que limiten la síntesis proteica, bien por falta de componentes esenciales (por ejemplo, en caso de déficit de nitrógeno), bien por inhibición de la transcripción o traducción genéticas (por ejemplo, en condiciones de

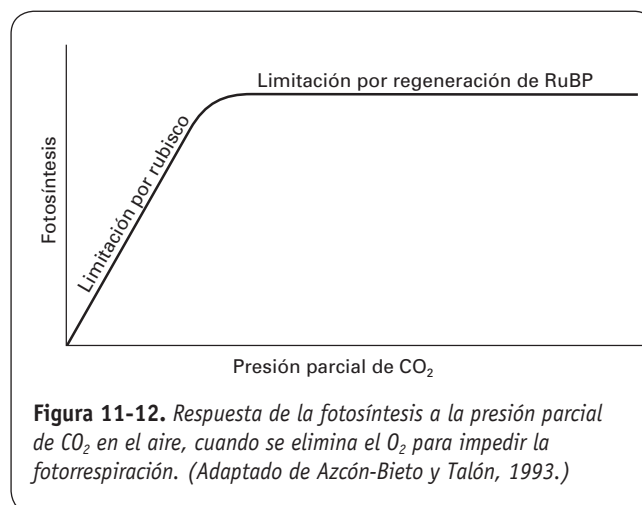


Figura 11-12. Respuesta de la fotosíntesis a la presión parcial de CO_2 en el aire, cuando se elimina el O_2 para impedir la fotosíntesis. (Adaptado de Azcón-Bieto y Talón, 1993.)

sequía prolongada), este factor puede limitar notablemente las tasas de fotosíntesis.

Como ya se ha explicado en el apartado 4.2, la rubisco necesita ser activada previamente mediante carbamilación de su centro activo. Para ello son necesarias elevadas concentraciones de CO_2 y Mg^{2+} , así como un pH elevado. Estas condiciones se producen, precisamente, con la llegada de la luz, ya que la iluminación de los cloroplastos hace que los protones sean translocados al interior del lumen tilacoidal, originando un incremento del pH en el estroma (véase el Capítulo 10). También la concentración de Mg^{2+} aumenta en el estroma. En este sentido, la luz es indispensable para la activación de la rubisco. Parece ser, sin embargo, que estos cambios no son suficientes para obtener los altos niveles de carbamilación que se observan en las hojas. De hecho, esto sería suficiente para que la rubisco estuviera carbamylada en sólo un 30%, que es el grado de carbamilación que se obtiene con extractos de rubisco en un tubo de ensayo. Se cree que, en las hojas, la rubisco puede estar carbamylada al 100%, lo cual requeriría la actividad de la rubisco activasa, mediante un mecanismo que aún está por dilucidar.

Además, algunas plantas acumulan sustancias inhibidoras de la actividad rubisco durante la noche, como el **2-carboxiarabinitol 1-fosfato**. Ya se ha comentado la capacidad de los azúcares fosfato para unirse fuertemente a la rubisco, ocupando sus centros activos descarbamilados e impidiendo la activación de éstos. La rubisco activasa se encarga de remover estos azúcares fosfato del centro activo de la rubisco mediante un gasto energético en forma de ATP. A causa de esta dependencia de la hidrólisis de ATP por parte de la rubisco activasa y, por tanto, de la cantidad de ATP en el estroma cloroplástico, el paso de los centros activos de la rubisco, de la conformación cerrada a la abierta, mediante la rubisco activasa, está controlado por la luz. Debido a su importante función en la activación de la rubisco, la actividad de la rubisco activasa está también sujeta a una estricta regulación metabólica, de transcripción y de traducción. En este sentido, recientemente se ha observado que la rubisco activasa presenta una elevada sensibilidad a la desnaturalización térmica (Salvucci, M. E. y cols. *Plant Physiology* 127: 1053-1064, 2001), que tiene lugar a temperaturas moderadamente altas, lo cual explicaría en gran parte la disminución de las tasas de fotosíntesis que se aprecia al aumentar la temperatura por encima de los 40 °C (véase también el Capítulo 13). Una característica interesante de la rubisco activasa es la presencia de dos subunidades de aproximadamente 47 y 42 kDa. La presencia de una u otra subunidad en el holoenzima funcional depende del proceso de maduración del mRNA, y tiene como resultado la formación de dos isoformas idénticas de la proteína, que difieren morfológicamente en la presencia de 27-36 aminoácidos extra en el extremo carboxiterminal de la isoforma grande. Las dos isoformas son igualmente activas en la hidrólisis del ATP y en la activación de la rubisco, pero se diferencian en su estabilidad térmica y en sus propiedades cinéticas. Así, la isoforma larga presenta mayor termoestabilidad, y podría constituir un mecanismo de aclimatación fotosintética al estrés por altas temperatu-

ras. La reciente demostración de que en la planta de algodón (*Gossypium hirsutum*) estas dos isoformas de rubisco activasa también podrían ser el resultado de la expresión diferencial de dos genes distintos, sugiere que cada una de las dos isoformas debe de haber adquirido, a lo largo de la evolución, una función diferencial en el proceso fotosintético (Salvucci, M. E., y cols. *Planta* 216:736-744, 2003).

Otra vía de modulación de la activación de la rubisco podría proceder de la propia RuBP. El funcionamiento de éstas y otras sustancias *in vivo*, sin embargo, está menos documentado. El papel clave de la rubisco en la fotosíntesis se refleja en la diversidad de vías de regulación, que se resumen en la Figura 11-13.

4.5. Otros factores regulan la actividad del CFRC

Además de los mecanismos reguladores de la rubisco y de la disponibilidad de sustratos (CO_2 y RuBP) para su actividad carboxilasa, la regulación de otras enzimas del CFRC es también esencial para la coordinación del ciclo completo y la tasa fotosintética. Las enzimas que catalizan reacciones irreversibles (como las bisfosfatasa) o las que catalizan reacciones que requieren ATP o NADPH son, generalmente, las que están sometidas a un fuerte control regulador. Se conocen fundamentalmente tres tipos de mecanismos reguladores de enzimas de CFRC:

1. Regulación por reducción de grupos tiol.
2. Activación por variaciones de pH y concentración de magnesio.
3. Modulación por cambios en la concentración del sustrato.

La regulación por reducción de grupos tiol se basa en la existencia de puentes disulfuro entre residuos de cisteína de la estructura de la enzima. El estado oxidado de estos puentes disulfuro determina una cierta configuración de la estructura proteica. La reducción de dichos puentes puede

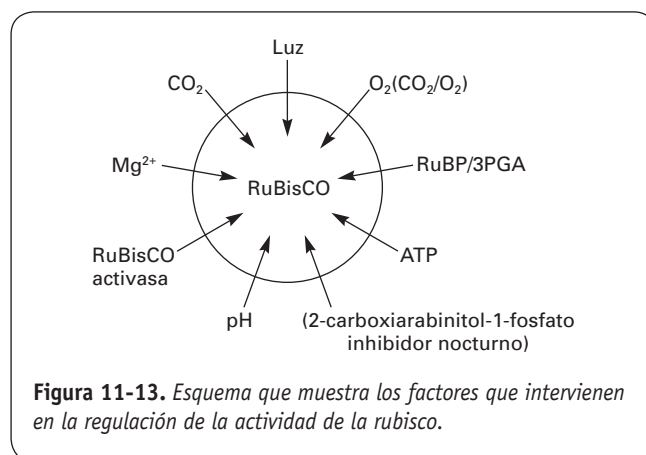


Figura 11-13. Esquema que muestra los factores que intervienen en la regulación de la actividad de la rubisco.

originar cambios conformacionales en la enzima que originan su activación. Los electrones necesarios para la reducción de la cisteína proceden de la cadena de transporte electrónico, y son cedidos de la ferredoxina a una proteína específica que contiene azufre, la **tioredoxina**, la cual los transfiere a las enzimas del estroma (Fig. 11-14). De esta manera, puede decirse que estas enzimas son «activadas por la luz», y que este mecanismo constituye una segunda vía de enlace entre las reacciones de la cadena de transporte electrónico (fase «luminosa» de la fotosíntesis) y el CFRC (fase «oscura»), siendo el primer nexo la producción de ATP y NADPH en la cadena de transporte electrónico para su consumo en el CFRC. Esta regulación no permite un control variable de la actividad enzimática, sino que actúa como un sistema de activación-desactivación. Las enzimas del CFRC que se regulan por este sistema son la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa, la fructosa-1,6-bisfosfatasa, la sedoheptulosa-1,7-bisfosfatasa y la fosforribuloquinasa.

La activación por variaciones de pH y concentración de magnesio se ha explicado ya como mecanismo de activación de la rubisco (apartados 4.2 y 4.4). Otras enzimas del CFRC que comparten este mecanismo de activación son la fructosa-1,6-bisfosfatasa y la sedoheptulosa-1,7-bisfosfatasa. Al igual que la activación por reducción de grupos tiol, este mecanismo permite la activación de las enzimas durante el día y su desactivación durante la noche, más que un control variable de su actividad. Este mecanismo constituye también otra vía de acoplamiento entre la cadena de transporte electrónico y el CFRC.

La modulación mediante cambios en la concentración del sustrato, al contrario que los dos mecanismos anteriores, conduce al control variable de las actividades enzimáticas. En las enzimas del CFRC es rara la regulación mediante variaciones

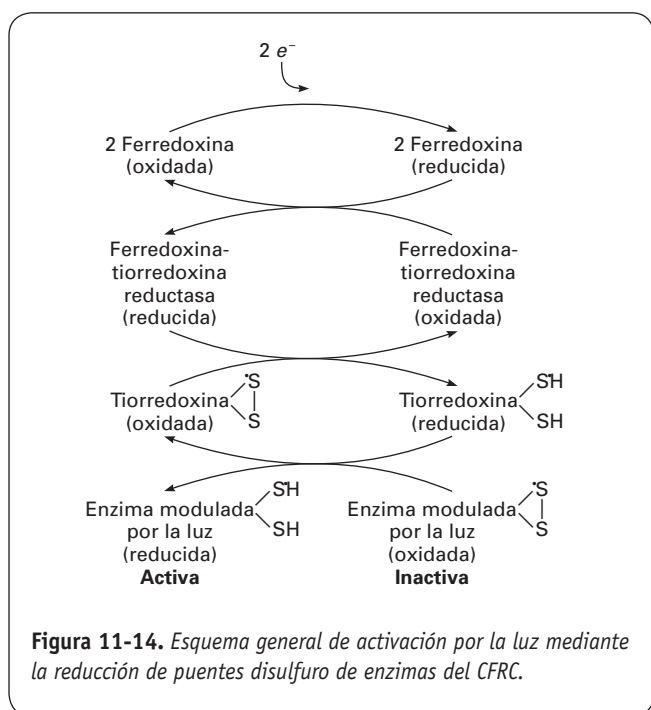
en la concentración del propio sustrato. De hecho, a excepción del PGA y la RuBP, se aprecian variaciones muy pequeñas en las concentraciones de los metabolitos que actúan como sustratos de las distintas reacciones del CFRC en las hojas. Sin embargo, se ha observado un control de la actividad enzimática por acción de un sustrato que actúa en un lugar diferente al sitio activo de la enzima (control alostérico). Así, la fructosa-1,6-bisfosfato sensibiliza a la fructosa-1,6-bisfosfatasa a su activación por la tioredoxina. Esto permite que la actividad de la enzima pueda responder a variaciones muy pequeñas en la concentración de su sustrato. Un mecanismo de control diferente es el de la fosforribuloquinasa, que es sensible al PGA, de tal modo que si la concentración de PGA aumenta, la actividad de la fosforribuloquinasa disminuye. Este mecanismo ayuda a mantener constante la relación entre la producción de PGA, que depende de la actividad de la rubisco, y la reducción de PGA, que depende de la velocidad con que se sintetizan NADPH y ATP en la cadena de transporte electrónico y la fotofosforilación, respectivamente.

4.6. La síntesis y la exportación de fotoasimilados están sujetas a diferentes tipos de regulación

El primer paso de la síntesis de sacarosa que está estrictamente regulado es el que cataliza la fructosa-1,6-bisfosfatasa (Fig. 11-9). Al contrario que la isoenzima del estroma, regulada por grupos tiol (apartado 4.5), la fructosa bisfosfatasa citosólica está regulada por la **fructosa 2,6-bisfosfato**, un isómero del sustrato fructosa-1,6-bisfosfato. Cuando esta sustancia está presente, la actividad de la enzima es baja; cuando está ausente, la actividad de la enzima aumenta. La concentración de fructosa-2,6-bisfosfato se incrementa cuando la velocidad de la fotosíntesis es baja. De esta manera se logra que, a bajas velocidades de fijación de carbono, la actividad de la fructosa bisfosfatasa sea baja, evitándose así un drenaje inútil de carbono desde el cloroplasto. La actividad de la fructosa bisfosfatasa controla la velocidad a la que el carbono fijado en la fotosíntesis se destina a la formación de sacarosa.

La enzima más importante en la regulación de la síntesis de sacarosa es la **sacarosa fosfato sintasa**, que cataliza el paso de UDP-glucosa a sacarosa fosfato (Fig. 11-9). Esta enzima se regula a través de la fosforilación de aminoácidos específicos, así como por la concentración de metabolitos diferentes de sus propios sustratos. Estos metabolitos son el fosfato inorgánico y la glucosa 6-fosfato. Cuando la velocidad de la fotosíntesis se incrementa, la síntesis de glucosa 6-fosfato aumenta y la concentración de fosfato inorgánico en el citosol **disminuye**. Ambos factores estimulan la actividad de la sacarosa-fosfato sintasa, de manera que la síntesis de sacarosa acompaña su velocidad a la velocidad de fijación del carbono.

La regulación de la síntesis de almidón es similar a la de la síntesis de sacarosa. Sin embargo, el paso más importante de la regulación es el que implica la conversión de glucosa



1-fosfato a ADP-glucosa (véase la Fig. 11-9). La **ADP-glucosa pirofosforilasa** es estimulada por 3-PGA e inhibida por fosfato inorgánico. Al incrementar la asimilación fotosintética, la concentración de 3-PGA aumenta a expensas del fosfato, de modo que la actividad de la enzima se incrementa.

4.7. La tasa de fotosíntesis también está regulada por el transporte de asimilados

La capacidad de la planta para usar los **productos finales** de la fotosíntesis puede reducir las tasas de asimilación de CO_2 en las hojas. Este efecto fue observado al alargar mucho el período de iluminación de plantas en condiciones ideales de cultivo. Tiene lugar cuando se mantienen elevadas tasas de fotosíntesis (a saturación de luz y CO_2), cercanas a la capacidad máxima de la hoja, o bien cuando, por alguna razón, la capacidad de utilización de los fotosintatos está reducida, es decir, cuando la producción de 3-PGA en el cloroplasto excede la capacidad de producir sacarosa y almidón.

La síntesis de sacarosa y almidón son procesos dependientes de las concentraciones de CO_2 y O_2 , a través de los efectos de estos gases en la rubisco y, por tanto, en la producción posterior de triosas fosfato (véanse los apartados 4.2, 4.4 y el Capítulo 12). Sin embargo, los procesos de utilización de sacarosa y almidón no dependen del CO_2 y el O_2 , y la limitación de la fotosíntesis por exceso de triosas fosfato se detecta porque la tasa de fotosíntesis no aumenta al elevar la concentración de CO_2 o reducir la de O_2 .

La tasa de síntesis de sacarosa y almidón determina la rapidez del ciclo del fosfato inorgánico. La síntesis de sacarosa en el citoplasma libera fosfato inorgánico, que vuelve al cloroplasto a través del **translocador de fosfato** (véanse

el apartado 3.1 y la Fig. 11-8). En muchas plantas, la capacidad de síntesis de almidón es muy inferior a la capacidad fotosintética, por lo que, en condiciones de elevada iluminación y alta concentración de CO_2 , la tasa de fotosíntesis se encuentra rigurosamente determinada por la capacidad de síntesis de la sacarosa y por la consecuente regeneración del fosfato inorgánico necesario dentro del cloroplasto para la síntesis de ATP.

Esta regulación explica también el hecho de que, a menudo, las tasas de fotosíntesis sean más elevadas en las hojas cercanas a los frutos (sumideros de fotoasimilados), así como el efecto negativo de la escisión de los sumideros (frutos, tubérculos etc.) sobre las tasas de fotosíntesis (véase el Capítulo 5). La manipulación de las plantas para incrementar la utilización de los asimilados puede aumentar la tasa de fotosíntesis de las hojas. En la mejora genética clásica, la selección por tamaño y calidad del fruto ha producido plantas en las que la utilización de asimilados es más intensa (véase el Capítulo 5).

Recientemente se ha conseguido manipular genéticamente la expresión de la enzima sacarosa-fosfato sintasa (SPS), enzima clave en la síntesis de sacarosa (véanse los apartados 3.1 y 4.6 y la Fig. 11-9); obteniéndose así plantas transgénicas de tomate que sobreexpresaban genes de SPS procedentes del maíz. Estas plantas, en condiciones de elevada iluminación y alta concentración de CO_2 , mostraron incrementos significativos de sus tasas de fotosíntesis respecto a las plantas nativas.

La capacidad de mejorar mediante ingeniería genética la utilización de los productos finales de la fotosíntesis parece una de las vías más prometedoras para incrementar la fotosíntesis y, en consecuencia, la producción de los cultivos, máxime en una atmósfera cuya concentración de CO_2 aumenta progresivamente (véase el Capítulo 13).



RESUMEN

- La asimilación fotosintética del CO_2 es el primer paso en la producción de nueva biomasa y, por tanto, tiene una importancia fundamental para el mantenimiento de la biosfera.
- Los primeros productos de la asimilación del CO_2 que se consideran carbohidratos son triosas fosfato (C3) que, posteriormente, pasan a ser moléculas de azúcares sencillos (glucosa, fructosa) o más complejos (sacarosa y almidón).
- El conocimiento de los primeros pasos en la asimilación del CO_2 mediante ^{14}C permitió identificar el primer aceptor para el CO_2 (ribulosa-1,5-bisfosfato, RuBP) y el primer producto de su asimilación (3-fosfoglicerato, PGA).
- El descubrimiento del ciclo fotosintético de reducción del CO_2 (CFRC) permite distinguir tres fases diferenciadas: fijación del CO_2 o carboxilación mediante la rubisco, reducción a hidratos de carbono, y regeneración de la RuBP. A partir de gliceraldehído 3-fosfato y dihidroxiacetona fosfato (triosas fosfato), se inicia la formación de glucosa, fructosa y, posteriormente, almidón y sacarosa.
- Existen diferentes mecanismos de regulación de la actividad carboxilasa de la rubisco, entre ellos la activación por CO_2 , Mg^{2+} , rubisco activasa y otros. Las restantes enzimas del CFRC y la formación de los distintos carbohidratos presentan también interesantes mecanismos de regulación.

PROBLEMAS Y CUESTIONES



- 1 Combinando los conocimientos adquiridos en el presente capítulo y en el anterior, calcule cuántos fotones deben ser capturados, como mínimo, por la planta, para poder sintetizar una molécula de hexosa en condiciones ideales.
- 2 Como se puede ver en la Figura 11-3, los niveles de RuBP y 3-PGA marcados con ^{14}C en *Chlorella* cambian al pasar de la luz a la oscuridad. Esta figura, ¿es prueba suficiente de que la RuBP es el aceptor del ^{14}C ? ¿Sugiere esta figura que el 3-PGA se forma a partir de la RuBP?

RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES



- 1 Una molécula de hexosa implica la fijación de 6 CO_2 . Cada molécula de CO_2 requiere dos NADPH para su reducción. Cada NADPH necesita dos electrones para formarse a partir del NADP. Si tenemos en cuenta el gasto de ATP, cada carbono fijado requiere un gasto de tres ATP, lo que implica o dos vueltas y media de la cadena de transporte de electrones (véase el Capítulo 10), o bien dos vueltas, más la participación extra del PSI en el transporte cíclico. Teniendo en cuenta estas premisas, parece correcto asumir que, en teoría, las necesidades mínimas serían de unos 10 fotones por cada CO_2 fijado: $6 \text{ C}/1 \text{ molécula de glucosa} \times 2 \text{ NADPH}/\text{C} \times 2\text{e}^-/\text{NADPH} \times 2 \text{ fotones}/\text{e}^- = 48 \text{ fotones por}$ molécula de hexosa. Para satisfacer las necesidades de ATP, se requieren al menos 12 fotones más (60 fotones en total).
- 2 a) No, aunque la concentración de RuBP con CO_2 marcado disminuye drásticamente en la oscuridad y aumenta inmediatamente con la iluminación. Sin embargo, podrían existir otros compuestos intermedios no representados. Por tanto, la figura no aporta pruebas absolutas de que la RuBP sea el aceptor del $^{14}\text{CO}_2$.
b) Sí, la disminución de la RuBP en la oscuridad se corresponde con un aumento aproximado de prácticamente el doble de PGA.

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA



1. Azcón-Bieto J, Talón M. (eds.). *Fisiología y Bioquímica Vegetal*. Madrid, McGraw-Hill/Interamericana, 1993.
2. Buchanan BB. Role of light in the regulation of chloroplast enzymes. *Annual Review of Plant Physiology* 1980; 31:341-374.
3. Calvin M, Bassham JA. *The Photosynthesis of Carbon Compounds*. New York, Benjamin, 1962.
4. Lawlor DW. *Photosynthesis. Molecular, Physiological and Environmental Processes*, 2ª ed. Hong-Kong, Longman Scientific & Technical, 1993.
5. Roy H, Andrews TJ. Rubisco: assembly and mechanism. En: Leegood RC, Sharkey TD, Von Caemmerer S. (eds.). *Photosynthesis: Physiology and Metabolism*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 2000; 53-83.
6. Sharkey TD. Photosynthetic carbon reduction. En: Raghavendra AS (ed.). *Photosynthesis: A Comprehensive Treatise*. Cambridge, Cambridge University Press, 1998; 111-122.
7. Spreitzer RJ, Salvucci ME. Rubisco: structure, regulatory interactions, and possibilities for a better enzyme. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 2002; 53:449-475.
8. Stitt M. Fructose 2,6-bisphosphate as a regulatory molecule in plants. *Annual Review of Plant Physiology* 1990; 41:153-185.
9. Woodrow IE, Berry JA. Enzymatic regulation of photosynthetic CO_2 fixation in C_3 plants. *Annual Review of Plant Physiology* 1988; 39:533-594.

Fotorrespiración y mecanismos de concentración del dióxido de carbono

HIPÓLITO MEDRANO, JERONI GALMÉS Y JAUME FLEXAS



1. Introducción. 2. Fotorrespiración. 3. Mecanismo fotosintético C4. 4. Metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM). 5. Otros mecanismos de concentración de CO₂. 6. Discriminación isotópica de los diversos mecanismos de fijación fotosintética del carbono. 7. Las diferentes vías de asimilación del carbono en un contexto evolutivo.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Las plantas presentan un tipo de respiración dependiente de la luz: la fotorrespiración

La asimilación del CO₂ en la fotosíntesis básicamente se realiza según las rutas bioquímicas explicadas en el capítulo anterior; pero además de estas rutas, existen procesos bioquímicos y modificaciones morfológicas, descubiertos posteriormente, que cambian sustancialmente la eficacia del ciclo fotosintético de reducción del CO₂ (CFRC) y que suponen importantes variaciones que afectan a la eficiencia energética de las plantas. En este capítulo se expondrán los detalles más relevantes de la fotorrespiración o metabolismo del ácido glicólico, así como de las diferentes modificaciones anatómicas y metabólicas que consiguen aumentar la concentración del CO₂ en el entorno de la rubisco (vías C4 y CAM, etc.).

Los primeros descubrimientos en relación con la fotorrespiración se remontan a los trabajos realizados por Warburg, hacia 1920, en *Chlorella*, en los que investigaba el efecto inhibitor del oxígeno en concentraciones elevadas sobre la fotosíntesis. Por otra parte, los primeros estudios sobre el metabolismo del glicolato demostraron que su formación se inhibía con altas concentraciones de CO₂, y que constituía un metabolito importante de la respiración en condiciones de iluminación. Más tarde se descubrió que en el *locus* activo de la rubisco, la RuBP puede unirse al O₂

en lugar de al CO₂, produciendo fosfoglicolato, el precursor del glicolato (véase el apartado 2.1). Este descubrimiento permitió integrar los efectos de las altas concentraciones de O₂ sobre la fotosíntesis, la implicación del glicolato y la relación íntima de la fotorrespiración con el CFRC. En conjunto, la fotorrespiración supone una reducción de la eficiencia de la fotosíntesis; de hecho, durante algunos años se invirtieron grandes esfuerzos en seleccionar plantas con muy baja fotorrespiración como vía para incrementar la producción de los cultivos, con muy escaso éxito. El papel fisiológico de este proceso no está totalmente dilucidado, aunque se están acumulando pruebas de su importancia como vía de disipación de la energía (poder reductor y ATP acumulados), que ayuda a mantener activo el aparato fotosintético en condiciones de iluminación intensa y escaso suministro de CO₂. La importancia de este proceso en los distintos tipos de plantas es desigual y depende, en buena parte, de las condiciones de crecimiento.

1.2. Existen diferentes mecanismos de asimilación del dióxido de carbono

En diversas familias (unas 17) de plantas superiores, y en unas 3000 especies, se ha desarrollado un mecanismo de acumulación del CO₂ en el mesófilo que aumenta la eficiencia de la fotosíntesis, sobre todo en climas secos y cálidos. En los años cincuenta, estudiando la fotosíntesis en la caña de azúcar, se observó que los primeros productos marcados con ¹⁴C no eran el 3-PGA ni el GAP (véase el Capítulo 11),

sino ácidos como el oxalacético, el málico o el aspártico (moléculas de cuatro átomos de carbono, C4). Al prolongar la incubación con ^{14}C aparecía marcado el 3-PGA. En los años sesenta, Hatch y Slack aportaron nuevas pruebas, y describieron la existencia de esta vía de asimilación del carbono en la caña de azúcar y en otras plantas, que por ello se denominaron **plantas C4**, en contraposición con las que presentan el 3-PGA como primer aceptor del ^{14}C , que pasaron a llamarse **plantas C3**. Las modificaciones bioquímicas que presentan las plantas C4 están asociadas a cambios morfológicos que permiten aislar, por una parte, los mecanismos de fijación inicial de CO_2 en el mesófilo y, por otra, su definitiva asimilación por la rubisco. El resultado es una tasa de fotosíntesis muy superior a la de las plantas C3, sobre todo para conductancias estomáticas bajas, y una mayor eficiencia en el uso del agua (véanse los Capítulos 3 y 13).

Otra modificación importante del CFRC es la que se encuentra en muchas especies de plantas suculentas, que generalmente habitan en zonas áridas. Esta modificación también supone un aumento de la concentración de CO_2 en el entorno de la rubisco, y fue descubierta en plantas de la familia de las crasuláceas, que por ello se denominaron **plantas CAM** (*crassulacean acid metabolism*). En estas plantas, los estomas permanecen cerrados durante el día (con el consiguiente ahorro de agua) y están abiertos durante la noche. Así, el primer producto de la fijación nocturna de CO_2 es también un compuesto de cuatro carbonos y, por tanto, el inicio de la asimilación fotosintética de CO_2 tiene lugar por la noche, debido al poder reductor que se ha ido acumulando durante el día.

En las plantas que viven bajo el agua existen también mecanismos de absorción y concentración del CO_2 en el mesófilo que implican un gasto energético. En los medios acuáticos, la difusión del CO_2 es 10 000 veces más lenta que en el aire, lo que justifica la ventaja ecológica y evolutiva de desarrollar estos mecanismos de concentración.

En conjunto, el proceso de asimilación del CO_2 presenta variaciones que podemos relacionar con el problema general del abastecimiento de CO_2 en el entorno de la rubisco. La adquisición de mecanismos de concentración de CO_2 en el mesófilo supone siempre una reducción de la incidencia de la fotorrespiración, pero también una mejora en la capacidad de adaptación a ambientes áridos y cálidos, con las consiguientes ventajas evolutivas.

1.3. Disponibilidad de CO_2 en las plantas

La difusión de CO_2 desde la atmósfera hasta los centros activos de carboxilación de la rubisco de las plantas superiores debe vencer distintas resistencias en la hoja. Aparte de las resistencias debidas a la capa límite y a la resistencia estomática, que también son aplicables a la difusión de vapor de agua, pero en sentido opuesto (véanse los Capítulos 3 y 13), el flujo de CO_2 hacia el estroma del cloroplasto, y por tanto hacia la rubisco, depende también de la **conductancia del mesófilo foliar** (g_m) o de su parámetro inverso, la **resistencia del mesófilo** (r_m). Esta resistencia abarca todas

las resistencias individuales que dificultan el paso de CO_2 desde los espacios aéreos de la cavidad subestomática hasta el estroma cloroplástico: 1) disolución de CO_2 en la fase líquida que recubre las células fotosintéticas, y 2) atravesar su pared celular, el plasmalema, el citosol, la doble membrana cloroplástica y el estroma, respectivamente. En las plantas C3, dicho flujo de CO_2 se produce a favor del gradiente de concentración, y la fuerza que promueve este gradiente es la incorporación de CO_2 en moléculas orgánicas. A partir de la ley de Fick de difusión se obtiene la siguiente ecuación:

$$A_N = g_e (C_a - C_i) = g_m (C_i - C_c)$$

donde A_N es la tasa de carboxilación neta; g_e ($o g_s$) es la conductancia estomática; g_m la conductancia del mesófilo, y C_a , C_i y C_c las concentraciones de CO_2 en la atmósfera, en la cavidad subestomática y en los centros de carboxilación de la rubisco, respectivamente.

Tradicionalmente, los estudios de intercambio de gases entre la hoja y la atmósfera asumían que, prácticamente, g_m tiene un valor muy alto y constante (y, por tanto, se consideraba que $r_m = 0$). Como consecuencia, también se asumía que C_c era igual a C_i . No obstante, como se muestra en el Cuadro 12-1, estimaciones recientes apuntan a que la resistencia al paso del CO_2 por el mesófilo foliar puede limitar fuertemente la C_c y, por consiguiente, la capacidad fotosintética de las plantas. En algunas especies, como por ejemplo el trigo y la vid, la limitación impuesta por la g_m puede ser incluso más importante que la impuesta por la g_e , en términos de difusión del CO_2 . Ello implica que las concentraciones de CO_2 en los sitios de carboxilación sean significativamente inferiores al 50% de la concentración atmosférica (370 ppm o $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ aire), lo cual explica el hecho de que las plantas C3 se vean obligadas a invertir gran cantidad de nitrógeno foliar en la síntesis de la rubisco, al estar la concentración de CO_2 alrededor de la rubisco muy por debajo de su K_M para el CO_2 ($K_M = 10\text{-}15 \mu\text{M}$, es decir entre 300-450 ppm o $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ aire; véase el Capítulo 11). Los bajos valores de C_c podrían haber supuesto, además, una presión de selección que provocase la mejora de las propiedades cinéticas de la rubisco. Así, aquellas especies con elevadas resistencias a la difusión de CO_2 (por tanto, con g_e y g_m bajas) han evolucionado adaptando la cinética enzimática de la rubisco hasta convertirla en una proteína más eficiente, es decir, incrementando su factor específico (véase el Capítulo 11). Es el caso de las algas rojas termofílicas y de las especies mediterráneas de ambientes secos y cálidos (véase el Capítulo 11).

En general, la g_m máxima depende en parte de la morfología de la hoja y, en concreto, de la densidad del tejido foliar. De esta forma, especies con una mayor densidad de tejido foliar, es decir, con hojas de mayor peso específico, ofrecen mayor resistencia a la difusión del CO_2 (una menor g_m). Además, para una misma especie, la g_m no es constante y la planta tiene capacidad para modular su valor en función del estado fisiológico y de las condiciones ambientales en las que la hoja se desarrolló. Así, se han constatado variaciones de la g_m en función de la edad de la hoja, el estado de senescencia, la cantidad de luz incidente, la concentración

CUADRO 12-1. Valores máximos estimados de conductancia estomática (g_e), conductancia del mesófilo (g_m) y concentración de CO_2 en los centros de carboxilación (C_c), en diferentes especies de plantas C_3 .

Especie	g_e máxima ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	g_m máxima ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	C_c máxima ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{aire}$)
<i>Triticum sp.</i>	0.75	0.60	265
<i>Beta vulgaris</i>	0.75	0.34	240
<i>Phaseolus vulgaris</i>	0.50	0.29	150
<i>Populus sp.</i>	0.46	0.50	250
<i>Glycine max</i>	0.45	0.50	200
<i>Vitis vinifera</i>	0.45	0.25	175
<i>Nicotiana sylvestris</i>	0.32	0.16	120
<i>Cistus albidus</i>	0.32	0.22	200
<i>Quercus ilex</i>	0.25	0.11	180
<i>Olea europaea</i>	0.25	0.12	95
<i>Limonium magallufianum</i>	0.25	0.12	80
<i>Pistacia lentiscus</i>	0.15	0.05	80
Rango	0.15-0.75	0.05-0.60	30-70% de C_a

ambiental de CO_2 y la disponibilidad de agua para la planta. Estas variaciones de g_m tienen lugar con extraordinaria rapidez, lo que descarta que se deban a cambios en la morfología y la estructura del tejido parenquimático de la hoja, los cuales requieren períodos más largos de tiempo, asociados a procesos de aclimatación y adaptación. Aunque los mecanismos responsables de la variación de g_m siguen siendo un interrogante, hipótesis recientes apuntan a la actividad de dos proteínas abundantes en el mesófilo foliar: la **anhidrasa carbónica** y las **acuaporinas**. La primera de ellas cataliza la conversión reversible del CO_2 atmosférico en bicarbonato, facilitando así la difusión del CO_2 a través del cloroplasto (véanse el apartado 5.2 y el Capítulo 6). Sin embargo, plantas transgénicas con actividad muy reducida de la anhidrasa carbónica no muestran ninguna diferencia en la g_m y la fotosíntesis respecto al genotipo salvaje, por lo que no parece que la anhidrasa carbónica desempeñe un papel determinante en la regulación de la g_m . En el caso de las acuaporinas, éstas forman parte de un grupo de proteínas intrínsecas de membrana, y su nombre se debe a que pronto se observó que su principal función consistía en regular el flujo de agua entre células adyacentes (véanse los Capítulos 2 y 7). Sin embargo, experimentos recientes demuestran que algunos de estos canales de agua insertados en las membranas también podrían actuar facilitando el transporte de CO_2 hacia

los lugares activos de fijación. En concreto, recientemente se ha demostrado la implicación de dos acuaporinas en la regulación de la g_m : la NtAQP1 del tabaco (Uehlein, N. y cols., *Nature* 425:734-737, 2003; Flexas, J. y cols. *Plant Journal* 48:427-439, 2006) y la HvPIP2;1 de la cebada (Hanba, Y.T. y cols. *Plant and Cell Physiology* 45:521-529, 2004).

2. FOTORRESPIRACIÓN

2.1. En el lugar activo de la rubisco, la RuBP puede reaccionar con O_2 en lugar de CO_2 , iniciándose el proceso de fotorrespiración

La actividad carboxilasa de la rubisco implica la unión de la enzima con la RuBP en los *loci* activos, la formación de un compuesto intermediario tras la aceptación del CO_2 (sustrato) y la liberación de dos moléculas de 3-PGA ($2 \times \text{C}_3$) (véase el Capítulo 11). Sin embargo, al igual que el CO_2 , el O_2 puede reaccionar con la RuBP produciendo **ácido fosfoglicólico** o **fosfoglicolato (C2)** a partir de los carbonos 1 y 2 de la RuBP, y 3-PGA (C3) a partir de los carbonos restantes (Fig. 12-1). El O_2 y el CO_2 **compiten** por los *loci* activos de la rubisco, es decir, el O_2 es un inhibidor competitivo del CO_2 , y viceversa.

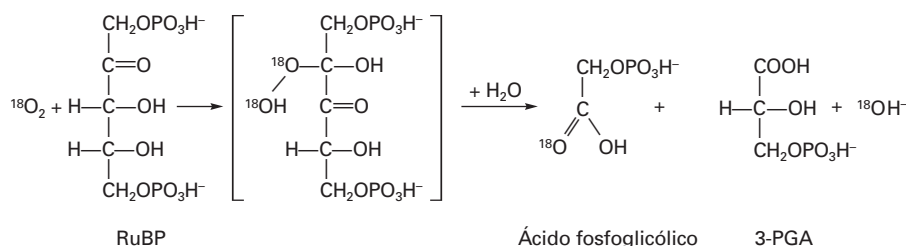


Figura 12-1. Actividad oxigenasa de la rubisco. El oxígeno reacciona con la RuBP formando un compuesto inestable que se escinde en ácido fosfoglicólico y 3-PGA.

La capacidad para catalizar tanto la carboxilación como la oxigenación de la RuBP es una propiedad de la rubisco presente incluso en bacterias autótrofas anaeróbicas. La carboxilación, medida *in vitro* con similares concentraciones de O_2 y CO_2 , es unas 80 veces más rápida que la oxigenación (véase el Capítulo 12). Sin embargo, en una solución acuosa a 25 °C la ratio CO_2/O_2 es de 0.0416. En consecuencia, en las condiciones atmosféricas actuales la rubisco actúa como oxigenasa entre un 25 y un 30% de las veces. Esta **actividad oxigenasa** de la rubisco es el comienzo de un proceso llamado **fotorrespiración**, el cual incluye una serie de reacciones llamadas ciclo C_2 o ciclo fotorrespiratorio.

El fosfoglicolato formado en el cloroplasto por oxigenación de la RuBP es rápidamente hidrolizado a glicolato por una fosfatasa específica (Fig. 12-2). El **metabolismo del glicolato** implica la participación de dos orgánulos más: los **peroxisomas** o microcuerpos y las **mitocondrias**. Mediante un transportador específico, el glicolato sale del cloroplasto y difunde hacia el peroxisoma. El peroxisoma contiene característicamente grandes cantidades de **catalasa**, enzima que cataliza la conversión de dos moléculas de peróxido de hidrógeno ($2 H_2O_2$) a $2 H_2O + O_2$. En el peroxisoma, el glicolato es oxidado (con consumo de O_2) a glioxilato mediante la **glicolato oxidasa**, y el H_2O_2 que se genera se convierte en H_2O mediante la catalasa. El glioxilato sufre una transaminación en la que el donador es probablemente el glutamato, y el producto, la glicina. Este aminoácido deja el peroxisoma y entra en la mitocondria, donde el complejo enzimático **glicina descarboxilasa** descompone, en una primera fase, la molécula de glicina a amoníaco (o amonio) y CO_2 , dejando libre el otro carbono de la glicina, que se une a un transportador especial de grupos monocarbonados (tetrahidrofolato). Esta coenzima dona el fragmento de un carbono resultante a una segunda glicina, formándose así serina. El amonio liberado se vuelve a fijar a través del ciclo de la glutamina sintetasa-glutamato sintasa (**ciclo GS-GOGAT**), con un elevado coste energético (véase el Capítulo 15). Tanto la glicina como la serina de la fotorrespiración pueden utilizarse para formar proteínas, pero en su mayor parte serán metabolizadas para formar 3-PGA. Así, la serina formada en la mitocondria pasa al peroxisoma, donde sufre una transaminación para producir hidroxipiruvato, el cual a continuación se reduce a glicerato en otra reacción del peroxisoma. Este glicerato entra finalmente en el cloroplasto, donde es fosforilado a 3-PGA (Fig. 12-2).

En este proceso se ha consumido O_2 (en el primer paso a nivel de la rubisco y en el peroxisoma), y se ha liberado CO_2 (en la transformación de dos glicinas a una serina), por lo que tiene características de proceso respiratorio. Sin embargo, a diferencia de la respiración mitocondrial (véase el Capítulo 14), la fotorrespiración es dependiente de la luz y se inhibe mediante DCMU (un inhibidor de la fotosíntesis a nivel de la cadena de transporte de electrones). Además, el metabolismo fotorrespiratorio es estimulado por concentraciones crecientes de O_2 , sin saturarse ni siquiera con niveles del 100% de O_2 (Fig. 12-3), mientras que la respiración mitocondrial se satura al 1-2% de O_2 . La fotorrespiración es, por tanto, un proceso distinto de la respiración mitocondrial (véase el Capítulo 14).

2.2. La relación entre las actividades de carboxilación y oxigenación depende de las propiedades cinéticas de la rubisco, las concentraciones de CO_2 y O_2 y la temperatura

Puesto que la fotosíntesis y la fotorrespiración tienen lugar simultáneamente en la hoja, la tasa de asimilación del CO_2 que se mide experimentalmente (fotosíntesis neta) es, sobre todo, un balance entre el CO_2 inicialmente fijado (fotosíntesis bruta) y las pérdidas fotorrespiratorias de CO_2 . Como en ambos procesos están implicados los mismos gases, pero con flujos en sentido contrario, es difícil medir por separado las tasas de fotosíntesis y fotorrespiración. Sin embargo, a nivel teórico podemos evaluar la importancia de este último proceso y calcular experimentalmente su dependencia respecto a ciertas variables.

El balance entre la fotosíntesis y la fotorrespiración está determinado por las **propiedades cinéticas de la rubisco** (véase el Capítulo 11) y por la concentración de sustratos, CO_2 y O_2 . En principio, por cada cuatro carbonos que entran en el ciclo fotorrespiratorio se pierde uno como CO_2 en las condiciones atmosféricas actuales, lo que indica que la tasa de fotosíntesis bruta debe estar alrededor del 125% de la medida experimentalmente (considerando que la fotosíntesis neta = 100%). Las propiedades cinéticas de la rubisco presentan una variabilidad no muy alta entre los organismos en que se han medido y resultan, por ahora, difíciles de mejorar, a pesar de los importantes esfuerzos que se están llevando a cabo mediante la ingeniería genética. Estas propiedades son dependientes de la temperatura: al incrementarse la temperatura se favorece la actividad oxigenasa en relación con la carboxilasa y, por otra parte, también aumenta la ratio O_2/CO_2 disueltos en un medio acuoso, ya que la solubilidad del CO_2 decrece más rápidamente que la del O_2 . Por tanto, en conjunto, al aumentar la temperatura se favorece la fotorrespiración.

2.3. La fotorrespiración disminuye la eficiencia de la fotosíntesis, pero puede proteger a las plantas del exceso de luz en condiciones de bajo CO_2 en el interior de la hoja

Una primera consecuencia de la existencia de la fotorrespiración es que, además de reducir (junto con la clásica respiración mitocondrial) la fotosíntesis bruta a las tasas de la fotosíntesis neta, se produce un gasto energético importante que disminuye también la eficiencia del proceso de asimilación del CO_2 .

Si el CFRC supone el gasto de 3 ATP + 2 NADPH por ciclo (521 kJ), el ciclo fotorrespiratorio supone gastar, como mínimo, 2 ATP + 2.5 NAD(P)H (600 kJ) por cada RuBP oxigenada (Cuadro 12-2. *Nota: se asume que cada NADH que se genera dentro de la mitocondria en el paso de dos glicinas a seri-*

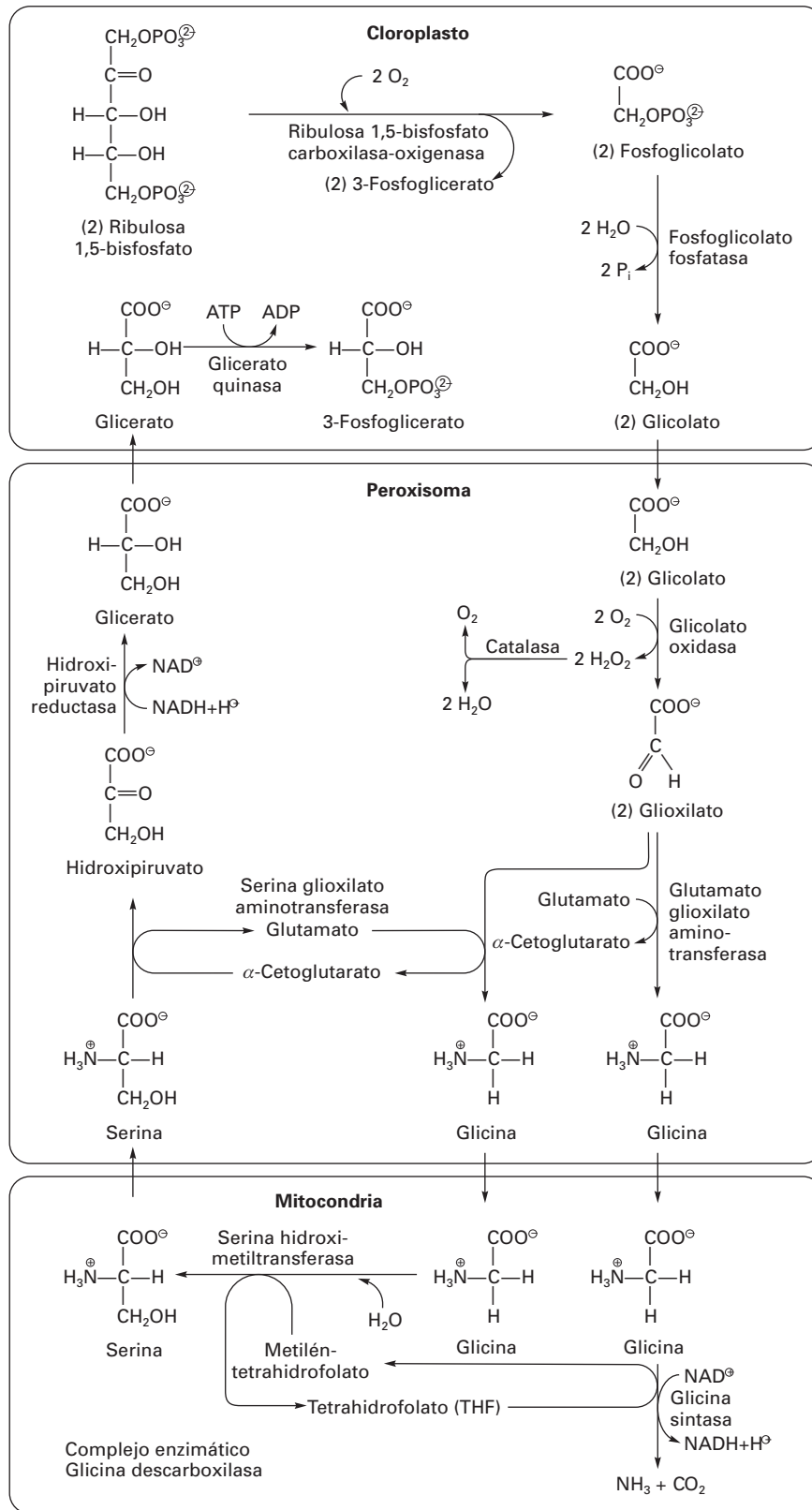
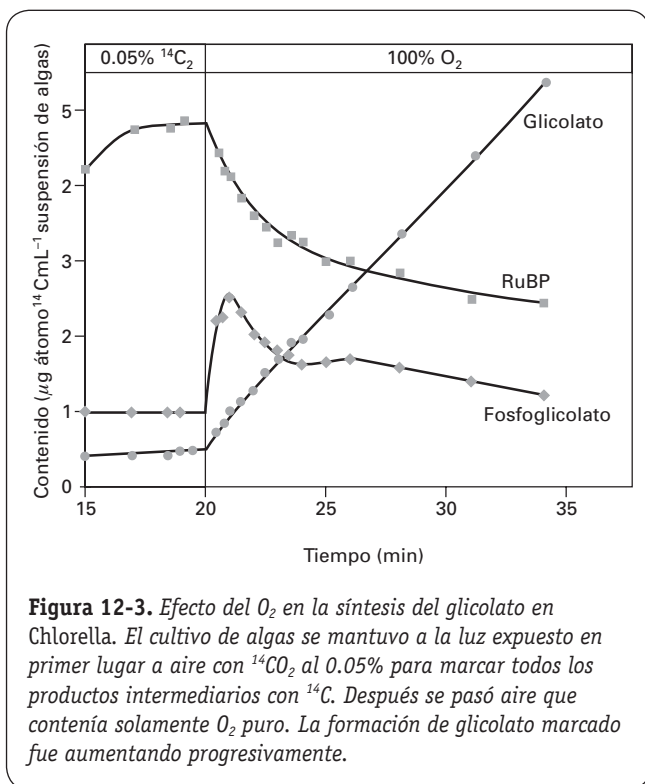


Figura 12-2. Ciclo de la fotorrespiración. Este ciclo implica la participación de tres orgánulos de la célula fotosintética: cloroplasto, peroxisoma y mitocondria.



na, se reoxida por la cadena respiratoria, con una producción máxima de tres ATP por NADH —caso de la vía citocrómica, véase el Capítulo 14—; en cambio, si se considera la posibilidad de que este NADH mitocondrial de origen fotorrespiratorio se exporte al peroxisoma para reducir el hidroxipiruvato, el coste de fijar un O₂ sería algo superior: 3.5 ATP + 2 NAD(P)H; en realidad, seguramente coexisten ambos mecanismos de reoxidación del NADH fotorrespiratorio mitocondrial, con un coste intermedio de ATP y NAD(P)H.

En atmósfera normal, con una ratio carboxilación/oxigenación de 3:1, tendremos un gasto energético de: 3 × 521 kJ + 1 × 600 kJ = 2163 kJ para fijar, de forma neta, 2.5 carbonos (fijar tres y perder ½). Por tanto, la energía requerida para fijar un mol de CO₂ pasa de 521 a 865 kJ. En conjunto, la eficiencia termodinámica se reduce de un 90% (467/521) en condiciones no fotorrespiratorias, a un 54% (467/867) en condiciones fotorrespiratorias normales. Esta pérdida de eficiencia puede observarse cuando medimos un rendimiento cuántico mayor en condiciones no fotorrespiratorias (por ejemplo, en atmósfera con un 2% de O₂) frente a condiciones de atmósfera normal (véase el Capítulo 13).

Cabe preguntarse, pues, por qué se mantiene en la planta un proceso aparentemente sin beneficio y que reduce notablemente la eficiencia de la fotosíntesis (proceso básico para la producción y el crecimiento de la planta) ¿Por qué la selección natural no ha eliminado este proceso? El descubrimiento de la actividad oxigenasa de la rubisco (muy posterior al del metabolismo del glicolato) animó a estudiar a fondo este punto de partida de todo el gasto fotorrespiratorio, y a conocer las posibles varian-

tes, los efectos ambientales, etc. Con los conocimientos actuales se comprende que la oxigenación resulta «inevitable» para el *locus* activo de la rubisco, quizá por la similitud de las propias moléculas de CO₂ y O₂, y el ciclo fotorrespiratorio permite recuperar el 75% del carbono perdido por el cloroplasto en forma de fosfoglicolato (Fig. 12-2). Aunque la fotorrespiración resulte «inevitable», sí es posible minimizarla aumentando la concentración de CO₂ o reduciendo la presencia de O₂ cerca de la rubisco. En efecto, ciertas especies, frecuentes en zonas cálidas y áridas, y en general de evolución relativamente reciente, han desarrollado mecanismos (C₄ y CAM) que consiguen incrementar mucho la concentración del CO₂ en el entorno de la rubisco, reduciendo así a mínimos la incidencia de la fotorrespiración.

Por otra parte, en condiciones de elevada iluminación y bajas concentraciones de CO₂ en el interior de la hoja (por ejemplo, por un cierre estomático en respuesta a la sequía o la salinidad), la fotorrespiración puede ser una vía para utilizar el exceso de ATP y NADPH generado en los tilacoides y, por tanto, **disipar** el exceso de energía, previniéndose así los daños que se puedan causar en el aparato fotosintético (fotoinhibición; véase el Capítulo 10). Su papel sería, pues, complementario al de los carotenoides, en la medida en que ayudan a proteger la integridad del aparato fotosintético en condiciones difíciles de fotoinhibición (véanse los Capítulos 10, 13 y 29).

3. MECANISMO FOTOSINTÉTICO C₄

3.1. Existen plantas en las que el primer producto de fijación fotosintética es un compuesto de cuatro átomos de carbono (C₄)

La concentración efectiva del CO₂ en el mesófilo de las plantas C₃ es baja, puesto que en la atmósfera lo es, y además existen una serie de barreras (como, por ejemplo, la resistencia estomática y la resistencia del mesófilo) que limitan el flujo de CO₂ hacia la rubisco (véase el apartado 1.3). Además, mantener abiertos los estomas supone un coste elevado en términos de pérdida de agua por transpiración (véanse los Capítulos 3 y 13). Algunas plantas que habitan principalmente en zonas cálidas y, en algunos casos, áridas o semiáridas, han desarrollado un sistema que les permite fijar el CO₂ rápidamente en forma de **ácido málico** o de **ácido aspártico**, según las especies, para liberar (y acumular) después este CO₂ en el entorno de la rubisco mediante alguna reacción enzimática de **descarboxilación**. Puesto que los primeros productos de la fijación de CO₂ tienen cuatro átomos de carbono, estas plantas se conocen como **plantas C₄**. Entre ellas se encuentran cultivos tan importantes como el maíz y la caña de azúcar, y bastantes malas hierbas que crecen en verano.

CUADRO 12-2. Balance del gasto energético que se produce como consecuencia de la carboxilación y de la oxigenación de la rubisco en las plantas C3. En el balance de la oxigenación se incluye el coste de la reasimilación del amonio (véase el Capítulo 15) que se produce en la conversión de dos glicinas a una serina en la mitocondria.

Gasto energético asociado a la carboxilación	
3 (RuBP) + 3 CO ₂ + 3 H ₂ O	6 (3-PGA)
6 (3-PGA) + 6 ATP + 6 NADPH	6 (triosa-P) + 6 ADP + 6 P _i + 6 NADP
5 (triosa-P)	3 RuP + 2 P _i
3 RuP + 3 ATP	3 RuBP + 3 ADP
3 CO ₂ + 3 H ₂ O + 9 ATP + 6 NADPH	Triosa-P + 9 ADP + 6 NADP + 8 P _i
Coste de fijar un CO ₂ = 3 ATP + 2 NADPH	
Gasto energético asociado a la oxigenación de la rubisco	
10 (RuP) + 10 ATP	10 (RuBP) + 10 ADP
10 (RuBP) + 10 O ₂	10 (P-glicolato) + 10 (3-PGA)
10 (P-glicolato) + 10 glutamato	10 P _i + 10 glicina + 10 α-cetoglutarato
10 glicina + 15 ADP + 15 P _i	5 serina + 15 ATP + 5 NH ₃ + 5 CO ₂
5 serina + 5 α-cetoglutarato	5 hidroxipiruvato + 5 glutamato
5 hidroxipiruvato + 5 NADH	5 glicerato + 5 NAD
5 glicerato + 5 ATP	5 (3-PGA) + 5 ADP
5 NH ₃ + 5 ATP + 5 glutamato	5 glutamina + 5 ADP + 5 P _i
5 glutamina + 5 α-cetoglutarato + 5 NADPH	10 glutamato + 5 NADP
15 (3-PGA) + 15 ATP + 15 NADPH	15 (triosa-P) + 15 ADP + 15 P _i + 15 NADP
15 (triosa-P)	9 RuP + 6 P _i
RuP + O ₂ + 2 ATP + 2.5 NAD(P)H	0.9 (RuP) + 0.5 CO ₂ + 2 ADP + 2.5 NAD(P) + 2.1 P _i
Coste de fijar un O ₂ = 2 ATP + 2.5 NAD(P)H	

RuBP: ribulosa 1,5-bisfosfato; RuP: ribulosa 5-fosfato; 3-PGA: ácido 3-fosfoglicérico.

(Adaptado de Taiz, L. y Zeiger, E.: *Plant Physiology*. The Benjamin/Cummings Publishing Co., Redwood City, California, 1991.)

3.2. El mecanismo fotosintético C4 lleva asociadas importantes diferencias anatómicas y bioquímicas respecto al de las plantas C3

El tipo fotosintético C4 normalmente implica un modelo distinto de anatomía foliar, históricamente conocida como la **anatomía Kranz** (Fig. 12-4), que fue descrita a finales del siglo XIX. A pesar de la gran diversidad de la arquitectura básica foliar en las familias con especies C4, ciertas características anatómicas están normalmente asociadas con este tipo fotosintético y son importantes para que se pueda desarrollar. Dichas características son: 1) especialización estructural de dos tipos de células fotosintéticas, conocidas como células del mesófilo y células de la vaina, que presentan cloroplastos diferentes; 2) configuración espacial de los tejidos foliares que maximiza el contacto entre estos dos tipos celulares, y 3) características que limitan el «escape» de CO₂ desde las células de la vaina. En las plantas C4, las **células del mesófilo** en vez de formar el parénquima en empalizada y el lagunar, se agrupan alrededor de los haces vasculares formando una corona espesa de células fotosintéticas grandes con gruesas paredes celulares atravesadas por numerosos plasmodesmos. Entre las células del mesófilo y los haces vasculares se encuentra otro

tipo de células fotosintéticas más pequeñas que envuelven el tejido vascular, las **células de la vaina**. Numerosos plasmodesmos situados a lo largo de la pared celular que comunican las células del mesófilo con las de la vaina aseguran una **difusión de los metabolitos** en ambas direcciones. Las células del mesófilo se presentan típicamente elongadas en una dirección radial, una distribución que permite que prácticamente cada una de ellas esté en contacto con una célula de la vaina. Además, la peculiar anatomía C4 facilita también un contacto próximo de las células del mesófilo con el floema, e incluso un contacto más directo en el caso de las células de la vaina (en plantas C3, por término medio, cada célula tiene de 9 a 15 células entre ella y el haz más próximo).

Los cloroplastos de las células de la vaina suelen ser más grandes y menos numerosos que los de las células del mesófilo (*Nota: en las plantas C3, las células que rodean a los conductos vasculares no tienen cloroplastos*), presentan generalmente pocos apilamientos de grana y acumulan almidón. Los cloroplastos de las células del mesófilo, por el contrario, son más numerosos, de tamaño más similar a los de las plantas C3, se distribuyen en la periferia celular, tienen abundantes apilamientos de grana y no acumulan almidón.

La pared celular en la interfase célula del mesófilo-célula de la vaina presenta una ligera modificación en su composi-

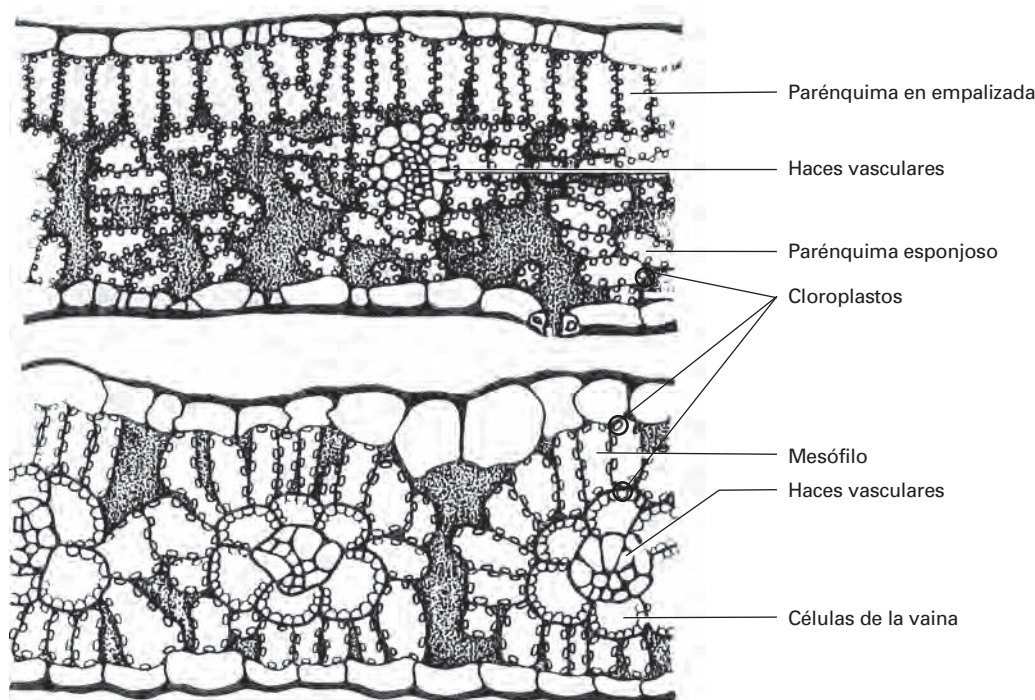


Figura 12-4. Comparación de la anatomía foliar en secciones transversales de hojas de plantas C3 y C4.

ción: contiene mayor cantidad de **suberina** (véanse los Capítulos 1 y 17), una sustancia impermeable al CO_2 . Esta característica, junto con el hecho de que la disposición anatómica C4 genera una menor proporción de espacio aéreo dentro de la hoja, en comparación con la anatomía C3, dificulta que el CO_2 pueda «escapar» de las células de la vaina. En conjunto, esta disposición de las células fotosintéticas facilita la difusión de entrada del CO_2 y, en cierta forma, «canaliza» más estrechamente el flujo del carbono en el espacio.

Desde un punto de vista bioquímico, el ciclo C4 comprende, básicamente, cuatro fases o etapas (Fig. 12-5):

1. Asimilación del CO_2 , que implica la **carboxilación del fosfoenolpiruvato** (mediante la **fosfoenolpiruvato carboxilasa, PEPC**) en las células del mesófilo para formar ácidos C4.
2. **Transporte** de estos ácidos C4 a las células de la vaina.
3. **Descarboxilación** enzimática de estos ácidos C4 en el interior de las células de la vaina para acumular CO_2 , el cual es fijado por la rubisco y reducido a carbohidrato (« CH_2O ») mediante el ciclo de Calvin (CFRC).
4. Regreso a las células del mesófilo del compuesto C3 (piruvato, alanina o fosfoenolpiruvato) resultante de la descarboxilación de los ácidos C4, y **regeneración del aceptor del CO_2** (fosfoenolpiruvato), normalmente mediante la **piruvato fosfato diquinasa** (Fig. 12-5).

En conjunto, se produce un transporte de CO_2 hacia las células de la vaina donde se encuentra la rubisco. La elevada concentración de CO_2 que se puede conseguir en estas

células (alrededor de 1000 ppm) aumenta la eficiencia de la carboxilación de la rubisco (la actividad oxigenasa y, por tanto, la fotorrespiración quedan prácticamente suprimidas o anuladas), de modo que los rendimientos fotosintéticos son, por lo general, claramente superiores en las plantas C4, en comparación con las C3 (véase el Capítulo 13).

3.3. Existen diversos tipos de plantas C4, según la reacción de descarboxilación, y especies intermedias C3-C4

La primera fase del ciclo C4, que tiene lugar en el citosol de las células del mesófilo, es común a todos los tipos de plantas C4. En primer lugar, el CO_2 se convierte en bicarbonato, bien espontáneamente (reacción muy lenta) o bien mediante la **anhidrasa carbónica**, en una reacción muy rápida y predominante (véase el apartado 5.2 y los Capítulos 6 y 7). El **bicarbonato**, y no el CO_2 , es el sustrato de la **fosfoenolpiruvato carboxilasa**, enzima clave que cataliza la carboxilación del fosfoenolpiruvato (PEP), produciéndose la formación de oxalacetato (Fig. 12-6), que se convierte rápidamente en compuestos mucho más estables, como el malato (mediante consumo de NADPH) o el aspartato (mediante transaminación) (Fig. 12-5), dependiendo de las especies C4 (formadoras de malato o de aspartato).

En las fases siguientes, los ácidos C4 (malato, aspartato) difunden hacia las células de la vaina, donde son descarboxilados, liberándose el CO_2 en el interior de estas células. La reacción de descarboxilación pueden llevarla a cabo tres enzimas distintas: la **enzima málica dependiente de**

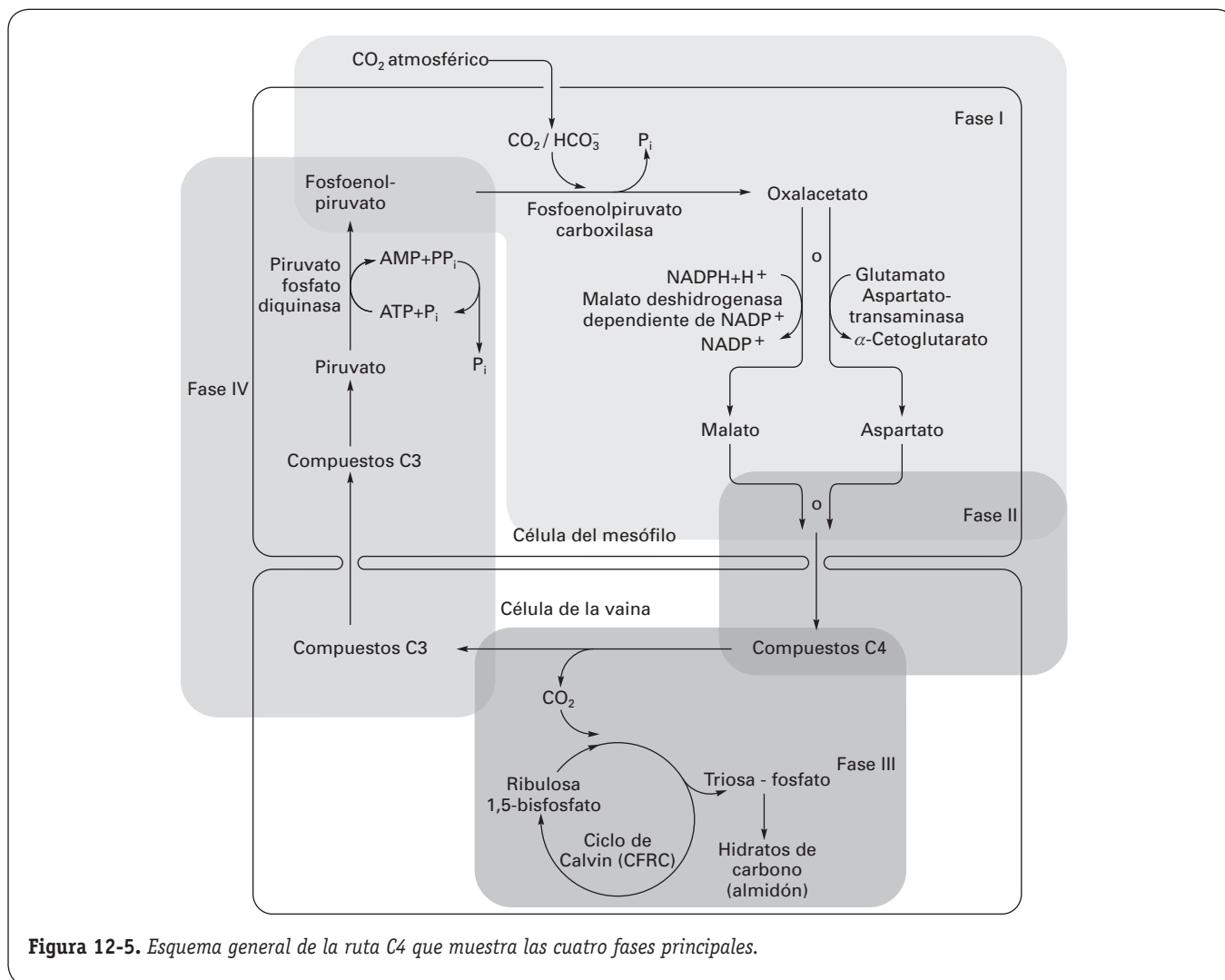


Figura 12-5. Esquema general de la ruta C4 que muestra las cuatro fases principales.

NADP⁺ (NADP-ME), localizada en el interior de los cloroplastos (malato + NADP⁺ → piruvato + NADPH + CO₂); la **enzima málica dependiente de NAD⁺** (NAD-ME), localizada en las mitocondrias (malato + NAD⁺ → piruvato + NADH + CO₂), y la **fosfoenolpiruvato carboxiquinasa** (PCK o PEPCK), localizada en el citosol (oxalacetato + ATP → PEP + ADP + CO₂). Cada especie C4 presenta alguna de estas vías de forma única

o predominante, por lo que se distinguen tres tipos básicos de plantas C4 según la enzima principal que descarboxila en las células de la vaina (Cuadro 12-3).

En las plantas C4 de **tipo NADP-ME** (p. ej., el maíz), el transporte de **malato** permite transferir CO₂ y también poder reductor (NADPH) desde el mesófilo a la vaina, para el funcionamiento del ciclo de Calvin. Sin embargo, la reducción de las dos moléculas de ácido fosfoglicérico (3-PGA) sintetizado por la rubisco por cada CO₂ fijado (véase el Capítulo 11) necesita más poder reductor, y parte del 3-PGA formado difunde desde la vaina hasta el mesófilo para su reducción a triosa fosfato y la posterior síntesis de sacarosa en el mesófilo (en cambio, el almidón se genera dentro del cloroplasto de la vaina). Por tanto, la necesidad de generar poder reductor en la vaina es menor, lo que explica la baja densidad del fotosistema II (PSII) que se observa en los cloroplastos de la vaina de este tipo de plantas C4, dado que el poder reductor se genera mediante la colaboración del PSII y del PSI (véase el Capítulo 10). La abundante presencia de PSI en los cloroplastos de la vaina asegura el abastecimiento de ATP mediante la fotofosforilación cíclica (véase el Capítulo 10). La ausencia o escasez del PSII en los cloroplastos de la

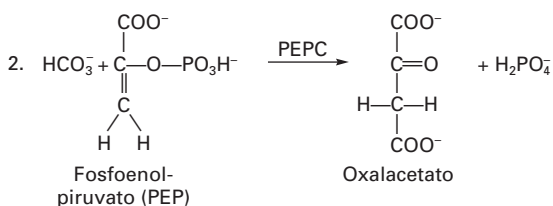
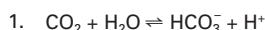


Figura 12-6. Primera carboxilación en las plantas C4: carboxilación del fosfoenolpiruvato a oxalacetato. La reacción 1 está catalizada por la enzima anhidrasa carbónica, y la reacción 2 por la fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC).

CUADRO 12-3. Tipos de plantas C4 según la enzima de descarboxilación predominante en las células de la vaina.

Nombre del subtipo	Ácido C4 principal en las células de la vaina	Enzima de descarboxilación	Ácido C3 devuelto a las células del mesófilo	Ejemplo
NADP-ME	Málico	Enzima málica dependiente de NADP (cloroplasto)	Piruvato	Maíz, caña de azúcar, sorgo
NAD-ME	Aspártico	Enzima málica dependiente de NAD (mitocondria)	Alanina	<i>Panicum milliaceum</i>
PCK	Aspártico	Fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (citoplasma)	Fosfoenolpiruvato, alanina	<i>Panicum máximum</i>

vaina supone, asimismo, una generación de O₂ muy escasa, hecho que también contribuye a limitar la fotorrespiración en las plantas C4 del tipo NADP-ME. Por otra parte, como el PSII se localiza principalmente en los apilamientos de grana (véanse los Capítulos 9 y 10), cabría esperar un menor grado de apilamiento de grana en los cloroplastos de la vaina de especies como el maíz, y esto es precisamente lo que se ha observado (véase apartado 3.2).

En las plantas C4 de **tipos NAD-ME y PCK** no hay transferencia de poder reductor a las células de la vaina, ya que transportan principalmente aspartato en vez de malato (Cuadro 12-3; Fig. 12-5). Al generarse mayor cantidad de poder reductor en los cloroplastos de la vaina, debido a que presentan mayor cantidad de PSII, se genera también O₂ que debe difundir al exterior. Por tanto, la capacidad de fotorrespirar es mayor en este tipo de plantas C4. Por otra parte, la posibilidad de que se escape el CO₂ previamente acumulado en la vaina también es mayor en los tipos NAD-ME y PCK que en el tipo NADP-ME, considerado el más evolucionado y perfecto de las plantas C4.

El interés que ha despertado el ciclo C4, y sus evidentes ventajas respecto a la capacidad de producción de especies cultivadas de tanta importancia como el maíz y la caña de azúcar, animó a estudiar la presencia de este síndrome en otras especies, y a tratar de cruzar especies C3 con especies C4 como vía para introducir las ventajas de las C4 en algunas C3. No obstante, estos intentos de mejora de la fotosíntesis todavía no han obtenido demasiado éxito, si bien encierran interesantes posibilidades (véase el apartado 3.5).

Se han encontrado más de 3000 especies de plantas con características C4, pertenecientes a unas 18 familias distintas, todas ellas de angiospermas. Este síndrome es particularmente abundante en especies de gramíneas tropicales y en dicotiledóneas (quenopodiáceas y amarantáceas, entre otras). En la flora europea se han registrado unas 117 especies, en su mayor parte gramíneas. En el género *Atriplex* se encuentran especies C3 (*A. hastata*) y C4 (*A. sabulosa*). Asimismo, *Flaveria cronquistii* es C3, mientras *Flaveria trinervia* es C4. Además, hay bastantes géneros (*Flaveria*, *Mollugo*, *Panicum*, entre otros) que presentan **especies «interme-**

dias» C3-C4, es decir, que reúnen algunas características de las C4, pero no todas. Estas especies se consideran intermedios evolutivos.

El hecho de que este síndrome C4 abarque modificaciones anatómicas, fisiológicas y bioquímicas, y que sólo se manifieste por completo cuando los tres niveles están presentes, plantea interesantes cuestiones de tipo evolutivo. Para esclarecer estas cuestiones, el estudio de los géneros con especies C3 y C4, y especies intermedias es de enorme interés. La aplicación de las técnicas de ingeniería genética al estudio de estas modificaciones también puede contribuir a esclarecer el origen y el ensamblaje de dicho síndrome (véase apartado 3.5).

3.4. La vía C4 tiene un coste energético que se compensa con una mayor eficiencia en la carboxilación

En comparación con las plantas C3 (véase el Cuadro 12-2), las C4 tienen mayores requerimientos energéticos asociados a la carboxilación: normalmente se necesitan dos moléculas adicionales de ATP por cada CO₂ fijado (en total, 5 ATP + 2 NADPH), debido a la conversión del piruvato a PEP catalizada por la **piruvato fosfato diquinasa** (PPDK; Fig. 12-5). En esta reacción se hidroliza ATP a AMP y pirofosfato (el cual se hidroliza, a su vez, a 2 P_i por una pirofosfatasa) y, por tanto, equivale energéticamente a un gasto de dos ATP. Éste es el caso de las plantas C4 de los tipos NADP-ME y NAD-ME, las cuales necesitan los dos ATP extra mencionados anteriormente. Sin embargo, las plantas C4 del tipo PCK sólo necesitan un ATP adicional, ya que la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa produce directamente fosfoenolpiruvato en la reacción descarboxilante (oxalacetato + ATP → PEP + ADP + CO₂). En general, esta energía extra requerida por las plantas C4 debe reducir, en principio, su rendimiento cuántico, pero esta reducción queda ampliamente compensada por la mayor eficiencia en la carboxilación, al conseguir que se reduzcan las pérdidas fotorrespiratorias que sufren las plantas C3 (Cuadro 12-2).

La eficacia global de las plantas C4 es superior a la de las C3 porque, finalmente, requieren menos energía para fijar CO₂, como se ha indicado anteriormente, y también porque son más eficientes en el uso del nitrógeno y del agua. La mayor eficiencia energética se mantiene, mientras el gasto energético empleado en el mecanismo de concentración o «bombeo» de CO₂ resulta inferior al gasto fotorrespiratorio de las plantas C3. Esta situación se produce cuando las temperaturas son elevadas. Sin embargo, con temperaturas inferiores a 25 °C el balance no suele ser favorable para las plantas C4, ya que las plantas C3 presentan bajas tasas de fotorrespiración. La mayor eficiencia en el uso del nitrógeno se debe a que, en las plantas C4, la rubisco (que supone la mayor parte del nitrógeno orgánico en las plantas) trabaja más cerca de su tasa máxima de carboxilación, y por consiguiente, en las plantas C4 pueden mantenerse mayores tasas de carboxilación que en las C3, con menores concentraciones de rubisco. En cuanto a la eficiencia en el uso del agua, al disponer las plantas C4 de un mayor gradiente de CO₂ entre la atmósfera y las células del mesófilo (lugar de la primera carboxilación) para idéntica apertura estomática que las C3, las plantas C4 consiguen un mayor flujo de CO₂; por tanto, a igual gasto de agua, su capacidad de asimilación de carbono resulta más elevada (véanse también los Capítulos 3 y 13).

La importancia de estas ventajas es mayor cuanto más difícil es el abastecimiento de agua para la planta, mayor competencia hay por el nitrógeno del suelo, y más elevadas son las temperaturas. Por eso, la distribución geográfica de las especies con este síndrome C4 muestra que son más abundantes en zonas semiáridas y de temperaturas elevadas.

3.5. Intentos realizados para obtener plantas con elevada eficiencia fotosintética y en el uso del agua mediante la transformación de plantas C3 en C4

El hecho de que las plantas con mecanismo fotosintético C4 presenten mayores tasas de producción y de eficiencia en el uso del agua ha inducido a muchos investigadores a explorar la posibilidad de transformar plantas C3 de interés agronómico en plantas C4. Diversas pruebas relativas al desarrollo del mecanismo fotosintético C4 permiten abrigar esperanzas de que ello puede hacerse realidad en un futuro no muy lejano, si bien habrá que superar ciertas dificultades técnicas y conocer mejor determinados aspectos fisiológicos, y su regulación molecular y genética, asociados a cada uno de los dos mecanismos fotosintéticos.

El mecanismo fotosintético C4 requiere la regulación a diferentes niveles de organización del desarrollo de la hoja. La formación de hojas C4 completamente funcionales requiere en primer lugar la modificación de los programas de desarrollo, que determinan principalmente: 1) el tipo de tejido en la hoja, 2) el tipo de célula en el tejido foliar, y 3) la compartimentación bioquímica y la diferenciación de la estructura celular. La aparición del síndrome C4 a partir del C3 ha tenido lugar, como mínimo, en veinte episodios independientes

a lo largo de la evolución, lo que sugiere que los mecanismos moleculares que regulan dicho síndrome son variados y múltiples, y que el espectro de posibilidades no es único. Debe considerarse, además, que la vía C4 no es sino una simple modificación de la vía universal C3, y que los programas genéticos que guían estas modificaciones están presentes de alguna forma en las plantas C3. Por tanto, el requisito básico para el desarrollo de la **anatomía Kranz** es su regulación específica en el espacio. Prueba de ello es la existencia de especies intermedias C3-C4 (véase el apartado 3.3).

En primer lugar, por lo que se refiere a la formación del tejido en la hoja, la compartimentación de la fijación primaria de carbono y de su posterior reducción fotosintética en las plantas C4 impone la necesidad de un cambio en la estructura foliar. Esta necesidad se traduce en la reducción del tejido mesofílico en las hojas de plantas C4 con respecto a las plantas C3 y, al estar las células de la vaina íntimamente asociadas con el tejido conductor, en una mayor proporción de venas en las hojas y una reducción del espacio intervenal.

En segundo lugar, el requisito fisiológico de contacto entre las células del mesófilo y de la vaina se traduce en una alteración de la distribución por capas del tejido mesofílico de las plantas C3, que pasa a la típica organización C4, en la que las células del mesófilo se distribuyen de un modo radial respecto del tejido conductor. La organización radial del mesófilo C4 se adquiere en etapas relativamente tardías del desarrollo foliar y requiere un cambio en el patrón de división y de elongación de las células del tejido mesofílico, relacionado con la orientación predominante del citoesqueleto celular. De forma análoga, los programas de desarrollo de plantas C4 deben tener en cuenta también la regulación del número de cloroplastos según el tipo de célula, el alargamiento de los cloroplastos y el número de grana. Igualmente crucial resulta la presencia de numerosos plasmodesmos entre las células de la vaina y las del mesófilo adyacentes; estos plasmodesmos suponen una ruta potencial para el movimiento intercelular de moléculas que actúan como señal de comunicación entre ambos tipos de célula y, por tanto, intervienen en la interpretación de señales de posición de la célula en la hoja.

La **expresión diferencial** de distintos genes es un componente clave en el proceso de diferenciación de las células del mesófilo y de la vaina. La compartimentación de esta expresión diferencial de los genes que codifican enzimas C4 se consigue a través de complejos mecanismos que activan elevados niveles de expresión de cada gen en el tipo de célula apropiado y que, en otros casos, reprimen la expresión de estos mismos genes en el otro tipo celular. Por ejemplo, la rubisco se expresa específicamente en las células de la vaina, mientras que la PEP-carboxilasa se expresa principalmente en las células del mesófilo. En principio, esto podría lograrse con un simple mecanismo en el cual se produjera un factor específico de cada tipo de célula durante la diferenciación de las células del mesófilo y de la vaina. Sin embargo, se ha comprobado que existe una gran diversidad en la estructura, la composición y los mecanismos de regulación de la expresión de genes. Además, cabe apuntar la existencia de mecanismos reguladores a nivel transcripcional y

postranscripcional. La perspectiva más probable para avanzar en este tipo de estudios es la identificación de secuencias génicas claves en la regulación de la expresión, mediante la pérdida o la ganancia de su función en plantas **genéticamente transformadas**. No obstante, en el caso de las plantas C₄, la dificultad mayor radica en la falta de un sistema de transformación eficiente. Éste será, por tanto, uno de los primeros aspectos susceptibles de mejora si se desea obtener plantas con elevada eficiencia en el uso del agua mediante la transformación de plantas C₃ a C₄. Existen, por otra parte, indicios positivos que apuntan a la posibilidad real de acometer dicha transformación cuando los métodos y los procedimientos estén en una etapa de desarrollo más avanzado. Un ejemplo de ello es la demostración de que las plantas de arroz, aunque sean C₃, poseen factores capaces de reconocer secuencias específicas de células del mesófilo, como las que codifican para la PEP carboxilasa, la PEP carboxiquinasa y la enzima málica dependiente de NADP⁺ (Suzuki, S. y cols. *Plant Physiology* 124:163-172, 2000; Nomura, M. y cols. *Plant and Cell Physiology* 46:754-761, 2005).

4. METABOLISMO ÁCIDO DE LAS CRASULÁCEAS (CAM)

4.1. Algunas plantas capturan el CO₂ por la noche y lo transforman en carbohidratos durante el día

El metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM) debe su nombre a que se descubrió en plantas de esta familia, aunque no es en absoluto exclusivo de dicho grupo. El nombre de metabolismo ácido hace referencia a la acumulación de ácidos orgánicos durante la noche por las plantas que poseen este mecanismo de fijación del carbono. En cualquier caso, la fotosíntesis CAM **normalmente va asociada con órganos fotosintéticos** (hojas, tallos) de **anatomía suculenta**, diseñados para almacenar agua, especialmente en las grandes vacuolas celulares (véase el Capítulo 4).

Esta vía metabólica es semejante a la vía C₄ (apartado 3). Sin embargo, en la vía CAM la separación de las dos carboxilaciones no es espacial (mediante la colaboración de dos tipos de células fotosintéticas), como ocurría en las plantas C₄, sino temporal, en un **único tipo de célula fotosintética** (células del mesófilo). En efecto, en las plantas CAM la carboxilación C₄, también realizada por la PEP carboxilasa, tiene lugar durante la noche en las células del mesófilo. El oxalacetato formado es transformado en malato, forma en la que se acumula el carbono durante la noche en estas plantas. Esta transformación implica un gasto de poder reductor y es mediada por la enzima **malato deshidrogenasa dependiente de NAD⁺**. El malato, o mejor dicho, el ácido málico acumulado activamente durante el período nocturno, se almacena en las vacuolas, que son de gran tamaño en las células de plantas CAM y pueden ocupar más del 95% del volumen celular. La concentración de ácido málico al final de la noche suele ser muy alta (>0.2M), lo que confiere a estas hojas un cierto sabor ácido al amanecer. Durante el día, el ácido málico se libera de

la vacuola y es descarboxilado a piruvato mediante una de las tres enzimas descritas en el apartado 3.3, que cumplen idéntica función en las plantas C₄ (enzima málica dependiente de NAD⁺, enzima málica dependiente de NADP⁺ o PEP carboxiquinasa, según la especie CAM). Esta descarboxilación lleva consigo la liberación de CO₂ dentro de las células del mesófilo. De este modo, al igual que ocurría en las plantas C₄, las plantas CAM incrementan notablemente la concentración de CO₂ alrededor de la rubisco, favoreciéndose la reacción de carboxilación en detrimento de la de oxigenación. El piruvato resultante se transforma en **almidón** durante el día (Fig. 12-7). Durante la noche siguiente, el almidón se degrada a glucosa, la cual origina mediante glucólisis moléculas de PEP que constituyen el sustrato de la carboxilación catalizada por la PEP carboxilasa, cerrándose de este modo el ciclo. El esquema comprensivo de esta vía de fijación del CO₂ se muestra en la Figura 12-7. Como puede verse en la Figura 12-8, existe un cierto antiparalelismo entre la concentración de malato y la de almidón durante el día y la noche en los tejidos verdes de las plantas CAM.

La separación temporal de los procesos fotosintéticos en las plantas CAM hace que la asimilación del carbono tenga lugar durante la noche, cuando la demanda evaporativa de agua es muy escasa. De este modo pueden mantener los estomas abiertos sin apenas pérdida de agua, y cerrarlos durante el día, cuando la demanda evaporativa es intensa. Por tal motivo, la fotosíntesis CAM se asocia con una gran eficiencia en el uso del agua.

4.2. El ciclo CAM consta de cuatro fases diferenciadas

Analizado con más detalle, el ciclo CAM puede dividirse a lo largo del día en cuatro fases, denominadas simplemente fases I, II, III y IV. La Figura 12-9 muestra la evolución diaria, con las cuatro fases citadas, de la tasa de fijación del CO₂, la resistencia estomática (es decir, el grado de cierre de los estomas) y la acumulación de malato.

La fase I es la que tiene lugar durante la noche. En ella, la resistencia estomática es baja y la concentración de ácido málico aumenta en paralelo con la tasa de fijación del CO₂. Al final de la noche, la concentración de malato alcanza un estado estacionario debido al agotamiento del complejo de fosfoenolpiruvato. A partir de ese momento, la fijación de CO₂ desciende rápidamente.

La fase II tiene lugar durante las primeras horas tras el amanecer. En esta fase, la resistencia estomática es todavía baja, debido a que en esas horas la demanda evaporativa de agua sigue siendo suave. Durante esta fase se produce un aumento de la tasa de fijación de CO₂ que no se traduce en un incremento de la concentración de malato, ya que en esta fase la fijación de CO₂ tiene lugar mediante la vía C₃ normal.

La fase III es la fase CAM característica, que tiene lugar durante las horas centrales del día, en las que la iluminación es intensa. Durante esta fase, la resistencia estomática aumenta hasta llegar al cierre estomático completo. La incorporación de CO₂ a la planta, por consiguiente, se reduce

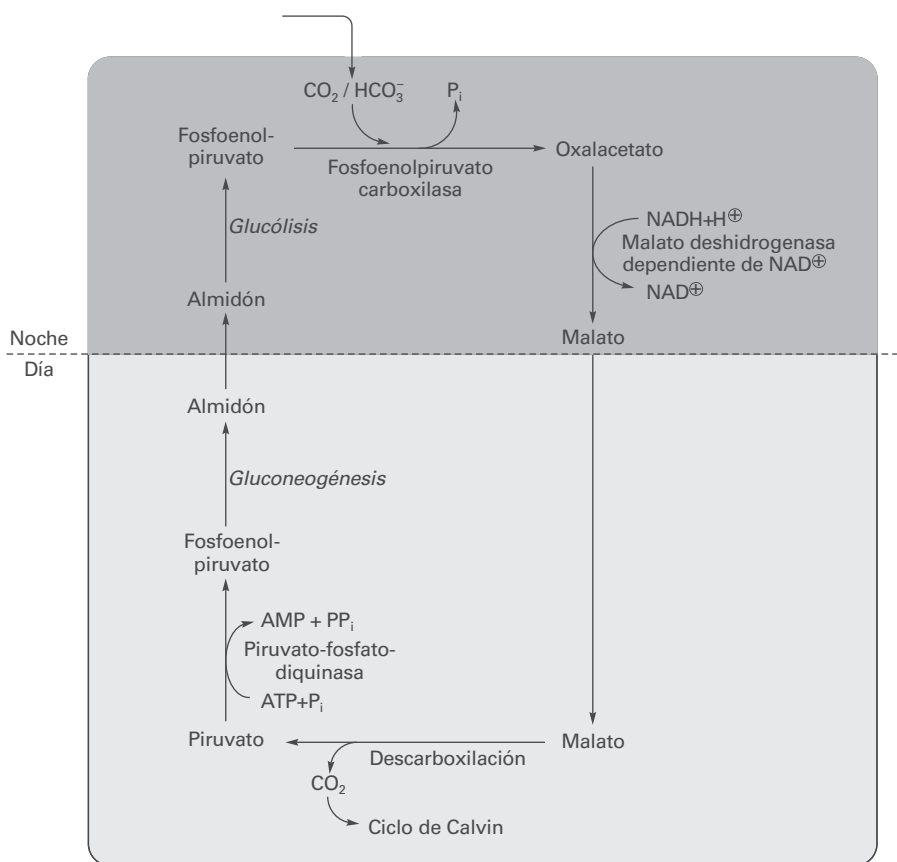


Figura 12-7. Esquema general del metabolismo CAM.

hasta prácticamente anularse. En su lugar, se producen la descarboxilación del ácido málico acumulado durante la noche y la utilización por la rubisco del CO_2 liberado.

La fase IV tiene lugar al atardecer, cuando el pool de malato celular va disminuyendo hasta casi desaparecer. En

estas condiciones, la tasa de reducción del CO_2 se eleva progresivamente con respecto a la tasa de liberación interna por el malato, de manera que la presión parcial de CO_2 alrededor de la rubisco disminuye. Ello puede inducir la apertura de los estomas, con el consiguiente incremento de la tasa de fijación de CO_2 , que tiene lugar en esta fase mediante la vía normal C3, al igual que en la fase II.

Estas cuatro fases, en especial la II y la IV, no siempre se observan en las plantas CAM, ya que dependen de las condiciones ambientales. Por ejemplo, en condiciones de estrés (estrés hídrico, salinidad) suele desaparecer alguna de las fases.

4.3. Existen plantas que funcionan como C3 o CAM, según las condiciones ambientales

La división entre plantas C3 y CAM no es nítida, sino que existe un gradiente de especies con más o menos características de uno u otro tipo de fotosíntesis. Así, existen plantas con metabolismo C3 estricto (que son la mayoría), otras con metabolismo intermedio C3-CAM, otras con metabolismo CAM estricto, y otras con un metabolismo que se conoce como CAM «inútil». En este último caso los estomas se mantienen cerrados día y noche, de manera que el CO_2 producido por la respiración durante la noche se fija inter-

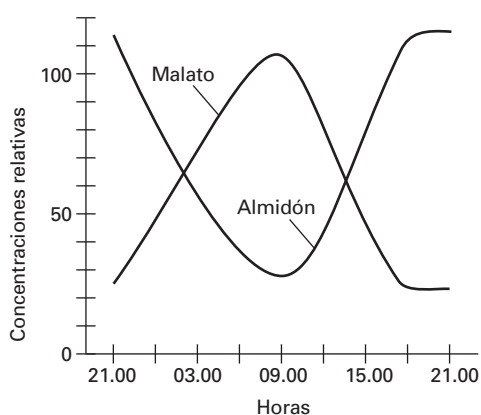
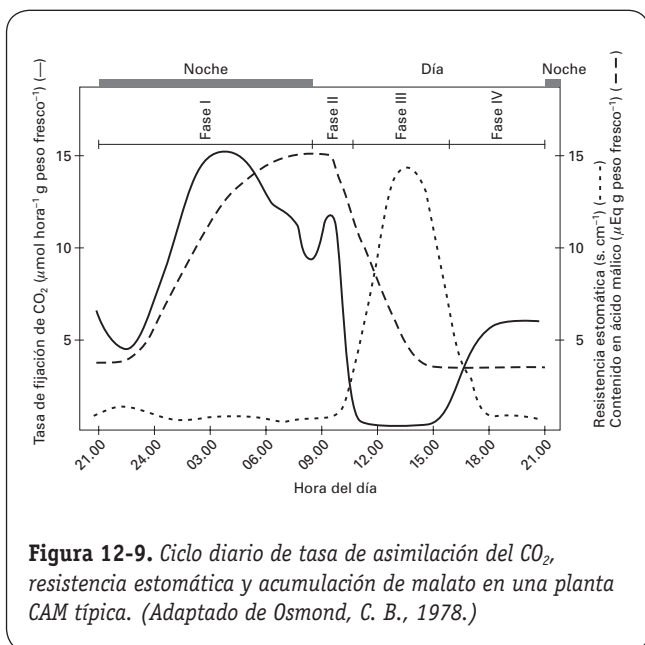


Figura 12-8. Ciclo diario de las concentraciones de malato y almidón en plantas CAM. Obsérvese la variación inversa de ambos productos.



namente en forma de malato y se asimila durante el día. Como es lógico, este metabolismo no origina prácticamente ninguna ganancia neta de carbono, por lo que las plantas no pueden crecer. Sin embargo, la pérdida de carbono y agua en estas condiciones es extraordinariamente baja, de modo que las plantas pueden vivir durante mucho tiempo incluso sin sistema radicular. Esta característica se ha aprovechado para obtener plantas ornamentales, sin raíces, que pueden vivir sin agua, colgadas de un techo o una pared.

En muchas plantas, la presencia del metabolismo CAM es facultativa e **inducible** en función de las condiciones ambientales. *Briophyllum*, por ejemplo, habitualmente se comporta como una planta C3. Sin embargo, en cuanto los días son cortos y las noches frías, la planta modifica progresivamente su metabolismo hacia la expresión del CAM. En la llamada planta del polo (la aizoácea *Mesembryanthemum crystallinum*), frecuente en algunas zonas costeras mediterráneas, las condiciones de estrés salino, al igual que las de estrés hídrico, inducen un cambio del metabolismo C3 al metabolismo CAM.

5. OTROS MECANISMOS DE CONCENTRACIÓN DE CO_2

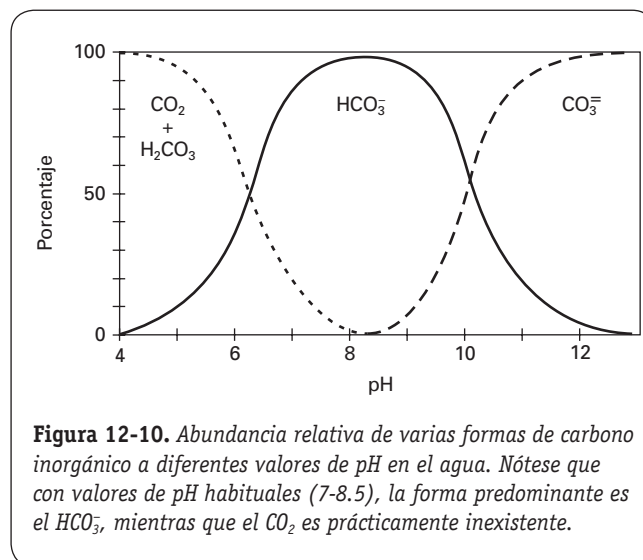
5.1. Los vegetales acuáticos poseen mecanismos de bombeo de CO_2 al interior celular

Algunos vegetales acuáticos asimilan el CO_2 del medio mediante simple difusión hacia la rubisco, de modo análogo a como lo hacen las plantas terrestres del tipo C3. Éstos son, sin embargo, una minoría. En el ambiente acuático, la proporción de concentraciones O_2/CO_2 es todavía mayor que en la atmósfera. Más aún, el coeficiente de difusión

del CO_2 en el agua es cuatro órdenes de magnitud inferior al coeficiente en el aire, y además decrece al aumentar la temperatura. Por otro lado, en la mayor parte de los ambientes acuáticos (Fig. 12-10) el equilibrio entre carbónico y bicarbonato se encuentra claramente desplazado hacia este último, especialmente en aguas alcalinas con valores de pH de 8 o superiores, de manera que prácticamente todo el carbono inorgánico se encuentra en forma de HCO_3^- . En estas condiciones, una asimilación del CO_2 por simple difusión, como la que se da en las plantas terrestres C3, es realmente muy poco eficaz.

Por todo ello, los **vegetales acuáticos** (algas unicelulares, algas pluricelulares, plantas macrófitas acuáticas y fanerógamas marinas) han desarrollado diversos mecanismos para concentrar CO_2 en el entorno de la rubisco. Las características comunes a todos estos mecanismos son que logran mantener una concentración de CO_2 estable alrededor de la rubisco, y que esta concentración excede la que es habitual en una situación de equilibrio con la atmósfera. De hecho, la mayoría de los vegetales acuáticos posee una rubisco con un factor específico (afinidad por el CO_2) más bajo que el de las plantas terrestres, sin que por ello se vea afectada su capacidad fotosintética normal. Los principales grupos de vegetales acuáticos pueden clasificarse en cinco categorías, según sus mecanismos de adquisición de carbono inorgánico:

1. Vegetales que adquieren el CO_2 directamente del medio por difusión. Se trata de un mecanismo poco común en los vegetales acuáticos propio de ambientes especialmente enriquecidos en CO_2 por organotrofia, tales como las pequeñas charcas temporales eutróficas.
2. Rizófitas que crecen sobre sedimentos enriquecidos en CO_2 por organotrofia. En este caso, el CO_2 se transporta desde las raíces a los tallos a través de espacios aéreos intercelulares. Este mecanismo es propio de las plantas secundariamente acuáticas, como algunas isoetáceas (pteridófitas). También se encuentra en isoetáceas terrestres que carecen de estomas, como *Stylites andicola*.



3. Plantas y algas que **utilizan HCO_3^-** para la acumulación del carbono inorgánico. Es el mecanismo más frecuente en la mayor parte de los vegetales acuáticos (*Elodea canadensis*, *Potamogeton lucens*, *Chlamydomonas*, etc.). En algunos casos, se produce una catálisis extracelular de HCO_3^- a CO_2 (véase el apartado 6.4 del Capítulo 7), el cual es incorporado rápidamente al interior celular, o bien un bombeo directo de HCO_3^- , que es posteriormente convertido en CO_2 por la **anhidrasa carbónica** (véase el apartado 5.2 y la Fig. 12-11). En ambos casos, la fijación de CO_2 viene mediada por la rubisco. Los mecanismos exactos de bombeo de HCO_3^- (en especial si se trata de mecanismos electrogénicos o mediados por transportadores de tipo uniporte, antiporte o simporte, activos o pasivos), así como su interferencia con la regulación del pH intracelular, son uno de los campos de estudio de la fotosíntesis acuática de mayor actualidad. Parece ser que el mecanismo de transporte no es universal, sino que los diferentes organismos han adoptado diversos sistemas, siendo el más habitual el cotransporte electrogénico de HCO_3^- y H^+ (véase también el apartado 6.4 del Capítulo 7).
4. Vegetales acuáticos con comportamiento CAM o C4. Existen algunos vegetales acuáticos en los que la estrategia de incorporación de CO_2 consta de una primera fijación realizada por la PEP-carboxilasa, originándose un compuesto de cuatro carbonos que posteriormente es descarboxilado, y el CO_2 desprendido es fijado por la rubisco. En la mayoría de las plantas de este tipo, la separación entre la fijación primaria por PEP carboxilasa y la secundaria por rubisco es de tipo temporal, por lo que se considera que estas plantas tienen un mecanismo fotosintético de tipo CAM. Tal es el caso de algunas isoetáceas y crasuláceas acuáticas (*Isoetes* sp., *Crassula* sp, etc.) o de algunas plantas macrófitas acuáticas (*Litorea uniflora*), vegetales acuáticos conocidos genéricamente como de tipo «isoétido». Se conocen también algunos casos en los que se manifiesta un mecanismo tipo C4, como la clorofícea marina *Udotea flabellum*, que presenta metabolismo C4 en un único tipo celular (por tanto, no tiene anatomía Kranz) y que además realiza la primera carboxilación mediante la PEP carboxiquinasa y no mediante la PEP carboxilasa. También la monocotiledónea acuática de agua dulce y de crecimiento invasivo *Hydrilla verticillata* posee un mecanismo de concentración de CO_2 de tipo C4, el cual es inducible por la baja concentración de CO_2 disuelto. Normalmente esta especie es una planta C3, pero el mecanismo C4 se expresa de forma facultativa, gracias al aumento de los niveles de diversas enzimas C4 clave, como la PEP carboxilasa, pero manteniendo un tipo único de célula fotosintética. De forma similar a las especies C4 acuáticas mencionadas, recientemente se ha descrito que en algunas especies C4 terrestres (*Borszczowia aralocaspica*, *Bienertia cycloptera*, ambas quenopodiáceas) tampoco aparece la anatomía Kranz, sino que las características metabólicas C4 se manifiestan en un **tipo único de célula fotosintética (single-cell C4 photosynthesis)** (Voznesenskaya, E. V. y cols. *Nature* 414:543-546, 2001; Voznesenskaya, E. V. y cols. *Plant Journal* 31:649-662, 2002).

5.2. La anhidrasa carbónica convierte el HCO_3^- en CO_2 para su utilización por la rubisco, además de desempeñar otros papeles importantes en la fotosíntesis

Como se ha indicado, uno de los mecanismos más comunes de concentración de CO_2 en los vegetales acuáticos es el bombeo de HCO_3^- al interior celular. Dado que el HCO_3^- no puede actuar como sustrato de la rubisco, para que pueda darse la reducción fotosintética debe ser convertido en CO_2 . La enzima encargada de esta transformación es la **anhidrasa carbónica**, una metaloenzima que contiene cinc (véase el Capítulo 6). En la mayor parte de las algas, esta enzima se halla asociada a una estructura globosa, el pirenoide, que se encuentra en el interior del cloroplasto. La Figura 12-11 muestra el mecanismo básico de concentración del carbono inorgánico en una célula de alga verde, indicándose la localización de diferentes anhidrasas carbónicas en la célula.

Además de cumplir importantes funciones en la fotosíntesis de los vegetales acuáticos, la anhidrasa carbónica se encuentra presente en las plantas terrestres, tanto en las C3 como en las C4 o en las CAM; por ello, el estudio de la estructura y la función de esta enzima es otro de los puntos claves en los estudios actuales sobre fotosíntesis. En las plantas C4 y CAM su función es imprescindible, ya que cataliza el primer paso de la fijación fotosintética del carbono. En efecto, aunque la primera carboxilación es catalizada por la PEP-carboxilasa, el sustrato de esta enzima es el HCO_3^- , y no el CO_2 , por lo que éste debe ser convertido en HCO_3^- mediante una anhidrasa carbónica. En este caso, la anhidrasa carbónica cataliza la reacción opuesta a la que cataliza en los pirenoides de las algas (*Nota: la reacción catalizada por esta enzima es reversible*). También en las plantas C3 la presencia de anhidrasa carbónica es importante, constituyendo entre el 0.5 y el 2% de la proteína soluble total. Por ello se pensó en la posibilidad de que también en las plantas C3 existieran mecanismos de concentración de CO_2 en el sitio activo de la rubisco. Sin embargo, a la vista de los resultados esta hipótesis parece poco probable. Al parecer, la función de la anhidrasa carbónica en las plantas C3 consistiría en producir un equilibrio rápido entre HCO_3^- y CO_2 , de manera que se facilite la difusión de CO_2 a través de la célula.

5.3. Algunos vegetales viven en microhábitats con una elevada concentración de CO_2

En las condiciones ambientales actuales, el factor que más limita la tasa de fotosíntesis de las plantas es la concentración de CO_2 en la atmósfera («limitación por rubisco»; véanse los Capítulos 11 y 13). Sin embargo, existen numerosos microhábitats, generados por el medio o por las propias plantas, en los que la concentración de CO_2 es localmente alta. El efecto de estos microhábitats sobre la fotosíntesis de las especies que viven en ellos ha sido poco estudiado. Así, por ejemplo, las plantas que viven en el sotobosque de un bosque cerrado, cerca del suelo, pueden disponer de una concentración de CO_2 algo más

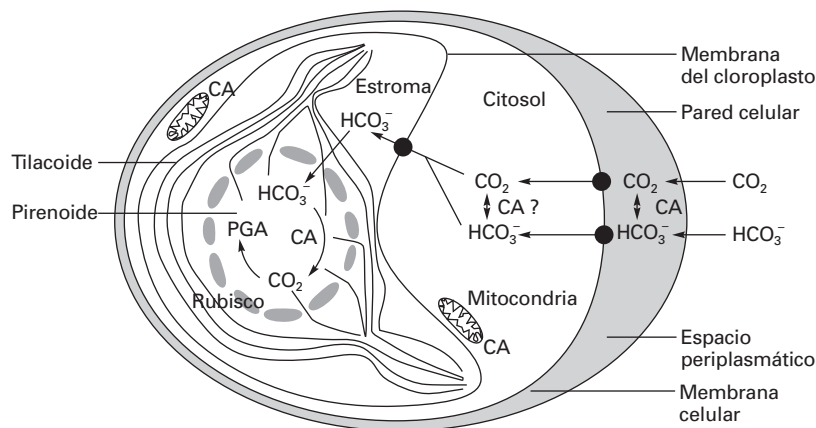


Figura 12-11. Mecanismo básico de concentración del carbono en una célula de alga verde.

elevada que los árboles de ese mismo bosque. También existen plantas cuya estructura es pulvinular, es decir, que forman un «cojinete» bajo más o menos cerrado, con el envés de las hojas a escasa distancia del suelo. Cabe pensar que estas hojas dispondrán de elevadas concentraciones de CO_2 , desprendido por la respiración edáfica. Otras plantas que pueden disponer de elevadas concentraciones atmosféricas de CO_2 son la que viven en zonas urbanas, cerca de entradas de cuevas y de fuentes naturales de CO_2 , normalmente asociadas a actividad volcánica. Mucho más complejo resulta el caso de los líquenes. El componente alga de los líquenes, al estar en contacto estrecho con el hongo simbiote que respira, así como con el sustrato sobre el que vive, puede disponer de una elevada concentración de CO_2 . Sin embargo, parece ser que esta elevada concentración de CO_2 no supone un aumento muy importante de la tasa fotosintética, ya que estas algas poseen una baja eficiencia de carboxilación. Por otra parte, la difusión del CO_2 a los cloroplastos en los líquenes varía notablemente según el contenido de agua del talo, e incluso se ha señalado la necesidad de mecanismos de bombeo similares a los descritos en las algas para permitir la fotosíntesis de los líquenes, aun disponiendo éstos de elevadas concentraciones de CO_2 .

6. DISCRIMINACIÓN ISOTÓPICA DE LOS DIVERSOS MECANISMOS DE FIJACIÓN FOTOSINTÉTICA DEL CARBONO

6.1. El contenido en carbono 13 puede utilizarse para discriminar el tipo de fijación metabólica del carbono

En la atmósfera, el 99% del carbono en forma de CO_2 se halla en forma del isótopo «normal» ^{12}C . El 1% restante se halla en forma del isótopo ^{13}C que, al ser más pesado, difunde más lentamente y es utilizado más despacio por algunas enzimas. La rubisco, por ejemplo, utiliza el $^{13}\text{CO}_2$ un 3% más despacio

que el $^{12}\text{CO}_2$. En cualquier caso, si todo el CO_2 que llega a la rubisco es fijado fotosintéticamente, no se producirá discriminación isotópica. Para que ésta se dé, la planta debe poder «elegir»; es decir, el CO_2 debe poder difundir hacia dentro y hacia fuera. Esto último ocurre en las plantas C3, las cuales presentan una importante **discriminación isotópica**. En las C4, en cambio, casi todo el CO_2 que es bombeado desde las células del mesófilo a las de la vaina es finalmente fijado por la rubisco, por lo que no existe apenas discriminación isotópica. Este hecho puede ser utilizado para distinguir ambos tipos metabólicos, mediante el análisis del contenido en ^{13}C en la materia seca (Fig. 12-12).

Este método no permite distinguir las plantas CAM, debido a que éstas suelen ser predominantemente CAM o bien predominantemente C3 (ya se ha dicho que existe un gradiente continuo entre ambos tipos metabólicos). Por ello,

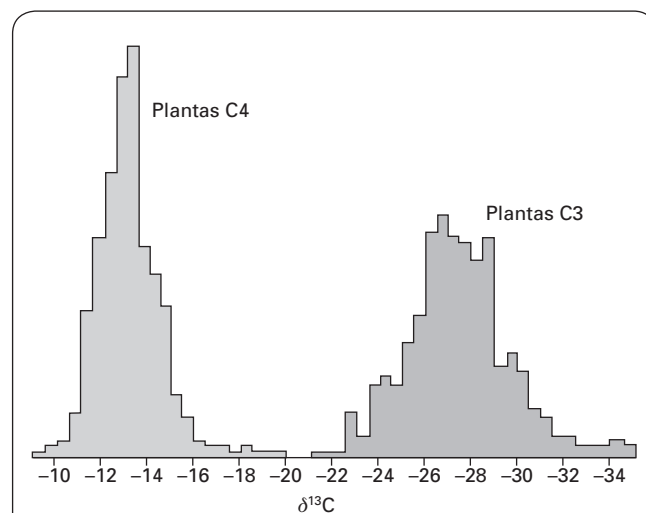


Figura 12-12. Distribución de los valores de discriminación del ^{13}C en diferentes plantas C3 y C4.

el gradiente de discriminación isotópica en las CAM abarca todo el gradiente de las C3 y las C4. En realidad, la distribución de composiciones isotópicas en las CAM es bimodal, con muchas plantas en el rango de las C3, y otras muchas en el de las C4. En el Cuadro 12-4 se muestran algunas características diferenciales de las plantas C3, C4 y CAM, algunas de las cuales permiten entender la discriminación isotópica de cada tipo metabólico. El método de discriminación isotópica tampoco permite dilucidar la vía fotosintética de los vegetales acuáticos, debido a que el HCO_3^- contiene sustancialmente más ^{13}C que el CO_2 . Por otra parte, cualquiera de los mecanismos de concentración de carbono inorgánico utilizados por los vegetales acuáticos (apartado 5.1) hace que la discriminación isotópica se asemeje a la de las plantas C4.

7. LAS DIFERENTES VÍAS DE ASIMILACIÓN DEL CARBONO EN UN CONTEXTO EVOLUTIVO

7.1. La vía C4 tiene un origen reciente, tal vez monofilético. La vía CAM es ancestral y polifilética

Todas las plantas C4 son angiospermas, con muy pocas excepciones, como la de *Udotea flabellum*, una clorofícea. Ello hace pensar en un origen reciente de este tipo metabólico. El registro fósil y el análisis isotópico de paleosuelos sugieren que, en efecto, la aparición de la vía C4 tuvo lugar durante el Mioceno (hace 10 ó 20 millones de años). El hecho de que el metabolismo C4 sea prácticamente exclusivo de las angiospermas ha llevado a pensar en un origen monofilético. Sin embargo, este tipo de metabolismo se encuentra tanto en familias de monocotiledóneas (principalmente en gramí-

neas y ciperáceas) como de dicotiledóneas (quenopodiáceas, amarantáceas, euforbiáceas, etc.) —en total, 18 familias—, lo que parece apuntar a un origen polifilético. Al cruzar genéticamente especies C3 con especies C4 se observa que los caracteres anatómicos (anatomía Kranz) se segregan independientemente de los caracteres fisiológicos. El carácter C4 se vería favorecido frente al C3 en condiciones de temperaturas elevadas (véase el Capítulo 13).

El carácter CAM, al contrario que el C4, está presente en los grupos vegetales más primitivos, lo que sugiere un origen más remoto de éstos. Así, está presente en 33 familias (aproximadamente el doble que las plantas C4), incluyendo grupos de origen muy antiguo, como las isoeetáceas acuáticas y terrestres (*Stylites* es el taxón más antiguo que presenta la vía CAM). También está presente en las espermatofitas, especialmente en las angiospermas (tanto monocotiledóneas como dicotiledóneas). La única gimnosperma a la que se ha atribuido carácter CAM, actualmente en discusión, es *Welwitschia mirabilis*, una extraña planta del desierto de Namibia. Por otra parte, se conocen unas 20 000 especies CAM, un orden de magnitud más que de especies C4, lo que parece confirmar el carácter más antiguo del metabolismo CAM. La gran diversidad de grupos taxonómicos que presentan metabolismo CAM sugiere, indudablemente, un origen polifilético para esta vía metabólica. El hecho de encontrarse un amplio gradiente continuo entre plantas C3 y CAM, así como la existencia de plantas CAM inducibles por estrés ambiental, parecen confirmar que el *pool* de genes que confieren este carácter debe estar presente en la mayoría de las especies C3, variando sólo su expresión. El metabolismo CAM constituiría, pues, una adaptación a condiciones de aridez periódica, pero no permanente. De hecho, las plantas CAM resultan más abundantes en los desiertos subtropicales, o como epifitas en zonas tropicales.

CUADRO 12-4. Características diferenciales de las diferentes vías de asimilación del carbono.

	C3	C4	CAM
Enzima responsable de la carboxilación inicial	Rubisco	Fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC)	Ambas: rubisco y PEPC
Anatomía	Normal	Kranz	Suculenta
Tasa de fotosíntesis	Media	Alta	Baja
Inhibición de la fotosíntesis por el oxígeno	Sí	No	Sí durante el día, no durante la noche (caso de la fijación oscura de CO_2)
Eficiencia en el uso del agua	Baja	Media	Alta
Distribución geográfica	Amplia	Áreas tropicales abiertas y hábitats áridos	Regiones y hábitats áridos



RESUMEN

- En condiciones de atmósfera normal (21% de O_2 , 0.037% de CO_2), la rubisco puede catalizar la reacción de la RuBP (C5) con una molécula de O_2 (oxigenación), en lugar de CO_2 (carboxilación). En este caso (aproximadamente una de cada cuatro reacciones) se forma P-glicolato (C2) + 3-PGA (C3) y con ello se inicia la ruta del glicólico en la que se consumen netamente ATP y poder reductor (NAD(P)H), y se desprende parte del CO_2 anteriormente fijado (25%). Esta ruta supone consumir O_2 y emitir CO_2 , y es dependiente de la luz, por lo que recibe el nombre de **fotorrespiración**. Este proceso está presente en los tejidos fotosintéticos de los vegetales, y reduce el rendimiento energético de la asimilación del CO_2 , pero puede ser importante para contribuir a disipar un exceso de energía (ATP, NADPH) no utilizada.
- Diversos tipos de plantas han desarrollado mecanismos de concentración de CO_2 en el entorno de la rubisco que implican una primera carboxilación del CO_2 mediante la fosfoenopiruvato carboxilasa (PEPC), formándose ácidos de cuatro carbonos (oxalacético primero, y luego málico o aspártico), que posteriormente se descarboxilan cerca de la rubisco, saturando de CO_2 a esta segunda enzima carboxilante. Además de este mecanismo, las plantas C4 han desarrollado una anatomía peculiar que refuerza la separación espacial de las dos carboxilaciones y la eficacia del mecanismo bioquímico de bombeo de CO_2 . Las plantas CAM fijan inicialmente el CO_2 de forma similar (mediante la PEPC), pero por la noche (de día los estomas están cerrados), y consiguen así una separación temporal de la carboxilación inicial y de la carboxilación definitiva (en el ciclo de la rubisco), que les permite aumentar la eficiencia en el uso del agua. En los vegetales acuáticos, el CO_2 disuelto en el agua se concentra en el interior celular gracias a diversos mecanismos de bombeo de carbono inorgánico al interior de las células fotosintéticas.



PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1) Teniendo en cuenta: 1) que en las condiciones atmosféricas actuales, aproximadamente de cada cuatro reacciones de la rubisco, tres son de fijación de CO_2 y una de oxigenación; 2) que cada CO_2 fijado supone invertir la energía de unos 10 fotones (3 ATP + 2 NADPH), y 3) que cada ciclo fotorrespiratorio supone la pérdida de $\frac{1}{2} CO_2$: a) calcule el requerimiento cuántico de un ciclo de fotorrespiración (asumiendo un gasto mínimo de 2 ATP + 2.5 NAD(P)H por cada oxigenación); b) calcule el coste promedio en fotones utilizados en la asimilación de CO_2 en estas condiciones, y c) ¿en qué proporción se incrementa el requerimiento cuántico teórico en condiciones fotorrespiratorias?



RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1) a) Un ciclo de fotorrespiración supone un gasto mínimo de 2 ATP + 2.5 NAD(P)H; para producir 2.5 NADPH mediante el flujo no lineal de la cadena fotosintética se necesitan 10 fotones (véase el Capítulo 10), es decir, el requerimiento cuántico teórico mínimo son 10 fotones (la producción de ATP por fotofosforilación no cíclica es, aproximadamente, de 3 ATP con 10 fotones y, por tanto, sobra ATP).
b) Asumiendo que por cada 3 CO_2 fijados en el ciclo de Calvin se da un ciclo fotorrespiratorio:
3 CO_2 x 10 fotones/reacción de fijación = 30 fotones.
1 ciclo de fotorrespiración = 10 fotones.
Requerimiento total = 40 fotones.
 CO_2 asimilado: 3 - $\frac{1}{2}$ (perdido en el ciclo de fotorrespiración) = 2.5.
40 fotones / 2.5 CO_2 = 16 fotones utilizados por cada CO_2 realmente fijado cada cuatro reacciones de la rubisco (3 carboxilaciones + 1 oxigenación).
c) Teóricamente, fijar un CO_2 requiere 10 fotones, pero si tenemos en cuenta la fotorrespiración, el gasto se eleva a 16 fotones por CO_2 realmente fijado, es decir, un 60% más.

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA



1. Azcón-Bieto J, Talón M. *Fisiología y Bioquímica Vegetal*. Madrid, McGraw-Hill/Interamericana, 1993.
2. Badger MR, Price GD. The role of carbonic anhydrase in photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology*. 1994; 45:369-392.
3. Edwards GE, Franceschi VR, Voznesenskaya EV. Single-cell C(4) photosynthesis versus the dual-cell (Kranz) paradigm. *Annual Review of Plant Biology* 2004; 55:173-196.
4. Keeley JE. CAM photosynthesis in submerged aquatic plants. *The Botanical Review* 1998; 64:121-175.
5. Keeley JE, Rundel PW. Evolution of CAM and C4 carbon-concentrating mechanisms. *International Journal of Plant Sciences* 2003; 164:555-577.
6. Leegood RC. The regulation of C4 photosynthesis. *Adv Bot Rev* 1997; 26:251-316.
7. Ogren WL. Photorespiration pathways, regulation and modification. *Annual Review of Plant Physiology* 1984; 35:415-442.
8. Osmond CB. Crassulacean acid metabolism: a curiosity in context. *Annual Review of Plant Physiology* 1978; 29: 379-414.
9. Osmond CB *et al.* Functional significance of different pathways of CO₂ fixation in photosynthesis. En: Lange OL *et al.* (eds.). *Encyclopedia of Plant Physiology. New Series Volume 12B*. Berlin-Heidelberg-New York, Springer Verlag, 1982.
10. Raven JA. Photosynthesis in aquatic plants. En: Schulze ED, Caldwell MM (eds.). *Ecophysiology of Photosynthesis*. Berlin-Heidelberg-New York, Springer Verlag, 1994.
11. Schulze ED, Beck E, Müller-Hohenstein K. *Plant Ecology*. Berlin-Heidelberg, Springer Verlag, 2005.
12. Winter K, Smith JA C (eds). Crassulacean acid metabolism. *Biochemistry, Ecophysiology and Evolution*. Berlin, Springer Verlag, 1996.

Fotosíntesis, factores ambientales y cambio climático

JOAQUÍN AZCÓN-BIETO, ISABEL FLECK, XAVIER ARANDA Y NURIA GÓMEZ-CASANOVAS



1. Introducción. 2. Disponibilidad de CO₂. 3. La luz como factor ambiental más variable que afecta a la fotosíntesis. 4. Temperatura. 5. Otros factores que afectan a la fotosíntesis. 6. Interacción entre los factores que afectan a la fotosíntesis. 7. Fotosíntesis y cambio climático.

1. INTRODUCCIÓN

El complejo proceso de la fotosíntesis, descrito en los cuatro capítulos anteriores, debe funcionar de forma integrada y eficiente en un medio en el que existe una enorme **variabilidad natural** de factores que afectan a la tasa de fotosíntesis, tales como la **luz**, la **temperatura**, la **humedad del aire**, la **disponibilidad hídrica** y de **nutrientes minerales** en el suelo, etc. A estos factores puede añadirse también el **dióxido de carbono** (CO₂), principal sustrato de la fotosíntesis, ya que en los últimos años se está observando un rápido aumento de la concentración de este gas en la atmósfera, hecho que muy probablemente está en la base de un **cambio climático** de alcance global (véanse los últimos informes del *Intergovernmental Panel on Climate Change*, IPCC, publicados en 2007: www.ipcc.ch).

La tasa de fotosíntesis de una hoja depende de más de 50 reacciones individuales, cada una de las cuales presenta su propia respuesta a cada variable ambiental. Esta tasa fotosintética puede variar ampliamente en el curso de un día y, también, entre las diferentes estaciones del año, debido a variaciones **naturales** de factores ambientales como la luz y la temperatura. La tasa de fotosíntesis puede variar también a más largo plazo en los próximos decenios, como respuesta a los **crecientes niveles de CO₂ atmosférico**, debido a los efectos directos del propio CO₂ en la fotosíntesis, y también a los efectos indirectos, a través de posibles cambios en la temperatura y el régimen hídrico causados por el incremento de CO₂ y de otros gases «invernadero» en la atmósfera, lo que puede conducir a un **cambio climático global de consecuencias no del todo previsibles**.

Cada uno de los factores ambientales citados afecta a la tasa de fotosíntesis de manera distinta, dependiendo también de la escala de tiempo que se considere, por lo que en este capítulo los analizaremos por separado, sin olvidar que, en condiciones naturales, pueden darse **interacciones** importantes entre ellos. Los factores que se estudiarán en este capítulo son principalmente el CO₂, la luz, la temperatura y los nutrientes minerales; el efecto del déficit hídrico en la fotosíntesis se trata en los Capítulos 3, 4 y 29. De la habilidad que las plantas manifiesten para compensar los efectos ambientales cambiantes en la fotosíntesis depende en gran medida su rendimiento y supervivencia en un determinado medio, especialmente cuando se dan situaciones de estrés (por ejemplo, estrés hídrico).

2. DISPONIBILIDAD DE CO₂

2.1. La tasa de fotosíntesis está relacionada con la difusión del CO₂

El CO₂ es un gas que se encuentra de forma natural en la atmósfera en niveles muy bajos (380 partes por millón o ppm, aproximadamente). A pesar de ello, es el sustrato principal de la fotosíntesis, ya que es la fuente de carbono para la síntesis de los distintos compuestos orgánicos de las plantas.

La concentración de CO₂ en el aire alrededor de las hojas influye marcadamente en el crecimiento de las plantas, pues éstas tienen que incorporar dióxido de carbono en cantidades suficientes. La mayor parte de las plantas

depende de la **difusión del CO₂** desde la atmósfera hasta los cloroplastos, donde tendrá lugar la fijación del dióxido de carbono gracias a la actividad carboxilasa de la enzima rubisco (véase el Capítulo 11). Estas plantas en las que la absorción de CO₂ depende de la difusión son las denominadas **plantas C3**. Otras plantas dependen menos de la difusión, ya que tienen mecanismos que les permiten concentrar el CO₂ para la fotosíntesis, aunque con un cierto coste energético. Son ejemplo de ellas las **plantas C4** y las **plantas CAM** (metabolismo ácido de las crasuláceas) (véase el Capítulo 12).

2.2. El CO₂ debe atravesar distintas barreras de la hoja hasta poder ser utilizado por la rubisco

El CO₂ difunde desde el aire hasta el cloroplasto, y para ello debe pasar por distintas partes de la hoja: 1) la capa límite o *boundary layer*; 2) los estomas; 3) los espacios aéreos del interior de la hoja, y 4) la fase líquida en el interior de la hoja, que incluye la disolución del CO₂. La concentración de CO₂ disminuye en cada uno de estos espacios de la hoja, ya que actúan como resistencia, de forma análoga a un circuito eléctrico (Fig. 13-1). Las **resistencias foliares** al paso del CO₂ se pueden agrupar en dos tipos:

I) Resistencia de la fase gaseosa: abarca las resistencias ofrecidas por la capa límite (r_a), la estomática (r_e) y la de los

espacios aéreos del interior de la hoja (r_i). La **capa límite**, o **capa estacionaria**, es una fina película de aire quieto que rodea la hoja ofreciendo resistencia a la difusión del CO₂, de manera que la concentración de este gas en dicha zona es intermedia entre la concentración externa del aire no atrapado por la hoja y la interna de ésta. La magnitud de tal resistencia disminuye con el tamaño de la hoja y con la velocidad del viento (véase el Capítulo 3).

Una vez que el CO₂ ha difundido a través de la capa límite, entra por los poros estomáticos. Los **estomas** ofrecen una resistencia variable, según el grado de apertura en que se encuentren (véase el Capítulo 3). Una vez superada la resistencia estomática, el último obstáculo de la fase gaseosa son los **espacios aéreos del interior de la hoja**, es decir, las cavidades delimitadas por las paredes de las células del mesófilo, incluidas las cavidades subestomáticas (resistencia de los espacios intercelulares, r_i).

Como es difícil determinar la resistencia a la difusión correspondiente a cada uno de los pasos, la fase gaseosa se considera como un único reostato, es decir, como una única resistencia variable, dado que la resistencia estomática tiene un efecto dominante. La determinación de la resistencia gaseosa al CO₂ se hace mediante la medida previa de la resistencia a la difusión del vapor de agua (véase el Capítulo 3). Dado que la molécula de CO₂ es más pesada que la de agua, aquélla difunde más lentamente, de manera que la resistencia al paso del CO₂ es aproximadamente 1.6 veces mayor que la resistencia al paso del vapor de agua. En términos de conductancia, que es el parámetro inverso de la resistencia

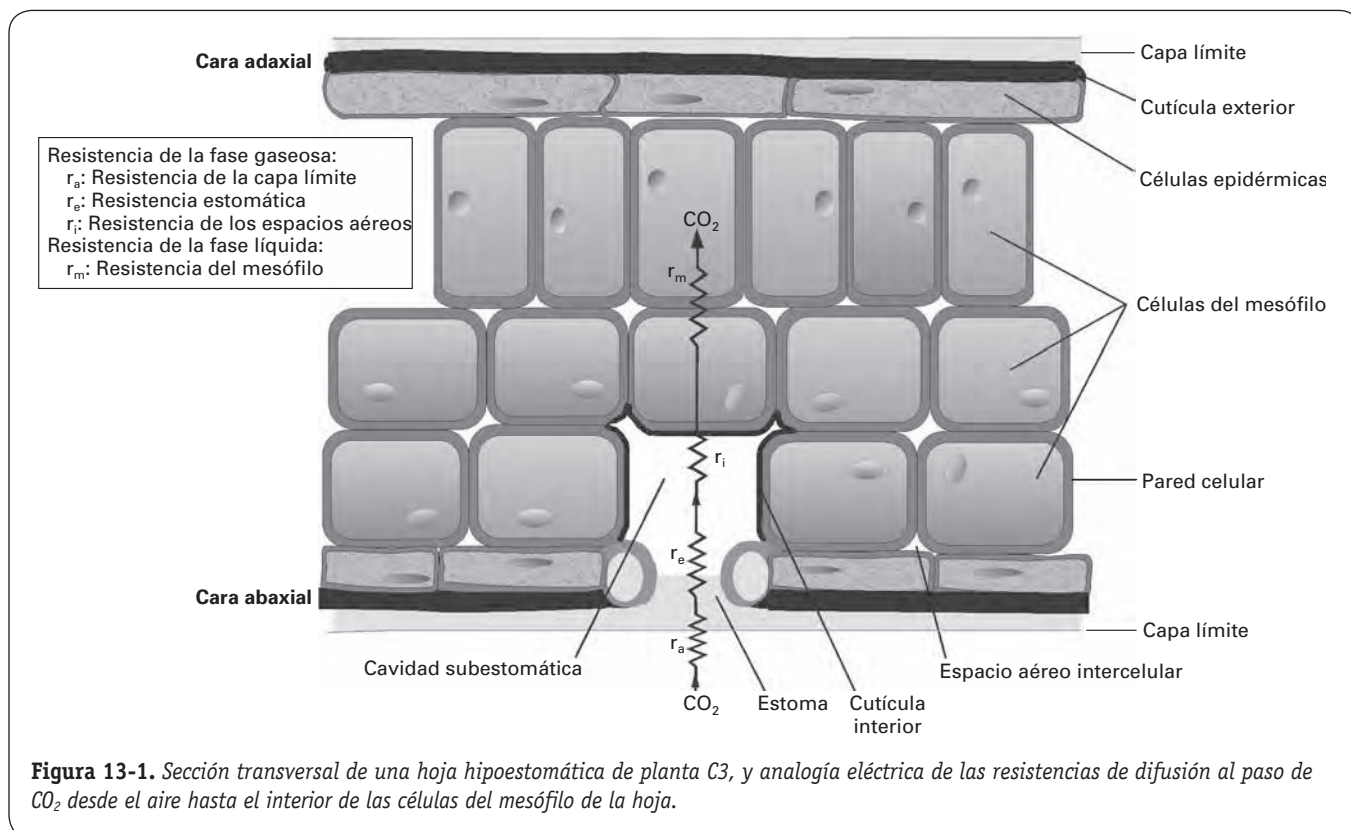


Figura 13-1. Sección transversal de una hoja hipostomática de planta C3, y analogía eléctrica de las resistencias de difusión al paso de CO₂ desde el aire hasta el interior de las células del mesófilo de la hoja.

($g = 1/r$), la conductancia al CO_2 (g_c) es 1.6 veces menor que la conductancia al vapor de agua (g_w):

$$g_c = g_w/1.6 \quad [13-1]$$

El cálculo de la conductancia al CO_2 permite estimar la **concentración de CO_2 intercelular (C_i)**, siempre y cuando se haya medido también la concentración externa de CO_2 (C_a) y la tasa de asimilación neta de CO_2 (A):

$$C_i = C_a - A/g_c \quad [13-2]$$

o bien,

$$C_i = C_a - 1.6 A/g_w \quad [13-3]$$

donde las unidades son:

$$C_i, C_a = \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{mol}^{-1} \text{ de aire o ppm (fracción molar de CO}_2)$$

$$A = \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$$

$$g_c, g_w = \text{mol de aire} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$$

II) Resistencia de la fase líquida: una vez que el CO_2 ha superado la resistencia a la fase gaseosa, tiene que disolverse en la fase líquida que baña las células, atravesar la pared y la membrana celulares, el citosol, la membrana de los cloroplastos y el estroma antes de que pueda ser utilizado por la rubisco. Todos estos pasos pueden englobarse en uno solo, la llamada **resistencia del mesófilo** (r_m). Las recientes medidas de la conductancia del mesófilo (g_m , inversa de la resistencia del mesófilo) han determinado que la fracción molar efectiva de CO_2 ($\mu\text{mol mol}^{-1}$ o ppm) en el interior del estroma se sitúa, generalmente, entre un 30 y un 70% de la existente en el aire que rodea las hojas (véase el Capítulo 12). Ello hace que las plantas C3, que básicamente dependen de la difusión del CO_2 , tengan unos niveles de dióxido de carbono alrededor de la rubisco por debajo de su K_m para el CO_2 , lo que implica un alto requerimiento proteico (y, por tanto, de nitrógeno); es decir, las plantas C3 se ven obligadas a contener elevadas cantidades de rubisco para mantener altas tasas de fotosíntesis (véase también el Capítulo 12).

2.3. La apertura de los estomas durante la absorción de CO_2 comporta un coste de agua para la planta

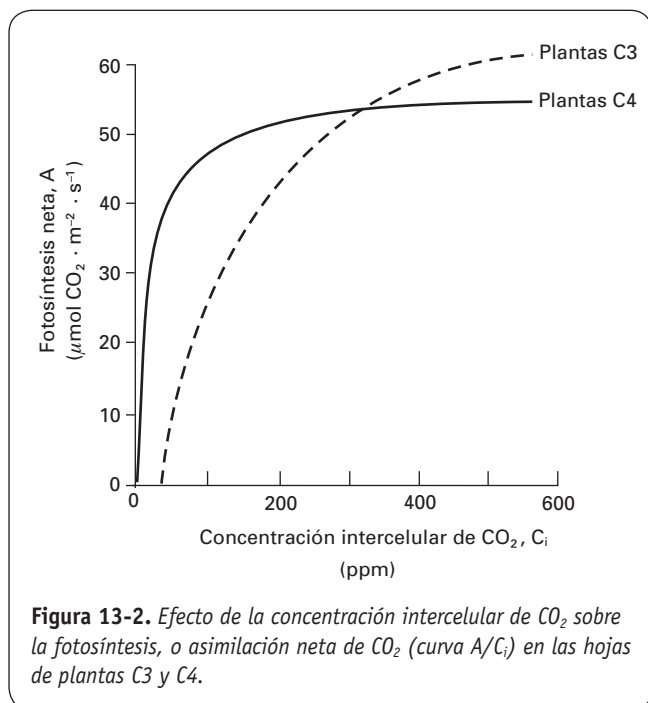
Para que el CO_2 difunda a través de la fase gaseosa, los estomas deben estar abiertos. Como consecuencia, se exponen las superficies húmedas del interior de la hoja a la atmósfera, lo que provoca una pérdida de agua. Ello supone, aproximadamente, entre 100 y 1000 moléculas de agua perdidas (habitualmente 240) por cada molécula de CO_2 incorporada en la fotosíntesis. Debido a este efecto, en los climas desfavora-

bles desde el punto de vista hídrico, la pérdida de agua para mantener los estomas abiertos puede suponer un factor crítico para la planta. Por ello, existen varios mecanismos para reducir estas pérdidas, como el de las plantas C4, el cual consiste en concentrar el CO_2 en las células de la vaina, lo que permite que estas plantas trabajen con menor concentración de CO_2 intercelular que las plantas C3 y, por tanto, que se mantenga una apertura estomática menor; o bien el mecanismo de las plantas CAM, que consiste en fijar el CO_2 por la noche y mantener los estomas cerrados durante el día, cuando la transpiración podría ser muy elevada (véase el Capítulo 12).

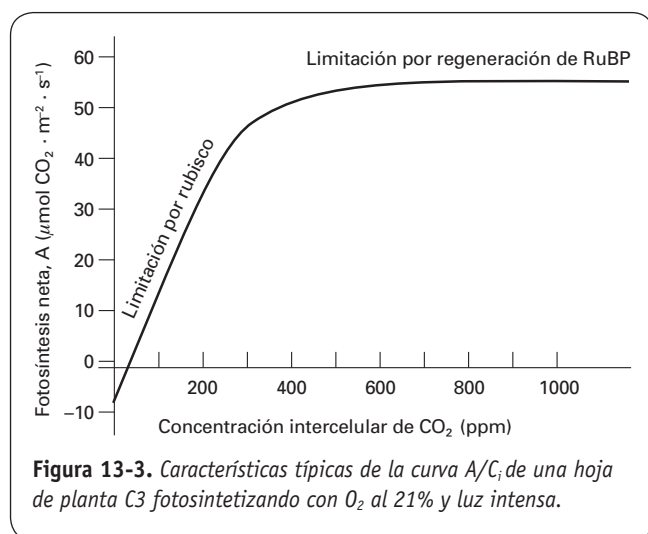
2.4. El CO_2 estimula la fotosíntesis a través de su acción como sustrato

A pesar de que existen otros factores limitantes, el CO_2 es un factor clave que determina la tasa de fotosíntesis, puesto que es uno de los principales sustratos de ese proceso (véanse los Capítulos 11 y 12). En general, si las plantas no presentan limitaciones por otros factores, responden incrementando la fotosíntesis a medida que la concentración de CO_2 aumenta. Estos incrementos de la fotosíntesis no son idénticos en todas las plantas, sino que varían según la fisiología de cada una de ellas, tal como se muestra en la Figura 13-2. En las plantas C3, el aumento de C_i se traduce en un incremento complejo de la tasa de fotosíntesis neta (A), ya que no sólo aumenta la asimilación bruta de CO_2 , sino que la fotorrespiración disminuye, al incrementar la concentración de CO_2 . En las plantas C4, en cambio, la gran acumulación de CO_2 en las células en las que se encuentra la rubisco reprime la manifestación de la fotorrespiración y, por tanto, el aumento de C_i da lugar a una rápida respuesta inicial de la fotosíntesis, alcanzándose la saturación con niveles menores de C_i que en el caso de las plantas C3 (Fig. 13-2). Así pues, la tasa de fotosíntesis de las plantas C3 es sensible a las variaciones de CO_2 en un rango mayor que en el caso de las C4. Esta sensibilidad de la fotosíntesis C3 al CO_2 puede ser utilizada para mejorar la productividad vegetal en invernaderos comerciales con control de CO_2 y, por supuesto, tendrá un impacto en la fotosíntesis de las plantas en el futuro en una atmósfera con elevado CO_2 (véase el apartado 7).

La región inicial de la curva A/C_i (Fig. 13-3), en la que no se manifiesta saturación de la fotosíntesis, expresa la utilización fotosintética del CO_2 ; la pendiente de la curva en esta región permite calcular la eficiencia de los procesos de carboxilación. En el caso de las plantas C3, esto se corresponde con la eficiencia de la rubisco, que cataliza la reacción del CO_2 con la ribulosa 1,5-bisfosfato (RuBP) en cantidades equimolares (véase el Capítulo 11). Cuando los niveles de CO_2 son bajos, la RuBP se sintetiza en la fase de regeneración del ciclo de Calvin, más rápidamente de lo que es utilizada por la rubisco y, por tanto, la RuBP se encuentra en exceso. En estas condiciones, la fotosíntesis está **limitada por la actividad carboxilasa de la rubisco**, dado que los niveles del otro sustrato de esta enzima (CO_2) son bajos. Al aumentar los niveles de este gas, también se incrementa



la tasa total de fotosíntesis, y la RuBP se utiliza con mayor velocidad. Al llegar el punto en el que la rubisco puede usar la RuBP más rápidamente de lo que se sintetiza, la tasa de fotosíntesis ya no aumenta más, y ello corresponde a la zona de saturación de la curva. Así pues, la velocidad de regeneración de RuBP en el ciclo de Calvin impone otro límite a la tasa fotosintética. Dado que, normalmente, la tasa de regeneración de RuBP viene dada por la tasa de producción de ATP y NADPH tras la captación de la luz en los tilacoides, se suele afirmar que en esta segunda parte de la curva A/C_i la fotosíntesis está limitada por la luz (transporte de electrones y otras reacciones luminosas), en contraposición a la **limitación por rubisco**, que se atribuye a la primera parte de la curva. En todo caso, hay que tener en cuenta que la regeneración de la RuBP también puede verse limitada por



la velocidad con que el ion fosfato es liberado en la síntesis de sacarosa y almidón a partir de las triosas-fosfato formadas en el ciclo de Calvin, ya que este mismo fosfato es el que se utiliza en el cloroplasto para la fosforilación de la ribulosa 5-fosfato a RuBP en el último paso del ciclo de Calvin (véase el Capítulo 11). Por tanto, lo más correcto y genérico es hablar de **limitación por regeneración de RuBP** (en lugar de limitación por luz) en la zona de saturación de la curva A/C_i .

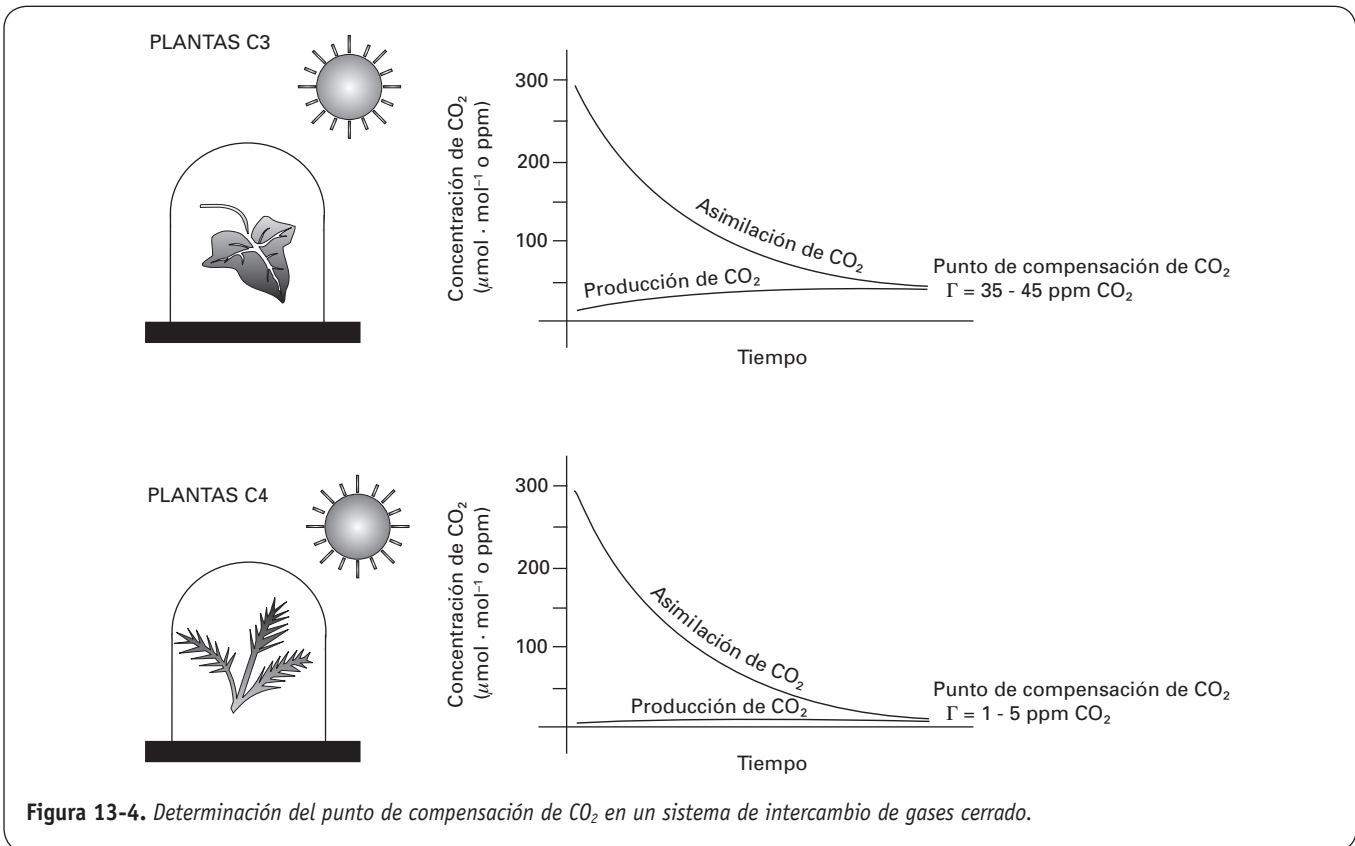
En la curva A/C_i puede observarse también que la fotosíntesis neta de la planta C3 se hace nula ante cierta concentración de CO_2 superior a cero (Figs. 13-2 y 13-3). Este fenómeno puede explicarse mejor con el siguiente experimento: si en una cámara cerrada se expone una planta a la luz, se observa que la concentración de CO_2 contenida en el aire de la cámara se va reduciendo por acción de la fotosíntesis (Fig. 13-4). La concentración de CO_2 en el interior del recinto cerrado va disminuyendo gradualmente, pero nunca alcanza valores nulos, porque se establece un equilibrio entre el CO_2 captado por la fotosíntesis y el CO_2 emitido por la fotorrespiración y la respiración. Este equilibrio se conoce como **punto de compensación de CO_2 (Γ)**, que es aquella concentración de CO_2 en la que el balance entre la fijación de CO_2 y la emisión de CO_2 es cero, y en la curva A/C_i corresponde al punto de intersección de la curva con el eje de abscisas (es decir, cuando $A = 0$) (Figs. 13-2 y 13-3). En las plantas C3, el valor de Γ suele ser de 35 a 45 ppm de CO_2 , mientras que las plantas C4 presentan valores del punto de compensación mucho menores (0-5 ppm de CO_2), debido a la ausencia de fotorrespiración.

3. LA LUZ COMO FACTOR AMBIENTAL MÁS VARIABLE QUE AFECTA A LA FOTOSÍNTESIS

La radiación luminosa, o luz, es el elemento clave de la fotosíntesis, dado que es su fuente primaria de energía. La naturaleza de la luz y su papel en el proceso fotosintético se estudian pormenorizadamente en los Capítulos 9 y 10. Por otra parte, la luz también actúa como factor regulador del crecimiento y desarrollo de los vegetales; esta función de fotomorfogénesis se analiza en el Capítulo 23. En este capítulo estudiaremos cómo se relaciona la cantidad de luz, en tanto que parámetro ambiental de carácter muy variable, con las propiedades fotosintéticas que manifiestan las plantas en sus adaptaciones a largo plazo y en sus respuestas rápidas en la tasa de fotosíntesis.

3.1. El ambiente luminoso durante el crecimiento condiciona las características fotosintéticas de las hojas

El ambiente luminoso al que se encuentran expuestas las plantas afecta a su crecimiento y desarrollo, y determina su morfología foliar y su fisiología, hasta el punto de que únicamente sobreviven las plantas cuya fotosíntesis está adaptada a dichas condiciones de luz. Cabe diferenciar dos



tipos de adaptaciones: la de las **plantas de sol** (o heliófilas) y la de las **plantas de sombra** (o esciófilas). También existen adaptaciones en los árboles; así, en un mismo árbol hay hojas de sol y de sombra, que corresponden a emplazamientos soleados o sombreados, respectivamente.

Las hojas crecidas en condiciones de luz débil (hojas de sombra), aunque normalmente pueden tener mayor superficie que las desarrolladas con una luz intensa (hojas de sol), son más delgadas porque poseen menos capas de células del mesófilo en empalizada, células más cortas, y menor peso por unidad de área foliar (Fig. 13-5). En las hojas de sol, la epidermis, el mesófilo esponjoso y los sistemas vasculares están más desarrollados. También existen diferencias en el aparato fotosintético: las hojas de sombra poseen más grana por cloroplasto y un mayor número de tilacoides apilados por grana que las de sol.

Asimismo, las plantas de sombra poseen mayor número de pigmentos en las antenas de los fotosistemas (especialmente, clorofila *b*), con el fin de aprovechar mejor la escasa radiación luminosa incidente. Ello se refleja en un descenso de la relación clorofila *a*/clorofila *b* desde valores de 4-5 en las hojas de las plantas crecidas a pleno sol, hasta valores de alrededor de 2.5, característicos de las hojas situadas en plena sombra. Las hojas más gruesas de las plantas de sol poseen mayor contenido de clorofila total y carotenos por unidad de área, mientras que las de sombra, más finas y con un peso seco relativamente bajo, contienen más clorofilas por unidad de peso fresco o peso seco, en especial clorofila *b*. La inversión



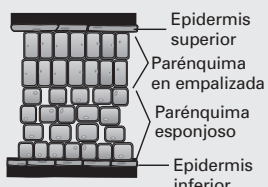


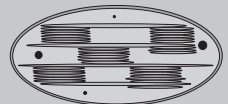
	PLANTAS DE SOL	PLANTAS DE SOMBRA
Hojas	Hojas pequeñas con gran densidad de estomas 	Hojas grandes con poca densidad de estomas 
Corte transversal de las hojas	Parénquima esponjoso y parénquima en empalizada gruesos  Epidermis superior, Parénquima en empalizada, Parénquima esponjoso, Epidermis inferior	Parénquima esponjoso y parénquima en empalizada finos 
Cloroplastos	Cloroplastos con poca cantidad de tilacoides apilados  Almidón	Cloroplastos grandes con gran número de tilacoides apilados 

Figura 13-5. Algunas características de las hojas de plantas de sol y de sombra.

de nitrógeno es también distinta en ambos tipos de hojas: las de sombra invierten más nitrógeno en la producción de pigmentos fotosintéticos para la captación de la escasa radiación incidente, mientras que en las hojas de sol hay una gran inversión en proteínas del estroma cloroplástico, principalmente rubisco. Este hecho se traduce en una relación clorofila/proteína soluble baja en las hojas de sol y elevada en las de sombra. Las plantas de sol poseen, asimismo, una composición química distinta de las de sombra, con mayor proporción de lípidos, almidón, carbohidratos solubles y cutinas (Cuadro 13-1).

3.2. La respuesta fotosintética a la luz varía en las plantas de sol y de sombra

Las curvas de respuesta de la tasa de fotosíntesis neta a la luz (o curvas de saturación de luz) proporcionan mucha información sobre el funcionamiento fotosintético de las hojas. En dichas curvas (Fig. 13-6) se utiliza comúnmente, como medida de luz incidente, la densidad de flujo fotónico fotosintético (PPFD), o **radiación fotosintéticamente activa**

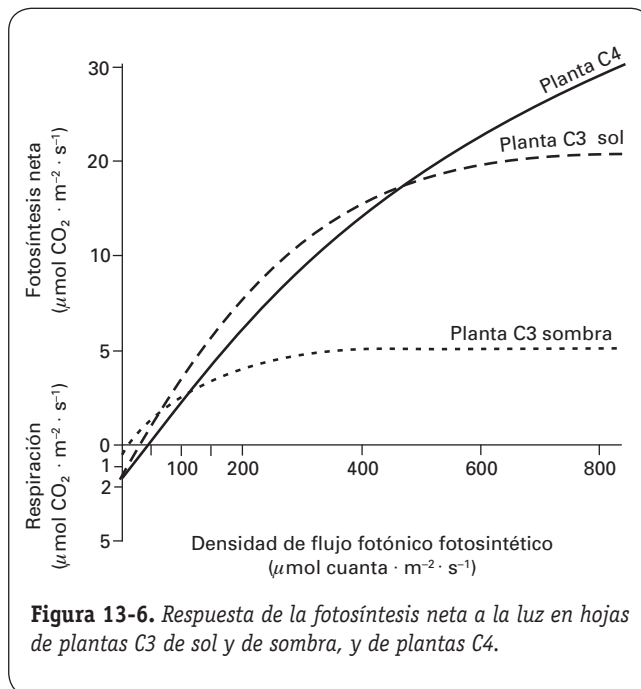


Figura 13-6. Respuesta de la fotosíntesis neta a la luz en hojas de plantas C3 de sol y de sombra, y de plantas C4.

Cuadro 13-1. Diferencias entre plantas adaptadas a condiciones de sol o de sombra.

Rasgos	Sol	Sombra
De la hoja		
Respuesta fotosintética a la luz		
Tasa de saturación a la luz	Alta	Baja
Irradiancia de saturación (PPFD)	Alta	Baja
Irradiancia de compensación (PPFD)	Alta	Baja
Bioquímica		
Contenido de N, rubisco y proteína soluble/masa	Alto	Ligeramente inferior
% Clorofila <i>a</i> /clorofila <i>b</i>	Alto	Bajo
% Clorofila/proteína soluble	Bajo	Alto
Anatomía y ultraestructura		
Tamaño del cloroplasto	Pequeño	Grande
Tilacoide/grana	Bajo	Alto
Morfología		
Masa de la hoja/área	Alto	Bajo
Grosor de la hoja	Grande	Pequeño
Tamaño de los estomas	Pequeño	Grande
Densidad estomática	Elevada	Baja
% Mesófilo en empalizada/mesófilo esponjoso	Alto	Bajo
% Área del mesófilo/área foliar	Alto	Bajo
Orientación de la hoja	Erecta	Horizontal
Del dosel		
Índice de área foliar	De alto a bajo	Bajo
Filotaxis	Espiral	Dística
Orientación de las ramas	Erecta	± Horizontal
Asimetría de la base foliar	Casi nunca	Infrecuente
De la planta		
Partición fraccional en hojas	Baja	Alta
Partición fraccional en raíces	Elevada	Baja
Esfuerzo reproductivo	Elevado	Bajo

(PAR), que corresponde al **flujo de fotones** o cuanta con longitudes de onda efectivas para la fotosíntesis (dentro del intervalo 400-700 nm del espectro de radiación solar; véase el Capítulo 9) que incide sobre la hoja. Los valores máximos de PAR que se pueden medir en un día soleado en latitudes medias oscilan entre 2000 y 2300 μmol de fotones $\cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$.

En la parte inicial de la curva de saturación de luz se encuentra el **punto de compensación de luz**, que corresponde a la densidad de flujo fotónico en el que el intercambio neto de CO_2 de la hoja es cero, debido a que se igualan las tasas de consumo fotosintético de CO_2 y de producción de CO_2 mediante procesos respiratorios. Este punto de compensación dependerá del tipo de planta, de la fase de desarrollo de la hoja y de factores ambientales. Por ejemplo, el valor del punto de compensación luminoso en hojas de plantas de sol es de 20-30 μmol de fotones $\cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, mientras que las hojas de plantas de sombra presentan valores inferiores (1-10 μmol de fotones $\cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). Los bajos valores del punto de compensación de luz de las plantas de sombra se deben a su reducida tasa de respiración, que es compensada con facilidad por una fotosíntesis poco elevada. Las tasas de fijación de CO_2 y de respiración son más elevadas en las hojas de plantas de sol que en las de sombra, expresadas tanto por unidad de área como por contenido en clorofila.

Con una determinada densidad de flujo fotónico, la fotosíntesis neta se satura; esto corresponde al **punto de saturación luminoso**. Dicho punto es menor en las plantas de sombra (entre 60 y 200 μmol de fotones $\cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) que en plantas de sol. En las plantas C3 de sol, la saturación luminosa se sitúa entre 400 y 600 μmol de fotones $\cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, correspondiente aproximadamente al 25% de la radiación luminosa solar máxima, mientras que en algunas plantas C4 no se observa ni siquiera la saturación (Fig. 13-6). Los puntos de saturación luminosa generalmente reflejan las densidades de flujo fotónico a las que estuvo expuesta la hoja durante su desarrollo. Las plantas de sol muestran tasas mayores de asimilación de CO_2 con saturación de luz, considerándose esta tasa como una medida de su **capacidad fotosintética** ($A_{\text{máx}}$). Este parámetro varía enormemente entre especies, y también entre plantas C3 y C4, habiéndose detectado en estas últimas tasas máximas de hasta 60 μmol $\text{CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, hecho que repercute en su gran productividad. La capacidad fotosintética de una planta depende de todos los factores ambientales que afectan el proceso fotosintético, así como de la ontogenia foliar (véase el Capítulo 28).

La pendiente inicial de la curva de saturación de luz viene determinada por las reacciones fotoquímicas de la fotosíntesis, mientras que la fase propiamente de saturación de la curva depende de las características bioquímicas de la fotosíntesis o reacciones de asimilación del CO_2 . La pendiente inicial puede describirse como el **rendimiento cuántico** (Φ) o eficiencia fotosintética en función de los fotones absorbidos (mol de CO_2 mol^{-1} de fotones) (Fig. 13-6). Las plantas C3 tienen un Φ de aproximadamente 0.05 en condiciones naturales (corresponde a 1 molécula de CO_2 fijado por 20 fotones absorbidos); si se inhibe el proceso de fotorrespiración mediante la exposición a bajas concentraciones de O_2 (1-2%)

o altas concentraciones de CO_2 (véase el Capítulo 12), el rendimiento cuántico aumenta a 0.07-0.08 (1 CO_2 fijado por cada 12-14 fotones absorbidos) (Fig. 13-7). Las plantas C4 poseen un Φ de 0.05 a prácticamente cualquier concentración de CO_2 y O_2 (Fig. 13-7). Gracias a la presencia de gran cantidad de fosfoenolpiruvato carboxilasa, dichas plantas acumulan mucho CO_2 alrededor de los sitios de carboxilación de la rubisco, de manera que la fotorrespiración se inhibe (véase el Capítulo 12) y, como consecuencia, su rendimiento cuántico presenta una menor dependencia del suministro de CO_2 (Fig. 13-7). El menor rendimiento cuántico de las plantas C4 ($\Phi = 0.05$) en comparación con el de las plantas C3 a CO_2 elevado ($\Phi = 0.08$), se debe al mayor requerimiento de ATP que tiene la vía C4 de fijación del CO_2 (véase el Capítulo 12); por ello, las plantas C4 son relativamente ineficientes en condiciones de escasez de luz.

Por otra parte, el rendimiento cuántico de las plantas de sol y de sombra es similar, excepto cuando aparecen procesos de fotoinhibición (véanse el apartado 3.3 y los Capítulos 10 y 29), los cuales producen una disminución del rendimiento cuántico, especialmente en las plantas de sombra.

3.3. En los cloroplastos existen diversos procesos de disipación de la energía luminosa

La radiación incidente es absorbida en las membranas fotosintéticas de algas y plantas por parte de los complejos pigmento-proteína de las antenas (*light harvesting complexes* o LHC) del fotosistema I (PSI) y del fotosistema II (PSII) (Fig. 13-8) (véanse los Capítulos 9 y 10).

Al absorber un fotón de luz, las clorofilas de las antenas adquieren el estado de **singlete excitado**, cuya energía de excitación puede transferirse a los centros de reacción de los fotosistemas y generar un transporte de electrones que oxida el H_2O y produce energía química en forma de NADPH

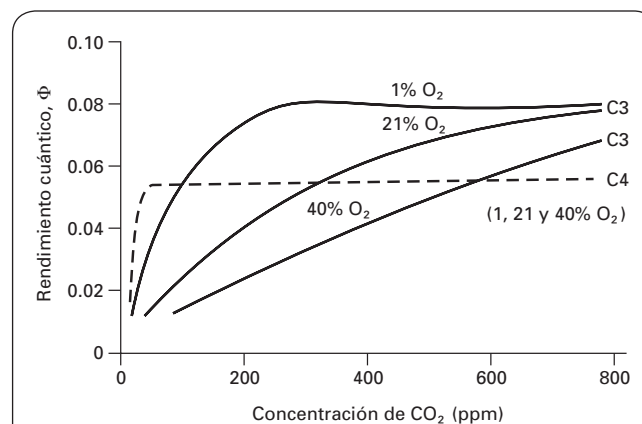


Figura 13-7. Rendimiento cuántico (Φ) o eficiencia fotoquímica de la fotosíntesis de hojas C3 y C4 en función de la concentración de CO_2 y O_2 . (Adaptado de Osmond y cols., 1980. *Physiological Processes in Plant Ecology. Towards a Synthesis with Atriplex*. Berlín, Springer-Verlag.)

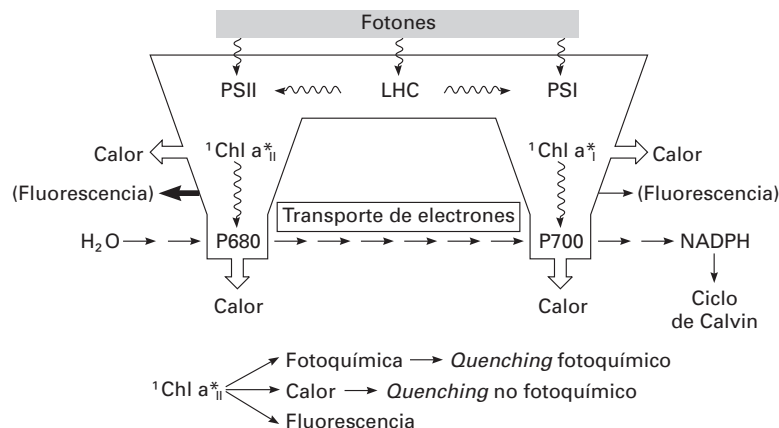


Figura 13-8. Los diferentes procesos de disipación de la energía luminosa en la fotosíntesis. (Adaptado de Schreiber y cols., 1995. En: Schulze y Caldwell (eds.), *Ecophysiology of Photosynthesis*. Springer-Verlag.) LHC: complejo captador de luz de los fotosistemas (PSI y PSII).

y ATP, coenzimas que se utilizarán para la reducción del CO_2 (véase el Capítulo 10). La regulación de la captación de luz y el transporte de electrones es fundamental para que exista un equilibrio entre la producción de energía química y su consumo. En condiciones de baja densidad de flujo fotónico (PPFD, PAR), es necesario que la planta capture y utilice la luz de la forma más eficiente, mientras que con niveles de PAR más elevados, el exceso de energía de excitación debe ser disipado de forma inocua para evitar un deterioro en los centros de reacción (**fotoinhibición**) y en otros constituyentes celulares. A menudo, en la naturaleza la absorción de energía luminosa en las superficies foliares es superior a su capacidad fotosintética, lo que origina un estado de exceso de reducción de los transportadores de la cadena de electrones y una acumulación de energía de excitación no disipada en las antenas asociadas a los centros de reacción. Como consecuencia, la fotoinhibición se favorece y, también, la reducción directa del O_2 por la cadena de transporte de electrones (reacción de Mehler) y la posterior formación de especies activadas de oxígeno (ion superóxido, peróxido de hidrógeno, etc.), que pueden provocar en último término un deterioro fotooxidativo, especialmente del PSII (véanse los Capítulos 10 y 29).

Diversos procesos constituyen formas de **disipación de energía de excitación**: entre las vías fotoquímicas se encuentra fundamentalmente la asimilación de CO_2 , que consume mucho ATP y NADPH generados en la fase fotoquímica de la fotosíntesis (véase el Capítulo 11), aunque otros procesos, como la fotorrespiración, la reducción de nitrato y la asimilación de amonio, también consumen ATP y poder reductor (véanse los Capítulos 12 y 15), y contribuyen a la disipación de la energía. Asimismo, la reacción de Mehler constituye otra vía fotoquímica de disipación de energía. Los procesos no fotoquímicos consisten principalmente en la disipación térmica (no radiante) de la energía de excitación (Fig. 13-8).

3.4. La medida de la emisión de fluorescencia de las clorofilas es indicativa del funcionamiento fotoquímico de los cloroplastos

Además de los procesos fotoquímicos y no fotoquímicos de disipación de la energía radiante mencionados en el apartado anterior, cierta cantidad de la energía luminosa absorbida por las clorofilas se disipa en forma de fluorescencia (véanse los Capítulos 9 y 10). Es decir, la energía de los fotones absorbidos se distribuye entre estos tres procesos disipativos, que compiten entre sí. La emisión de fluorescencia constituye una fracción pequeña (3-4%) de la energía total disipada, pero su medida puede servir para conocer la eficiencia de la conversión de energía radiante, ya que los cambios en la cantidad de energía utilizada por los otros procesos da lugar a cambios en la fluorescencia debido a la mencionada competencia entre todos ellos (Fig. 13-8). La fluorescencia se origina casi exclusivamente en el PSII, de modo que los cambios de esta radiación reflejan el estado de dicho fotosistema. Por medio de mediciones rápidas y no destructivas, la **emisión de fluorescencia** puede ser analizada y evaluada cuantitativamente, lo que proporciona información sobre la tasa de transporte de electrones, el rendimiento cuántico y la existencia de fotoinhibición de la fotosíntesis. Los fluorómetros utilizados para dichas medidas de la fluorescencia son aparatos portátiles o semiportátiles y de bajo consumo, ideales para mediciones *in situ*; y son muy utilizados en estudios ecofisiológicos sobre los factores de estrés que afectan a la fotosíntesis, constituyendo una alternativa a los métodos de intercambio de gases (véanse el apartado 2 y el Capítulo 3).

En una hoja iluminada, los procesos de captación de luz, de canalización de la energía de excitación hasta la clorofila del centro de reacción del PSII (P680), y de la posterior separación de cargas que lleva al electrón desde

esta clorofila hasta las quinonas (Q_A , etc.), son mucho más rápidos que los siguientes pasos de la cadena de transporte de electrones (véase el Capítulo 10), por lo que se produce una cierta acumulación de quinonas reducidas, a la espera de ser oxidadas por el siguiente aceptor de electrones. Como resultado de ello, aquellos centros de reacción del PSII cuyas quinonas estén reducidas no podrán, temporalmente, procesar más energía de excitación procedente de las antenas, con lo que la emisión de fluorescencia aumentará. Estos centros de reacción se denominan «cerrados», en contraposición con los centros «abiertos», es decir, aquellos cuyas quinonas están total o parcialmente oxidadas y que, por tanto, pueden seguir procesando energía, dando lugar a una menor emisión de fluorescencia. Así, si se ilumina una hoja con un pulso de luz blanca suficientemente alto (saturante), se conseguirán cerrar momentáneamente todos los centros de reacción, lo cual, combinado con la relativa lentitud del transporte de electrones, dará lugar a un nivel de fluorescencia máximo. A partir de aquí, cuanto más energía es utilizada en las reacciones fotoquímicas o en disipación térmica, menos energía queda disponible para emitirse como fluorescencia. Por ello se distinguen dos tipos de *quenching* o atenuación de la fluorescencia: el *quenching* fotoquímico (q_p) y el *quenching* no fotoquímico (q_n). Las medidas de fluorescencia modulada permiten la distinción y la cuantificación del q_p y del q_n .

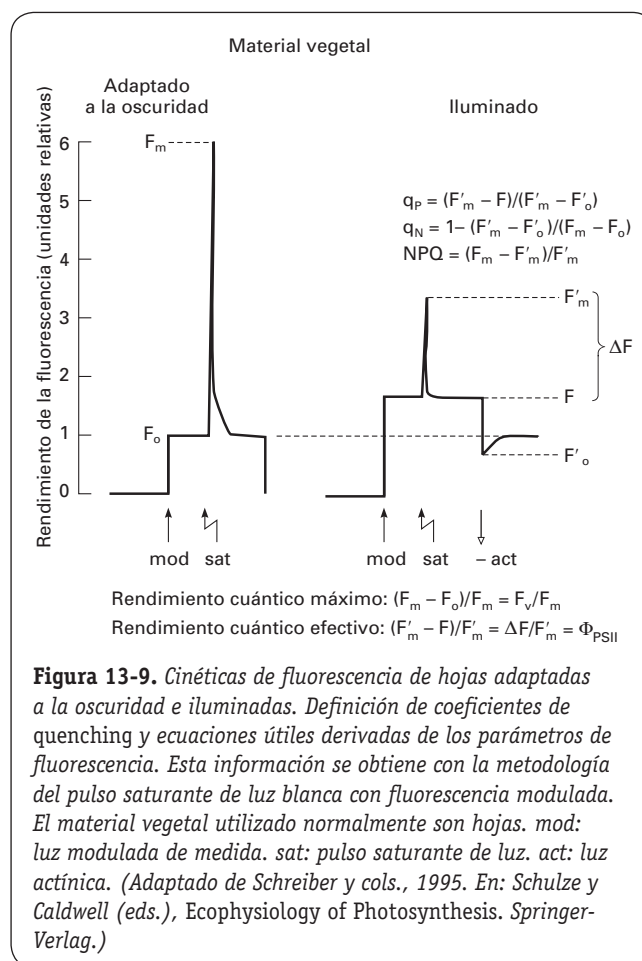
En la práctica, la separación y la cuantificación de los dos tipos de *quenching* se realizan precisamente mediante la aplicación de un pulso saturante de luz a un material fotosintético previamente adaptado a la oscuridad (15-30 minutos). El material se ilumina con la llamada luz de medida, que es de muy baja intensidad ($< 1 \mu\text{mol de fotones} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), por lo que la proporción de centros de reacción cerrados es prácticamente nula y el *quenching* fotoquímico es máximo al no haber ninguna restricción al transporte de electrones. Como consecuencia de ello, el nivel de fluorescencia es mínimo (F_0). Al aplicar el pulso saturante de luz ($> 4000 \mu\text{mol fotones} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), la fluorescencia aumenta hasta un valor máximo (F_m), dado que todos los centros de reacción se hallan cerrados y, por tanto, en estas condiciones el *quenching* fotoquímico queda completamente suprimido, el *quenching* restante es no fotoquímico.

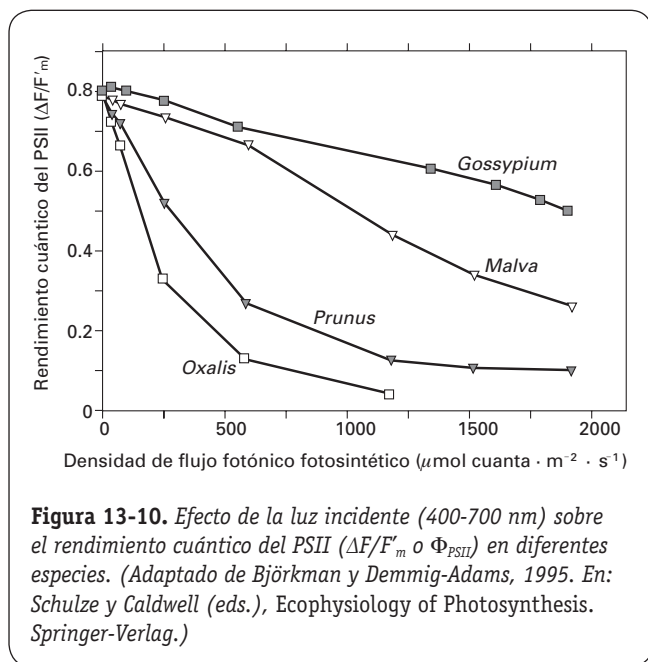
La diferencia entre F_0 y F_m constituye la fluorescencia variable, F_v . Los valores de F_v/F_m de una gran variedad de plantas no estresadas adaptadas a la oscuridad es de 0.75-0.85. El parámetro F_v/F_m es una estimación del rendimiento cuántico máximo del PSII, y su disminución indica daño por fotoinhibición. El rendimiento cuántico del PSII informa de la probabilidad de que un fotón de luz absorbido sea utilizado en el PSII liberando un electrón a la cadena de transporte electrónico.

Pese a que al principio sólo era posible realizar mediciones de fluorescencia en ausencia de luz ambiental, los modernos fluorómetros presentan mejoras técnicas que permiten distinguir la emisión de fluorescencia en presencia de intensa luz ambiental o actínica; es la llamada fluorescencia modulada. Con el uso de la luz modulada de medida (de muy baja intensidad), de la luz saturante y de la luz actínica, es

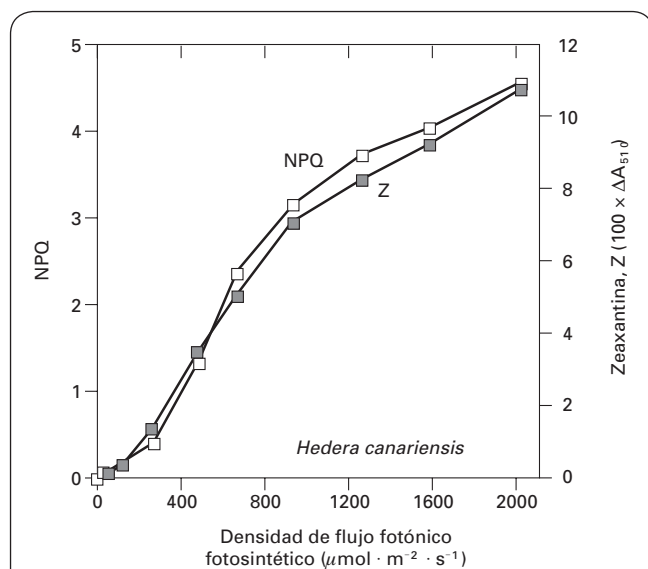
posible observar los cambios en la fluorescencia que sufren las hojas adaptadas a la oscuridad cuando son iluminadas, y también los cambios de las hojas previamente iluminadas, tal como se observa en la Figura 13-9. Ello permite calcular el rendimiento cuántico efectivo, o eficiencia fotoquímica del PSII (Φ_{PSII}) (Genty y cols., *Biochimica et Biophysica Acta* 990: 87-92, 1989) en hojas expuestas a la luz ambiental, y la tasa relativa de transporte de electrones ($\text{ETR} = 0.5 \cdot 0.84 \cdot \text{PAR} \cdot \Phi_{\text{PSII}}$, donde 0.5 es un factor que asume una distribución igual de energía entre los dos fotosistemas y 0.84 el coeficiente de absorbancia luminosa).

Tal como se muestra en la Figura 13-10, el Φ_{PSII} disminuye al aumentar la luz incidente. La técnica de fluorescencia modulada permite calcular parámetros como el *quenching* fotoquímico (q_p) y el *quenching* no fotoquímico (expresado como q_n o NPQ), que describe principalmente la disipación térmica en las antenas del PSII. La Figura 13-11 muestra también el aumento de la participación en procesos de disipación de energía térmica (NPQ) al aumentar el flujo fotónico incidente. Los carotenoides de la membrana tilacoidal, y especialmente las xantofilas, desempeñan un papel decisivo en la disipación térmica del exceso de energía luminosa absorbida por las clorofilas. En situaciones de exceso de luz, el incremento de la concentración de protones en el lumen tilacoidal generado por el transporte de electrones activa enzimas que producen





zeaxantina en el llamado **ciclo de la violaxantina**, o ciclo VAZ, (véanse también los Capítulos 10 y 29). Se ha observado que en muchas especies y ante distintas circunstancias estresantes existe una clara relación entre el contenido de zeaxantina y el *quenching* no fotoquímico (NPQ) (Fig. 13-11), lo que ha llevado a proponer que la **zeaxantina** es la principal responsable de los procesos de disipación térmica que explican el *quenching* no fotoquímico. Sin embargo, también se



ha propuesto la participación del llamado ciclo de la luteína epóxido en la disipación del exceso de energía radiante en las plantas parásitas (Bungard y cols., *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 96:1135-1139, 1999; Matsubara y cols., *Australian Journal of Plant Physiology* 28:793-800, 2001) y en especies leñosas (Llorens y cols., *Functional Plant Biology* 29:81-88, 2002; García-Plazaola y cols., *Functional Plant Biology* 29:1075-1080, 2002).

Recientemente se han propuesto diversos componentes del NPQ. El componente predominante proviene de un mecanismo llamado **qE**, o *quenching* energético. La mayoría de las plantas utilizan este tipo de disipación térmica en situaciones de estrés moderado. El qE depende del gradiente de pH transtilacoidal y es rápidamente reversible (segundos-minutos). Asimismo, requiere la presencia no sólo de zeaxantina, sino de la proteína PsbS del LHCII (Li y cols., *Nature* 403: 391-395, 2000), habiéndose demostrado la máxima capacidad del NPQ en *Arabidopsis* con sobreexpresión de dicha proteína. En condiciones de elevada irradiancia, el bajo pH del lumen provocaría la protonización de una serie de residuos aminoacídicos (glutamato y aspartato) de la proteína PsbS que desencadenaría una reordenación física de la membrana tilacoidal y una rápida participación de la zeaxantina en la disipación térmica (Niyogi y cols., *Journal of Experimental Botany* 56: 375-382, 2005). El segundo componente es el *quenching* transitorio o **qT**, debido al llamado «estado de transición» por desacoplamiento o separación entre los centros de reacción y el PSII. El qT se relaja en unos minutos y puede ser importante en las algas. Finalmente, otro componente del NPQ es el *quenching* fotoinhibitorio o **qI**, poco conocido, que se relaja lentamente (horas) y está relacionado con la fotoinhibición y el daño por exceso de luz (*photodamage*); la parte del qI que persiste en los vegetales sometidos a bajas temperaturas se denomina qE «sostenido» debido a su dependencia del pH (Müller y cols., *Plant Physiology* 125:1558-1566, 2001; Demmig-Adams y Adams, *New Phytologist* 172:11-21, 2006).

4. TEMPERATURA

4.1. La fotosíntesis puede operar en un amplio rango de temperaturas

Las plantas viven y realizan la fotosíntesis en una gran variedad de hábitats que presentan grandes diferencias en sus regímenes térmicos. A ello hay que añadir las fluctuaciones diarias y anuales que presenta la temperatura en estos hábitats. La temperatura de la planta, como organismo poiquiloterma que es, está estrechamente relacionada con la temperatura ambiental. Ello significa que la fotosíntesis deberá enfrentarse con ese amplio rango de temperaturas, así, se encontrará actividad fotosintética próxima a los 0 °C en plantas alpinas, y cercana a los 50 °C en algunas especies de desiertos cálidos.

¿Cómo responde la fotosíntesis a la temperatura? En la Figura 13-12 se observan curvas de respuesta en forma de

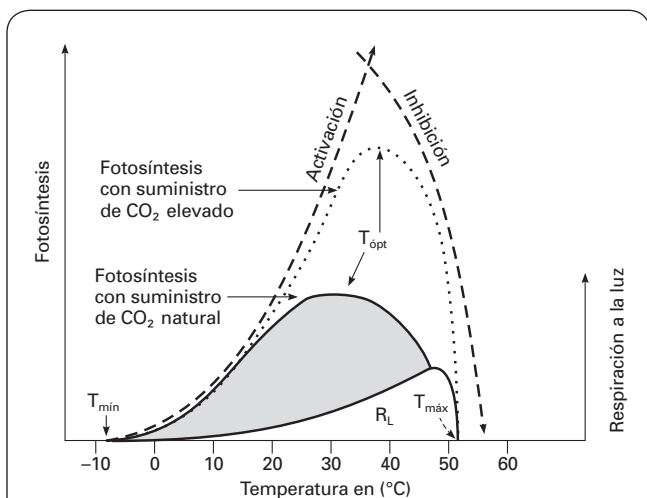


Figura 13-12. Respuestas a la temperatura de la fotosíntesis a niveles de CO_2 ambiental y elevado, en plantas C3. T_{opt} : temperatura óptima para la fotosíntesis de temperatura; T_{min} : límite inferior de temperatura; $T_{\text{máx}}$: límite superior de temperatura; R_L : estimación de la respiración a la luz (principalmente fotorrespiración). (Adaptado de Larcher, 1995. *Physiological Plant Ecology*. Springer-Verlag.)

campana, típicas de la mayoría de los procesos biológicos, con tres puntos característicos: una temperatura óptima (T_{opt}) en la que la asimilación neta de CO_2 es máxima, y las temperaturas mínima (T_{min}) y máxima ($T_{\text{máx}}$), en las que la fotosíntesis se anula. Se trata de curvas complejas a pesar de su apariencia, ya que resumen varios procesos: fotosíntesis bruta, fotorrespiración y respiración. Cada uno de estos procesos comprende varias reacciones químicas sobre las que la temperatura tiene un efecto, pero que son catalizadas por enzimas que presentan una respuesta a la temperatura típicamente acampanada, con una temperatura óptima diferente para cada enzima.

En la Figura 13-13 se observan dos respuestas reales diferentes de la fotosíntesis a la temperatura. La curva superior corresponde a una planta C4, con una marcada respuesta a la temperatura. La curva inferior, más aplanada, muestra una respuesta de la fotosíntesis con una menor dependencia frente a la temperatura en un amplio rango térmico. Es la respuesta típica de la mayoría de las plantas C3, en las que la estimulación de la asimilación neta de CO_2 por la temperatura se ve compensada por un aumento de la respiración total a la luz (R_L) (Fig. 13-12), la cual incluye la fotorrespiración y, en menor medida, la respiración de oscuridad a la luz. El incremento de la fotorrespiración con la temperatura se debe, por una parte, a la mayor pérdida de afinidad de la rubisco por el CO_2 que por el O_2 a medida que la temperatura aumenta y, por otra parte, a que se incrementa la proporción de O_2 disuelto respecto a la proporción de CO_2 en el medio donde se encuentra la rubisco (véase también el Capítulo 12). En la Figura 13-12 podemos ver además cómo, por causa de la fotorrespiración, la temperatura óptima de la fotosíntesis neta está desplazada respecto a la temperatura óptima de la fotosíntesis bruta (sin fotorrespiración). Cabe

resaltar también la respuesta que presenta la misma planta C3 medida a CO_2 elevado: el aspecto de esta curva es similar al que presenta una planta C4 (Figs. 13-13 y 13-14), dado que en ambos casos se da una concentración elevada de CO_2 en el lugar de carboxilación que elimina funcionalmente la fotorrespiración.

Como consecuencia de todos los factores mencionados, existe una importante variabilidad entre las temperaturas óptima, máxima y mínima en las diferentes especies. Así, cabe destacar que el rango óptimo abarca de 15 a 30 °C para la mayoría de las especies C3, pero las plantas de sombra y las especies que florecen al principio de la primavera tienen un rango óptimo entre 10 y 20 °C; las plantas de sol, entre 25 y 35 °C; algunos arbustos de desierto, hasta por encima de 40 °C, mientras que muchas plantas C4 siguen fotosintetizando bien a temperaturas superiores a 40 °C. También es variable la temperatura máxima ($T_{\text{máx}}$), que podríamos calificar de punto de compensación de calor: con temperaturas altas, la fotosíntesis bruta se reduce rápidamente y la respiración y la fotorrespiración aumentan con gran velocidad, hasta llegar a un punto en que todo el CO_2 asimilado es liberado de nuevo; más allá de este punto, que oscila entre los 40 y los 60 °C, según se trate de plantas leñosas o herbáceas, se observa una emisión neta de CO_2 a la luz. La causa de la reducción de la fotosíntesis bruta a elevada temperatura todavía no se conoce bien: en primer lugar está la pérdida de funcionalidad que debe sufrir la rubisco, como cualquier otra enzima (cambios conformacionales y estructurales), al aumentar la temperatura (proceso de desnaturalización de las proteínas).

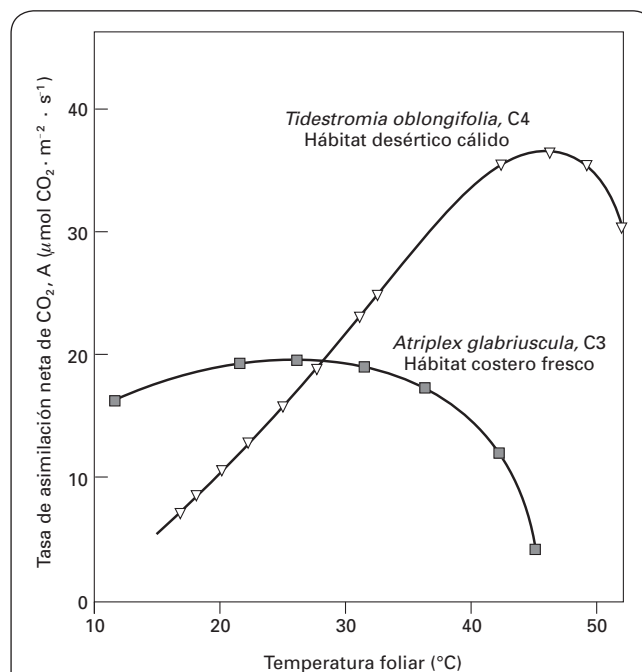


Figura 13-13. Comparación de la respuesta de la fotosíntesis neta a la temperatura en plantas enteras C3 y C4 crecidas en diferentes hábitats con temperaturas contrastadas. (Adaptado de Berry y Björkman, 1980. *Annual Review of Plant Physiology* 31:491-543.)

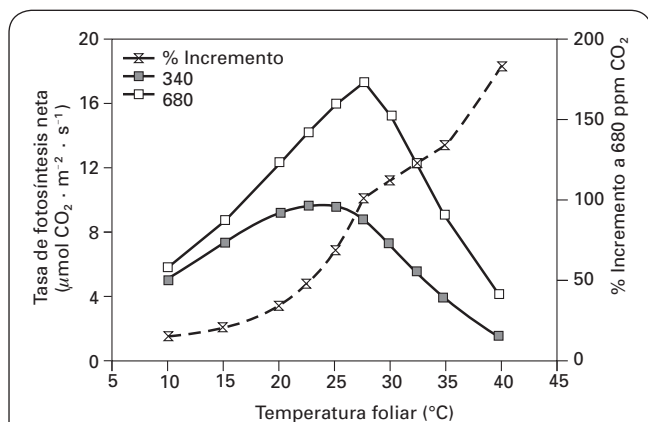


Figura 13-14. Respuesta de la fotosíntesis neta en función de la temperatura con dos niveles de CO_2 (ambiental y elevado), según un modelo matemático de simulación de la fotosíntesis. La luz incidente (400-700 nm) utilizada en la simulación es $1000 \mu\text{mol}$ cuanta $\text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. (Adaptado de Harley, 1995. En: Moreno y Oechel (eds.), *Global Change and Mediterranean-type Ecosystems*. Springer-Verlag.)

En el caso de la rubisco se ha observado que a temperaturas altas la producción de xilulosa 1,5-bisfosfato aumenta, un producto del mal funcionamiento de la rubisco causado por una protonación anormal del grupo enediol, intermediario de la reacción (véase el Capítulo 11), que impide la fijación de CO_2 (Salvucci y Crafts-Brandner, *Physiologia Plantarum* 122:513-519, 2004). Por otra parte, se ha observado que la **rubisco activasa** (véase el Capítulo 11) es una enzima bastante termolábil, dado que a temperaturas moderadamente altas ($> 35 \text{ }^{\circ}\text{C}$) pierde funcionalidad, por lo que el estado de activación de la rubisco *in vivo* también disminuye de forma importante, afectando a la tasa de fotosíntesis (Yamori y cols., *Plant, Cell and Environment* 29:1659-1670, 2006; Crafts-Brandner y Salvucci, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 97:13430-13435, 2000). Finalmente, la membrana tilacoidal parece aumentar excesivamente su permeabilidad con temperaturas elevadas, lo que dificulta mucho la formación del gradiente de protones, necesario para la síntesis de ATP (Sharkey, *Plant, Cell and Environment* 28:269-277, 2005).

En cuanto a la temperatura mínima ($T_{\text{mín}}$) aceptable para la fotosíntesis, ésta se sitúa por encima del punto de congelación en las plantas tropicales (debido a que las membranas tilacoidales pierden fluidez y funcionalidad a temperaturas bajas), pero desciende algunos grados bajo cero en las plantas de climas templados, al menos hasta que se forma hielo, lo que suele ocurrir entre -3 y $-5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ (véanse también los Capítulos 1 y 29). Antes de llegar a este valor extremo, la disminución de la tasa de fotosíntesis con temperaturas bajas parece estar relacionada con una escasa disponibilidad de fosfato libre en el cloroplasto, ya que tanto la utilización de triosas fosfato para la síntesis de almidón como el transporte de triosas fosfato al citosol, para la síntesis de sacarosa, disminuyen mucho, con lo que el fosfato queda atrapado en los

compuestos intermediarios (véase el Capítulo 11). Además de la falta de fosfato libre en el cloroplasto, necesario para la formación de ATP, también se ha sugerido que la acumulación de estos compuestos intermediarios podría inducir una disminución de los niveles de enzimas que participan en el proceso de fijación del CO_2 , mediante la represión de la expresión de los genes que las codifican.

De los ejemplos anteriores se puede deducir que existe una estrecha relación entre la respuesta a la temperatura de las plantas y las condiciones ambientales en que se desarrollan. De hecho, las temperaturas óptimas para la fotosíntesis suelen ser similares a las temperaturas diurnas de los ambientes en los que las plantas crecen. Ello se debe no sólo a un proceso de adaptación genotípica que asegura un ajuste a la temperatura media del hábitat de la especie, sino también a una capacidad de las plantas para aclimatarse a la temperatura a la que se encuentran en un determinado momento, de forma que la curva de respuesta a la temperatura se puede modificar en cuestión de días, e incluso de horas, como consecuencia de un cambio en el régimen térmico. Los mecanismos implicados en esta aclimatación pueden ser: sustitución de unas isoenzimas por otras con temperaturas óptimas más adecuadas; cambios químicos y estructurales en las membranas, especialmente las tilacoidales (Sharkey, *Plant, Cell and Environment* 28: 269-277, 2005) (véase también el Capítulo 1) o, en el caso de la aclimatación a temperaturas bajo cero, acumulación de azúcares u otros solutos que disminuyen el punto de congelación (véase el Capítulo 29). De hecho, la capacidad para aclimatarse a una cierta temperatura suele ser la principal característica de la adaptación genotípica; así, las plantas de hábitats fríos aclimatan su fotosíntesis mucho más rápidamente y mejor a las temperaturas bajas que aquellas plantas de la misma especie procedentes de hábitats más cálidos, y viceversa.

5. OTROS FACTORES QUE AFECTAN A LA FOTOSÍNTESIS

En condiciones hídricas adecuadas, la tasa fotosintética de las plantas alcanza su valor máximo cuando se combinan condiciones óptimas de CO_2 , luz y temperatura, descritas en los apartados anteriores. Así se llega a determinar la llamada **capacidad fotosintética** (véase también el apartado 3.2), que puede variar enormemente entre especies y también como respuesta a otros factores diferentes. Por ejemplo, la disponibilidad de nutrientes minerales en el suelo, especialmente nitrógeno y fósforo, puede afectar mucho a la capacidad fotosintética de las plantas. El **nitrógeno** forma parte de las enzimas y de la clorofila, y normalmente existe una fuerte correlación entre el contenido de nitrógeno de las hojas y los contenidos de clorofila y, sobre todo, de rubisco (aproximadamente un 40% del nitrógeno foliar se encuentra invertido en esta proteína en las plantas C3). En cuanto al **fósforo**, forma parte de la molécula de ATP, que se produce en la fotosíntesis mediante el acoplamiento de la ATP sintasa con el transporte electrónico

en la membrana tilacoidal (véase el Capítulo 10). También forma parte de todos los productos intermediarios del ciclo de Calvin. Una deficiencia de fósforo provoca una reducción de la fotosíntesis (Fig. 13-15) debido a la falta de ATP y también a la limitación de la exportación de triosas-fosfato del cloroplasto, favoreciéndose la síntesis de almidón en detrimento de la de sacarosa (véase el Capítulo 11). Esta situación se agrava cuando la concentración de CO_2 es alta, dado que la producción de triosas-fosfato es más elevada cuando se estimula la fotosíntesis por el CO_2 .

La capacidad fotosintética es también sensible a otros factores, como el estrés hídrico, las infecciones por organismos parásitos, simbióticos o patógenos (hongos, bacterias, virus), y la presencia de contaminantes ambientales, tanto en el aire (dióxido de azufre, óxidos de nitrógeno, ozono) como en el suelo (metales pesados como el cadmio, el plomo o el arsénico). En los Capítulos 4, 6, 8, 16 y 29 se explican con más detalle todos estos factores, entre ellos los nutrientes minerales.

6. INTERACCIÓN ENTRE LOS FACTORES QUE AFECTAN A LA FOTOSÍNTESIS

Todos los factores que antes se han presentado por separado, pueden darse en realidad al mismo tiempo en condiciones naturales, e interactúan para ejercer una influencia compleja sobre la fotosíntesis. Así, las temperaturas óptima y máxima de la fotosíntesis aumentan con el CO_2 (Figs. 13-12 y 13-14), y la respuesta de la fotosíntesis al CO_2 intercelular varía según la disponibilidad de fósforo (Fig. 13-15). La curva de respuesta a la luz también experimenta cambios dependiendo de la concentración de CO_2 (Fig. 13-16) y de la humedad del aire (Fig. 13-17). En situaciones naturales, siempre hay, al menos, algún factor que no presenta valores

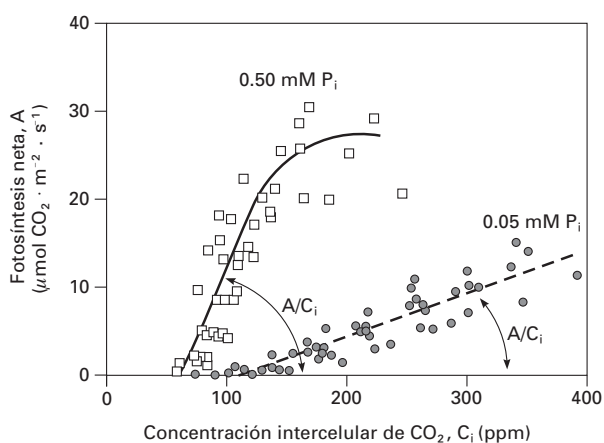


Figura 13-15. Curvas A/C_i de hojas de soja en condiciones de buen suministro (0.50 mM P_i) y deficiencia (0.05 mM P_i) de fósforo. (Adaptado de Larcher, 1995. *Physiological Plant Ecology*. Springer-Verlag.)

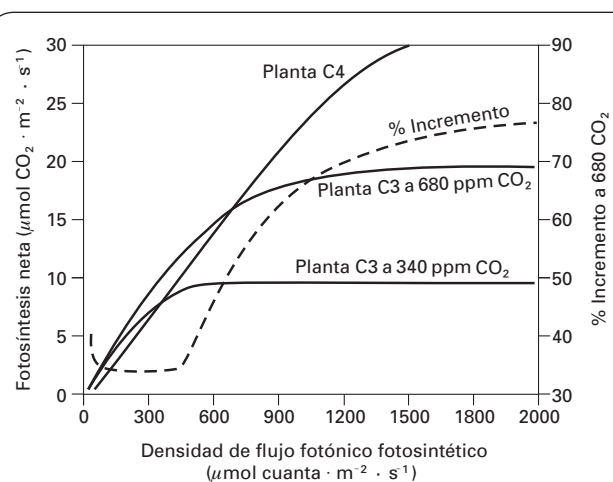


Figura 13-16. Respuestas de la fotosíntesis neta a la luz en plantas C_3 y C_4 , y su interacción con el CO_2 en la planta C_3 .

óptimos y limita la tasa de fotosíntesis (**factor limitante**). De hecho, es difícil que todos los factores de los que depende la fotosíntesis presenten, a la vez, valores favorables, de forma que normalmente la tasa de fotosíntesis es muy inferior a la capacidad fotosintética, hasta el punto de que los valores máximos diarios no suelen superar un 80% de esta capacidad máxima.

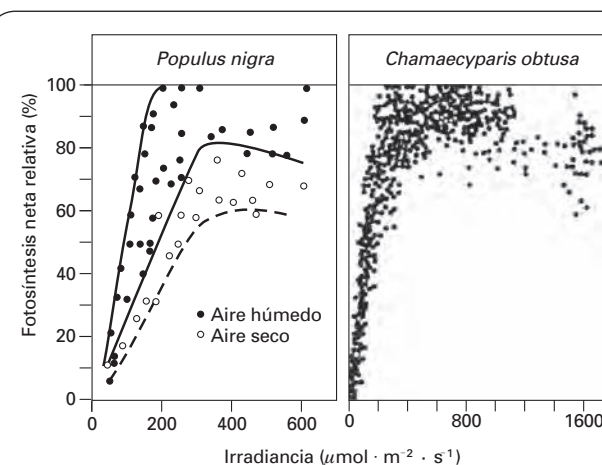


Figura 13-17. Respuesta de la fotosíntesis neta a la luz en diferentes condiciones meteorológicas. Figura de la izquierda: en días nublados con aire húmedo, los valores de la fotosíntesis neta en hojas de *Populus nigra* son superiores a los que se obtienen con la misma irradiancia (densidad de flujo fotónico fotosintético) en días claros con aire seco. Figura de la derecha: el calentamiento de las zonas asimiladoras de *Chamaecyparis obtusa* por la irradiación intensa genera un fuerte gradiente de presión de vapor de agua en relación con el aire exterior, lo que produce un estrés hídrico y una mayor dispersión de las medidas de fotosíntesis a valores altos de irradiancia. (Adaptado de Larcher, 1995. *Physiological Plant Ecology*. Springer-Verlag.)

Como consecuencia de ello, los valores obtenidos en situaciones naturales no adquieren una forma tan definida como en el laboratorio, y las curvas conocidas aparecen más bien como límites de la nube de puntos que forman los resultados (Fig. 13-17). Es más, los factores naturales no sólo interactúan, sino que son interdependientes: por ejemplo, una curva de respuesta a la luz medida en condiciones naturales implica un sobrecalentamiento de las hojas con los niveles más altos de radiación luminosa, por lo que en vez de obtenerse una curva de saturación como en el laboratorio, aparece más bien una curva con un óptimo de luz a partir del cual la fotosíntesis vuelve a decrecer a causa del sobrecalentamiento y del estrés hídrico que éste llega a producir (Fig. 13-17).

En este sentido, para interpretar correctamente las observaciones realizadas en condiciones naturales es importante determinar qué factor o factores están limitando la fotosíntesis en unas condiciones dadas. Así, el **déficit hídrico** es el mayor factor de limitación, aunque con distinta importancia en las plantas C3, C4 y CAM; pero en las latitudes intermedias, el factor de limitación más frecuente es la **luz**, debido a la presencia de nubes y al pequeño ángulo con que incide el sol buena parte del año. Las **bajas temperaturas** suelen limitar la fotosíntesis en los otoños e inviernos de los climas templados, mientras que el **excesivo calor** sólo suele ser importante en las zonas áridas y tropicales.

7. FOTOSÍNTESIS Y CAMBIO CLIMÁTICO

7.1. El aumento del CO₂ atmosférico puede producir una aclimatación de la fotosíntesis

Las actividades humanas como el transporte, la industria, la deforestación, la agricultura, etc., están provocando un aumento de la concentración atmosférica de CO₂ (a razón de casi 2 ppm por año) y de otros gases «invernadero» (metano, etc.). Debido a que estos gases de efecto invernadero tienen un período de permanencia en la atmósfera muy prolongado (de décadas a siglos), se produce una acumulación de ellos en la atmósfera (Karl y Trenberth, *Science*, 302:1719-1723, 2003). La acumulación de estos gases tiende a calentar la atmósfera, lo que puede conducir, a la larga, a cambios regionales e incluso globales del clima que afectarán a parámetros como la temperatura, las precipitaciones, la humedad del suelo y el nivel del mar. Las previsiones del Panel Intergubernamental de Expertos en el Cambio Climático (IPCC), basadas en complejos modelos climáticos, indican que la temperatura media de la superficie del planeta y el nivel del mar podrían aumentar de 1.8 a 4 °C y de 18 a 59 cm, respectivamente, en torno al año 2100. Además, el IPCC ha desarrollado una serie de escenarios posibles en los que se prevé la concentración futura de CO₂ atmosférico, estimando que en el año 2100 la

concentración de CO₂ atmosférico podría llegar a alcanzar, aproximadamente, las 700 ppm, lo que supone un incremento cercano a 325 ppm respecto a los niveles de CO₂ actuales (de aproximadamente 375 ppm).

Aún no se conoce bien cómo afectarán los cambios de CO₂, temperatura y régimen hídrico a los ecosistemas terrestres, y en particular a las plantas, pero la cuestión es crucial, ya que la vegetación y los bosques pueden asumir un papel fundamental en la mitigación de los efectos del cambio climático, dada su gran capacidad de absorción de CO₂ mediante la fotosíntesis. Se sabe que un aumento del CO₂ produce un incremento inmediato de la tasa de fotosíntesis, especialmente en las plantas C3 (véanse los apartados 2.4 y 7.2 y las Figs. 13-2 y 13-3), puesto que el CO₂ es el sustrato principal de la rubisco (véase el Capítulo 11). Sin embargo, cuando las plantas crecen continuamente en atmósferas con un CO₂ elevado, tienen lugar una serie de cambios bioquímicos que disminuyen la capacidad fotosintética de la hoja, de manera que los grandes incrementos iniciales de la fotosíntesis debido a atmósferas con un alto contenido en CO₂ no suelen mantenerse tan elevados cuando pasan semanas o meses. Este fenómeno se conoce con el nombre de **aclimatación de la fotosíntesis**. En este caso, la pendiente inicial de la curva A/C_i suele ser menor en las plantas crecidas en ambientes con elevado CO₂, lo cual es indicativo de que la actividad y el contenido de la rubisco han disminuido (véase el apartado 2.4). La aclimatación a largo plazo de la fotosíntesis al CO₂, que no permite que las plantas puedan expresar al máximo su potencial fotosintético, se ha relacionado con la acumulación de carbohidratos y la reducción de la concentración de enzimas fotosintéticas clave, como la rubisco, que frecuentemente se observan en hojas crecidas con elevado CO₂. En consecuencia, estas hojas presentan una reducción del contenido en N (que oscila entre 5-15%) y un aumento de la relación C/N (sobre todo debido a la acumulación de carbohidratos no estructurales). Esta regulación a la baja (*down-regulation*) de la fotosíntesis aumenta con la duración del período de exposición al CO₂, y se hace más pronunciada cuando las plantas crecen con niveles limitantes de nutrientes (nitrógeno, fósforo, etc.), o cuando tienen sumideros de carbohidratos de tamaño insuficiente para acoger el exceso de fotoasimilados, aunque raramente la tasa de fotosíntesis debida al elevado CO₂ disminuye hasta el extremo de alcanzar las tasas de fotosíntesis iniciales a CO₂ actual.

En principio, la reducción de la capacidad fotosintética, básicamente debida a la disminución de la cantidad de rubisco y de su actividad, parece estar asociada a una reducción de la expresión génica de genes fotosintéticos específicos o de productos génicos como respuesta al incremento de carbohidratos no estructurales, y en particular de azúcares (hexosas). Este aumento de la cantidad de hexosas se produce principalmente en el momento en que la capacidad de la fotosíntesis excede la de exportación y utilización de carbohidratos de la célula. Además, estudios recientes que han intentado dilucidar el mecanismo molecular de la aclimatación de la fotosíntesis

sugieren que la enzima hexoquinasa (que fosforila las hexosas para generar sacarosa) podría estar involucrada en reprimir la expresión transcripcional o transduccional de genes fotosintéticos, como la pequeña subunidad de la rubisco, o bien interferir en el ensamblaje de las subunidades de la rubisco (véase el Capítulo 11), lo que podría explicar la disminución de las enzimas fotosintéticas, y por lo tanto el fenómeno de la aclimatación. Se especula que este mecanismo «sensor» de azúcares también podría desempeñar un papel en la aclimatación de la fotosíntesis a otros factores ambientales, como la luz, el suministro de N y el estrés hídrico. Sin embargo, otros estudios apuntan a que la aclimatación a la baja de la fotosíntesis sólo se debe a la reducción no selectiva del contenido de nitrógeno y, por tanto, a la disminución del contenido de rubisco, que provocaría una reducción de la capacidad de fotosíntesis (Long y cols., *Annual Review of Plant Biology* 55: 591-628, 2004).

7.2. Los vegetales como sumideros de carbono: importancia de la fotosíntesis en el ciclo del carbono

Debido a la aclimatación de la fotosíntesis, cabría esperar que las altas tasas de fotosíntesis con elevado CO_2 sólo se mantendrían si no existiera limitación alguna por sumideros y nutrientes (como por ejemplo de nitrógeno, que podría acelerar aún más la aclimatación de la fotosíntesis), aunque esta situación es bastante excepcional en las plantas crecidas en condiciones naturales. Sin embargo, aún puede esperarse un cierto aumento global de la fotosíntesis en una atmósfera futura con elevado CO_2 (aunque menos que si no hubiera aclimatación), lo que en conjunto hace que las plantas actúen como **sumideros biológicos** del CO_2 emitido en exceso a la atmósfera.

Es decir, los ecosistemas terrestres vegetales tienen la capacidad de retener cada año aproximadamente la mitad del CO_2 emitido a causa de actividades antropogénicas. Sin embargo, la capacidad potencial de los ecosistemas para retener el CO_2 atmosférico no sólo depende de la fotosíntesis que haga de manera global el ecosistema (captación de CO_2 atmosférico), sino también de la respiración (liberación de CO_2 a la atmósfera). Así, la captación neta de carbono de los ecosistemas depende del balance neto entre la fotosíntesis y la respiración en el tiempo, ya que aproximadamente la mitad del CO_2 fijado por la fotosíntesis es liberado después por la respiración (véase el Cap. 14). Esta capacidad de los ecosistemas vegetales para actuar como sumidero biológico potencial se conoce con el nombre de **secuestro de carbono**, y se define como la acumulación a largo plazo de carbono en la biosfera, de manera que no es liberado inmediatamente a la atmósfera.

Por tanto, en el contexto del cambio climático, la vegetación no debe ser considerada únicamente un elemento estático o estético de un paisaje, o reconocida sólo por su contribución al mantenimiento de la biodiversidad: ha de ser valorada también por su contribución clave al mantenimiento de los delicados equilibrios de la atmósfera de nuestro planeta. No obstante, pese a que este potencial «sumidero» biológico está mitigando la tasa de acumulación de carbono en la atmósfera, su magnitud y sostenibilidad son inciertas (Schimel y cols., *Nature* 414:169-172, 2001), puesto que el equilibrio entre la biosfera y la atmósfera está siendo alterado por las enormes emisiones de dióxido de carbono y de otros gases invernadero procedentes de las actividades humanas, que provocarán con toda seguridad un cambio climático global de consecuencias no del todo previsibles. La conservación de la vegetación, especialmente de los bosques, puede ser vital para amortiguar la magnitud de este cambio climático en un mundo futuro con elevado CO_2 .

RESUMEN



- En este capítulo hemos estudiado la integración de la fotosíntesis en el medio siempre cambiante en que tiene lugar.
- Hemos visto cómo responde al CO_2 , a la luz, a la temperatura y a los nutrientes minerales, y de qué manera se acomodan las diferentes especies a los niveles de estos parámetros que predominan en su ambiente natural.
- También hemos puesto de relieve el hecho de que, en condiciones naturales, todos estos parámetros (y otros como la humedad y la disponibilidad hídrica) actúan al mismo tiempo sobre la fotosíntesis, interactuando entre sí, de forma que es importante identificar cuál o cuáles de ellos están determinando realmente la tasa fotosintética en cada momento, en un medio cambiante.
- Finalmente, se ha considerado la posibilidad de una aclimatación a la baja de la fotosíntesis en una atmósfera futura con elevado CO_2 , y la importancia de los ecosistemas vegetales en la mitigación del aumento del CO_2 atmosférico.



PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1 Una hoja presenta una tasa de fotosíntesis neta de $20 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ en condiciones de CO_2 ambiental ($C_a = 380 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{mol}^{-1}$ aire), con una conductancia total al vapor de agua (g_w) de $0.32 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Calcule: a) el CO_2 intercelular (C_i) en las condiciones descritas, y b) la variación del C_i cuando la tasa de fotosíntesis neta se reduce un 10 % y se cierran parcialmente los estomas debido a un ligero estrés hídrico ($g_w = 0.288 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$).
- 2 Describa las principales partes de una curva de respuesta de la fotosíntesis neta al CO_2 intercelular (curva A/ C_i).
- 3 Parte de la energía luminosa absorbida por el PSII es reemitida en forma de fluorescencia. ¿Cómo puede utilizarse esta emisión para obtener información sobre las restantes vías de disipación de la energía?
- 4 ¿Qué factores afectan a la respuesta de la fotosíntesis neta a la temperatura?
- 5 ¿De qué manera puede reflejarse en una curva A/ C_i de una hoja un cambio en la nutrición nitrogenada de la planta?
- 6 En condiciones naturales, ¿qué importancia tienen las interacciones entre factores que afectan a la fotosíntesis?
- 7 ¿Cuáles son los procesos fisiológicos que están implicados en la captación neta de carbono por los ecosistemas vegetales? ¿Cree que la capacidad de secuestrar carbono de los ecosistemas vegetales, es ilimitada y también su contribución a la mitigación del aumento de CO_2 ?



RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1 a) $C_i = 280 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ aire o ppm CO_2 ; b) El C_i no varía debido a que la tasa de fotosíntesis neta (A) y la conductancia de la hoja se reducen en la misma proporción (véase el apartado 2.2).
- 2 Las principales partes de la curva A/ C_i son: a) el punto de compensación de CO_2 (Γ), que es aquella concentración de CO_2 en la que la fotosíntesis neta (A) es igual a cero (punto de corte de la curva con el eje de abscisas), de manera que la tasa de fotosíntesis bruta iguala la tasa conjunta de producción de CO_2 por fotorrespiración y respiración y, por tanto, estas tasas se compensan. El valor de Γ es de 35-45 ppm de CO_2 para las hojas de plantas C3, y de 0-5 ppm para las hojas de plantas C4, a 20-25 °C; b) pendiente inicial de la curva, donde A está limitada por la actividad de la rubisco, y c) zona de saturación de la curva, donde A está limitada por la tasa de regeneración de RuBP, ya sea por restricciones impuestas por la velocidad de transporte electrónico fotosintético (que depende de la cantidad de luz que recibe la hoja), o por la tasa de utilización de las triosas-fosfato (véase el apartado 2.4).
- 3 La emisión de fluorescencia en hojas adaptadas a la oscuridad o a la luz se estudia mediante pulsaciones de iluminación intensa que provoquen niveles de fluorescencia máxima en cada estado; de esta manera se puede calcular la parte de energía disipada en forma de calor en la antena y la que da lugar a un transporte electrónico (vía fotoquímica), así como el estado de reducción de los centros de reacción del PSII (véase el apartado 3.4).
- 4 La respuesta de la fotosíntesis neta a la temperatura básicamente depende de las respuestas individuales de la fotosíntesis bruta, la fotorrespiración y la respiración (véase la Fig. 13-12; véase también el Capítulo 14). Un factor condicionante diferencial de las plantas C3 y C4 es la fotorrespiración, ya que su ausencia en las plantas C4 favorece que el punto óptimo de la fotosíntesis neta tenga lugar a temperaturas más altas (véase la Fig. 13-13). De forma similar, el punto óptimo de la fotosíntesis se desplaza a temperaturas más altas en las plantas C3 cuando se inhibe la fotorrespiración con un CO_2 elevado (véanse las Figs. 13-12 y 13-14). Por otra parte, los puntos característicos de la curva ($T_{\text{mín}}$, $T_{\text{ópt}}$, $T_{\text{máx}}$) también se ven influidos por el ambiente térmico en que ha crecido la planta, o por el ambiente en el que la especie se desenvuelve normalmente, a través de adaptaciones a largo plazo de la fotosíntesis y de la respiración (véanse el apartado 4 y el Capítulo 14).

RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES (Cont.)



Por otra parte, la enzima potencialmente más afectada por la temperatura elevada sería la rubisco, tanto por su sensibilidad a los cambios de afinidad y solubilidad de sus sustratos (CO_2 y O_2), como por su propia desactivación debida a la reducida termostabilidad de la rubisco activasa.

- 5 Un cambio de nutrición nitrogenada puede dar lugar a cambios de la pendiente inicial de la curva, así como de la zona de saturación. Un aumento de la concentración de nitrógeno en la hoja normalmente se reflejará en unos niveles mayores de rubisco, con lo cual la pendiente inicial de la curva A/C_i será mayor, y también en un aumento en el contenido de

proteínas de transporte de electrones y de clorofilas, por lo que en la zona de limitación por regeneración de RuBP (limitación por luz) la capacidad fotosintética aumentará (véanse los apartados 2.4 y 2.5).

- 6 En condiciones naturales, no encontramos un único factor que esté actuando sobre la fotosíntesis, sino que lo hacen todos a la vez, de forma que al menos uno de ellos está limitando la tasa de fotosíntesis. Además, algunos de estos factores son dependientes unos de otros (por ejemplo, la temperatura suele aumentar con la intensidad de la luz), por lo que la influencia será compleja (véase el apartado 6).
- 7 Véase el apartado 7.2.

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA



1. Drake BG, Gonzalez-Meler MA, Long SP. More efficient plants: a consequence of rising atmospheric CO_2 ? *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 1997; 48:609-639.
2. Gil F. *Elementos de Fisiología Vegetal*. Madrid, Ediciones Mundi-Prensa, 1995.
3. Lambers H, Chapin FS III, Pons TL. *Plant Physiological Ecology*. New York, Springer-Verlag, 1998.
4. Larcher W. *Physiological Plant Ecology*, 4ª ed. New York, Springer Verlag, 2003.
5. Long SP, Humphries S, Falkowski PG. Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 1994; 45:633-662.
6. Long SP, Ainsworth EA, Rogers A et al. Rising atmospheric carbon dioxide: plants FACE the future. *Annual Review of Plant Biology* 2004; 55:591-628.
7. Lüttge U, Kluge M, Bauer G. *Botánica*. Madrid, McGraw-Hill/Interamericana, 1993; 397-439.
8. Moreno JM, Oechel WC (eds.). *Global Change and Mediterranean-type Ecosystems*. Ecological Studies 117. New York, Springer-Verlag, 1995.
9. Nobel PS. *Physicochemical and Environmental Plant Physiology*. San Diego, Academic Press Inc., 1991.
10. Reigosa MJ, Pedrol N, Sánchez-Moreiras A (eds.). *La Ecofisiología Vegetal. Una Ciencia de Síntesis*. Madrid, Thomson Paraninfo, 2003.
11. Sharkey TD. Fotosíntesis. Absorción y utilización del dióxido de carbono en un contexto ecológico. En: *Fisiología y Bioquímica Vegetal*. Azcón-Bieto J, Talón M (eds.). Madrid, McGraw-Hill/Interamericana, 1993; 135-147.
12. Schulze ED, Caldwell MM (eds.). *Ecophysiology of Photosynthesis*. Ecological Studies 100. New York, Springer-Verlag, 1995.
13. Schulze ED, Beck E, Müller-Hohenstein K. *Plant Ecology*. New York, Springer Verlag, 2002.
14. Wilkinson RE (ed.). *Plant-Environment Interactions*. New York, Marcel Dekker Inc., 1994.

La respiración de las plantas

MIQUEL RIBAS-CARBÓ, IGOR DELFÍN FLÓREZ-SARASA Y MIQUEL ÁNGEL GONZÁLEZ-MELER



1. Introducción. 2. Vías metabólicas. 3. Regulación de la respiración. 4. Respiración a nivel de planta entera.

1. INTRODUCCIÓN

La respiración vegetal es el conjunto de reacciones celulares mediante las cuales los carbohidratos sintetizados mediante la fotosíntesis son oxidados a CO_2 y H_2O , y la energía liberada es transformada mayoritariamente en ATP. Los lípidos y las proteínas también pueden ser oxidados, aunque por lo general, en menor medida que los carbohidratos, que son los principales sustratos respiratorios de las plantas. La energía obtenida a través de la respiración, almacenada en forma de ATP, es utilizada para el crecimiento de los órganos vegetales y de la planta, el mantenimiento de las estructuras existentes, el transporte de metabolitos e iones, la regeneración de proteínas y los procesos de reparación. Además de la síntesis de ATP, la respiración genera toda una serie de compuestos de carbono intermediarios que son precursores de la síntesis de aminoácidos y compuestos nitrogenados derivados (véanse los Capítulos 15, 16 y 17), ácidos grasos y glicerol (véase el Capítulo 1), porfirinas (clorofila, citocromos, etc.; véanse los Capítulos 6 y 9), pigmentos carotenoides y flavonoides (véanse los Capítulos 9 y 17), compuestos fenólicos para la síntesis de lignina (véanse los Capítulos 1 y 17), y polisacáridos para la síntesis de la pared celular (véase el Capítulo 1).

El conjunto de reacciones que conforman la respiración comprende la glucólisis, la vía de oxidación de las pentosas fosfato, la β -oxidación de los ácidos grasos, el ciclo de los ácidos tricarbóxicos, la oxidación del poder reductor (principalmente NADH) por la cadena respiratoria mitocondrial y la fosforilación oxidativa de ADP para la génesis de ATP. En este capítulo se abordan las reacciones que componen la respiración de azúcares y ácidos grasos, su regulación, su interacción con otras vías de síntesis, la respiración de la

planta entera y los efectos causados por los cambios ambientales sobre ella.

2. VÍAS METABÓLICAS

Las vías metabólicas de la respiración de los carbohidratos pueden dividirse en cuatro etapas: la primera etapa comprende la **degradación del almidón y la sacarosa** obtenidos durante la fotosíntesis, para formar fructosa-6-fosfato. En una segunda etapa, la fructosa-6-fosfato es fosforilada a fructosa-1,6-bisfosfato, la cual es oxidada hasta piruvato a través de la vía glucolítica. En una tercera etapa, el piruvato entra en la mitocondria, donde es oxidado hasta CO_2 por medio del ciclo de Krebs o ciclo de los ácidos tricarbóxicos, produciéndose la mayor parte del NADH mitocondrial. En la cuarta etapa, el NADH es finalmente utilizado por la cadena de transporte electrónico mitocondrial para producir ATP. Asimismo, la vía de las pentosas fosfato complementa la vía glucolítica utilizando la glucosa-6-fosfato como sustrato para dar lugar a fructosa-6-fosfato y gliceraldehído-3-fosfato, ambos intermediarios de la vía glucolítica. Por otro lado, los ácidos grasos pueden utilizarse como sustratos respiratorios a través de la β -oxidación, obteniéndose acetil-CoA, que puede entrar en el ciclo de Krebs o en el ciclo del glioxilato.

2.1. El almidón es la reserva de carbono más importante como fuente energética

El almidón es el producto de reserva de carbohidratos más importante de toda la planta y se almacena en forma de gránulos

insolubles en determinados plastos o plastidios (cloroplastos y amiloplastos). Su síntesis en los cloroplastos se lleva a cabo mediante el proceso de la fotosíntesis (véase el Capítulo 11), y su estructura química es compleja y ramificada. El **almidón** está formado por unidades **amilosa**, moléculas de glucosa unidas linealmente mediante enlaces $\alpha(1-4)$, y **amilopectina**, moléculas de glucosa unidas linealmente mediante enlaces $\alpha(1-4)$ con ramificaciones formadas por enlaces $\alpha(1-6)$ (Fig. 14-1). Por su compleja estructura, la degradación del almidón debe llevarse a cabo mediante un conjunto de reacciones en las que cooperan diferentes enzimas. Las principales enzimas encargadas de la degradación del almidón son tres: la α -amilasa, la β -amilasa y la almidón fosforilasa, a las que hay que añadir las enzimas desramificantes. En la Figura 14-1 se muestran los puntos de ataque de las diferentes enzimas.

La α -**amilasa** es la única enzima que puede atacar los gránulos intactos de almidón para hidrolizar enlaces $\alpha(1-4)$ a discreción, pero no puede degradar los enlaces formadores de ramificaciones $\alpha(1-6)$ ni los enlaces $\alpha(1-4)$ cercanos a es-

tos. La β -**amilasa** degrada cadenas de glucosas inicialmente degradadas por la α -amilasa y enlaces $\alpha(1-4)$, pero a partir de los extremos no reductores. Al igual que la α -amilasa, la β -amilasa tampoco puede romper los enlaces ramificantes $\alpha(1-6)$. Las α y β -amilasas producen α y β -maltosa, respectivamente. La maltosa es un disacárido compuesto de dos moléculas de glucosa unidas por un enlace $\alpha(1-4)$, que se hidroliza rápidamente a dos moléculas de glucosa mediante la α -glucosidasa. La **almidón fosforilasa** también inicia la degradación del almidón por el extremo no reductor, al igual que la β -amilasa. Sin embargo, el producto final de esta reacción produce glucosa-1-fosfato, en lugar de maltosa, mediante la siguiente reacción:



Este tipo de reacción se conoce como degradación fosforilante del almidón, y tiene lugar cuando la concentración de fosfato inorgánico en los plastidios es alta.

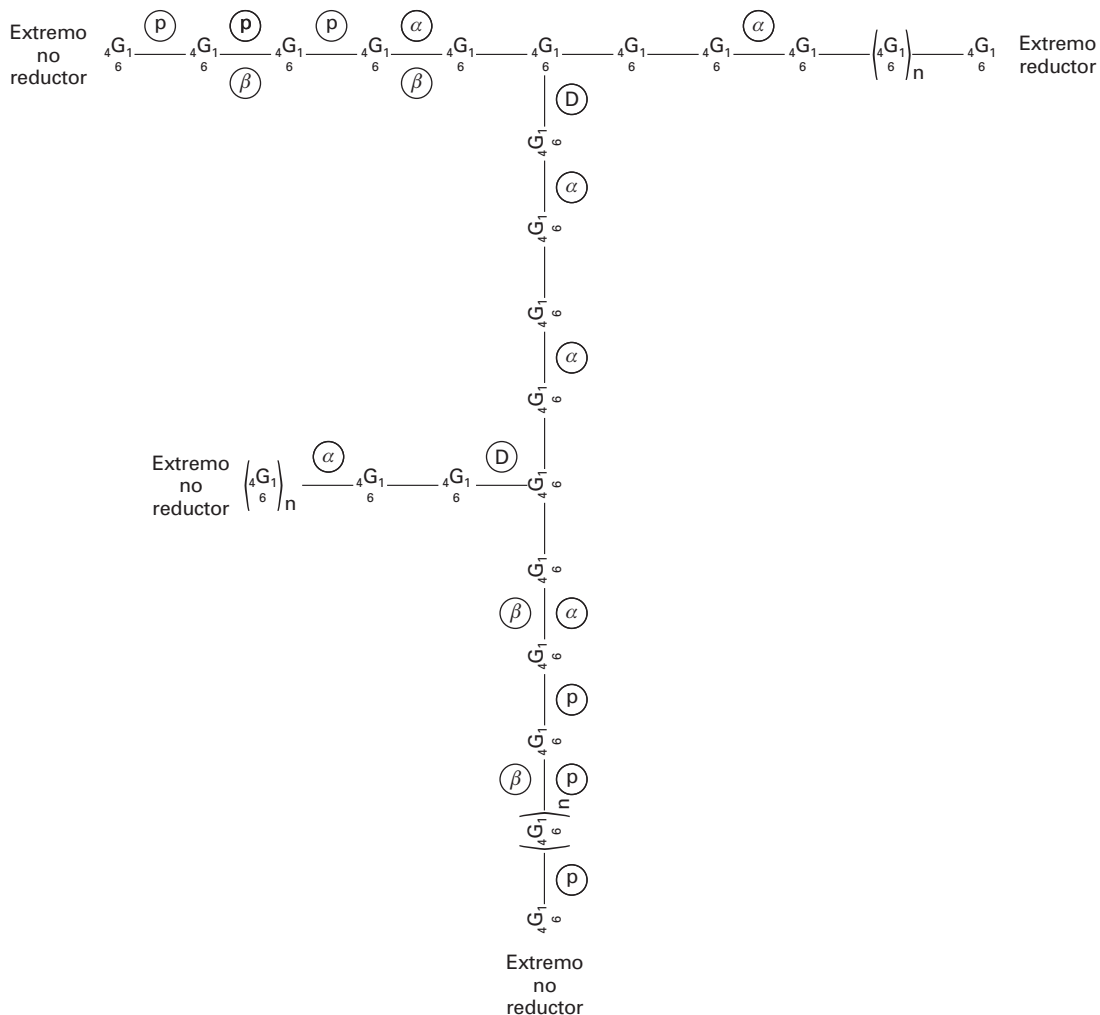


Figura 14-1. Ruptura de los enlaces entre las glucosas (G) que forman la molécula de almidón. Los números indican el carbono de unión a la siguiente molécula de glucosa. El extremo reductor termina con el carbono 1 libre, mientras que el extremo no reductor tiene el carbono 4 libre. Símbolos de enzimas: P, almidón fosforilasa; α , α -amilasa; β , β -amilasa; D, enzima desramificante.

Los enlaces ramificantes $\alpha(1-6)$ son específicamente degradados por la dextrinasa límite presente en los plastidios. Una vez rota la ramificación, las amilasas y las fosforilasas llevan a cabo la degradación final de la cadena lineal hasta la obtención de glucosa o glucosa-1-P (Fig. 14-1).

2.2. La conversión de hexosas hacia fructosa-6-fosfato es la primera etapa de la glucólisis

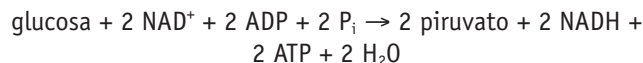
El producto final de la hidrólisis del almidón es la glucosa, pero éste no es el principal azúcar de transporte de la planta; el producto fotosintético más utilizado para el transporte de carbohidratos a través de la planta es la **sacarosa** (véase el Capítulo 5). La **sacarosa es un disacárido no reductor** compuesto por una molécula de glucosa y otra de fructosa; las reacciones que dan lugar a su síntesis se explican en el Capítulo 11 (véase también la Fig. 14-2). Para dar inicio al proceso de la respiración, la sacarosa debe ser inicialmente hidrolizada mediante una de las dos enzimas citosólica: a) la **invertasa** (1), o b) la **sacarosa sintasa** (2) (Fig. 14-2) (*Nota: véase la codificación internacional de las enzimas indicadas con un número entre paréntesis en el cuadro anexo al final del capítulo*).

Para que las hexosas provenientes del almacenamiento de carbono (almidón y sacarosa) sean metabolizadas por la vía glucolítica primero deben ser convertidas en **fructosa-6-fosfato** (véase el esquema general de la Fig. 14-3). La glucosa, que proviene de la hidrólisis del almidón y de la degradación de la sacarosa, se convierte en glucosa-6-fosfato mediante la acción de la **hexoquinasa** (3) (Fig. 14-2). Esta reacción requiere una molécula de ATP. La glucosa-1-fosfato, que proviene de la degradación fosforilante del almidón, se convierte en glucosa-6-fosfato por la acción de la **fosfoglucomutasa** (4). En este punto, la glucosa-6-fosfato se transforma en fructosa-6-fosfato mediante la enzima **hexosafosfato isomerasa** (5). La fructosa obtenida por la degradación de la sacarosa se fosforila por la **fructoquinasa** (6) para formar fructosa-6-fosfato. De esta manera, por cada hexosa que entra en la vía glucolítica se necesita una molécula de ATP. Esta molécula de ATP se recupera en las siguientes reacciones de la glucólisis. Sin embargo, durante la degradación fosforilante del almidón se produce glucosa-1-fosfato sin gasto de ATP, por lo que su conversión en fructosa-6-fosfato no requiere ATP. Así pues, la degradación fosforilante del almidón ofrece una cierta ventaja energética respecto de la degradación hidrolítica del almidón. Eventualmente, la glucosa-6-fosfato también puede ser convertida en 6-fosfogluconolactona, que es degradada por la vía de las pentosas fosfato como se describe en el apartado 2.4.

2.3. Las reacciones que componen la glucólisis tienen lugar en el citoplasma, y sus productos finales son los ácidos pirúvico y málico

Mediante la glucólisis, cada hexosa (monosacárido de seis carbonos) obtenida mediante la degradación de al-

midón y sacarosa se convierte en dos compuestos de tres carbonos (C3). La reacción global de la **glucólisis** es la siguiente:



Sin embargo, la glucólisis de las plantas también puede terminar en compuestos C4, como el **malato** (véase más adelante).

Una relación detallada de todas las reacciones involucradas en la glucólisis se encuentra en la Figura 14-2. Estas reacciones (7 a 15) tienen lugar en el citoplasma. El **piruvato** puede utilizarse posteriormente en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos (respiración aeróbica) (apartado 2.5), o en la fermentación anaeróbica (apartado 2.3.1). Tanto el malato como el piruvato son transportados hacia el interior de la mitocondria para formar parte del ciclo de Krebs.

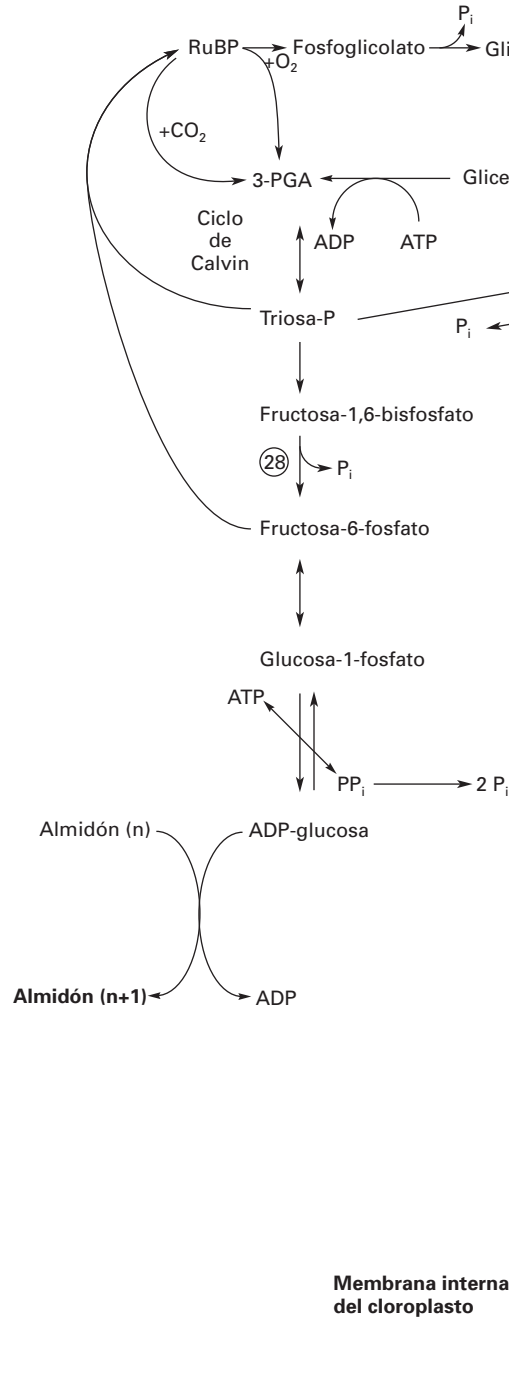
La reacción inicial de la glucólisis parte de la fructosa-6-fosfato que se obtiene de la degradación tanto del almidón como de la sacarosa (apartado 2.2). La fructosa-6-fosfato se convierte en fructosa-1,6-bisfosfato. Esta reacción puede ser llevada a cabo por dos enzimas diferentes: la **fosfofructoquinasa** (PFK) (7), que utiliza una molécula de ATP para llevar a cabo tal reacción de forma irreversible, y la **fosfofructofosfotransferasa** (PFP) (8), que interviene en una reacción reversible en la cual se transfiere fosfato inorgánico entre el pirofosfato (PP_i) y la fructosa-1,6-bisfosfato (Fig. 14-2).

La fructosa-1,6-bisfosfato aldolasa (9) rompe la fructosa-1,6-bisfosfato en dos partes y produce dos triosas-fosfato, la dihidroxiacetona fosfato (DHAP) y el gliceraldehído-3 fosfato (GAP), que pueden interconvertirse mediante la enzima **triosa-fosfato isomerasa** (10) (Fig. 14-2).

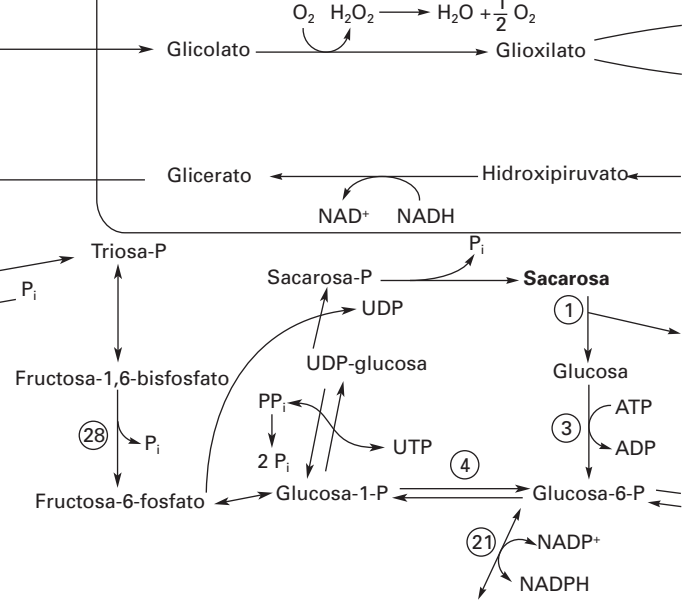
El gliceraldehído-3-fosfato es posteriormente oxidado a 1,3-bisfosfoglicerato mediante una **deshidrogenasa** (11) con la incorporación de una molécula de fosfato inorgánico. Esta reacción produce la síntesis de una molécula de NADH a partir de una de NAD^+ (Fig. 14-2).

El 1,3-bisfosfoglicerato se convierte en 3-fosfoglicerato (3-PGA) al perder un grupo fosfato para formar una molécula de ATP mediante la reacción reversible de la enzima **3-PGA quinasa** (12) (Fig. 14-2). La fosfoglicerato mutasa (13) transforma el 3-fosfoglicerato en 2-fosfoglicerato, el cual pasa a fosfoenolpiruvato (PEP) en una reacción reversible catalizada por la enzima **enolasa** (14). El fosfoenolpiruvato pierde el grupo fosfato para pasar a piruvato, produciéndose la síntesis de otra molécula de ATP mediante una segunda reacción de **fosforilación a nivel de sustrato**, catalizada por la enzima **piruvato quinasa** (15). Asimismo, el fosfoenolpiruvato se puede convertir en oxalacetato en el citosol por la enzima **fosfoenol-piruvato carboxilasa**, que utiliza bicarbonato como sustrato (16). La **malato deshidrogenasa** (17) citosólica reduce el oxalacetato produciendo **malato**, el cual se puede considerar como el producto final de la glucólisis, al igual que el **piruvato**.

Cloroplasto



Peroxisoma



Citoplasma

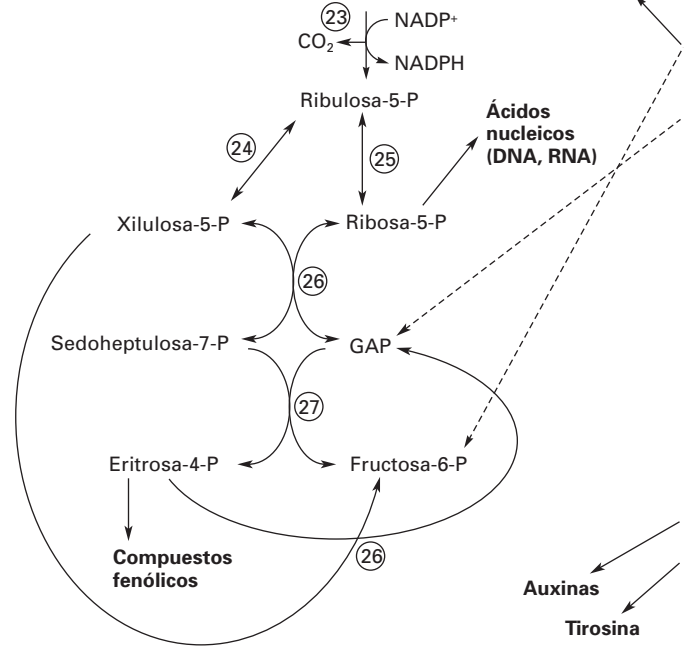
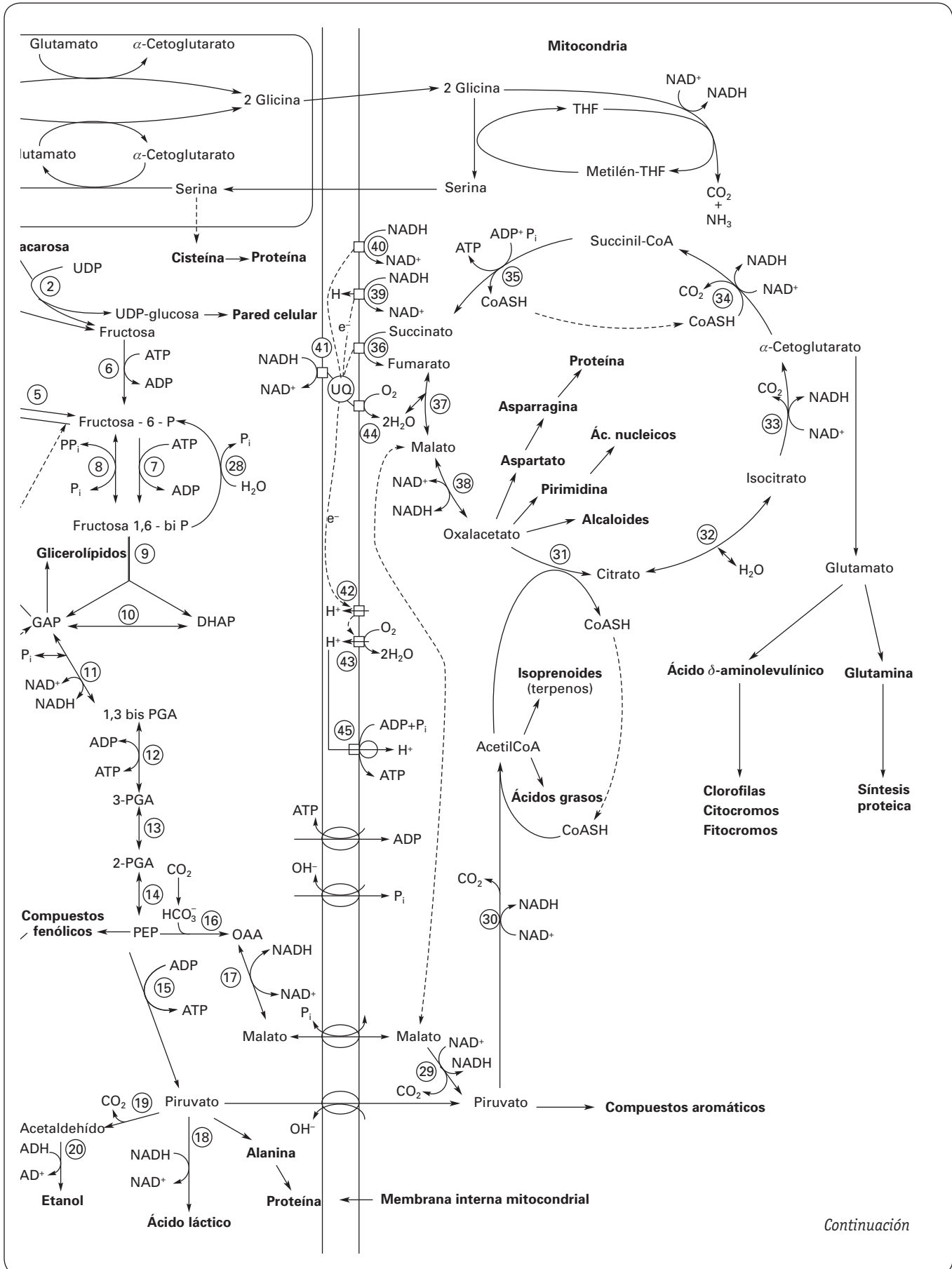
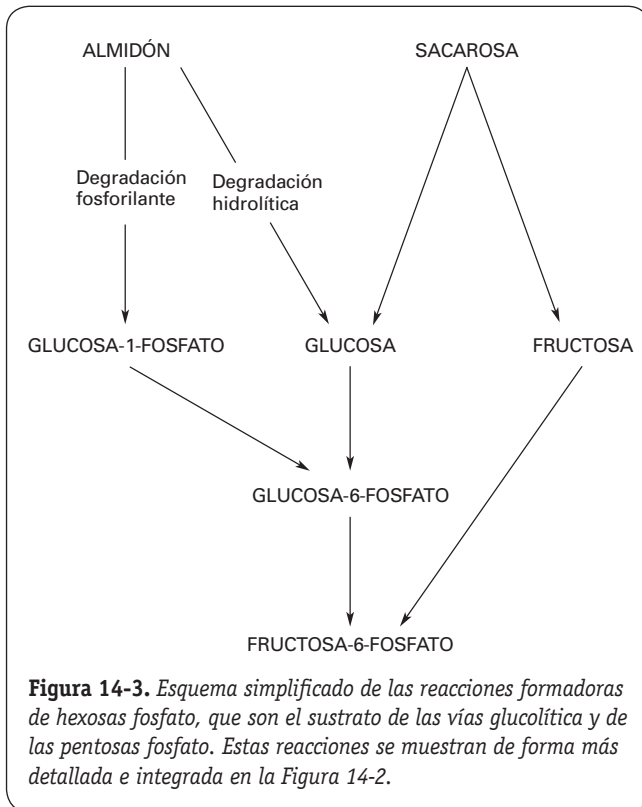


Figura 14-2. Esquema integrado del metabolismo respiratorio. Las enzimas involucradas en cada una de las reacciones están numeradas y aparecen descritas en la tabla del anexo. Las reacciones de cada vía son las siguientes: formación de hexosas-fosfato: 1-6. Glucólisis: 7-15. Vía de las pentosas fosfato: 21-27. Ciclo de Krebs: 30-38. Cadena de transporte electrónico: 39-45 y 36. Las fórmulas de muchos compuestos pueden encontrarse en otros capítulos (11, 12, 17, etc.). En el caso del cloroplasto y de la mitocondria, sólo se muestra la membrana interna. La síntesis de ácidos grasos tiene lugar en los plastos o plastidios a partir del acetil-CoA (véase el Capítulo 1). La síntesis de isoprenoides o terpenos tiene lugar en el citoplasma a partir del acetil-CoA exportado desde la mitocondria, y también en los plastidios a partir de piruvato y GAP (estos precursores no se muestran en el esquema) (véase el Capítulo 17). Abreviaturas: CoASH: coenzima A; DHAP: dihidroxiacetona fosfato; GAP: gliceraldehído 3-fosfato; PGA: 3-fosfoglicerato; RuBP: ribulosa-1,5-bisfosfato; THF: tetrahidrofolato; UQ: ubiquinona.

Continúa



Continuación

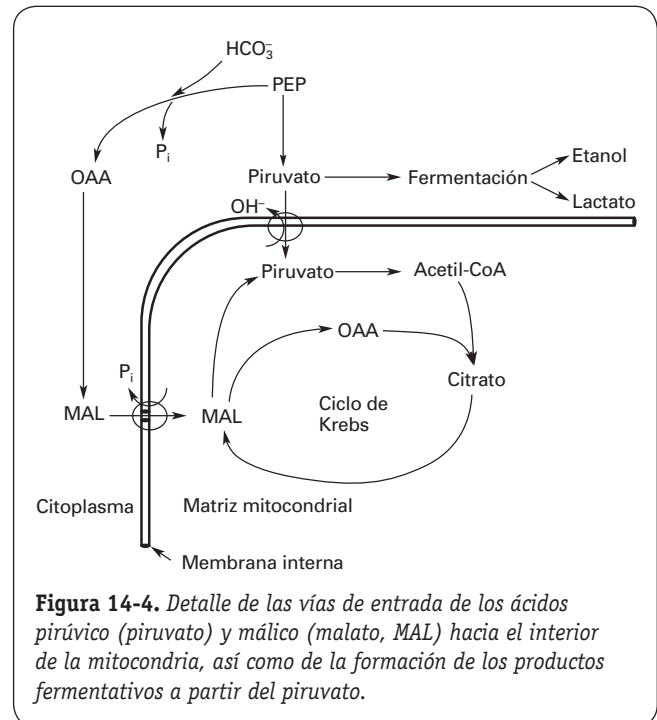


2.3.1. El metabolismo del ácido pirúvico viene determinado por la concentración de oxígeno

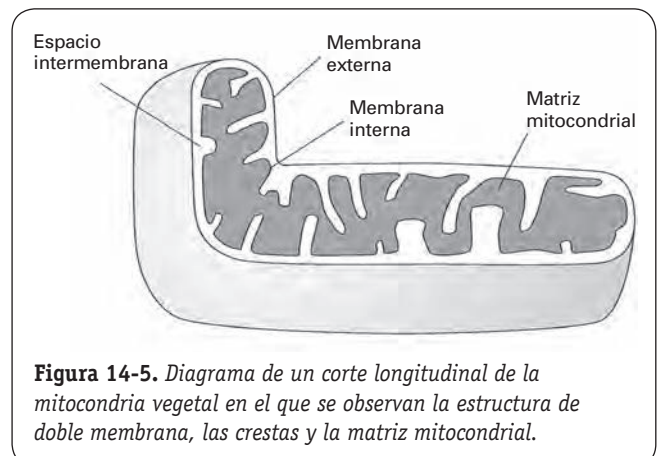
En condiciones aeróbicas normales, el ácido pirúvico es el sustrato principal del ciclo de Krebs que tiene lugar en la mitocondria. Sin embargo, en condiciones anaeróbicas (falta de oxígeno), el ácido pirúvico se metaboliza a través del proceso de la **fermentación**. La fermentación reduce el ácido pirúvico a ácido láctico por la lactato deshidrogenasa (18), o a etanol mediante las reacciones consecutivas de la piruvato descarboxilasa (19) y la alcohol deshidrogenasa (20), siendo la formación de etanol mayor que la de lactato. En ambos casos para llevar a cabo la reducción del ácido pirúvico se utiliza una molécula de NADH, con la consiguiente pérdida de eficiencia en la síntesis de ATP. A cambio se consigue mantener activa la vía glucolítica (véase el apartado 4.3.2).

2.3.2. El transporte de piruvato y malato al interior de la mitocondria es determinante para la regulación del metabolismo respiratorio

Los ácidos pirúvico y málico deben ser transportados desde el citosol al interior de la mitocondria (matriz) para poder ser utilizados por el ciclo de Krebs (Fig. 14-4). La **mitocondria** es un orgánulo citoplasmático delimitado por una doble



membrana (Fig. 14-5). La membrana externa es muy permeable al paso de iones y de metabolitos con masas moleculares inferiores a 6-10 kDa, debido a la presencia de **porina**, una proteína formadora de poro conocida también como canal aniónico dependiente de voltaje (VDAC). Sin embargo, la membrana interna es altamente impermeable, especialmente a los iones, y presenta un potencial de membrana asociado a un gradiente de protones (véase el apartado 2.7). Esta polarización de la membrana interna mitocondrial se utiliza para el transporte de piruvato y malato (entre otros iones) hacia la matriz mitocondrial, que se intercambian por sendas moléculas de OH⁻ y de P_i, respectivamente, mediante proteínas transportadoras específicas de la membrana interna de tipo antiporte (Fig. 14-4).



2.4. La vía de las pentosas fosfato es la principal fuente de NADPH en la respiración

La vía de las pentosas fosfato (reacciones 21 a 27) está estrechamente relacionada con la vía glucolítica y con la síntesis de ácidos nucleicos, antocianos, ligninas, etc. (Fig. 14-2) (véase el Capítulo 17). El sustrato inicial es la glucosa-6-fosfato, que se deshidrogena a 6-fosfogluconolactona mediante la **glucosa-6-fosfato deshidrogenasa** (21), al tiempo que se sintetiza NADPH a partir de NADP⁺. La enzima 6-fosfogluconolactonasa (22) transforma la 6-fosfogluconolactona en 6-fosfogluconato, molécula que es deshidrogenada por la 6-fosfogluconato deshidrogenasa (23), dando lugar a ribulosa-5-fosfato y a una molécula de NADPH. A partir de aquí existen dos vías paralelas que se entrecruzan. La ribulosa-5-fosfato puede ser transformada en xilulosa-5-fosfato por la enzima ribulosa-5-fosfato epimerasa (24), o en ribosa-5-fosfato por la ribulosa-5-fosfato isomerasa (25). La unión de ambas mediante una transcetolasa (26) da lugar a sedoheptulosa-7-fosfato y gliceraldehído-3-fosfato, y estas últimas moléculas se combinan mediante una transaldolasa (27), dando lugar a una molécula de eritrosa-4 fosfato y a otra de fructosa-6 fosfato. Finalmente, la eritrosa-4-fosfato puede participar en otra reacción de transcetolación (26) con la xilulosa-5-fosfato, produciéndose una molécula de gliceraldehído-3-fosfato y otra de fructosa-6-fosfato, compuestos ambos que también son intermediarios de la glucólisis (apartado 2.3).

En resumen, la vía de las pentosas fosfato genera NADPH, el cual es un donador de poder reductor para la síntesis de los ácidos nucleicos y para otros procesos de biosíntesis. Asimismo, esta vía proporciona intermediarios de la vía glucolítica y permite utilizar la glucosa-6-fosfato directamente como fuente de energía.

2.5. El ciclo de Krebs cumple dos funciones elementales: la síntesis de NADH y la formación de precursores de la síntesis de aminoácidos

En la Figura 14-2 se detallan todas las reacciones y enzimas que forman parte del ciclo de los ácidos tricarbónicos, o ciclo de Krebs (30 a 38). El ácido málico puede: a) pasar directamente a formar parte del ciclo de Krebs, o b) ser oxidado a ácido pirúvico mediante la acción de la **enzima málica mitocondrial** (29), dando lugar a una molécula de piruvato, una de CO₂ y una de NADH. El piruvato, obtenido en la vía glucolítica o a partir del ácido málico, es oxidado por la piruvato deshidrogenasa (30) para dar lugar a una molécula de acetil-CoA, una de CO₂ y una de NADH. La molécula de acetil-CoA se fusiona con una molécula de oxalacetato, proceso mediado por la enzima citrato sintasa (31), produciendo una molécula de ácido cítrico y liberando la coenzima A (CoA, CoASH). A continuación, el citrato pasa a isocitrato

por medio de la aconitasa (32). El isocitrato es oxidado a ácido α -cetoglutárico por la isocitrato deshidrogenasa (33), liberando una molécula de CO₂ y produciendo una molécula de NADH. El isocitrato vuelve a reducirse por la acción de la α -cetoglutárico deshidrogenasa (34), que le añade una molécula de CoA para formar succinil-CoA, una molécula de CO₂, y producir un NADH. La **succinil-CoA sintasa** (35) cataboliza el paso de succinil-CoA a succinato, sintetizando un ATP a partir de ADP y P_i, y liberando la molécula de CoA (es de destacar que la guanosina difosfato, o GDP, es el sustrato de la succinil-CoA sintasa en los animales superiores y, por tanto, se forma guanosina trifosfato o GTP). La **succinato deshidrogenasa** (36) oxida el succinato a fumarato. La peculiaridad de esta reacción es que es la única del ciclo de Krebs que se lleva a cabo en la membrana mitocondrial y que, a la vez, forma parte de la cadena de transporte electrónico mitocondrial (Complejo II). En esta reacción se reduce una molécula de ubiquinona (véase el apartado 2.6). La fumarasa (37) transforma el fumarato en malato en una reacción reversible. Finalmente, y para cerrar el ciclo, la malato deshidrogenasa (38) convierte el malato en oxalacetato.

En resumen, mediante el ciclo de los ácidos tricarbónicos una molécula de ácido pirúvico se convierte en tres moléculas de CO₂, cuatro moléculas de NADH y una molécula de ATP, además de reducirse una molécula de ubiquinona.

2.6. Mediante el transporte electrónico mitocondrial se consigue un gradiente protónico que permitirá la síntesis de ATP

La principal función de la cadena de transporte electrónico es convertir el poder reductor, en forma de NADH y succinato, en moléculas de ATP para su posterior utilización en otras reacciones celulares (síntesis, transporte iónico, etc.). Para ello se utiliza el transporte electrónico que se produce a través de las diferentes proteínas insertadas en la membrana interna mitocondrial, para translocar protones (H⁺) contra gradiente desde la matriz al espacio que existe entre las membranas interna y externa (Fig. 14-6), incluyendo el espacio interior de las crestas mitocondriales (Fig. 14-5). Este gradiente protónico servirá, posteriormente, para llevar a cabo la síntesis de ATP (véase el apartado 2.6.1)

La cadena de transporte electrónico está formada por diversas proteínas redox que en su mayoría forman parte de grandes complejos proteicos insertados en la membrana, por lo que el transporte electrónico entre estos complejos se lleva a cabo mediante dos moléculas más móviles: la ubiquinona y el citocromo c. Las moléculas de NADH son oxidadas por las deshidrogenasas de NADH. En las mitocondrias de las plantas existen diversas **NADH deshidrogenasas**, pero sólo la sensible a la inhibición por rotenona, correspondiente al **complejo I** (39), está acoplada al transporte de protones al exterior de la membrana y, en consecuencia, acoplada a la síntesis de ATP. Las NADH deshidrogenasas adicionales que

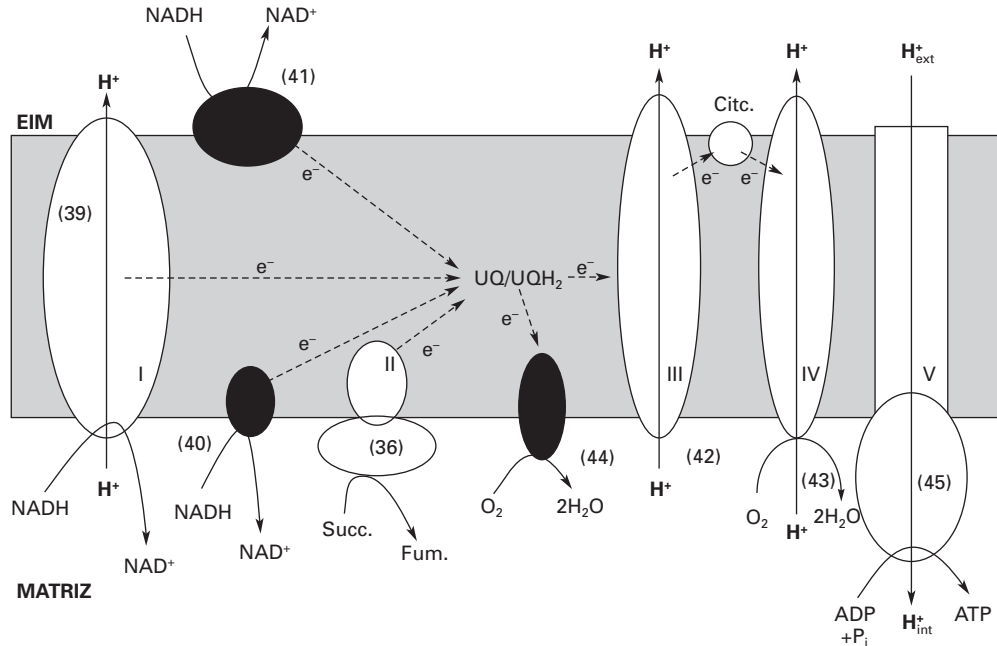


Figura 14-6. Esquema de la cadena de transporte electrónico en la membrana interna mitocondrial. Las líneas discontinuas representan el movimiento de electrones, y las líneas continuas el movimiento de protones. Los números de cada enzima corresponden a la relación del anexo. La estequiometría del transporte de protones a través de los distintos complejos proteicos no se muestra en la figura. Abreviaturas: EIM: espacio intermembranoso; UQ/UQH₂: ubiquinona/ubiquinol.

oxidan el NADH de la matriz mitocondrial (40) o del citosol (41) sin bombeo de H⁺, se distinguen de la anterior por su resistencia a la rotenona. Tanto el complejo I (39) como las otras NADH deshidrogenasas alternativas (40-41) reducen la **ubiquinona** (UQ; Fig. 14-6), una pequeña molécula de naturaleza lipídica y funcionalmente análoga a la plastoquinona de la membrana tilacoidal (véanse los Capítulos 9 y 10).

La succinato deshidrogenasa (36), enzima que a la vez forma parte de la cadena respiratoria (**Complejo II**) y del ciclo de Krebs (véase el apartado 2.5), también reduce la molécula de ubiquinona mediante el FADH₂, su grupo prostético de naturaleza flavínica (par redox FAD/FADH₂). Sin embargo, el complejo II no actúa como bomba de protones a través de la membrana (Fig. 14-6) y, por tanto, no genera gradiente protónico.

Las moléculas de ubiquinona reducida (o **ubiquinol**, UQH₂) transfieren los electrones desde las deshidrogenasas a las vías que incluyen oxidasas terminales. En las plantas existen dos vías terminales de oxidación, la vía citocrómica y la vía alternativa. La **vía citocrómica** está compuesta por dos grandes complejos proteicos, el complejo **citocromo b/c₁** o complejo III (42) (el cual es análogo al complejo citocromo b₆/f de los tilacoides; véanse los Capítulos 9 y 10) y la **citocromo c oxidasa (COX)** o complejo IV (43), conectados funcionalmente por una pequeña proteína, el **citocromo c**. El complejo III oxida la ubiquinona reducida y reduce el citocromo c, mientras que el complejo IV oxida el citocromo c y reduce el oxígeno para formar agua. Ambos complejos, III y IV, bombean protones a través de la membrana interna mitocondrial (véase la Fig. 14-6), por lo que la energía aso-

ciada a este transporte electrónico será, finalmente, aprovechada para la síntesis de ATP (véase el apartado 2.6.1).

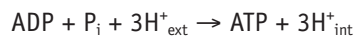
La **vía alternativa** recibe su nombre por ser alternativa a la **vía citocrómica**, con la que compite por los electrones del par redox ubiquinona/ubiquinol para reducir el oxígeno a dos moléculas de agua (Fig. 14-6). La vía alternativa está compuesta por una única enzima, la **oxidasa alternativa (AOX)** (44), la cual es un dímero formado por dos pequeñas subunidades proteicas iguales, de 30-36 kDa cada una. La AOX está codificada por el genoma nuclear, contiene un centro con hierro no hemínico en su estructura y se inserta en la membrana interna por la cara en contacto con la matriz mitocondrial, sin llegar a atravesar totalmente la membrana (Fig. 14-6). Su actividad *in vivo* se regula reversiblemente por oxidación/reducción de grupos -SH de residuos cisteína específicos, que están implicados en el establecimiento de un puente disulfuro intermolecular; éste también contribuye a la dimerización de las dos subunidades. Así, la AOX se activa cuando se encuentra en estado reducido y, por tanto, cuando el puente disulfuro no está formado. A diferencia de la COX, la AOX no es inhibida por el cianuro, la azida o el monóxido de carbono; es inhibida por el ácido salicilhidroxámico (SHAM), y no transporta protones hacia el espacio intermembranoso, por lo que la energía asociada a la oxidación de ubiquinol por la vía alternativa se pierde en forma de calor (véase el apartado 2.6.2).

Durante bastantes años se creyó que la vía citocrómica se favorecía termodinámicamente *in vivo*, mientras que la vía alternativa únicamente estaba activa cuando la vía citocrómica estaba saturada o inhibida. Pero se ha demostrado que las dos

vías compiten directamente por los electrones procedentes de la ubiquinona reducida. El piruvato es un fuerte estimulador metabólico de la actividad de la oxidasa alternativa, cuando la enzima está en estado reducido (Millenaar y Lambers, *Plant Biology* 5:2-15, 2003) (véase también el apartado 3.1).

2.6.1. La fosforilación oxidativa aprovecha el gradiente protónico para llevar a cabo la síntesis de ATP

La fuerza creada por los protones al volver a la matriz mitocondrial (**fuerza protón-motriz**), puede utilizarse para la síntesis de ATP. La llamada **fosforilación oxidativa** se basa en la reacción que materializa la síntesis de ATP a partir de ADP y fosfato inorgánico (P_i). La síntesis de ATP se lleva a cabo a través de la enzima **ATP sintasa** (tipo F_0F_1) (45), que es análoga a la de los cloroplastos (tipo CF_0CF_1 , véanse los Capítulos 9 y 10), y cuya reacción global es la siguiente:



Por tanto, se considera que por cada 3 H^+ translocados de la matriz mitocondrial al espacio intermembranoso (ext) durante el transporte de electrones, se producirá una molécula de ATP mediante la ATP sintasa (el sitio activo se encuentra en el componente F_1 , que está en contacto con la matriz mitocondrial), cuando estos protones retornan otra vez a la matriz (int) a través del poro formado por el componente F_0 de la propia ATP sintasa, el cual atraviesa la membrana interna. En la estequiometría correspondiente al proceso de síntesis de ATP debe considerarse la existencia de dos transportadores proteicos de la membrana interna, que aportan los sustratos ADP y P_i para que la ATP sintasa pueda fabricar el ATP. Los dos transportadores son: a) un antiporte que intercambia ATP que sale al citoplasma con ADP que entra en la matriz, y b) un antiporte que intercambia un P_i que entra en la matriz con un OH^- . Este sistema de transporte de ADP y P_i implica el transporte de un H^+ adicional hacia la matriz. Por tanto, en la estequiometría del proceso de síntesis de ATP el número total de protones devueltos a la matriz por ATP sintetizado (H^+/ATP) sería de cuatro.

La eficiencia de la cadena respiratoria se puede medir mediante el cociente o relación ADP/O, es decir, cantidad de moléculas de ADP convertidas en ATP por unidad de átomos de oxígeno consumidos. Como se necesitan 3-4 H^+ para la síntesis de 1 ATP a partir de 1 ADP + 1 P_i , y por cada NADH se translocan unos 10 H^+ por cada $\frac{1}{2} O_2$ consumido, el valor máximo del cociente ADP/O será aproximadamente 3. El cociente ADP/O es seguramente menor porque el NADH puede ser oxidado por las NADH deshidrogenasas alternativas internas o externas, evitándose el bombeo de protones por el complejo I (ADP/O de 2), o bien porque los electrones para reducir el oxígeno también pueden ser utilizados por la oxidasa alternativa evitando la translocación de protones por los complejos III y IV (ADP/O entre 0 y 1). Todos estos valores de la relación

ADP/O pueden disminuir en situaciones de estrés, que pueden perturbar la integridad de la membrana interna mitocondrial. En estas condiciones se favorecería el retorno del H^+ a través de proteínas desacopladoras (véase el apartado 3.1) o directamente a través de la membrana (por ejemplo, mediante la entrada de H^+ del espacio intermembranoso hacia la matriz a través de «agujeros» de la membrana).

2.6.2. Las plantas son resistentes al cianuro gracias a la existencia de una oxidasa alternativa mitocondrial cuya función todavía no ha sido claramente establecida

Una de las características diferenciales de la respiración de las plantas, en relación con la de los animales superiores, es su **resistencia al cianuro**. Esta propiedad significa que la mayoría de los tejidos vegetales siguen consumiendo oxígeno en la oscuridad en presencia del mencionado inhibidor de la citocromo c oxidasa (COX). Dicha característica se debe a la presencia de una enzima adicional en la cadena respiratoria mitocondrial, la **oxidasa alternativa** (AOX), que reduce el oxígeno a agua utilizando electrones provenientes de la ubiquinona reducida, o ubiquinol (véase el apartado 2.6). Por consiguiente, la oxidasa alternativa (AOX) coexiste con la COX sensible al cianuro en la misma membrana. Durante el transporte de electrones desde la ubiquinona reducida a la AOX no se produce bombeo de protones desde la matriz mitocondrial al espacio intermembranoso, de manera que la energía que se libera mediante el paso de electrones por la vía alternativa se pierde en forma de **calor** y no se puede aprovechar para la síntesis de ATP (véase el apartado 2.6.1). Por tanto, a diferencia de la vía citocrómica, la vía alternativa tiene una naturaleza «no fosforilante».

La función fisiológica de la oxidasa alternativa todavía no está bien establecida, y constituye un tema de intenso debate. La única función claramente aceptada por los investigadores está relacionada con la fisiología especial que presentan las flores termogénicas de algunas plantas, especialmente de la familia de las aráceas (p. ej., *Arum*). En un determinado momento crítico de la floración, el espádice empieza a respirar muy activamente (véase el apartado 4.2), consumiendo con rapidez la mayor parte de sus reservas, a través de la **vía alternativa**. Como consecuencia del calor generado en esta reacción se produce un gran aumento de la temperatura de este órgano floral, que llega a ser de 10-15 °C (o incluso más) por encima de la temperatura ambiente. Este notable incremento de la temperatura facilita, entre otras cosas, la volatilización de compuestos de intenso olor que atraen a los insectos polinizadores. Aparte de esta **función termogénica**, que es un caso muy particular en el mundo vegetal, actualmente se considera que en la mayoría de los tejidos la actuación de la oxidasa alternativa puede desempeñar un papel importante en la prevención del exceso de reducción de la cadena respiratoria y, como consecuencia,

de la formación de especies activadas del oxígeno (función antioxidante) (Maxwell y cols., *PNAS* 96: 8271-8276, 1999; Camacho y cols., *FEBS Letters* 570:52-56, 2004) (véase también el apartado 3.1).

2.7. Los lípidos en el metabolismo respiratorio

Los sustratos respiratorios en las plantas son mayoritariamente los carbohidratos; no obstante, en ciertas situaciones los lípidos también pueden metabolizarse para obtener energía y esqueletos carbonados para la síntesis de otros compuestos. El caso más estudiado es el de la germinación de las semillas oleaginosas. Estas semillas almacenan triglicéridos en forma de gotas lipídicas, que son degradadas mediante la acción de las enzimas lipasas, obteniéndose glicerol y ácidos grasos. Estos últimos son oxidados a unidades de acetil-CoA en la vía de la β -oxidación (véase el siguiente apartado). Durante la germinación de las semillas oleaginosas, el acetil-CoA producido en la β -oxidación entra en el **ciclo del glioxilato**, una modificación del ciclo de Krebs que tiene lugar en los glioxisomas, que permitirá formar precursores de cuatro carbonos (como el succinato) para sintetizar azúcares mediante el proceso de la gluconeogénesis (véase el Capítulo 27). Por otro lado, el glicerol, producto de la degradación de los triglicéridos, se convierte en triosas fosfato, contribuyendo también a la síntesis de azúcares.

En los tejidos vegetales maduros también se ha demostrado la existencia de la vía de la β -oxidación peroxisomal de los ácidos grasos (véase el siguiente apartado) (Gerhardt, *Planta* 159: 238-246, 1983). Sin embargo, aunque existen diversas hipótesis y avances recientes en este campo (Baker y cols., *Trends in Plant Science* 11:124-132, 2006), el papel de la β -oxidación en los tejidos maduros todavía es objeto de debate.

2.7.1. La β -oxidación de los ácidos grasos en las plantas

Aunque se sabe que la β -oxidación de los ácidos grasos en los animales superiores tiene lugar en el compartimiento mitocondrial, la existencia de esta vía en las mitocondrias vegetales está en debate (Masterson y Wood, *Physiologia Plantarum* 109:217-224, 2000; Graham y Eastmond, *Progress in Lipid Research* 41:156-181, 2002). Sin embargo, no hay duda de la presencia de la β -oxidación en los peroxisomas y en los glioxisomas; estos últimos orgánulos son una especialización de los anteriores que se encuentran en las semillas en germinación (véase el Capítulo 27).

En la β -oxidación peroxisomal y en la glioxisomal de los ácidos grasos es necesario un paso previo de activación del ácido graso mediante la enzima **acil-CoA sintetasa**, en el que se incorpora una molécula de coenzima A (CoA) para formar un acil-CoA graso con gasto de ATP (Fig. 14-7). En el primer paso de la β -oxidación se forma *trans*- Δ^2 -enoil-CoA mediante la deshidrogenación del acil-CoA por la acción de

la enzima **acil-CoA oxidasa**. Esta enzima es diferente a la correspondiente al primer paso de la β -oxidación mitocondrial en los animales superiores, donde la reoxidación del FADH₂ por la cadena respiratoria implica la síntesis de ATP. En cambio, en los peroxisomas, en los glioxisomas, o en ambos, el FADH₂ es reoxidado formándose H₂O₂ que finalmente es convertido a H₂O y O₂ por la acción de la **catalasa** peroxisomal. Las dos reacciones siguientes son catalizadas por una enzima multifuncional con actividad **enoil-CoA hidratasa**, mediante la cual el *trans*- Δ^2 -enoil-CoA sufre una hidratación y se forma el β -L-hidroxiacil-CoA. Este último sufre una deshidrogenación mediante la misma enzima multifuncional con actividad **β -L-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa**, formándose β -cetoacil-CoA y NADH que será exportado fuera del peroxisoma o del glioxisoma. Finalmente, el β -cetoacil-CoA sufre una escisión tiolítica mediante la enzima **β -cetoacil tiolasa**, generando un acil-CoA con dos carbonos menos y un acetil CoA, como productos finales. Este ciclo se repite hasta degradar el acil-CoA graso a unidades de acetil-CoA, que, en el caso de las semillas oleaginosas, servirá como sustrato para la síntesis de los azúcares necesarios durante el proceso de germinación (véase el apartado 2.8.1).

2.8. El conjunto de reacciones de las vías metabólicas respiratorias tiene lugar de forma simultánea, con una importante interacción fisiológica

2.8.1. Las vías metabólicas respiratorias comparten sustratos y productos

En la Figura 14-2 se puede observar el elevado nivel de interacción que existe entre todas las vías metabólicas de la respiración antes detalladas. Es muy importante tener en cuenta este hecho, debido a que la regulación de una vía puede depender directa o indirectamente de la actividad de las demás vías. Diferenciaremos estas relaciones metabólicas en dos grupos de células, las fotosintéticas y las no fotosintéticas.

En las células fotosintéticas, donde tiene lugar la fijación del CO₂ y la formación del glicolato en el proceso de fotorrespiración (véanse los Capítulos 11 y 12), encontramos una estrecha relación entre la fotorrespiración y la cadena de transporte electrónico mitocondrial. En el paso de glicina a serina tiene lugar la producción de una molécula de NADH. Este NADH puede ser oxidado después en la cadena de transporte electrónico (CTE) mitocondrial. Por tanto, la actividad de la CTE mitocondrial afecta a la reacción de síntesis de serina y, en consecuencia, a la fotorrespiración.

En todas las células, ya sean fotosintéticas o no fotosintéticas, existen también muchas interacciones entre las diferentes vías metabólicas de respiración, de las que destacamos algunas:

- La vía glucolítica y la vía de las pentosas fosfato tienen varios puntos en común. En primer lugar, al

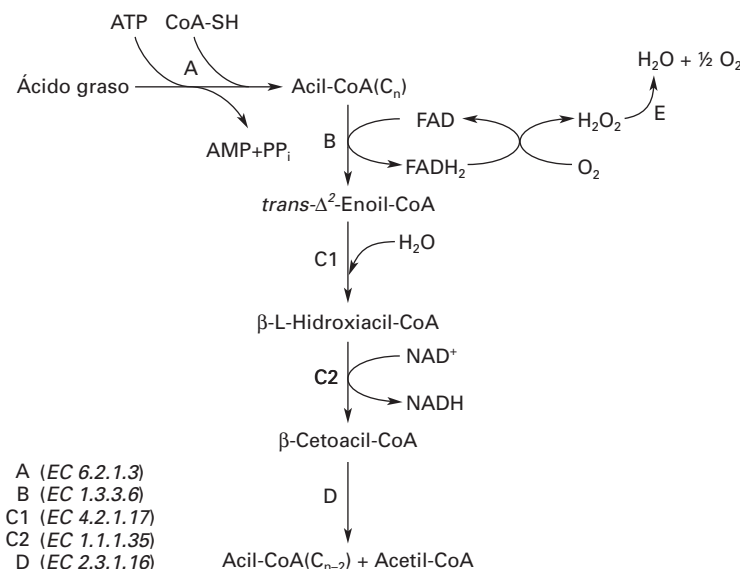


Figura 14-7. Esquema de la β -oxidación de los ácidos grasos en los peroxisomas y glioxisomas de las plantas. Los ácidos grasos deben activarse mediante la incorporación de un CoA-SH con gasto de ATP, para formar los acil-CoA grasos que serán β -oxidados. Símbolos de enzimas: A, acil-CoA sintetasa; B, acil-CoA oxidasa; E, catalasa peroxisomal; C1, enoil-CoA hidratasa; C2, β -L-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa; D, β -cetoacil tiolasa

degradarse la sacarosa se forman una molécula de glucosa y una de fructosa, que se convierten en glucosa-6-fosfato y fructosa-6-fosfato, sustratos de la vía de las pentosas fosfato y la glucólisis, respectivamente, y que pueden intercambiarse mediante la enzima hexosafosfato isomerasa (5). Asimismo, los productos de la vía de las pentosas fosfato son el gliceraldehído 3-fosfato y la fructosa-6-P, intermediarios ambos de la vía glucolítica.

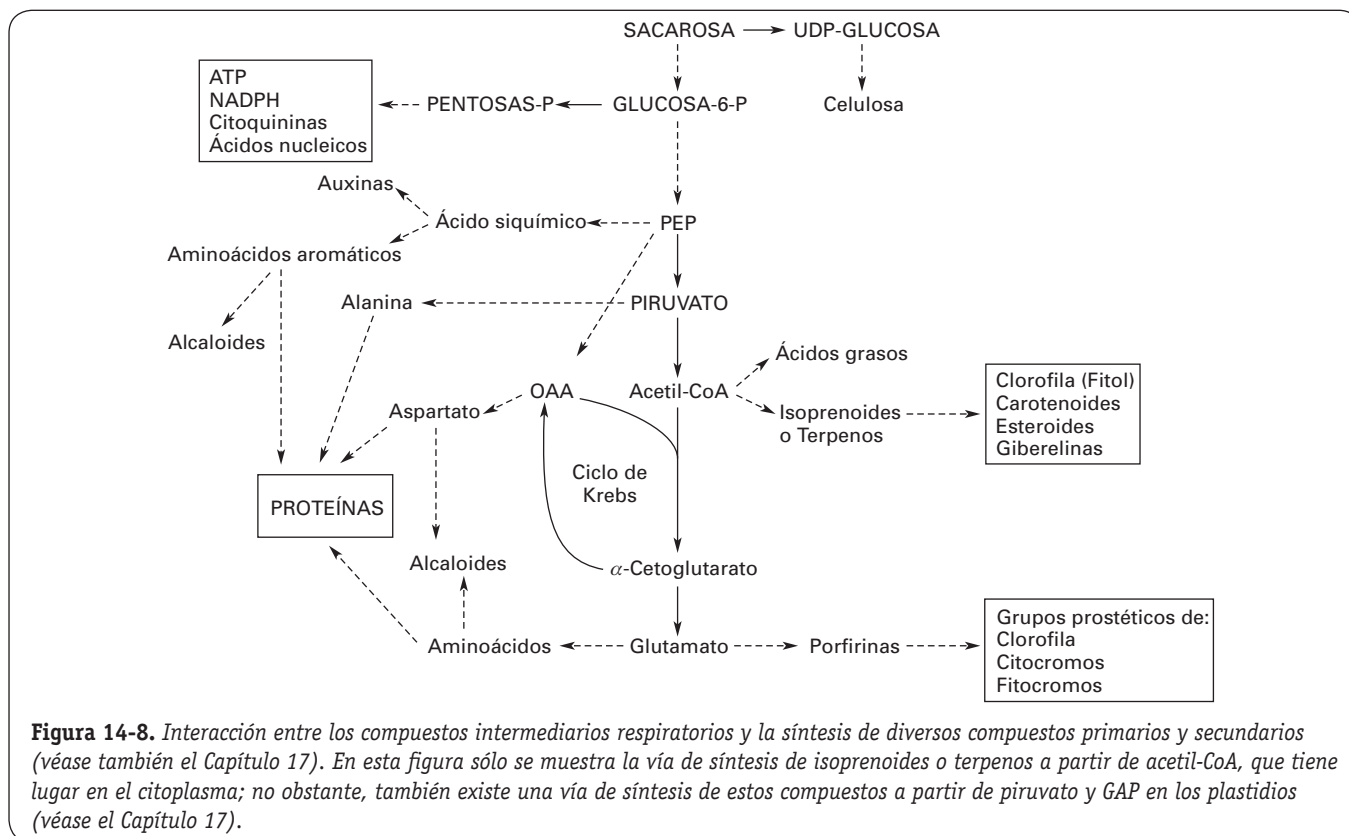
- La vía glucolítica y el ciclo de Krebs mantienen una estrecha relación debido a que el piruvato, un producto de la glucólisis, es el sustrato inicial del ciclo de Krebs. Un aspecto importante del piruvato es su transporte al interior de la mitocondria y las diferentes reacciones de las que es sustrato (Fig. 14-4). Así pues, el piruvato puede entrar en la mitocondria y ser oxidado por la **piruvato deshidrogenasa** (30) para entrar en el ciclo de Krebs. Asimismo, el proceso de fermentación puede reducir el piruvato a etanol o ácido láctico, con la correspondiente utilización de una molécula de NADH (apartado 2.3.1).
- El ciclo de Krebs y la cadena de transporte electrónico (CTE) mitocondrial también guardan una estrecha relación. En primer lugar, el producto principal del ciclo de Krebs (NADH) es uno de los sustratos principales de la CTE mitocondrial y, en segundo lugar, una de las enzimas del ciclo de Krebs, la **succinato deshidrogenasa** (36), se encuentra en la membrana mitocondrial formando, al mismo tiempo, parte intrínseca de la cadena de transporte electrónico (constituye el complejo II), lo que pone de

manifiesto la estrecha relación entre las dos vías metabólicas.

- La β -oxidación, el ciclo de Krebs y el metabolismo de los azúcares mantienen una estrecha relación durante el proceso de germinación en las semillas oleaginosas. El acetil-CoA producido por la β -oxidación (apartado 2.7.1) entra en el ciclo del glioxilato, donde finalmente se obtiene succinato. Esta molécula de cuatro carbonos entra en la mitocondria y se transforma en malato mediante reacciones del ciclo de Krebs. El malato producido se exporta al citoplasma, donde se transforma en oxalacetato; a partir de éste, mediante el proceso de gluconeogénesis, inverso a la glucólisis, se formarán azúcares que podrán ser exportados y utilizados como sustratos respiratorios en la germinación y el crecimiento postgerminativo de la nueva plántula (véase el Capítulo 27).

2.8.2. Muchos de los intermediarios de las vías metabólicas respiratorias son sustratos para la biosíntesis de otros compuestos esenciales

Muchos de los productos intermediarios de la respiración son sustratos, o fuente de energía de las vías de síntesis de muchos otros productos (Figs. 14-2 y 14-8). Entre los intermediarios de la vía glucolítica, las **hexosas** proporcionan esqueletos de carbono para la síntesis de productos que se utilizan en la formación de la pared celular (véase el Capítulo 1). Las **triosas fosfato** son la base de los glicerolípidos y de los aminoácidos, como la serina y la cisteína, que se utilizan en la síntesis de



las proteínas. El **fosfoenolpiruvato** (PEP) es el sustrato para la síntesis de los compuestos fenólicos, como la tirosina, la fenilalanina o las auxinas (véase el Capítulo 17). Finalmente, a partir del piruvato se produce el aminoácido alanina. En cuanto a los componentes del ciclo de Krebs, encontramos que a partir del **α -cetoglutarato** se sintetiza el ácido glutámico, a partir del cual se forman compuestos tan importantes como las clorofilas, los citocromos y los fitocromos. A partir del **oxalacetato** se forma el ácido aspártico, el cual genera la asparragina y las pirimidinas, esenciales para la síntesis de los ácidos nucleicos. Asimismo, en el ciclo de las pentosas fosfato se forma la **ribosa-5-fosfato**, molécula esencial para la síntesis de los ácidos nucleicos, así como la **eritrosa-4-fosfato**, que se utiliza en la síntesis del ácido siquímico (véase el Capítulo 17). Por otra parte, el **NADPH** generado en el ciclo de las pentosas fosfato es vital para muchas reacciones de biosíntesis que se llevan a cabo en las células.

3. REGULACIÓN DE LA RESPIRACIÓN

3.1. La regulación bioquímica de la respiración dependerá del balance entre las diferentes vías

Por regla general, las enzimas más fuertemente reguladas de una vía metabólica suelen ser las que intervienen al final de ésta, así como en los puntos de interacción con otras vías metabólicas. Además, los sustratos y los productos de cada reacción suelen llevar a cabo una regulación de la enzima

que los usa o produce, respectivamente.

La primera reacción fuertemente regulada en la vía glucolítica es el paso de fructosa-6-fosfato a fructosa-1,6-bisfosfato, y viceversa. El balance global de la actividad de las tres enzimas que lo catalizan (véase el apartado 2.3 y la Fig. 14-2) determina cuál de las dos vías, la glucólisis (consumo de glucosa) o la gluconeogénesis (síntesis de glucosa), es la predominante. Todos los intermediarios de la vía glucolítica, pero de forma especial el fosfoenolpiruvato (PEP), inhiben la **fosfofructoquinasa** (PFK) (7) de modo retroactivo. Asimismo, el ATP y el NADH también inhiben la actividad de la PFK, mientras que el P_i actúa como activador. La **fructosa-2,6-bisfosfato** activa la enzima fosfofructofosfotransferasa (PFP) (8) e inhibe la fructosa-1,6-bisfosfatasa citosólica (28) (véase la Fig. 14-2).

Otro punto estrechamente regulado de la glucólisis es el paso de fosfoenolpiruvato a piruvato mediante la **piruvato quinasa** (15). Esta reacción es activada por ADP e inhibida por ATP. Además, debe tenerse en cuenta que la acumulación de piruvato disminuye la velocidad de reacción. El piruvato puede utilizarse de diferentes formas, por lo que también constituye un punto de regulación. La disponibilidad del oxígeno desempeña un papel importante en la utilización del piruvato en la fermentación, tal como se detalla en el apartado 2.3.1. Además, el transporte del piruvato hacia el interior de la mitocondria también es un punto de regulación de la respiración (Fig. 14-4). Hay que tener en cuenta que el paso de la piruvato quinasa puede ser soslayado por la actuación secuencial de la PEP carboxilasa (16), la malato deshidrogenasa (17) y la enzima málica mitocondrial (29),

de manera que el PEP se transforma finalmente a piruvato en la mitocondria (véanse las Figs. 14-2 y 14-4).

La vía de las pentosas fosfato exhibe un punto clave de regulación en su inicio. La **glucosa-6-fosfato deshidrogenasa** (21) es inhibida por NADPH y estimulada por NADP⁺. Así, la actividad de esta vía se ve estimulada en situaciones de síntesis aumentada de compuestos derivados de los intermediarios de la propia vía de las pentosas fosfato (apartado 2.4) o de otras vías de síntesis que utilizan NADPH.

El ciclo de Krebs muestra una fuerte regulación en la reacción de entrada a este ciclo. La enzima **piruvato deshidrogenasa** (30) está estrechamente regulada por los mecanismos de fosforilación. La enzima está desactivada en estado fosforilado, mientras que está activada en estado desfosforilado. Una concentración elevada de ATP causa una desactivación de la piruvato deshidrogenasa y, en consecuencia, una disminución de la actividad global del ciclo de Krebs. Diversas reacciones enzimáticas del ciclo de Krebs llevan asociada la formación de NADH o ATP, por lo que una elevada concentración de NADH o ATP significará una reducción de su actividad por falta de sustrato (NAD⁺ o ADP). Otra de las enzimas claves en el ciclo de Krebs es la **succinato deshidrogenasa** (36), que transfiere el poder reductor a la ubiquinona de la membrana mitocondrial. La actividad de esta reacción se ve disminuida si el estado de reducción de la ubiquinona es elevado, con lo que el ciclo de Krebs se hace más lento.

La cadena de transporte de electrones tiene diversos puntos de control. Aquellas reacciones que llevan a cabo el bombeo de protones (H⁺) hacia el espacio intermembranoso (complejos I (39), III (42) y IV (43)) se ven afectadas por el gradiente protónico existente entre el espacio intermembrana y la matriz mitocondrial, si este gradiente llega a ser excesivamente elevado. Asimismo, el estado de reducción del *pool* de ubiquinona también controla la actividad tanto de las deshidrogenasas como de las oxidasas terminales. Finalmente, la **ATP sintasa** (45), que está regulada principalmente por la disponibilidad de sus sustratos ADP y P_i, es la que regula de forma activa el gradiente de protones transmembrana y, por ende, determina en parte la actividad de la cadena de transporte electrónico mitocondrial (**control respiratorio**). Sin embargo, se debe tener en cuenta, por un lado, la existencia de NADH deshidrogenasas y de la oxidasa alternativa, que no están ligadas al transporte de protones a través de la membrana (véase el apartado 2.6) y, por otro, la reciente caracterización de **proteínas desacopladoras** («uncoupling proteins», UCPs) en las mitocondrias de las plantas (Vercesi y cols., *Annual Review of Plant Biology* 57:383-404, 2006), a través de las cuales los protones circulan libremente a través de la membrana interna, disminuyendo así el gradiente protónico entre el espacio intermembrana y la matriz. Todas estas «vías alternativas», tanto de transporte electrónico como de transporte protónico, no están acopladas a la síntesis de ATP y, por tanto, su actividad no está sujeta al control respiratorio (es decir, a la disponibilidad de ADP y P_i).

La función y la regulación de estas vías alternativas se encuentra todavía en estudio, y se están empezando a co-

nocer algunos aspectos de la regulación de la oxidasa alternativa. Por ejemplo, se sabe que la AOX está compuesta por dímeros que pueden formar puentes disulfuro, siendo su actividad mayor cuando estos puentes disulfuro están reducidos (es decir, cuando no están formados). Además, los α-cetoácidos, especialmente el piruvato, son activadores de la oxidasa alternativa reducida.

Es importante tener en cuenta que la síntesis de ATP no es la única función de la respiración, y que pueden existir situaciones en las que sea necesario mantener el metabolismo respiratorio activo para obtener esqueletos de carbono, aun cuando la concentración de ATP sea alta. En estos casos, el funcionamiento de las vías «alternativas» puede desempeñar un papel importante en la respiración vegetal, al dotarla de una mayor **flexibilidad metabólica**.

3.2. La regulación fisiológica de la respiración viene determinada por la disponibilidad de compuestos de carbono (sustratos) y de ADP

Es importante destacar que no todos los tejidos ni todas las células de una planta son fotosintéticos, y que dependen del aporte de compuestos de carbono (principalmente del de azúcares) por parte de las células fotosintéticas para obtener la energía necesaria para subsistir. Esto es posible porque la respiración proporciona tanto los intermediarios necesarios para la biosíntesis, como la energía necesaria para que esta biosíntesis tenga lugar, e implica que la tasa de respiración está regulada por la presión de sustrato «carbonado» disponible y por la demanda energética de ATP del tejido o la planta. Por un lado, la presión de fotoasimilados «empuja» los compuestos de carbono hacia las vías metabólicas de la respiración, mientras que la demanda energética «tira» de los compuestos de carbono por las vías respiratorias para sintetizar ATP. Por ejemplo, una planta en fase de crecimiento rápido tiene una demanda energética alta, y sus tasas respiratorias aumentarán si dispone de suficiente sustrato (se supone que en este caso no habrá limitación por falta de ADP). Al mismo tiempo, habrá una mayor demanda de fotoasimilados para la producción de ATP y de precursores de compuestos de carbono para el crecimiento. Si, por el contrario, la demanda energética es baja, la respiración estará reducida y será controlada principalmente por la disponibilidad de ADP. Este mecanismo de balance entre «empujar y tirar» se puede resumir en la disponibilidad de sustrato «carbonado» y de ADP como factores claves de la regulación fisiológica de la respiración vegetal.

4. RESPIRACIÓN A NIVEL DE PLANTA ENTERA

4.1. El cociente respiratorio es un indicador del tipo de sustrato utilizado

Los flujos metabólicos que convergen en la mitocondria para la síntesis de ATP dan pie a la emisión de dióxido de carbono

y al consumo de oxígeno, además de producir agua y calor. La producción de CO_2 proviene de la oxidación de compuestos de carbono, con generación de electrones que reducen el O_2 para formar H_2O . Tanto la emisión de CO_2 como el consumo de O_2 son parámetros que pueden ser utilizados para medir la tasa de respiración de las plantas. Si se mide simultáneamente el intercambio gaseoso de CO_2 y O_2 , se puede calcular el **cociente respiratorio** (RQ), que es la relación entre las moléculas de CO_2 emitidas y las moléculas de O_2 consumidas. En el caso de la oxidación de la glucosa, el volumen de O_2 consumido es igual al volumen de CO_2 producido, según la siguiente ecuación:



y el valor de RQ ($6 \text{CO}_2/6 \text{O}_2$) es 1.0. Por lo general, cuando una planta respira carbohidratos, el valor de RQ se aproxima a la unidad. Si el compuesto oxidado es un ácido graso, como por ejemplo el ácido oleico:



el RQ para esta reacción es de $18 \text{CO}_2/25.5 \text{O}_2 = 0.71$. Si los sustratos respiratorios son ácidos orgánicos, el valor de RQ será mayor que la unidad, porque el grado de oxidación de estos compuestos es mayor que el de los azúcares.

Así, el valor RQ es una medida dependiente del contenido de carbono, hidrógeno y oxígeno que tiene el sustrato respiratorio utilizado. La respiración de la mayor parte de las semillas tiene un $\text{RQ} < 1$ durante la germinación, lo que indica que para producir energía se están utilizando las reservas grasas (compuestos poco oxidados). En las hojas, el valor medio de RQ es 1.05, lo que sugiere que el sustrato respiratorio predominante son los azúcares. El RQ también refleja la actividad de otros procesos metabólicos. Por ejemplo, durante la reducción asimilatoria del nitrato se producen simultáneamente ácidos orgánicos y CO_2 (véase el Capítulo 15), lo que se traduce en un valor de $\text{RQ} > 1$. Un caso extremo es el de las raíces que forman asociaciones simbióticas para asimilar el nitrógeno atmosférico, cuya respiración tiene valores de RQ en torno a 1.5.

4.2. La tasa respiratoria de las plantas depende del tipo de órgano, del estado metabólico y de la edad de la planta

En términos generales, un tejido vegetal o una planta respira más cuanto mayor es su **demanda energética**. Los tejidos, órganos o plantas jóvenes, en pleno crecimiento, experimentan mayores tasas de respiración específica (es decir, expresada por unidad de biomasa) que cuando los mismos tejidos están completamente desarrollados. La alta tasa de respiración específica de tejidos y plantas jóvenes se debe a la gran demanda de esqueletos de carbono para crear las nuevas estructuras vegetales, al reciclaje del poder reductor metabolizado durante su biosíntesis, y a la elevada demanda

energética para sostener la tasa de crecimiento vegetativo. A medida que la planta se desarrolla y envejece, esta demanda se reduce, y la tasa de respiración específica también disminuye.

La respiración específica de las semillas en estado de latencia es muy limitada (entre 0.003 y 0.01 μmoles de CO_2 por gramo de peso seco y hora) (Cuadro 14-1). Durante la imbibición de las semillas, la tasa respiratoria aumenta ligeramente. Durante el crecimiento del embrión, la respiración aumenta enormemente. Para la mayoría de las plantas herbáceas, éste es el estado de desarrollo en el que la respiración específica alcanza valores máximos.

En los tejidos meristemáticos foliares, la respiración puede llegar a consumir hasta un 10% de su biomasa seca durante el período nocturno. La tasa respiratoria por unidad de biomasa de las hojas que se forman a partir del meristemo, se reduce hasta alcanzar un valor constante una vez que la hoja ha llegado su estado de maduración completa (Fig. 14-9). Durante su desarrollo, la respiración foliar puede disminuir en más de un 60%. En este estadio de máximo desarrollo de la hoja, los procesos respiratorios consumen menos del 1.5% de su peso seco durante la noche. Existe gran variabilidad en la tasa de respiración foliar específica entre grupos funcionales de vegetación. Las hojas de las especies agrícolas son las que respiran a mayor velocidad, mientras que las hojas de las coníferas o de las plantas que viven en condiciones de luz muy precarias son las que muestran las tasas de respiración más bajas (Cuadro 14-1). Durante la senescencia (véase el Capítulo 28), la respiración foliar es variable. Por lo general, la respiración disminuye rápidamente al iniciarse la senescencia; sin embargo, en algunos casos se

Cuadro 14-1. Tasas de respiración específica de distintos tejidos completamente desarrollados en grupos de plantas diferentes. Las tasas de respiración citadas son indicadores de tasas medias mínimas y máximas correspondientes a especies vegetales diferentes, medidas a una temperatura de 20 °C

	Respiración específica (μmoles de CO_2 por gramo de peso seco y hora)
Semillas (latencia)	0.003-0.01
Hojas	
plantas herbáceas	50-150
arbustos de sotobosque	6-35
árboles	
caducifolios	30-100
coníferas	5-20
Raíces finas	20-350
Frutos	
climatéricos	1.5-4.8
no climatéricos	0.8-3.0
Espádice de las aráceas	1000

observa un pequeño incremento en la respiración, seguido por una rápida disminución (Fig. 14-9).

La respiración de los tejidos reproductores se ha estudiado poco. Se considera que el ápice o primordio floral puede llegar a respirar casi todo el carbono que recibe de la planta, como en el caso del trigo. Un caso particular entre los tejidos reproductores es el del espádice de las aráceas durante el período de floración (véase el apartado 2.6.2). En estos espádices, la respiración específica (alrededor de 1000 μmol de CO_2 por gramo de peso seco y hora) es unas cien mil veces mayor que en las semillas, y entre diez y cien veces mayor que en las hojas. La respiración ha sido más estudiada durante el proceso de llenado de las semillas (véase el Capítulo 27). Por ejemplo, la respiración en los granos de los cereales disminuye durante el proceso de llenado, debido a que los carbohidratos son almacenados en los tejidos de reserva y no se utilizan en los procesos metabólicos. En el de llenado de las semillas de las legumbres, se observa que la respiración está limitada por la disponibilidad de sustrato (hexosas) (apartado 3.2). La respiración llega a valores muy bajos durante el secado de las semillas.

La respiración de frutos jóvenes durante la fase de crecimiento es intensa, aunque disminuye rápidamente antes del proceso de maduración (Fig. 14-10). Ciertos frutos carnosos, como el plátano o la manzana, muestran durante la maduración una respuesta respiratoria conocida como climatérica. Al inicio de la maduración de los **frutos climatéricos**, la respiración aumenta de forma muy rápida, coincidiendo con los incrementos en la producción de etileno, que estimula la maduración. Las características organolépticas de los frutos climatéricos se desarrollan durante este período de in-

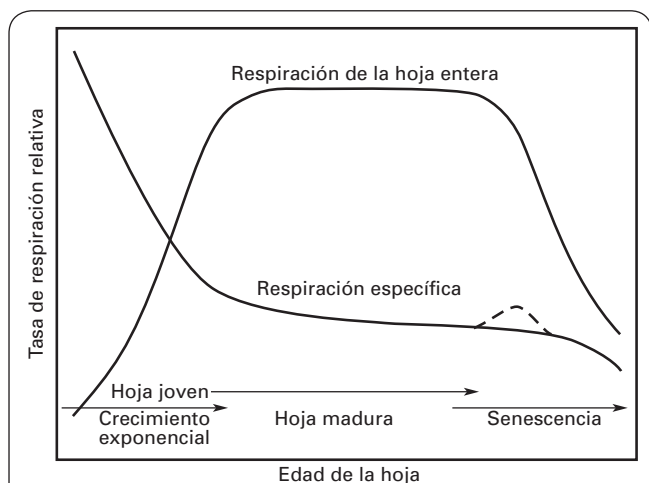


Figura 14-9. Variación de la respiración de una hoja desde su emergencia hasta su senescencia. La tasa de respiración específica por unidad de biomasa disminuye durante el desarrollo de la hoja. En algunas hojas se observa un ligero incremento en la respiración al inicio de la senescencia, como el representado por la línea discontinua; sin embargo, la tasa de respiración total de la hoja entera aumenta a medida que la hoja incrementa su biomasa.

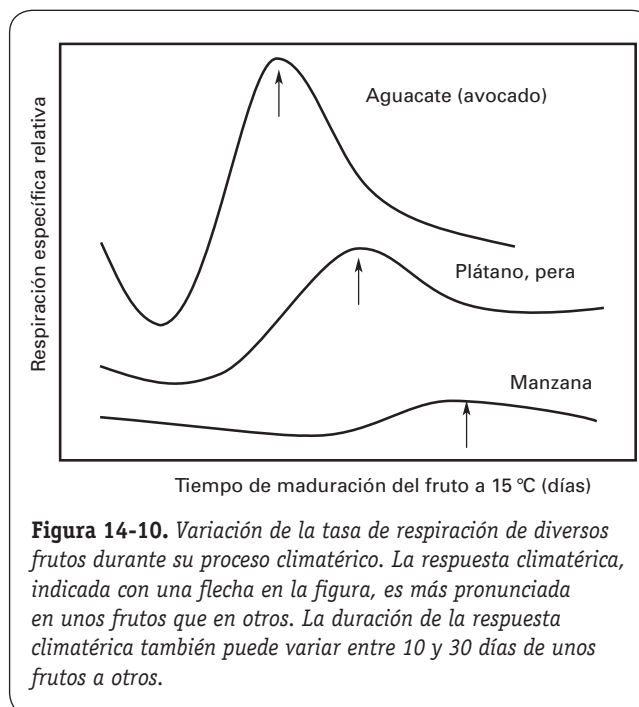


Figura 14-10. Variación de la tasa de respiración de diversos frutos durante su proceso climatérico. La respuesta climatérica, indicada con una flecha en la figura, es más pronunciada en unos frutos que en otros. La duración de la respuesta climatérica también puede variar entre 10 y 30 días de unos frutos a otros.

cremento de la respiración. En los **frutos no climatéricos**, como es el caso de los cítricos o de la uva, no se observa un aumento respiratorio durante la maduración, la cual es menos sensible a los niveles de etileno (véase el Capítulo 26).

La tasa de respiración de las raíces depende de la actividad fotosintética de la planta. Cuanto más alta es la tasa de fotosíntesis, mayor es el aporte de carbohidratos a las partes subterráneas de la planta. De esta manera, la disponibilidad de sustrato es el determinante principal para la respiración de las raíces. Se ha observado que durante la noche, o en períodos en los que la tasa fotosintética es baja, la respiración de las raíces disminuye. La respiración de las raíces también depende del estado de desarrollo de la planta. Tras la germinación de la semilla, las raíces deben crecer rápidamente para sostener la planta y absorber los nutrientes necesarios para el crecimiento. Aunque estas dos funciones se mantienen a lo largo de la vida de la planta, la tasa respiratoria disminuye desde los estados iniciales y pasa a depender del aporte de sustrato. Hacia el final de la vida de la planta, las raíces dejan de crecer, y su tasa respiratoria específica disminuye.

4.3. La tasa respiratoria está influida por factores ambientales

Como se ha descrito anteriormente, la respiración de los distintos órganos vegetales o de la planta entera depende de la edad del tejido o de la planta y de su estado de desarrollo. La respiración de las plantas también está enormemente influida por factores abióticos, como la temperatura, los niveles de oxígeno, la concentración de dióxido de carbono o la disponibilidad de agua y de nutrientes, entre otros.

La tasa respiratoria de una planta que crece en unas condiciones ambientales específicas determina la cantidad de energía utilizable que puede ser invertida en procesos de crecimiento, desarrollo y mantenimiento de la planta. Por tanto, la cantidad de compuestos de carbono destinada a los procesos respiratorios tiene un gran impacto sobre la producción neta de biomasa, y puede desempeñar un papel importante desde el punto de vista económico en la productividad vegetal.

4.3.1. *La respiración y la temperatura se encuentran en relación directa*

Uno de los factores abióticos más significativos entre los que afectan a la tasa respiratoria es la temperatura. Independientemente de la tasa absoluta de respiración, los incrementos de la temperatura generan incrementos exponenciales de la respiración.

El efecto de la temperatura sobre la respiración se puede cuantificar a través del **coeficiente de temperatura o factor Q₁₀**, el cual refleja los cambios en la tasa de respiración por cada 10 °C de cambio en la temperatura a través de la expresión:

$$Q_{10} = \frac{\text{Respiración a la temperatura } (T + 10) \text{ } ^\circ\text{C}}{\text{Respiración a la temperatura } T \text{ } ^\circ\text{C}}$$

Para la mayoría de las plantas y los tejidos, el valor del factor Q₁₀ respiratorio varía entre 1.9 y 2.8 cuando la respiración se mide entre 5 y 30 °C. Un valor de Q₁₀ respiratorio de 2.0 significa que la tasa de respiración a 20 °C es el doble que la tasa respiratoria medida a 10 °C. Este valor coincide con el valor del factor Q₁₀ de la mayor parte de las reacciones enzimáticas. Sin embargo, el valor Q₁₀ respiratorio no es constante, y varía sustancialmente con temperaturas extremas. A temperaturas muy bajas (menores de 5 °C), las membranas de los distintos compartimientos celulares pierden fluidez, lo que hace que el efecto de la temperatura sobre la respiración sea menor (Q₁₀ ≈ 1.0). A temperaturas muy altas (superiores a los 40 °C), el valor Q₁₀ también disminuye hasta el valor de 1.0, porque la respiración empieza a verse limitada por la disponibilidad de oxígeno. La solubilidad del oxígeno disminuye a medida que la temperatura aumenta, y la difusión del oxígeno dentro del tejido (con un factor Q₁₀ = 1.1) no es suficiente para compensar el incremento en la actividad de las enzimas respiratorias. Con temperaturas superiores a 45 °C, la respiración decae hasta detenerse debido a la desnaturalización de las proteínas y a la disgregación de las membranas.

El factor Q₁₀ respiratorio también varía ligeramente según el origen ecológico de la planta, y depende de la temperatura de crecimiento. A grandes rasgos, las plantas de climas cálidos suelen tener valores respiratorios de Q₁₀ cercanos a 2.5-3.0, mientras que en las plantas de climas fríos el valor de Q₁₀ es algo menor, alrededor de 2.0.

Aparte del factor Q₁₀ respiratorio, la temperatura de crecimiento también influye en la respiración vegetal. Al

comparar la respiración de plantas adaptadas a regiones climáticas muy dispares, se ha observado que las tasas de respiración específicas medidas en condiciones de crecimiento son muy parecidas entre sí. Es decir, la tasa de respiración de la hoja de una planta originaria de climas árticos medida a 4 °C es muy parecida a la tasa de respiración de una hoja de un árbol originario de climas tropicales medida a 30 °C. Esto indica que la respiración mantiene una cierta homeostasis respecto a la temperatura de crecimiento, lo que podría ser un mecanismo de adaptación y aclimatación de las plantas tanto a las variaciones locales del clima como a las distintas regiones climáticas del planeta.

4.3.2. *La disponibilidad de oxígeno, en ciertas condiciones de crecimiento, limita la tasa respiratoria*

El oxígeno es el aceptor final de electrones durante el transporte electrónico mitocondrial y, como tal, su disponibilidad en el interior del tejido puede limitar la tasa respiratoria. El contenido de oxígeno en el aire es del 21%, y la concentración de oxígeno en la fase acuosa (como el citoplasma) a 25 °C es de 253 μM. Dado que la constante de Michaelis-Menten (K_m) para el oxígeno de la citocromo c oxidasa y de la oxidasa alternativa es inferior a 10 μM (lo que indica una alta afinidad), en condiciones normales el oxígeno no limita la respiración. Sin embargo, existen ciertas situaciones en las que el oxígeno podría limitar la tasa respiratoria; por ejemplo, en los tejidos compactos, como frutos o tubérculos con una baja relación superficie/volumen, la difusión del oxígeno hacia las células interiores del tejido es muy lenta respecto a la demanda de oxígeno por parte de las oxidasas respiratorias.

Existen mecanismos de adaptación a los bajos niveles de oxígeno en los tejidos que, con cierta frecuencia, se encuentran en hipoxia o anoxia. Uno de estos mecanismos es la expansión de los espacios intercelulares para formar espacios aéreos o **aerénquimas** en los tejidos en los que la difusión de oxígeno puede ser limitante. En las raíces, estos aerénquimas pueden llegar a ocupar más de un 45% del volumen total del tejido. Sin embargo, en los tubérculos de patatas, los espacios intercelulares representan menos del 2% del volumen total. La finalidad de los aerénquimas es absorber el oxígeno del suelo o del aire y favorecer un intercambio gaseoso rápido y más eficiente entre las células que se encuentran alrededor. En condiciones extremas, en las raíces de las plantas que viven en terrenos inundados o pantanosos, como es el caso de los arrozales, el intercambio gaseoso entre el aerénquima de las raíces y el aire exterior se realiza a través de los tallos, donde la conexión raíz-tallo es permeable al dióxido de carbono y al oxígeno. Este mecanismo es común a muchas especies que viven en zonas que siempre están inundadas o que se inundan a menudo. La concentración de oxígeno en los aerénquimas de las raíces en casos como el del arroz puede llegar a mantenerse entre el 10 y el 16%. Además, la estructura de la raíz no facilita que el agua des-

place el aire de los aerénquimas, por lo que el intercambio gaseoso entre el interior y el exterior de los aerénquimas queda garantizado. En condiciones naturales, la tolerancia a la anoxia prolongada en este tipo de especies vegetales es mayor cuando la temperatura y la tasa respiratoria son bajas y cuando las raíces o rizomas contienen suficientes reservas de carbono. La formación de aerénquimas es inducida por episodios de anoxia o hipoxia prolongada debido a la acumulación de etileno en las raíces anaeróbicas, lo que provoca la rotura de las células del córtex de la raíz.

Otra adaptación a los bajos niveles de oxígeno es la formación de **neumatóforos**. Los neumatóforos son raíces que crecen por encima de la superficie del agua, recogiendo oxígeno del aire y difundiéndolo hacia las raíces que se encuentran sumergidas. Tal es el caso de los **mangles**, árboles o arbustos leñosos que crecen en los manglares, comunidades vegetales de zonas costeras y pantanosas salobres de clima tropical o subtropical. Otras especies responden a condiciones de anoxia radicular formando raíces adventicias a partir de los tallos. En general, las plantas que no tienen mecanismos para tolerar la anoxia son sensibles a las inundaciones y pueden llegar a morir a causa de **asfixia de las raíces**, o por acumulación de compuestos derivados de la respiración anaeróbica (fermentación), si la inundación es prolongada.

4.3.3. El dióxido de carbono inhibe la tasa respiratoria

Cuando las plantas u órganos vegetales son expuestos a atmósferas ricas en dióxido de carbono, la tasa respiratoria puede llegar a reducirse considerablemente. La respiración puede inhibirse cerca de un 50% a los pocos minutos de aumentar la concentración de dióxido de carbono desde los niveles atmosféricos normales (del 0.037%) hasta niveles de entre 1 y 5% en el aire. Otra característica de este efecto rápido y directo del dióxido de carbono sobre la respiración es que se trata de un fenómeno reversible; cuando la concentración de dióxido de carbono disminuye hasta los valores iniciales, la tasa respiratoria también recupera su valor original. Aun cuando el mecanismo inhibitorio del dióxido de carbono no se conoce bien, el fenómeno se aprovecha para la conservación y el almacenamiento de los frutos climatéricos en cámaras antes de su distribución. Al inhibirse la respiración del fruto, cuando el dióxido de carbono es elevado, no se producen ni etileno ni un aumento climatérico de la respiración, de manera que el proceso de maduración del fruto se retrasa considerablemente (véanse el apartado 4.2 y el Capítulo 26).

4.4. La actividad de las vías citocrómica y alternativa puede determinarse mediante la discriminación isotópica del oxígeno

Durante muchos años la actividad de las vías citocrómica y alternativa (véase el apartado 2.6) se ha calculado mediante el uso de inhibidores específicos de la citocromo c oxidasa

(p. ej., el cianuro) y de la oxidasa alternativa (p. ej., el ácido salicilhidroxámico o SHAM). Sin embargo, al demostrarse que las dos vías competían por los electrones del *pull* de ubiquinona (véase el apartado 2.6), se llegó a la conclusión de que esta técnica era inadecuada (Day y cols., *Plant Physiology* 110:1-2, 1996). En la actualidad, la única técnica capaz de medir la actividad *in vivo* de las vías respiratorias es el análisis del fraccionamiento isotópico del oxígeno por espectrometría de masas.

En la atmósfera existen diferentes isótopos estables del oxígeno, el más común de los cuales es el isótopo ligero ^{16}O (con una frecuencia del 99.76%), frente al mucho menos corriente isótopo pesado ^{18}O (0.2%). El fundamento de la técnica se basa en la diferente utilización de los isótopos estables del oxígeno que presentan las dos oxidasas terminales, siendo mayor la discriminación isotópica en la oxidasa alternativa que en la citocromo c oxidasa. La medida simultánea de la discriminación isotópica del oxígeno y la tasa de respiración permiten determinar la actividad de cada una de las vías por separado.

4.4.1. Los factores ambientales afectan a la actividad de las vías respiratorias mitocondriales

En los últimos años, diversos estudios han mostrado cómo la modificación de los factores ambientales produce cambios en las actividades de las dos vías respiratorias mitocondriales, la vía citocrómica y la vía alternativa. En este sentido, se han observado incrementos en la respiración por la vía alternativa en condiciones de estrés hídrico severo (Ribas-Carbó y cols., *Plant Physiology* 139:446-473, 2005), de limitación nutritiva de fosfato (González-Meler y cols., *Plant Cell and Environment* 24:205-215, 2001), de prolongada exposición a elevadas concentraciones de dióxido de carbono (González-Meler y Taneva, En: *Plant Respiration: From Cell to Ecosystem*, Lambers, H., Ribas-Carbó, M. (eds.), *Advances in Photosynthesis and Respiration* Vol 18, Springer, Dordrecht, The Netherlands, pp. 225-240, 2005) y en la recuperación del estrés por bajas temperaturas o *chilling* (Ribas-Carbó y cols., *Plant Physiology* 122:199-204, 2000). Estos recientes hallazgos ponen de manifiesto que la respuesta de la respiración frente a los cambios en las condiciones ambientales no debe estudiarse únicamente en relación con la tasa de respiración total, ya que, independientemente de que ésta se vea o no afectada, la contribución relativa de cada una de las vías respiratorias puede cambiar.

4.5. Los gastos respiratorios de carbono revierten en el crecimiento y el mantenimiento de la planta

La **economía del carbono** de una planta, es decir, la ganancia neta de biomasa, no sólo depende de la fotosíntesis (ganancia de carbono), sino también de la utilización de los

fotoasimilados en procesos respiratorios (pérdida de carbono). La respiración utiliza el carbono con el fin de producir la energía necesaria para mantener y aumentar la biomasa existente. Una planta consume, en procesos respiratorios, entre la mitad y las tres cuartas partes de los carbohidratos producidos por la fotosíntesis. Una gran proporción de esta respiración se da en las raíces, ya que éstas respiran entre un 20 y un 40% de todos los fotoasimilados producidos por la planta durante el día. Esto significa que la respiración es un componente muy importante para la economía del carbono de la planta entera.

Al comparar la tasa de crecimiento (aumento de biomasa por unidad de tiempo) de una planta, se observa que cuanto más rápido es el crecimiento, mayor es su tasa respiratoria. Esta observación permite distinguir dos tipos de respiración: 1) la **respiración de crecimiento**, que refleja los costes de carbono asociados a la producción de energía metabólica (poder reductor y ATP) utilizada durante la biosíntesis y el crecimiento, y 2) la **respiración de mantenimiento**, que refleja los gastos de energía que se invierten en procesos que no determinan una ganancia neta de biomasa orgánica, como son el recambio de enzimas, el mantenimiento de la estructura de las membranas y la incorporación y transporte de nutrientes inorgánicos. La Figura 14-11 muestra la relación entre estos dos tipos de respiración. A medida que la tasa de crecimiento de la planta aumenta, también se incrementan la tasa de respiración específica y la proporción de respiración de crecimiento respecto a la de mantenimiento. En las plantas cuya tasa de crecimiento es cero, toda la respiración estará destinada a procesos de mantenimiento.

Los gastos de mantenimiento son mucho mayores en las raíces, debido a que los procesos de absorción de nutrientes son energéticamente costosos. En condiciones normales, las raíces utilizan una tercera parte del carbono que reciben de la parte aérea para sintetizar la energía necesaria para crecer, mantenerse y absorber nutrientes. En condiciones limitantes de nutrientes, las raíces pueden llegar a respirar más del 70% de todos los fotoasimilados que reciben durante el día de la parte aérea de la planta. En estas condiciones limitantes para el crecimiento, la planta tiende a promover un mayor crecimiento de las raíces con el fin de explorar un mayor volumen de suelo en busca de nutrientes. Los costes de mantenimiento de las raíces en condiciones limitantes de nutrientes también son proporcionalmente mayores, debido a que hay mayor cantidad de raíces que mantener.

Si se pudieran minimizar los costes respiratorios de mantenimiento, las plantas podrían destinar más carbono al crecimiento, lo que mejoraría la **economía del carbono**. Cuando se compara la respiración de diferentes genotipos de un cultivar, se ha observado que existe una relación inversa entre crecimiento y respiración. Es decir, los genotipos que tienen una tasa de respiración baja crecen más rápidamente.

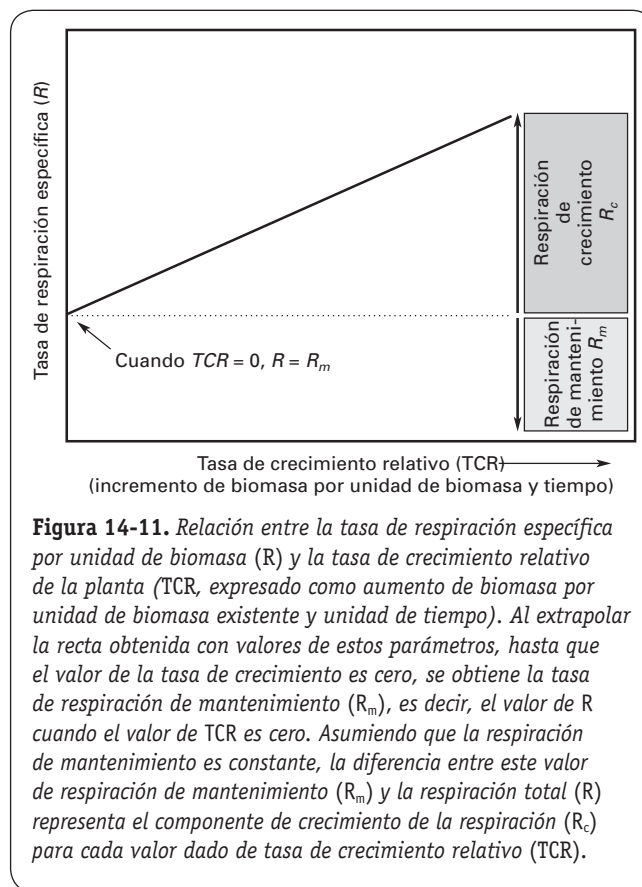


Figura 14-11. Relación entre la tasa de respiración específica por unidad de biomasa (R) y la tasa de crecimiento relativo de la planta (TCR, expresado como aumento de biomasa por unidad de biomasa existente y unidad de tiempo). Al extrapolar la recta obtenida con valores de estos parámetros, hasta que el valor de la tasa de crecimiento es cero, se obtiene la tasa de respiración de mantenimiento (R_m), es decir, el valor de R cuando el valor de TCR es cero. Asumiendo que la respiración de mantenimiento es constante, la diferencia entre este valor de respiración de mantenimiento (R_m) y la respiración total (R) representa el componente de crecimiento de la respiración (R_c) para cada valor dado de tasa de crecimiento relativo (TCR).

Ello se debe a que los genotipos de crecimiento más rápido tienen unos costes de mantenimiento más bajos, de manera que la mayor parte de la energía producida por la respiración se destina a procesos de crecimiento. Una de las estrategias para mejorar la producción de cultivos consiste en seleccionar genotipos que tengan un bajo coste de respiración de mantenimiento.

Otra estrategia para mejorar la producción vegetal es optimizar la eficiencia respiratoria. La existencia de una oxidasa alternativa mitocondrial, así como de NADH deshidrogenasas y proteínas desacopladoras (UCPs) mitocondriales, hace que la respiración no convierta todo el carbono oxidado en forma de ATP con el máximo acoplamiento energético (véase el apartado 2.6.1), sino que se libere energía en forma de calor. Si ésta y otras vías fútiles de la respiración no estuvieran activas, la conversión energética se maximizaría y la respiración sería más eficiente. A pesar del enorme potencial para la mejora agrícola que encierra la manipulación de la respiración, es preciso resolver algunas cuestiones fundamentales sobre la funcionalidad de la vía alternativa y otros aspectos de la fisiología de la respiración con el fin de comprender qué pasos se deben seguir para lograr esta mejora.

Cuadro anexo. Enzimas del metabolismo respiratorio.

1. Invertasa	(EC. 3.2.1.26)
2. Sacarosa sintasa	(EC. 2.4.1.13)
3. Hexoquinasa	(EC. 2.7.1.1)
4. Fosfoglucomutasa	(EC. 5.4.2.2)
5. Hexosafosfato isomerasa	(EC. 5.3.1.9)
6. Fructoquinasa	(EC. 2.7.1.4)
7. Fosfofructoquinasa	(EC. 2.7.1.11)
8. Fosfofructofosfotransferasa	(EC. 2.7.1.90)
9. Fructosa-1,6-bisfosfato aldolasa	(EC. 4.1.2.13)
10. Triosa-fosfato isomerasa	(EC. 5.3.1.11)
11. Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa	(EC. 1.2.1.12)
12. Glicerato-3-fosfato quinasa	(EC. 2.7.2.3)
13. Fosfoglicerato mutasa	(EC. 5.4.2.1)
14. Enolasa	(EC. 4.2.1.11)
15. Piruvato quinasa	(EC. 2.7.1.40)
16. Fosfoenolpiruvato carboxilasa	(EC. 4.1.1.31)
17. Malato deshidrogenasa (citosólica)	(EC. 1.1.1.37)
18. Lactato deshidrogenasa	(EC. 1.1.1.27)
19. Piruvato descarboxilasa	
20. Alcohol deshidrogenasa	(EC. 1.1.1.1)
21. Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa	(EC. 1.1.1.49)
22. 6-Fosfo-glucono-lactonasa	(EC. 3.1.1.31)
23. 6-Fosfo-gluconato-deshidrogenasa	(EC. 1.1.1.44)
24. Ribulosa-5-P epimerasa	(EC. 5.1.3.1)
25. Ribulosa-5-P isomerasa	(EC. 5.3.1.6)
26. Transcetolasa	(EC. 2.2.1.1)
27. Transaldolasa	(EC. 2.2.1.2)
28. Fructosa-1,6-bisfosfatasa	
29. Enzima málica	
30. Complejo piruvato deshidrogenasa	
31. Citrato sintasa	(EC. 4.1.3.7)
32. Aconitasa	(EC. 4.2.1.3)
33. Isocitrato deshidrogenasa	(EC. 1.1.1.41)
34. α -Cetoglutarato deshidrogenasa	(EC. 1.2.4.2)
35. Succinil-CoA sintasa	(EC. 6.2.1.5)
36. Succinato deshidrogenasa (Complejo II)	(EC. 1.3.99.1)
37. Fumarasa	(EC. 4.2.1.2)
38. Malato deshidrogenasa (mitocondrial)	(EC. 1.1.1.37)
39. NADH deshidrogenasa (Complejo I)	
40. NADH deshidrogenasa interna insensible a rotenona	
41. NADH deshidrogenasa externa	
42. Complejo citocromo b/c 1 (Complejo III)	
43. Citocromo c oxidasa (Complejo IV)	
44. Oxidasa alternativa	
45. ATP sintasa (Complejo V)	

RESUMEN



- La respiración celular, o respiración de oscuridad, es un proceso metabólico complejo que consiste en la utilización oxidativa de sustratos ricos en energía para producir ATP, u otras formas adecuadas para sustentar el trabajo metabólico. Estos sustratos pueden derivar de reservas de carbohidratos, lípidos y proteínas, aunque en las plantas, los principales sustratos respiratorios son los carbohidratos producidos en la fotosíntesis (sacarosa y almidón).
- Aparte de la síntesis de ATP, existen otras funciones directamente relacionadas con el metabolismo respiratorio, como la de originar una serie de compuestos intermedios que son precursores biosintéticos en otras vías metabólicas (por ejemplo, vías del metabolismo nitrogenado, del metabolismo secundario, etc.).
- En este capítulo se han presentado, desde el punto de vista bioquímico, las vías respiratorias, con sus reacciones y su regulación, y también se han considerado las principales diferencias respecto a la respiración de los animales superiores, como la existencia de la oxidasa alternativa mitocondrial.
- Asimismo, se ha puesto especial énfasis en la relación existente entre las vías respiratorias y las demás vías metabólicas, los productos que comparten, y las importantes interacciones de regulación que se producen.
- Desde el punto de vista fisiológico, se ha descrito la regulación de la respiración a nivel de la planta entera, la importancia del sustrato respiratorio utilizado, el tipo de órgano, el estado de crecimiento y la edad de la planta.
- Asimismo, se han señalado los efectos de los factores ambientales, como la temperatura o la composición de gases de la atmósfera.
- Por último, se ha estudiado la utilización de los productos respiratorios para el crecimiento y el mantenimiento de la planta.

PROBLEMAS Y CUESTIONES



- 1 Proponga al menos dos razones importantes que expliquen por qué los componentes de la fosforilación oxidativa se encuentran en la membrana interna de la mitocondria, en vez de estar en forma soluble en el citoplasma o en la matriz mitocondrial.
- 2 ¿Cuál es el nivel máximo y el nivel mínimo de síntesis de ATP cuando se oxida 1 mol de glucosa
 - a) en presencia de oxígeno;
 - b) en ausencia de oxígeno?
- 3 ¿De qué manera se podría mejorar la productividad vegetal a través de la manipulación de la respiración?

RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES



- 1 La razón más importante radica en que las membranas dividen la célula en regiones diferentes que quedan aisladas del resto de los compartimientos celulares, como ocurre en la matriz de la mitocondria. Esta división permite que la energía obtenida durante la respiración pueda crear y mantener un gradiente protónico a través de la membrana. Este gradiente de protones es utilizado en la fosforilación de ADP para sintetizar ATP.

Una segunda razón importante es que de este modo se restringe la movilidad de las proteínas. Como las membranas biológicas son una bicapa fluida, cualquier proteína que se encuentre en ellas quedará atrapada en la bicapa y tendrá una movilidad muy limitada, en comparación con la que tendría en el citoplasma (véase el Capítulo 1). La cadena de transporte de electrones es compleja, pero su inserción en la membrana mitocondrial ayuda a mantener un cierto orden para que las proteínas se encuentren unas a otras durante las reacciones de transporte electrónico. Ello permite que la funcionalidad de la cadena sea mucho más eficiente (estos razonamientos también se pueden aplicar en el caso de la fotofosforilación en la membrana tilacoidal de los cloroplastos; véase el Capítulo 10).
- 2 a) Como resultado de la glucólisis se obtienen 4 ATP por mol de glucosa, aunque hay que descontar 2 ATP



RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES (Cont.)

utilizados al principio de la vía. El resultado neto es de 2 ATP por mol de glucosa durante la glucólisis.

Como resultado de la glucólisis, 1 mol de glucosa da lugar a 2 moles de ácido pirúvico, que se oxidan en el ciclo de Krebs. Cada mol de piruvato produce 1 ATP en el ciclo de Krebs, de manera que 1 mol de glucosa produce 2 ATP.

Como resultado del ciclo de Krebs, también se obtienen 4 NADH y un FADH₂ por cada vuelta del ciclo. Para simplificar, consideraremos que todo el NADH es oxidado por el complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial. Cada molécula de NADH se convierte, mediante la cadena de transporte de electrones, como máximo en 3 ATP (vía citocrómica), y 1 ATP en el caso de que el NADH se oxide por la vía alternativa. Una molécula de FADH₂ produce 2 o ningún ATP, dependiendo de la vía que se utilice. Así, por cada vuelta del ciclo de Krebs se obtiene como máximo:

$$4 \times 3 = 12 \text{ ATP a partir de NADH y}$$

$$1 \times 2 = 2 \text{ ATP a partir de FADH}_2;$$

es decir, 14 ATP por vuelta. Como se dan dos vueltas al ciclo, por cada mol de glucosa se obtienen, como máximo, 28 moles de ATP.

Si todo el NADH y FADH₂ se oxidase a través de la vía alternativa se obtendrían, como mínimo:

$4 \times 1 = 4$ ATP a partir de NADH y $1 \times 0 = 0$ ATP a partir de FADH₂, por cada vuelta del ciclo; es decir, 8 moles de ATP por cada mol de glucosa.

También se obtienen 2 moléculas de NADH durante la glucólisis, que se oxidarán por la cadena de transporte de electrones y darán lugar a 6 ATP más si es por la vía citocrómica de transporte de electrones, o sólo 2 ATP si la oxidación del NADH se produce por la vía alternativa.

Si sumamos todo, obtenemos:

Valor máximo de ATP: 2 (glucólisis) + 2 (ciclo de Krebs) + (28 + 6) (oxidación vía citocrómica) = 38 moles de ATP por mol de glucosa.

Valor mínimo de ATP: 2 (glucólisis) + 2 (ciclo de Krebs) + (8 + 2) (oxidación vía alternativa) = 14 moles de ATP por mol de glucosa.

b) En ausencia de oxígeno, tanto el ciclo de Krebs como la fosforilación oxidativa dejan de funcionar y son sustituidos por la fermentación. Los únicos ATP netos que se producen son los provenientes de la glucólisis (2 moles de ATP por cada mol de glucosa, como se ha explicado en el apartado a), ya que la oxidación de NADH mediante la fermentación no produce ningún ATP.

3 Véase el apartado 4.5.



BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA

1. Amthor JS. *Respiration and Crop Productivity*. New York, Springer-Verlag, 1989.
2. Day DA, Copeland L. Respiración. En: Azcón-Bieto J, Talón M (eds.) *Fisiología y Bioquímica Vegetal*. Madrid, McGraw-Hill/Interamericana, 1993; 173-191.
3. Davies DD. *The Biochemistry of Plants*. Vol. 2. *Metabolism and Respiration*. New York, Academic Press Inc., 1980.
4. González-Meler MA, Drake BG, Azcón-Bieto J. Rising atmospheric carbon dioxide and plant respiration. En: Breymeyer AI, Hall DO, Melillo JM, Ågren GI (eds.) *Global Change: Effects on Coniferous Forests and Grasslands*. UK, John Wiley & Sons Ltd., 1997; SCOPE, vol. 56:161-181.
5. Graham IA, Eastmond PJ. Pathways of straight and branched chain fatty acid catabolism in higher plants. *Progress in Lipid Research* 2002; 41:156-181.
6. Hobson GE. Maduración del fruto. En: Azcón-Bieto J, Talón M (eds.) *Fisiología y Bioquímica Vegetal*. Madrid, McGraw-Hill/Interamericana, 1993; 463-478.
7. Lambers H, Chapin III FS, Pons TL. *Plant Physiological Ecology*. New York, Springer-Verlag, 1998; 96-238.
8. Lambers H, Ribas-Carbó M. (eds.). *Plant Respiration: from Cell to Ecosystem*. Advances in Photosynthesis and Respiration. Dordrecht, Springer, 2005; Vol. 18.
9. Nicholls DG, Ferguson SJ. *Bioenergetics 3*, London, Academic Press, 2002.
10. Plaxton WC. The organization and regulation of plant glycolysis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 1996; 47:185-214.
11. Ribas-Carbó M, Berry JA, Yakir D et al. Electron partitioning between the cytochrome and alternative pathways in plant mitochondria. *Plant Physiology* 1995; 109:829-837.
12. Salisbury FB, Ross CW. *Plant Physiology* (4ª ed.). Wadsworth Publishing Company, 1996; 266-288.

Asimilación del nitrógeno y del azufre

JOSÉ MARÍA MALDONADO



1. Introducción. 2. Asimilación del nitrógeno. 3. Asimilación del azufre.

1. INTRODUCCIÓN

El nitrógeno y el azufre constituyen dos de los elementos químicos más abundantes en la materia viva (véase el Capítulo 6). La razón N/S en la biomasa vegetal es de alrededor de 20, que es, aproximadamente, la proporción de ambos elementos en las moléculas de proteína. Todos los aminoácidos contienen nitrógeno, mientras que el azufre se encuentra en los aminoácidos cisteína y metionina. Ambos elementos se hallan presentes, además, en otras importantes biomoléculas. Los animales, a diferencia de las plantas, no son capaces de usar formas inorgánicas de nitrógeno o de azufre, por lo que necesitan ingerir formas orgánicas de dichos elementos, principalmente como proteínas.

El nitrógeno y el azufre inorgánicos presentes en los suelos experimentan cambios en sus estados de oxidación como consecuencia de la actividad metabólica de diversos grupos de bacterias. En los suelos aireados se encuentran principalmente en sus formas más oxidadas, esto es, como nitrato (NO_3^-) y como sulfato (SO_4^{2-}). Las plantas tienen la capacidad de reducir el nitrato y el sulfato a amonio (NH_4^+) y a sulfuro (H_2S) o tiol ($-\text{SH}$), respectivamente, e incorporar dichas formas reducidas a moléculas orgánicas. Estos procesos se denominan **asimilación del nitrato** y **asimilación del sulfato**. Las algas, las cianobacterias (algas verde-azuladas) y muchas bacterias y hongos también asimilan el nitrato y el sulfato. Existen otros grupos de bacterias —anaerobias estrictas— que utilizan el nitrato o el sulfato, en lugar del oxígeno, como aceptores terminales de electrones en la oxidación de los sustratos orgánicos, con lo que producen

formas reducidas de nitrógeno o de azufre. En estos casos, la reducción del nitrato y del sulfato no tiene una finalidad asimiladora, sino respiratoria.

2. ASIMILACIÓN DEL NITRÓGENO

Los dos procesos biológicos por los que el nitrógeno inorgánico es convertido en nitrógeno orgánico son la fijación del nitrógeno molecular (N_2) y la **asimilación del nitrato**. Aunque el gas dinitrógeno presente en la atmósfera constituye el mayor reservorio de nitrógeno inorgánico disponible, sólo ciertos procariontes —en estado libre o en asociación con algunas plantas (principalmente, leguminosas)—, son capaces de fijar y asimilar dicha forma de nitrógeno (véase el Capítulo 16). La asimilación del nitrato consta de tres etapas: 1) absorción; 2) reducción del nitrato a amonio; y 3) incorporación del amonio a esqueletos carbonados para la síntesis de aminoácidos, proceso que recibe el nombre específico de **asimilación del amonio**.

2.1. El nitrato es transportado activamente al interior de la célula mediante un simporte con protones

La absorción del nitrato del medio por las plantas disminuye a bajas temperaturas, en la anaerobiosis, y en presencia de inhibidores metabólicos, lo que demuestra que es un transporte activo, esto es, dependiente de la energía metabólica. La absorción muestra una típica ci-

nética de saturación de Michaelis-Menten, lo que prueba que su transporte a través del plasmalema es facilitado por una permeasa o **proteína transportadora** (véase el Capítulo 7). Muchas especies vegetales muestran más de un sistema de transporte. Básicamente se han descrito dos: uno de alta afinidad y otro de baja afinidad. **El sistema de transporte de alta afinidad** (K_m para el nitrato entre 20 y 100 μM) se satura a concentraciones externas de nitrato inferiores a 1 mM y es **inducible** por el propio nitrato. Algunas especies poseen un segundo sistema de transporte de alta afinidad que, a diferencia del anterior, es **constitutivo** y muestra mayor afinidad por el nitrato ($K_m < 20 \mu\text{M}$) y menor $V_{m\acute{a}x}$ de transporte. Con concentraciones externas de nitrato superiores a 1 mM, opera un **sistema de transporte de baja afinidad**. Éste se distingue del de alta afinidad en que su cinética de transporte es lineal, y menos sensible a la temperatura y a los inhibidores metabólicos, lo cual sugiere que está constituido por canales iónicos.

Tomando como base el análisis de los cambios transitorios que experimenta el potencial eléctrico del plasmalema al añadir nitrato a las células, y la dependencia de dichos cambios del pH externo, se ha propuesto que el nitrato es transportado al interior de la célula mediante un **simpote con protones** con una estequiometría de $2 \text{H}^+/\text{NO}_3^-$ (Fig. 15-1). El gradiente de potencial electroquímico de protones a través del plasmalema, necesario para sustentar el transporte activo de nitrato, es generado y mantenido por una H^+ -ATPasa que bombea protones hacia el exterior con la energía de hidrólisis del ATP.

El nitrato induce la síntesis de su propia proteína transportadora. Además, el transporte se encuentra regulado negativamente por la presencia de amonio o de otras formas reducidas de nitrógeno, como la glutamina. Una elevada concentración interna de nitrato también ejerce un control negativo sobre su propia absorción.

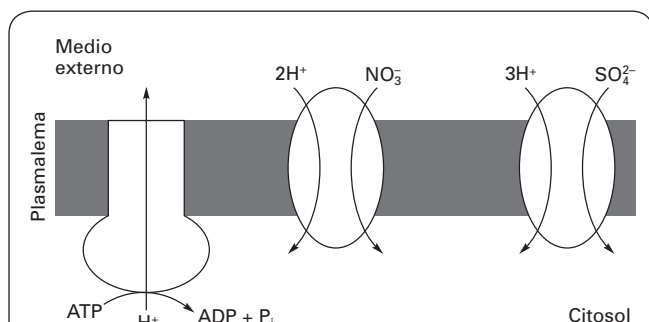
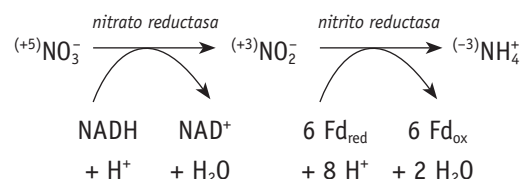


Figura 15-1. Mecanismos de transporte del nitrato y del sulfato a través del plasmalema. El gradiente de potencial electroquímico de protones requerido para el transporte activo de ambos aniones es generado por una H^+ -ATPasa que, con la energía del ATP, bombea protones al exterior.

2.2. La reducción del nitrato a amonio tiene lugar mediante dos reacciones consecutivas catalizadas por las enzimas nitrato reductasa y nitrito reductasa

En una primera reacción, el nitrato es reducido a nitrito por la enzima **nitrato reductasa** (NR). Dicha reacción requiere dos electrones suministrados por una molécula de piridín-nucleótido reducido. A continuación, el nitrito es reducido a amonio por la **nitrito reductasa** (NiR), en una reacción que requiere seis electrones donados por la ferredoxina reducida (Fd_{red}). La reducción del nitrato a amonio consume, pues, un total de ocho electrones:

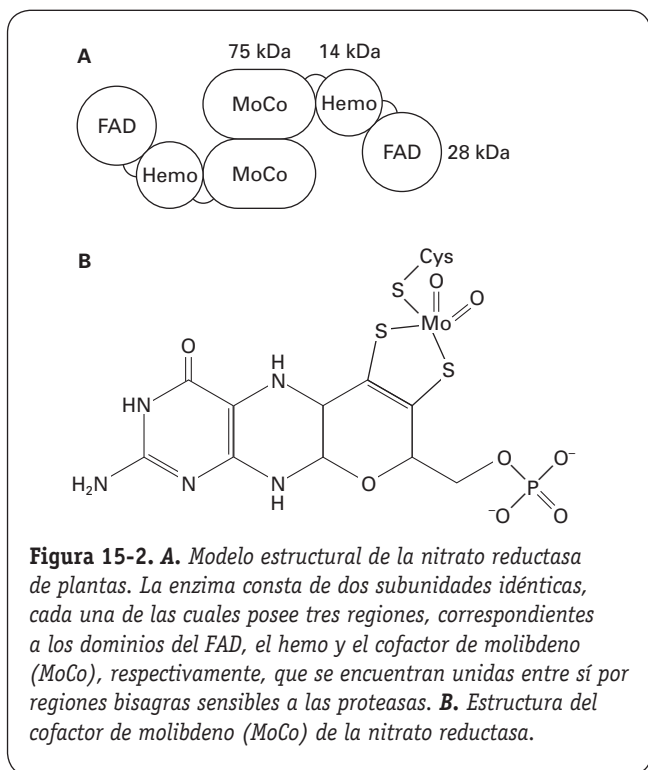


El poder reductor requerido se genera en las reacciones lumínicas de la fotosíntesis o en la glucólisis y respiración (véase el apartado 2.5).

2.2.1. Nitrato reductasa

El poder reductor para la reducción del nitrato en algas y plantas superiores es suministrado por piridín-nucleótidos reducidos, siendo el NADH la forma más común. Algunas plantas, como la cebada, poseen dos isoformas de NR, una que es específica de NADH y otra que puede usar tanto NADH como NADPH como donador de electrones. La NR se localiza en el citosol, aunque en algunas especies se ha descrito que parte de la enzima también se puede encontrar débilmente unida al plasmalema o a la membrana externa del cloroplasto.

La NR es un homodímero con una masa molecular de 200-230 kDa. Cada una de las dos subunidades (100-115 kDa) contiene FAD, hemo (citocromo b_{557}) y un cofactor de molibdeno (MoCo) como grupos prostéticos redox. El MoCo es un complejo entre un átomo de molibdeno y una pterina fosforilada (Fig. 15-2). Dicho cofactor también se encuentra presente en las enzimas sulfito oxidasa, que participan en la detoxificación del exceso de azufre; la xantina deshidrogenasa, esencial en la degradación de purinas; y la aldehído oxidasa, que cataliza la etapa final de la biosíntesis del ácido abscísico (Mendel, R.F. y Hänsch, R. *Journal of Experimental Botany* 53:1689-1698, 2002). El análisis de la secuencia de aminoácidos de la NR, y su comparación con las secuencias conocidas de otras proteínas, han permitido identificar en la molécula tres fragmentos funcionales de 28 kDa, 14 kDa y 75 kDa que se corresponden con los dominios del FAD, hemo y MoCo, respectivamente. Los tres dominios están unidos entre sí por regiones bisagras hidrófilas que son muy susceptibles al ataque de las proteasas (Fig. 15-2). Los electrones suministrados por el NADH son transportados, a través de



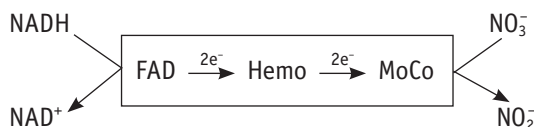
El sirohemo es una tetrahidroporfirina de hierro del tipo de la isobacterioclorina que también se encuentra en la enzima sulfito reductasa (véase el apartado 3.2). La NiR y la sulfito reductasa poseen en común, asimismo, la característica de que son enzimas que catalizan reacciones de reducción que suponen la transferencia de seis electrones.

Al igual que otras muchas proteínas cloroplásticas, la NiR es codificada por un gen nuclear y sintetizada en el citosol en forma de una proteína precursora que posee en su extremo N-terminal un fragmento de unos 30 aminoácidos que constituye el péptido de tránsito. Dicho péptido actúa como señal de paso a través de la envoltura del cloroplasto, escindiéndose posteriormente y liberándose en el interior la proteína madura (Fig. 15-3).

2.3. La asimilación del nitrato está regulada por la luz y por los metabolitos nitrogenados y carbonados

Diversas señales regulan la síntesis y la actividad de la NR y la NiR de forma coordinada. Los tejidos verdes de la planta poseen mucha más actividad NiR que NR, probablemente con el fin de asegurar que todo el nitrito producido por la NR sea

las coenzimas redox FAD, hemo y MoCo, hasta el nitrato que, como resultado, es reducido a nitrito:



La NR es codificada por un único gen. Las dos isoformas de NR existentes en la cebada son codificadas por genes estructurales distintos. La biosíntesis del MoCo y su posterior ensamblaje a la apoenzima están controlados por entre tres y seis genes (según la especie), que son esenciales, por tanto, para la formación de NR activa.

2.2.2. Nitrito reductasa

La NiR cataliza la reducción del nitrito a amonio en una reacción de seis electrones que son suministrados por la ferredoxina reducida. Se encuentra en los cloroplastos de las hojas y en los plastidios de las raíces. La NiR de las plantas es un monómero con una masa molecular de 60-63 kDa; contiene un centro sulfoférrico del tipo [4Fe-4S] y un sirohemo como grupos prostéticos redox involucrados en la transferencia de los electrones de la ferredoxina reducida al nitrito:

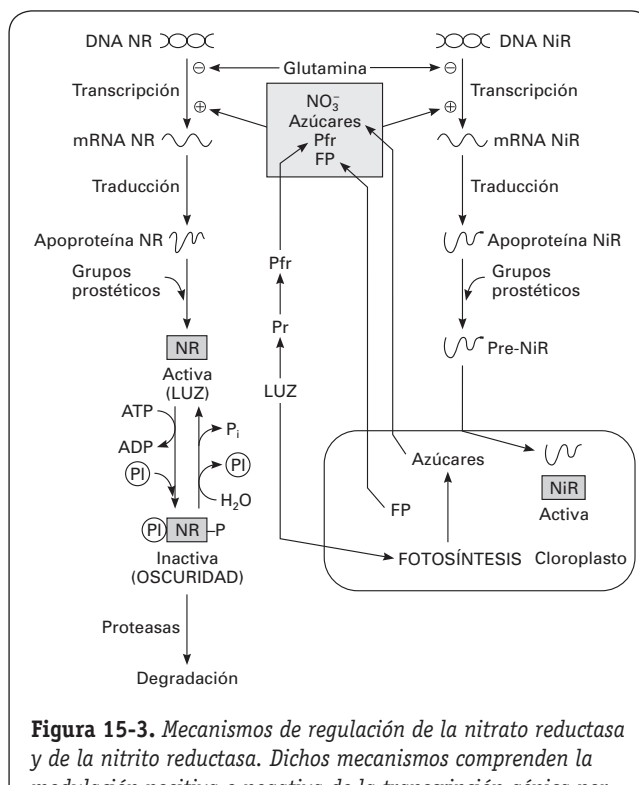
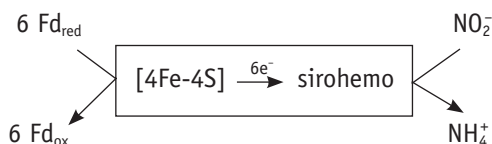


Figura 15-3. Mecanismos de regulación de la nitrato reductasa y de la nitrito reductasa. Dichos mecanismos comprenden la modulación positiva o negativa de la transcripción génica por diversos metabolitos y señales, así como la regulación de la actividad de la nitrato reductasa por fosforilación reversible en respuesta a los cambios luz/oscuridad. FP: factor plastídico; NiR: nitrito reductasa; NR: nitrato reductasa; P_i: fosfato inorgánico; PI: proteína inhibidora; Pr y Pfr: formas inactiva y activa, respectivamente, del fitocromo.

reducido, evitando así su acumulación y los consiguientes efectos tóxicos. El nitrato es la principal señal que controla la síntesis de NR y de NiR. Ambas enzimas **son inducibles por el nitrato**, aunque algunas especies también poseen formas constitutivas de NR y NiR. Tras la adición de nitrato se produce una rápida activación de la transcripción de los genes de NR y de NiR (Fig. 15-3).

Aunque el nitrato es el inductor primario de la expresión de la NR y la NiR, **la luz incrementa la transcripción** de ambos genes y el nivel de las proteínas que codifican. El efecto estimulador de la luz está mediado por el **fitocromo** (véase el Capítulo 23), así como por **productos de la fijación fotosintética del CO₂**, como lo sugiere el hecho de que la adición de azúcares (glucosa, fructosa o sacarosa) a hojas mantenidas en oscuridad también promueve la inducción de NR y NiR. La expresión de los genes de la NR y la NiR exige, además, que los cloroplastos sean funcionales, habiéndose propuesto que un componente originado en los cloroplastos (**factor plastídico**), de naturaleza aún desconocida, actúa como señal necesaria para que el nitrato y la luz puedan activar la transcripción.

La acumulación de metabolitos nitrogenados, como la glutamina o el glutamato, que son productos finales de la ruta asimiladora del nitrógeno, reprime la síntesis de NR y NiR. Todo ello sugiere que ambas enzimas también se regulan por la proporción entre azúcares y aminoácidos, lo que constituye una prueba de que el metabolismo del nitrógeno y el del carbono están coordinados y regulados entre sí (véase el apartado 2.5). En los tejidos vegetales existen **proteasas** con una alta especificidad por la NR, por lo que el nivel de esta enzima dependería de sus tasas relativas de síntesis y degradación.

Los mecanismos de regulación de síntesis y degradación antes descritos son procesos que pueden tardar horas en producirse. La NR, sin embargo, está sujeta, además, a un mecanismo de **regulación postraducciona** que origina cambios rápidos (en minutos) y reversibles de su actividad —**activación e inactivación**— en respuesta a la luz y a la oscuridad. Dichos cambios se producen como resultado de una **fosforilación reversible de la proteína** (Fig. 15-3). En la oscuridad, la NR es fosforilada con ATP, en un residuo de serina, por una proteína quinasa específica. A la enzima fosforilada se une entonces, en presencia de Mg²⁺ o de Ca²⁺, una proteína inhibidora de la familia de las proteínas reguladoras 14-3-3, originando la inactivación de la NR. En la luz, el complejo NR fosforilada-proteína inhibidora es desfosforilado por una proteína fosfatasa del tipo 2A, lo que produce la disociación de la proteína inhibidora y la consiguiente reactivación de la NR. La NR fosforilada, unida a la proteína inhibidora 14-3-3, es muy sensible a la acción de las proteasas, por lo que en condiciones de oscuridad prolongada es degradada (Kaiser, W.M. y Huber, S.C. *Journal of Experimental Botany* 52:1981-1989, 2001).

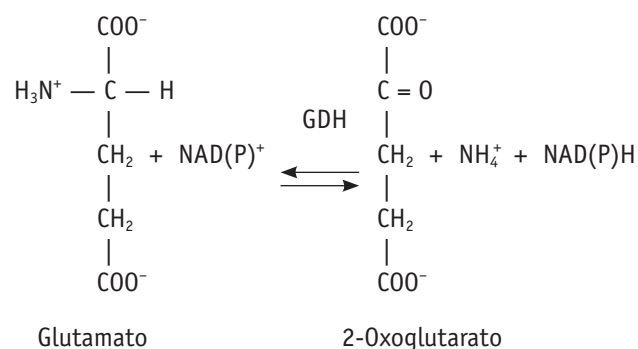
Es interesante mencionar el hecho de que la actividad de la sacarosa-fosfato sintasa, enzima clave en la biosíntesis de sacarosa en las hojas, también se regula como respuesta a la luz y a la oscuridad mediante un mecanismo de fosforilación reversible similar al de la NR. Esta regulación pos-

traducciona conjunta de ambas enzimas permite a la planta paralizar, de forma rápida y transitoria, tanto la asimilación del nitrógeno como la del carbono cuando, como sucede en la oscuridad, cesa la formación fotosintética del ATP y del poder reductor requeridos para ambos procesos.

2.4. El amonio generado en distintos procesos metabólicos se asimila a través del ciclo GS-GOGAT para la síntesis de aminoácidos

En los tejidos vegetales se produce amonio en diversos procesos metabólicos, entre los que destacan los siguientes (Fig. 15-4):

1. **Reducción del nitrato y fijación del nitrógeno molecular.** El conjunto de ambos procesos se denomina «asimilación primaria del nitrógeno».
2. **Fotorrespiración.** En la conversión de glicina a serina en la mitocondria se libera amonio que, en su mayor parte, es reasimilado en el cloroplasto con un elevado coste energético (véase el Capítulo 12). La cantidad de amonio que se genera en los tejidos verdes de la planta por fotorrespiración es hasta 10 veces superior a la producida por reducción del nitrato. Dicho amonio es rápidamente «reasimilado» para evitar su acumulación tóxica y la pérdida de nitrógeno en el tejido.
3. **Catabolismo de proteínas.** Durante la germinación de la semilla y en la senescencia foliar, el nitrógeno proteico es movilizado mediante la hidrólisis de las proteínas de reserva con el fin de suministrar nitrógeno orgánico a los órganos en crecimiento. Gran parte de los aminoácidos resultantes de dicha hidrólisis son convertidos en glutamato, que es desaminado por acción de la **glutamato deshidrogenasa** (GDH), produciendo amonio:



La GDH también cataliza la reacción en sentido opuesto, esto es, sintetizando glutamato mediante la aminación reductiva del 2-oxoglutarato. De hecho, la reacción en este sentido fue considerada durante muchos años como la ruta de asimilación del amonio en las plantas. Sin embargo, el papel de la GDH en la asimilación del amonio fue cuestionado cuando, más tarde, se descubrió el ciclo GS-GOGAT (véase el siguiente párrafo). Se ha encontrado que la GDH se induce de forma acusada en las plantas expuestas a altas concentraciones de amonio, lo que sugiere que, en dichas condiciones,

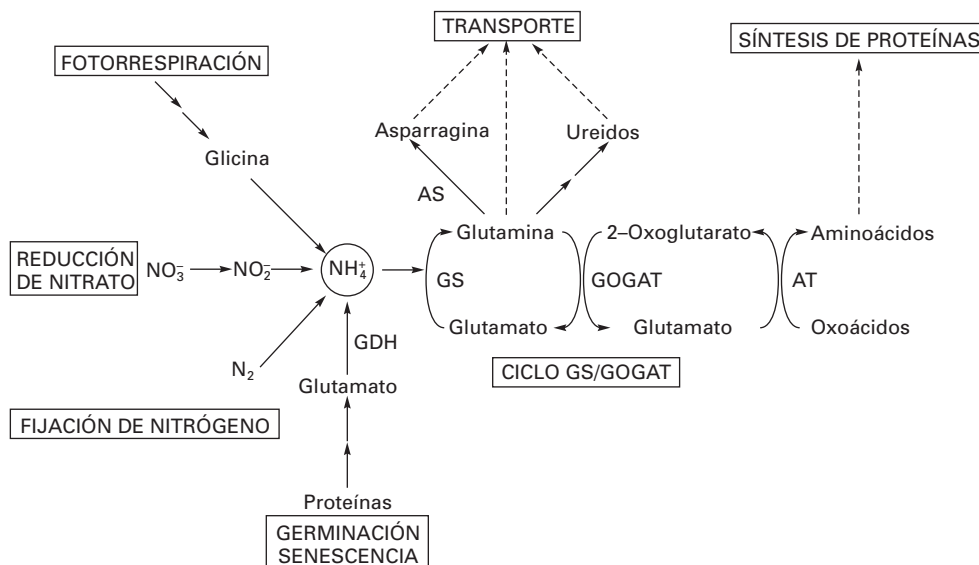


Figura 15-4. Procesos metabólicos que generan amonio en los tejidos vegetales, y su asimilación y transporte. AS: asparagina sintetasa; AT: aminotransferasas; GDH: glutamato deshidrogenasa; GOGAT: glutamato sintasa; GS: glutamina sintetasa.

la enzima puede tener una actividad asimiladora actuando como sistema de detoxificación del amonio.

El amonio directamente absorbido por la planta, o el producido metabólicamente en los tejidos, es asimilado o reasimilado, por la actuación en tándem de las enzimas **glutamina sintetasa (GS)** y **glutamato sintasa (GOGAT: glutamina: 2-oxoglutarato amido-transferasa)**, que constituyen el denominado **ciclo GS-GOGAT** (Figs. 15-4 y 15-5). En primer lugar, la GS cataliza la incorporación, dependiente de ATP, del amonio en una molécula de glutamato para formar

glutamina. A continuación, la GOGAT cataliza la transferencia reductiva del grupo amido de la glutamina al C-2 del 2-oxoglutarato, produciéndose dos moléculas de glutamato (Fig. 15-5). De las dos moléculas de glutamato formadas, una de ellas es reciclada, y la segunda transfiere su grupo amino a diversos oxoácidos, en reacciones catalizadas por las **aminotransferasas** (transaminasas), para la síntesis de los restantes aminoácidos.

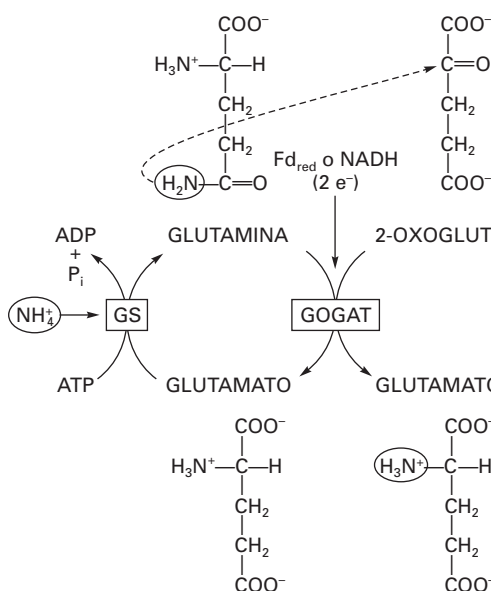


Figura 15-5. Asimilación del amonio por el ciclo GS-GOGAT. GS: glutamina sintetasa; GOGAT: glutamato sintasa.

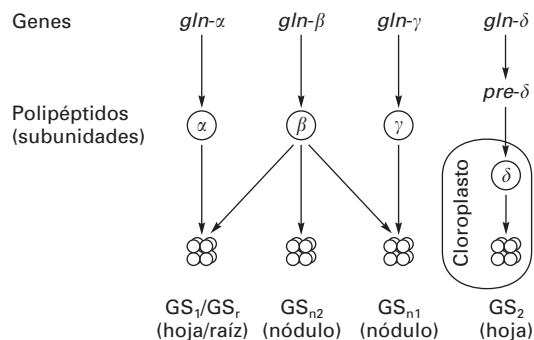


Figura 15-6. Genes e isoformas de glutamina sintetasa (GS) en *Phaseolus vulgaris*. Las distintas isoformas de GS son codificadas por una familia de genes nucleares. Los genes α , β y γ codifican los polipéptidos que constituyen las subunidades de las isoformas citosólicas de GS. El gen *gln-δ* codifica un polipéptido precursor (*pre-δ*) que posee en su extremo N-terminal un péptido de tránsito de unos 50 aminoácidos que, al escindir, libera en el interior del cloroplasto el polipéptido δ , que constituye la subunidad integrante de la isoforma cloroplástica de GS. (Adaptado de B. G. Forde y J. V. Cullimore, en: Oxford Surveys of Plant Molecular and Cell Biology. B. J. Mifflin (ed.). Oxford University Press, Oxford, pp. 246-296, 1989.)

Los estudios con plantas mutantes deficientes o con actividad reducida de GS o de GOGAT, el empleo de inhibidores específicos de dichas enzimas, y los experimentos de marcaje tras la aplicación de $^{15}\text{NH}_4^+$ han permitido establecer que el ciclo GS-GOGAT constituye la principal ruta de asimilación del amonio en las plantas. Obsérvese que la asimilación de una molécula de amonio para la síntesis neta de una molécula de glutamato consume un ATP y dos electrones proporcionados por la ferredoxina reducida o por la NADH. Por tanto, el proceso global de asimilación de una molécula de nitrato en glutamato consume un total de diez electrones.

El nitrógeno asimilado, o reasimilado, puede ser también destinado al transporte a otros órganos. Las amidas **glutamina** y **asparagina**, cuyas moléculas contienen dos átomos de nitrógeno, son los aminoácidos preferentemente utilizados por la planta como **compuestos transportadores de nitrógeno** a larga distancia (Fig. 15-4). En las leguminosas de origen tropical y subtropical, el nitrógeno fijado y asimilado en los nódulos es transportado mayoritariamente en forma de ureidos (véase el Capítulo 16).

2.4.1. Glutamina sintetasa

La **glutamina sintetasa** (GS) de las plantas es una proteína octamérica con una masa molecular de 320-360 kDa, y posee una alta afinidad por el amonio ($K_m = 3-5 \mu\text{M}$). Existen varias **isoformas de GS** con diferente composición de subunidades y distinta localización subcelular. Los diferentes polipéptidos o subunidades que componen las diversas isoformas de GS son codificados por una **familia de genes nucleares**. En la Figura 15-6 se muestra la familia de genes GS de *Phaseolus* y sus productos de transcripción. Cada gen codifica una subunidad diferente de entre 40 y 48 kDa. Las subunidades se ensamblan posteriormente para formar homooctámeros o heterooctámeros.

En las hojas se encuentran dos isoformas de GS: **GS1**, que se localiza en el **citósol**, y **GS2**, que se encuentra en los **cloroplastos**. La GS2 (cloroplástica) es la isoforma predominante en las hojas y en los cotiledones verdes, en donde participa en la asimilación del amonio producido en la reducción del nitrato y en la reasimilación del amonio que se libera durante la fotorrespiración (véase el Capítulo 12). Por el contrario, en los tejidos etiolados y en las hojas y cotiledones senescentes, en los cuales tiene lugar una intensa actividad proteolítica, los niveles de GS1 son superiores a los de GS2. En estos casos, la función de la GS citosólica sería la de reasimilar el amonio liberado en el catabolismo de los aminoácidos para formar glutamina y asparagina para el transporte de nitrógeno a los órganos en crecimiento (véase el apartado 2.4.3). Este posible papel de la GS1 viene apoyado por el hecho de que los genes que codifican dicha isoforma muestran una elevada expresión en las células acompañantes del floema. En la raíz y en los nódulos radicales de las leguminosas noduladas han sido identificadas isoformas citosólicas de GS específicas de dichos órganos. La isoforma de la raíz (GS_r) es la encargada de asimilar en dicho tejido el

amonio absorbido del suelo y el producido por la reducción del nitrato, mientras que la isoforma de los nódulos (GS_n), cuya síntesis se induce durante el proceso de infección y el desarrollo del nódulo, se encarga de asimilar el amonio producido por la reducción del nitrógeno molecular (véase el Capítulo 16).

La regulación de la GS se ejerce principalmente sobre la **transcripción diferencial** de los distintos genes de la familia. En efecto, dichos genes se expresan de forma distinta según el tipo de célula, el grado de desarrollo del tejido, y en respuesta a factores nutricionales y ambientales. La luz activa en las hojas la transcripción del gen que codifica el polipéptido que compone la GS cloroplástica, promoviendo así su síntesis. Al igual que sucede con la NR y la NiR, el efecto positivo de la luz sobre la inducción de la GS2 se ejerce a través del fitocromo y de la sacarosa u otros azúcares fotosintetizados. La máxima inducción de la GS2 requiere, además, la funcionalidad de los cloroplastos. El nitrato y el amonio también estimulan su síntesis. En la oscuridad, y durante la senescencia foliar, se incrementa la síntesis de la GS1 en detrimento de la GS2, por lo que en tales condiciones la isoforma citosólica sería la encargada de sintetizar glutamina (Tobin, A.K. y Yamaya, T. *Journal of Experimental Botany* 52:591-604, 2001).

2.4.2. Glutamato sintasa

La **glutamato sintasa** (GOGAT) cataliza la transferencia reductiva del grupo amido de la glutamina al 2-oxoglutarato para producir dos moléculas de glutamato (Fig. 15-5). En las plantas superiores existen dos formas de GOGAT, una dependiente de ferredoxina (Fd-GOGAT) y otra dependiente de NADH (NADH-GOGAT) como donadores de electrones.

La **Fd-GOGAT** es una proteína monomérica con una masa molecular de entre 150 y 180 kDa, según la especie. El análisis de la secuencia de aminoácidos de la proteína revela la existencia de una región de unión de FMN, lo que sugiere que podría tratarse de una flavoproteína. La Fd-GOGAT es la isoforma más abundante en los tejidos verdes, y se localiza en los cloroplastos. Allí, en colaboración con la GS cloroplástica, participa en la asimilación primaria del amonio y en la reasimilación del amonio fotorrespirado. La luz, a través del fitocromo, es la principal señal que induce la síntesis de la Fd-GOGAT en las hojas. Como ocurre con otras enzimas de la asimilación del nitrógeno (NR, NiR y GS2), la sacarosa induce la actividad Fd-GOGAT en la oscuridad. La enzima también aumenta como respuesta al nitrato y al amonio.

La **NADH-GOGAT** es un monómero con una masa molecular de, aproximadamente, 200 kDa, que también posee un sitio de unión a FMN. En las hojas, los niveles de NADH-GOGAT son considerablemente inferiores a los de Fd-GOGAT. En cambio, es la isoforma más abundante en los tejidos no fotosintéticos, tales como raíces, nódulos o los tejidos etiolados. En la raíz participa en la asimilación primaria del nitrógeno. La NADH-GOGAT de los nódulos de las leguminosas desempeña un papel importante en la asimilación del amonio producido

por la nitrogenasa, como se infiere del hecho de que su síntesis se incrementa durante el desarrollo del nódulo de forma paralela a la síntesis de nitrogenasa, leghemoglobina y GS nodular (véase el Capítulo 16).

2.4.3. Síntesis de aspartato y asparragina

Tras su asimilación inicial en glutamina y glutamato, el nitrógeno es incorporado a otros aminoácidos mediante reacciones de transaminación catalizadas por las enzimas denominadas transaminasas o aminotransferasas. Un ejemplo de ellas es la **aspartato aminotransferasa**, que cataliza la transferencia reversible del grupo amino del glutamato al oxalacetato, produciendo 2-oxoglutarato y aspartato (Fig. 15-7). El **aspartato** constituye uno de los productos iniciales de la asimilación del nitrógeno y desempeña un papel importante en la transferencia de nitrógeno y de carbono entre compartimientos celulares y entre células, como sucede en ciertas especies de plantas C4 (véase el Capítulo 12).

El aspartato es también el precursor metabólico de la **asparragina**. Este aminoácido no sólo forma parte de las proteínas, sino que también desempeña una importante función en el transporte y el almacenamiento del nitrógeno, como lo demuestra el hecho de que constituye uno de los compuestos nitrogenados más abundantes en la disolución del floema de la mayoría de las plantas, incluidas las leguminosas de origen templado (amídicas). La asparragina, al igual que la glutamina, posee en su molécula dos átomos de nitrógeno: un N amino y un N amido. Sin embargo, la primera contiene cuatro átomos de carbono y la segunda, cinco. Ello convierte a la asparragina en un aminoácido transportador de nitrógeno más económico que la glutamina en cuanto a gasto de carbono, lo cual es de gran importancia para la planta en situaciones de déficit de carbono.

La síntesis de asparragina está catalizada por la enzima **asparragina sintetasa (AS)**, la cual transfiere el grupo amido de la glutamina al aspartato para producir glutamato y asparragina. La reacción requiere la hidrólisis de ATP hasta AMP y pirofosfato (Fig. 15-7). En las bacterias existen dos isoformas de AS, una dependiente de glutamina y otra dependiente de amonio como donadores del grupo amido. Sin embargo, la AS de las plantas utiliza preferentemente glutamina. La afinidad de la enzima por la glutamina es mucho mayor que por el amonio. Por otra parte, la AS de las plantas posee en su molécula el dominio de unión a la glutamina característico de todas las amidotransferasas dependientes de glutamina. No obstante, en situaciones de elevadas concentraciones del amonio en el tejido, la AS podría actuar como un sistema de detoxificación de amonio sintetizando asparragina como reserva temporal de nitrógeno. La AS es una enzima citosólica que, al igual que la GS1, también se expresa en las células acompañantes del floema, lo que sugiere que ambas trabajan de forma concertada en la síntesis de asparragina para el transporte de nitrógeno a larga distancia.

Los niveles de asparragina en los tejidos, así como la expresión del gen AS, aumentan en situaciones que originan un déficit de carbono en la planta, como, por ejemplo, en la oscuridad prolongada. Dichos aumentos también se observan en procesos tales como la germinación, la senescencia foliar, la infección por patógenos o estados de estrés, en los que se incrementan la proteólisis y el catabolismo de aminoácidos, originando una acumulación de amonio en los tejidos. La estimulación de la síntesis de asparragina en tales situaciones serviría para retirar y almacenar dicho amonio, evitando sus efectos tóxicos, así como para exportar el nitrógeno movilizado a otras partes de la planta.

La luz reprime la expresión del gen AS a través del fitocromo y de los azúcares fotosintetizados (por ejemplo, sacarosa). El efecto represor de la sacarosa es contrarrestado por

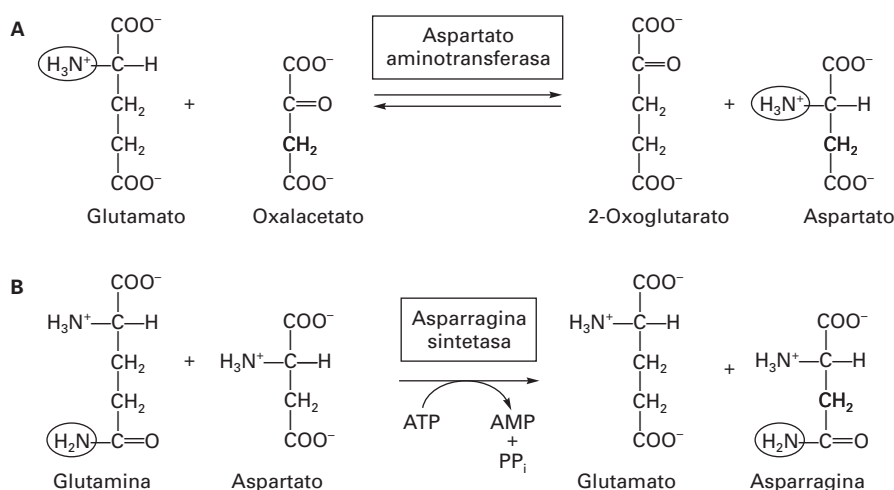


Figura 15-7. A. Síntesis de aspartato mediante la transferencia del grupo amino del glutamato al oxalacetato, catalizada por la aspartato aminotransferasa. **B.** Síntesis de asparragina por transferencia del grupo amido de la glutamina al aspartato, catalizada por la asparragina sintetasa.

los aminoácidos, lo que sugiere que la AS está sujeta a una regulación metabólica por la proporción relativa de metabolitos carbonados y nitrogenados, o lo que es lo mismo, por la razón carbono/nitrógeno orgánicos (Herrera-Rodríguez, M.B., Maldonado, J.M. y Pérez-Vicente, R. *Plant Physiology and Biochemistry* 42:511-518, 2004).

2.5. El metabolismo del nitrógeno y el del carbono están interconectados y se regulan recíprocamente para mantener la adecuada proporción interna C/N

La asimilación del nitrógeno por las plantas requiere **poder reductor, ATP y esqueletos carbonados**. El poder reductor y el ATP pueden ser suministrados por las reacciones lumínicas de la fotosíntesis, o por la glucólisis y la respiración (véanse los Capítulos 10 y 14). Los esqueletos carbonados

son proporcionados por la oxidación de carbohidratos que, en último término, son formados por reducción fotosintética del carbono. La asimilación del nitrógeno es, por tanto, un proceso íntimamente conectado al metabolismo del carbono. En la Figura 15-8 se ilustran esquemáticamente dichas interconexiones.

La reducción del nitrato a amonio y su posterior asimilación en glutamato requieren diez electrones, de los cuales dos son usados en el citosol como NADH por la NR, y los ocho restantes son utilizados en el cloroplasto en forma de ferredoxina reducida (seis por la NiR y dos por la Fd-GOGAT). En las hojas, el NADH necesario para la reducción del nitrato a nitrito proviene, en su mayor parte, del NADPH generado fotosintéticamente en los cloroplastos, y que es exportado al citosol mediante las lanzaderas triosa fosfato-fosfoglicerato y malato-oxalacetato. En los tejidos no fotosintéticos, como la raíz, el NADH requerido por la NR es producido por el ciclo de los ácidos tricarbóxicos en la mitocondria, y exportado al citosol mediante la lanzadera malato-oxalacetato. En las hojas, la ferredoxina reducida que precisan la NiR y la Fd-GOGAT

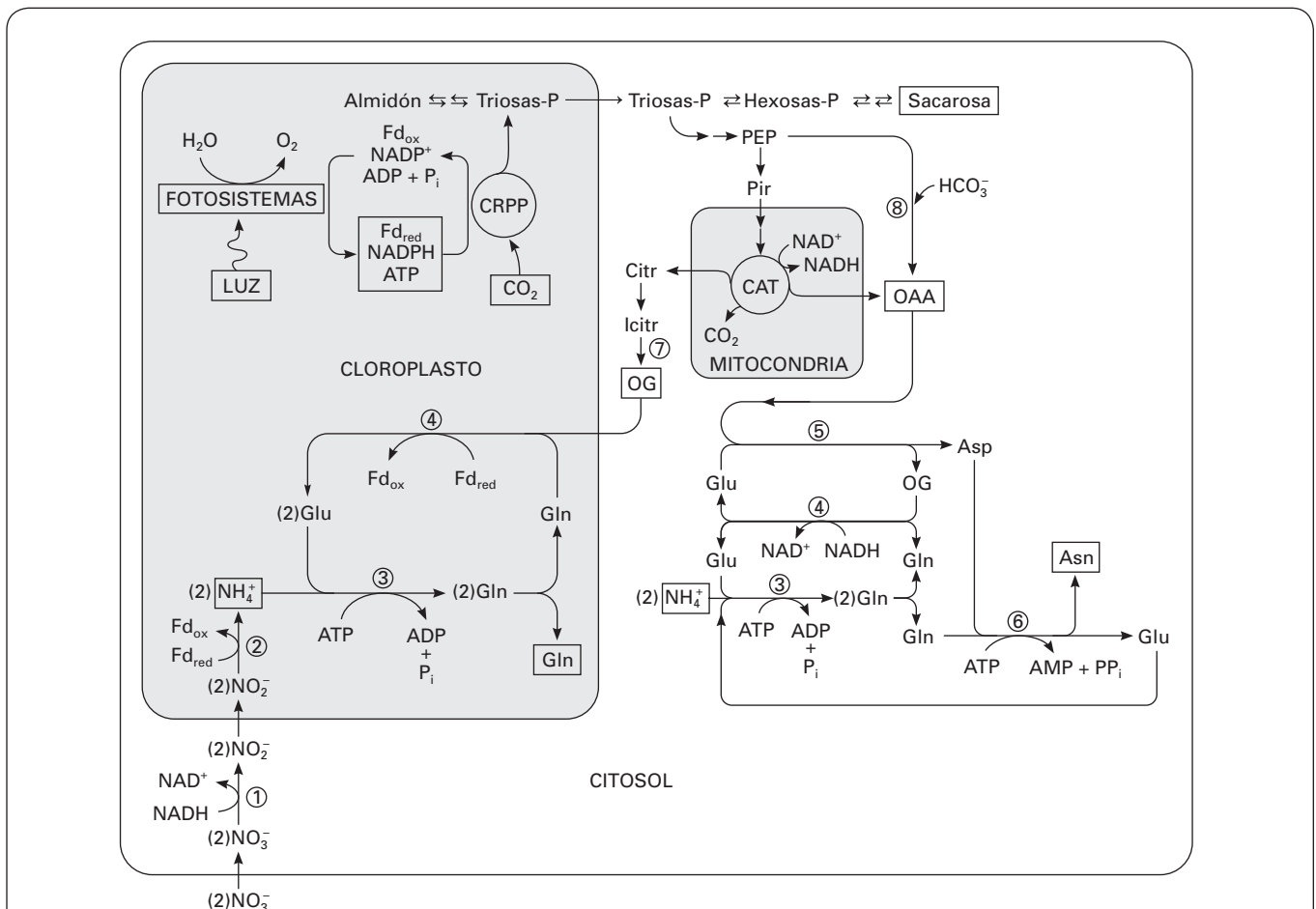


Figura 15-8. Conexiones entre el metabolismo del nitrógeno y el del carbono. Asn: asparagina; Asp: aspartato; CAT: ciclo de los ácidos tricarbóxicos; Citr: citrato; CRPP: ciclo reductor de las pentosas fosfato; Fd_{ox} y Fd_{red}: formas oxidada y reducida, respectivamente, de la ferredoxina; Glu: glutamato; Gln: glutamina; Icitr: isocitrato; OAA: oxalacetato; OG: 2-oxoglutarato; PEP: fosfoenolpiruvato; P_i: fosfato inorgánico; Pir: piruvato; PP_i: pirofosfato. Enzimas: 1) nitrato reductasa; 2) nitrito reductasa; 3) glutamina sintetasa; 4) glutamato sintasa; 5) aspartato aminotransferasa; 6) asparagina sintetasa; 7) isocitrato deshidrogenasa; 8) fosfoenolpiruvato carboxilasa.

se genera fotoquímicamente en el cloroplasto, mientras que, en la raíz, se forma a partir del NADPH producido en la vía oxidativa de las pentosas fosfato. En los plastidios de las células radicales se encuentran formas específicas de ferredoxina y de ferredoxina NADP⁺- oxidoreductasa, enzima que reduce la ferredoxina con NADPH.

La síntesis neta de una molécula de glutamina o de asparragina requiere la asimilación de dos moléculas de amonio y el aporte de una molécula de 2-oxoglutarato o de oxalacetato, respectivamente, como esqueletos carbonados. Dichos oxoácidos, o precursores de ellos, provienen del ciclo de los ácidos tricarbónicos (Fig. 15-8). La actividad fosfoenolpiruvato carboxilasa contribuye a la formación de oxalacetato para la síntesis de asparragina o para el mantenimiento del acervo de ácidos orgánicos. Dicha contribución es cuantitativamente muy importante en el proceso de asimilación del amonio en los nódulos de las leguminosas.

La asimilación del nitrógeno origina, pues, un flujo de carbono desde carbohidratos hasta aminoácidos. En ausencia de fotosíntesis, el almidón o la sacarosa pueden suministrar dicho carbono. En la luz, los azúcares que se sintetizan en el ciclo reductivo de las pentosas fosfato constituyen la fuente última de esqueletos carbonados para sustentar la síntesis de aminoácidos. Así pues, en los tejidos fotosintéticos, el carbono asimilado se reparte entre la formación de carbohidratos y la síntesis de aminoácidos. El flujo de carbono orgánico hacia una u otra vía se modula a través de la regulación de enzimas claves de ambas rutas, como respuesta, principalmente, a la luz y a la disponibilidad de carbono

y nitrógeno. Por su relevancia metabólica y fisiológica, la glutamina y la asparragina son, probablemente, los dos productos más importantes de la asimilación y la reasimilación del nitrógeno en la planta. Ambos aminoácidos constituyen un importante punto de conexión entre el metabolismo del carbono y el del nitrógeno.

Como se ha descrito en apartados anteriores, y se resume en la Figura 15-9, las respectivas síntesis de glutamina y de asparragina se encuentran reguladas de forma opuesta por aquellos factores o señales que modifican la disponibilidad y los niveles internos de nitrógeno y de carbono. En la luz, o cuando hay suficiente disponibilidad de carbono (la razón C/N es alta), se inducen las isoenzimas GS2 y Fd-GOGAT, mientras que la AS permanece reprimida, con lo cual la asimilación del amonio se canaliza fundamentalmente hacia la síntesis de glutamina. En cambio, en la oscuridad prolongada, que produce una limitación de carbono, o durante los procesos catabólicos que dan lugar a una acumulación de amonio en los tejidos (baja razón C/N), se induce la AS y se favorece la formación de asparragina. En estos casos la glutamina requerida para la síntesis de asparragina es suministrada por la acción coordinada de las isoenzimas citosólicas GS1 y NADH-GOGAT, que en estas condiciones son las predominantes frente a sus respectivas formas plastídicas, GS2 y Fd-GOGAT. Puesto que la molécula de asparragina (4C:2N) contiene menos carbono que la de glutamina (5C:2N), su síntesis para el transporte y el almacenamiento de nitrógeno resulta más económica en términos de consumo de carbono.

Del mismo modo que el metabolismo del nitrógeno es regulado por los metabolitos carbonados, la expresión de

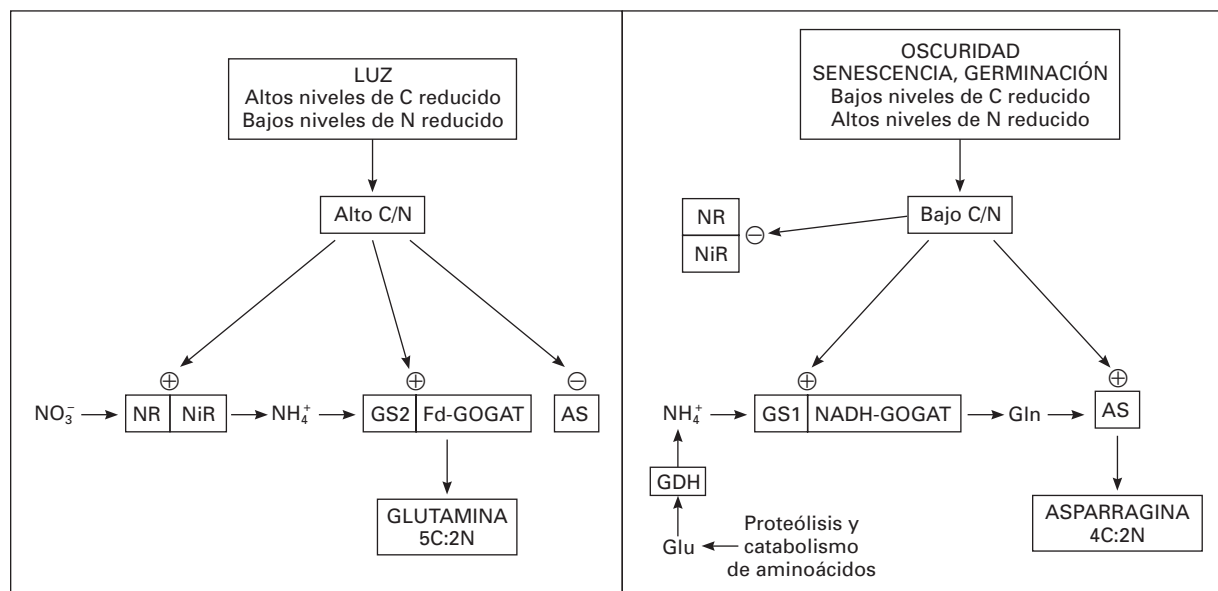


Figura 15-9. Regulación diferencial de la síntesis de glutamina y de asparragina por la disponibilidad de carbono y de nitrógeno reducido. La síntesis de asparragina es más eficiente que la de glutamina en cuanto a consumo de carbono orgánico. Ambos aminoácidos poseen dos átomos de nitrógeno, pero la glutamina contiene cinco átomos de carbono mientras que la asparragina tiene únicamente cuatro. Los signos (+) y (-) denotan inducción y represión, respectivamente, de las enzimas indicadas. AS: asparragina sintetasa; GDH: glutamato deshidrogenasa; Gln: glutamina; Glu: glutamato; GOGAT: glutamato sintasa; GS1 y GS2: isoenzimas citosólica y plastídica, respectivamente, de la glutamina sintetasa; NiR: nitrito reductasa; NR: nitrato reductasa.

muchos genes del metabolismo del carbono se regula por compuestos nitrogenados (Fig. 15-10). Así, el nitrato no sólo induce los genes que codifican las enzimas necesarias para su reducción y posterior asimilación, sino que también actúa como señal reguladora positiva de genes involucrados en el metabolismo respiratorio de los carbohidratos, y como señal negativa de genes requeridos para la biosíntesis de los mismos. De esta forma, el nitrato estimula el flujo de carbono hacia la formación de ácidos orgánicos, los cuales son necesarios como esqueletos carbonados para la biosíntesis de los aminoácidos. Esta regulación recíproca entre los metabolismos del carbono y del nitrógeno permite a la planta coordinar las velocidades de biosíntesis de carbohidratos y de aminoácidos, con el fin de mantener el adecuado balance interno C/N.

2.6. El nitrógeno absorbido es asimilado, transportado y movilizado durante el desarrollo de la planta

Como resultado de la actividad metabólica de las bacterias nitrificantes, la mayor parte del nitrógeno inorgánico del suelo se encuentra en forma de nitrato. El nitrato absorbido

por la raíz puede ser reducido y asimilado en la propia raíz, o ser transportado a la parte aérea de la planta, donde es asimilado (Fig. 15-11). Cuando en el suelo existe amonio, éste también puede ser absorbido; no obstante, al ser bastante tóxico, la mayoría de las plantas evita su acumulación incorporándolo rápidamente en los aminoácidos. Parte del nitrógeno asimilado en la raíz se exporta a la parte aérea, principalmente en forma de glutamina y asparragina.

Del total del nitrato absorbido del suelo por la planta, las proporciones que se asimilan en la raíz o en las hojas dependen tanto de factores externos como de factores intrínsecos de la propia planta. Así, si existe una baja concentración de nitrato en el suelo, una elevada proporción del total absorbido es reducida en la raíz, mientras que si hay suficiente nitrato disponible, la mayor parte es transportada al vástago, donde puede acumularse tanto en el tallo como en las hojas. Las vacuolas constituyen el principal sitio de almacenamiento del nitrato. La acumulación de nitrato es especialmente frecuente en representantes de las familias *Cruciferae*, *Compositae*, *Gramineae*, *Solanaceae* y, sobre todo, en las llamadas plantas nitrófilas, como *Chenopodium album*, *Anthriscus sylvestris* o *Urtica dioica*. Asimismo, muchas halófitas pueden acumular nitrato, en lugar de cloruro, como ion osmóticamente activo.

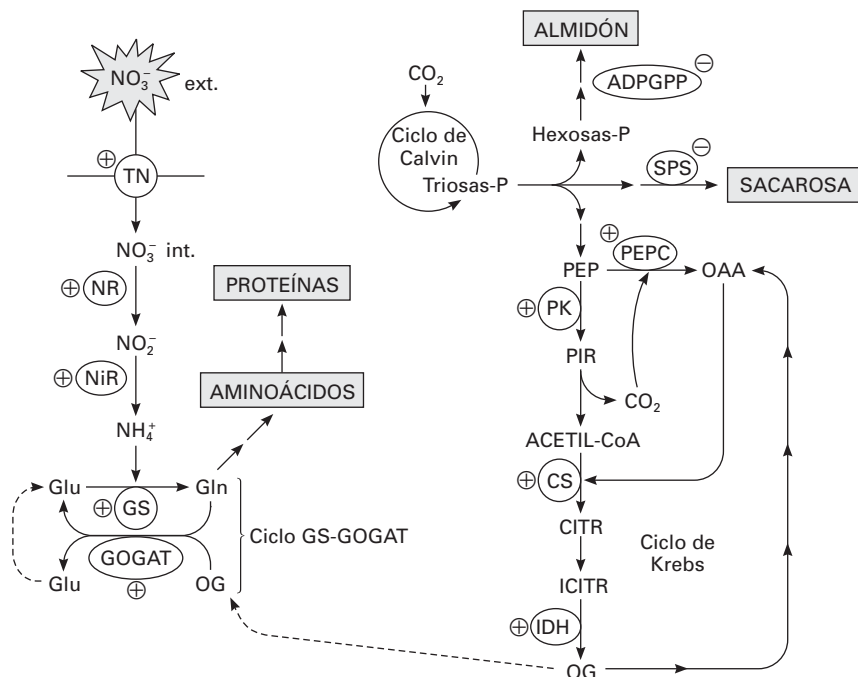


Figura 15-10. El nitrato constituye una señal reguladora del metabolismo del nitrógeno y del metabolismo del carbono. El nitrato induce los genes requeridos para la absorción y reducción del nitrato, la asimilación del amonio, y la síntesis de esqueletos carbonados, como el 2-oxoglutarato, exigidos para la formación de aminoácidos. En cambio, el nitrato reprime los genes involucrados en la biosíntesis de carbohidratos. Los signos (+) y (-) denotan inducción y represión, respectivamente, de las enzimas indicadas. CITR: citrato; Gln: glutamina; Glu: glutamato; ICITR: isocitrato; OAA: oxalacetato; OG: 2-Oxoglutarato; PEP: fosfoenolpiruvato; PIR: piruvato; Enzimas: ADPGPP: ADP-glucosa pirofosforilasa; CS: citrato sintasa; GOGAT: glutamato sintasa; GS: glutamina sintetasa; IDH: isocitrato deshidrogenasa; NiR: nitrato reductasa; NR: nitrato reductasa; PEPC: fosfoenolpiruvato carboxilasa; PK: piruvato quinasa; SPS: sacarosa-fosfato sintasa; TN: transportador de nitrato.

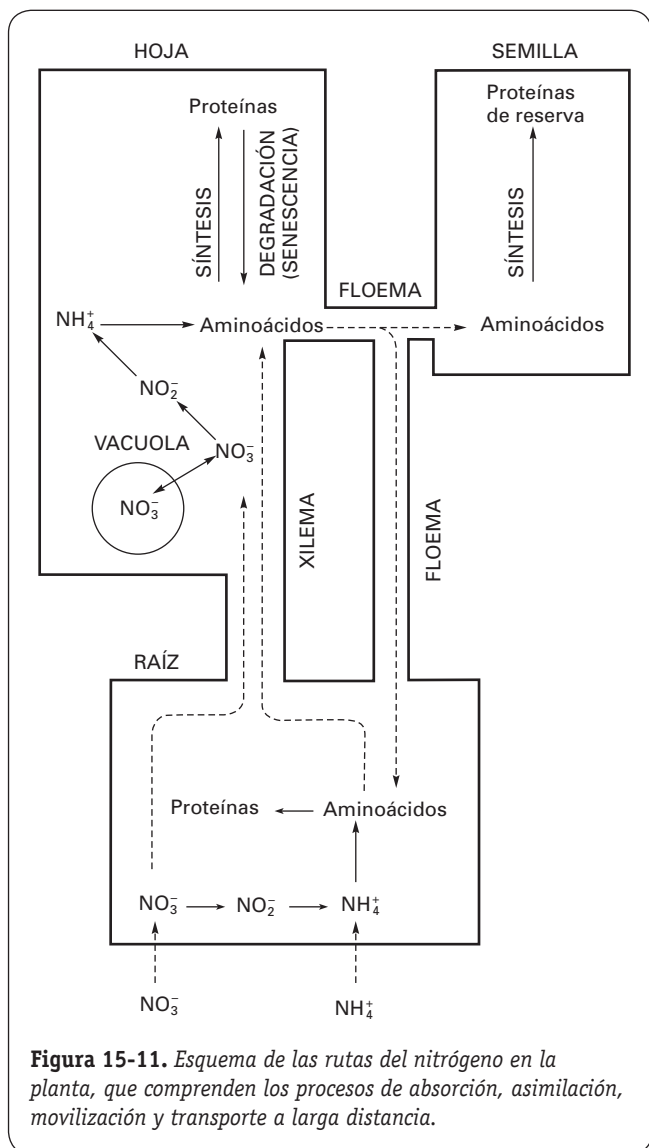


Figura 15-11. Esquema de las rutas del nitrógeno en la planta, que comprenden los procesos de absorción, asimilación, movilización y transporte a larga distancia.

El reparto de la asimilación de nitrato entre la raíz y las hojas es también una característica de la especie vegetal. Las especies de los géneros *Xanthium*, *Gossypium* y *Cucumis* poseen una baja actividad nitrato reductasa en la raíz y, como consecuencia, prácticamente todo el nitrato tomado por la planta es transportado a las hojas para su asimilación. Por el contrario, otras especies, entre las que se encuentran representantes de los géneros *Lupinus*, *Rhaphanus* y *Pisum*, así como diversas especies leñosas, principalmente gimnospermas y de las familias *Ericaceae* y *Proteaceae*, asimilan en la raíz la mayor parte del nitrato absorbido.

Otro factor que modifica la distribución interna de la asimilación del nitrato es la edad de la planta. En las primeras etapas de crecimiento, la contribución de la raíz es significativa; sin embargo, a medida que la planta se desarrolla, la reducción del nitrato descende en la raíz y aumenta en las hojas.

Cuando la planta entra en su fase reproductora, surgen nuevas necesidades de nitrógeno. En efecto, los frutos y las

semillas en desarrollo demandan gran cantidad de nitrógeno orgánico. En los cereales, la mayor cantidad (70-80% del total) del nitrógeno orgánico para el llenado del grano proviene de la degradación de las proteínas de los órganos vegetativos, principalmente de la hoja bandera (Fig. 15-11). El resto lo constituye el nitrógeno asimilado *de novo* en la fase postantesis. La **movilización del nitrógeno orgánico** desde las hojas senescentes hacia las semillas constituye, pues, un proceso muy importante en la economía del nitrógeno de las plantas (véase el Capítulo 28).

3. ASIMILACIÓN DEL AZUFRE

El azufre es un macronutriente esencial para el crecimiento de las plantas. En los suelos, el azufre se encuentra en estado oxidado bajo la forma de **sulfato** (SO_4^{2-}) (S: +6). Como tal, es absorbido por la raíz y transportado por el xilema hasta las hojas, donde es reducido hasta **sulfuro** (S^{2-}) (S: -2), el cual es rápidamente asimilado como grupo sulfhidrilo o grupo tiol ($-\text{SH}$) de los aminoácidos **cisteína** y **metionina**. Aunque la mayor parte del azufre orgánico de la materia vegetal se encuentra formando parte de dichos aminoácidos en las moléculas de proteína, también se encuentra presente en otras importantes biomoléculas, como el **glutatión**, los centros sulfoférricos, y diversas coenzimas y vitaminas. En las proteínas y en el glutatión, dos grupos tiólicos de cisteínas próximas pueden oxidarse para formar entre sí un enlace covalente estable denominado puente disulfuro. No todo el sulfato absorbido por la planta es reducido, una parte de él se incorpora como tal sulfato a sulfolípidos y a diferentes metabolitos secundarios.

3.1. La absorción del sulfato se asemeja a la del nitrato

El **sulfato** de la disolución del suelo es transportado activamente al interior de las células de la raíz mediante un mecanismo de **simporte con protones** ($3\text{H}^+/\text{SO}_4^{2-}$). Al igual que sucede con el nitrato, el gradiente de potencial electroquímico de H^+ requerido para dicho simporte es mantenido por una H^+ -ATPasa del plasmalema que transporta unidireccionalmente H^+ hacia el exterior (Fig. 15-1).

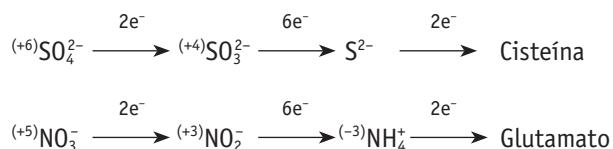
La velocidad de absorción de sulfato por las raíces muestra en general una cinética bifásica que refleja la actuación de dos sistemas de transporte, un transportador de alta afinidad ($K_m = 10\text{-}20 \mu\text{M}$), que trabaja a bajas concentraciones externas de sulfato, y un sistema de libre difusión que es operativo en concentraciones elevadas.

El transporte activo de sulfato al interior de las células epidérmicas de la raíz se estimula en condiciones de insuficiencia de azufre como resultado de la inducción del gen que codifica el transportador de alta afinidad. En cambio, la absorción descende cuando aumenta la concentración interna de sulfato o de formas reducidas de azufre, como cisteína o glutatión. Éstos actúan como reguladores negativos de la

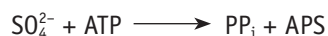
expresión del gen del transportador de sulfato. Así pues, la velocidad de absorción de sulfato está regulada por la disponibilidad y el estado nutricional de azufre de la planta.

3.2. La asimilación reductiva del sulfato comprende su reducción a sulfuro y la incorporación de éste en *O*-acetilserina para la síntesis de cisteína

Una vez que el sulfato ha sido absorbido por la raíz, es exportado en su mayor parte a las hojas, donde puede ser almacenado en la vacuola, o bien ser transportado al interior de los cloroplastos, donde tiene lugar el proceso de asimilación. Desde el punto de vista bioquímico, la asimilación reductiva del sulfato es muy parecida a la del nitrato. Ambos aniones son reducidos a sulfuro y amonio, respectivamente, en dos etapas sucesivas de dos y seis electrones, y a continuación, dichas formas reducidas son asimiladas en cisteína y glutamato, respectivamente, con el consumo adicional de otros dos electrones. Por tanto, en cada uno de dichos procesos se necesita un total de diez electrones:

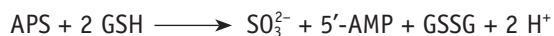


Una diferencia importante entre la asimilación del sulfato y la del nitrato es que el sulfato tiene que ser activado previamente para poder ser luego reducido. La **activación del sulfato** por ATP está catalizada por la enzima **ATP sulfurilasa**, la cual transfiere el fragmento de adenosina 5'-fosfato del ATP al sulfato, formándose pirofosfato y adenosina 5'-fosfosulfato (APS), que constituye la forma de «sulfato activo» (Fig. 15-12):



Durante años ha existido una gran controversia sobre si, en las plantas, los intermediarios que se forman en la asimilación reductiva del sulfato —sulfito y sulfuro— permanecen unidos covalentemente a un portador tiólico durante el proceso de reducción (vía intermediarios unidos), o bien si, por el contrario, dichos intermediarios aparecen en forma libre (vía intermediarios libres). Las investigaciones más recientes apoyan la hipótesis de que el sulfato es reducido a partir del APS, y que, durante la reducción, se forman sulfito y sulfuro libres (Fig. 15-12).

La reducción del sulfato del APS hasta sulfuro se lleva a cabo en dos reacciones sucesivas. En la primera, la enzima **APS reductasa** transfiere dos electrones al APS, reduciéndose el sulfato activo a sulfito libre:



Los electrones son suministrados por dos moléculas de glutatión reducido (GSH) que, al oxidarse, forman una de glutatión oxidado (GSSG). En los cloroplastos, el glutatión reducido es regenerado a partir del oxidado mediante la enzima glutatión reductasa. Ésta utiliza NADPH como donador de electrones (véase el apartado 3.3), por lo que la reducción de sulfato a sulfito consume, en último término, una molécula de NADPH generado fotosintéticamente.

Desde hace tiempo se conocía la existencia en las plantas de una actividad APS sulfotransferasa que cataliza la transferencia reductiva del sulfato del APS al grupo tiol del glutatión, formándose sulfito unido a dicho glutatión. Ésta fue una de las principales pruebas que condujeron a proponer el funcionamiento de una vía de intermediarios unidos en la reducción del sulfato en las plantas. Sin embargo, recientes estudios comparativos sobre las propiedades cinéticas y moleculares de la APS reductasa y la APS sulfotransferasa han mostrado que se trata de la misma enzima, y que la actividad reductasa es la predominante *in vivo* (Suter, M. y cols. *Journal of Biological Chemistry* 275: 930-936, 2000).

En la segunda reacción, el sulfito es reducido a sulfuro libre mediante la transferencia de seis electrones suministrados por ferredoxina reducida generada fotosintéticamente. Dicha reacción es catalizada por la enzima **sulfito reductasa**:



La reacción de reducción por seis electrones de sulfito a sulfuro es muy parecida a la de reducción de nitrito a amonio (véase el apartado 2.2.2). La sulfito reductasa y la nitrito reductasa también tienen en común el hecho de poseer en sus centros activos un sirohemo y un centro sulfoférrico [4Fe-4S].

Finalmente tiene lugar la **síntesis de cisteína** por la acción secuencial de las enzimas **serina acetiltransferasa**, que cataliza la síntesis de *O*-acetilserina (OAS), y la **OAS tiol-liasa**, que cataliza la incorporación del sulfuro a *O*-acetilserina para formar cisteína (Fig. 15-12):



A partir de la cisteína, las plantas sintetizan metionina —otro aminoácido azufrado— y glutatión. Todas las enzimas de la asimilación reductiva del sulfato se hallan también presentes en los plastidios de las células de la raíz, aunque en concentraciones bastante inferiores a las que se encuentran en los cloroplastos, por lo que la mayor parte del sulfato absorbido por la planta es reducido en las hojas.

Una ruta alternativa de asimilación del sulfato es la denominada **sulfatación**, que consiste en la incorporación de sulfato en compuestos orgánicos sin que se produzca la reducción del azufre. Para que se produzca dicha incorporación, el APS ha de ser previamente fosforilado con ATP mediante la enzima **APS quinasa**, formándose 3'-fosfoadenosina-5'-fosfosulfato (PAPS):



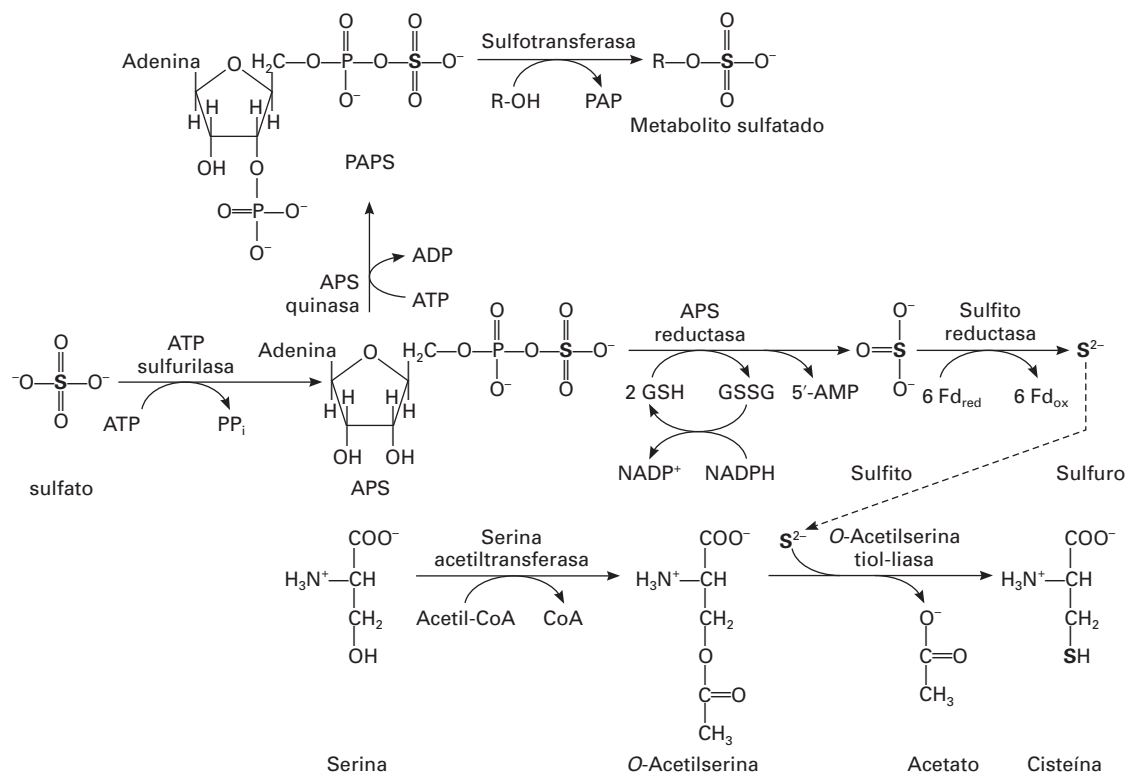


Figura 15-12. Asimilación del sulfato por las plantas. El sulfato necesita ser activado con ATP para poder ser reducido a sulfuro y luego a sulfuro. A continuación, el sulfuro reacciona con O-acetilserina para formar cisteína. En la parte superior de la Figura se muestra la vía de sulfatación, en la que el sulfato es incorporado a ciertas moléculas orgánicas sin ser reducido. 5'-AMP: adenosina 5'-monofosfato; APS: adenosina 5'-fosfosulfato; GSH: glutatión reducido; GSSG: glutatión oxidado; PAP: 3'-fosfoadenosina-5'-fosfato; PAPS: 3'-fosfoadenosina-5'-fosfosulfato.

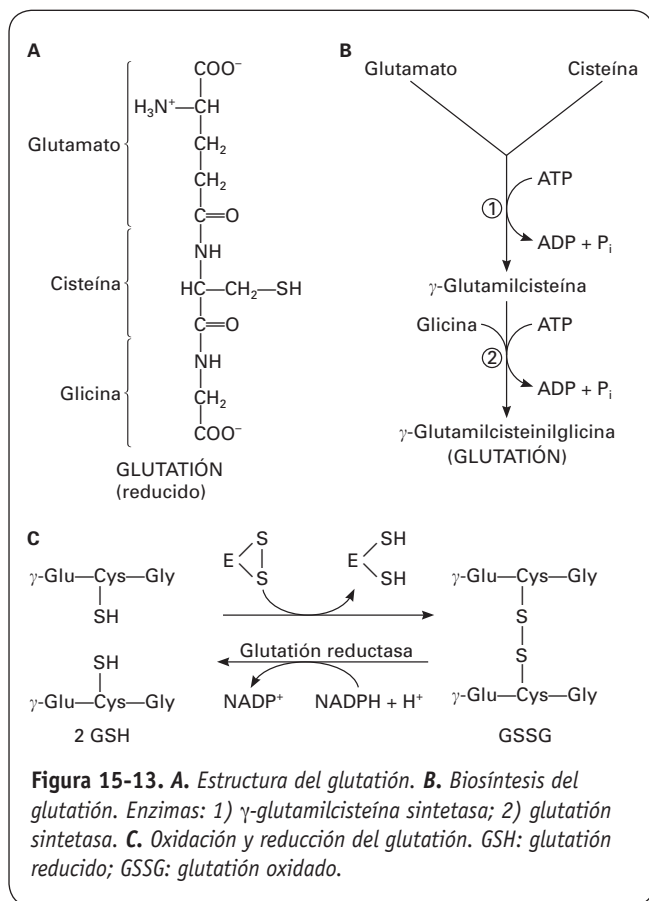
Seguidamente, diversas sulfotransferasas localizadas en el citosol catalizan la transferencia directa del sulfato del PAPS a una serie de moléculas orgánicas, entre las que se encuentran sulfolípidos, oligosacáridos, péptidos y metabolitos secundarios. Muchos de estos compuestos sulfatados intervienen en procesos de señalización, por lo que la sulfatación desempeña un papel importante en la regulación del crecimiento y el desarrollo de la planta.

3.3. El glutatión es un compuesto tiólico con múltiples funciones en la planta

El glutatión es el tripéptido γ -glutamilcisteinilglicina (Fig. 15-13) y constituye el compuesto tiólico soluble más abundante en las plantas. Su concentración en los tejidos puede llegar a ser de hasta 10 mM, considerablemente mayor que la de cisteína, que se encuentra en concentraciones micromolares. La síntesis de glutatión, a partir de sus precursores aminoácidos glutamato, cisteína y glicina, se produce en dos reacciones sucesivas (Fig. 15-13) y tiene lugar sobre todo en las hojas. El glutatión es sintetizado tanto en los cloroplastos como en el citosol.

El glutatión desempeña en la planta funciones muy diversas e importantes, entre las que destacan las siguientes:

- 1. Transporte y almacenamiento del azufre reducido.** El glutatión sintetizado en las hojas es exportado a través del floema a frutos, semillas, raíces y otros órganos en desarrollo. En estos órganos importadores es degradado en sus tres componentes aminoácidos, y la cisteína producida se emplea para la síntesis de proteínas y de compuestos azufrados. Cuando en el medio existe abundante sulfato y se produce una elevada tasa de asimilación, el exceso de glutatión sintetizado es almacenado para su uso posterior.
- 2. Mantenimiento en estado reducido de grupos sulfhidrilos de proteínas.** Muchas proteínas enzimáticas poseen en sus sitios activos grupos sulfhidrilos (-SH) de cisteínas, que han de estar reducidos para que la enzima muestre actividad catalítica. No obstante, dichos grupos pueden llegar a oxidarse y formar puentes disulfuro (-S-S-), lo que ocasiona la inactivación de la enzima. El glutatión reducido (GSH), en función de su grupo tiol, revierte dicha oxidación, ayudando así a conservar la actividad enzimática. Como resultado de esta acción se genera la forma oxidada del glutatión (GSSG), que consiste en dos moléculas de glutatión unidas entre sí por un puente disulfuro (Fig. 15-13). Los niveles intracelulares de GSH son mantenidos por la enzima **glutatión reductasa**, que reduce el glutatión oxidado a glutatión reducido con



NADPH como donador de electrones. El GSH actúa, pues, como un efectivo reductor (antioxidante) que ayuda a mantener el estado redox intracelular. El contenido de glutati3n reducido en los tejidos es normalmente superior al 90% del total de glutati3n, pero dicha proporci3n puede descender de forma acusada en situaciones en las que se necesite un mayor consumo de éste, como, por ejemplo, en situaciones de estrés oxidativo.

3. **Destoxificaci3n de especies activas de oxígeno.** Bajo ciertas condiciones ambientales, como por ejemplo una alta intensidad de luz asociada a un déficit hídrico, se produce un exceso de excitaci3n de los fotosistemas, así como una restricci3n de la difusi3n del CO₂ atmosférico al interior de la hoja. Ello reduce la proporci3n CO₂/O₂ en el interior del cloroplasto, lo que favorece la fotorreducci3n de O₂ por el fotosistema I. Como consecuencia de ello se forman especies activas de oxígeno, tales como radical superóxido (O₂⁻) y peróxido de hidrógeno (H₂O₂), los cuales producen daños oxidativos en la célula. En estas situaciones, el GSH, junto con el ascorbato y sus respectivos sistemas enzimáticos, actúan formando parte de un mecanismo de destoxificaci3n de dichas especies activas de oxígeno (véase el Capítulo 29).
4. **Destoxificaci3n de xenobi3ticos.** El GSH tiene la capacidad de formar complejos o conjugados, a través del átomo de azufre de su grupo tiol, con una amplia variedad de compuestos electrofílicos entre los que se

encuentran herbicidas, pesticidas, toxinas, e incluso fitohormonas. Dichas reacciones de conjugaci3n están catalizadas por las enzimas **glutati3n S-transferasas** y constituyen un sistema de destoxificaci3n o inactivaci3n de dichas sustancias. La conjugaci3n del xenobi3tico al glutati3n se produce en el citosol. Los conjugados de GS son así transportados al interior de la vacuola mediante un transporte activo primario llevado a cabo por transportadores del tipo ABC (*ATP-binding cassette*) localizados en el tonoplasto. Una vez dentro de la vacuola, los conjugados son rápidamente degradados. Es interesante destacar el hecho de que la exposici3n a xenobi3ticos estimula la formaci3n de glutati3n, la síntesis de glutati3n S-transferasas y la expresi3n de los transportadores de GS conjugado.

Las plantas también sintetizan una clase de péptidos estructuralmente relacionados con el glutati3n, denominados fitoquelatinas. Las **fitoquelatinas** son sintetizadas por la fitoquelatina sintasa a partir de glutati3n; se trata de polímeros de diferentes tamaños con la estructura general (γ-Glu-Cys)_n-Gly, donde *n* varía entre 2 y 11. Su importancia para las plantas radica en la capacidad que tienen de formar **complejos con metales pesados**, especialmente cadmio (Cd²⁺), evitando su acumulaci3n tóxica. Constituyen así un mecanismo de destoxificaci3n de metales pesados. Una vez formados en el citosol, los complejos son transportados al interior de la vacuola mediante transportadores del tipo ABC ubicados en el tonoplasto. La exposici3n al Cd²⁺ incrementa la biosíntesis de fitoquelatinas en la planta. Además, se ha aislado un mutante de *Arabidopsis* que es sensible al Cd²⁺ y que carece de fitoquelatina sintasa funcional, lo que confirma la funci3n de las fitoquelatinas en la resistencia a los metales pesados.

3.4. La asimilaci3n del sulfato está regulada por la disponibilidad de sulfato y la demanda interna de azufre reducido

La asimilaci3n del sulfato en la planta está regulada tanto en su absorci3n (véase el apartado 3.1) como en su posterior metabolismo. Las plantas regulan la velocidad de asimilaci3n del sulfato en respuesta a la disponibilidad y la demanda de azufre. Por ejemplo, algunos tipos de estrés, tales como el estrés oxidativo o la exposici3n a metales pesados, que incrementan la demanda de cisteína, glutati3n y fitoquelatinas, producen un aumento de la velocidad de asimilaci3n de sulfato. De la misma forma, cuando se priva a la planta de sulfato, se activa tanto su absorci3n como su asimilaci3n, siendo contrarrestados dichos efectos por el suministro de formas orgánicas de azufre reducido, como por ejemplo cisteína. Estas respuestas son el resultado de la regulaci3n de la transcripci3n de los genes que codifican el transportador de sulfato, la ATP sulfurilasa y la APS reductasa. En efecto, la expresi3n de dichos genes se activa cuando se requiere azufre y se reprime cuando existe suficiente azufre reducido

en el interior de la célula. La cisteína y el glutatión son los metabolitos azufrados represores de dichos genes, actuando de esa forma como señales encargadas de mantener la homeostasis del azufre en la célula.

La asimilación del sulfato se encuentra también regulada por los niveles internos de *O*-acetilserina (OAS), la molécula que se incorpora al sulfuro para formar cisteína. La OAS induce los genes del transportador de sulfato y de la APS reductasa, e inactiva a la serina acetiltransferasa, enzima responsable de su síntesis. Si se produce una acumulación de OAS en la célula por producción insuficiente de sulfuro, la síntesis de OAS disminuye, a la vez que la reducción de sulfato a sulfuro se estimula. Si, por el contrario, existe poca disponibilidad de OAS, su síntesis se activa y la reducción de sulfato se reprime. Este sistema permite coordinar la síntesis de OAS con la vía de reducción del sulfato para lograr una síntesis adecuada de cisteína.

En los últimos años se ha puesto de manifiesto que la asimilación del azufre está coordinada con la del nitrógeno y la del carbono. Es bien conocido que, en situaciones de

deficiencia de nitrato, se produce un descenso de la asimilación del sulfato, y viceversa, plantas privadas de sulfato ven reducida su capacidad para asimilar nitrato. Por otro lado, formas reducidas de nitrógeno, tales como el amonio y los aminoácidos, estimulan la reducción de sulfato. Más recientemente se ha demostrado el papel regulador de los carbohidratos sobre la asimilación del azufre. Así, se ha observado que la adición de sacarosa a la planta induce de forma paralela la síntesis de APS reductasa y de nitrato reductasa, dos enzimas claves de las vías de asimilación del sulfato y del nitrato, respectivamente, mientras que ambas apenas se expresan en las plantas mantenidas en aire libre de CO₂. Esta regulación cruzada entre las vías de asimilación del carbono, del nitrógeno y del azufre permite a la planta coordinar las velocidades de asimilación de cada uno de dichos nutrientes para poder sintetizar en cada momento las cantidades y las proporciones adecuadas de carbohidratos y de aminoácidos, tanto azufrados como no azufrados (Kopriva, S. y Rennenberg, H. *Journal of Experimental Botany* 55:1831-1842, 2004).

RESUMEN



- El nitrógeno y el azufre se encuentran en los suelos principalmente en forma de nitrato (NO₃⁻) y de sulfato (SO₄²⁻), respectivamente. Las plantas tienen la capacidad de reducir y asimilar dichas formas inorgánicas oxidadas convirtiéndolas en las correspondientes formas orgánicas reducidas: grupos amino o amido (-NH₂) y grupos tiólicos (-SH) de aminoácidos y otras moléculas nitrogenadas y azufradas.
- El nitrato es reducido a amonio por la acción secuencial de las enzimas nitrato reductasa y nitrito reductasa. A continuación, el amonio, mediante la actuación concertada de las enzimas glutamina sintetasa y glutamato sintasa (ciclo GS/GOGAT), es incorporado a esqueletos carbonados para la formación de aminoácidos y de compuestos transportadores de nitrógeno (glutamina y asparragina). El ciclo GS/GOGAT también participa en la reasimilación del amonio que se genera en la fotorrespiración y en el catabolismo de las proteínas de reserva durante la germinación y la senescencia. La asimilación del nitrógeno es un proceso dependiente de la fotosíntesis y del metabolismo del carbono para el aporte de poder reductor, ATP y esqueletos carbonados. Por ello, no sólo el nitrato, sino también la luz y los carbohidratos, actúan como señales que modulan positivamente la síntesis de nitrato reductasa, nitrito reductasa y las isoformas cloroplásticas de glutamina sintetasa y de glutamato sintasa, promoviendo así la formación de glutamato y glutamina. Por el contrario, la síntesis de asparragina, catalizada por la asparragina sintetasa, se ve favorecida, en detrimento de la de glutamina, en condiciones de oscuridad y de baja disponibilidad de carbohidratos.
- La asimilación reductiva del sulfato tiene lugar mediante su activación previa con ATP, formándose adenosina 5'-fosfosulfato (APS), y la posterior reducción a sulfito (SO₃²⁻) y a sulfuro (S²⁻) mediante las enzimas APS reductasa y sulfito reductasa, respectivamente. El sulfuro es finalmente transferido a una molécula de *O*-acetilserina para formar cisteína, convirtiéndose así en el grupo tiol de dicha molécula. A partir de la cisteína, la planta sintetiza metionina y glutatión. El glutatión constituye la principal forma de almacenamiento y de transporte a larga distancia del azufre orgánico. Dicha molécula desempeña otras importantes funciones en la planta, como la reducción de los puentes disulfuro de los centros activos de las enzimas y la detoxificación de especies activas de oxígeno y de diversos xenobióticos. Las fitoquelatinas son otras moléculas azufradas, estructuralmente derivadas del glutatión, que actúan como sistemas de detoxificación de metales pesados.
- Las rutas de asimilación del nitrógeno y del azufre se regulan entre ellas y, a la vez, con la de asimilación del carbono. Ello permite a la planta coordinar las velocidades de asimilación del nitrógeno, el azufre y el carbono, para así mantener un adecuado balance entre dichos elementos en la materia vegetal.



PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1 ¿Qué se entiende por asimilación del nitrato y del sulfato por las plantas?
- 2 ¿Es la reducción del nitrato la principal fuente de amonio en los tejidos vegetales?
- 3 ¿Cuál es el origen del poder reductor necesario para la reducción del nitrato en las hojas? ¿Y en las raíces?
- 4 ¿Qué principales factores o señales promueven la aparición de nitrato reductasa activa en la célula?
- 5 ¿Qué papel desempeñan las enzimas glutamina sintetasa, glutamato sintasa, asparragina sintetasa y glutamato deshidrogenasa en la asimilación del amonio?
- 6 ¿De dónde provienen los esqueletos carbonados necesarios para la síntesis de glutamina y asparragina?
- 7 ¿Bajo qué forma se exporta el nitrógeno de la raíz a las partes aéreas de la planta: nitrato, nitrito, amonio, aminoácidos o proteínas?
- 8 ¿Cómo afecta la luz y la oscuridad a la biosíntesis de glutamina y de asparragina?
- 9 ¿Qué similitudes existen entre la absorción por las plantas del nitrato y del sulfato?
- 10 ¿Qué reacciones catalizan las enzimas nitrito reductasa y sulfito reductasa y qué características comunes poseen?
- 11 ¿Qué es el glutatión y qué funciones desempeña en la planta?



RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1 La reducción de estos iones a amonio y sulfuro, respectivamente, y su incorporación a moléculas orgánicas para la síntesis de aminoácidos. El sulfato puede ser también incorporado a otras moléculas sin ser reducido, proceso que recibe el nombre de sulfatación.
- 2 No. La fotorrespiración puede llegar a producir hasta diez veces más amonio que la reducción del nitrato. Otros procesos que también producen amonio son el catabolismo de las proteínas que tiene lugar durante la germinación y la senescencia, y la fijación del nitrógeno atmosférico.
- 3 El NADH requerido por la nitrato reductasa en las hojas proviene, en su mayor parte, del poder reductor fotosintético exportado desde el cloroplasto, mientras que en las raíces se obtiene a partir del ciclo de los ácidos tricarboxílicos en la mitocondria. La ferredoxina reducida requerida por la nitrito reductasa proviene, en las hojas, de la fotosíntesis y, en la raíz, de la reducción de ferredoxina por NADPH producido en la vía oxidativa de las pentosas fosfato.
- 4 El nitrato, que actúa como inductor primario de la síntesis de la nitrato reductasa, y la luz, que estimula dicha síntesis y, además, mantiene la enzima en su forma activa.
- 5 La glutamina sintetasa y la glutamato sintasa son las enzimas claves para la asimilación del amonio de cualquier origen. Forman el llamado ciclo GS-GOGAT, que cataliza la incorporación del amonio en los aminoácidos glutamina y glutamato. La asparragina sintetasa produce asparragina, a partir de glutamina y aspartato, para el transporte del nitrógeno orgánico.
- 6 El 2-oxoglutarato necesario para la síntesis última de la glutamina se deriva del citrato formado en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos. El oxalacetato requerido para sustentar la síntesis de asparragina puede provenir del ciclo de los ácidos tricarboxílicos o de la carboxilación del fosfoenolpiruvato.
- 7 Se puede exportar en forma inorgánica como nitrato o en forma orgánica como aminoácidos (glutamina y asparragina, principalmente, y también glutamato y aspartato).

RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES (Cont.)



- 8) La luz y la oscuridad tienen un efecto opuesto sobre la biosíntesis de glutamina y de asparragina. En la luz existe una mayor disponibilidad de carbono orgánico en los tejidos y se promueve la biosíntesis de glutamina (5C:2N). En la oscuridad, la disponibilidad de carbono orgánico es menor y se estimula la biosíntesis de asparragina (4C:2N). Ello es consecuencia de la regulación diferencial de la glutamina sintetasa y de la asparragina sintetasa por la luz y la oscuridad: en la luz se induce la síntesis de la glutamina sintetasa (las isoformas cloroplásticas), mientras que la asparragina sintetasa se induce en la oscuridad.
- 9) Los dos son procesos activos llevados a cabo por proteínas transportadoras que cotransportan protones (dos con el nitrato y tres con el sulfato). Los protones que entran en la célula acompañando al nitrato y al sulfato son bombeados hacia fuera por una H^+ -ATPasa con el fin de mantener el gradiente de potencial electroquímico de protones.
- 10) La nitrito reductasa cataliza la reducción de nitrito a amonio, y la sulfito reductasa la de sulfito a sulfuro. Ambas reacciones suponen una reducción con seis electrones que, en los dos casos, son suministrados por la ferredoxina reducida. Además, las dos enzimas poseen, como grupos prostéticos redox, un sirohemo y un centro sulfoférrico [4Fe-4S].
- 11) El glutatión es el tripéptido glutamato-cisteína-glicina. Es el principal compuesto de transporte y almacenamiento del azufre orgánico. Protege de la inactivación a numerosas enzimas manteniendo reducidos grupos sulfhidrilos esenciales para su actividad. Participa en la destoxicación de especies activas de oxígeno y de diversos herbicidas.

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA



1. Coruzzi GM, Zhou L. Carbon and nitrogen sensing and signaling in plants: emerging 'matric effects'. *Current Opinion in Plant Biology* 2001; 4:247-253.
2. Foyer CH, Noctor G. (eds.). *Photosynthetic Nitrogen Assimilation and Associated Carbon and Respiratory Metabolism*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 2002.
3. Ireland RJ, Lea PJ. The enzymes of glutamine, glutamate, asparagine, and aspartate metabolism. En: Singh BK (ed.). *Plant Amino Acids. Biochemistry and Biotechnology*. New York, Marcel Dekker, Inc., 1999.
4. Kopriva S, Rennenberg H. Control of sulphate assimilation and glutathione synthesis: interaction with N and C metabolism. *J Exp Bot* 2004; 55:1831-1842.
5. Lea PJ, Ireland RJ. Nitrogen metabolism in higher plants. En: Singh BK (ed.). *Plant Amino Acids. Biochemistry and Biotechnology*. New York, Marcel Dekker, Inc., 1999.
6. Leustek T, Martin MN, Bick JA *et al.* Pathways and regulation of sulfur metabolism revealed through molecular and genetic studies. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 2000; 51:141-165.
7. Maldonado JM. Asimilación del nitrógeno y del azufre. En: Azcón-Bieto J, Talón M. (eds.) *Fisiología y Bioquímica Vegetal*. Madrid, McGraw-Hill/Interamericana, 1993.
8. Peoples MB, Gifford RM. Regulation of the transport of nitrogen and carbon in higher plants. En: Dennis DT *et al.* (eds.) *Plant Metabolism* 2ª ed. Harlow (UK), Longman, 1997.
9. Turpin DH *et al.* Interaction between photosynthesis, respiration and nitrogen assimilation. En: Dennis DT *et al.* (eds.) *Plant Metabolism*. 2ª ed. Harlow (UK). Longman, 1997.
10. Vance CP. The molecular biology of N metabolism. En: Dennis DT *et al.* (eds.) *Plant Metabolism*. 2ª ed. Harlow (UK), Longman, 1997.

Fijación biológica de nitrógeno

PEDRO M. APARICIO-TEJO, CÉSAR ARRESE-IGOR Y MANUEL BECANA



1. Fijación biológica de nitrógeno. 2. Organismos fijadores de nitrógeno. 3. Fijación de nitrógeno por la simbiosis rizobio-leguminosa. 4. Fijación de nitrógeno y agricultura.

1. FIJACIÓN BIOLÓGICA DE NITRÓGENO

El N es uno de los elementos más abundantes en la naturaleza; se encuentra distribuido principalmente en la atmósfera, donde representa alrededor del 78%, en el suelo y en la biomasa. Las complejas relaciones de intercambio entre estos tres reservorios de N se conocen como **ciclo del N** (Fig. 16-1). El N existente en la litosfera, a pesar de representar cuantitativamente el mayor depósito de dicho elemento, tiene una participación muy escasa en el ciclo del N de la biosfera, de modo que la mayor parte del N necesario para el crecimiento de las plantas proviene, en último término, de la atmósfera. El nitrógeno gas o dinitrógeno (N_2) es relativamente inerte, pero puede reaccionar con otros compuestos y convertirse en productos asimilables por las plantas y por otros organismos. La cantidad de N_2 fijado en la naturaleza es de unas 230×10^6 Tm por año. De esta cantidad, aproximadamente un 13% se fija por oxidación, provocada por las descargas eléctricas de las tormentas, del N_2 a ácido nítrico en presencia de O_2 y vapor de agua, y el 87% restante es fijado por los microorganismos. Este último proceso se denomina **fijación biológica de N_2** .

El N es el elemento mayoritario de las plantas; sólo el C, el H y el O son más abundantes que él en los tejidos vegetales (véase el Capítulo 6). El N forma parte de numerosas biomoléculas de las plantas, como proteínas, ácidos nucleicos, porfirinas y alcaloides. Las plantas pueden obtener el N por absorción del suelo en forma de NO_3^- y NH_4^+ (véase el Capítulo 15), o bien por reducción del N_2 atmosférico estableciendo asociaciones simbióticas con diversas bacterias.

La principal vía de producción de fertilizantes nitrogenados es la reacción de Haber-Bosch, mediante la cual el N_2 es reducido a NH_3 por el H_2 a temperaturas y presiones muy elevadas (aproximadamente $500^\circ C$ y 350 atm).

La contaminación difusa derivada de la actividad agrícola es, hoy día, uno de los mayores problemas ambientales. Existe una gran preocupación, sobre todo, por dos aspectos del problema: por un lado, el aumento de la concentración de nitratos en las aguas superficiales y subterráneas y, por otro, la contaminación atmosférica debida a los gases nitrogenados (N_2O , NO_x , NH_3), que potencia el efecto invernadero, la destrucción de la capa de ozono y la lluvia ácida. Estos problemas ambientales y sanitarios, originados por el aporte excesivo de fertilizantes nitrogenados en los cultivos, junto al incremento del coste energético de la síntesis de fertilizantes, hacen que la fijación biológica de N_2 sea una alternativa económica y ecológicamente limpia frente a la fijación química. Además, la fijación biológica desempeña un papel muy importante en la economía del N en la práctica agrícola, ya que la cantidad de N disponible en la mayor parte de los suelos cultivados es escasa, y en la actualidad no puede ser suplementada a escala mundial mediante la producción de fertilizantes.

2. ORGANISMOS FIJADORES DE NITRÓGENO

La fijación biológica de N_2 es catalizada por el complejo enzimático **nitrogenasa**, que se encuentra exclusivamente en los procariotas. La capacidad de un organismo para fijar N_2 puede determinarse experimentalmente mediante la incorporación

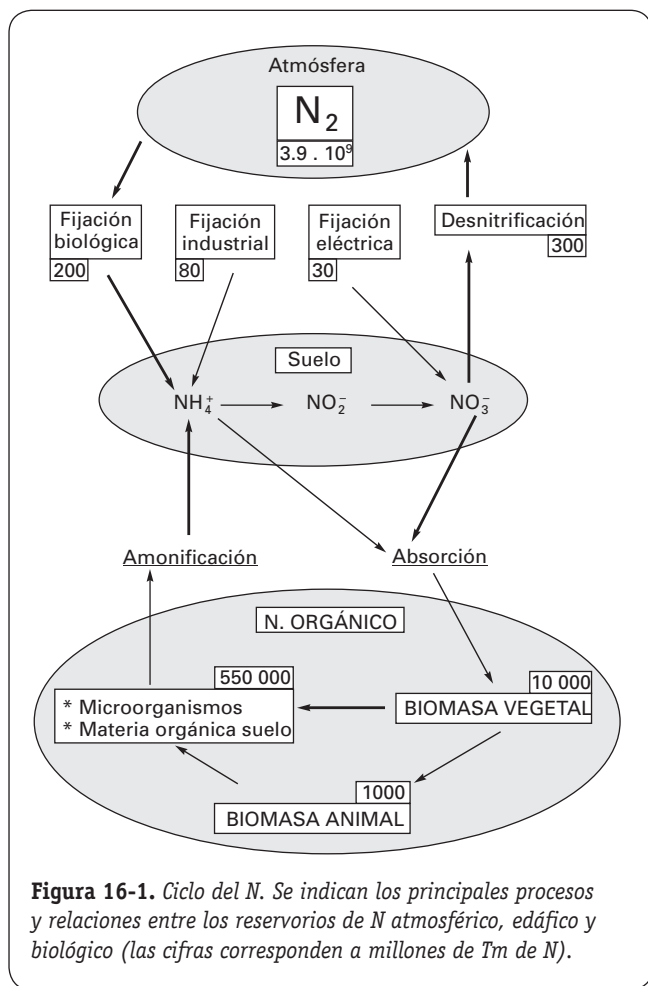


Figura 16-1. Ciclo del N. Se indican los principales procesos y relaciones entre los reservorios de N atmosférico, edáfico y biológico (las cifras corresponden a millones de Tm de N).

de $^{15}N_2$, si bien la presencia en un organismo de los genes que codifican las proteínas necesarias para la síntesis de la nitrogenasa (genes *nif*) se considera también un indicador de su capacidad fijadora. El espectro de **organismos diazotrofos**, o fijadores de N_2 , es muy amplio, hasta el punto de que éstos pueden encontrarse en casi cualquier hábitat. El Cuadro 16-1 resume algunos de los grupos más representativos.

2.1. Los diazotrofos en vida libre ocupan nichos ecológicos muy diversos

La nitrogenasa es muy sensible al O_2 . Entre las bacterias diazotrofas existen, sin embargo, anaerobios estrictos (*Desulfovibrio*, *Clostridium*), anaerobios facultativos que fijan N_2 sólo en condiciones anaeróbicas (*Klebsiella*, *Citrobacter*) o microaeróbicas (*Azospirillum*, *Xanthobacter*), y aerobios estrictos (*Azotobacter*, *Beijerinckia*). Los anaerobios facultativos, como *Klebsiella* o *Azospirillum*, carecen de sistemas para proteger la nitrogenasa frente al O_2 y sólo fijan N_2 en ausencia, o casi ausencia, de O_2 . En cambio, *Azotobacter* es una de las bacterias más aerotolerantes que se conocen. La adaptación de *Azotobacter* a concentraciones crecientes de O_2 se produce a dos niveles: cambio en el contenido de algunos citocromos que determina un incremento de la actividad

respiratoria («protección respiratoria») y formación de un complejo inactivo, pero estable al O_2 , entre las proteínas de la nitrogenasa y una tercera ferrosulfoproteína («protección conformacional»). La fijación de N_2 que llevan a cabo estos organismos es de gran importancia ecológica, pero su contribución global a la fijación biológica es inferior al 25%.

2.2. Las cianobacterias diazotrofas han desarrollado diversas estrategias para proteger su nitrogenasa del oxígeno fotosintético

Entre las cianobacterias, las hay que fijan N_2 en condiciones aeróbicas y microaeróbicas. Las células vegetativas de las cianobacterias llevan a cabo la fotosíntesis oxigénica de forma similar a las plantas. Las fijadoras aeróbicas contienen, además, **heterocistos**, células especializadas entre las que se encuentra la nitrogenasa. Los heterocistos poseen una pared celular engrosada que contiene abundantes polisacáridos y glicolípidos y que restringe la difusión de O_2 . Poseen además hidrogenasa, pero carecen de fotosistema II, características ambas que tienden también a mantener en niveles mínimos la concentración intracelular de O_2 . La diferenciación de los heterocistos supone una reorganización del genoma, que permite que el gen *nifD* sea funcional, mientras que en las células vegetativas el gen se encuentra dividido por una interposición de 11 kb. Los heterocistos reciben disacáridos de las células vegetativas y exportan a cambio el N_2 fijado en forma de glutamina.

Las cianobacterias diazotrofas carentes de heterocistos sólo fijan N_2 en condiciones microaeróbicas (*Plectonema*, *Phormidium*); pueden hacerlo también en aerobiosis, pero separando temporalmente la fijación de N_2 y la fotosíntesis (*Gloeothece*, *Oscillatoria*). Así, durante el día tienen lugar la fotólisis del agua y la formación de ATP, y la nitrogenasa permanece inactiva; durante la noche, la respiración mantiene el nivel de O_2 bajo y la nitrogenasa se encuentra activa y utiliza la energía acumulada durante el período luminoso previo.

En las cianobacterias la combinación de fijación biológica de N_2 y fotosíntesis debió ser crucial para el desarrollo de la vida en la Tierra tal como existe, como parece atestiguarlo el hecho de que los heterocistos se encuentren ya presentes en los primeros fósiles de organismos vivos que se conocen. En la actualidad, la fijación del N_2 por las cianobacterias representa más de un tercio de toda la fijación biológica.

2.3. Las plantas actinorrícicas son angiospermas no leguminosas que establecen simbiosis fijadoras con Frankia

Frankia es un actinomiceto capaz de formar asociaciones simbióticas con 200 especies pertenecientes a ocho familias de angiospermas no leguminosas. Estas plantas presentan unas tumoraciones o nódulos en las raíces tras la infección con *Frankia*, y por ello se denominan **plan-**

CUADRO 16-1. Grupos representativos de organismos fijadores de N₂ y algunas de sus características.

I. Fijadores de vida libre		
Arqueobacterias	<i>Methanosarcina</i> <i>Methanococcus</i>	Constituyen un reino diferenciado de las eubacterias Presentan algunas características peculiares, como poseer intrones
Anaerobios	<i>Clostridium</i>	Suelos, aguas dulces y marinas, sedimentos, tracto intestinal
Anaerobios facultativos	<i>Klebsiella</i>	Flora intestinal, suelos, aguas
Microaerobios	<i>Azospirillum</i>	Suelos, generalmente asociado a raíces de plantas
Aerobios	<i>Azotobacter</i> <i>Beijerinckia</i>	Suelos, aguas y superficies vegetales. Generalmente más eficaces a bajas concentraciones de O ₂
Bacterias fotosintéticas	<i>Rhodospirillum</i> <i>Chromatium</i>	Acuáticas. Fijan N ₂ en anaerobiosis utilizando la energía de la fotosíntesis
Cianobacterias sin heterocistos	<i>Oscillatoria</i> <i>Gloeotheca</i>	Fijan N ₂ en microaerobiosis o en aerobiosis con separación temporal de la fijación y de la fotosíntesis
Cianobacterias con heterocistos	<i>Nostoc</i> <i>Anabaena</i>	Capaces de fijar N ₂ en condiciones aeróbicas y anaeróbicas
II. Fijadores en simbiosis		
Con leguminosas	<i>Rhizobium</i> , <i>Sinorhizobium</i> , <i>Mesorhizobium</i> , <i>Bradyrhizobium</i> , <i>Allorhizobium</i>	Leguminosas de origen templado. Leguminosas de origen tropical y subtropical
	<i>Azorhizobium</i>	<i>Sesbania</i>
Con no leguminosas	<i>Frankia</i>	<i>Alnus</i> , <i>Casuarina</i> , <i>Myrica</i> , <i>Comptonia</i> , <i>Coriaria</i>
Otras simbiosis	<i>Nostoc</i>	Hongos (formando líquenes), briófitos (<i>Blasia</i>), gimnospermas (<i>Macrozamia</i>) y angiospermas (<i>Gunnera</i>)
	<i>Anabaena</i>	Pteridófitos (<i>Azolla</i>)

tas actinorrícicas. Generalmente son arbustos o árboles pioneros en suelos pobres en N o en climas adversos y, por tanto, tienen importancia desde un punto de vista ecológico y forestal. Por ejemplo, *Alnus rubra* y *Casuarina cunninghamiana* se utilizan por su madera. Además, éstas y otras especies actinorrícicas pueden plantarse dispersas entre árboles de cultivo, o alternativamente con ellos, para mejorar su producción en suelos deficientes en N. Las plantas actinorrícicas se han utilizado también como especies ornamentales (*Eleagnus*), productoras de frutos para consumo humano (*Hippophae*) y colonizadoras de suelos mineros o de dunas costeras (*Casuarina*).

El proceso de infección de la raíz y de desarrollo nodular en las plantas actinorrícicas es muy poco conocido, en comparación con el de las leguminosas, y por ello sólo nos limitaremos a ofrecer algunas indicaciones. En *Alnus*, la infección de los pelos radicales, como en las leguminosas, está precedida por la modificación de las raíces. En este caso, en lugar del curvamiento se produce una ramificación. Tras la entrada de *Frankia*, la planta produce abundante material de la pared secundaria; este material es colonizado por las hifas de *Frankia*, las cuales progresan hacia la base, inter e intracelularmente. En *Eleagnus*, la infección por las hifas se produce entre las células epidérmicas; las hifas progresan

por los espacios intercelulares y la planta secreta abundante material a su alrededor.

Contrariamente a lo que ocurre en las leguminosas, el endófito (*Frankia*) está confinado en el córtex nodular. En la mayoría de las plantas actinorrícicas (las pertenecientes a las *Casuarinaceae* son una excepción) se desarrollan vesículas en los extremos de las hifas. En cierto modo, estas vesículas son equivalentes, desde el punto de vista funcional, a los heterocistos de las cianobacterias, ya que contienen nitrogenasa y poseen paredes multilamelares con lípidos que limitan el paso del O₂. Los lípidos mayoritarios de las membranas de las vesículas son los hopanoides, triterpenoides pentacíclicos con propiedades similares a las de los esteroides. Por otra parte, las paredes de las células vegetales que las albergan también sufren cambios que tienden a impermeabilizarlas, mediante la deposición de sustancias del tipo de la lignina y la suberina. Asimismo, los nódulos de la mayoría de las plantas actinorrícicas son capaces de sintetizar **hemoglobinas** (Hbs), aunque en concentraciones variables. Éstas son especialmente altas en las células infectadas de los nódulos de *Casuarina* y *Myrica*. Además de las Hbs simbióticas, las plantas actinorrícicas, como las leguminosas y otras plantas superiores, también son capaces de expresar Hb en los tejidos no simbióticos (véase el apartado 3.6.).

3. FIJACIÓN DE NITRÓGENO POR LA SIMBIOSIS RIZOBIO-LEGUMINOSA

3.1. Las leguminosas establecen las simbiosis diazotrofas más evolucionadas

Las simbiosis fijadoras de N_2 más conocidas e importantes desde una perspectiva económica son las que se establecen entre las raíces de las leguminosas y las bacterias de los géneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium* y *Azorhizobium* (colectivamente denominados **rizobios**, si bien la taxonomía de las bacterias que son capaces de formar nódulos con las leguminosas está en constante revisión, tal como se comentará más adelante; véase el Cuadro 16-2). Excepcionalmente, estas bacterias también forman nódulos en simbiosis con la ulmácea *Parasponia*. Pasaremos ahora al estudio más detallado, aunque necesariamente limitado, de esta simbiosis, desde que se inicia por colonización de la superficie radical e infección de las raíces por las bacterias, hasta la senescencia del **nódulo**, natural o inducida por estrés.

Se ha examinado la capacidad para nodular de unas 3400 especies, lo que supone cerca de un 57% de los géneros de leguminosas. El porcentaje de especies susceptibles de ser noduladas varía mucho en las diversas subfamilias de leguminosas: 25% en *Caesalpinioideae*, 90% en *Mimosoideae* y 97% en *Papilionoideae*. Estas proporciones pueden experimentar variaciones cuando se amplíe el número de especies estudiadas respecto a su capacidad para nodular.

Los rizobios tienen una morfología normalmente bacilar y no son formadores de esporas. Son móviles por la presencia de un flagelo polar o subpolar, o de dos a seis flagelos peritri-

cos. Las colonias tienen un aspecto mucilaginoso debido a la presencia de polisacáridos extracelulares; a veces, los cultivos envejecidos tienden a formar asociaciones estrelladas o roseatas. Son aerobios, gramnegativos, y pueden utilizar una gran variedad de azúcares como fuente de C. Desde una perspectiva taxonómica, los rizobios actualmente se encuentran clasificados en diferentes géneros, atendiendo a criterios moleculares. Los problemas taxonómicos provienen de que la antigua clasificación atendía a las características fenotípicas, como la especificidad de la planta huésped, la morfología de las colonias, el crecimiento en medios selectivos y las propiedades metabólicas, mientras que los estudios actuales, basados en criterios moleculares, aún distan de ser completos.

El género *Rhizobium* forma nódulos en leguminosas originarias de climas templados (Cuadro 16-2) y crece rápidamente en medios de cultivo, con la acidificación de éstos. Su especificidad para el huésped es bastante estricta, y los genes relacionados con su fijación se encuentran localizados en plásmidos, generalmente de gran tamaño y con mayor tendencia a asociarse que en *Bradyrhizobium*, formando racimos (*clusters*). Es un género taxonómicamente relacionado con *Agrobacterium*.

Bradyrhizobium forma nódulos en simbiosis con plantas de origen tropical y subtropical (Cuadro 16-2). Se trata de bacterias de crecimiento por lo general lento, producen la alcalinización del medio y poseen mayor resistencia intrínseca a los antibióticos. Su especificidad por la planta huésped es menos estricta. Los genes relacionados con la simbiosis están localizados en el cromosoma. Taxonómicamente se encuentra muy alejado del resto de los rizobios.

El Cuadro 16-2 recoge también otros géneros de rizobio según la taxonomía actualizada. *Mesorhizobium* presenta una velocidad de crecimiento intermedia entre *Rhizobium*

CUADRO 16-2. Clasificación de las bacterias capaces de formar nódulos en las leguminosas.

Género	Especie	Biovariedad	Nombres antiguos	Huésped
<i>Rhizobium</i>	<i>leguminosarum</i>	<i>phaseoli</i> <i>trifolii</i> <i>viciae</i>	<i>R. phaseoli</i> <i>R. trifolii</i> <i>R. leguminosarum</i> —	Judía Trébol Haba, guisante, lenteja <i>Galega</i>
	<i>galegae</i> <i>tropici</i> <i>etli</i>		<i>R. phaseoli</i> (tipo II) <i>R. phaseoli</i> (tipo I) <i>R. meliloti</i> <i>R. fredii</i>	Judía, <i>Leucaena</i> Judía, <i>Leucaena</i> Alfalfa Soja
	<i>Sinorhizobium</i>	<i>meliloti</i> <i>fredii</i> <i>huakuii</i> <i>saheli</i> <i>teranga</i>	<i>R. sp. (Astragalus)</i> — —	<i>Astragalus</i> Acacia, <i>Sesbania</i> Acacia, <i>Sesbania</i>
	<i>Mesorhizobium</i>	<i>loti</i> <i>ciceri</i> <i>mediterraneum</i> <i>huakuii</i>	<i>R. sp. (Lotus)</i> <i>R. ciceri</i> — —	<i>Lotus</i> Garbanzo Garbanzo <i>Astragalus</i>
<i>Azorhizobium</i> <i>Bradyrhizobium</i>	<i>caulinodans</i> <i>japonicum</i> sp. (<i>Lupinus</i>) sp. (<i>Cowpea</i>) sp. (<i>BTAi1</i>)		<i>A. sesbaniaea</i> <i>R. japonicum</i> <i>R. lupini</i> — <i>Photorrhizobium</i>	<i>Sesbania</i> Soja Lupino <i>Cowpea</i> , cacahuete, acacia <i>Aeschynomene</i>

Se ha propuesto la reclasificación del género *Sinorhizobium* en el género *Ensifer* (2003), actualmente objeto de debate.

y *Bradyrhizobium*, y un grado de similitud con otros rizobios del 93%. *Sinorhizobium* fue caracterizado originalmente como un género integrado por bacterias formadoras de nódulos en la soja, pero con características fenotípicas de los rizobios de crecimiento rápido. Tras esta descripción de *S. fredii*, una parte importante de los rizobios que nodulan alfalfa y otras especies de *Medicago* han sido reclasificados dentro de este género, que posee una similitud con *Rhizobium* del 95-96% en la secuencia del rRNA 16S. Sin embargo, en el año 2003 se ha propuesto incluir al género *Sinorhizobium* en el género *Ensifer*, lo que ha originado un intenso debate que todavía no ha concluido. Finalmente, *Azorhizobium* es un género excepcional, por cuanto es capaz de formar nódulos en los tallos de la especie *Sesbania rostrata* y fijar N_2 en vida libre, pero sólo con concentraciones de $O_2 < 3\%$. Además de estas bacterias, consideradas tradicionalmente como rizobios, desde el año 2001 se han descrito nuevos géneros capaces de formar nódulos con las leguminosas, no sólo entre las α -proteobacterias (*Blastobacter*, *Devosia*, *Methylobacterium*, *Ochrobactrum*, *Phyllobacterium*), sino también entre las β -proteobacterias (*Burkholderia*, *Ralstonia*), filogenéticamente mucho más alejadas. Esta situación sugiere que la capacidad de fijar N_2 en simbiosis con las leguminosas podría estar mucho más extendida de lo que se creía hasta ahora, aunque no existen todavía estimaciones del impacto real de estas nuevas descripciones en términos ecológicos y agronómicos.

Los rizobios viven como saprófitos en el suelo, donde compiten con las bacterias quimioheterótrofas. Su densidad media de población en tierras de barbecho se sitúa entre 10^2 y 10^5 células por gramo de suelo. Su supervivencia parece asociada a la condición de poder utilizar los compuestos orgánicos presentes en muy baja concentración. La multiplicación de los rizobios en la rizosfera es un proceso que antecede al de la propia infección. En general, la **rizosfera** es colonizada por una amplia gama de microorganismos; sin embargo, en algunos casos la composición química de los exudados de la raíz puede condicionar cierta selectividad de las bacterias. Éste es el caso de la secreción de homoserina por las raíces de guisante, ya que este aminoácido es una excelente fuente de C y N para los rizobios.

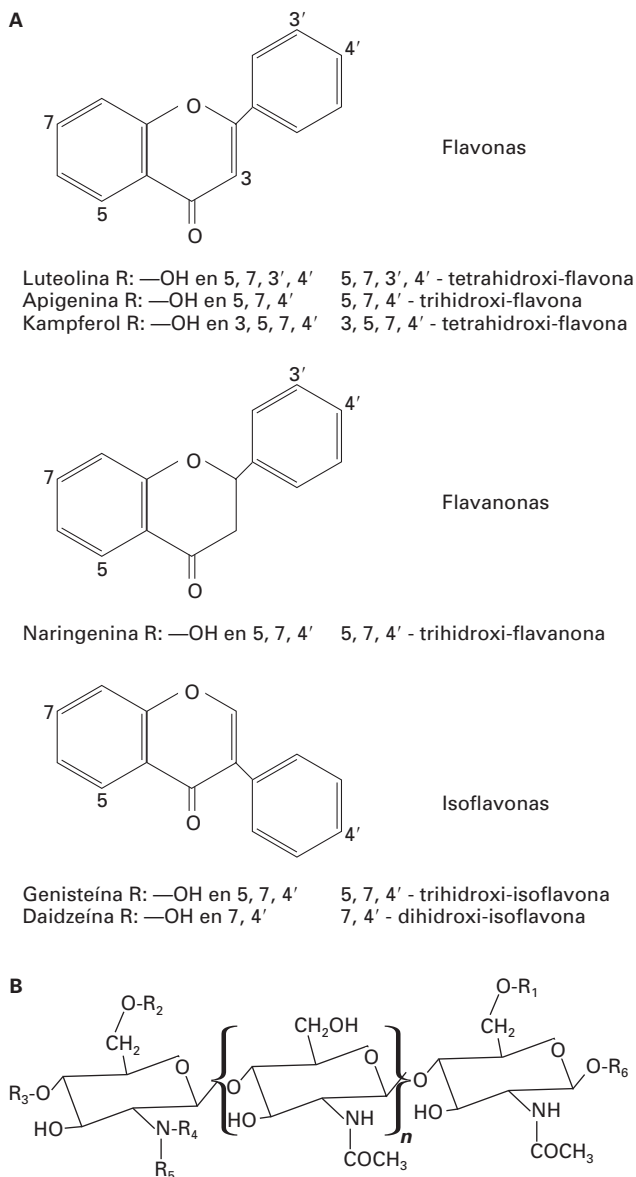
Algunos **flavonoides**, a concentración nM, provocan quimiotaxis activa en los rizobios hacia la superficie radical (Fig. 16-2 A). Estos mismos flavonoides, a concentración μ M, junto con algunos ácidos aldónicos y betaínas, activan los genes responsables de la **nodulación (genes nod)** de la bacteria. Los productos de los genes *nodA*, *nodB* y *nodC* son requeridos para la síntesis de un quitina-oligosacárido. En principio se pensó que cada uno de estos tres genes era intercambiable entre las diferentes especies y biovariedades de rizobios, y por eso se les denominó **genes nod comunes**, pero hoy se sabe que las proteínas NodA (una aciltransferasa) y NodC (una *N*-acetilglucosaminil-transferasa) determinan cierto grado de especificidad en los quitina-oligosacáridos formados por los distintos rizobios. En cualquier caso, estas moléculas son entonces aciladas por los productos de los genes *nodFEG* y modificadas por genes específicos

de cada una de las especies bacterianas, originándose las moléculas señal denominadas **factores Nod** o **lipo-quitina-oligosacáridos** (Fig. 16-2 B). Así, en *Sinorhizobium meliloti*, la estructura es convertida a una forma sulfatada por los productos de los genes de la nodulación específicos *nodH*, *nodP* y *nodQ*. La adición de los factores Nod, en concentraciones de 0.1 nM, en ausencia de las bacterias, induce la división activa de las células meristemáticas del córtex interno (en nódulos de crecimiento indeterminado) o externo (en los de crecimiento determinado). Incluso concentraciones tan bajas como 1 pM son percibidas por las raíces de la leguminosa. Recientemente se ha dado a conocer que los factores Nod también tienen efectos morfogénicos en los sistemas heterólogos, como plantas de tabaco y embriones de peces.

3.2. La formación de los nódulos es un proceso histológicamente complejo y requiere un intercambio de señales moleculares entre los rizobios y la leguminosa

En la adhesión de las bacterias a la raíz aparecen implicados dos tipos de moléculas: **lectinas** (glicoproteínas sin actividad enzimática producidas por la planta) y polisacáridos de la pared celular de la bacteria. Una vez que los rizobios se han unido a los pelos radicales, se induce un cambio en la dirección de su crecimiento apical. Este fenómeno requiere la presencia de bacterias, aunque no parece existir especificidad en la respuesta. Durante los últimos años se han descrito varios tipos de procesos de infección. Uno de ellos es la entrada a través de las heridas, de manera que los microorganismos consiguen introducirse en el tejido radical a través del punto de emergencia de la raíz lateral, como en *Arachis* y *Stylosanthes*. Esta modalidad parece ser relativamente común en la familia *Aeschynomeneae*. Otro mecanismo de infección es el que se produce a través del tejido epidérmico intacto, bastante común en las especies arbóreas.

Sin embargo, la forma de entrada de los rizobios en la raíz más estudiada es la asociada a los pelos radicales. A nivel molecular, estos estudios se han llevado a cabo sobre todo utilizando las leguminosas modelo *Lotus japonicus* y *Medicago truncatula*, cuyos genomas nucleares se encuentran en proceso de secuenciación. Durante los últimos años se han realizado numerosos avances en la identificación de genes y proteínas involucrados en la percepción y la transducción de las señales desencadenadas por los factores Nod (Fig. 16-3). Las proteínas NFR1 y NFR5 son los receptores de los factores Nod, y SYMRK es la proteína que transduce la señal de percepción del factor Nod a un canal de Ca^{2+} . La entrada de Ca^{2+} y la salida de K^+ y Cl^- causan la despolarización de la membrana del pelo radical. Las oscilaciones de Ca^{2+} (a las que contribuye la salida de Ca^{2+} de los depósitos intracelulares, mediada por la activación de fosfolipasas) activan una proteína quinasa dependiente del Ca^{2+} y de la calmodulina, lo que inicia la cascada de fosforilación de las proteínas y la inducción de genes implicados en la formación del nódulo.



Especie	R1	R2	R3	R4	R5	R6	n
<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i>	Acetil	Acetil	H	H	C18:1, C18:4	H	2,3
<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>viciae</i>	H, Acetil	Acetil	H	H	C18:1, C18:4	H	2,3
<i>R. tropici</i>	Sulfatil, H	Acetil	H	Metil	C18:1	Manosil	3
<i>R. etli</i>	4-O-Acetil-L-fucosil	Acetil	Carbamil	Metil	C18:1	H	
<i>S. meliloti</i>	Sulfatil	Acetil	H	H	C16:3, C16:2	H	2,3
<i>S. fredii</i>	2-O-Metilfucosil, fucosil	Acetil	H	H	C18:1	H	1,2,3
<i>M. loti</i>	H	Acetil	Carbamil	Metil	C18:1	H	
<i>A. caulinodans</i>	Arabinosil, H, fucosil	Carbamil	H	Metil	C18:1, C18:0	H	2,3
<i>B. japonicum</i>	2-O-Metilfucosil	Acetil	H	H	C18:1, C16:0	H	3

Figura 16-2. A. Estructuras químicas de algunos flavonoides y otras moléculas implicados en la nodulación. **B.** Estructuras químicas de los lipo-quitina-oligosacáridos (factores Nod) producidos por diferentes especies de rizobios.

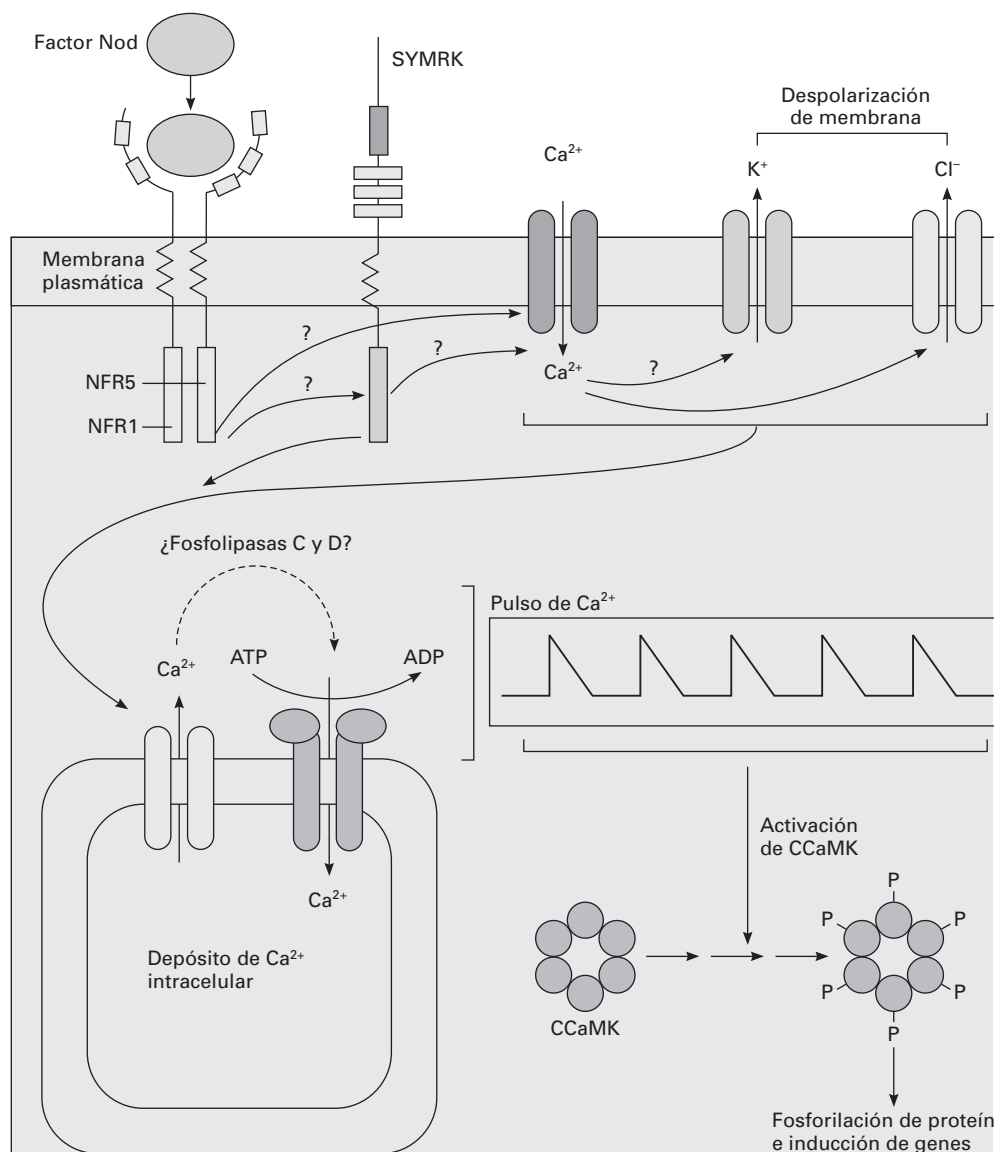


Figura 16-3. Modelo de percepción de los factores Nod y subsiguiente transducción de señales en las leguminosas. Para simplificar, sólo se indica el nombre de las proteínas de la leguminosa modelo *Lotus japonicus*, si bien se han descrito proteínas equivalentes en otras leguminosas. Por ejemplo, los genes ortólogos a SYMRK en el guisante y en *Medicago truncatula* son SYM19 y DMI2. Abreviaturas: CCaMK, proteína-quinasa dependiente de Ca²⁺ y calmodulina. (Adaptado de Oldroyd, G. E. D. y Downie, J. A., *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 5:566-576, 2004.)

A nivel histológico, el proceso de infección puede resumirse como sigue. Las bacterias penetran a través de la pared celular del pelo radical mediante la secreción de **celulasas**, quedando envueltas en una estructura tubular, conocida como **cordón de infección**, que progresa hacia la base del pelo radical. Este cordón de infección contiene una matriz de origen bacteriano y glicoproteína de origen vegetal. Cuando el cordón de infección alcanza el tejido vegetal con actividad meristemática, comienza la diferenciación nodular propiamente dicha. El desarrollo nodular sigue dos patrones básicos, dependiendo de la planta huésped (Cuadro 16-3). En las especies que poseen **nódulos de**

crecimiento indeterminado, el cordón de infección alcanza las células cercanas al cilindro vascular; el proceso de infección continúa durante la existencia del nódulo. En las especies con **nódulos de crecimiento determinado**, tan sólo algunas células son infectadas por los cordones de infección; tanto las células como las bacterias (o mejor dicho, bacteroides) se dividen activamente hasta conformar el nódulo funcional. Las células que no resultan infectadas se denominan células intersticiales o parenquimáticas.

En algunas simbiosis primitivas, los cordones de infección no llegan a formarse o, si lo hacen, las bacterias siempre

CUADRO 16-3. Características de los nódulos con crecimiento determinado e indeterminado

Parámetro	Determinado	Indeterminado
Planta huésped	Soja, judía, <i>cowpea</i>	Alfalfa, guisante, trébol
Origen geográfico	Tropical y subtropical	Templado
Forma del nódulo	Esférica	Cilíndrica, a menudo ramificada
Área principal de intercambio gaseoso	Lenticelas, formadas de un <i>cámbium</i> cortical	Espacios intercelulares en la mayor parte de la superficie
Divisiones celulares iniciales	Córtex externo	Córtex interno
Tipo de sistema vascular	«Cerrado»	«Abierto»
Células vasculares de transferencia	Ausentes	Presentes
Células infectadas	Prácticamente no vacuoladas	Generalmente vacuoladas
Destino de las primeras moléculas de N ₂ fijadas	Crecimiento nodular	Exportación a la planta (vía xilema)
Producto exportado	Ureidos	Amidas

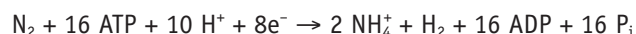
quedan incluidas en ellos. En los nódulos de las leguminosas típicas, entre las que se incluyen las de importancia agronómica, la liberación de los **bacteroides** de los cordones de infección es un requisito esencial para la fijación de N₂. La liberación de las bacterias del cordón de infección al citoplasma de las células de la planta huésped se produce a través de un proceso similar a la endocitosis, de manera que los microorganismos quedan englobados en una vesícula denominada **simbiosoma** (Fig. 16-4). La membrana del simbiosoma contiene material de tres orígenes: cordón de infección, retículo endoplasmático y síntesis *de novo* de membrana por el aparato de Golgi. Por otra parte, las bacterias se diferencian en bacteroides y sufren profundas alteraciones morfológicas. Los bacteroides expresan actividad nitrogenasa y determinados **citocromos** que no estaban presentes en

las bacterias de vida libre. En los bacteroides de nódulos de crecimiento determinado es muy frecuente observar abundantes gránulos de **poli-β-hidroxibutirato** (Fig. 16-4), que parece actuar como reservorio de C.

La formación de los primeros nódulos inhibe la formación de los nódulos subsiguientes en un proceso típico de retroalimentación reguladora. Las respuestas autorreguladoras son sistémicas y requieren la presencia de la parte aérea. La escisión de los primeros nódulos posibilita la formación de otros nuevos. En general, la posibilidad de iniciación nodular se halla restringida a la región en la que se forman los pelos radicales. El proceso de autorregulación depende de la especie de leguminosa.

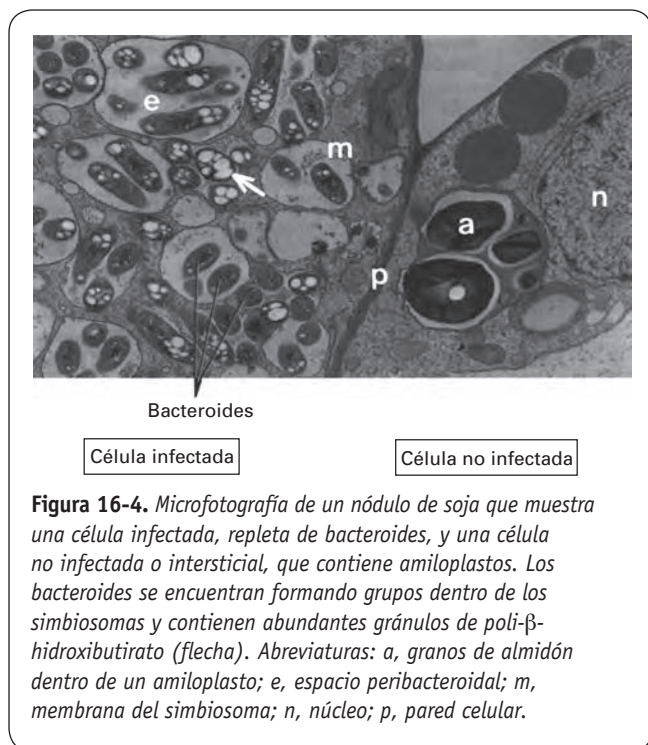
3.3. La nitrogenasa cataliza la reducción de dinitrógeno a amonio

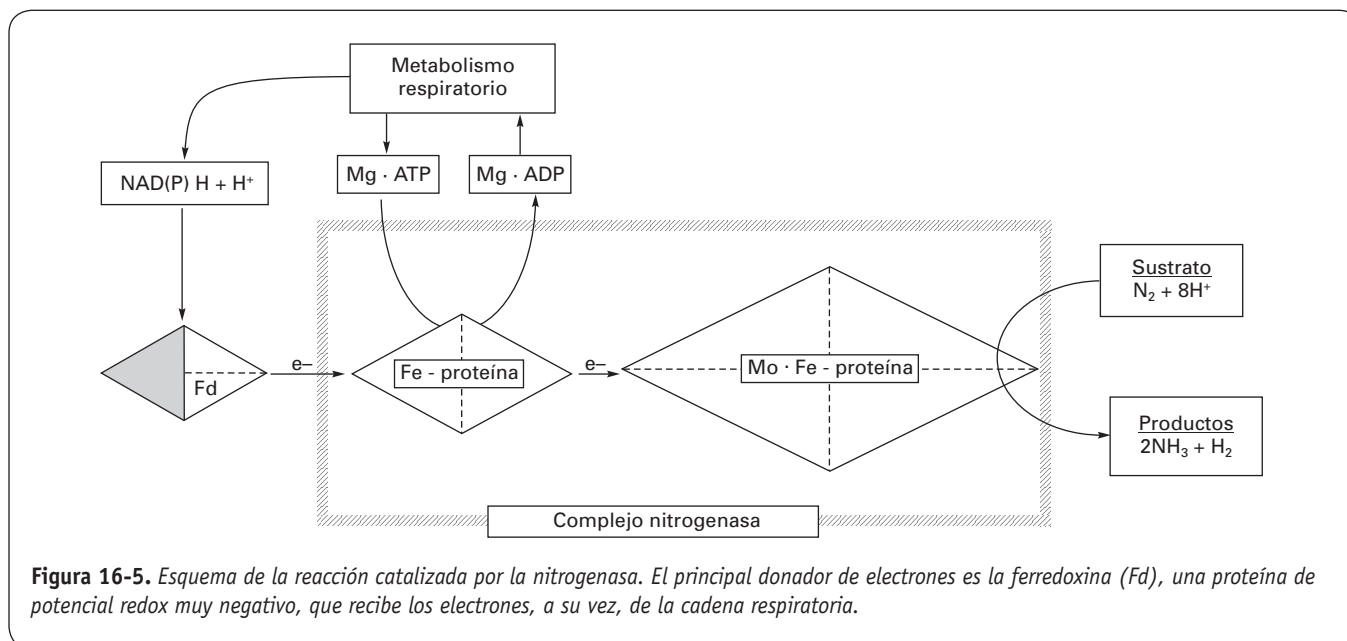
La fijación biológica de N₂ es catalizada por el complejo enzimático **nitrogenasa**. La reacción es altamente endérgica (≈ 960 kJ/mol de N₂ fijado) y su estequiometría es:



En condiciones fisiológicas, los electrones son utilizados para reducir N₂ a amonio y, en menor cuantía, H⁺ a H₂ (Fig. 16-5). Sin embargo, la enzima puede utilizar otros sustratos, como cianuro, azida, ciclopropeno, óxido nitroso y acetileno. El «test de reducción del acetileno» se utiliza habitualmente como prueba de la enzima debido a su sencillez y sensibilidad.

La nitrogenasa consta de dos ferrosulfoproteínas. La Fe-proteína (dinitrogenasa reductasa, componente II) es un dímero con estructura α₂ y masa molecular de ≈ 62 kDa, y contiene un centro [4Fe·4S]. La FeMo-proteína (dinitrogenasa, componente I) es un tetrámero, con estructura α₂β₂ y masa molecular de ≈ 220 kDa, y contiene ≈ 30 átomos de Fe, un número casi equivalente de átomos de S acidolábiles y dos átomos de Mo. De los ≈ 30 átomos de Fe, 16 se encuentran formando cuatro centros [4Fe·4S], llamados





centros «P»; otros dos átomos de Fe se encuentran formando un centro «S»; y los restantes átomos de Fe forman parte de dos centros que contienen además Mo. La estequiometría aproximada de cada uno de estos centros es $[\text{Fe}_6\text{MoS}_8]$. Los dos centros constituyen el llamado cofactor FeMo o FeMoco. La Fe-proteína y la FeMo-proteína son extraordinariamente sensibles al O_2 y se inactivan de forma irreversible cuando se exponen al aire.

La reacción catalizada por la nitrogenasa requiere un donador de electrones, ATP, Mg^{2+} y una concentración sumamente baja de O_2 (Fig. 16-5). La actividad nitrogenasa puede medirse *in vitro* utilizando un sistema generador de ATP, Mg^{2+} y ditio-nito sódico como reductor. En cambio, el reductor *in vivo* de la nitrogenasa es una proteína de potencial redox muy negativo, de tipo flavodoxina (en fijadores de vida libre como *Klebsiella*) o ferredoxina (en bacteroides de *B. japonicum*).

El mecanismo de reacción de la nitrogenasa ha sido principalmente estudiado en los microorganismos fijadores de vida libre. Sin embargo, el modelo propuesto parece ser generalizable a la nitrogenasa de bacteroides con modificaciones mínimas (Fig. 16-5). Durante la reacción de la nitrogenasa, el ATP debe encontrarse como complejo ATP·Mg, ya que el ATP libre es un inhibidor. La Fe-proteína enlaza el ATP·Mg y reduce específicamente la FeMo-proteína, mientras que la FeMo-proteína enlaza y reduce el sustrato. La Fe-proteína reducida es «activada» por el enlace de dos moléculas de ATP·Mg. La activación de la Fe-proteína consiste en un cambio conformacional que hace su potencial redox más negativo en, al menos, 100 mV. Esta Fe-proteína pasa a tener el potencial redox necesario para reducir la FeMo-proteína. Durante cada ciclo de transferencia de un electrón, la Fe-proteína se asocia y disocia de la FeMo-proteína, y dos moléculas de ATP·Mg son hidrolizadas.

La nitrogenasa está regulada *in vivo* a muy diversos niveles: transcripción, traducción, disponibilidad de sustrato, mo-

dificación covalente y moduladores alostéricos. En *Klebsiella pneumoniae*, un fijador de vida libre cuya genética ha sido muy estudiada, la síntesis de nitrogenasa requiere unos 17 genes agrupados en unos ocho operones. Algunos de estos genes se han identificado también en (*Brady*)*rhizobium*. Los genes *nifH*, *nifD* y *nifK* codifican las proteínas estructurales de la nitrogenasa; esto es, la única subunidad α (31 kDa) de la Fe-proteína y las subunidades α (56 kDa) y β (60 kDa) de la FeMo-proteína, respectivamente. Los genes *nifA* y *nifL* tienen una función reguladora y afectan a otros genes *nif*. Los genes *nifA* y *nifL*, que forman un operón, están controlados por diversos genes llamados *ntr*. En condiciones anaeróbicas y limitantes de N combinado, los productos de los genes *ntrA* y *ntrC* activan la transcripción del operón *nifLA*. Entonces, los productos de los genes *ntrA* y *nifA* activan la transcripción de otros operones *nif*. Por el contrario, en presencia de O_2 y alta concentración de N combinado, los productos de *ntrB* y *nifL* reprimen la expresión de la nitrogenasa.

3.4. Los ácidos dicarboxílicos proporcionan energía y esqueletos carbonados para la fijación de nitrógeno

La energía necesaria para la fijación de N_2 proviene originariamente de la fotosíntesis. El compuesto carbonado más importante transportado desde la parte aérea a los nódulos, vía floema, es la sacarosa (Fig. 16-6). En las células nodulares, la sacarosa se hidroliza a monosacáridos por la actividad de las enzimas invertasa alcalina (que produce glucosa y fructosa) y **sacarosa sintasa** (que cataliza la reacción reversible $\text{sacarosa} + \text{UDP} + \text{H}^+ \leftrightarrow \text{fructosa} + \text{UDP-glucosa}$). Hasta hace muy poco tiempo se pensaba que la actividad invertasa alcalina era preponderante, pero los datos actuales indican que la mayor parte de la sacarosa es hidrolizada por la saca-

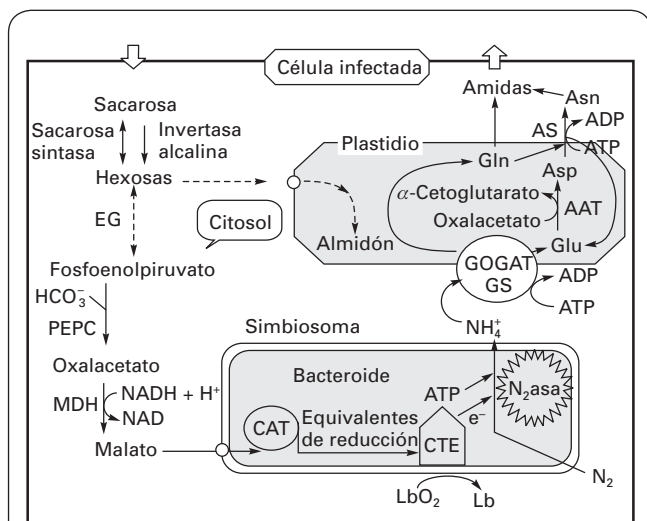


Figura 16-6. Esquema general del metabolismo del C y el N en células infectadas de nódulos exportadores de amidas (nódulos de crecimiento indeterminado). Abreviaturas: AAT, aspartato aminotransferasa; AS, asparagina sintetasa; CAT, ciclo de los ácidos tricarboxílicos; CTE, cadena de transporte de electrones; EG, enzimas glucolíticas (fructoquinasa, UDP-glucosa pirofosforilasa, hexoquinasa, fosfohexosa isomerasa, fosfoglucomutasa, fosfofructoquinasa, fosfofructofosfotransferasa, aldolasa, triosafosfatoisomerasa, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, glicerato-3-fosfato quinasa; gliceratofosfato mutasa, enolasa); GS/GOGAT, ciclo de la glutamina sintetasa/glutamato sintasa; Lb, leghemoglobina; MDH, malato deshidrogenasa; N_2asa , nitrogenasa; PEPC, fosfoenolpiruvato carboxilasa.

rosa sintasa, al igual que sucede en otros tejidos (véase el Capítulo 11). Los monosacáridos son hidrolizados a través de la ruta glucolítica (véase el Capítulo 14), hasta la obtención de fosfoenolpiruvato. La **fosfoenolpiruvato carboxilasa**, una enzima citosólica muy abundante en los nódulos (1-2% de la proteína soluble total) cataliza la incorporación de hasta un 10% del CO_2 respiratorio (realmente HCO_3^- , ya que el CO_2 debe estar disuelto) al fosfoenolpiruvato para producir oxalacetato. El oxalacetato, bastante inestable, es reducido rápidamente a malato por la malato deshidrogenasa. El malato puede ser utilizado como fuente de C y energía para los bacteroides, entrar en la mitocondria, y ser oxidado por el ciclo de Krebs (véase el Capítulo 14), o contribuir a la asimilación del amonio en el ciclo glutamina sintetasa/glutamato sintasa (Fig. 16-6 y Capítulo 15). También se originan pequeñas cantidades de productos de la fermentación como etanol, lactato y acetaldehído. El que uno o varios de los compuestos de C citados sean utilizables por los bacteroides como fuente de energía y C depende de la velocidad de incorporación de éstos en los bacteroides, lo que a su vez viene determinado por la velocidad de transporte a través de la membrana simbiosomal. Dicha membrana es altamente permeable al succinato y al malato, pero poco permeable a α -cetoglutarato, glutamato, piruvato y arabinosa. Ello se debe a que en dicha membrana existe un sistema transportador de dicarboxilatos con alta afinidad por el malato ($K_m = 2$ mM) y

el succinato ($K_m = 15$ mM). Una vez incorporados, los **ácidos dicarboxílicos** son oxidados durante la intensa respiración del bacteroide, lo cual proporciona ATP y poder reductor a la nitrogenasa.

3.5. La asimilación de amonio tiene lugar en la fracción vegetal de los nódulos

El primer producto estable de la fijación de N_2 es el NH_4^+ . Dado que los bacteroides expresan muy poca actividad asimiladora de amonio, tradicionalmente se ha aceptado que éste es excretado en un 95% por los bacteroides al citoplasma de las células nodulares, donde es incorporado en compuestos carbonados. Dicha incorporación debe ser rápida para evitar la acumulación de NH_4^+ hasta un grado que pueda inhibir la síntesis de la nitrogenasa y causar daño celular. La principal vía metabólica de asimilación de NH_4^+ está constituida por dos enzimas de las células nodulares que actúan coordinadamente (Fig. 16-6). La **glutamina sintetasa** cataliza la incorporación de NH_4^+ al glutamato con consumo de ATP, y la **NADH-glutamato sintasa** transfiere el grupo amida de la glutamina al α -cetoglutarato, con formación de dos moléculas de glutamato. Además de glutamato, la glutamina puede donar su grupo amida al aspartato para formar asparagina. La reacción es catalizada por la **asparagina sintetasa** y requiere la hidrólisis de ATP a AMP y PP_i . La otra vía de asimilación de NH_4^+ es la **NADH-glutamato deshidrogenasa**, que cataliza la incorporación de un grupo amino al α -cetoglutarato para producir glutamato.

Recientemente se ha propuesto un modelo en el que, además de dicarboxilatos, la planta suministra glutamato (o un precursor de éste) a los bacteroides. Se ha sugerido que el glutamato atravesaría la membrana simbiosomal a través de un mecanismo pasivo, ya que no se ha encontrado un sistema transportador. El glutamato entraría al bacteroide a través de un sistema transportador Aap/Bra (se trata de transportadores de tipo ABC de amplia especificidad para los aminoácidos), para producir ácido aspártico o, posiblemente, alanina, a partir del oxalacetato. Se ha sugerido que el glutamato podría actuar como posible aminoácido donador debido a su abundancia en nódulos y porque, en simbiosomas aislados de guisante, estimula la transaminación de oxalacetato y piruvato dando lugar a ácido aspártico y alanina. Por ello se cree que, además de NH_4^+ , los bacteroides exportarían ácido aspártico y alanina (Lodwig, E. M. y cols., *Nature* 422: 722-726, 2003). Este modelo entraña importantes consecuencias para la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa. Por un lado, el hecho de que los bacteroides dependan del suministro de aminoácidos por parte de la planta sugiere que el macrosimbionte estaría ejerciendo un papel dominante en la simbiosis regulando el uso de los ácidos dicarboxílicos por parte de los bacteroides, mediante el suministro de aminoácidos. Por otro lado, los bacteroides actúan como orgánulos vegetales para la síntesis del ácido aspártico, lo que obliga a la planta a depender de ellos, favoreciéndose de este modo la evolución de una relación mutualista. Según este modelo,

la interacción entre ambos simbioses sería más compleja de lo que se había pensado hasta ahora, y cada uno de ellos habría desarrollado, aparentemente, una total dependencia metabólica del otro en los nódulos funcionales.

El NH_4^+ asimilado puede ser exportado desde los nódulos a la parte aérea de la planta por el xilema en forma de amidas o ureidos (Fig. 16-7). Las leguminosas de origen templado (alfalfa, guisante, trébol, lupino) exportan el N en forma de **amidas**, como la glutamina, la asparragina y la 4-metilén-glutamina. Las leguminosas de origen tropical y subtropical (soja, judía, *cowpea*) exportan el N en forma de **ureidos**, como la alantoína, el ácido alantoico y la citrulina. Una excepción es el cacahuate, una leguminosa tropical que exporta 4-metilén-glutamina.

La síntesis de ureidos se realiza a partir de las amidas glutamina y asparragina (Fig. 16-7) e implica la síntesis *de novo* de purinas, y su posterior oxidación para formar los ureidos. En la síntesis de ureidos intervienen enzimas de las células infectadas y de las células intersticiales. La utilización de ureidos para el transporte de N implica un ahorro de C ya que la alantoína y el ácido alantoico poseen un cociente C:N de 4:4, frente a un 5:2 de la glutamina o un 4:2 de la asparragina. Sin embargo, los ureidos son considerablemente menos solubles que las amidas, lo que podría explicar por qué son mayoritariamente exportados en las leguminosas tropicales, que presentan **nódulos de crecimiento determinado**. Se ha sugerido que el sistema vascular cerrado y sin ramificaciones de los nódulos de crecimiento determinado puede tolerar un mayor flujo de agua, suficiente para «arrastrar» durante la transpiración de la planta los ureidos producidos en los nódulos. En cambio, los **nódulos de crecimiento indeterminado**, propios de las leguminosas de origen templado, pre-

sentan abundantes ramificaciones y, por tanto, una mayor resistencia al flujo de agua, lo que probablemente impida mantener los ureidos en forma soluble.

3.6. Además de fijar nitrógeno, la nitrogenasa produce hidrógeno, que puede ser reciclado parcial o totalmente en los nódulos

La producción de H_2 por la nitrogenasa supone una limitación importante para la fijación de N_2 por cuanto sólo una parte del flujo de los electrones que atraviesa la nitrogenasa es utilizada para la reducción de H^+ en vez de para la reducción de N_2 . En 1976, Schubert y Evans definieron el término **eficiencia relativa** (ER) como la proporción del flujo total de electrones que atraviesa la nitrogenasa y que no se «pierde» en la producción de H_2 :

$$ER = 1 - \frac{\text{electrones para la reducción de } \text{H}^+}{\text{electrones para la reducción de } \text{H}^+ + \text{N}_2}$$

Un valor de $ER=1$ indica que no se libera H_2 en el sistema simbiótico en estudio. Mientras que la mayoría de las simbiosis presenta valores de $ER = 0.3-0.6$, unas pocas dan valores cercanos a 1. Se ha demostrado que estas últimas expresan una hidrogenasa (de captación) que oxida el H_2 y que es, por tanto, capaz de reciclar, parcial o totalmente, el H_2 producido por la nitrogenasa. La **hidrogenasa** de bacteroides tiene una masa molecular de 100 kDa y consta de dos subunidades de ≈ 63 y 33 kDa. Contiene Ni y Fe en una proporción

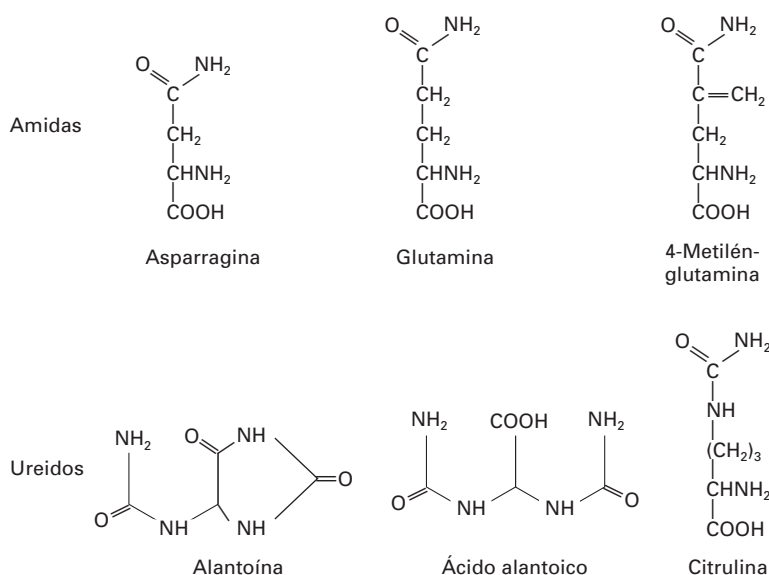


Figura 16-7. Estructura química de las amidas y los ureidos transportados vía xilema desde los nódulos a la parte aérea de la planta. La 4-metilén-glutamina es una amida transportada mayoritariamente por las plantas de cacahuate, mientras que la citrulina, considerada generalmente como un ureido, es transportada por algunas no leguminosas, como el aliso.

aproximada de 1:10, y el Fe se encuentra formando un centro $[\text{Fe} \cdot \text{S}]$. La enzima exhibe una K_m para el H_2 de $\approx 1 \text{ mM}$, y su vida media en el aire es de $\approx 70 \text{ min}$.

Si la producción de H_2 disminuye la eficiencia de la fijación de N_2 , cabe esperar que las simbiosis que no produzcan H_2 sean más eficientes. ¿Puede manifestarse esta mayor eficiencia en una mayor producción vegetal? Se han llevado a cabo estudios comparativos de la biomasa y del contenido total de N de plantas de soja inoculadas con cepas de *B. japonicum* cuyos genotipos diferían únicamente por la capacidad para expresar o no hidrogenasa (genotipos Hup^+ o Hup^-). Las plantas inoculadas con cepas Hup^+ mostraron incrementos significativos ($\approx 10\%$) de biomasa y N total.

Se han sugerido tres mecanismos por los que el reciclaje de H_2 por la hidrogenasa puede aumentar la eficiencia de la fijación de N_2 . Primero, la utilización de H_2 puede estar acoplada a la síntesis de ATP. Esto se ha demostrado con preparaciones de bacteroides de *R. leguminosarum* y *B. japonicum*. Segundo, puesto que la oxidación de H_2 por la hidrogenasa está acoplada al consumo de O_2 , la presencia de esta enzima podría disminuir la concentración interna de O_2 en los nódulos, y proteger así la nitrogenasa frente a la inactivación por el O_2 . Tercero, el H_2 es un inhibidor específico y competitivo de la reducción de N_2 . La hidrogenasa podría servir para reducir la concentración de H_2 en los nódulos y aliviar o eliminar la inhibición de la nitrogenasa por el H_2 .

3.7. La concentración de oxígeno que se alcanza en los bacteroides debe ser estrictamente controlada en los nódulos

Los bacteroides requieren O_2 para sintetizar el ATP necesario para los procesos biosintéticos y para fijar N_2 . Sin embargo, el O_2 inhibe la síntesis de la nitrogenasa e inactiva irreversiblemente la Fe-proteína (cuya vida media en el aire $\approx 45 \text{ s}$ a unos pocos min) y MoFe-proteína (cuya vida media en el aire $\approx 4.5\text{-}60 \text{ min}$). Los nódulos deben poseer, pues, mecanismos que mantengan el O_2 en una concentración suficientemente baja, pero constante, en las células infectadas, para permitir simultáneamente tasas elevadas de respiración y fijación de N_2 en los bacteroides.

En los nódulos de las leguminosas, el suministro de O_2 a la zona central o infectada está controlado por una **resistencia variable a la difusión de O_2** localizada en el córtex interno (Fig. 16-8 A). La existencia de dicha resistencia se ha puesto de manifiesto de forma indirecta y directa. Las pruebas indirectas consisten en la observación de un descenso de la actividad nitrogenasa en presencia de acetileno (un sustrato alternativo de la nitrogenasa; véase el apartado 3.2). Otra prueba indirecta de la existencia de la barrera de O_2 consiste en la observación de que un aumento gradual en el porcentaje de O_2 en la atmósfera externa a los nódulos desde el 21

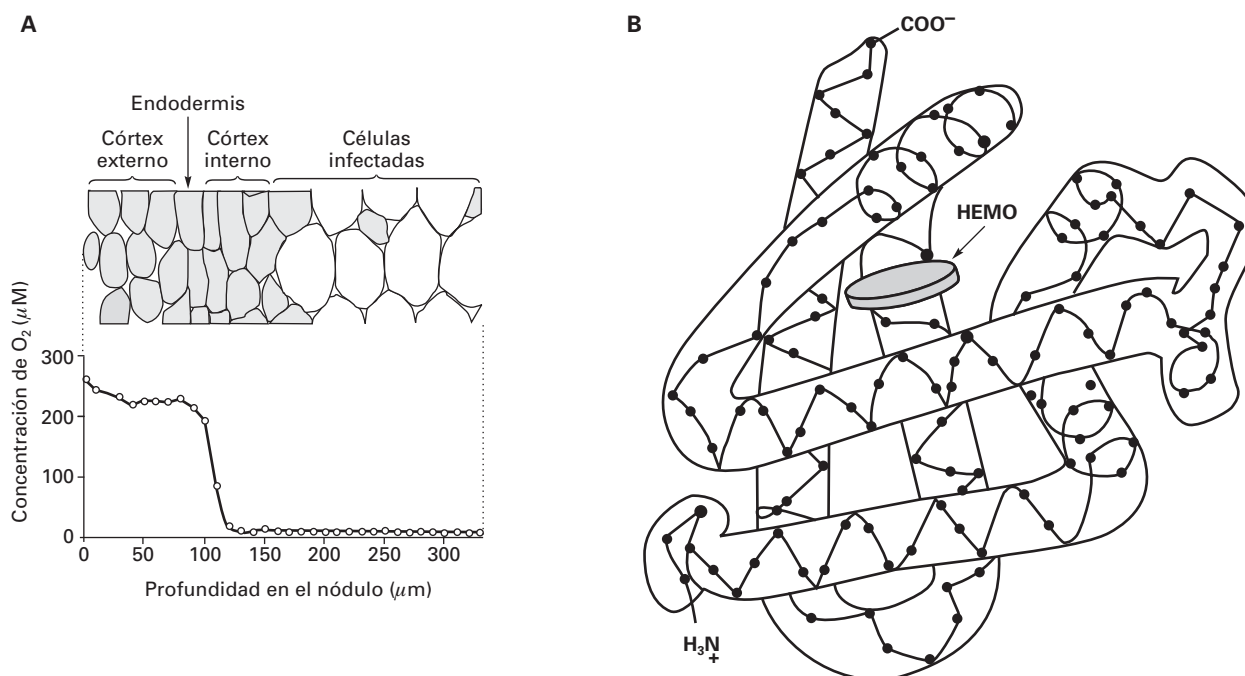


Figura 16-8. Control de la concentración de O_2 en el interior de los nódulos. **A.** Resistencia a la difusión de O_2 localizada en la zona de la endodermis y el córtex interno (también denominado parénquima nodular) de un nódulo de guisante. Su existencia se pone de manifiesto por la abrupta caída de la concentración de O_2 , que se midió con un microelectrodo selectivo colocado a distancias de penetración conocidas. (Adaptado de Witty, J.F. y cols., *Oxford Surveys of Plant Molecular and Cell Biology* 3: 275-314, 1986.) **B.** Estructura terciaria de la Lb de lupino, donde se señala el grupo hemo y los extremos amina y carboxiterminales. (Adaptado de Aparicio-Tejo, P.M. y cols., 1993.)

hasta el 100% no causa daño a la nitrogenasa ni afecta a la respiración nodular, lo que sólo puede explicarse por un aumento en la resistencia a la difusión de O_2 . La prueba directa proviene de la utilización de microelectrodos específicos para medir la concentración de O_2 en las diferentes zonas de los nódulos, que indica una caída de dicha concentración en el córtex interno (Fig. 16-8 A). Cuando se incrementa la concentración de O_2 externa, se produce un aumento transitorio en la concentración de O_2 en la zona infectada de los nódulos, para recuperarse después el valor inicial. Estos resultados se han interpretado admitiendo la existencia de una resistencia a la difusión en el córtex interno de los nódulos, capaz de ajustarse como respuesta a las fluctuaciones en la concentración externa de O_2 , o ante diferentes situaciones de estrés a las que puedan estar sometidas las plantas.

El mecanismo celular y molecular por el que opera dicha resistencia todavía está por determinar, así como el flujo y el gradiente de O_2 que tienen lugar dentro del nódulo. Sin embargo, estudios con modelos matemáticos del flujo de O_2 a través del nódulo sugieren que la variación de la resistencia a la difusión de O_2 puede obedecer a cambios en la cantidad de agua contenida en los espacios intercelulares, ya que la solubilidad del O_2 en agua es baja, y esto determinaría la velocidad de paso del O_2 hacia la zona infectada. Las variaciones en el contenido de agua de los espacios intercelulares pueden deberse a cambios en la conformación de las glicoproteínas que alteren su grado de avidez por el agua, o a cambios en el contenido de sacarosa que, a su vez, determinen osmóticamente la entrada o la salida del agua de las células adyacentes. También se ha sugerido la existencia de células osmocontráctiles que actuarían de forma similar a los pulvínulos (véase el Capítulo 24).

Una vez que el O_2 se difunde hasta la zona central de los nódulos, la **leghemoglobina** (Lb) transporta el O_2 desde la membrana plasmática de las células infectadas a la membrana del simbiosoma. El O_2 libre se difunde entonces a través del espacio peribacteroidal, que carece de Lb, para alcanzar las oxidasas terminales de alta afinidad de los bacteroides. La difusión facilitada de O_2 por la Lb y las altas tasas respiratorias de los bacteroides aseguran que la concentración de O_2 en el entorno de la nitrogenasa se mantenga en el rango de 20-100 nM.

La Lb es una proteína monomérica de unos 16 kDa (unos 150 aminoácidos), con un grupo prostético tipo protohemo IX que se enlaza de forma reversible con el O_2 (Fig. 16-8 B). Sabemos ahora que tanto la globina como el hemo son sintetizados por la planta, contrariamente a la hipótesis admitida hasta ahora de que el hemo era sintetizado exclusivamente por los bacteroides. Dentro de las células infectadas, la Lb se encuentra exclusivamente en el citosol y no en el espacio peribacteroidal. En condiciones fisiológicas, la Lb se encuentra en los nódulos con el Fe de su grupo hemo en estado reducido (forma ferrosa). En los nódulos de soja, aproximadamente un 20% de la Lb reducida se encuentra oxigenada (unida al O_2). Este porcentaje varía según la especie de leguminosa, la edad del nódulo, o el estrés aplicado a la planta. La Lb presenta una gran afinidad por el O_2 ($K_m \approx 48-60$ nM).

Con esta constante de afinidad, y sabiendo el porcentaje de oxigenación de la Lb *in vivo*, se puede calcular que la concentración de O_2 unido a la Lb es 50 000 veces mayor que la concentración de O_2 libre en el citosol de las células infectadas. Es decir, prácticamente todo el O_2 que alcanza los bacteroides es transportado por la Lb y sólo una cantidad casi insignificante llega como O_2 libre, por simple difusión.

La gran mayoría de los estudios sobre la bioquímica de la respiración en rizobios de vida libre y simbiótica se ha llevado a cabo utilizando *B. japonicum*. Los bacteroides de *B. japonicum* contienen varias **oxidasas terminales** con diferente afinidad por el O_2 , lo que determina que la concentración de O_2 regule el flujo de electrones de la cadena respiratoria. Se considera que la función de estas oxidasas en la fijación de N_2 es permitir tanto la síntesis de ATP para bajas concentraciones de O_2 (respiración «eficiente») como la eliminación de O_2 desacoplada a la síntesis de ATP para altas concentraciones de O_2 (respiración «ineficiente»).

En vida libre, *B. japonicum* expresa los citocromos *aa₃* y *o* como oxidasas terminales, mientras que los bacteroides contienen otros citocromos que también reaccionan con el CO y que son, por tanto, posibles oxidasas. La respiración eficiente de los bacteroides tiene lugar a bajas concentraciones de O_2 , con una K_m de 7 nM, e implica al citocromo *cbb₃*, producto del gen *fixNOPQ*.

La Lb es una **nodulina**. Este término fue propuesto por Van Kammen en 1984 para referirse a aquellas proteínas específicas del nódulo que sintetiza la planta como respuesta a la infección, durante el desarrollo nodular, o cuando se inicia la fijación de N_2 . No obstante, el término se emplea en la actualidad para designar a las proteínas cuya expresión aparece incrementada drásticamente en los nódulos, aunque puedan detectarse pequeñas cantidades de ellas en otros tejidos. Se distinguen dos tipos de nodulinas, según el estado de desarrollo del nódulo en el que comienza la expresión de los genes de las nodulinas. La mayor parte de las nodulinas hasta ahora identificadas está codificada por genes cuya expresión comienza, más o menos, con el inicio de la fijación de N_2 y se denominan nodulinas tardías. La más típica es la Lb, que ya ha sido estudiada con cierto detalle. Otras nodulinas de este tipo son la uricasa de los peroxisomas de las células no infectadas y una de las subunidades de la sacarosa sintasa. Los genes de las nodulinas tempranas se expresan durante la infección y la morfogénesis nodular. La nodulina temprana más estudiada implicada en el desarrollo nodular es la ENOD2, localizada exclusivamente en el parénquima nodular y que puede estar relacionada con la resistencia a la difusión del O_2 .

3.8. El desarrollo y el funcionamiento de los nódulos requiere una elevada capacidad antioxidante

Las denominadas **especies reactivas de oxígeno** (abreviadas generalmente como ROS, por su denominación en inglés, *reactive oxygen species*) constituyen moléculas generalmente

formadas por la reducción parcial del oxígeno. Las más relevantes desde el punto de vista fisiológico son los radicales libres superóxido e hidroxilo, y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el oxígeno singlete. Estas ROS, especialmente las de extrema reactividad, como el radical hidroxilo y el oxígeno singlete, son potencialmente tóxicas y pueden causar daño oxidativo a numerosas biomoléculas esenciales, como lípidos, proteínas y DNA (véase el Capítulo 29). En los nódulos existen diversas condiciones que favorecen la producción de ROS, como la elevada tasa respiratoria de los bacteroides, el alto contenido en hierro, la tendencia de la Lb a autooxidarse a pH ligeramente ácido, y la abundancia, en los bacteroides, de proteínas (nitrogenasa, hidrogenasa, ferredoxina) fácilmente oxidables por el O_2 . El radical superóxido y el H_2O_2 se generan mayoritariamente durante el transporte electrónico asociado con la respiración, aunque también son producidos por enzimas como la lipooxigenasa (radical superóxido) y la uricasa (H_2O_2), ambas muy abundantes en los nódulos. El radical hidroxilo puede producirse por la reacción del H_2O_2 con el radical superóxido catalizada por trazas de Fe o Cu (reacción de Haber-Weiss).

Para evitar la formación de algunas ROS y controlar la concentración de otras, los nódulos disponen de una gran variedad y cantidad de **antioxidantes** (Fig. 16-9) (véase también el Capítulo 29). Los metabolitos antioxidantes más importantes de los nódulos son el ascorbato (vitamina C) y los tioles tripeptídicos glutatión y homoglutatión. Entre las enzimas antioxidantes cabe mencionar las cuatro enzimas del ciclo ascorbato-glutatión (ascorbato peroxidasa, deshidroascorbato reductasa, monodeshidroascorbato reductasa y glutatión reductasa) presentes en citosol, mitocondrias, peroxisomas y plastidios; las superóxido dismutasas de citosol, plastidios, peroxisomas, mitocondrias y bacteroides; y las catalasas de peroxisomas y bacteroides (Matamoras, M.A. y cols., *Plant Physiology* 133:499-509, 2003).

Sabemos ahora que algunas ROS de moderada reactividad, como el radical superóxido y el peróxido de hidrógeno, en concentraciones muy bajas y estrictamente controladas, desempeñan también funciones muy importantes en las plantas. Ambas actúan como **moléculas señales** en los momentos iniciales de la interacción rizobio-leguminosa, siendo producidas transitoriamente en el proceso de infección.

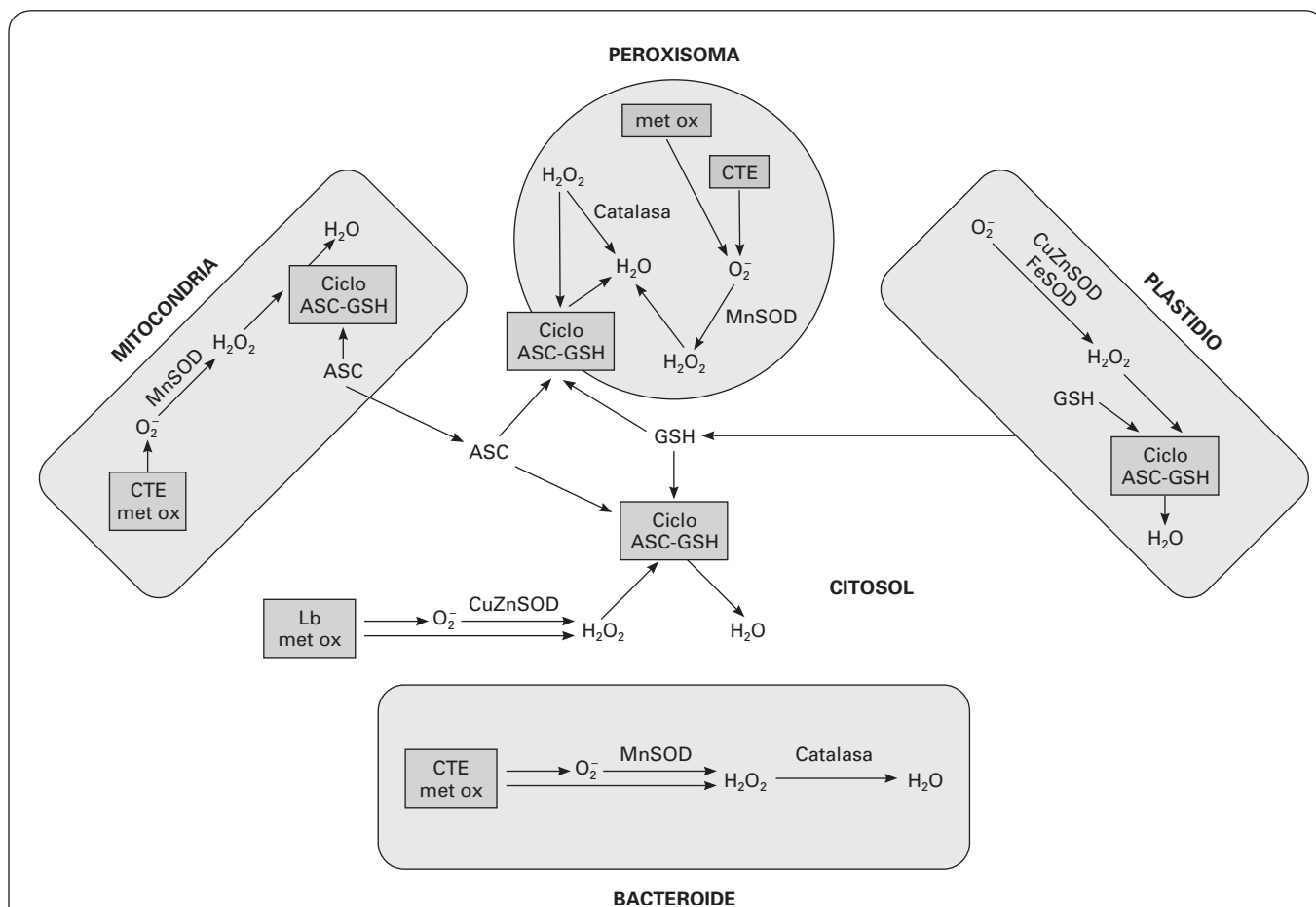


Figura 16-9. Sistemas antioxidantes más importantes presentes en los nódulos de leguminosas. Abreviaturas: ASC, ascorbato; CTE, cadena de transporte de electrones; GSH, glutatión; met ox, metabolismo oxidativo; CuZnSOD, MnSOD, FeSOD, superóxido dismutasas que contienen, respectivamente, Cu y Zn, Mn o Fe como cofactores metálicos; Lb, leghemoglobina; O_2^- , radical superóxido (también se simboliza por $O_2^{\cdot-}$). (Adaptado de Matamoras, M.A. y cols., *Plant Physiology* 133:499-509, 2003.)

Sin embargo, los rizobios son capaces de eludir la **respuesta defensiva** de la planta, muy probablemente debido tanto a los factores Nod como a los polisacáridos superficiales (exopolisacáridos, lipopolisacáridos, glucanos cíclicos) que producen. Estos mecanismos para evitar la respuesta defensiva de la leguminosa, entre los que se deben incluir también las defensas antioxidantes y los componentes de los rizobios homólogos a los factores de virulencia de las bacterias patógenas, son esenciales para determinar el éxito del establecimiento de la simbiosis; en otras palabras, lo que diferencia las interacciones simbióticas de las patogénicas.

Es evidente que las ROS no sólo son esenciales para el inicio de la nodulación, sino también para el funcionamiento del nódulo maduro. La respiración bacteroidal genera niveles elevados de radical superóxido y de peróxido de hidrógeno, que son eliminados (o controlados) por una Mn-superóxido dismutasa y por varias catalasas, respectivamente. Asimismo, el peróxido producido en los peroxisomas y en el citosol de las células de los nódulos es eliminado (o controlado) por la catalasa y la ascorbato peroxidasa citosólica (una de las enzimas solubles más abundantes de los nódulos), respectivamente.

Finalmente, experimentos más recientes han demostrado que, como ocurre con las ROS, las llamadas **especies reactivas de nitrógeno** (RNS), especialmente el óxido nítrico (NO), pueden ser potencialmente tóxicas, pero también pueden desempeñar funciones importantes en los nódulos. El que las RNS intervengan de una manera u otra depende de muchos factores, entre ellos la concentración, el sitio de producción y su interacción con las Hbs y las ROS. El NO se ha detectado en los nódulos jóvenes y podría estar implicado en la interacción simbiótica y en las etapas iniciales del desarrollo nodular. Este NO podría ser producido tanto por una enzima del tipo **NO sintasa** homóloga a la de las células animales, como por la **nitrito reductasa**, presente en el citosol de las células nodulares. También se ha demostrado que las Hbs no simbióticas (presentes en casi todos los tejidos vegetales) y las Lbs, al interactuar con el NO, pueden modular su bioactividad, e incluso se ha afirmado que una de sus funciones es la de «atrapar» el NO. No hay que olvidar que esta molécula es un radical libre y que, por tanto, su vida media es corta. La interacción del NO con las hemoproteínas y con otras moléculas como el GSH (formando nitrosotioles) podría prolongar su vida media y facilitar así su transporte a las células diana. El NO puede reaccionar directamente con el radical superóxido generando peroxinitrito (ONOO⁻), una RNS especialmente tóxica que puede atacar oxidativamente al grupo hemo de la Lb.

3.9. La fijación de nitrógeno disminuye durante la senescencia o en condiciones de estrés

La pérdida o disminución en la capacidad fijadora de N₂ es una característica de la senescencia en los nódulos, tanto de la natural («envejecimiento») como de la inducida por

diversos tipos de estrés. Durante la **senescencia natural o inducida** tiene lugar una serie de importantes cambios metabólicos, entre los que destaca la degradación generalizada de las proteínas del citosol y, especialmente, de la Lb. Las proteínas de los bacteroides parecen ser, sin embargo, más estables que las del citosol nodular. La degradación de las proteínas posiblemente se debe a una activación de las **cisteína-proteasas**, en la que parece actuar como factor relevante un cambio en el pH citosólico, junto con la descompartimentación de proteasas y otras enzimas hidrolíticas por rotura de las membranas de diversos orgánulos. A la disminución del contenido de proteínas durante la senescencia podría contribuir también la inhibición de la síntesis de proteínas, tal como ocurre en condiciones de estrés hídrico.

Una característica común a casi todos los tipos de **senescencia inducida por estrés abiótico** es la caída de la respiración nodular, como consecuencia de un aumento de la resistencia a la difusión del O₂. Esto es particularmente patente en el caso del estrés hídrico, la salinidad o la inundación del suelo. Los nódulos formados en suelos con exceso de agua desarrollan más espacios intercelulares (aerénquima) para contrarrestar, aparentemente, el déficit de O₂. Otros factores añadidos al estrés hídrico son, en el corto plazo, una interrupción del flujo glucolítico en los nódulos, a nivel de la sacarosa sintasa, lo que provoca un descenso en la disponibilidad de ácidos orgánicos para los bacteroides; y en el largo plazo, la disminución de la fotosíntesis a causa del cierre estomático y, por tanto, la disminución del suministro de fotosintetizados a los nódulos y la acumulación de los productos nitrogenados de la fijación (amidas, ureidos) debido a la reducción de la transpiración. La senescencia nodular inducida por la aplicación de nitrato presenta algunas peculiaridades. Sorprendentemente, todavía no se conoce el mecanismo por el que el tratamiento con nitrato inhibe la actividad nitrogenasa, aunque se han propuesto varias hipótesis: disminución del aporte de fotosintetizados; producción de metabolitos tóxicos (nitrito y NO) por reducción del nitrato en los nódulos; y disminución del suministro de O₂ a los bacteroides por aumento de la resistencia a la difusión de O₂ en el córtex. La posibilidad de que el nitrito, o el NO que pueda derivarse de él, se acumulen en los nódulos e interfieran con la actividad de la nitrogenasa o de la Lb merece, sin duda, un estudio más riguroso que el que se le ha dedicado hasta ahora. Recientemente se ha sugerido que el estado de la nutrición nitrogenada de la planta podría regular la fijación de N₂ a través de los niveles de glutamina presentes en el floema.

En la senescencia natural e inducida de los nódulos puede producirse una situación conocida como **«estrés oxidativo»**. En las células vegetales en general, el estrés oxidativo se origina por una descompensación entre la tasa de formación de ROS y la capacidad defensiva antioxidante. Los síntomas más aparentes son la acumulación de productos oxidados de membranas lipídicas (malondialdehído y otros aldehídos citotóxicos), proteínas (aminoácidos carbonilados) y DNA (8-oxoguanina). Todos estos compuestos se han detectado en los nódulos senescentes. Más recientemente se ha sugerido (pero todavía no se ha demostrado) que, como

ocurre en otros órganos de la planta expuestos a estrés, en los nódulos pueden producirse moléculas como la nitrotirosina, mediante la reacción («nitración») del peroxinitrito con los residuos de tirosina de las proteínas (¿específicas?). Este tipo de modificación postransduccional de las proteínas podría tener una función señalizadora.

4. FIJACIÓN DE NITRÓGENO Y AGRICULTURA

Los dos tipos de cultivos más importantes en todo el mundo son los de cereales y leguminosas. En el Cuadro 16-4 se muestra la relación de las leguminosas a las que se dedica mayor extensión de cultivo. La fijación simbiótica de N_2 contribuye directamente a la producción de las leguminosas de grano y forrajeras; asimismo, las leguminosas son de enorme interés como enriquecedoras de N en los suelos. Todas las culturas agrícolas han practicado la **rotación de cultivos cereal-leguminosa**. Esta importancia de la asociación cereal-leguminosa no sólo se debe a su complementariedad en la dieta humana y del ganado, sino también a su papel beneficioso como alternativa de cultivos, ya que con ella se rompe la continuidad de plagas y enfermedades, a la vez que se incrementa la fertilidad del suelo.

Como el rendimiento de un cultivo depende marcadamente de la disponibilidad de N en las etapas críticas del desarrollo de las plantas (véase el Capítulo 8), es muy importante saber si la fijación simbiótica de N_2 es capaz de cubrir las necesidades de la planta para alcanzar un rendimiento óptimo. Cuando se compara el crecimiento de plantas noduladas y fertilizadas, se puede concluir que, si existe una simbiosis bien adaptada, el sistema simbiótico es igual de eficiente en el crecimiento. Para que una leguminosa fije eficientemente N_2 debe estar bien nodulada, tener tasas fotosintéticas y respiratorias elevadas, encontrarse en condiciones ambientales adecuadas y poseer un sistema vascular eficaz de transporte de los productos de la fijación fuera del nódulo para su posterior distribución a otros tejidos de la planta. Desde el punto de vista fisiológico, es interesante resaltar que, aunque las plantas no noduladas pueden tener más C disponible para el crecimiento de la planta y, por tanto, un mayor potencial productivo, una gran proporción del C se utiliza en el mantenimiento de estructuras inertes, de donde no puede ser fácilmente recuperado y ello, desde el punto de vista agronómico, puede reducir la superioridad relativa de las plantas dependientes de N combinado con respecto a las fijadoras de N_2 .

CUADRO 16-4. Algunas especies de leguminosas ampliamente cultivadas.

I. Leguminosas de grano		
<i>Arachis hypogaea</i>	Cacahuete	América del Norte y del Sur, África, Asia
<i>Cicer arietinum</i>	Garbanzo	Principalmente la India, pero ampliamente distribuida por el área mediterránea
<i>Glycine max</i>	Soja	América del Norte y del Sur, Asia
<i>Lens culinaris</i>	Lenteja	India, Turquía, área mediterránea
<i>Lupinus sp.</i>	Lupino, altramuz	Europa, Rusia, Australia
<i>Phaseolus vulgaris</i>	Judía	Este de África, América del Norte y del Sur, Suroeste de Europa
<i>Pisum sativum</i>	Guisante	La mayoría de las regiones del mundo
<i>Vicia faba</i>	Haba	África, Asia, Europa
<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Cowpea</i>	África (zonas semiáridas)
II. Leguminosas forrajeras		
<i>Medicago sativa</i>	Alfalfa	Ampliamente cultivada en regiones templadas
<i>Trifolium sp.</i>	Trébol	Cultivado en zonas templadas y subtropicales
<i>Vicia sativa</i>	Veza	Cultivada en regiones templadas



RESUMEN

- La fijación biológica de N_2 la llevan a cabo organismos procarióticos que poseen el complejo multienzimático **nitrogenasa**.
- La reducción del N_2 atmosférico a amonio requiere Mg^{2+} , ATP y un donador de electrones tipo ferredoxina, y es muy sensible al O_2 . Por ello, los organismos diazotrofos fijan N_2 en ambientes anaerobios o, alternativamente, han desarrollado estrategias para evitar el daño irreversible del complejo nitrogenasa.

RESUMEN



- Algunos diazotrofos sólo fijan N_2 en asociaciones simbióticas, entre las que destacan las formadas entre los rizobios y las leguminosas. El establecimiento de la **simbiosis** requiere un complejo intercambio de señales y la expresión programada de numerosos genes.
- Los rizobios penetran en los pelos radicales a través de un **cordón de infección** y son liberados al citoplasma, donde se diferencian en **bacteroides**. Éstos quedan englobados en los **simbiosomas**, «orgánulos» especializados en la fijación de N_2 , que están rodeados por una membrana de origen vegetal a través de la cual se produce un intercambio muy activo de iones y metabolitos.
- Como resultado final se origina el **nódulo**, que proporciona a la nitrogenasa un entorno en el que la concentración de O_2 está regulada por una resistencia variable en el córtex y la presencia de **leghemoglobina** en la zona central.
- El funcionamiento del nódulo depende del suministro de **carbono**, en forma de sacarosa, por parte de la planta. La sacarosa es metabolizada a **ácidos dicarboxílicos**, que sirven de fuente energética para los bacteroides. El N fijado por éstos es excretado al citosol de la célula infectada, que lo incorpora en forma de **amidas** o **ureidos**, los cuales son exportados al resto de la planta.
- La formación y la actividad de los nódulos dependen de metabolitos y enzimas **antioxidantes** que controlan la concentración de las **especies reactivas de oxígeno** y **nitrógeno**, evitando la aparición de **estrés oxidativo**.
- Algunas de estas moléculas, como el radical superóxido, el peróxido de hidrógeno y el óxido nítrico, desempeñan **funciones señalizadoras** importantes durante el desarrollo nodular, así como en la respuesta de los nódulos a diversos tipos de estrés. En estas condiciones, las variaciones en el flujo de O, C y N entre la planta y el nódulo determinan, muy probablemente, la inhibición de la fijación de N_2 .

PROBLEMAS Y CUESTIONES



- 1 Explique por qué la producción de hidrógeno supone una disminución de la eficiencia energética del proceso de fijación de N_2 .
- 2 ¿Qué estrategias poseen los organismos diazotrofos para proteger la nitrogenasa de la inactivación por el O_2 ?
- 3 ¿En qué se basa la especificidad de la simbiosis entre las diferentes especies de leguminosas y rizobios?
- 4 ¿Es necesaria la presencia de rizobios para la estimulación de las divisiones meristemáticas que dan lugar a la formación del nódulo?
- 5 ¿Por qué se habla de un complejo nitrogenasa y no de una enzima nitrogenasa?
- 6 Si se aíslan simbiosomas intactos de los nódulos y se incuban en condiciones microaeróbicas ¿podrían fijar N_2 con glucosa como fuente de energía?
- 7 Indique enzimas de los nódulos que originen, respectivamente, radical superóxido, H_2O_2 y NO. Asimismo, indique las reacciones no enzimáticas que puedan originar radical hidroxilo y peroxinitrito.

RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES



- 1 Véase el apartado 3.6.
- 2 Véanse los apartados 2.1, 2.2, 2.3 y 3.7.
- 3 Véase el apartado 3.1.
- 4 Véanse los apartados 3.1 y 3.2.
- 5 Véase el apartado 3.3.
- 6 Véase el apartado 3.4.
- 7 Véase el apartado 3.8.

**BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA**

1. Aparicio-Tejo PM *et al.* Fijación de nitrógeno. En Azcón-Bieto J, Talón M (eds.). *Fisiología y Bioquímica Vegetal*. Madrid, McGraw-Hill/Interamericana, 1993.
2. Bedmar EJ, González J, Lluch C *et al.* (eds.). *Fijación de Nitrógeno: Fundamentos y Aplicaciones*. Granada, Sociedad Española de Fijación de Nitrógeno, 2006.
3. Legocki A *et al.* (eds.) *Biological Fixation of Nitrogen for Ecology and Sustainable Agriculture*. Berlin, Springer-Verlag, 1997.
4. Monza J, Márquez A. (eds.). *El metabolismo del nitrógeno en las plantas*. Córdoba, Almuzara Estudios, 2004.
5. Sánchez F, Quinto C, López-Lara IM *et al.* (eds.). *Biology of Plant-Microbe Interactions* (vol. 5) St. Paul (MN), International Society for Plant-Microbe Interactions, 2006.
6. Spaink HP, Kondorosi A *et al.* (eds.). *The Rhizobiaceae: Molecular Biology of Model Plant-Associated Bacteria*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 1998.
7. Sprent JI. *Nodulation in Legumes*. Kew, Ed. Royal Botanic Gardens, 2001.
8. Triplett EW (ed.). *Prokaryotic Nitrogen Fixation. A Model System for the Analysis of a Biological Process*. Norfolk, Horizon Scientific Press, 2002.

Introducción al metabolismo secundario

MARÍA TERESA PIÑOL, JAVIER PALAZÓN Y ROSA MARÍA CUSIDÓ



1. Conceptos generales. 2. Terpenos. 3. Fenoles. 4. Lípidos. 5. Alcaloides.

1. CONCEPTOS GENERALES

Todas las células vegetales realizan procesos metabólicos comunes que conducen a la formación de compuestos como azúcares simples, aminoácidos, nucleótidos, ácidos grasos y polímeros derivados de ellos (polisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos y lípidos, entre otros), esenciales para la vida celular y, en general, para la de la planta. El conjunto de estos procesos constituye el **metabolismo primario**, y los compuestos indicados se denominan **metabolitos primarios**. Además de los procesos metabólicos primarios, en las plantas se pueden desarrollar otros procesos que conducen a la formación de compuestos peculiares de ciertos grupos taxonómicos. Estas rutas constituyen el **metabolismo secundario**, y sus productos se denominan **metabolitos secundarios**. Sin embargo, como los metabolitos secundarios derivan biosintéticamente de ciertos compuestos primarios (Fig. 17-1), ambas clases de metabolismo están interconectadas en una extensión que hace difícil establecer una clara división entre ellas.

La biosíntesis de los metabolitos secundarios suele encontrarse restringida a fases específicas del desarrollo, tanto del organismo como de las células especializadas, y a períodos de estrés causados, por ejemplo, por la deficiencia de nutrientes, por factores ambientales o por el ataque de microorganismos. Este fenómeno se debe a la formación, dependiente de fase, de las correspondientes enzimas, lo que significa que la expresión del metabolismo secundario se basa en un proceso de diferenciación. Las proteínas formadas como resultado de los procesos de diferenciación se pueden clasificar, según su significación biológica y su función en la célula productora, como proteínas del meta-

bolismo primario o como proteínas de especialización. De acuerdo con esta clasificación, el metabolismo secundario se puede definir como la biosíntesis, la transformación y la degradación de compuestos endógenos mediante **proteínas de especialización**.

Hasta hace algún tiempo, los metabolitos secundarios de las plantas se solían considerar sustancias de desecho para el vegetal, carentes de una función fisiológica definida. En la actualidad, se sabe que, si bien los denominados compuestos secundarios no tienen, a diferencia de los metabolitos primarios, una importancia directa para la célula productora, sí pueden tener significación para el organismo productor como un todo. Muchos metabolitos secundarios están implicados en relaciones ecológicas, es decir, de la planta productora con los otros organismos de su medio natural. Ejemplos de ello son los pigmentos de las flores que atraen a los insectos polinizadores, y los compuestos que inhiben el crecimiento de otros organismos vegetales (sustancias alelopáticas), o que protegen a la planta productora de infecciones (fitoalexinas) o de los depredadores (disuasorios nutritivos o alimentarios). En general, puede afirmarse que los metabolitos secundarios constituyen el mundo de señales químicas a través del cual las plantas se relacionan con su entorno.

Otros compuestos formados en las rutas del metabolismo secundario tienen importancia fisiológica (p. ej., los esteroides constituyentes de las biomembranas o el polímero estructural lignina) (véase el Capítulo 1), o sirven como señales que integran la diferenciación celular y el metabolismo en diferentes partes del organismo vegetal multicelular (p. ej., muchas fitohormonas) (véase el Capítulo 18). Estos compuestos esenciales para las plantas y formados por las rutas

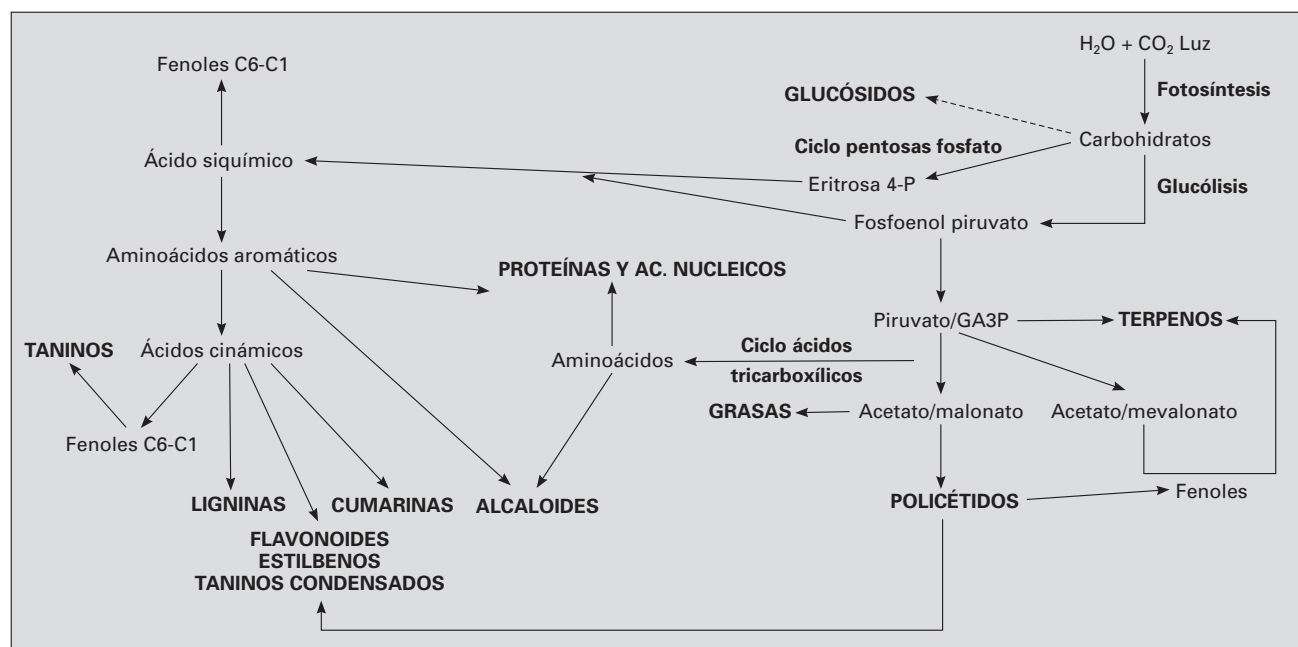


Figura 17-1. Relaciones entre el metabolismo primario y secundario de las plantas, origen biosintético de los principales grupos de compuestos secundarios. GA3P: gliceraldehído-3-fosfato.

del metabolismo secundario deben ser considerados metabolitos primarios por su significación fisiológica.

El metabolismo primario, como queda reflejado en la Figura 17-1, proporciona un número de pequeñas moléculas, entre las que cabe destacar el ácido siquímico, el acetato o los aminoácidos, los cuales constituyen los materiales de partida para las rutas más importantes del metabolismo secundario. El **ácido siquímico**, por la ruta metabólica que lleva su nombre, da origen a muchos compuestos aromáticos, entre ellos los aminoácidos aromáticos, los ácidos cinámicos y ciertos polifenoles. El **acetato** es el precursor de los ácidos grasos y de los policétidos por la **ruta del acetato-malonato**, y de una parte de los terpenos o isoprenoides por la **ruta del acetato-mevalonato**. Por el contrario, los terpenos propios de los plastos se sintetizan a partir de otros metabolitos primarios como el piruvato y el gliceraldehído-3-P. Los **aminoácidos** son precursores de los alcaloides y de los antibióticos peptídicos, entre los que figuran las penicilinas y las cefalosporinas. Finalmente, existen metabolitos secundarios en cuya formación concurren varias rutas metabólicas. Entre estos compuestos de síntesis mixta destacan polifenoles como los estilbenos o los flavonoides, formados por la **ruta del ácido siquímico** y del acetato-malonato.

Igualmente, ciertas variaciones en las rutas del metabolismo primario pueden conducir a la formación de metabolitos secundarios. Así, variaciones de la ruta de las pentosas-fosfato (véase el Capítulo 14) son fuente de los azúcares raros encontrados en los glucósidos cardiotónicos, y variaciones en las rutas de síntesis de los aminoácidos proteicos dan origen a los aminoácidos no proteicos.

En este capítulo se estudia la biosíntesis y la significación biológica de los principales grupos de metabolitos

secundarios vegetales. Se hablará también del interés que ofrece cada uno de los grupos para la industria, ya que el metabolismo secundario vegetal es una fuente importante de valiosos productos químicos (de hecho, las plantas medicinales deben sus propiedades curativas a su capacidad para sintetizar y acumular algunos de estos compuestos), así como de fármacos y otros valiosos compuestos químicos, como esencias y colorantes. Además, a algunos metabolitos secundarios de los alimentos, tales como los polifenoles y los carotenoides, se les han reconocido recientemente relevantes propiedades terapéuticas y preventivas para ciertas enfermedades, y por ello para estos alimentos se ha acuñado la denominación de nutracéuticos o alimentos funcionales.

2. TERPENOS

Los **terpenos** o **isoprenoides** constituyen uno de los grandes grupos de compuestos secundarios ampliamente extendidos en el reino vegetal. Entre ellos se encuentran metabolitos claramente secundarios, con una distribución taxonómica restringida (como los componentes de esencias, bálsamos y resinas), junto con otros compuestos de amplia distribución considerados fisiológicamente primarios. Entre los isoprenoides considerados primarios figuran las fitohormonas giberelinas (véase el Capítulo 20) y el ácido abscísico (véase el Capítulo 22); la cadena isoprenoide de algunas citoquininas (véase el Capítulo 21), de la plastoquinona y de la ubiquinona; el fitol de la clorofila; los carotenoides; los fitoesteroles esenciales para la integridad de las biomembranas y los dolicoles.

En las plantas, igual que en los mamíferos, los isoprenoides se sintetizan a partir del compuesto C5 isopentenil difosfato

(IpPP) (1), que se puede considerar el **isopreno activo**, hipotético, de *Ruzicka*. Los isoprenoides se clasifican, según el número de unidades teóricas de isopreno de que se componen, en: monoterpenos (2 unidades); sesquiterpenos (3 unidades); diterpenos (4 unidades); triterpenos (6 unidades); tetraterpenos (8 unidades) y politerpenos (más de 8 unidades).

2.1. Origen del isopentenil difosfato

La biosíntesis de los terpenos en las células vegetales está compartimentada, es decir, la formación de IpPP y los pasos posteriores discurren de modo diferente según se trate de la biosíntesis de terpenos citoplasmáticos o cloroplásticos (Fig. 17-2). En los primeros pasos de la biosíntesis citoplasmática de los isoprenoides, en una reacción catalizada por la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA reductasa (HMGR), se condensan tres moléculas de acetil CoA ($\text{CH}_3\text{-COCoA}$) (2) y originan el ácido mevalónico (AMV) (3): compuesto de seis carbonos que experimenta una descarboxilación y dos fosforilaciones consecutivas para transformarse en el IpPP.

En los plastos, el IpPP se forma de manera diferente por la condensación de los compuestos piruvato y gliceraldehído-3-P (Fig. 17-2), dando origen a 1-desoxi-D-xilulosa 5-P, que tras experimentar diferentes modificaciones y mediante la formación del intermediario 2-metil-D-eritritol 4-P, se convertirá en el IpPP (Eisenreich, W. y cols., *Cellular and Molecular Life Sciences* 61:1401-1426, 2004). El IpPP originado por ambas rutas puede transformarse en su isómero dimetilalil difosfato (DMAPP) (4) por desplazamiento del doble enlace de la posición 3-4 a la 2-3 (Fig. 17-3). Estos dos compuestos dan origen a todos los terpenos naturales.

El IpPP y el DMAPP se condensan siguiendo un modelo cabeza-cola [1'-5], aportando el DMAPP el resto isoprenoide inicial, para formar el geranil difosfato (C10) (GPP) (5). La enzima que cataliza esta reacción es la geranil difosfato sintasa, que está localizada en los plastos. El compuesto que

se forma, el GPP, da lugar a todos los monoterpenos de las plantas (Fig. 17-3).

Estos dos compuestos, DMAPP e IpPP, también se pueden unir en forma de cabeza-cola [1'-5] para originar farnesil difosfato (C15) (FPP) (6), aunque en este caso es un DMAPP y 2 IpPP los que dan lugar al FPP. La enzima que cataliza esta reacción es la farnesil difosfato sintasa, que se encuentra localizada en el retículo endoplasmático. El FPP es el compuesto que da lugar a todos los sesquiterpenos, y también a los triterpenos, mediante una reacción de dimerización, por unión cabeza-cabeza [1'-1] de dos moléculas de sesquiterpeno.

La extensión de la cadena terpénica puede proseguir en el cloroplasto, donde se condensan, por la acción de la enzima geranil geranil difosfato sintasa, una unidad de DMAPP y tres de IpPP para formar geranil geranil difosfato (C20) (GGPP) (7). Este compuesto es el precursor directo de los diterpenos y, por la dimerización de estos últimos, de los tetraterpenos.

Existen también otras enzimas, las preniltransferasas, que pueden incrementar con más unidades de IpPP la longitud de la cadena terpénica hasta formar grandes polímeros, los politerpenos ($C > 40$), tales como la parte isoprenoide de la plastoquinona y la ubiquinona, los dolicoles, el caucho y la gutapercha.

Como ya hemos comentado, en la biosíntesis de los terpenos o isoprenoides, además de las uniones cabeza-cola para incrementar la longitud de la cadena terpénica, se producen reacciones de dimerización o uniones cola-cola (Fig. 17-4). En estas reacciones, la cola reactiva de un terpeno se une al doble enlace de las posiciones 2-3, creándose un ciclopropano (8) muy inestable que se abre y rompe para producirse al final una unión 1'-1.

Por la unión de dos moléculas de FPP se forma escualeno (9) (Fig. 17-5), que es un compuesto de 30 átomos de carbono, precursor de los triterpenos. La enzima que cataliza esta reacción, la escualeno sintasa, requiere poder reductor en forma de NADPH y se localiza en la fracción microsomal.

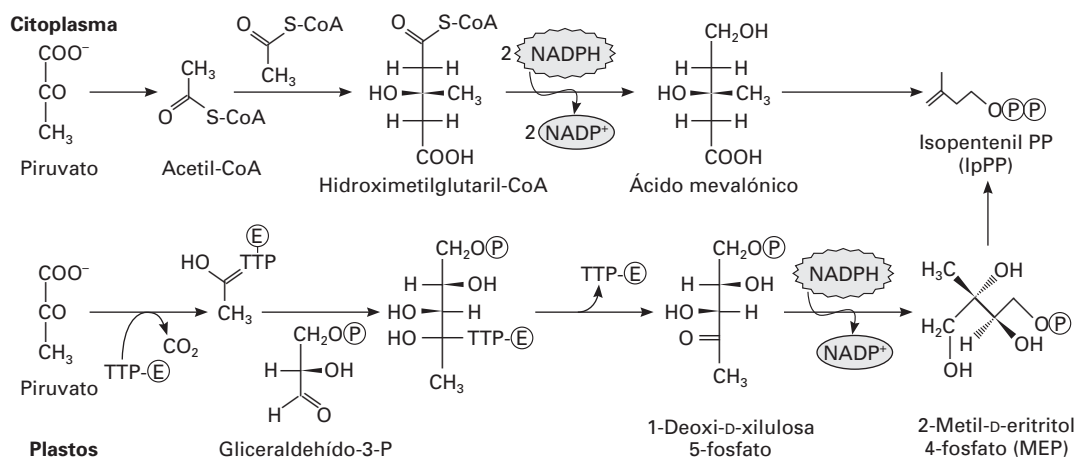


Figura 17-2. Formación del isopentenil difosfato (IpPP) en las células vegetales. En el citoplasma, la condensación de tres moléculas de acetil-CoA conduce a la formación del ácido mevalónico que se transforma posteriormente en IpPP. En los plastos, existe una ruta de formación específica que pasa a través de 1-desoxi-D-xilulosa-5-fosfato.

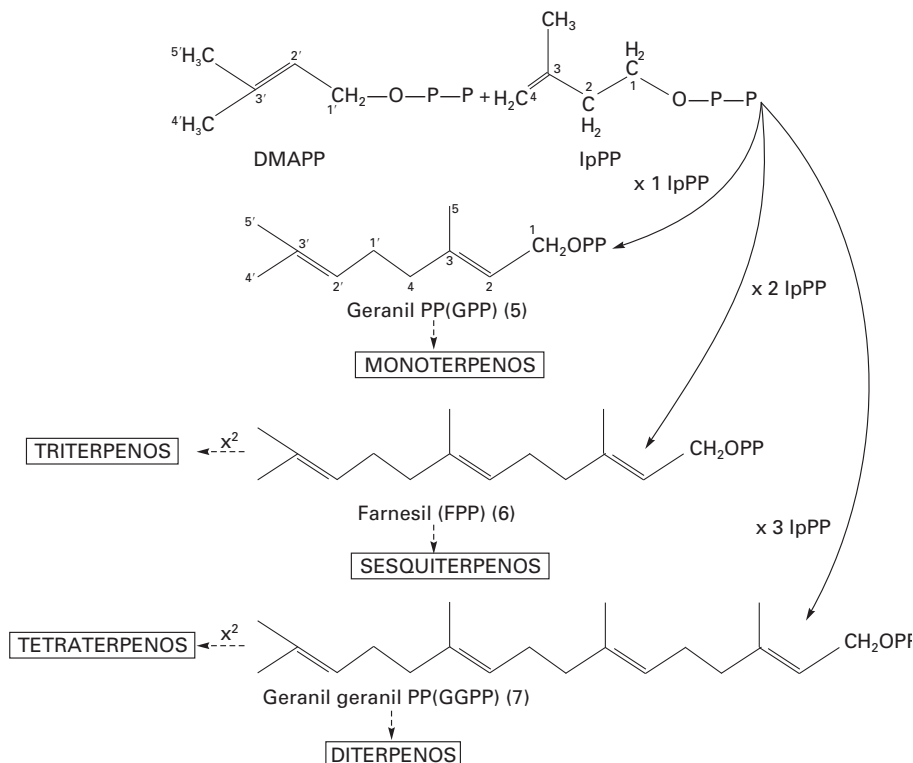


Figura 17-3. Extensión de la cadena terpenica o isoprenoide de C5 a C20. X², reacciones de dimerización.

El mecanismo de la reacción es el mismo si se unen dos moléculas de GGPP; pero, en este caso, el compuesto que se forma tiene 40 átomos de carbono y recibe el nombre de fitoeno (10) (Fig. 17-8). Esta dimerización sólo se produce en el cloroplasto, puesto que la enzima fotoinducida que la cataliza, la fitoeno sintasa, sólo se localiza en dicho orgánulo. Sin embargo, a diferencia de la escualeno sintasa, la fitoeno sintasa no necesita poder reductor.

2.2. Los monoterpenos son compuestos C10 que derivan del GPP

Del GPP se originan directamente los monoterpenos acíclicos, o bien el mismo compuesto se puede convertir en neril difosfato (isómero *cis*) y originar los terpenos cíclicos. La mayoría de los monoterpenos presenta funciones oxigenadas, como aldehídos o alcoholes, y las reacciones de oxidación tienen lugar en el citoplasma celular. Como ejemplos se pueden destacar los del limoneno (11), mentol (12), timol (13) y alcanfor (14), todos ellos con acción antiséptica y expectorante. Muchos de estos compuestos se acumulan en estructuras vegetales específicas y constituyen las **esencias naturales**, por lo que se utilizan en cosmética y perfumería. Asimismo, muchos monoterpenos están implicados en las relaciones ecológicas de las plantas que los producen, pues, debido a sus propiedades organolépticas, atraen insectos y otros animales que favorecen la polinización (véase el Capítulo 26).

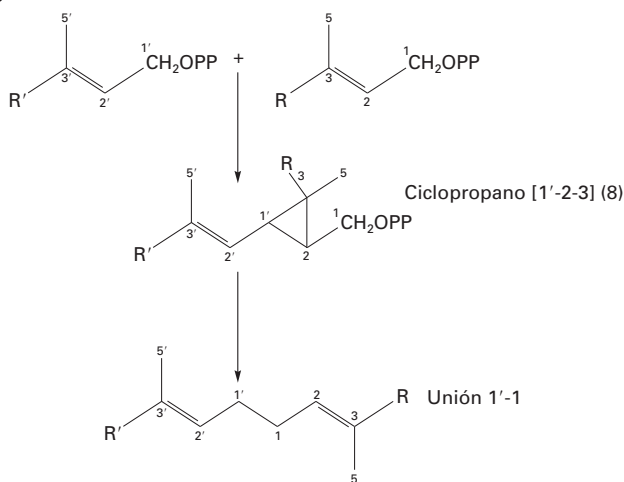
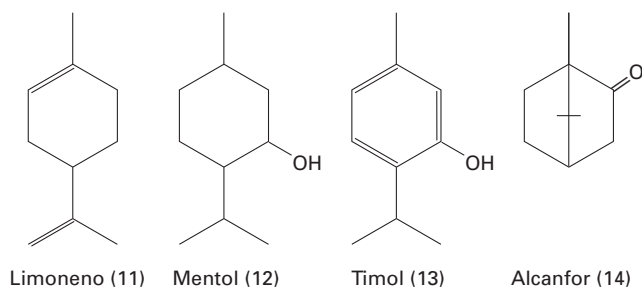


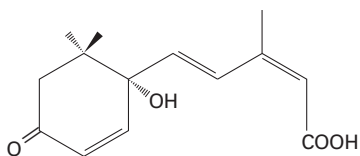
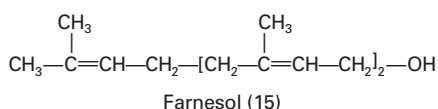
Figura 17-4. Formación y apertura del ciclopropano en las reacciones de dimerización.



2.3. Los sesquiterpenos son compuestos C15 que derivan del FPP

Existen sesquiterpenos con estructuras cíclicas o acíclicas, saturadas o con dobles enlaces aislados. Muchos de ellos poseen funciones hidroxilo, cetona y carboxilo, entre otras. En general, son compuestos lipófilos y volátiles, y se localizan en glándulas de esencias junto con los monoterpenos.

En este grupo de sesquiterpenos, además de componentes de esencias como el farnesol (15), se encuentran, entre otros compuestos, la fitohormona ácido abscísico (16) (véase el Capítulo 22) y las feromonas (metabolitos secundarios de origen animal).



(+)-Ácido abscísico (16)

2.4. Los diterpenos son compuestos C20 derivados del GGPP

Los diterpenos se pueden encontrar en forma de cadena abierta (p. ej., el fitol, que constituye la cadena lipófila de la clorofila) (véase el Capítulo 9), o en forma de estructuras cíclicas con diversos grupos funcionales (-OH, -CO, -COOH). Incluso pueden contener nitrógeno y formar alcaloides diterpénicos, como la aconitina (17). Junto con metabolitos de relevancia fisiológica (giberelinas (18), fitol, tocoferoles y filoquinonas), se encuentran compuestos con evidente carácter secundario, como los ácidos resínicos abiético (19) y agático, constituyentes de las **resinas** localizadas en los depósitos o canales de las gimnospermas.

2.5. Los triterpenos son compuestos principalmente C30 procedentes de la dimerización del FPP

Los triterpenos y los esteroides (subclase de los triterpenos de C18 a C29) figuran entre los isoprenoides más relevantes. En general, son compuestos policíclicos y están ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Los triterpenos y los esteroides desempeñan importantes funciones fisiológicas en las plantas, y algunos tienen un gran interés farmacológico.

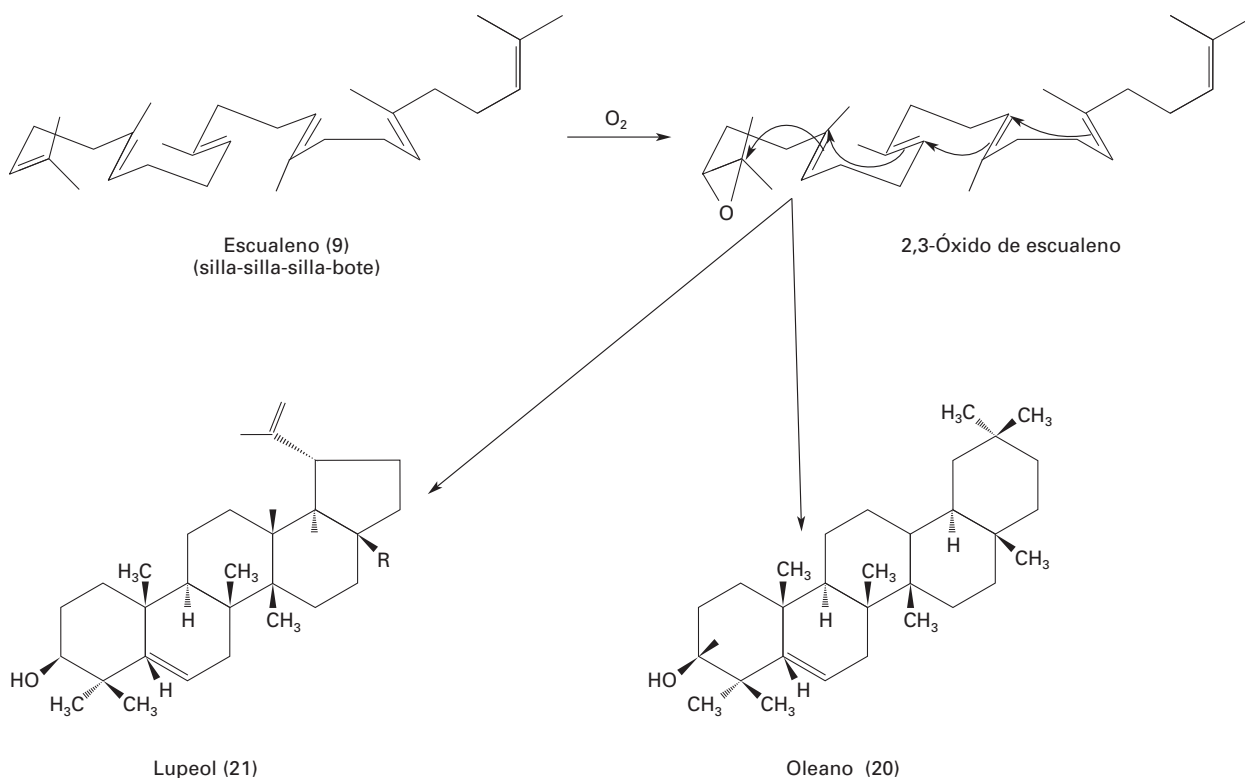
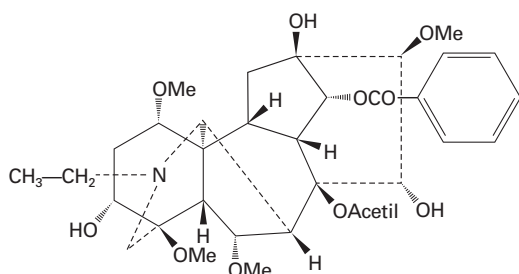
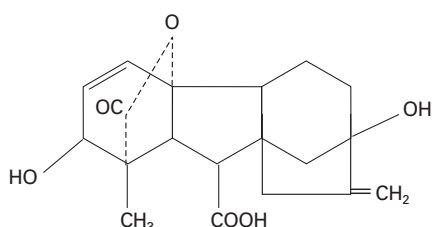
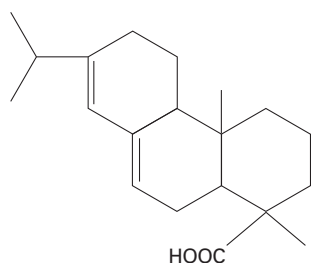


Figura 17-5. Sistema de ciclación del escualeno, con la configuración silla-silla-silla-bote, en organismos eucariotas.



Aconitina (17)

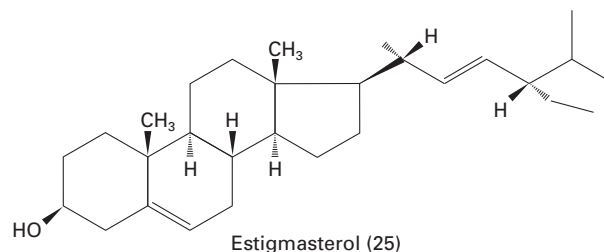
Giberelina GA₃ (18)

Ácido abiético (19)

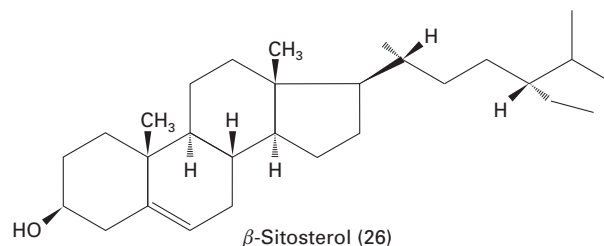
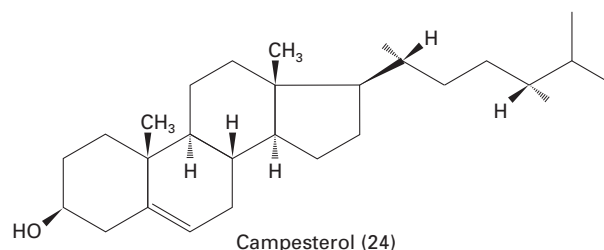
Como ya se ha indicado, los triterpenos se forman en el citoplasma celular a partir del escualeno (9). Este compuesto, que está presente en todos los seres vivos y carece de una función fisiológica definida, se cicla fácilmente para dar lugar a distintos compuestos. El mecanismo de ciclación se inicia por una oxidación, lo que hace que, en la mayoría de los casos, los triterpenos presenten un hidroxilo en la posición 3 de su molécula.

Si el escualeno adopta una configuración silla-silla-silla-bote, conduce a la formación de un grupo de compuestos triterpénicos con cinco ciclos, de tipo oleano (20) o lupeol (21), entre otros (Fig. 17-5). Estos compuestos, que normalmente se encuentran glucosilados en el hidroxilo de la posición 3, constituyen el grupo de las **saponinas triterpénicas**. Entre estos compuestos destacan los ginsenósidos, aislados de *Panax ginseng*, muy utilizados en medicina por su acción estimulante y antiasténica.

Si el escualeno adquiere la configuración espacial silla-bote-silla-bote, puede dar lugar a cicloartenol (22) en los vegetales y a lanosterol en los animales (23) (Fig. 17-6). A partir del cicloartenol se forman los diversos esteroides vegetales o **fitoesteroides**, mediante una serie de reacciones, entre las que figuran la eliminación de los grupos metilo de las posiciones 4 y 14, la apertura del ciclopropano entre las posiciones 9-10, y las modificaciones de la cadena lateral



Estigmasterol (25)

 β -Sitosterol (26)

Campesterol (24)

C17. Una vez formados, estos compuestos se caracterizan por poseer el sistema tetracíclico del esterano en *trans* y por presentar un grupo hidroxilo en la posición 3 y modificaciones en la cadena C17. Los esteroides vegetales más universales son el campesterol (24), el estigmasterol (25) y el sitosterol (26). Respecto a la función de estos compuestos en la planta, de estos compuestos, es similar a la de los esteroides en los animales. Así:

- Son constituyentes de las membranas biológicas. En los animales, las membranas contienen cantidades elevadas de colesterol, que actúa regulando la fluidez de éstas y dándoles estabilidad. En general, cuanto mayor es la riqueza en colesterol, mayor es el carácter lipófilo de las membranas, es decir, son más impermeables al paso del agua y los iones. Las membranas vegetales, aunque tienen colesterol, son más ricas en sitosterol, campesterol y estigmasterol, variando la concentración de estos compuestos en función del tipo de membrana y de su función en la célula. Se ha comprobado que para que un esteroide vegetal sea componente de membrana, ha de tener la configuración planar característica del núcleo esterano, presentar el hidroxilo de la posición 3 libre y carecer de grupos metilo en la cara α , o plano inferior de la molécula.
- Presentan acción hormonal. Los esteroides que presentan cierta acción hormonal en las plantas se denominan en conjunto brasinoesteroides (Fig. 17-7) (véase también Capítulo 22). Estos compuestos poseen dos hidroxilos vecinos en el anillo A, y el anillo B de siete eslabones con una función lactona, o de seis eslabones con un grupo cetona. La cadena C17 está siempre polihidroxilada.

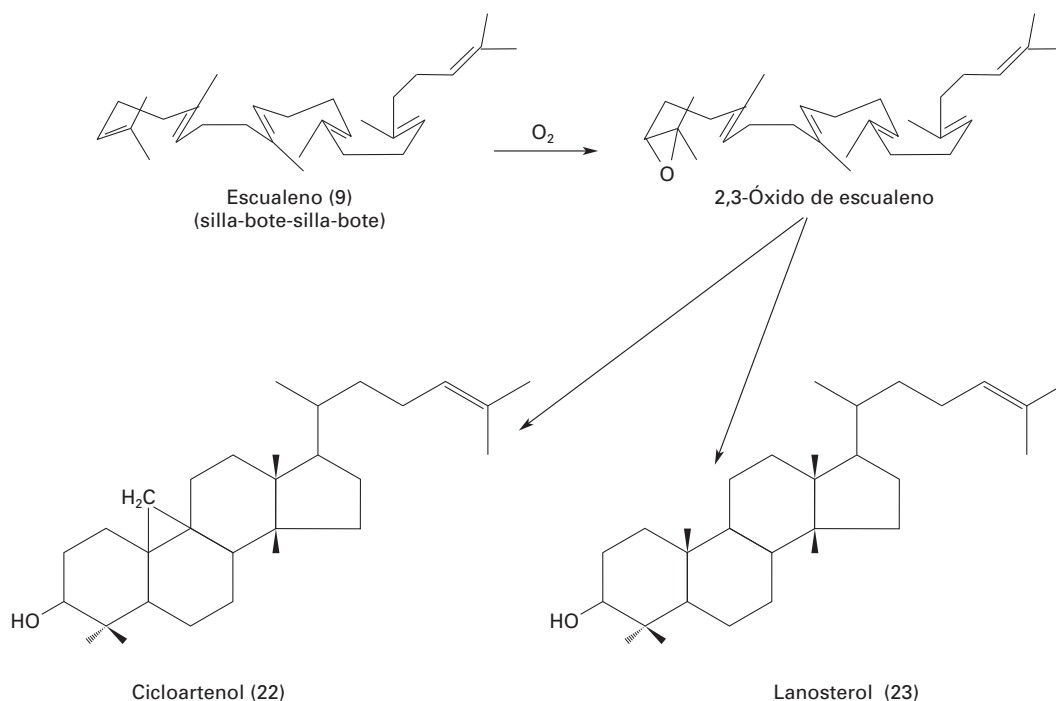


Figura 17-6. Sistema de ciclación del escualeno, con la configuración silla-bote-silla-bote, en organismos eucariotas.

Los brasinosteroides actúan de forma análoga y sinérgica con las auxinas, activando las ATPasas de membrana, y de forma similar y aditiva a las giberelinas. Igual que las auxinas, en altas dosis promueven un incremento de la síntesis de etileno, al impedir la conjugación a azúcares de las auxinas (los -OH que contienen se unen muy fácilmente a los azúcares) y, a la vez, activar la enzima ácido-1-aminociclopropano-1-carboxílico sintasa, responsable de la biosíntesis de etileno.

Además de los esteroides indicados, de distribución general en los vegetales, las plantas presentan otros grupos de

esteroides de distribución más restringida y característicos de determinadas familias y géneros, que tienen gran interés para la industria. Entre este grupo de esteroides figuran las saponinas esteroidicas y los glucósidos cardiotónicos. Tales saponinas son glucósidos cuyas geninas poseen dos heterociclos con oxígeno unidos a los C16 y C17 y, a su vez, conectados por un grupo espiroacetal. Normalmente, las geninas se glucosidan en su hidroxilo C3.

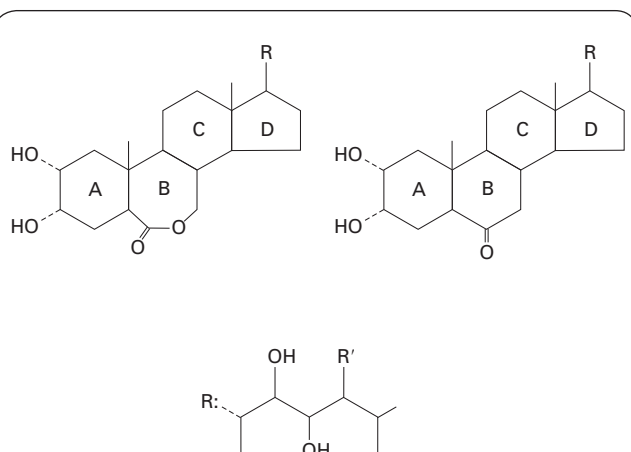
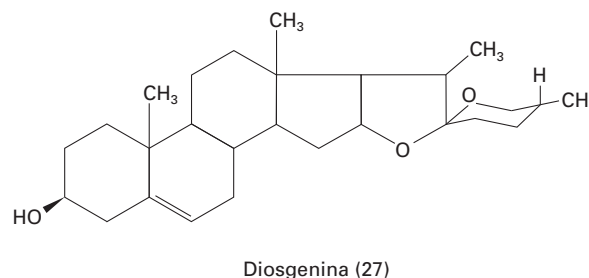


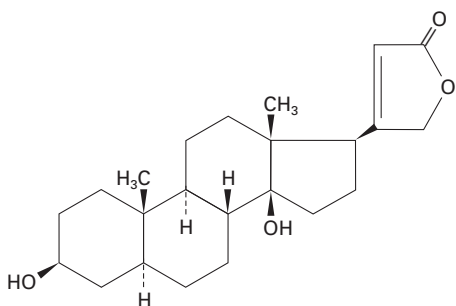
Figura 17-7. Estructuras principales de los brasinoesteroides.



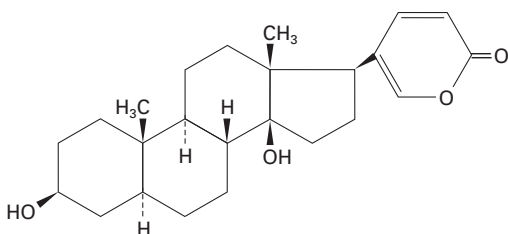
Las **saponinas esteroidicas** se encuentran asociadas en la célula vegetal a sistemas de membrana, y ejercen diferentes acciones biológicas, entre ellas la promoción de la germinación de las semillas y la inhibición del crecimiento de la raíz. En general, se consideran compuestos de defensa para el vegetal. Estos compuestos tienen, además, importancia como moléculas de partida en la semisíntesis de las hormonas esteroidicas utilizadas en medicina. La saponina esteroidica más utilizada con este fin es la diosgenina (27), aislada de varias especies del género *Dioscorea*. Estas sapo-

ninas son también ampliamente utilizadas como expectorantes, antiinflamatorios, antifúngicos y antibacterianos.

Los **glucósidos cardiotónicos** son esteroides que presentan una función hidroxilo en la posición C14 del anillo esteroidico y, en la posición C17, un anillo lactónico de cinco eslabones en los cardenólidos y de seis en los bufadienólidos. La unión entre los anillos A y B puede ser *cis* o *trans*, y la unión entre C y D suele ser *cis*, a diferencia de la mayor parte de los esteroides. Finalmente, el hidroxilo del C3 se encuentra glicosilado por una cadena de azúcares poco comunes (p. ej., digitoxosa).



Tipo cardenólido (28)



Tipo bufadienólido (29)

Los glucósidos cardiotónicos más importantes para la industria son la digoxina y la digitoxina, aisladas en especies del género *Digitalis*. En medicina, estos compuestos se utilizan principalmente como cardiotónicos, fármacos irremplazables en el tratamiento de la insuficiencia cardíaca y de algunas arritmias. La digoxina es uno de los diez productos naturales más prescritos actualmente.

2.6. Los tetraterpenos son compuestos C40 procedentes de la dimerización del GGPP

Los tetraterpenos son compuestos formados por la unión de ocho unidades de isopreno. En general, presentan una serie de dobles enlaces conjugados y uno o dos anillos con la estructura de la ionona α o β , según la posición del doble enlace.

Los tetraterpenos sin funciones oxigenadas forman el grupo de los carotenos, mientras que los que poseen oxígeno en su molécula constituyen el grupo de las xantofilas (Fig. 17-8); ambos grupos de compuestos constituyen los **carotenoides**. Hay carotenos y xantofilas en las hojas de todas

las plantas y, también, en flores y frutos, localizados en los plastos. En la fotosíntesis actúan como pigmentos accesorios en la captación y el transporte de la energía luminosa (véase el Capítulo 9), y protegen a los vegetales del efecto letal combinado de la luz y el oxígeno formando epóxidos (véanse los Capítulos 10, 13 y 29).

En las plantas superiores, la biosíntesis de carotenoides se efectúa en los plastos, asociada a sistemas membranosos e interdependiente de la biosíntesis de clorofilas. El 15-*cis*-fitoeno (10) (precursor formado por la dimerización de GGPP) experimenta una serie de deshidrogenaciones dependientes de NAD que lo transforman en licopeno (30). Este compuesto se puede ciclar por la acción de una enzima dependiente de FAD para originar los carotenoides cíclicos, que presentan anillos terminales de ionona. Posteriormente, en los propios plastos se puede producir la incorporación de funciones oxigenadas en los carotenos (p. ej., el α -caroteno, 31) para formar las xantofilas (p. ej., la luteína, 32). La biosíntesis de carotenoides, dependiente de la luz, podría ser activada por el fitocromo (véase el Capítulo 23) en las plantas superiores, aunque se desconoce el mecanismo por el cual actúa este fotorreceptor.

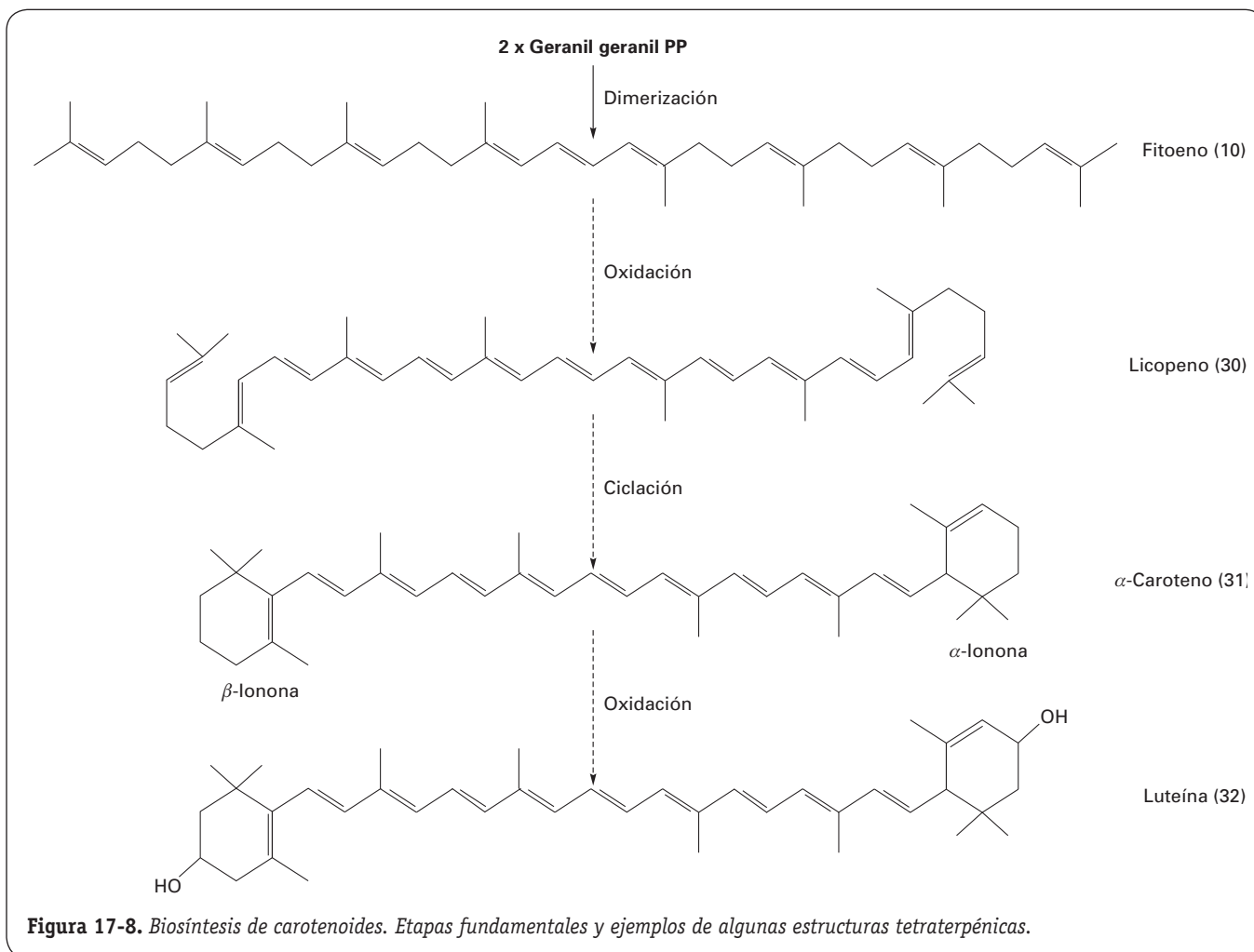
2.7. Los politerpenos son alcoholes primarios monohídricos de cadena abierta

Los politerpenos, o poliisoprenoides, se forman por la unión de cabeza a cola de más de ocho residuos de isopreno. Estos alcoholes pueden encontrarse libres o unidos a estructuras quinónicas. Entre estos últimos figuran la cadena isoprenoide de la plastoquinona (sintetizada en los cloroplastos) y la correspondiente a la ubiquinona (sintetizada en las mitocondrias). Otros poliisoprenoides, sintetizados en el citoplasma/retículo endoplasmático a partir del farnesil difosfato, son los dolicoles. Estos compuestos participan, en su forma fosforilada, en el transporte de azúcares a través de las membranas del retículo endoplasmático.

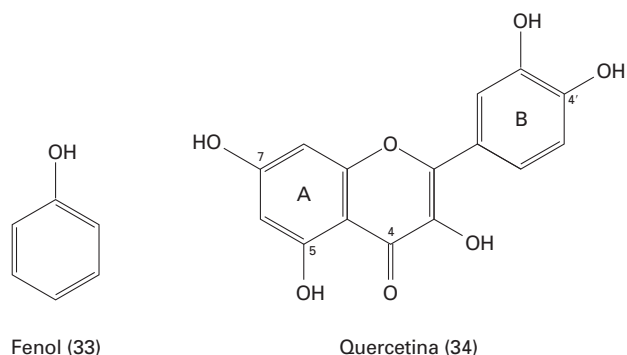
Los poliisoprenoides pueden llegar a presentar un grado de polimerización muy elevado, como ocurre en el caucho (3000-6000 restos de isopreno) y la gutapercha. El caucho es el todo *cis*-poliisopreno, y la gutapercha (de menor peso molecular) es el todo *trans*-poliisopreno. Para su uso comercial, el caucho se extrae de *Hevea brasiliensis*, y la gutapercha, principalmente de la especie *Palaquium gutta*. Ambos compuestos forman micelas que se hallan en una fase dispersa, constituyendo el látex, generalmente contenido en unas células o vasos especializados llamados laticíferos.

3. FENOLES

La presencia de fenoles es una característica de todos los tejidos vegetales. Los fenoles son compuestos de estructura aromática con uno o varios grupos hidroxilo, libres o sustituidos. El compuesto básico es el **fenol** (33), pero la mayor parte de estos compuestos son **polifenoles**. Entre los polifenoles vege-



tales, de los que actualmente se conocen más de 8000, figuran las quinonas fenólicas, las cumarinas, los lignanos, los estilbenos y los flavonoides. Estos últimos compuestos forman el grupo más numeroso; un flavonoide típico es la quercetina (34). Además de las estructuras monoméricas y diméricas, existen importantes grupos de polímeros fenólicos, como las ligninas y los taninos. También se encuentran unidades fenólicas entre los compuestos nitrogenados, de los que un buen ejemplo es el aminoácido aromático tirosina.



Los fenoles se oxidan fácilmente en las plantas, debido a la presencia en sus tejidos de fenolasas, enzimas que catalizan, entre otras, la oxidación de los monofenoles a difenoles, de los difenoles a quinonas, y de estos productos a flobafenos, polímeros de naturaleza amorfa que a menudo muestran una coloración rojiza. Por otra parte, los flavonoides, por su condición de polifenoles, pueden actuar como antioxidantes e inactivar el centro activo de numerosas enzimas, por ejemplo, de las indicadas fenolasas.

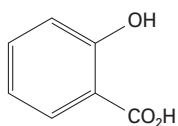
Los polifenoles tienen importancia, desde el punto de vista económico, porque contribuyen al sabor, el aroma y el color de alimentos y bebidas. El aroma y el sabor del té están relacionados con el contenido de polifenoles de la hoja. Asimismo, el amargor de la cerveza se debe a que contiene un derivado del floroglucinol (35), la humulona; mientras que el color rojo del vino es debido a la presencia de antocianinas. También cabe destacar las interacciones moleculares entre fenoles vegetales, como los taninos, y las uniones peptídicas de las proteínas en la llamada reacción de «curtido».

En la naturaleza, los compuestos fenólicos desempeñan un papel importante en la protección de la planta frente a los depredadores, y como fitoalexinas y sustan-

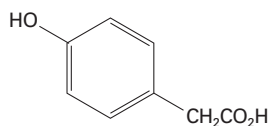
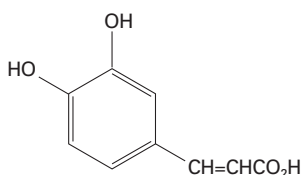
cias alelopáticas. También actúan como señales químicas en la floración y la polinización de las plantas, y en los procesos de simbiosis vegetal (p. ej., en la fijación del nitrógeno; véase el Capítulo 16) y de parasitismo vegetal (p. ej., por *Agrobacterium*). A su vez, el contenido y la naturaleza de los fenoles en la planta pueden actuar sobre su crecimiento mediante un mecanismo que modifica los niveles endógenos del ácido 3-indolacético (AIA). Se ha comprobado que los derivados fenólicos monohidroxilados actúan como cofactores de la enzima AIA-oxidasa, responsable de la degradación de esta hormona, mientras que los derivados *o*-difénolicos, fácilmente oxidables, protegen el AIA de su degradación (véase el Capítulo 19). Por ello, los niveles relativos de mono y *o*-difenoles podrían ejercer un efecto regulador en el crecimiento de los vegetales.

3.1. Los fenoles se clasifican de acuerdo con el número de átomos de carbono de su estructura básica

Existen fenoles simples (C6), como el fenol, el catecol (1,2-dihidroxibenceno) y el floroglucinol (1,3,5-trihidroxibenceno). Existen también derivados con cadenas laterales de uno, dos o tres carbonos, representados, entre otros compuestos, por el ácido salicílico (C6-C1) (35), el ácido *p*-hidroxifenilacético (C6-C2) (36) y el ácido cafeico (C6-C3) (37), un ácido hidroxicinámico ubicuo en las células de las plantas superiores. El ácido salicílico es un eficaz agente alelopático, por ejemplo, en *Quercus falcata*. Un derivado de este compuesto, el ácido acetilsalicílico, es ampliamente utilizado en medicina como analgésico.

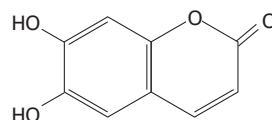


Ácido salicílico (36)

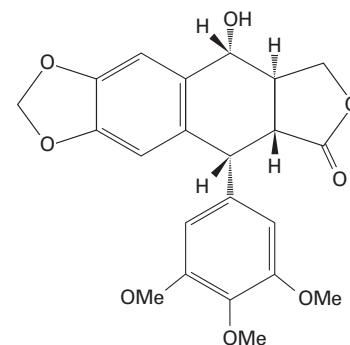
Ácido *p*-hidroxifenilacético (37)

Ácido cafeico (38)

Los ácidos hidroxicinámicos forman parte de la clase de compuestos C6-C3, denominados **fenilpropanoides**. La lactonización y el cierre del anillo de los ácidos *o*-hidroxicinámicos dan lugar a las cumarinas. Una cumarina típica es la esculetina (39), teóricamente formada a partir del ácido *o*-hidroxicafeico. Los fenilpropanoides diméricos constituyen los lignanos, los cuales suelen ser componentes de las resinas. La podofi-



Esculetina (39)



Podofilotoxina (40)

lotoxina (40), aislada del rizoma de *Podophyllum peltatum* y utilizada en forma modificada para el tratamiento de ciertos cánceres, es un buen ejemplo de lignano.

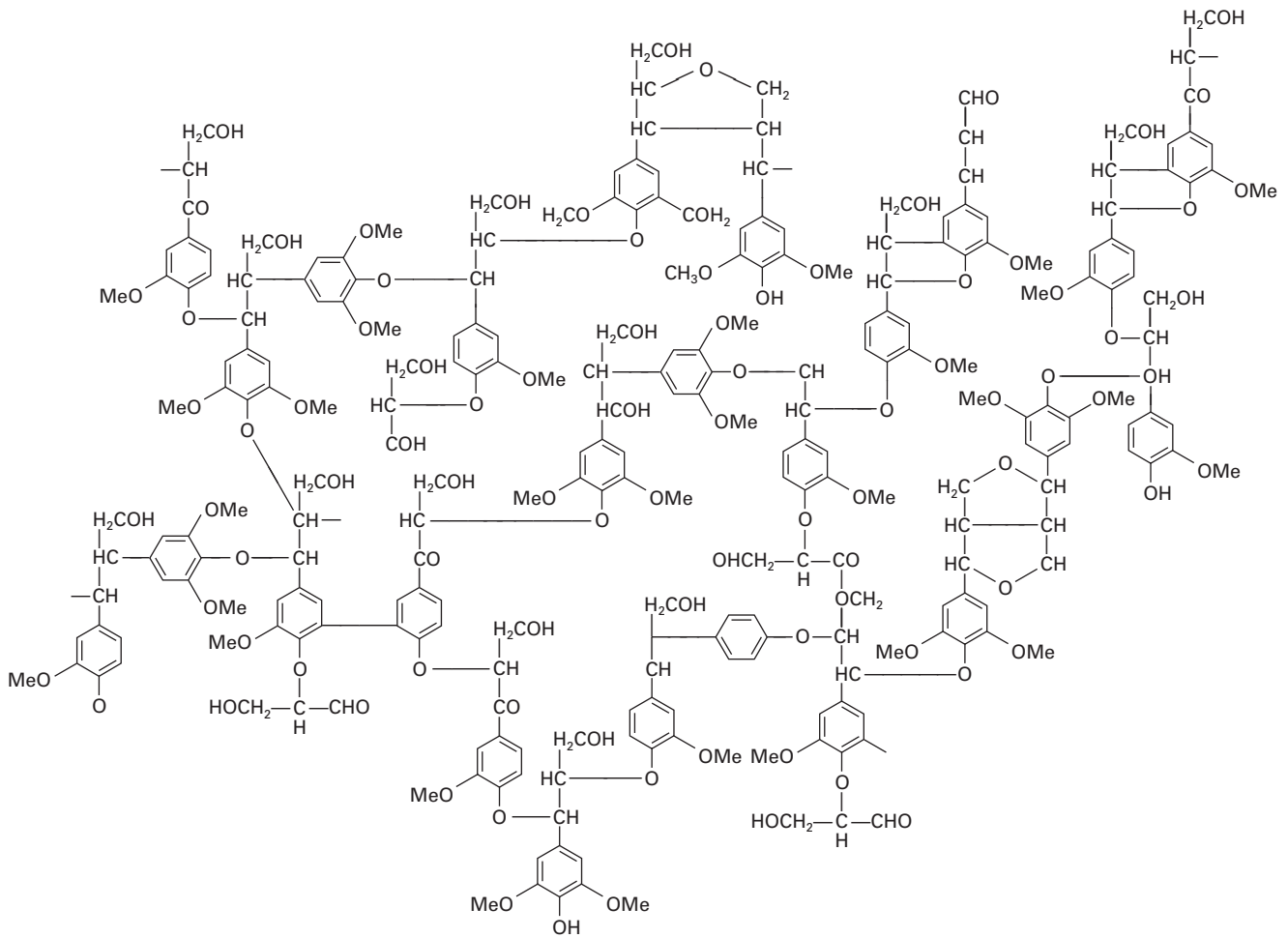
Entre los polímeros fenólicos destacan las ligninas y los taninos. Las **ligninas** (41) son los polímeros fenólicos más importantes en la naturaleza, puesto que proporcionan fuerza y rigidez estructural a la pared de la célula vegetal. La lignificación fue un hecho clave en la evolución de los vegetales, pues permitió el desarrollo de las plantas herbáceas como árboles y separó a las plantas vasculares de las algas y las briófitas, las cuales no están lignificadas. Las ligninas se forman a partir de los alcoholes coniferílico, 4-cumarílico y sinapílico. Estos compuestos son incorporados en diferentes cantidades, según el nivel de evolución alcanzado por los vegetales. En general, los organismos más primitivos son ricos en alcohol coniferílico; con la evolución, aumenta la proporción de alcohol cumarílico y sinapílico en las ligninas.

Los **taninos** se clasifican en hidrolizables y condensados (no hidrolizables por el calor o los ácidos diluidos, a diferencia de los primeros). Los taninos hidrolizables más comunes son ésteres del ácido gálico (42) con azúcares. El ácido tánico comercial es una mezcla de ácido gálico con diferentes galoil ésteres de glucosa. Los taninos condensados son derivados de los flavonoides. Los taninos reaccionan con las proteínas salivales y las glucoproteínas de la boca ejerciendo un efecto astringente, lo cual hace que actúen como disuasorios alimentarios para los depredadores.

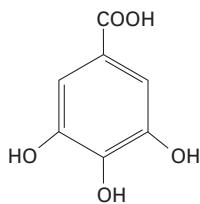
Los **flavonoides** derivan estructuralmente del compuesto básico flavona (43), especialmente abundante en las hojas de *Primula*. Los flavonoides se clasifican, según el grado de oxidación del anillo central de pirano, en antocianinas (p. ej., cianidina 3-glucósido), flavonoles (p. ej., quercetina, 34) y otras clases. Dentro de cada clase varían el número y la posición de los grupos hidroxilo y metilo, y de otros sustituyentes. También se conocen flavonoides diméricos (biflavonoides) y oligoméricos (flavolanos o taninos condensados). Un grupo relacionado es el de los isoflavonoides, representado por la genisteína (45), una sustancia estrogénica aislada del trébol.

La oxidación del 1,4-dihidroxibenceno (46) da lugar a la 1,4-benzoquinona (47), el compuesto básico de las benzo-, nafto- y antraquinonas.

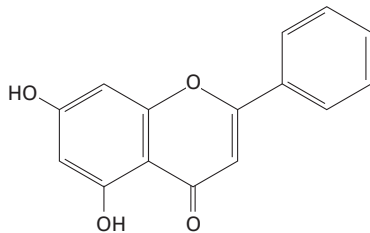
Son compuestos representativos la 2,6-dimetoxibenzoquinona (48) del salvado de trigo; la yuglona (49), una



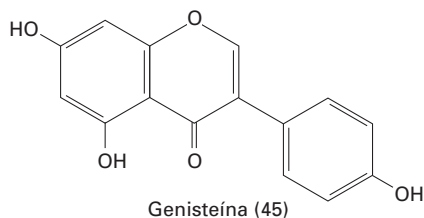
Estructura de un fragmento de lignina (41)



Ácido gálico (42)

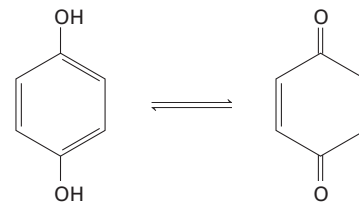


Flavona (43)



Genisteína (45)

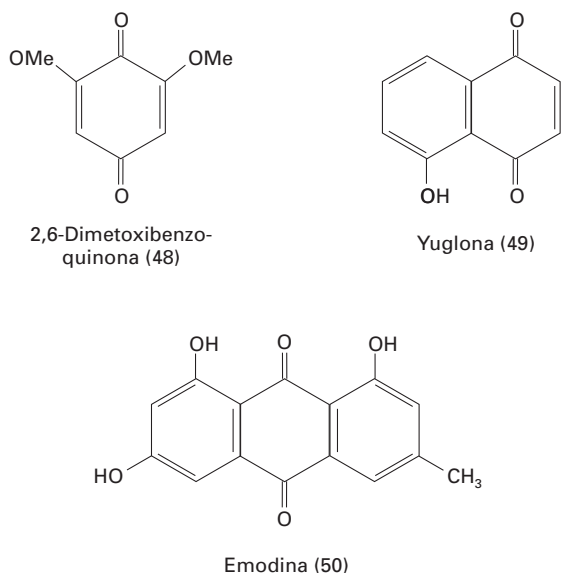
naftoquinona del nogal; y la emodina (50), una antraquinona amarilla del ruibarbo (*Rheum palmatum*) y de la cáscara sagrada (*Rhamnus purshiana*). La yuglona es una sustancia alelopática responsable de que no crezcan hierbas bajo el nogal. Las antraquinonas ejercen, según la dosis administrada, una acción laxante o purgante.



1,4-Dihidroxibenceno (46) 1,4-Benzoquinona (47)

Otro grupo importante de polifenoles son los estilbenos, compuestos que se caracterizan molecularmente por poseer dos anillos fenólicos unidos por una cadena de dos átomos de carbono. Estos compuestos se suelen acumular en la médula del tronco de especies arbóreas como el pino o el eucalipto. La forma molecular más extendida es el resveratrol, muy característico de las familias *Pinaceae* y *Vitaceae*. A diferencia de la mayoría de los vegetales, en esta última

familia, concretamente en el género *Vitis*, el resveratrol se encuentra en los tejidos vivos que forman parte de diferentes órganos, como hojas y frutos. Por ejemplo, en la uva, el resveratrol se acumula principalmente en la epidermis, y por ello las uvas y el vino constituyen la fuente casi exclusiva de resveratrol en la dieta humana.



3.2. Las plantas superiores pueden formar compuestos fenólicos por dos rutas

Las dos rutas por las que las plantas pueden formar compuestos fenólicos son la de los policétidos, predominante en las bacterias y los hongos; y la ruta del ácido siquímico, mayoritaria en las plantas superiores. Muchos compuestos

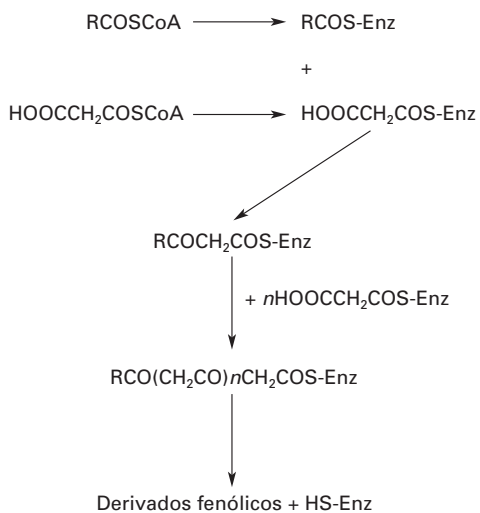


Figura 17-9. Biosíntesis de los policétidos.

con dos o más núcleos fenólicos, como los estilbenos y los flavonoides, son producto de una biosíntesis mixta: poseen un anillo formado por la ruta del ácido siquímico y otro por la ruta de los policétidos.

Los **policétidos**, biosintetizados por el camino del acetato-malonato, igual que los ácidos grasos, se distinguen de estos últimos en su biogénesis. Ésta implica la formación de una hipotética cadena de grupos ceto y metileno alternantes (cadena policétida: $-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{CH}_2-$), mientras que los precursores de los ácidos grasos sólo contienen grupos metileno. Las cadenas policétidas derivan de unidades de malonil CoA ($\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{COCoA}$) (51) y de una unidad de iniciación (un cebador), la cual es, casi siempre, el acetil CoA (CH_3-COCoA) (2), aunque también pueden ser otros CoA-ésteres. Ambas unidades, la unidad de partida y la unidad malonil, se unen a través de grupos sulfhidrido a la enzima que realiza la condensación antes de que ésta se produzca, y el producto de la condensación permanece unido a la enzima hasta que tiene lugar la ciclación de la cadena policétida.

A menudo se produce la reducción de alguno de los grupos ceto durante la biosíntesis de los derivados policétidos, pero dicha reducción siempre tiene lugar después de la formación de las correspondientes cadenas policétidas. Además, la gran variedad estructural de los derivados policétidos se debe a las numerosas modificaciones secundarias, entre las cuales se puede incluir la apertura de los anillos aromáticos. Como ejemplo de la formación de compuestos fenólicos por la vía de los policétidos, se muestra, en la Figura 17-10, la biosíntesis de floroglucinol.

3.3. La ruta del ácido siquímico es un proceso fundamental por el que se biosintetizan diferentes metabolitos aromáticos, entre ellos, los aminoácidos fenilalanina, tirosina y triptófano

Desde el punto de vista químico, la **ruta del ácido siquímico** es un proceso por el cual un ciclohexano adquiere la estructura aromática en tres etapas (Fig. 17-11). En la primera es introducido un doble enlace en la ciclación del ácido fosfoheptulosónico (52) a 5-deshidroquinato (53). El segundo doble enlace es introducido, por la pérdida de agua, en la conversión del ácido siquímico (54) a ácido corísmico (55), y el tercero, en la conversión del ácido prefénico (56) a fenilpirúvico (57). La fenilalanina (58) es el principal producto final de la vía del

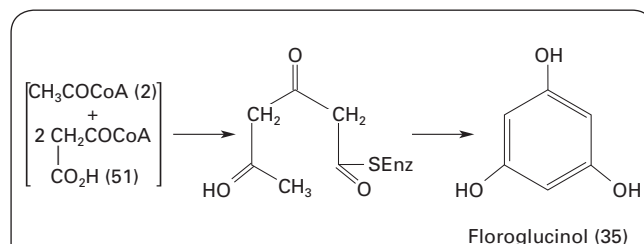


Figura 17-10. Biosíntesis del floroglucinol por el camino policétido.

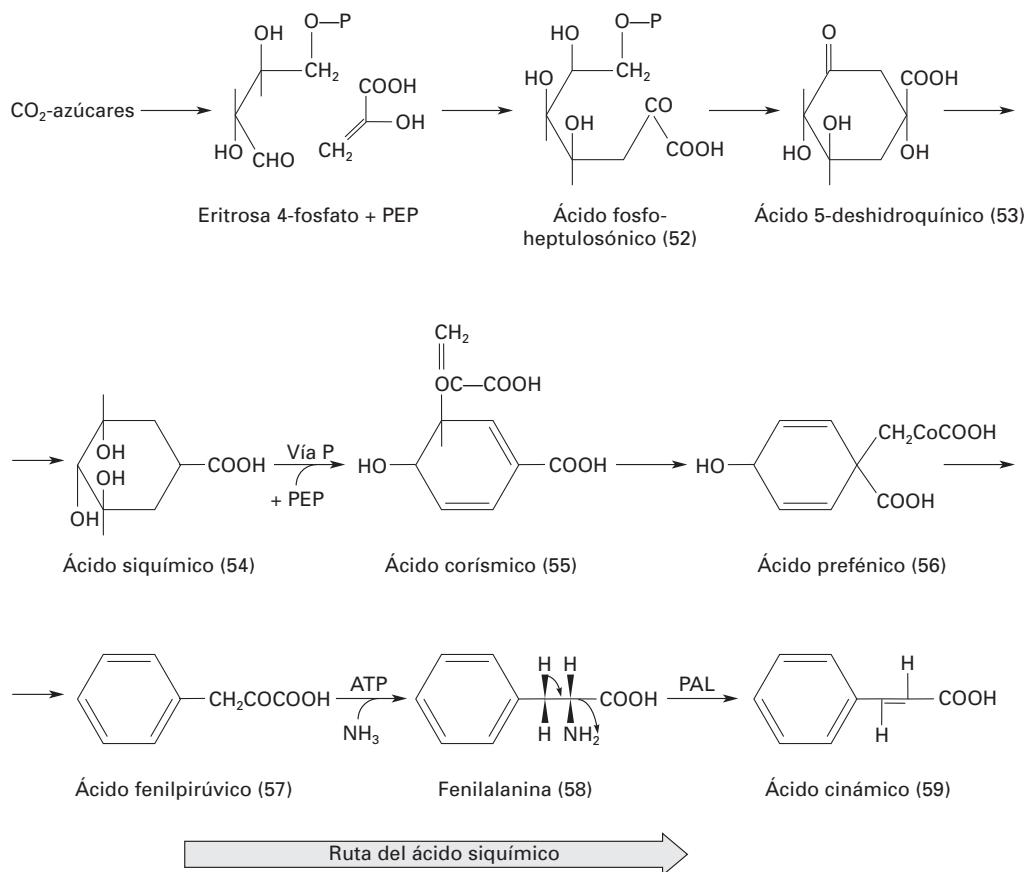


Figura 17-11. Ruta del ácido siquímico.

ácido siquímico; este aminoácido puede ser canalizado después a la síntesis de proteínas o a la de sustancias fenólicas, según las necesidades fisiológicas de la planta.

Los fenoles formados por la vía del ácido siquímico derivan del ácido cinámico (59), biosintetizado de la fenilalanina por la acción de la enzima fenilalanina amonio-liasa (PAL) (Fig. 17-11). En la formación de los fenoles por esta ruta, el ácido cinámico resultante es siempre oxidado en la posición *para*, lo que origina el ácido 4-cumárico (60) (Fig. 17-12). Seguidamente, cuando este ácido es oxidado enzimáticamente de nuevo, el oxígeno se agrega en posiciones adyacentes para dar lugar al modelo 3,4-dihidroxi (catecol) o al modelo 3,4,5-trihidroxi (pirogalol). El origen biosintético determina el modelo de hidroxilación del producto fenólico, lo que usualmente hace posible determinar por cuál de las dos rutas ha sido biosintetizado. En contraste con la ruta del ácido siquímico, la ruta policétida produce inicialmente fenoles con los grupos hidroxilo en las posiciones 1, 3 y 5, como es el caso del floroglucinol.

La actividad de la PAL está claramente controlada por el sistema fitocromo (véase el Capítulo 23); su actividad se incrementa en respuesta a la luz roja ($\lambda_{\text{máx}}$ a 660 nm), pero este incremento no se produce si el tratamiento con luz roja va seguido de una dosis de luz roja lejana ($\lambda_{\text{máx}}$ a 730 nm). Se ha comprobado que este efecto se ejerce sobre el mRNA

para la PAL. Además de por la luz, la actividad PAL está influida por otros factores, entre ellos las hormonas vegetales. En relación con el metabolismo de los fenoles, es de destacar que el etileno incrementa la actividad de la enzima en los tejidos vegetales lesionados, lo que explicaría la estrecha co-

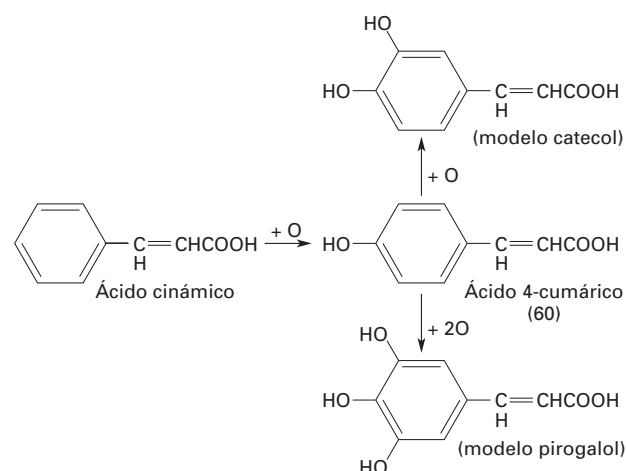


Figura 17-12. Modelos de oxidación de los fenoles derivados del ácido siquímico.

relación positiva existente entre los altos niveles de ciertos compuestos fenólicos y los de hormonas en dichos tejidos.

3.4. Los estilbenos y los flavonoides son biosintetizados a partir de un precursor fenilpropanoide enlazado a tres unidades de malonil CoA

Como ejemplo de la biosíntesis de flavonoides, que implica la participación de la ruta del ácido siquímico y la de los policétidos, describiremos la formación de una antocianidina, describiremos la formación de una antocianidina,

la cianidina 3-glucósido, un pigmento natural muy extendido (Fig. 17-13). La etapa inicial en la biosíntesis de todos los flavonoides es la condensación del 4-cumarato CoA (61) con tres moléculas de malonil CoA, para dar origen a la 2',4',6',4-tetrahidrochalcona (62), reacción catalizada por la enzima chalcona (o calcona) sintasa. La chalcona formada es seguidamente isomerizada a un compuesto tricíclico, la flavanona naringenina (63). De manera similar, en la formación de los estilbenos participan los mismos precursores, pero la pérdida de un CO₂ adicional conduce a la formación de un compuesto bicíclico con dos anillos bencénicos unidos por un puente de 2; esta estructura se mantiene en todos los eltilbenos,

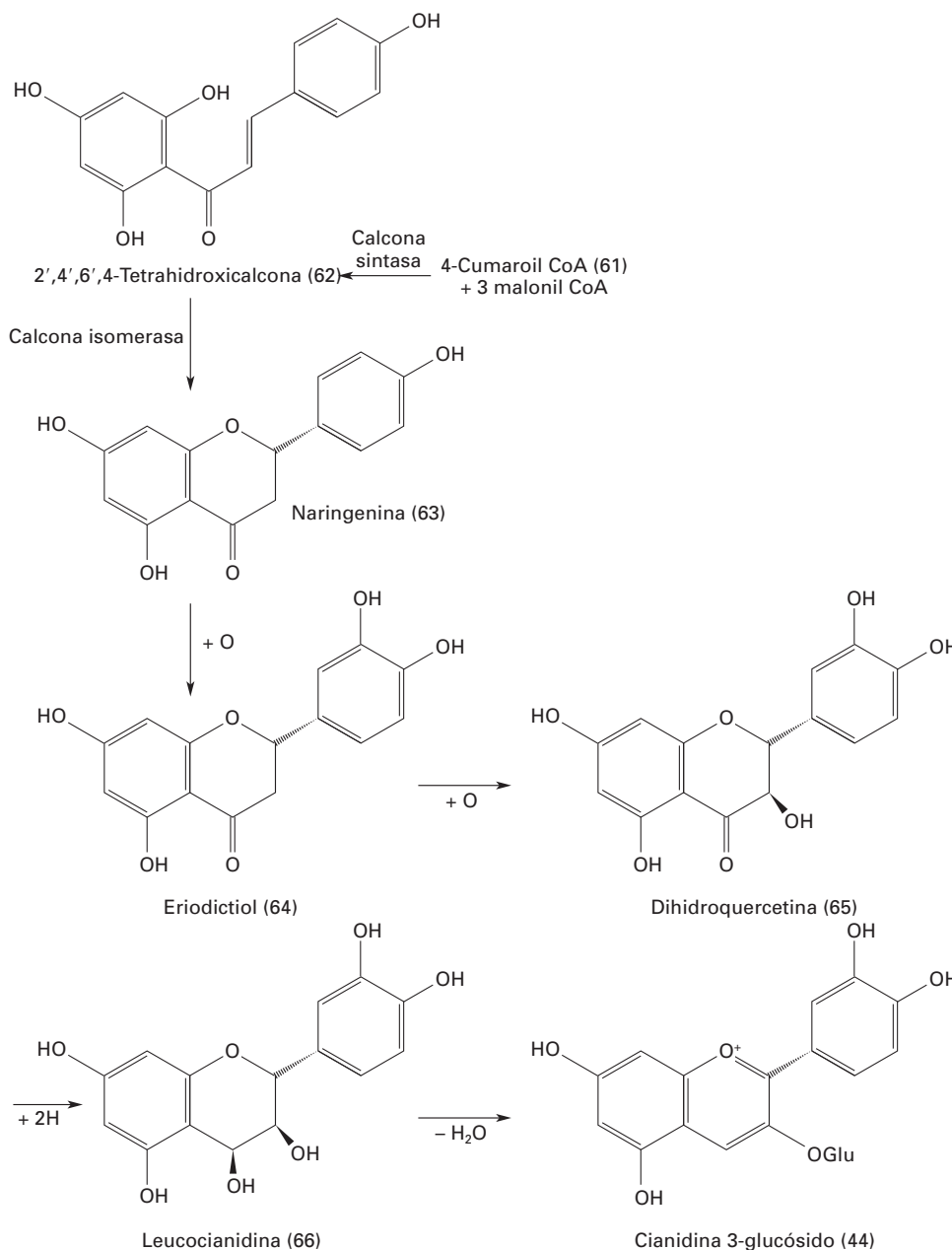


Figura 17-13. Biosíntesis de la antocianidina cianidina 3-glucósido.

a diferencia de los flavonoides, que suelen ser compuestos tricíclicos (Zhang, Y. y cols., *Journal of the American Chemical Society* 128: 13 030-13 031, 2006) (Fig. 17-13). Un intermediario clave en la formación de estos últimos compuestos es la flavanona naringenina, que puede ser convertida en diversos productos finales. En la biosíntesis de cianidina 3-glucósido, la oxidación del anillo B da lugar al eriodictiol (64), el cual es oxidado después en la posición 3 para producir dihidroquerceína (65). Seguidamente, el 4-carbonil es reducido a 4-hidroxil, lo que da lugar a la leucocianidina (66), un intermediario inestable que puede existir en diversas formas estereoisómeras. Una de estas formas origina, por oxidación, la cianidina. Se supone que la enzima responsable va unida a una glucosiltransferasa, puesto que el producto final es siempre un pigmento glicosilado, en el caso más simple, la cianidina 3-glucósido. Las restantes antocianidinas, unas 270, se forman de manera similar.

3.5. Una característica general de la biosíntesis de los compuestos fenólicos es la capacidad de estos compuestos para experimentar el llamado acoplamiento oxidativo de los fenoles

Por la acción de las peroxidadas, el hidrógeno del grupo hidroxilo de un fenol se separa fácilmente, originándose así radicales fenolato libres muy reactivos. Estos radicales están en equilibrio con las formas mesoméricas, las cuales experimentan entre sí el acoplamiento *orto-orto*, *para-para* u *orto-para*. El proceso de acoplamiento de los radicales libres de fenilpropanoides, concretamente de los alcoholes coniferílico, 4-cumarílico o sinápico (derivados de los correspondientes ácidos cinámicos), es la etapa final de la biosíntesis de las ligninas, donde se forma un polímero al azar sobre la matriz de la celulosa de la pared de la célula vegetal (véase el Capítulo 1). El acoplamiento oxidativo de los fenoles es también esencial para la formación de los lignanos y de los taninos condensados, entre otros compuestos fenólicos. En las Figuras 17-14 y 17-15 están representadas, respectivamente, la formación de radicales del alcohol coniferílico en

la biosíntesis de ligninas y la dimerización de este alcohol para dar origen a un lignano, el pinorresinol (67).

Finalmente, otra característica general de los compuestos fenólicos es que la mayoría de ellos se halla en forma conjugada en la planta, principalmente con un resto de azúcar unido a uno o más grupos fenólicos. La variedad de formas conjugadas es considerable, y ello dificulta la caracterización química de estos compuestos. Entre los monosacáridos asociados con los compuestos fenólicos figuran la glucosa, la galactosa, la arabinosa (en la forma pirano o furano), la ramnosa, la xilosa, la manosa, y los ácidos glucurónico y galacturónico. Además, estos azúcares pueden encontrarse como combinaciones de di-, tri- o tetrasacáridos.

4. LÍPIDOS

Además de una parte de los terpenos y los fenoles, en los vegetales se encuentran diferentes tipos de lípidos, derivados del acetyl-CoA, desempeñando funciones de tipo primario y secundario. Entre ellos destacan los **ácidos grasos**, los cuales se encuentran, en su mayoría, como ésteres del glicerol, y desempeñan un importante papel biológico como almacén de energía. La estructura molecular de los lípidos también afecta a la biogénesis y la función de las membranas celulares (véase el Capítulo 1), y el metil-jasmonato u otros lípidos están implicados en la transducción de señales (véanse los Capítulos 18 y 22). Las fuentes habituales de ácidos grasos en los vegetales son los cloroplastos o los proplastidios (en tejidos que acumulan grandes cantidades de lípidos); posteriormente, estos compuestos experimentan diferentes modificaciones en el retículo endoplasmático (véase el Capítulo 1). La biosíntesis de ácidos grasos está catalizada por polipéptidos localizados en los plastos y funciona de forma similar a la vía ya mencionada de producción de los policétidos (Fig. 17-9), en la que a una molécula cebadora, la acetyl-CoA (en la mayoría de los casos), se unen unidades de malonil-CoA, con la consiguiente pérdida de dióxido de carbono. Los ácidos policétidos que se van formando en esta vía son estabilizados mediante reducciones que originan las típicas ca-

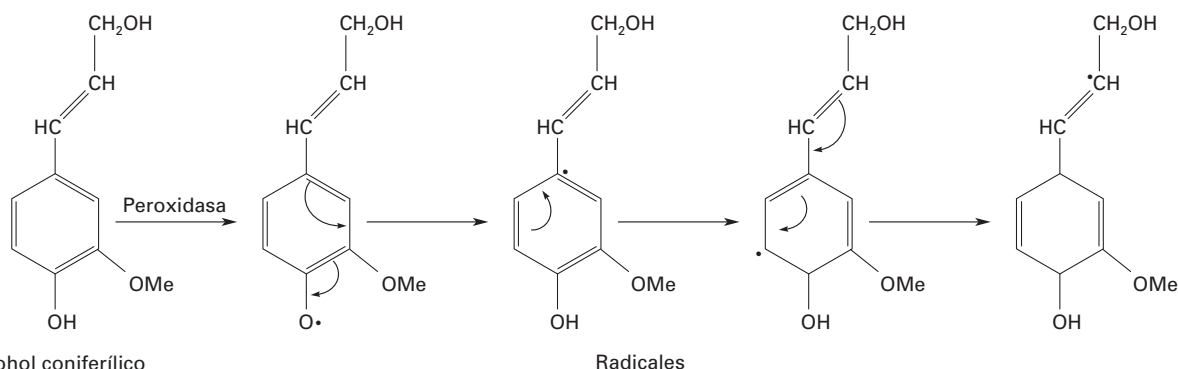


Figura 17-14. Formación de radicales del alcohol coniferílico en la biosíntesis de ligninas.

denas de ácidos grasos. Posteriormente, mediante la acción de las desaturadas de la fracción microsomal, se obtendrían los ácidos grasos insaturados (Somerville, C. y cols., 2002; *veure* Buchanan B. B. *et al.*, 2002). Pero las plantas, además de los típicos ácidos grasos característicos, como el palmítico, el oleico, el linoleico o el araquidónico, entre otros, también pueden formar compuestos menos frecuentes, a partir de moléculas cebadoras diferentes de la acetil-CoA, como el ácido ciclopentano carboxílico; o pueden experimentar inusuales patrones de insaturación (formación del ácido petroselinico y hexadecanoico), además de hidroxilaciones, epoxidaciones, metilaciones, etc. De especial importancia son los aldehídos y los alcoholes derivados de la degradación oxidativa de los ácidos grasos, que causan el aroma de las hojas verdes.

Entre los derivados de los ácidos grasos, un grupo de especial relevancia son los derivados acetilénicos, compuestos altamente inestables a la luz, el oxígeno y el calor. Entre los diferentes tipos de compuestos acetilénicos figuran los derivados del ácido oleico, que a menudo forman parte de los triacilglicéridos y cuya distribución está restringida a aceites de semillas de un pequeño número de familias vegetales, y los derivados del ácido crepínico, que son componentes de los aceites esenciales de las familias *Apiaceae*, *Araliaceae* y *Asteraceae*, aunque también se pueden encontrar derivados acetilénicos de otros orígenes por introducción de triples enlaces C-C en compuestos de tipo terpénico. En general, y a diferencia de los ácidos grasos, los derivados acetilénicos se hallan distribuidos en un número restringido de taxones vegetales, actuando como fitoalexinas y en las relaciones planta-insecto o planta-nemátodos.

De particular relevancia son los lípidos de protección tales como ceras, cutinas y suberinas. Las **ceras** vegetales son mezclas complejas de hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos que se depositan en la capa externa de las células epidérmicas. Probablemente, esta mezcla compleja de lípidos es sintetizada por las células epidérmicas

vegetales, que la exudan hacia la superficie. Muchas plantas poseen **cutina**, una capa formada por ácidos grasos esterificados con alcoholes entre sí. La cutina está impregnada de ceras y constituyen una cubierta lipídica que ayuda a regular la transpiración y protege al vegetal del ataque de otros organismos. Los componentes mayoritarios de las ceras derivan de ácidos grasos de cadena larga (C28-C34). La longitud de los ácidos grasos depende de la especie vegetal, pero en general son compuestos de tipo C28, C30 y C32. De estos ácidos, por reducción, se obtienen alcoholes que esterificarán a los ácidos de cadena larga para originar las ceras.

La cutina, el lípido que recubre la superficie externa de las células epidérmicas, y la **suberina**, que está asociada con las células del corcho, están formadas predominantemente por hidroxiácidos grasos unidos entre sí, que conforman una matriz polimérica presumiblemente esterificada por compuestos de tipo fenólico.

5. ALCALOIDES

A diferencia de la mayor parte de los grupos de productos naturales, los alcaloides son química y biológicamente muy heterogéneos. Forman el grupo de sustancias vegetales secundarias más representativo, numeroso y diverso. Debido a su diversidad, los alcaloides son muy difíciles de definir de forma general y precisa. No obstante, los alcaloides presentan unos caracteres comunes que los diferencian de los demás compuestos secundarios: son moléculas orgánicas más o menos complejas; de carácter básico, por la presencia en ellas de uno o más átomos de nitrógeno formando parte de un heterociclo; se sintetizan de aminoácidos o de sus derivados inmediatos; su presencia en las plantas está limitada a determinados grupos taxonómicos; finalmente, son sustancias con cierta toxicidad, preferentemente activas sobre el sistema nervioso central. Sin embargo, existe una variedad

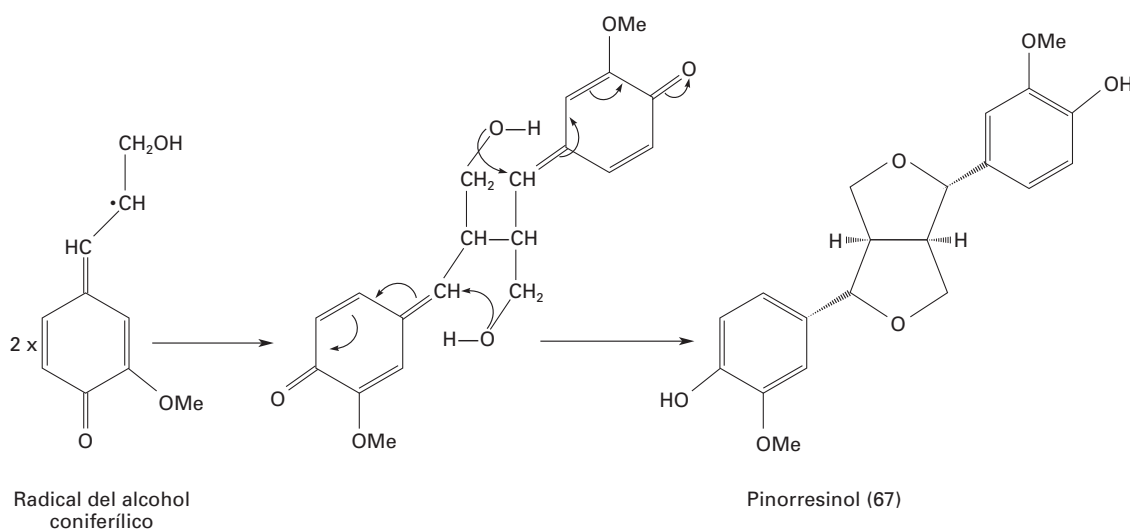


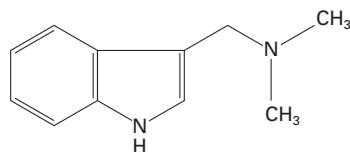
Figura 17-15. Dimerización del alcohol coniferílico para dar origen a un lignano.

de compuestos secundarios que, aunque no cumple todas las características mencionadas, se incluye en este amplio grupo de compuestos naturales.

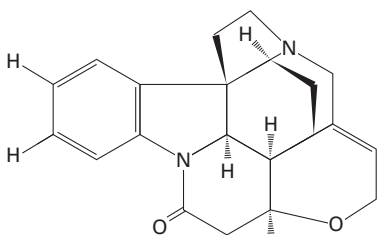
Los alcaloides frecuentemente experimentan un metabolismo activo, y en tal caso no son productos finales. Así, se ha observado que la vida media de estos compuestos es muy variable; por ejemplo, en la tomatina es de 6 días, mientras que en la morfina y la ricinina es tan sólo de 7 y 4 horas, respectivamente. Este hecho es la causa de las fluctuaciones que se observan en su concentración a lo largo del día; en el caso de la morfina, su máxima acumulación tiene lugar al mediodía y, en consecuencia, éste, es el mejor momento para la recolección del opio.

La importancia de los alcaloides para la planta que los produce radica en que constituyen reservorios de nitrógeno para ella; al mismo tiempo, pueden actuar como sustancias alelopáticas o como disuasorios alimentarios, con lo que contribuyen a la defensa del vegetal frente a la competencia con otras especies vegetales o el ataque de determinados patógenos o depredadores.

Existe una relación directa entre la complejidad de la estructura química del alcaloide y su distribución en el reino vegetal; así, la gramina (68), un alcaloide de estructura simple, está mucho más ampliamente distribuida que la estricnina (69), alcaloide muy complejo que sólo se encuentra en algunas especies de *Strychnos*.



Gramina (68)



Estrictina (69)

Según su estructura molecular y su origen biosintético, los alcaloides se clasifican en tres categorías principales: alcaloides verdaderos, protoalcaloides y pseudoalcaloides.

5.1. Los alcaloides verdaderos son compuestos que poseen un átomo de nitrógeno formando parte de un heterociclo

En general, los alcaloides verdaderos se sintetizan a partir de una amina biógena formada por descarboxilación de un

aminoácido, por lo que el átomo de nitrógeno del aminoácido contribuye a la formación del heterociclo.

Aunque los diferentes alcaloides del reino vegetal se originan mediante rutas biosintéticas diversas, la formación de la estructura N-heterocíclica principal tiene lugar a través de reacciones de ciclación comunes a todos ellos. Las principales reacciones de ciclación son las siguientes:

- Formación de bases de Schiff. Las bases de Schiff (azometinas) se forman espontáneamente o mediante sistemas enzimáticos, a partir de una molécula con un grupo carbonilo (aldehído o cetona) y una amina primaria o secundaria. Los compuestos con el grupo carbonilo provienen de las áminas, por transaminación, aunque también pueden formarse a partir del acetato/mevalonato.
- Reacción de Mannich. Esta reacción tiene lugar entre una amina, un grupo carbonilo (aldehído o cetoácido) y una molécula con un hidrógeno ácido. La reacción de Mannich puede producirse espontáneamente o ser catalizada por enzimas.
- Formación de lactamas. Proviene de la unión enzimática de un ácido activado y una amina. La formación de lactama parece estar principalmente restringida a la biosíntesis de dioxopiperacinas y alcaloides que contienen enlaces peptídicos. Antes de la reacción es necesaria la activación del grupo carboxilo de un aminoácido con ATP o CoA, como para las otras formaciones de enlace peptídico no ribosómicas.

Una vez formada la estructura principal de la molécula, los pasos biosintéticos sucesivos dependen, lógicamente, del alcaloide que se sintetice. Sin embargo, debido a la habitual complejidad estructural de los alcaloides, los caminos biosintéticos de muchos de ellos aún no están totalmente dilucidados, a pesar de los numerosos estudios que actualmente se están llevando a cabo acerca de este amplio grupo de metabolitos secundarios. Dado que los alcaloides se forman por rutas biosintéticas muy diversas, por limitaciones de espacio en este capítulo sólo se tratarán aspectos fundamentales de estas rutas.

La necesidad de una mayor o menor diferenciación estructural para la formación de un alcaloide depende de la naturaleza química de éste. La biosíntesis de alcaloides únicamente tiene lugar en células de determinados tejidos u órganos específicos del vegetal; así, por ejemplo, mientras que la nicotina (70) se sintetiza en las áreas meristemáticas de la raíz, los alcaloides del opio sólo se forman en los vasos laticíferos. A su vez, algunos alcaloides se acumulan en los

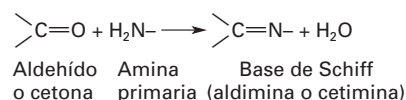


Figura 17-16. Formación de bases de Schiff.

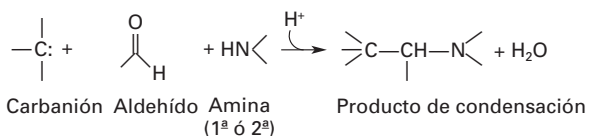
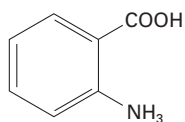


Figura 17-17. Reacción de Mannich.

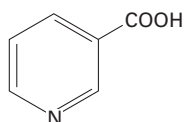
lugares de síntesis, mientras que otros son transportados a otros tejidos donde, además de acumularse, pueden experimentar posteriores transformaciones; por ejemplo, en *Datura stramonium*, la hiosciamina (71) se sintetiza en la raíz, pero es transportada a las hojas, donde puede convertirse en escopolamina (72).

5.1.1. Habitualmente los alcaloides verdaderos se agrupan según los aminoácidos de los que proceden

Los grupos más representativos de alcaloides verdaderos son los derivados de la ornitina y la lisina (Fig. 17-19), de los aminoácidos aromáticos fenilalanina y tirosina (Fig. 17-21), y del aminoácido aromático triptófano y una parte derivada del ácido mevalónico (Fig. 17-23). Además, algunos de estos alcaloides también derivan del ácido antranílico (73) o del ácido nicotínico (74).



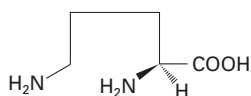
Ácido antranílico (73)



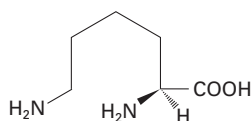
Ácido nicotínico (74)

5.1.2. Alcaloides derivados de ornitina y lisina

Los principales tipos estructurales están representados en la Figura 17-19. Entre ellos están los alcaloides caracterizados por la presencia de anillos de pirrolidina, piperidina, pirrolicidina, quinolicidina y piridina. En general, el proceso químico implicado en la biosíntesis de los alcaloides de este grupo es relativamente sencillo, e implica la formación de una base de Schiff a partir del aminoaldehído (75) (derivado en la reacción de ornitina) y las subsiguientes condensaciones de tipo Mannich (Fig. 17-20).



Ornitina (76)



Lisina (77)

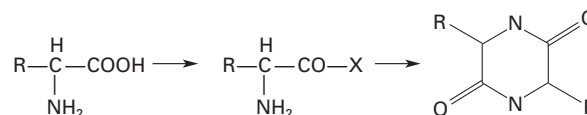


Figura 17-18. Formación de lactamas.

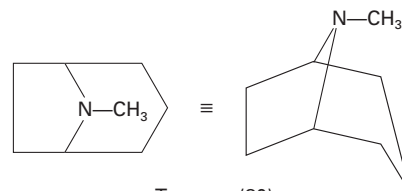
Alcaloides de pirrolidina

En este tipo de alcaloides destacan la higrina (78), aislada de *Erythroxylum truxillense* (que también contiene cocaína, 79) y probablemente biosintetizada a partir de la reacción representada en la Figura 17-20, donde la cadena lateral (R¹) deriva de la acetil-CoA (2).

Por una extensión de la ruta descrita para la biosíntesis de higrina (Fig. 17-20) se forman los alcaloides tropánicos, caracterizados por poseer el sistema anillado bicíclico del tropano (80). Ejemplos de alcaloides tropánicos son la hiosciamina (cuya forma racémica es la atropina) y la escopolamina (derivado 6,7-epóxido de la hiosciamina), abundantes en especies de *Atropa*, *Datura*, *Duboisia*, *Hyoscyamus* y *Scopolia*, y ampliamente utilizados en medicina como anticolinérgicos. Otro alcaloide tropánico, probablemente de mayor interés farmacológico, es la cocaína (79). Este alcaloide, característico del género *Erythroxylum*, tiene propiedades anestésicas y fuertemente narcóticas.

Alcaloides de piperidina

Un cierto número de estos alcaloides se forma a partir de la lisina por una ruta análoga a la descrita para los alcaloides de pirrolidina (Fig. 17-20). Un ejemplo clásico es la isopeletierina (81), aislada de *Punica granatum*, *Withania somniferum* y especies de *Sedum*. Este alcaloide es sólo ligeramente tóxico, y las plantas que lo acumulan no se pueden vincular al envenenamiento de seres humanos. La isopeletierina es un antihelmíntico eficaz.



Tropano (80)

Alcaloides de pirrolicidina

Estos alcaloides, de los que la retronecina (82) es un ejemplo típico, son abundantes en especies de *Senecio* y *Heliotropium*. El anillo de pirrolicidina de estos alcaloides se forma a partir de la ornitina, por la vía de su producto de descarboxilación, la diamina putrescina (83) (véase el Capítulo 22). Los alcaloides de pirrolicidina son hepatotóxicos. Los efectos tóxicos de estos alcaloides son acumulativos y,

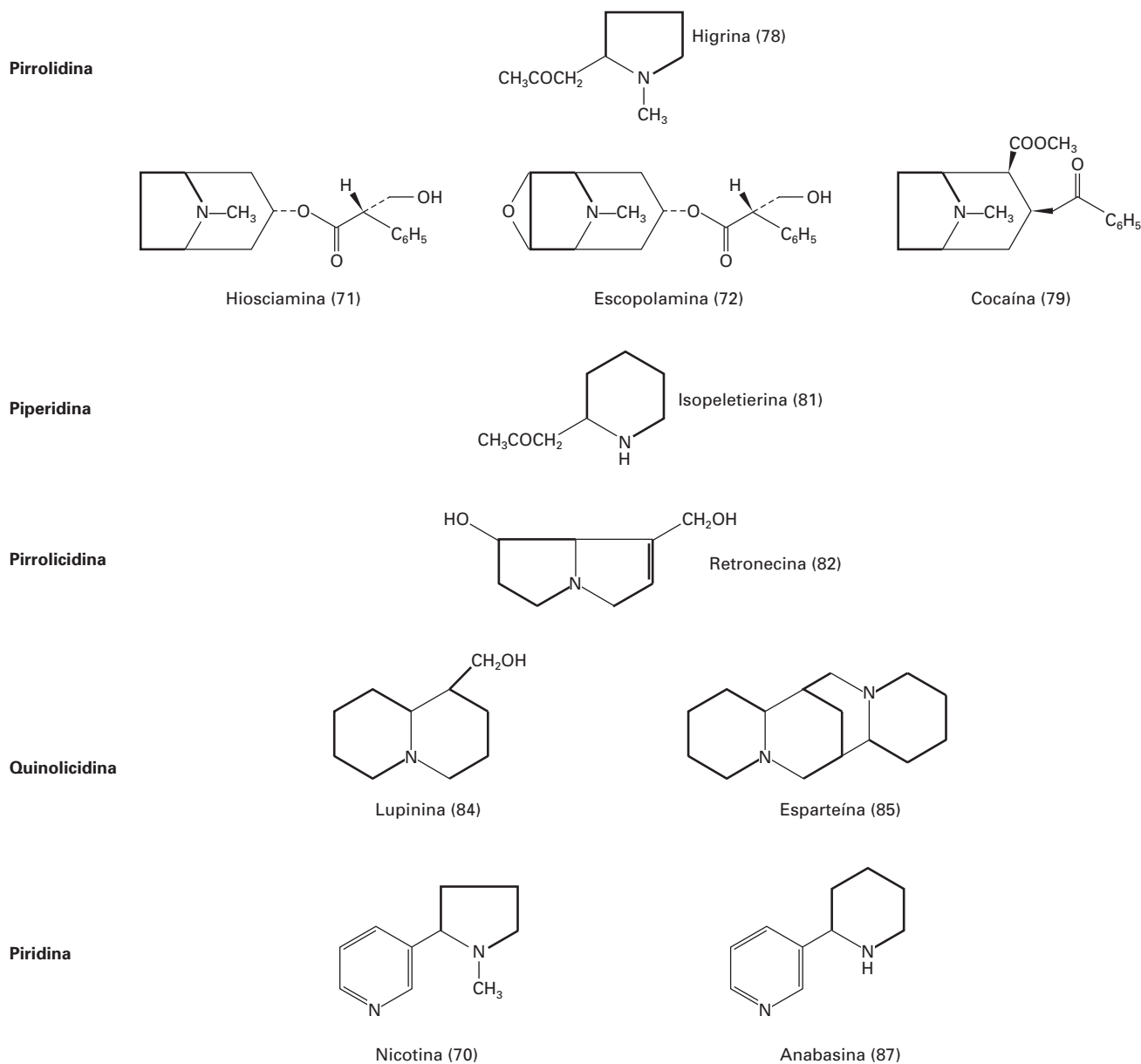


Figura 17-19. Alcaloides derivados de la ornitina y la lisina. Las líneas de trazo grueso indican las partes originarias de los aminoácidos.

a menudo, los síntomas no aparecen hasta después de semanas o meses de su ingestión. Sin embargo, en grandes dosis causan convulsiones y una muerte rápida. En general, actúan como disuasorios alimentarios.

Alcaloides de quinolicidina

Estos alcaloides, caracterizados por poseer uno o dos sistemas de quinolicidina, se encuentran particularmente en especies del género *Lupinus*. Los más representativos de este grupo son la lupinina (84), con un sistema quinolicidina, y la esparteína (85), con dos sistemas quinolicidina. La esparteína se utiliza en medicina como antiaritmico.

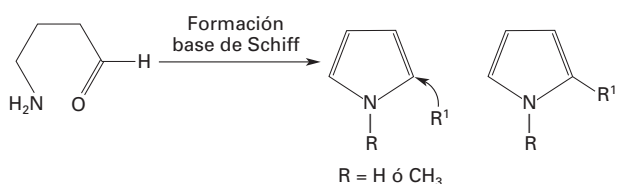
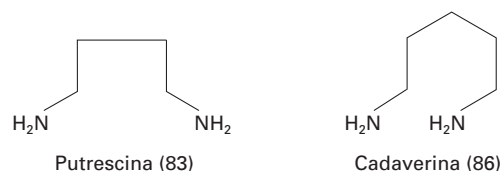


Figura 17-20. Proceso químico implicado en la biosíntesis de muchos alcaloides derivados de la ornitina y la lisina.



Estudios de marcado han permitido comprobar que la lupinina y la esparteína se forman enteramente a partir de la lisina vía cadaverina (86), participando, respectivamente, dos y tres moléculas de diamina. Todos estos alcaloides son tóxicos, pero también amargos; por ello, pueden actuar como disuasorios alimentarios para mamíferos e insectos.

Alcaloides de piridina

Entre los alcaloides de este tipo figuran la nicotina (70) y la anabasina (87), presentes en las especies de *Nicotiana*. Como se ha indicado, la ornitina da lugar al anillo de pirrolidina de nicotina, mientras la lisina es el precursor del anillo de piperidina de anabasina. El anillo de piridina de estos alcaloides deriva del ácido nicotínico (74). Además de una poderosa actividad sobre el sistema nervioso central, la nicotina posee también actividad insecticida, y por ello es utilizada comercialmente con este fin. En la planta puede actuar como disuasorio alimentario para los insectos.

5.1.3. Alcaloides derivados de fenilalanina y tirosina

Los principales tipos de alcaloides derivados de fenilalanina (58) y tirosina (88) están representados en la Figura 17-21. A este grupo pertenecen los alcaloides de isoquinolina, de bencilisoquinolina y de *Amaryllidaceae*. Por lo general, los precursores reales son los productos de descarboxilación de los aminoácidos, es decir, la dopamina (3,4- dihidroxifeniletilamina) (89), o los ácidos arilpirúvicos, como el fenilpirúvico (57), derivado de la fenilalanina por transaminación. Las etapas iniciales de la mayor parte de las rutas biosintéticas que conducen a la formación de este grupo de alcaloides son similares a la representada en la Figura 17-22, pero existe una considerable diversidad en las respectivas etapas finales.

Alcaloides de isoquinolina

Muchos de los alcaloides del peyote (*Lophophora williamsii*), entre ellos la pelletina (90), poseen el anillo de la tetrahydroisoquinolina. La biosíntesis de estos alcaloides es rigurosamente análoga a la mostrada en la Figura 17-22. Por esta ruta química también se originan los precursores de los alcaloides bencilisoquinolínicos, que se describen seguidamente. Otros diversos tipos de alcaloides también derivan de los precursores de la bencilisoquinolina; entre ellos figuran las protoberberinas, de las que la berberina (91) es un buen ejemplo. Este alcaloide es un agente bacteriostático y bactericida. Parece que la berberina endógena inhibe el crecimiento de la célula vegetal. Así, los rizomas de *Coptis japonica* que contienen el alcaloide crecen lentamente; por lo general necesitan unos 15 años para alcanzar la madurez. También se ha comprobado el importante efecto inhibitorio de la berberina sobre la germinación de las semillas.

Alcaloides de bencilisoquinolina

A este grupo pertenecen la papaverina (92), la tebaína (93), la codeína (94) y la morfina (95), principales alcaloides de *Papaver somniferum*. La papaverina, la codeína y la morfina son importantes principios activos de algunos medicamentos. La tebaína, aunque no presenta acción farmacológica, tiene interés para la industria por su fácil conversión en codeína. La morfina es el principal constituyente activo del opio comercial, el cual contiene, en peso seco, cerca de un 10% de este alcaloide y un 25% de alcaloides totales. En el hombre, la morfina ejerce un marcado efecto analgésico y narcótico. La heroína, o diacetil-morfina, un derivado sintético de la morfina, es el más peligroso de todos los fármacos que crean adicción.

En *Papaver somniferum*, la morfina se metaboliza a normorfina (sin grupos metilo), que posteriormente es degradada. Debido a que la secuencia de reacciones que conduce de la tebaína a la morfina también implica una serie de desmetilaciones, se ha sugerido que estos alcaloides pueden actuar como agentes alquilantes endógenos. El alto porcentaje de transformación *in vivo* de la tebaína y la morfina es un buen argumento para reconsiderar la idea generalizada de que los alcaloides son productos terminales del metabolismo.

Alcaloides de Amaryllidaceae

Son alcaloides casi exclusivos de la familia *Amaryllidaceae*. Experimentos con compuestos marcados han demostrado que la O-metilnorbelladina (96) es un precursor común de estos alcaloides, entre los que figura la licorina (97), un eficaz disuasorio de insectos. Se ha comprobado que la tirosina es incorporada en O-metilnorbelladina como tiramina (el producto de descarboxilación del aminoácido), mientras que la otra parte de la molécula la proporciona una unidad C6-C1 que deriva de la fenilalanina.

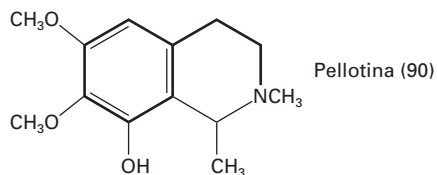
5.1.4. Alcaloides biosintetizados del triptófano

El triptófano (98) es el precursor de un gran número de alcaloides que se caracterizan por la presencia de un núcleo indol (99). Frecuentemente, al anillo indol se incorporan una o dos unidades C5 derivadas del ácido mevalónico (3), lo que da lugar a alcaloides de estructura más compleja. Además, el anillo indol puede abrirse para originar, después de otra forma de cierre del anillo, el sistema quinolina (100), propio de algunos alcaloides de *Chinchona*, como la quinina (101).

Alcaloides indólicos simples

El alcaloide fisostigmina (102), del haba del Calabar (*Physostigma venenosum*), es representativo de esta clase de alcaloides indólicos. La fisostigmina deriva del triptófano, a través de la formación de su amina biógena, la triptamina

Isoquinolinas



Bencilisoquinolinas

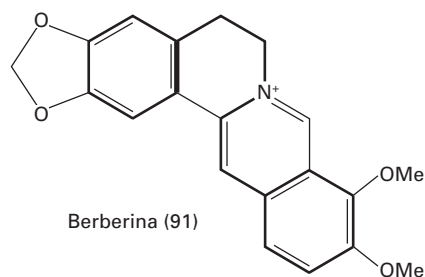
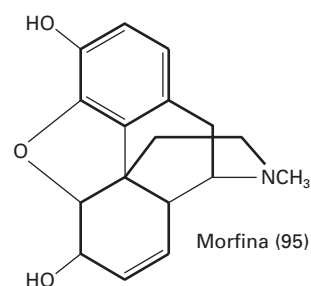
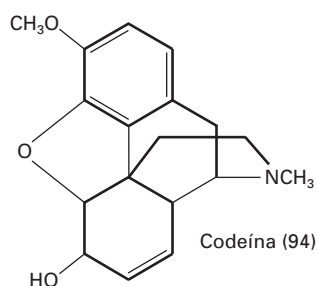
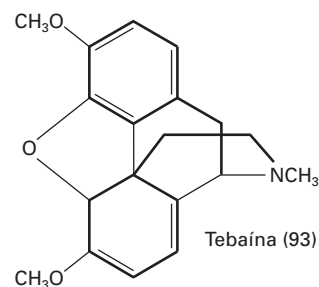
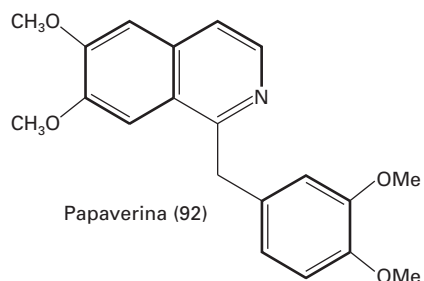
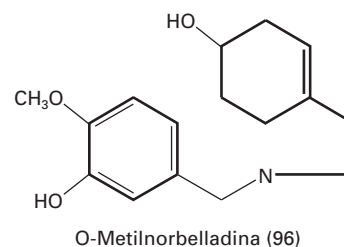
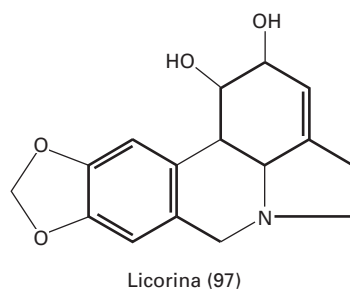
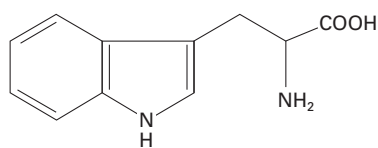
Alcaloides de *Amaryllidaceae*

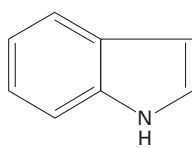
Figura 17-21. Alcaloides derivados de la fenilalanina y la tirosina. Las líneas de trazo grueso indican las partes originarias de los aminoácidos.

(104). La fisostigmina es sumamente tóxica y puede causar la muerte en el hombre por parálisis respiratoria. Este alcaloide es un inhibidor de la acetilcolinesterasa, la enzima que destruye la acetilcolina una vez que ésta ha sido utilizada

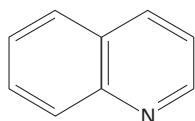
para transmitir el impulso nervioso, y por ello se emplea en medicina como agente anticolinesterásico. En la planta, la fisostigmina actúa como disuasorio alimentario para los depredadores.



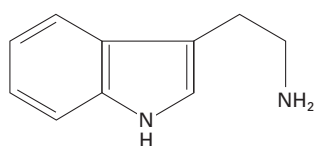
Tryptófano (98)



Indol (99)



Quinolina (100)



Triptamina (103)

Alcaloides indólicos complejos

Como se ha indicado, muchos alcaloides presentan en su estructura una unidad derivada del triptófano y otra derivada del ácido mevalónico. Entre ellos figuran los alcaloides del cornezuelo y de *Catharanthus*, y otros como la estricnina (69) y la quinina (101), presentes, respectivamente, en especies de *Strychnos* y *Chinchona*.

En hongos del género *Claviceps*, particularmente en el cornezuelo (el esclerocio de *C. purpurea*) y también en especies de *Convolvulaceae* (es decir, en plantas superiores),

se encuentran alcaloides que se caracterizan por su estructura de ergolina. Entre los alcaloides de ergolina figuran los derivados del ácido lisérgico (104), cuya dietilamida es el potente alucinógeno LSD.

Catharanthus roseus sintetiza un gran número de alcaloides indólicos complejos de triptófano y una unidad monoterpénica (C₁₀) como moléculas de partida. Estos alcaloides presentan tres tipos estructurales básicos, simbolizados por la vindolina (105), la catarantina (106) y la ajmalicina (107). Además, esta especie vegetal sintetiza alcaloides diméricos, importantes en medicina por sus propiedades antitumorales. Dos de los más valiosos fármacos en la quimioterapia del cáncer, la vinblastina y la vincristina, pertenecen a esta clase de alcaloides diméricos. Su síntesis *in vivo* implica el acoplamiento de los monómeros vindolina y catarantina.

La estricnina, un alcaloide muy tóxico, se encuentra, según se ha indicado, en algunas especies de *Strychnos*. Es improbable que sus propiedades tóxicas sean útiles para estas plantas, pero su intenso sabor amargo (perceptible en una dilución de una parte de estricnina en 500 000 partes de agua) le confiere propiedades como disuasorio alimentario para los depredadores. Este alcaloide, en pequeñas dosis, estimula la actividad mental y muscular y, por ello, se utiliza en medicina para combatir el estupor debido a la morfina y a la sobredosis de fármacos con efectos depresivos.

Finalmente, cabe destacar los alcaloides estereoisómeros quinina y quinidina (108), caracterizados por la presencia del anillo de quinolina (100), que se encuentran principalmente en especies del género *Chinchona*. La quinina se emplea como agente antipalúdico, particularmente en los casos resistentes (que no responden al tratamiento con fármacos de síntesis), y también como amargo. La quinidina se utiliza como agente antiarrítmico en el tratamiento de ciertas alteraciones cardíacas.

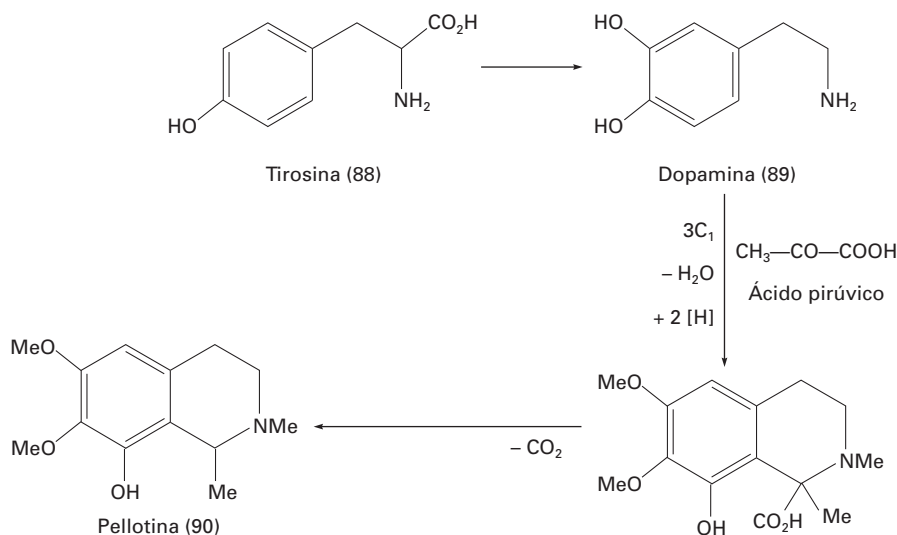
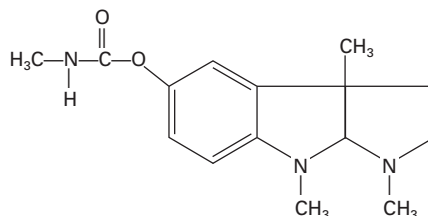


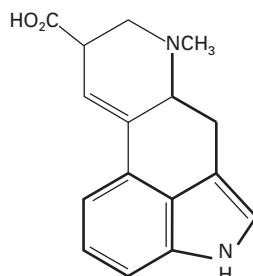
Figura 17-22. Etapas iniciales en la biosíntesis de los alcaloides de isoquinolina.

Indólicos simples

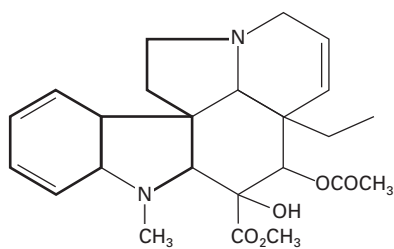


Fisostigmina (102)

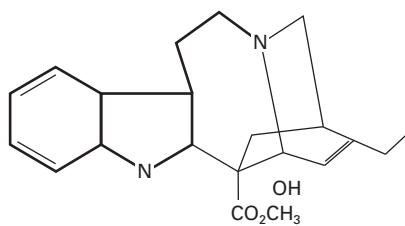
Indólicos complejos



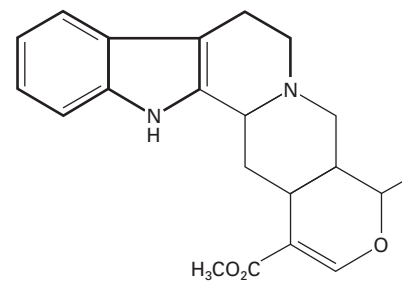
Ácido lisérgico (104)



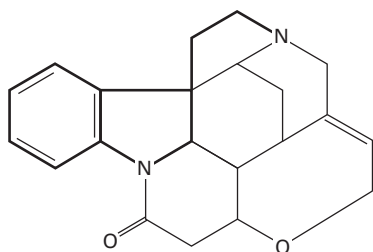
Vindolina (105)



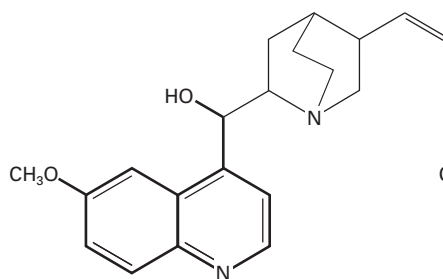
Catarantina (106)



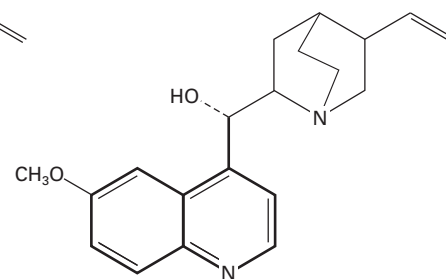
Ajmalicina (107)



Estrictina (105)



Quinina (101)



Quinidina (108)

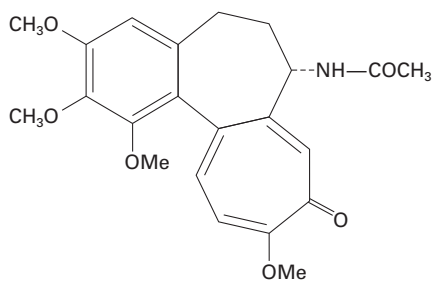
Figura 17-23. Alcaloides derivados del triptófano. Las líneas de trazo grueso indican las partes originarias del aminoácido.

5.2. Los protoalcaloides son generalmente aminas aromáticas

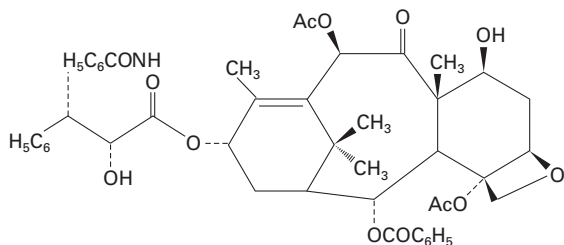
Los protoalcaloides derivan de aminoácidos o aminas biógenas, pero, a diferencia de los alcaloides verdaderos, el nitrógeno se encuentra en una cadena alifática y no en un sistema heterocíclico, salvo si el precursor es el triptófano. Su síntesis implica una descarboxilación del aminoácido pre-

cursor que da lugar a las respectivas aminas simples, de las que, mediante modificaciones estructurales, se originan los diferentes **protoalcaloides**. En este grupo destacan los alcaloides colchicina y taxol, entre otros.

La colchicina, aislada de *Colchicum autumnale*, tiene la capacidad de inducir la formación de poliploides al producir una duplicación del número de cromosomas; recientemente se ha evaluado como agente anticancerígeno, pero parece

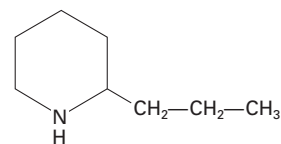


Colchicina (109)



Taxol (110)

resultar demasiado tóxica para su uso clínico. En cambio, el taxol es uno de los agentes anticancerígenos más utilizados actualmente en medicina. Este alcaloide diterpénico, aislado de diferentes especies de *Taxus*, es portador de una cadena lateral derivada de la fenilalanina, la N-benzoil-(2R,3S)-3-fenilisoserina. La acción anticancerígena del taxol radica en sus propiedades antimitóticas. Este alcaloide se une a los



Coniina (111)

microtúbulos e inhibe su despolimerización, lo que bloquea la división y el desplazamiento celulares.

5.3. Los pseudoalcaloides se forman por la incorporación posterior del nitrógeno en compuestos libres de este elemento

Los **pseudoalcaloides**, a pesar de presentar un nitrógeno heterocíclico, aparentemente no están relacionados con los aminoácidos. Se forman por la adición de compuestos de amonio o nitrógeno libre a estructuras terpénicas o derivadas de policétidos. Entre ellos cabe destacar algunos alcaloides del género *Solanum* (esteroídicos), la aconitina (diterpénico) y la coniina (derivado de policétidos). La aconitina (17), característica de especies de *Aconitum* y *Delphinium*, es altamente tóxica para los animales. La coniina (111), un compuesto de estructura relativamente simple, aislado de la cicuta (*Conium maculatum*), es un conocido veneno, de cuyos efectos Platón hace una dramática referencia en su diálogo *Fedón*, por ser el causante de la muerte de Sócrates.



RESUMEN

- Históricamente, los procesos por los que se generan compuestos vegetales han sido clasificados en metabolismo primario y secundario. Sin embargo, con los conocimientos actuales esta distinción puede considerarse arbitraria, puesto que en muchos casos no existe una división definida entre metabolitos primarios y secundarios.
- La definición, antes popular, de un metabolito secundario como aquel que carecía de un papel indispensable en la planta y no omnipresente, ya no es aplicable. Hoy sabemos que hay **metabolitos secundarios** muy necesarios para la vida de la planta, ya que muchos de ellos constituyen un mecanismo de defensa frente al ataque de bacterias, virus y hongos, análogo al sistema inmunitario de los animales.
- Por otra parte, algunos compuestos formados en las rutas del metabolismo secundario son esenciales para las plantas. Ejemplos de ello son los **esteroides**, constituyentes de las biomembranas, el polímero estructural **lignina**, y muchas **fitohormonas**.
- Debido a que los **metabolitos secundarios** derivan biosintéticamente de los primarios y a que, en cada caso, el precursor es utilizado también para la biosíntesis de otros **metabolitos primarios** (p. ej., los aminoácidos son precursores de los alcaloides verdaderos y de las proteínas), los dos tipos de metabolismo están interconectados en una extensión que hace todavía más difícil trazar una clara división entre ambos.
- El número y la diversidad de metabolitos secundarios han despertado, durante muchos años, el interés de los científicos. La diversidad se manifiesta en muchos sentidos: de moléculas químicas y de fuentes de estos metabolitos.
- En algunos casos, los metabolitos secundarios tienen un alto valor comercial, principalmente por la dificultad de producirlos mediante síntesis química. Las moléculas biológicamente útiles suelen ser estereoisómeros específicos, pero los métodos de síntesis química suelen producir estereoisómeros no deseados, impurezas de reacciones laterales y trazas de reaccionantes.

RESUMEN (Cont.)



- La capacidad de las plantas para producir **metabolitos secundarios** en cantidades considerables y en estado puro es aprovechada por el hombre mediante el cultivo a gran escala de la variedad productora y la subsiguiente extracción de los compuestos deseados.
- Asimismo, la producción de metabolitos secundarios de alto valor comercial mediante el **cultivo vegetal *in vitro*** constituye una parte importante de la biotecnología vegetal.

AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestro más sincero agradecimiento al Dr. Manuel Serrano García, catedrático jubilado de Fisiología Vegetal de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona, por la lectura crítica del manuscrito y por sus acertados consejos.

PROBLEMAS Y CUESTIONES



- Indíquense tres posibles formas de actuación de los metabolitos secundarios en las relaciones de la planta productora con los demás organismos de su medio natural.
- ¿Qué relación existe entre los metabolitos secundarios y las proteínas de especialización?
- Indíquense los precursores más importantes de los diferentes grupos de metabolitos secundarios.
- Indíquense algunos metabolitos de naturaleza isoprenoide que ejercen funciones primarias en la planta.
- ¿Qué compuestos terpénicos se forman por unión de cabeza a cola y cuáles por unión de cabeza a cabeza de otras moléculas isoprenoides más pequeñas?
- ¿Qué semejanzas y diferencias existen entre esteroides y brasinoesteroides?
- De entre los diversos pigmentos producidos por las plantas mediante rutas secundarias, indíquense algunos con funciones primarias y otros con funciones simplemente ecológicas?
- ¿En qué grupo de metabolitos secundarios concurren dos rutas fundamentales de síntesis comunes a este metabolismo?
- En función del modelo de hidroxilación del producto fenólico, ¿cómo es posible determinar por qué ruta ha sido biosintetizado?
- ¿Cómo actuaron ciertos polifenoles en la evolución y el desarrollo de las plantas?
- ¿Cuáles son los caracteres que distinguen a alcaloides de otros grupos de metabolitos secundarios?
- Indíquense los rasgos esenciales que diferencian a los alcaloides, protoalcaloides y pseudoalcaloides.
- Describa las principales reacciones de ciclación en los alcaloides.
- Indíquense algún alcaloide en cuya constitución figuren derivados del triptófano y del ácido mevalónico.

RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES



- Véase el apartado 1.
- Véase el apartado 1.
- Véase el apartado 1.
- Véase el apartado 2.

**RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES (Cont.)**

- | | | | |
|---|---------------------------------|----|--------------------------------------|
| 5 | Véase el apartado 2.1. | 10 | Véase el apartado 3.1. |
| 6 | Véase el apartado 2.5. | 11 | Véase el apartado 5. |
| 7 | Véanse los apartados 2.6 y 3. | 12 | Véanse los apartados 5.1, 5.2 y 5.3. |
| 8 | Véanse los apartados 3.2 y 3.4. | 13 | Véase el apartado 5.1. |
| 9 | Véase el apartado 3.3. | 14 | Véase el apartado 5.1.4. |

**BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA**

- | | |
|---|--|
| 1. Seigler DS. <i>Plant Secondary Metabolism</i> . Dordrecht-London, Kluwer Academic Publishers, 1998. | 4. Mann J et al: <i>Natural Products: Their Chemistry and Biological Significance</i> . Longman Group UK Limited, 1994. |
| 2. Buchanan BB et al. <i>Biochemistry and Molecular Biology of Plants</i> . American Society of Plant Physiologists, 2001. | 5. Piñol MT, Palazón J. Metabolismo secundario. En: Azcón-Bieto J, Talón M (eds.). <i>Fisiología y Bioquímica Vegetal</i> . Madrid, McGraw-Hill/Interamericana, 1993; 237-283. |
| 3. Luckner M. <i>Secondary Metabolism in Microorganisms, Plants and Animals</i> . Berlin,-Heidelberg-New York-Tokio, Springer-Verlag, 1990. | 6. Roberts M F, Wink M. (eds.). <i>Alkaloids. Biochemistry, Ecology and Medicinal Applications</i> . London-New York, Plenum Press, 1998. |



PARTE III

Desarrollo vegetal



Introducción al desarrollo. Concepto de hormona vegetal

JUAN SEGURA



1. Terminología y conceptos básicos. 2. Ciclo vital de las plantas. 3. Formación del cuerpo de la planta. 4. Organización estructural y funcional de los meristemos apicales. 5. Introducción a las hormonas vegetales.

1. TERMINOLOGÍA Y CONCEPTOS BÁSICOS

En sentido figurado, cualquier organismo puede compararse con una computadora en la que se ejecuta, de forma secuencial, una serie de programas de desarrollo: embriogénesis, estado juvenil, fase reproductora, senescencia y muerte. Aunque las plantas también cumplen esta secuencia de eventos, sus programas de desarrollo muestran una gran plasticidad, lo que se traduce en una amplia variedad de formas y hábitos de crecimiento, apreciable al comparar tanto especies distintas como individuos de la misma especie o clones mantenidos en condiciones ambientales diferentes. La plasticidad de los programas de desarrollo de las plantas es una consecuencia evolutiva de su adaptación a un hábito fijo de vida autótrofa, en el que los órganos aéreos utilizan directamente la energía luminosa, y las raíces adquieren agua y nutrientes minerales del suelo. En este marco, las plantas deben crecer asegurándose, de forma continuada, un aporte adecuado de materia y energía.

1.1. El desarrollo es el proceso que construye la planta

En el apartado anterior se han introducido términos tales como crecimiento y desarrollo que, necesariamente, debemos definir, tanto más cuanto en la literatura científica no existe una terminología rigurosamente estandarizada aplicable a los fenómenos del crecimiento y desarrollo de las plantas. Entendemos por **desarrollo** el conjunto de eventos

que contribuyen a la progresiva elaboración del cuerpo de la planta y que la capacitan para obtener alimento, reproducirse y adaptarse plenamente a su ambiente.

El desarrollo comprende dos procesos básicos: crecimiento y diferenciación. El término **crecimiento** denota los cambios cuantitativos que tienen lugar durante el desarrollo, mientras que **diferenciación** se refiere a los cambios cualitativos. El término desarrollo se considera sinónimo de morfogénesis. El desarrollo (o morfogénesis) puede definirse, por tanto, como el conjunto de cambios graduales y progresivos en tamaño (crecimiento), estructura y función (diferenciación) que hace posible la transformación de un cigoto en una planta completa. Esta definición también es aplicable al desarrollo de un órgano, de un tejido, o incluso de una célula.

Aunque la terminología que hemos adoptado tiene la virtud de unificar conceptos (desarrollo y morfogénesis), otros investigadores consideran que el desarrollo comprende tres procesos interrelacionados: crecimiento, diferenciación y morfogénesis. Según este punto de vista, la morfogénesis es el proceso que integra y coordina crecimiento y diferenciación, y que explica el origen de los caracteres morfológicos y la forma global del organismo.

1.2. La elongación celular determina el crecimiento de las plantas

El crecimiento se define como un incremento irreversible en tamaño o volumen. Esto significa que el crecimiento de las plantas se produce, fundamentalmente, a través del alarga-

miento o expansión celular. Aunque algunos investigadores sugieren que la división celular es un proceso distinto que acompaña al crecimiento en los tejidos meristemáticos, es más correcto considerar que el crecimiento incluye tanto la **división** como la **expansión** de las células. De hecho, el crecimiento continuado de las plantas requiere, con muy pocas excepciones, una asociación espaciotemporal de divisiones y expansiones celulares. No obstante, la división celular nunca es, por sí misma, un mecanismo de crecimiento, ya que no conduce, necesariamente, a un incremento en el tamaño global de la estructura implicada. En cambio, la expansión de las células individuales siempre produce un crecimiento. El aislamiento, en *Arabidopsis thaliana*, de los genes *diminuto*, *1-6C* y *stunted plant-1* (*planta achaparrada-1*) corrobora la conexión entre expansión celular y crecimiento. Las plantas con mutaciones en los mencionados genes presentan fenotipos enanos causados por una reducción general en el tamaño de sus células.

La expansión celular es, generalmente, un proceso polarizado. En otras palabras, durante el crecimiento, las células se expanden siguiendo una dirección predeterminada, es decir, se elongan. Ello implica, obviamente, la existencia de mecanismos capaces de establecer la polaridad celular antes de que se inicie su elongación.

La rigidez de la pared celular condiciona el crecimiento de las células vegetales y, por tanto, el de todos los órganos de la planta. Durante la elongación, la pared celular primaria pierde parte de su rigidez y se extiende gracias a la fuerza generada por la presión de turgencia. La entrada de agua concomitante permite que se incremente el volumen celular. La irreversibilidad del proceso está asegurada por una nueva ganancia de rigidez de la pared celular. La elongación celular está regulada por diversos factores, entre los que se incluyen algunas hormonas vegetales. Muy posiblemente, el factor determinante del proceso es la activación de las expansinas, proteínas presentes en las paredes celulares de los órganos en crecimiento que promueven la pérdida de rigidez de las paredes celulares.

1.3. El ciclo celular y el tamaño de las células regulan las frecuencias de división celular

El control primario de la división celular en las plantas reside en el **ciclo celular**, que se define como la secuencia de eventos bioquímicos y morfológicos (síntesis de DNA y replicación de los cromosomas, mitosis y citocinesis) que conducen a la generación de dos células hijas. Cuando las células se dividen repetidamente, hay un intervalo de tiempo (la interfase) entre cada evento mitótico. La interfase se subdivide en tres fases diferenciadas, delimitadas por la síntesis de DNA: 1) fase de presíntesis (fase G1, del inglés *gap*, brecha o espacio); 2) fase de síntesis de DNA (fase S) y 3) fase de postsíntesis (fase G2).

El ciclo celular está regulado por controles internos y externos. En las plantas existen, como mínimo, dos puntos de control interno del ciclo celular. El primero se sitúa

en la transición entre las fases G1 y S, y determina si la célula inicia una nueva replicación del DNA o abandona el ciclo (**punto de control G1/S**). El segundo se sitúa en la transición entre las fases G2 y M, y determina si las células entran o no en mitosis (**punto de control G2/M**). En la regulación de ambos puntos de control participan las **ciclínas**, proteínas sintetizadas durante el ciclo celular, y los productos de una serie de genes denominados *CDC* (del inglés *cell division cycle*). La mayoría de los productos de los genes *CDC* son quinasas que se activan al unirse con ciclínas específicas. Por ello, estos productos génicos también se denominan **quinasas dependientes de ciclínas** (**CDK**, del inglés *cyclin-dependent kinases*). La activación de las CDK lleva a la fosforilación de una gran cantidad de sustratos relacionados con el ciclo celular, tales como componentes de la cromatina, elementos del citoesqueleto, etcétera. En todos los organismos eucariotas el control de las transiciones G1/S y G2/M está muy conservado. No obstante, en las plantas se han identificado ciclínas y CDKs específicas. Así, en las plantas, las ciclínas con papeles primarios en el ciclo celular pertenecen a las clases A, B y D, pero no se han identificado ciclínas de la clase E. En cuanto a las CDK, las plantas no sólo contienen las de la clase CDKA, sino también un grupo específico denominado CDKB. La existencia en las plantas de ciclínas y CDK específicas puede estar relacionada con algunos de los hechos diferenciales del ciclo celular en las plantas (banda preprofásica y fragmoplasto, por ejemplo).

Los puntos clave del control del ciclo celular en las plantas se resumen en la Figura 18-1. La transición G1/S se inicia con la síntesis de ciclínas D que, al unirse a CDK de tipo A, promueven la fosforilación e inactivación de una proteína relacionada con la proteína supresora del retinoblastoma (RB) de los mamíferos (denominada, por ello, RBR). La inactivación de la RBR permite la activación del factor de transcripción heterodimérico E2F/DP, que gobierna la transcripción de los genes específicos de la fase S. En las plantas, la transición G2/M es menos conocida; no obstante, parece clara la participación de dos CDK (A y B), que se activan al unirse con ciclínas de tipo A y B. La degradación de las ciclínas tiene lugar a través de la ruta ubiquitina-proteosoma.

El ciclo celular también está bajo el control de una serie de **señales externas (hormonas, azúcares e inhibidores)** que determinan cuándo y dónde deben realizarse las divisiones celulares. Durante la fase G1, las auxinas, las citoquininas, las giberelinas, los brasinoesteroides y la sacarosa activan la expresión de la ciclina D y de su subunidad catalítica CDKA, posibilitando la entrada en la fase S del ciclo. En contraste, el ácido abscísico (ABA) reprime la actividad de la CDKA, promoviendo la acumulación de una proteína inhibidora de la mencionada quinasa. El inhibidor se une al complejo CDKA/ciclina A, impidiendo la entrada en la fase S. Finalmente, las auxinas, las citoquininas y las giberelinas inducen la expresión de las ciclínas A/ B y activan CDKA/B, promoviendo la entrada en la fase M (Fig. 18-1).

La frecuencia de divisiones celulares también está controlada por el tamaño de las propias células, por cuanto éstas

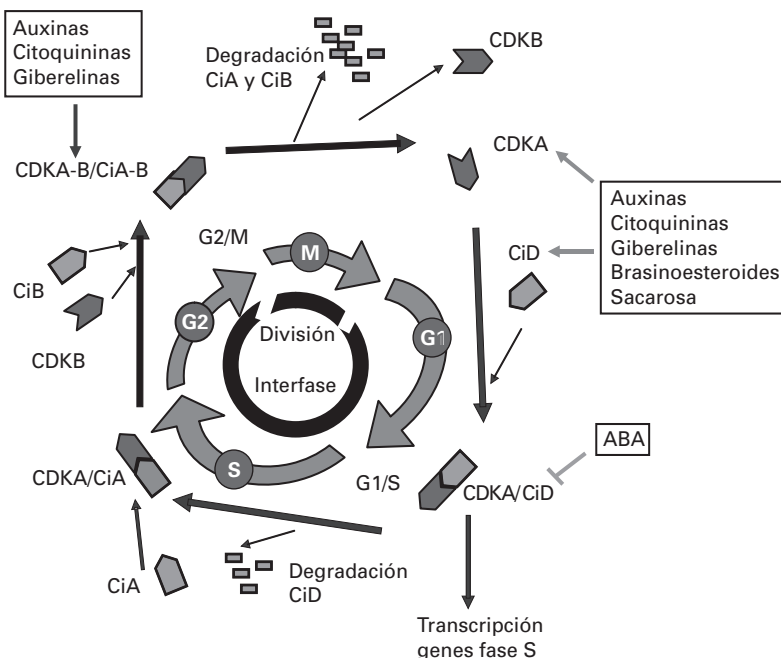


Figura 18-1. Control del ciclo celular en las plantas. El ciclo celular es regulado por la asociación periódica de dos tipos de proteínas: ciclinas (Ci) y quinasas dependientes de ciclinas (CDK). La quinaza CDKA está presente durante todo el ciclo, mientras que la quinaza CDKB se expresa preferentemente durante la transición G2/M. Durante la transición G1/S aparece la ciclina CiD, que interactúa con CDKA, para activar la transcripción de los genes específicos de la fase S. Seguidamente, la CiD es degradada y aparece la ciclina CiA. En la transición G2/M aparecen la ciclina CiB y la quinaza CDKB. CDKA y CDKB se asocian con las ciclinas A y B para llevar a la célula a la mitosis. Completada la fase M, las ciclinas A y B son degradadas. La síntesis y la actividad de Ci y CDK están reguladas por hormonas y sacarosa (ver texto). El efecto promotor o inhibitorio de estos compuestos se denota con flechas y líneas truncadas, respectivamente. (Adaptado de Stals, H. y Dirk, I. Trends Plant Sci, 6:359-364, 2001.)

sólo se dividen cuando alcanzan un volumen predeterminado. Este mecanismo está perfectamente definido, incluso a nivel genético, en las levaduras, donde la duración del ciclo celular es inversamente proporcional al tamaño de la célula en el momento de su generación. Un comportamiento similar se ha observado en algunas células vegetales que sufren una división celular muy desigual. En tales casos, la célula más voluminosa entra en mitosis antes que la de menor tamaño. Si se asume como válido este mecanismo de control, puede sugerirse que la ruta por defecto de las células capaces de elongar es la división celular. Esta hipótesis explicaría la complejidad del control de la división celular en las plantas, en las que se ha identificado un gran número de genes cuya misión básica es limitar la frecuencia de las divisiones celulares.

1.4. La diferenciación conduce a la especialización de las células

El crecimiento, por sí mismo, no produce un cuerpo organizado. Para que este cuerpo se desarrolle es necesario que las células se especialicen y lleguen a ser estructural y funcionalmente diferentes. El conjunto de cambios que hacen posible la especialización celular se denomina dife-

renciación. Básicamente, la diferenciación celular depende de la expresión diferencial del material genético. Las células diferenciadas retienen, por tanto, toda la información necesaria para regenerar una planta completa, es decir, son **totipotentes**, una propiedad muy poco frecuente en las células animales.

La totipotencia celular puede demostrarse fácilmente aplicando la tecnología del cultivo *in vitro* de células y tejidos vegetales. La proporción de células del cuerpo de la planta que mantienen su totipotencia varía entre especies, e incluso entre variedades. La capacidad de reproducción vegetativa, esto es, la habilidad para organizar nuevos meristemos (denominados meristemos adventicios) a partir de órganos preexistentes, también depende del genotipo. Prácticamente todos los órganos de la planta, incluidos raíces, tallos y hojas, pueden formar meristemos adventicios de tallos o de raíces que emiten, respectivamente, tallos o raíces adventicias. Entre los ejemplos más llamativos de esta capacidad merecen citarse la producción de plántulas ectópicas en los márgenes de las hojas de *Kalanchoe* (*Bryophyllum*) o la neoformación de raíces o tallos en una gran variedad de esquejes o estaquillas.

Aunque en ciertos casos puede haber crecimiento sin diferenciación, y viceversa, lo usual es que ambos procesos

tengan lugar en íntima asociación. De hecho, el desarrollo de un cuerpo organizado depende de la integración del crecimiento y la diferenciación.

1.5. La división celular y la comunicación entre células controlan la diferenciación celular

Uno de los problemas fundamentales de la biología del desarrollo es conocer los mecanismos que regulan la diferenciación de tipos celulares especializados en los organismos pluricelulares. Para referirse a este proceso de especialización, los científicos utilizan los términos competencia y determinación (especificación del destino celular).

La **competencia** hace referencia a la capacidad de las células para reconocer señales (hormonales o de otra naturaleza) que activan una ruta particular de diferenciación. Algunos autores la consideran una fase de transición, en la que las células pueden adquirir el estado de determinación. En dicho estado, las células sufren un cambio en su carácter interno que las «compromete» a seguir una ruta de diferenciación (un destino) genéticamente programada. El estado de **determinación** conlleva la activación de un «mecanismo de memoria», que se mantiene incluso cuando las condiciones que indujeron su adquisición son alteradas mediante manipulación ambiental.

Como consecuencia de sus distintas estrategias de crecimiento, la determinación y la competencia celulares no operan en las plantas con la misma extensión y precisión que en los animales. En las células vegetales, la determinación es menos estable y su adquisición mucho más gradual.

Las células vegetales pueden adquirir el estado de determinación mediante dos mecanismos: 1) división desigual de una célula polarizada para generar dos células hijas que siguen destinos diferentes; y 2) comunicación intercelular, que suministra la información necesaria para emprender una ruta de diferenciación (un destino) que depende de la posición ocupada por la célula en el organismo.

Aunque las orientaciones en los planos de división celular pueden explicar casos muy específicos de determinación (división asimétrica del cigoto, por ejemplo; véase el apartado 3.1), no parece que sean el mecanismo que determina el plan básico del cuerpo de la planta. De hecho, la existencia de divisiones celulares muy irregulares en ciertos mutantes de *Arabidopsis thaliana* no impide que todos los tipos celulares se formen en la posición correcta.

Actualmente existen pocas dudas de que las células meristemáticas se diferencian según las posiciones que ocupan, y de que utilizan la comunicación intercelular para verificar estas posiciones. Así, una célula del suspensor puede dar lugar a un embrión, si el embrión propiamente dicho es eliminado. De manera similar, una célula que entra en una nueva zona meristemática se diferencia de acuerdo con su nueva posición (véase el apartado 4.1.2).

El desarrollo de las plantas es un proceso coordinado e integrado a través de gran número de señales, entre las que se encuentran las **hormonas**. Por ejemplo, el transporte

polar de las auxinas (véanse el apartado 3.1 y el Capítulo 19) es el fundamental para el establecimiento del eje apical-basal del embrión (véase el apartado 3). Sin embargo, por el momento hay pocas pruebas de la participación directa de las hormonas en la determinación de los destinos celulares específicos. El factor crucial parece ser la comunicación entre células adyacentes a través de los **plasmodesmos**. De hecho, la inyección de colorantes fluorescentes demuestra que las células meristemáticas de la raíz forman dominios simplásticos, que exhiben un elevado transporte vía plasmodesmos. Sin embargo, a medida que la diferenciación progresa, las capas de tejidos van perdiendo gradualmente sus conexiones simplásticas. Desgraciadamente, nuestros conocimientos sobre la naturaleza de las señales utilizadas por las células para comunicarse entre sí son mínimos, aunque actualmente hay pruebas de la participación de **oligopéptidos de carácter hormonal** que actúan como señales a corta distancia, y que inhiben o promueven la diferenciación de las células troncales durante el desarrollo de los tallos (véase el apartado 4) o del xilema, respectivamente (Simon y Stahl, *Science* 313:773-774, 2006).

En algunos sistemas, las moléculas que determinan el destino celular residen en la pared celular. Así sucede, por ejemplo, durante las primeras fases del desarrollo vegetativo en las algas pardas de la familia Fucales. También se han identificado moléculas de la pared celular necesarias para la inducción de embriogénesis somática en células de zanahoria.

2. CICLO VITAL DE LAS PLANTAS

El ciclo vital de las angiospermas (Fig. 18-2) transcurre con **alternancia de generaciones heteromórficas entre un gametofito haploide y un esporofito diploide**. En este caso, los gametofitos están muy reducidos e incluidos en los esporofitos, aunque en los vegetales inferiores ambas generaciones pueden estar formadas por individuos independientes (véase el Capítulo 28).

2.1. Los gametofitos femenino y masculino se forman dentro de las estructuras florales del esporofito

Las flores del esporofito, la generación dominante en las angiospermas, **no producen gametos directamente**. En su lugar, las divisiones meióticas en determinadas células de los órganos sexuales de las flores originan **megasporas y microsporas** haploides, que, por sucesivas divisiones mitóticas, dan lugar a la generación gametofítica.

La megaspora desarrolla, dentro de los óvulos, el **gametofito femenino (saco embrionario)**, que generalmente contiene siete células. Una se convierte en célula huevo, y las restantes ayudan en la fertilización o en el desarrollo del embrión. **El gametofito masculino (grano de polen)** surge de una microspora producida en el lóculo de la antera

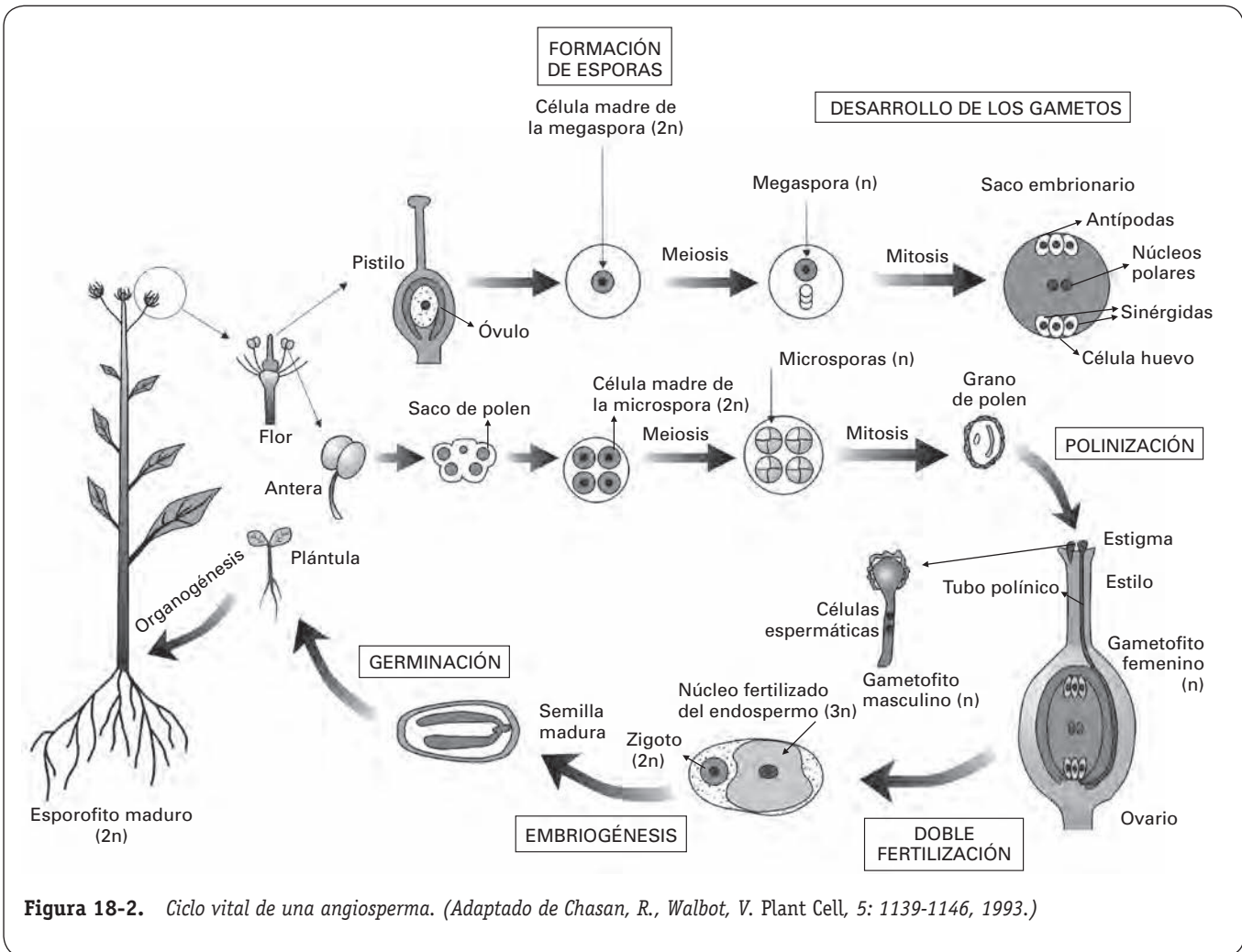


Figura 18-2. Ciclo vital de una angiosperma. (Adaptado de Chasan, R., Walbot, V. Plant Cell, 5: 1139-1146, 1993.)

y contiene tres células al madurar: dos células espermáticas y la célula vegetativa.

El proceso de formación de gametos en las plantas se diferencia significativamente del que opera en los animales, donde los gametos descienden directamente de las células de la línea germinal. Las plantas, por el contrario, no establecen una línea germinal, y todas sus células retienen el potencial para la reproducción. La probabilidad de que una célula vegetal origine un gameto depende de su posición en el organismo.

2.2. Durante la polinización el grano de polen es transferido desde las anteras a los óvulos

La polinización comienza cuando un grano de polen se posa sobre un estigma receptivo. El grano de polen absorbe agua y nutrientes de la superficie del estigma e inicia su germinación. Durante este proceso, la célula vegetativa desarrolla el tubo polínico, que crece a través del pistilo hacia el óvulo, donde libera las dos células espermáticas en el saco embrionario.

2.3. El esporofito inicia su desarrollo con la doble fecundación que conduce a la formación del embrión y el endospermo

Las dos células espermáticas liberadas en el saco embrionario son dimórficas; la más grande se fusiona con la célula huevo y forma el **zigoto**, que originará el embrión; mientras que la más pequeña se fusiona con la célula central binucleada del saco embrionario, para dar lugar al **endospermo**.

El endospermo comparte todos los alelos con el cigoto; sin embargo, su programa de desarrollo es completamente diferente, ya que se divide hasta originar un tejido terminal que nutre al embrión en desarrollo o a la plántula en germinación. El tipo más común de endospermo es el triploide (resultado de la fusión de la célula central del saco embrionario $2n$ con una célula espermática $1n$); no obstante, es posible encontrar otros niveles de ploidía. En las gimnospermas, el endospermo es normalmente haploide y sólo deriva del gametofito femenino.

Una vez formado el embrión, se inicia un proceso adaptativo único que conduce a la maduración de la semilla y asegura su supervivencia en condiciones adversas. Estas

adaptaciones abarcan la acumulación de reservas nutritivas, la desecación y la adquisición de diversos mecanismos de dormición, que se mantienen hasta que la semilla encuentra unas condiciones favorables para germinar (véase el Capítulo 27). Las semillas también pueden desarrollarse sin fertilización. Tal fenómeno se produce a través de una serie de rutas diferentes que reciben el nombre genérico de **apomixis**.

Cuando las condiciones son favorables, la semilla absorbe agua e inicia el proceso de germinación. Durante la germinación se produce la elongación del embrión y la emergencia de los meristemas apicales del tallo y de la raíz. La actividad continuada de estos meristemas forma la planta madura, capaz de florecer e iniciar un nuevo ciclo.

3. FORMACIÓN DEL CUERPO DE LA PLANTA

Las plantas son estructuras axiales (se ordenan simétricamente sobre un eje) y polares (los extremos apical y basal del eje son diferentes). Normalmente, las plantas poseen muchos ejes. El eje mayor (orientado perpendicularmente a la superficie de la tierra) está definido por el tallo y la raíz principales, mientras que los ejes subsidiarios forman las ramas y raíces laterales, que también son estructuras polares.

La polaridad del eje determina, por tanto, la organización básica y el plan del cuerpo de las plantas. De hecho, este atributo fundamental del desarrollo de las plantas se establece durante la embriogénesis (formación del embrión a partir del cigoto). A continuación se exponen los conceptos fundamentales del proceso embriogénico.

3.1. Durante la formación del embrión se establece la polaridad apical-basal del eje de la planta y el modelo básico de tejidos del eje

El embrión presenta características de desarrollo muy variadas y alcanza distintos tamaños y grados de diferenciación en las angiospermas. El modelo de **embriogénesis** que se presenta (Fig. 18-3) es fundamentalmente aplicable a las dicotiledóneas y se centra en los procesos que tienen lugar durante el desarrollo del embrión: iniciación de los meristemas apicales o primarios y diferenciación de los primeros tejidos. Una exposición complementaria puede encontrarse en el Capítulo 27. Recuérdese también que la embriogénesis siempre va acompañada del desarrollo del endospermo (véase el apartado 2) (Fig. 18-3).

Después de la fertilización, el cigoto sufre una fase inicial de elongación que lleva a la formación del proembrión lineal (Fig. 18-3 A y B). La **división asimétrica** del proembrión lineal origina una **célula apical** pequeña, que generará el embrión, y una **célula basal** grande y elongada, que dará lugar al suspensor, estructura terminal que nutre al embrión y lo une con el saco embrionario. La célula apical sufre una serie de divisiones sucesivas, tanto en el plano longitudinal como en el transversal, y produce una estructura globular

que forma el embrión propiamente dicho (Fig. 18-3 C). **En el transcurso de la fase globular, se diferencian los meristemas apicales del tallo y la raíz en los extremos opuestos del embrión**, estableciéndose así el futuro eje apical-basal de la planta, y se inicia la formación de los tres primeros tejidos meristemáticos (Fig. 18-3 D): protodermis periférica (precursora de la epidermis), procambium central (precursor de los tejidos vasculares) y tejido fundamental subepidérmico (precursor del córtex). La diferenciación del meristemo apical del tallo marca los primeros procesos organogénicos del embrión (desarrollo de los cotiledones), mientras que en el polo opuesto se diferencia la caliptra, que recubre el meristemo apical de la raíz (Fig. 18-3 E). En la fase final (Fig. 18-3 F y G), el embrión alcanza la forma cotiledonar típica, en la que se pueden distinguir el eje embrionario, con los meristemas apicales del tallo y la raíz en extremos opuestos, y los cotiledones. La porción del eje situada entre el meristemo radicular y los cotiledones se denomina hipocótilo, mientras que la situada entre los cotiledones y el ápice caulinar recibe el nombre de epicótilo.

La inducción *in vitro* de embriones somáticos, capaces de regenerar plantas completas, demuestra que la polaridad apical-basal del embrión cigótico puede establecerse sin influencia de los tejidos maternos. No obstante, la estricta correlación existente entre la orientación del eje embrionario y la estructura del óvulo sugiere que tal información podría ser importante en la determinación de la polaridad del embrión. Desgraciadamente, se desconoce la naturaleza de esa información materna, aunque está en discusión la posible influencia de factores químicos difusibles o de fuerzas físicas.

Sin descartar la posible influencia de los tejidos maternos, dos trabajos recientes en *Arabidopsis* han sentado las bases para explicar los factores que determinan el establecimiento y posterior fijación del eje apical-basal del embrión. En el primero de dichos trabajos se demuestra que el eje apical-basal de los embriones se establece durante la primera división celular del cigoto, y que el **transporte y la acumulación de auxina determinan el establecimiento inicial de la polaridad del embrión** (Fig. 18-4) (Friml y cols., *Nature* 426:147-153, 2003). En el segundo, se describe el mutante **topless-1** (*tpl-1*) de *Arabidopsis*, que transforma el polo apical del embrión en un segundo polo radicular. Dado que las proteínas TPL remodelan la cromatina y reprimen la transcripción, se ha sugerido que TPL actúa fijando el eje apical-basal previamente formado, impidiendo la formación de raíces en el polo apical (Long y cols., *Science* 312:1520-1523, 2006). A partir de estos resultados, se ha propuesto que **el establecimiento de la polaridad del embrión tiene lugar en dos pasos sucesivos: en el primero, la distribución polarizada de la auxina determina la formación del eje apical-basal, mientras que en el segundo se produce la estabilización de dicho eje a través de procesos de represión transcripcional** mediatizados por la remodelación de la cromatina. Conceptualmente, estos dos pasos de la determinación de la polaridad durante la embriogénesis de las angiospermas son similares a los que operan en el cigoto del alga parda *Fucus*,

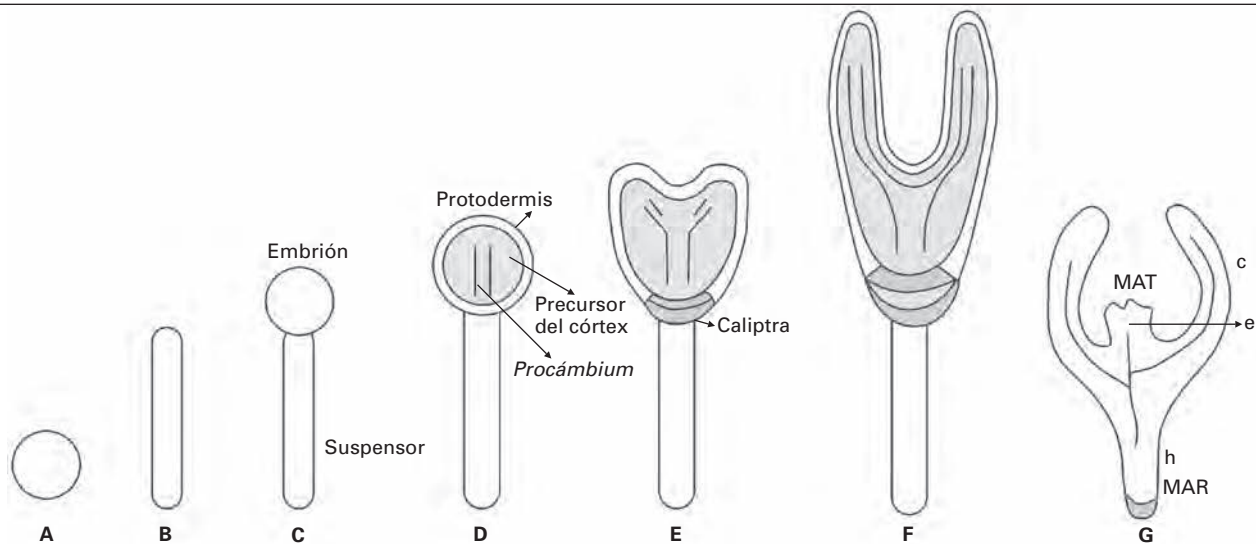


Figura 18-3. Principales fases de la embriogénesis en la dicotiledóneas. (Adaptado de Kaplan, D. R. y Cooke, T. J., *Plant Cell*, 9: 1903-1919, 1997.) **A-C:** Morfogénesis inicial del embrión. **A.** Zigoto. **B.** Proembrión lineal. **C.** Embrión propiamente dicho. **D.** Histogénesis inicial y organización de los meristemas. Durante esta fase se inicia la diferenciación de los tres tejidos meristemáticos primarios: protodermis (precursora de la epidermis), procámbium central (precursor vascular) y tejidos fundamentales subepidérmicos (precursores del córtex). Simultáneamente comienza la formación de los meristemas apicales del tallo y la raíz en los extremos opuestos del embrión. **E.** Organogénesis inicial. Comienzan a formarse los cotiledones y se diferencia la caliptra a partir de células de la protodermis. **F.** Desarrollo del embrión. Se completa el desarrollo de los tejidos y órganos del embrión y se produce la elongación de los órganos principales, incluyendo cotiledones e hipocótilo. **G.** Embrión maduro. Abreviaturas: MAT, meristemo apical del tallo; e, epicótilo; c, cotiledones; h, hipocótilo; MAR, meristemo apical de la raíz.

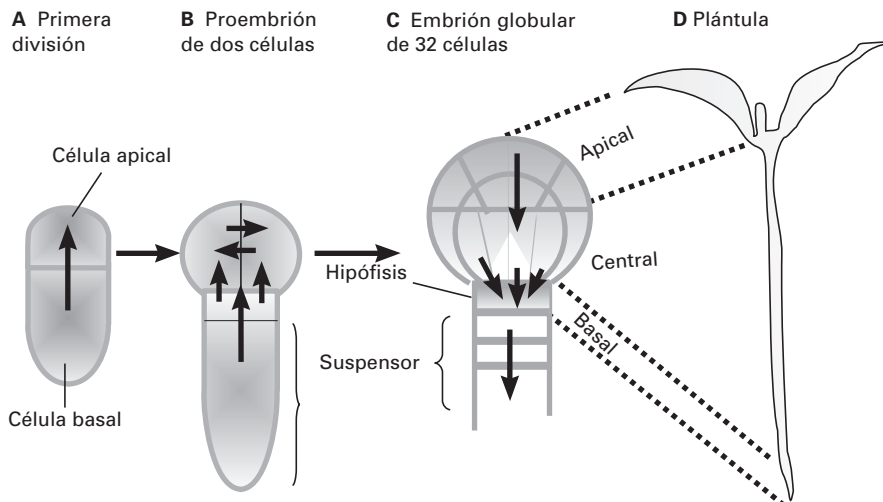


Figura 18-4. El transporte y la acumulación de auxina, mediatizados por los transportadores PIN, determinan el establecimiento del eje apical-basal del embrión. Para más información sobre los transportadores PIN (el nombre hace referencia a la forma de alfiler que adquiere la inflorescencia de los mutantes *pin-formed*) y el transporte polar de las auxinas, véase el Capítulo 19. **A.** La primera división (asimétrica) del cigoto origina una célula apical y una basal; los transportadores PIN canalizan la auxina, procedente de los tejidos maternos, hacia la célula apical (transporte acrópeto; obsérvese la dirección de la flecha). **B.** La célula basal se divide horizontalmente para formar el suspensor, mientras que la apical se divide verticalmente y forma el proembrión de dos células; los transportadores PIN redistribuyen la auxina de origen materno entre las dos células; la acumulación de auxina en el proembrión especifica la formación del meristemo apical del tallo. **C.** El embrión globular de 32 células comienza a sintetizar su propia auxina en la zona apical; el flujo de auxina se invierte debido a la relocalización de los transportadores PIN, que ahora se sitúan en la membrana basal de las células (transporte basípeto, nótese la dirección de las flechas), causando su acumulación en la hipófisis (célula que origina la parte basal de la raíz embriogénica) y la especificación del meristemo apical de la raíz; en este estado, el eje apical-basal ya se ha establecido y es posible distinguir en el embrión las zonas que originarán las regiones apical, central y basal de la plántula (**D**). (Adaptado de Kepinski, S y Ottoline, L. *Nature*, 426:132-135, 2003.)

donde la formación inicial del eje apical-basal y su fijación posterior están temporalmente separados.

En el establecimiento inicial del eje apical-basal del embrión de *Arabidopsis* participan, entre otros, los genes *GNOM (GN)*, *MONOPTEROS (MP)* y *BODENLOS (BDL)*, cuya función básica es mediar la acción de las auxinas. Los mutantes *gn* no forman meristemos apicales, por lo que el desarrollo del embrión se detiene en el estado globular. Los mutantes *mp* y *bdl* tienen el mismo fenotipo (carecen de hipocótilo y raíz, por lo que sólo desarrollan meristemo apical del tallo y cotiledones). Los defectos de los tres mutantes pueden entenderse fácilmente si consideramos que sus respectivos genes silvestres son mediadores del transporte y la acción de las auxinas, o de ambos.

El gen *GN* codifica un factor de intercambio de nucleótidos de guanina, que participa en la distribución celular de los transportadores PIN que median el eflujo de auxina; por consiguiente, en los mutantes *gn* no hay transporte polar de auxinas y el eje apical-basal no se establece (Geldner y cols, *Cell* 112:219-230, 2003).

El gen *MP* es miembro de una familia génica que codifica factores de transcripción de respuesta a la auxina (ARF), necesarios para la transcripción de genes de respuesta primaria a dicha hormona. Así pues, en los mutantes *mp* la auxina no puede completar su acción, lo que causa defectos en el establecimiento del eje apical-basal del embrión (no se forma el meristemo apical de la raíz, por ejemplo). El gen *BDL* codifica una proteína represora del factor de transcripción MP. Como se explica en el Capítulo 19, las auxinas promueven la degradación en el proteosoma de los represores de los ARF, induciendo así la transcripción de los genes de respuesta a auxinas; la similitud en los fenotipos de los mutantes *gn* y *bdl* parece deberse a que la proteína codificada por el gen *BDL* mutado es resistente a la degradación inducida por auxina (Hamann y cols., *Genes and Development* 16:1610-1615, 2002).

La polaridad apical-basal del eje embrionario y, por extensión, de la planta adulta, atributo fundamental del desarrollo vegetal, persiste incluso durante el crecimiento de órganos aislados. En las estaquillas, por ejemplo, las raíces siempre se forman en el extremo morfológicamente basal, mientras que las yemas lo hacen en el extremo opuesto. Esta pauta de desarrollo es independiente de la zona del tallo en la que se aisló la estaquilla y de las condiciones ambientales. Además, la respuesta no está afectada por la gravedad, hecho que puede demostrarse invirtiendo la posición de las estaquillas o colocándolas horizontalmente.

3.2. Los meristemos apicales del tallo y la raíz producen el cuerpo primario de la planta

La actividad de los meristemos apicales (o primarios) conduce al desarrollo del denominado cuerpo primario de la planta. Los órganos vegetativos principales del **cuerpo primario** (raíces, tallos y hojas) están formados por **tres sistemas de tejidos** que se inician durante el desarrollo del

embrión: **dérmico, vascular y fundamental** (*ground*, en la terminología anglosajona).

El **sistema dérmico** comprende la **epidermis**, que es la capa protectora que cubre el cuerpo primario de la planta, y la **peridermis**, tejido protector que sustituye a la epidermis en las partes de la planta que experimentan un engrosamiento secundario (véase el apartado 3.3).

El **sistema vascular** contiene dos tipos de tejidos conductores, el xilema y el floema, que pueden ser de origen primario y secundario (véase el apartado 3.3).

El **sistema fundamental** comprende todos aquellos tejidos que, en sentido amplio, forman la sustancia fundamental (*ground substance*, en la terminología anglosajona) de la planta, pero que también presentan un cierto grado de especialización. Los principales tejidos de este sistema son **parénquima, colénquima y esclerénquima**.

Dentro del cuerpo de la planta, los tejidos se distribuyen formando patrones muy característicos. En el **patrón básico**, muy semejante en todas las plantas, **los tejidos vasculares están embebidos en los fundamentales, y los dérmicos forman la cubierta externa**. Las variaciones en este patrón dependen de la distribución relativa de tejidos vasculares y fundamentales:

- En los **tallos de las dicotiledóneas** (Fig. 18-5), el tejido vascular forma un cilindro hueco, dividiendo el tejido fundamental en dos regiones: el **córtex** (entre dicho cilindro y el tejido dérmico) y la **médula** (zona más interna del tallo delimitada por el cilindro vascular).
- En los **tallos de las monocotiledóneas** no se diferencia médula, ya que los haces vasculares se distribuyen al azar por el córtex.
- En las **raíces** (Fig. 18-5), el cilindro vascular puede (en las monocotiledóneas) o no (en las dicotiledóneas) delimitar médula, pero el córtex, rodeado por la epidermis, siempre está presente. Además, la zona del sistema fundamental adyacente al sistema vascular aparece separada del córtex por un cilindro de células especializadas (el **periciclo**), que mantiene su actividad meristemática. El conjunto formado por periciclo, sistema vascular y médula (si la hay) constituye el **cilindro central** (también llamado vascular) de la raíz; por otra parte, la capa más interna de las células del córtex se diferencia estructural y funcionalmente del resto, y forma la **endodermis**.
- En las **hojas** (Fig.18-5), el tejido vascular forma un sistema anastomosado embebido en el tejido fundamental, que aquí se denomina **mesófilo**, delimitado por la epidermis superior e inferior.

3.2.1. El cuerpo primario de la planta crece de forma modular

El cuerpo primario aumenta de tamaño mediante la adición de estructuras en forma modular (**metámeros**). A medida que las células meristemáticas proliferan, se van produciendo nuevos metámeros que se alejan progresivamente de los ápices (Fig. 18-6).

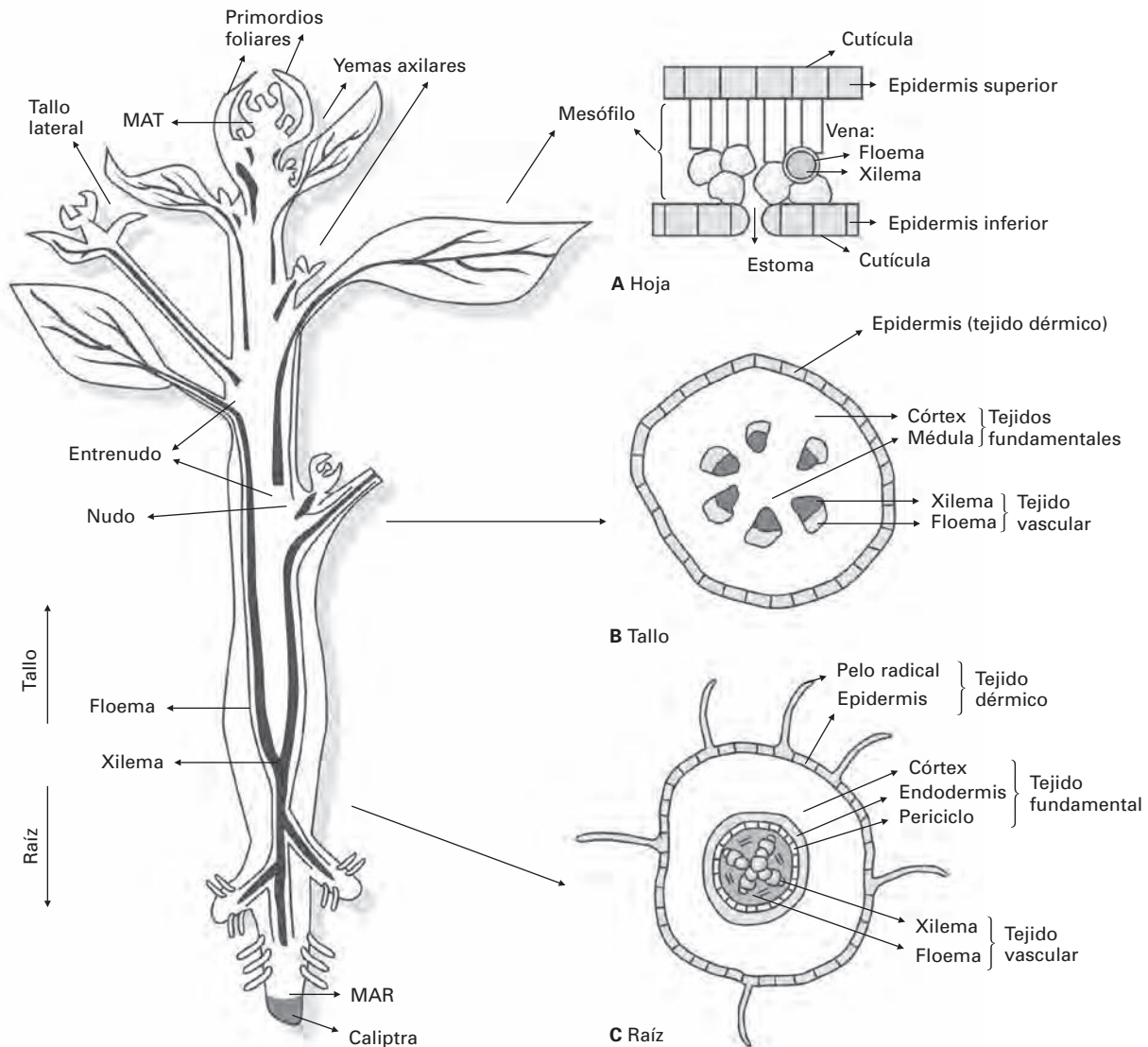


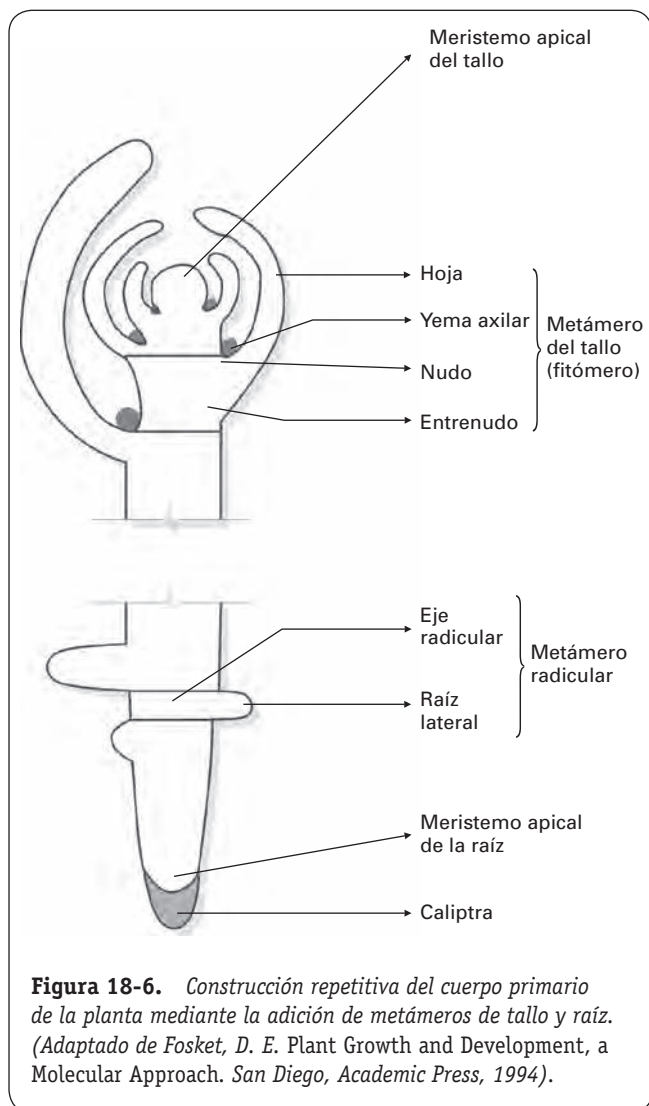
Figura 18-5. Representación esquemática del cuerpo primario de una dicotiledónea. Las secciones transversales de la hoja (A), el tallo (B) y la raíz (C) muestran la disposición de los tejidos principales.

El módulo generado por el meristemo apical del tallo (denominado **fitómero**) comprende un órgano lateral (la hoja), un nudo, al que se une la hoja, un meristemo axilar (la yema axilar), localizada en la axila de la hoja, y un entrenudo (véase también el Capítulo 25). La posición de las hojas en los fitómeros sigue un modelo característico, determinado genéticamente, que se denomina **filotaxia**. Básicamente, existen dos modelos de filotaxia, el espiral y el verticilado. El ángulo entre las hojas que se van formando en el modelo espiral es muy regular. Dentro de un verticilo puede haber una hoja (modelo dístico), dos hojas (modelo decusado), o tres o más hojas (filotaxia verticilada típica). Los modelos filotácticos son muy estables y sólo cambian bajo la influencia de ciertos estímulos ambientales o del desarrollo (transición floral, por ejemplo).

La forma de la planta depende de las pautas de ramificación del tallo principal que, en última instancia, vienen

determinadas por el tipo de filotaxia, ya que las yemas axilares se originan en las axilas de las hojas. Si el crecimiento del ápice caulinar es mayor que el de las yemas axilares respectivas, se produce una ramificación monopódica (plantas de forma piramidal), mientras que si ocurre lo contrario, se produce una ramificación simpódica; éstos son los dos modelos de ramificación básicos. La forma final de la planta también depende del número de ramas laterales de distinto orden que se producen, del modelo espacial que adoptan éstas, y del grado de crecimiento relativo de cada una de ellas. El rebrote de las yemas axilares es controlado por la yema apical; este control se conoce genéricamente como **dominancia apical** (véase el Capítulo 21 y el apartado 8.3).

El meristemo apical de la raíz genera tanto las células que forman la caliptra como las células que constituirán los tejidos primarios del eje radicular. El metámero formado por este meristemo es menos evidente, pero sus



células se dividen repetidamente, siguiendo pautas precisas, para producir el modelo tisular característico de la raíz primaria. A diferencia del meristemo apical del tallo, el meristemo apical de la raíz nunca produce órganos laterales. Las raíces laterales se forman a partir de meristemos adventicios (primordios radiculares) que se diferencian en el periciclo.

El modelo de desarrollo que acabamos de comentar es muy diferente del que opera en los animales. En estos organismos, todo el plan del cuerpo completo y el de sus sistemas de órganos se establece durante el desarrollo embrionario, por lo que la forma del animal al nacer es muy similar a la del adulto. En contraste, el desarrollo de las plantas es básicamente postembrionario. Aunque las plantas también sufren embriogénesis y la semilla contiene una planta embrionaria, esta planta carece de la mayoría de los órganos y sistemas de tejidos de la planta madura. En lugar de desarrollarse durante la embriogénesis, tales órganos se forman después de la germinación, gracias a la actividad de los meristemos.

3.3. Las plantas también pueden desarrollar un cuerpo secundario

En muchos casos, el cuerpo primario constituye la planta completa; en otros, sin embargo, hay un componente adicional del desarrollo que conduce a un crecimiento secundario en grosor del eje. Tal crecimiento deriva de la actividad de dos meristemos adicionales, que se inician en la fase postembrionaria y que se sitúan paralelamente al eje tallo-raíz, por lo que se denominan **meristemos secundarios o laterales**: 1) **cámbium vascular**, que origina el floema y el xilema secundarios; y 2) **cámbium del felógeno**, que forma el tejido protector (peridermis, cuya parte externa se denomina súber) que reemplaza a la epidermis. Estos dos meristemos, junto con los tejidos que producen, constituyen el cuerpo secundario de la planta (Fig. 18-7). A diferencia del primario, el cuerpo secundario no da lugar a una planta completa, ya que sólo está formado por un número limitado de tejidos y no contiene órganos. El **cámbium** puede considerarse también un tipo de meristemo intercalar. Estos meristemos se denominan así porque se sitúan entre las células que derivan de su actividad mitótica.

En las plantas maduras se desarrolla además un tercer tipo de meristemos que no estaba presente en el embrión. Tales meristemos son los reproductores (**yemas florales**), que originan las flores. Aunque los meristemos producen, normalmente, un solo tipo de módulo, los meristemos reproductores se inician a partir de meristemos vegetativos pre-existentes. Ello implica un cambio en la identidad del meristemo, que tiene lugar en respuesta tanto a factores internos como ambientales, como se explica en el Capítulo 25.

3.4. Potencialmente, las plantas son inmortales

De acuerdo con su pauta de crecimiento, las estructuras generadas por la actividad de los meristemos se clasifican en determinadas e indeterminadas. Las **estructuras determinadas** se caracterizan por presentar un crecimiento limitado, es decir, crecen hasta alcanzar un cierto tamaño y, después de un período variable, envejecen y mueren. Las hojas, las flores y los frutos son ejemplos típicos de **estructuras determinadas**. Por el contrario, el tallo y la raíz son estructuras indeterminadas, capaces de crecer indefinidamente gracias a la actividad de sus meristemos vegetativos. Este hábito de crecimiento indeterminado de los meristemos vegetativos es consecuencia de la adaptación de las plantas al medio terrestre y posibilita que estos organismos, carentes de capacidad locomotora, puedan responder a los cambios ambientales activando nuevos programas de desarrollo. Potencialmente, los meristemos apicales del tallo y la raíz pueden considerarse, por tanto, inmortales. No obstante, cuando un meristemo vegetativo se transforma en reproductor (yema floral), la estructura que origina (flor) es determinada.

En sentido amplio, la planta completa también puede seguir una pauta de desarrollo que guarda grandes similitudes con el crecimiento determinado o indeterminado. Así, las denominadas especies **monocárpicas** sólo florecen una vez

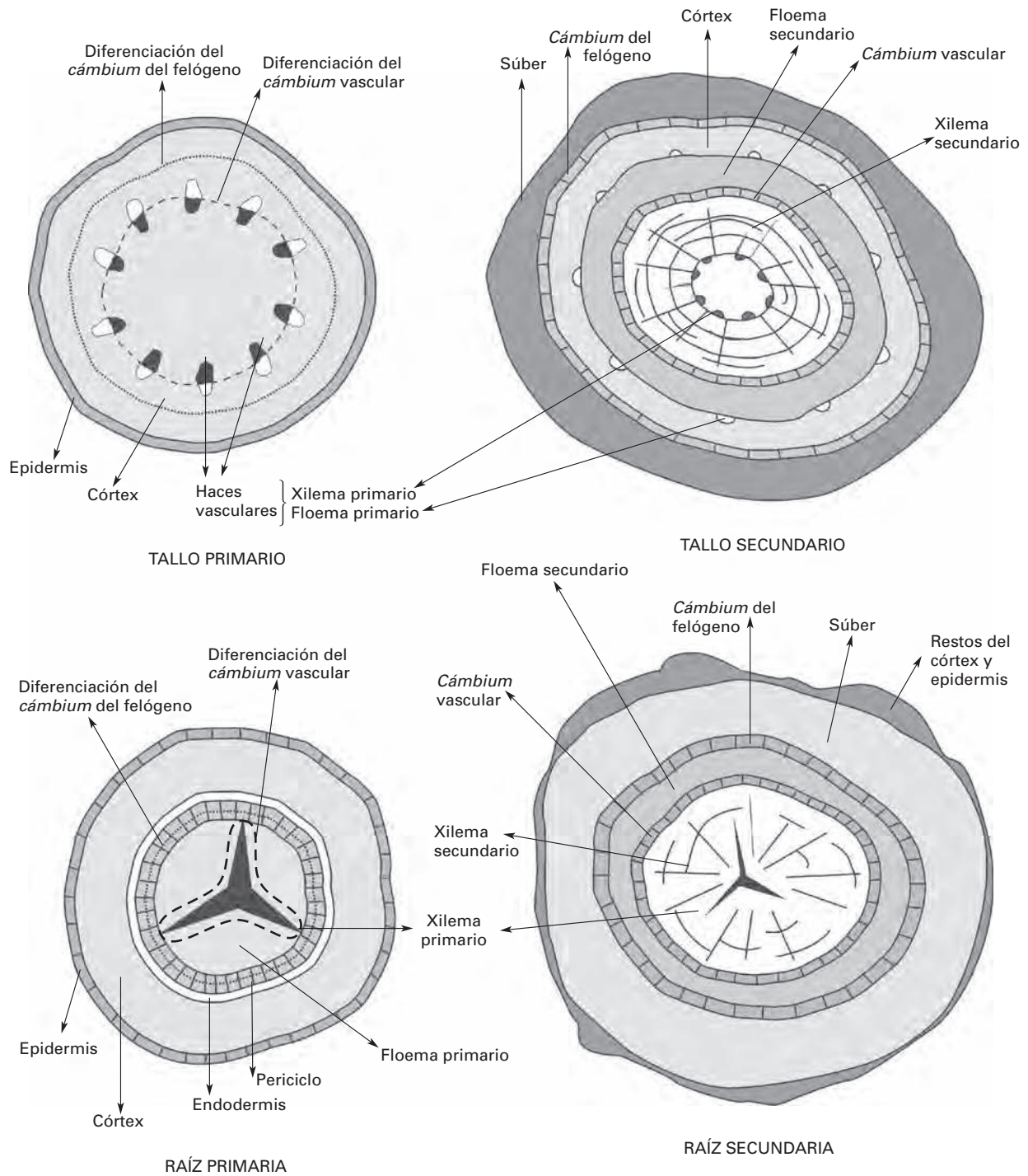


Figura 18-7. Representación esquemática del crecimiento en grosor del tallo (parte superior) y de la raíz (parte inferior) de una dicotiledónea. Los puntos y las líneas discontinuas representan las zonas en las que se inicia la formación de los meristemos laterales (cámbium del felógeno y cámbium vascular, respectivamente).

y mueren, mientras que las **policárpicas** florecen durante varias estaciones antes de morir.

4. ORGANIZACIÓN ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL DE LOS MERISTEMOS APICALES

Los meristemos primarios (meristemos apicales del tallo y la raíz) se forman durante la embriogénesis (Fig. 18-3), pero estrictamente no participan en el desarrollo del embrión, sino que se activan durante la germinación. Por consiguiente, el desarrollo postembriogénico de la planta depende del mantenimiento de estos meristemos.

Los meristemos realizan **dos funciones básicas: automantenimiento como región formadora, e iniciación de tejidos y órganos**. Esta doble función la realizan las denominadas células iniciales o troncales, localizadas en microambientes especializados de los meristemos conocidos genéricamente como **nichos de células troncales**. Las células troncales se dividen lentamente y producen células hijas que pueden seguir dos destinos: unas se quedan en el nicho y continúan como troncales, mientras que otras son desplazadas fuera del nicho. Estas segundas células, genéricamente conocidas como **derivadas**, son las que dan origen, tras nuevas divisiones y diferenciación, a todos los tejidos y órganos de la planta. El número de células troncales permanece constante, a pesar de la salida continua de sus células hijas, lo que indica que el «reclutamiento» de células por parte de los órganos se compensa, de forma estricta, con la formación de nuevas células derivadas.

La comprensión del concepto de célula troncal exige una definición precisa de los términos *región meristemática* y *meristemo apical*. Las regiones meristemáticas son zonas de división y expansión celulares, difíciles de delimitar de forma exacta, que contienen un meristemo apical. **Estrictamente, los meristemos apicales están constituidos por un nicho de células troncales delimitado por sus derivadas más inmediatas**, que actuarán como progenitoras de los tejidos y órganos que conforman el cuerpo de la planta.

4.1. Meristemo apical del tallo

El meristemo apical del tallo es la porción más distal de la región meristemática, denominada ápice caulinar o yema apical. El ápice caulinar comprende varios tipos de células y tejidos: el propio meristemo, una región muy próxima al meristemo que origina los primordios de los órganos laterales, una región subapical en la que el tallo se ensancha y los primordios se elongan, y la región de maduración, en la que la diferenciación se hace aparente (Fig. 18-8 A).

En general, el meristemo apical es una estructura de aproximadamente 100 μm de diámetro, en forma de domo, que agrupa entre 800 y 1200 células pequeñas, con paredes delgadas y citoplasma normalmente denso. No obstante, tanto el tamaño como la forma de los meristemos varían ampliamente en el transcurso del desarrollo y entre especies.

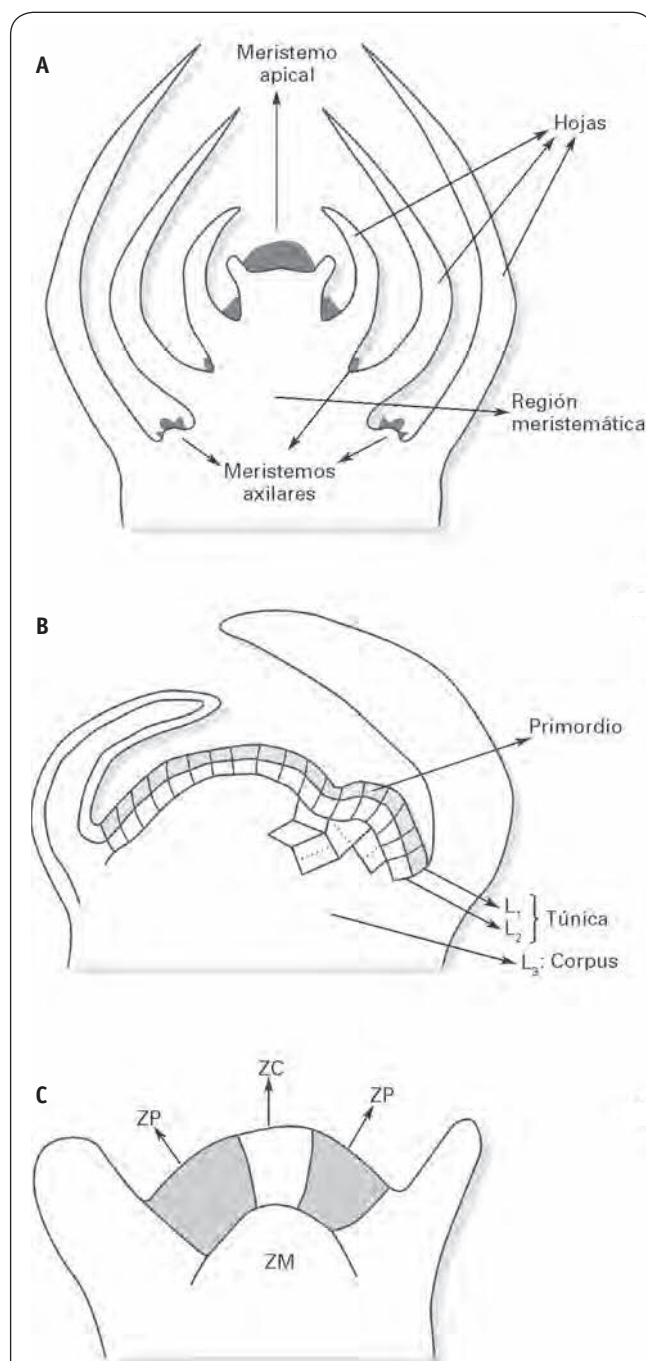


Figura 18-8. Estructura del meristemo apical del tallo. **A.** Comparación de la región meristemática (ápice caulinar) y del meristemo apical del tallo. **B.** Organización en capas celulares del meristemo apical del tallo. (Adaptado de Laufs et al.: *Plant Physiol Biochem*, 36: 33-45, 1998.) **C.** División del meristemo apical en tres zonas concéntricas denominadas central (ZC), periférica (ZP) y medular (ZM). (Adaptado de Clark, S. E. *Plant Cell*, 9:1067-1976, 1997.)

4.1.1. El meristemo apical presenta una apariencia estratificada

El meristemo apical de la mayoría de las angiospermas está compuesto por **tres capas** celulares, que le confieren una apariencia estratificada, distinguibles por los planos de división de las células que las integran (Fig. 18-8 B). La capa más externa, de una célula de grosor, se denomina **L1**. Las células de esta capa se dividen exclusivamente en el plano anticlinal (perpendicular a la superficie). La segunda capa, o **L2**, está formada por células que se dividen mayoritariamente en el plano anticlinal, excepto en las zonas en las que se originan los órganos, donde lo hacen en el plano periclinal (paralelo a la superficie). Las células de la capa más interna, o **L3**, muestran planos de división al azar. El grosor de las capas L2 y L3 difiere entre especies y puede variar durante el desarrollo. En *Arabidopsis thaliana*, por ejemplo, el grosor de estas capas es de 1 (L2) ó 2-3 células (L3). Las dos capas más externas (L1 y L2) forman la denominada **túnica**, mientras que las células de la capa más interna (L3) constituyen el **corpus** del meristemo.

Las restricciones en los planos de división y la incapacidad migratoria de las células vegetales hacen que la progenie de las células meristemáticas quede confinada en sus respectivas capas. De hecho, estudios con meristemas quiméricos (formados por capas o sectores de células con características genéticas distintas, lo que facilita la identificación de estas células y sus derivadas) demuestran que la organización celular en capas tiende a mantenerse en el tallo y los órganos laterales de éste. En general, la capa L1 origina la epidermis, mientras que las más internas (L2 y L3) contribuyen a la formación de los tejidos centrales del tallo y las hojas. Sin embargo, a veces se producen alteraciones en los planos de división y las células hijas son forzadas a entrar en otras capas. Si ello sucede, estas células adoptan otra identidad, lo que indica que el destino celular no está estrictamente determinado por el linaje, sino por la posición que ocupan en el meristemo (véase el apartado 1.5).

4.1.2. La división en zonas del meristemo apical ayuda a comprender sus funciones

La organización del meristemo apical en las capas L1, L2 y L3 ha sido confirmada mediante el aislamiento de genes que se expresan específicamente en cada capa. Sin embargo, este modelo no tiene en cuenta otros hechos estructurales del meristemo, especialmente la **existencia de zonas** que se distinguen entre sí no sólo atendiendo a los planos de división, sino también al tamaño, las características estructurales y la frecuencia mitótica de sus células. Según el concepto de zonas, el meristemo apical puede ser dividido en tres regiones (Fig. 18-8 C): la **zona central (ZC)**, situada en el extremo distal; la **zona periférica (ZP)**, que flanquea la ZC, y la **zona medular (ZM)**, situada en la base del meristemo.

Las células de la ZC, además de ser más grandes que las de las otras dos zonas, poseen núcleos muy prominentes,

están muy vacuoladas, y se dividen menos frecuentemente que el resto. **La ZC es el nicho de células troncales del meristemo** y actúa como «factoría» de células para la ZP y la ZM. Las células de la ZP y la ZM presentan índices más elevados de división. Las innovaciones en la microscopía confocal han permitido la visualización *in vivo* del meristemo apical de *Arabidopsis*. Estos estudios confirman que las tasas de división de las células de la ZC son menores y más heterogéneas que las de las células de las zonas periférica y medular (Reddy y cols., *Development* 131:4225-4237, 2004). La función principal de la ZP es la formación de órganos laterales, especialmente de primordios foliares. La ZM, también denominada meristemo medular o *rib meristem*, en la terminología anglosajona, origina las células de la parte central del tallo y los tejidos vasculares.

El meristemo apical es una estructura muy dinámica en la que constantemente se está produciendo crecimiento y la formación de órganos. Durante el desarrollo vegetativo la organización del meristemo se mantiene, pero la posición y el destino de las células derivadas de éste cambian con el tiempo. En la Figura 18-9 se muestra la dinámica del desarrollo del meristemo apical del tallo. En la ZC, el nicho de células troncales es mantenido por señales específicas que emanan de un pequeño grupo de células, situado en la base de la ZC, genéricamente conocido como **centro organizador**; por ello, la salida del nicho es un prerequisite para que se inicien los programas de diferenciación. A medida que el meristemo se autopropaga, las células derivadas de las células troncales son desplazadas hacia la ZP y la ZM. Cuando estas células se integran en dichas zonas, realizan la transición hacia un estado más diferenciado y se incorporan a un órgano (p. ej.,

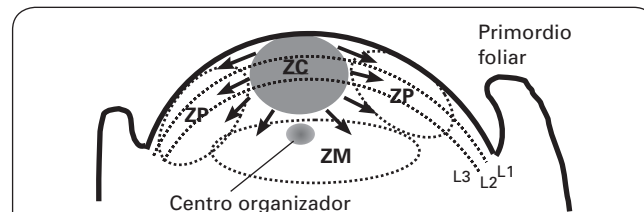


Figura 18-9. Dinámica del desarrollo del meristemo apical del tallo que muestra el destino de la progenie de las células troncales de la zona central (ZC). Esta zona ocupa la parte más apical del meristemo, abarcando las capas L1, L2 y L3. Además de autopropetuar, las células troncales aportan las células precursoras para formar los distintos tejidos y órganos de la planta. El flujo de células hacia las zonas periférica (ZP) y medular (ZM) se indica con flechas. La función principal de la ZP es donar células para la formación de órganos laterales (primordios foliares, yemas axilares y, llegado el momento, yemas florales), mientras que la ZM origina las células de la parte central del tallo y los tejidos vasculares. Las células troncales de la ZC se mantienen como tales gracias a señales procedentes de un pequeño grupo de células situadas inmediatamente debajo de la ZC, denominado «centro organizador». Cuando una célula descendiente de las troncales abandona la ZC, deja de recibir señales del centro organizador, pero recibe otras señales que la «determinan» para seguir una ruta específica de diferenciación.

primordio foliar). El factor determinante de la activación de esta transición es la información de posición. Además, el lugar en el que se inicia un nuevo órgano está regulado por informaciones de posición procedentes de los órganos que se formaron previamente, lo que determina que las células puedan seguir rutas específicas de diferenciación.

4.1.3. El aislamiento de plantas mutantes con defectos específicos en el desarrollo de los meristemos apicales del tallo permite comprender la base molecular de la función de los meristemos

Estudios de microcirugía, en los que se eliminan selectivamente regiones del meristemo apical del tallo, demuestran que la división en zonas es la base estructural y funcional de los meristemos. No obstante, las pruebas más importantes en este campo se han conseguido gracias al análisis de mutaciones que afectan a las funciones fundamentales de los meristemos: automantenimiento como región formadora e iniciación de tejidos y órganos. En *Arabidopsis thaliana*, por ejemplo, estas funciones están reguladas por los genes *WUS* (*WUSCHEL*), *CLV1-3* (*CLAVATA1-3*) y *STM* (*SHOOTMERISTEMLESS*).

El gen *WUS* codifica un factor de transcripción homeodominio de la familia *WOX* y se expresa en el centro organizador del meristemo apical del tallo; **los mutantes *wus* no tienen ZC**, por lo que carecen de células troncales, sus meristemos vegetativos son planos y sólo originan unos pocos primordios foliares que no se desarrollan hasta hojas maduras. Los mutantes llegan a formar tallos de inflorescencias que emergen de los flancos del meristemo malformado y de las axilas de las hojas, lo que les confiere una apariencia «despeinada» (*wuschel* = *tousled*). El gen *WUS*, por tanto, especifica la identidad de las células troncales; de hecho, su expresión ectópica en las raíces es suficiente para especificar células troncales del tallo en la raíz. El gen *CLV1* codifica un receptor proteína quinasa (véase el apartado 5.4.2), y *CLV2*, una proteína necesaria para la estabilización del receptor *CLV1*; el gen *CLV3* codifica una proteína precursora del ligando del receptor *CLV1*, un oligopéptido con carácter hormonal (*CLV3*). La expresión del gen *CLV3* tiene lugar en la parte apical de la ZC, mientras que la de los genes *CLV1/CLV2* coincide con la de *WUS* (en el centro organizador). Los tres **mutantes *clv* tienen el mismo fenotipo: forman meristemos muy voluminosos debido al incremento de células troncales en la ZC**, lo que conduce a una producción mayor de flores y órganos florales.

Los mutantes *clv* y *wus* producen, pues, fenotipos opuestos, por lo que **los genes *CLV* y *WUS* reprimen o promueven, respectivamente, las células troncales de la ZC**. La regulación del meristemo apical del tallo implica básicamente a estos genes a través de **un bucle de retroalimentación negativo** (Fig. 18-10) que opera como sigue: la señal procedente del gen *WUS* especifica las células troncales de la ZC y activa en ellas la expresión del gen *CLV3*; el producto de este gen, el oligopéptido *CLV3*, reprime la expresión del gen *WUS* a

través de una cascada de proteínas quinasas que se inicia con la unión de *CLV3* al receptor *CLV1/CLV2*.

El bucle *CLV/WUS* corrige las posibles alteraciones transitorias que se producen en el número de células troncales. Así, un exceso de células troncales lleva a un exceso en *CLV3*, lo que causa una reducción en la expresión de *WUS* y, en consecuencia, una reducción en la señal que activa la proliferación de células troncales. Si, por el contrario, hay pocas células troncales, el déficit en *CLV3* conduce a un incremento en *WUS*, lo que lleva a un incremento en el número de células troncales. **En resumen, el bucle *CLV/WUS* permite al meristemo apical mantener el equilibrio entre la proliferación de células troncales y la pérdida de células debida a la diferenciación en la ZP y la ZM**. Aunque el bucle de retroalimentación *CLV/WUS* fue propuesto inicialmente para *Arabidopsis*, investigaciones actuales sugieren que el modelo es aplicable a todas las plantas.

Los mutantes *stm* carecen de meristemo funcional. La gravedad de este fenotipo sugiere que el gen *STM* es también un regulador clave del meristemo apical del tallo. El gen *STM* pertenece a la familia de los denominados **genes *KNOX***, emparentados con los genes reguladores del complejo *HOX* (genes homeobox u homeodominio) de los animales, implicados en la especificación del patrón estructural del eje anteroposterior del embrión. Los genes *KNOX* deben su nombre al primero descubierto en las plantas: el gen *KNOTTED1* (*KN1*) del maíz, cuya mutación dominante induce la formación de protuberancias (*knots*) de crecimiento indeterminado en las hojas. El gen *STM*, como los restantes miembros de la familia *KNOX*, codifica un factor de transcripción homeodominio y se expresa en todo el meristemo apical, excepción hecha de las zonas en las que se inicia la diferenciación de los primordios. La sobreexpresión de *STM* inhibe la expansión foliar y la diferenciación, pero no la iniciación de los primordios. Por consiguiente, su función básica parece ser la de mantener el estado indiferenciado de las células del meristemo. Por ello, la pérdida gradual de *STM* conduce a fallos en el mantenimiento del meristemo y a una pérdida en la expresión de *WUS*.

Los factores de transcripción que participan en la regulación de la función del meristemo apical interactúan con varias hormonas, lo cual demuestra la implicación de estas señales en la modulación del cuerpo de la planta. Así, la proteína *STM* suprime la biosíntesis de giberelinas y promueve la de citoquininas; a su vez, las citoquininas son reguladores positivos de la expresión del gen *STM*. Por otra parte, *STM* probablemente es reprimido por las auxinas, lo que facilitaría la iniciación de los primordios foliares en la ZP del meristemo. La lógica de estas interacciones es obvia: las citoquininas son necesarias para la división celular, mientras que la disminución de los niveles de giberelinas limita la expansión longitudinal de las células, proporcionando mayor flexibilidad en las orientaciones de los planos de división celular, una propiedad importante de las células indiferenciadas.

Como resumen de lo tratado en este apartado, podemos concluir que las dos funciones básicas del meristemo apical del tallo (autoperpetuación y formación de órganos) están

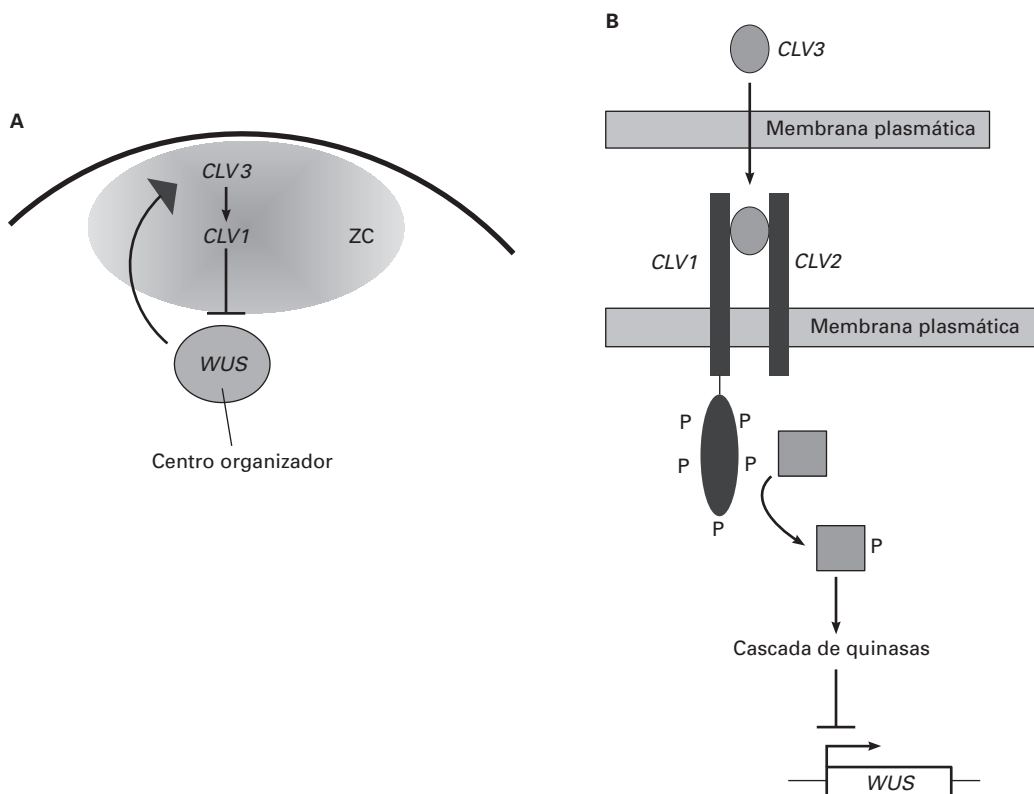


Figura 18-10. Los productos de los genes *WUSCHEL* (*WUS*) y *CLAVATA* (*CLV*) son responsables del mantenimiento del nicho de células troncales del meristemo apical del tallo y definen el tamaño de su población. **A.** Regulación de las células troncales de la zona central (ZC) mediante el bucle de retroalimentación *CLV-WUS*. El producto del gen *WUS*, sintetizado por las células del centro organizador, especifica la identidad de las células troncales de la ZC y promueve la expresión del gen *CLV3*; la proteína *CLV3*, vía *CLV1*, reprime a *WUS*. **B.** Represión de *WUS* por los genes *CLV*: *CLV3* (un oligopéptido) se une al receptor proteína quinasa *CLV1/CLV2*, causando su autofosforilación. La señal reprime la transcripción de *WUS* a través de una cascada de proteínas quinasas. (Adaptado de Carles, C.C. y Fletcher, J.C. *Trends Plant Sci.*, 8: 394-401, 2003.)

espacialmente separadas. En la zona central se localizan las células troncales, mientras que sus derivadas más inmediatas, localizadas en la periferia, son las encargadas de especificar los nuevos órganos. **Si se mantiene un equilibrio estricto entre el número de células troncales y la diferenciación programada de su progenie, los meristemos pueden permanecer activos durante muchos años.** Este crecimiento indeterminado de los meristemos vegetativos explica la existencia de árboles milenarios, como *Pinus longaeva*, autóctono de Sierra Nevada (California), con ejemplares que exceden los **4500 años de edad**.

4.1.4. Las auxinas regulan la iniciación de los primordios foliares, siguiendo un patrón definido, en la zona periférica del meristemo apical del tallo

Además de autoperpetuarse, los meristemos apicales del tallo forman órganos laterales (primordios foliares y, cuando

procede, yemas florales), que se originan en la ZP (véase el apartado 4.1.2). Investigaciones recientes demuestran que **las auxinas ejercen un papel fundamental tanto en la iniciación de estos primordios como en la determinación de la posición a la que emergen de la ZP** (proceso conocido como filotaxia; véase el apartado 3.2.1).

La **iniciación de un nuevo primordio** viene siempre precedida **por la acumulación localizada de concentraciones relativamente elevadas de auxina en la ZP** del meristemo. El transporte de la hormona hacia esos puntos es mediado por los transportadores PIN. Los primordios existentes actúan como potentes sumideros que «roban» la auxina a las células vecinas, provocando una distribución heterogénea de la hormona en la ZP del meristemo. Por ello, los nuevos primordios sólo pueden iniciarse a una cierta distancia mínima de los preexistentes, en puntos donde se produzca suficiente acumulación de auxina. Este modelo (véase la Fig. 18.11) aclara décadas de experimentos de microcirugía en los que se constató que un primordio impedía la emergencia de otro nuevo en su vecindad. Las pruebas a favor del modelo son concluyentes. Por ejemplo, tanto la aplicación de auxinas

sintéticas como la de inhibidores del transporte polar de auxinas afectan al patrón filotáctico. Además, la aplicación localizada de auxina a meristemas en los que la iniciación de órganos se anuló por mutación, restaura la iniciación de los primordios en el lugar de aplicación de la auxina (Reinhardt y cols., *Nature* 426:255-260, 2003).

El modelo ha sido propuesto para explicar la generación del patrón filotáctico en *Arabidopsis*, pero probablemente es aplicable a otras plantas, incluidas las monocotiledóneas. En *Arabidopsis*, las hojas se establecen en una disposición espiralada, alternándose a lo largo de una espiral que rodea al tallo, donde tienden a estar separadas por un ángulo de 137.5°. Este patrón, como el de la disposición de las semillas del girasol o de las hojas de varias plantas suculentas, cumple las propiedades matemáticas de las **series de Fibonacci** (series de números cuyos miembros son la suma de los dos que le preceden: 1, 1, 2, 3, 5, 8, 13, 21, 34, 55,...). Estas series pueden ser explicadas asumiendo el modelo de generación de patrones filotácticos resumido en la Figura 18.11 (Surridge, *Nature*, 426:237, 2003).

En la zona donde se acumula auxina, que marca la iniciación del nuevo primordio, se produce la inactivación de los genes *KNOX*, como *STM* (recuérdese que estos genes mantienen el meristemo en estado indeterminado) y la activación secuencial de los genes que dirigen el desarrollo del nuevo

órgano. Por el momento no hay pruebas de una conexión directa entre la acumulación de auxina y la pérdida de expresión de estos genes. En la represión de los genes *KNOX* participan una serie de factores de transcripción de tipo MYB, como *PHANTASTICA* en *Antirrhinum*, *ROUGH SHEATH* en el maíz y *ASYMETRIC LEAVES1* en *Arabidopsis*. La frontera que separa el primordio emergente de los tejidos vecinos se establece al inicio del proceso y viene marcada por la expresión de una serie de factores de transcripción codificados por genes como *CUP-SHAPED COTYLEDON* de *Arabidopsis*. Las mutaciones en estos genes provocan malformaciones en los órganos formados (p. ej., cotiledones fusionados en el caso del gen de *Arabidopsis*). **El nuevo primordio surge, inicialmente, como un domo con simetría radial, que rápidamente deriva hacia la simetría dorsiventral típica de las hojas:** a medida que el primordio foliar se desarrolla, las células más próximas al meristemo adquieren características adaxiales, mientras que las más alejadas las adquieren abaxiales. Esta simetría es controlada por dos grupos antagónicos de factores de transcripción que determinan, respectivamente, las superficies adaxial y abaxial de la futura hoja. Por ejemplo, en *Arabidopsis*, la identidad adaxial es conferida por los genes *PHABULOSA (PHB)*, *PHAVOLUTA (PHV)* y *REVOLUTA (REV)*, mientras que la abaxial lo es por los genes *KANADI (KAN)* y *YABB*, así como por microRNA (miRNA), que participan en la degradación de los mRNA de los genes *PHB*, *PHV* y *REV*. Una serie de datos experimentales demuestran que la distribución asimétrica de auxina también desempeña un papel fundamental en la especificación de la dorsiventralidad de las hojas.

El rebrote de las yemas axilares determina, en última instancia, la forma y la altura de las plantas (véase el apartado 3.2.1). **Las yemas axilares se originan de nichos de células troncales que se activan en la superficie adaxial de las axilas de los primordios foliares emergentes.** Durante cierto tiempo se discutió si estas células troncales se desgajan del meristemo apical o son especificadas *de novo*. En la actualidad se considera que esta discusión carece de sentido, ya que se fundamenta, exclusivamente, en criterios morfológicos y no tiene en cuenta las funciones génicas necesarias para el establecimiento y el mantenimiento del meristemo. Actualmente se han identificado varios *loci* que parecen controlar la formación de los meristemas axilares en algunas especies modelo. Por ejemplo, el gen *Lateral supresor (Ls)* en el tomate, y sus homólogos en *Arabidopsis (LAS)* y en el arroz (*MONOCULM1*), son necesarios para la formación de meristemas axilares, ya que sus mutantes carecen de ellos. Estos genes codifican factores de transcripción de la familia GRAS y se expresan muy pronto en la zona que separa el meristemo apical del primordio foliar emergente. Dado que su zona de expresión coincide con la del gen *STM*, su función puede ser la de retener la capacidad meristemática de las células que originarán el nicho de células troncales de los meristemas axilares. Al menos en el tomate y en *Arabidopsis*, la especificación de la posición del nicho de células troncales también requiere la participación de otros dos genes: *Blind (Bl)* en el tomate y *REGULATOR OF AXILLARY MERISTEMS1 (RAX1)* en

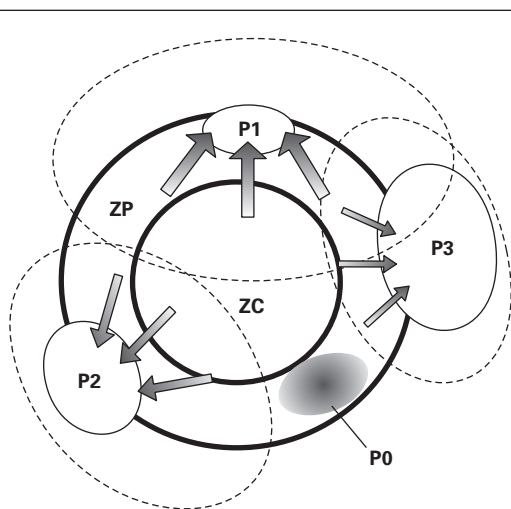


Figura 18-11. Las auxinas controlan la formación de primordios foliares y filotaxia en el meristemo apical del tallo (MAT). La figura es una visión frontal del MAT, y muestra las zonas centrales (ZC) y periférica (ZP). Un nuevo primordio (P0) se formará donde se acumule auxina (área gris). El transporte de auxina (flechas) hacia los primordios existentes (P1 a P3) elimina la auxina de las células que lo rodean e inhibe la emergencia de nuevos primordios vecinos. Las flechas son mayores cerca de P1 para indicar que el efecto inhibitorio es más fuerte en los primordios recién emergidos y decrece con la edad. La influencia inhibitoria se representa mediante elipses de líneas discontinuas alrededor de cada primordio. (Adaptado de Castellano, M.M. y Sablowski, R. *Curr. Opin. Plant. Biol.*, 8:1-6, 2005.)

Arabidopsis, que codifican un factor de transcripción de tipo MYB (Keller, *The Plant Cell* 18:598-611, 2006).

El papel de las hormonas en el proceso de iniciación de los meristemas axilares es poco conocido. Las auxinas reprimen el rebrote de las yemas (véase el Capítulo 21, apartado 8.3) y, posiblemente, también la formación del meristemo axilar. Las citoquininas podrían ser reguladores positivos de la formación de meristemas axilares, ya que el mutante *sps* (del inglés *supershoot*) de *Arabidopsis*, con niveles muy elevados de citoquininas, produce muchos tallos axilares; sin embargo, el fenotipo de este mutante es muy pleiotrópico, por lo que es difícil asignar un papel específico a estas hormonas.

4.2. Meristemo apical de la raíz

Pese a su nombre, **el meristemo apical de la raíz no ocupa una posición terminal, ya que está cubierto por la caliptra**, estructura multicelular que lo protege de posibles daños mecánicos durante el crecimiento radicular. La extensión exacta del meristemo es difícil de precisar. No obstante, en

las raíces de las angiospermas siempre aparecen entre una y cuatro capas de células troncales, que actúan como «factoría celular» para la formación del cuerpo de la raíz primaria (epidermis, córtex y cilindro central; véanse el apartado 3.2 y la Fig. 18-5) y la caliptra.

El meristemo apical de la raíz se estructura alrededor de un grupo pequeño de células con una frecuencia de división muy baja, denominado **centro quiescente (CQ)**, que se sitúa en el centro del ápice radicular (Fig. 18-12 A). El **nicho de células troncales** (o iniciales) rodea al CQ y produce filas longitudinales de células hijas. Las células hijas producidas en la dirección del ápice radicular originan la caliptra, mientras que las situadas por encima del CQ dan lugar a los cilindros concéntricos de células que constituyen la estructura típica de una raíz primaria (Figs. 18-5 y 18-12 A). Si el CQ es eliminado, mediante ablación por láser o mutaciones, las células troncales se diferencian rápidamente y el meristemo se colapsa. Estos experimentos demuestran que el **CQ genera señales**, por el momento desconocidas, **represoras de la diferenciación**, que mantienen el nicho de células troncales de la raíz. Las células del CQ son, de hecho, funcionalmente similares a las células que expresan el gen *WUS* en el centro

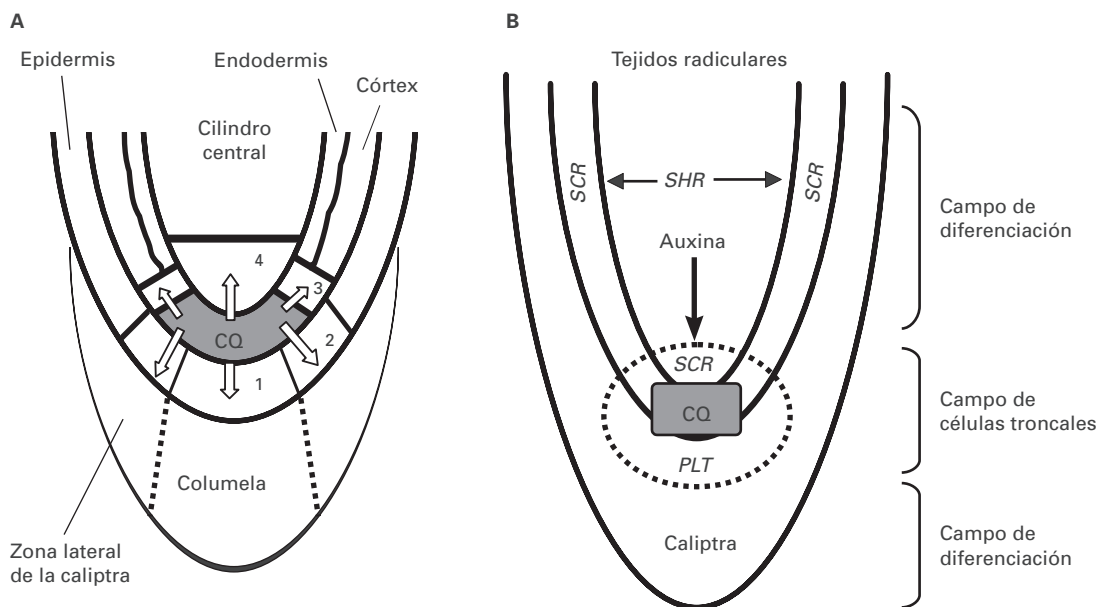


Figura 18-12. Especificación del centro quiescente (CQ) y de las células troncales de la raíz. **A.** Sección longitudinal simplificada del ápice radicular. Las células troncales o iniciales (1 a 4) de la raíz rodean el CQ; sus células generan señales (flechas blancas) que inhiben la diferenciación de las células troncales. Las progenies de las células troncales forman hacia arriba el cuerpo primario de la raíz y hacia abajo la caliptra. **B.** Modelo para la especificación de las células troncales y regulación del potencial de diferenciación de sus progenies. La proteína SHR, sintetizada en el cilindro central, se mueve hacia las células vecinas (endodermis), donde activa el gen SCR. El CQ es especificado en la zona de solapamiento de los dominios de expresión de los genes SCR y PLT (elipse de líneas discontinuas). La auxina, canalizada hacia el CQ por los transportadores PIN, es esencial para la especificación del CQ, ya que controla la expresión de los genes PLT. Los patrones de expresión de SHR, SCR y PLT definen tres campos de competencia. En presencia de los genes PLT, los genes SHR y SCR están implicados en la especificación de las células troncales (campo de células troncales). En ausencia de PLT, SHR regula la diferenciación de la progenie de células troncales (campo de diferenciación). Los números en (A) indican las células iniciales de la columela o parte central de la caliptra (1), de la zona lateral de la caliptra y epidermis (2), del córtex y de la endodermis (3) y la del cilindro central (4). (Adaptado de Vernoux, T. y Benfey, P.N., 2005.)

organizador del meristemo apical del tallo (véanse las Figs. 18-10 A y 18-12 A). Hay que señalar que, estrictamente hablando, el CQ es, en última instancia, la fuente de todas las células radicales; no obstante, en la mayor parte de las plantas exhibe una mínima actividad mitótica. Por ello, resulta útil considerar como troncales las células adyacentes al CQ, que muestran índices mitóticos semejantes a los de las células troncales de la ZC del meristemo apical del tallo; de ese modo, se refuerza la similitud funcional entre los dos meristemas.

4.2.1. La auxina participa en el establecimiento y mantenimiento del nicho de células troncales del meristemo apical de la raíz

La información de posición necesaria para la especificación del CQ viene dada por la acción combinada de dos rutas: a) la de los genes *SHORTROOT/SCARECROW (SHR/SCR)*, que codifican factores de transcripción de la familia GRAS, y b) la **acumulación de auxina**, mediatizada por los transportadores PIN, en el CQ y en el nicho de células troncales. En esta zona, la auxina activa la expresión de los genes *PLETHORA (PLT1/PLT2)*, que codifican factores de transcripción de la clase AP2. **El solapamiento de los dominios de expresión de los genes *PLT* y *SCR* conduce a la especificación del CQ y, en consecuencia, al mantenimiento de las células troncales** (Fig. 18-12 B). Confirmando el modelo, las mutaciones en los genes *SHR* o *SCR* causan la desorganización del CQ y la pérdida progresiva de células troncales; por otra parte, la sobreexpresión de los genes *PLT* induce la formación ectópica de nichos de células troncales de raíz en los tejidos embrionarios del tallo (Aida y cols., *Cell* 119: 109-120, 2004; Blilou y cols., *Nature* 433:39-44, 2005). Recientemente se ha demostrado que las células del CQ de la raíz de *Arabidopsis* expresan el gen homeodominio *WOX5 (WUSCHEL-RELATED HOMEBOX5)*, homólogo del gen *WUS*, que mantiene las células troncales del meristemo apical del tallo; el gen *WOX5* parece tener una función directa en la señalización de las células troncales de la raíz más que en la especificación de la identidad del CQ (Sarkar y cols., *Nature* 446:811-814, 2007).

Es importante señalar que los genes *SHR* y *SCR* también participan en el control de la organización radial del cuerpo de la raíz. Los mutantes *shr* carecen de endodermis, mientras que los *scr* poseen una capa de células con atributos de endodermis y parénquima cortical. Estos fenotipos sugieren que ambos genes están implicados en la diferenciación del córtex y la endodermis. Básicamente, el modelo de actuación de estos genes es como sigue: **la proteína *SHR* es sintetizada por las células del cilindro central, desde las que pasa, vía plasmodesmos, a la célula inicial de endodermis y córtex. En dicha célula activa la transcripción de *SCR*, cuyo producto génico controla la división asimétrica que da origen a endodermis y córtex.**

4.2.2. El meristemo apical de la raíz no forma órganos laterales

Como en la iniciación de los primordios foliares, **la formación de raíces laterales también es precedida por una acumulación de auxina** mediatizada por los transportadores PIN. Sin embargo, y al contrario de lo que ocurre en el **meristemo apical del tallo, el meristemo apical de la raíz no produce órganos laterales**. Las raíces laterales se diferencian en el **periciclo**. Este tejido forma la capa más externa de células del cilindro central (Fig.18-5) y retiene su capacidad organogénica, especialmente en las zonas opuestas a los polos del xilema. En estas zonas, las denominadas «células fundadoras» de la raíz lateral sufren inicialmente divisiones anticlinales asimétricas, a las que sigue un patrón preciso de divisiones celulares que lleva a la formación de los primordios de raíces laterales. Estos primordios tienen la misma organización estructural que el meristemo apical de la raíz.

Trabajos recientes sugieren que las células fundadoras de las raíces laterales son especificadas, antes de que se produzca la primera división asimétrica, en zonas aún no diferenciadas de la raíz principal. Además, el número y la localización de los primordios de raíces laterales pueden estar controlados por el propio meristemo apical de la raíz (o al menos por un factor derivado de él), ya que la eliminación del ápice radicular de varias especies estimula la formación de raíces laterales.

Las auxinas tienen un papel fundamental en la formación de las raíces laterales y adventicias (véase el Capítulo 19), y son necesarias específicamente para las divisiones asimétricas iniciales que dan origen al primordio de raíz lateral. El efecto de esta hormona es mediatizado, en parte, por un factor de transcripción denominado *NAC1*, que se expresa tanto en el meristemo apical de la raíz como en los primordios de raíces laterales. La auxina induce la expresión del gen *NAC1*, cuyo promotor tiene los elementos de respuesta a la auxina, por lo que puede ser un gen de respuesta primaria a esta hormona. La implicación de *NAC1* como regulador positivo del desarrollo de raíces laterales viene avalada por los fenotipos de plantas transgénicas con niveles elevados o bajos de transcritos del gen *NAC1* (muchas y pocas raíces laterales, respectivamente). Uno de los aspectos más interesantes de la implicación de *NAC1* en el desarrollo de las raíces laterales es que la auxina también regula el nivel de esta proteína promoviendo su degradación en el proteosoma o induciendo miRNA que dirigen la ruptura de los transcritos del gen *NAC1* (Gou y cols., *The Plant Cell* 17:1376-1386, 2005).

5. INTRODUCCIÓN A LAS HORMONAS VEGETALES

5.1. Las hormonas vegetales coordinan las actividades de células, tejidos y órganos de las plantas

El funcionamiento normal de los organismos pluricelulares exige mecanismos precisos de regulación que permitan una

perfecta coordinación de las actividades de sus células, tejidos y órganos. Además, el organismo debe ser capaz de percibir y responder a las fluctuaciones de su ambiente. Entre los posibles mecanismos de regulación, el más conocido es el sistema de mensajeros químicos (señales químicas), que permite la comunicación entre las células y coordina sus actividades. En las plantas, la comunicación química se establece fundamentalmente a través de **hormonas (o fitohormonas)**, aunque no se excluye la existencia de otros posibles mediadores químicos cuya naturaleza, por el momento, se desconoce (véase el apartado 1.5).

5.2. Las hormonas vegetales no se ajustan estrictamente al concepto clásico de hormona animal

El **concepto clásico de hormona**, tal como se define en fisiología animal, reúne tres premisas básicas: 1) **sitio localizado de biosíntesis**; 2) **transporte** hasta células diana separadas espacialmente del lugar de la biosíntesis, y 3) **control** de la respuesta fisiológica a través de **cambios en los niveles endógenos** de la hormona.

Las hormonas vegetales conocidas no cumplen, de modo estricto, las tres premisas básicas que configuran el concepto clásico de hormona animal. Esta constatación ha dado lugar a un intenso debate científico, cuyos puntos principales se resumen a continuación.

5.2.1. *Cualquier órgano de la planta tiene capacidad para sintetizar hormonas*

Las hormonas vegetales no se sintetizan en estructuras especializadas comparables a las glándulas endocrinas de los animales. De hecho, pueden formarse en muy diversas células y tejidos. Sin embargo, las pruebas experimentales disponibles muestran que no todas las células y tejidos tienen la misma capacidad para sintetizar hormonas. En general, los lugares principales de biosíntesis son los ápices meristemáticos de tallos y raíces, primordios de órganos vegetativos, o reproductores y semillas en desarrollo. La expresión de programas específicos de desarrollo (p. ej., senescencia) o la acción de diversos tipos de estrés también pueden desencadenar la biosíntesis de algunas hormonas en órganos maduros.

5.2.2. *El transporte no es un componente esencial para la acción de las hormonas*

El análisis de los fluidos de xilema y floema permite detectar la presencia de hormonas, lo que demuestra que estas sustancias están distribuidas por toda la planta. Sin embargo, la mera presencia de las hormonas en los sistemas conductores no implica una relación directa con una determinada acción fisiológica. De hecho, todas las hormonas vegetales pueden ejercer efectos en el lugar en el que fueron sintetizadas, por

lo que el transporte no es un componente esencial para el concepto de hormona vegetal. Pese a ello, el transporte también puede intervenir, directa o indirectamente, en la acción hormonal. Así, el transporte polar de las auxinas (véase el Capítulo 19) es necesario para la diferenciación del xilema o para la iniciación de las raíces laterales. La síntesis de ácido abscísico (ABA) en los ápices radicales, en respuesta a un déficit hídrico, y su transporte por el xilema hasta las hojas, donde da lugar al cierre de los estomas (Capítulo 22), también son ejemplos ilustrativos de comunicación química a larga distancia entre órganos de la planta.

5.2.3. *El concepto de células diana en las plantas es impreciso*

En las plantas resulta difícil definir órganos, tejidos o células que actúen específicamente como diana para las hormonas. Debe tenerse en cuenta, sin embargo, que no existen razones teóricas para asumir que una hormona debe actuar exclusivamente sobre un único tipo de célula diana. En sentido amplio, la capa de aleurona de los cereales puede considerarse un tejido diana para las giberelinas (véanse los Capítulos 20 y 27). Asimismo, la zona de abscisión del peciolo funciona como diana para el etileno y las auxinas (véanse los Capítulos 22 y 28).

5.2.4. *El control de la respuesta hormonal se lleva a cabo a través de cambios en la concentración y la sensibilidad de los tejidos a las hormonas*

El concepto clásico de hormona asume, como premisa fundamental, que el **control hormonal** del desarrollo viene dictado por los cambios en la **concentración de la hormona** en las células diana. Sin embargo, este criterio no es suficiente para definir las hormonas vegetales, ya que la respuesta también está modulada por cambios en la **sensibilidad** de las células a las hormonas.

Las variaciones en la sensibilidad se hacen evidentes cuando observamos que la respuesta de un tejido a una concentración dada de hormona ha cambiado. **La sensibilidad puede, no obstante, definirse con mayor precisión si se relaciona con los sistemas de percepción y transducción de la señal hormonal** (véase el apartado 5.4). De ese modo, la mayor o menor sensibilidad se relaciona con el número de receptores, la afinidad de éstos, o los cambios en la cadena de eventos subsiguientes que conducen a un efecto bioquímico o fisiológico (capacidad de respuesta).

La inclusión de la sensibilidad en el concepto de hormona vegetal se debe, fundamentalmente, a los trabajos del fisiólogo británico Anthony J. Trewavas. La frecuente falta de correlación entre las concentraciones hormonales medidas en el tejido y la respuesta de éste fue el argumento principal utilizado por Trewavas para sostener, a principios de la década de los ochenta del siglo pasado, que: 1) las hormonas

vegetales no son factores limitantes del desarrollo y, por tanto, no pueden considerarse hormonas, y que 2) el control del desarrollo se realiza, exclusivamente, a través de cambios en la sensibilidad de los tejidos a las hormonas.

Como consecuencia lógica de las tesis de Trewavas, algunos investigadores llegaron a proponer que se abandonara el término hormona y que dicho término fuera sustituido por el de sustancia reguladora del crecimiento vegetal o regulador del crecimiento vegetal. Sin embargo, esta terminología, aunque comúnmente empleada, resulta confusa, ya que también se utiliza para designar productos sintéticos con acción hormonal; además, sólo hace referencia a una de las posibles funciones de las hormonas.

Las investigaciones realizadas en los últimos años demuestran claramente que la sensibilidad de las células a las hormonas desempeña un papel importante en el control del desarrollo. La sensibilidad varía con el genotipo, el tejido, la edad y la fase del desarrollo de la planta, las condiciones ambientales y la presencia (o ausencia) de otras hormonas. Muy posiblemente, la prueba definitiva de la importancia de la sensibilidad en el control hormonal del desarrollo sea la existencia de mutantes insensibles a la mayoría de las hormonas conocidas.

Pese a lo expuesto, resulta difícil construir un modelo de control del desarrollo basado exclusivamente en la sensibilidad de las células a las hormonas. De hecho, la imposibilidad de demostrar correlaciones positivas entre los cambios en el desarrollo y los cambios en los niveles de hormonas se debe, en gran medida, a errores de tipo metodológico. Muchos de los estudios de correlación entre concentración hormonal y respuesta se basan en la medición de la cantidad total de hormona extraída del órgano o tejido estudiado. Dado que estas estructuras están formadas por grupos celulares heterogéneos, con importantes diferencias cualitativas y cuantitativas en sus contenidos hormonales, el análisis de la totalidad del tejido u órgano nunca dará una correlación estricta entre concentración hormonal y respuesta. Lo correcto es, obviamente, analizar la cantidad de hormona en el lugar donde actúa. Desgraciadamente, la información que se posee sobre la distribución de las hormonas a nivel subcelular, e incluso intercelular, es escasa. La utilización de plantas transgénicas, en las que es posible manipular los niveles hormonales, demuestra, no obstante, que las variaciones en la concentración de estas sustancias son decisivas para el control de diversos procesos fisiológicos.

Teniendo en cuenta todas las consideraciones anteriores, **las hormonas vegetales (fitohormonas) pueden ser definidas como un grupo de sustancias orgánicas, sintetizadas por las plantas, que tienen la capacidad de afectar a los procesos fisiológicos en concentraciones mucho más bajas que los nutrientes o las vitaminas (< 1mM, frecuentemente < 1 µM).** El control de la respuesta hormonal se lleva a cabo a través de cambios en la concentración y la sensibilidad de los tejidos a las hormonas. No obstante, en determinadas situaciones uno de los factores puede dominar o excluir al otro. Los factores ambientales también afectan a los niveles hormonales y a la

sensibilidad de las células a las hormonas, lo que se traduce en cambios en los programas de desarrollo de las plantas.

5.3. El control hormonal del desarrollo de las plantas lo realizan, al menos, once grupos de hormonas diferentes

El desarrollo de las plantas está afectado por un gran número de sustancias orgánicas. El reconocimiento como hormona de cualquiera de estas sustancias depende, en última instancia, de su aislamiento y de la determinación de sus propiedades biológicas y químicas. Hasta fechas recientes ha existido un acuerdo general en clasificar como hormonas vegetales a **auxinas, giberelinas, citoquininas, etileno y ácido abscísico**, que constituyen los cinco grupos hormonales clásicos. En los últimos años, sin embargo, se ha ido aislando una serie de sustancias que también pueden clasificarse como hormonas basándose en sus efectos sobre el desarrollo o el fenotipo de mutantes con defectos en su síntesis o percepción. En este nuevo grupo de hormonas se incluyen **brasinosteroides, oxilipinas** (los representantes más conocidos son los jasmonatos), **poliaminas, salicilatos, oligopéptidos y óxido nítrico**, como se detalla en el Capítulo 22. Con un criterio más laxo, y considerando los efectos no atribuibles a sus papeles como fuente de carbono y energía, a este segundo grupo podrían agregarse **las oligosacarinas y la glucosa**.

En contraste con la mayoría de las hormonas animales, que pueden ejercer efectos fisiológicos muy específicos, las funciones reguladoras de las fitohormonas se solapan ampliamente. En las plantas, ninguna hormona tiene el control exclusivo de un determinado proceso fisiológico. De hecho, cualquier hormona vegetal ejerce efectos notables sobre la mayoría de las fases del desarrollo de la planta. Así pues, el control hormonal del desarrollo debe contemplarse desde la perspectiva de una interacción, positiva o negativa, entre los diferentes grupos de hormonas. Esta compleja regulación hormonal es consecuencia de la plasticidad evolutiva de las plantas. Muy probablemente, muchos procesos del desarrollo evolucionaron de forma independiente en más de un grupo taxonómico, lo que implicaría sistemas diferentes de control. Este modelo evolutivo puede explicar el hecho de que en la senescencia foliar, por ejemplo, aparezcan implicadas como hormonas antisenescentes las citoquininas, las giberelinas o las auxinas. Igualmente explicaría el que una misma hormona ejerza efectos opuestos en tejidos distintos.

5.4. Las células están programadas para responder a las señales hormonales mediante un sistema de acoplamiento estímulo-respuesta

El mecanismo de acción de una hormona se define como la reacción primaria capaz de iniciar una serie de eventos moleculares que, en última instancia, conducen a un efecto

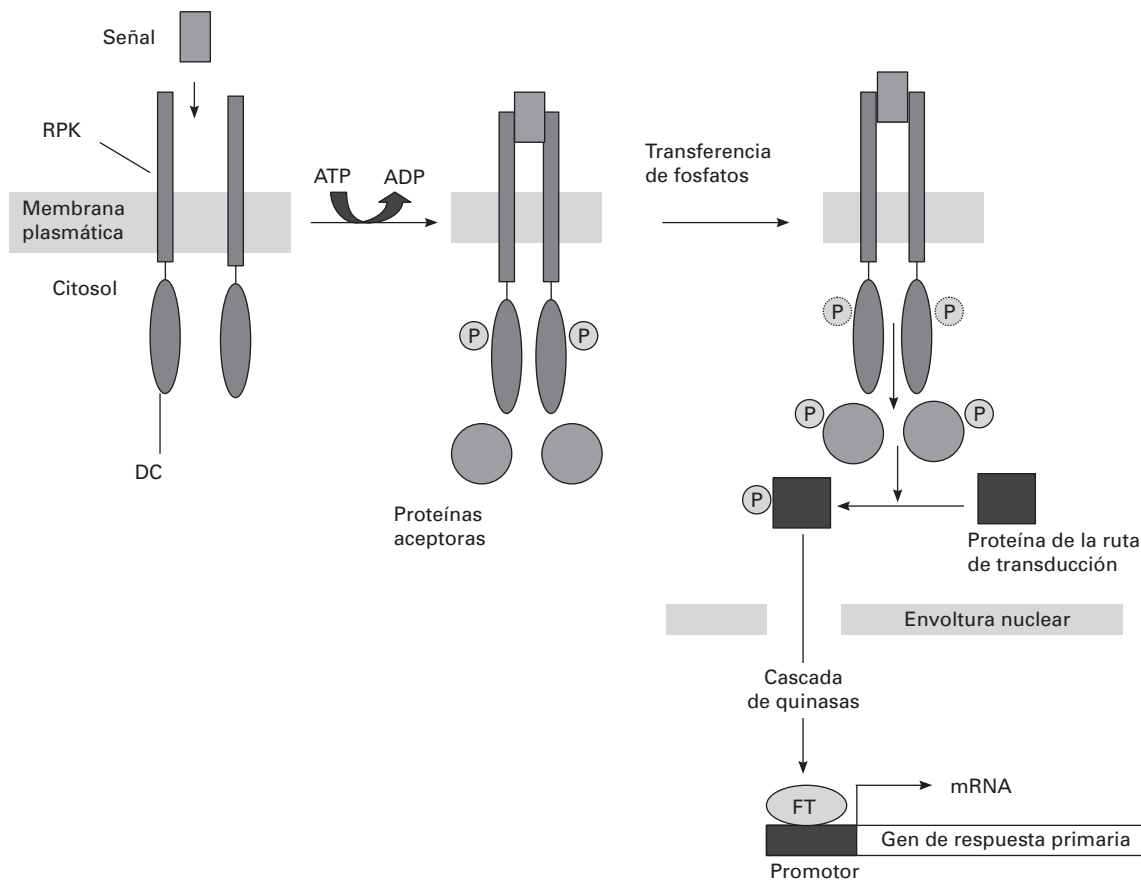


Figura 18-13. Modelo simplificado de la ruta de señalización mediada por receptores proteína quinasa (RPK). La unión de la señal promueve la autofosforilación del dominio catalítico (DC) del receptor. Seguidamente, este fosfato es transferido a otra proteína, que queda fosforilada, iniciándose así una cadena de fosforilaciones de proteínas (cascada de proteína quinasa) que, finalmente, inducen una respuesta (en este ejemplo, la cadena de fosforilaciones activa un factor de transcripción (FT), que activa la transcripción de un gen).

fisiológico medible. Por tanto, la célula debe estar programada para responder a las señales hormonales (**primeros mensajeros**) mediante mecanismos específicos. De un modo general, el mecanismo de acción tiene lugar mediante un acoplamiento estímulo-respuesta, que puede dividirse en tres fases:

1. Percepción de la señal (primer mensajero) por parte de la célula.
2. Generación y transmisión de la señal (transducción).
3. Activación de un cambio bioquímico (respuesta).

El conjunto de los tres procesos constituye la denominada **cadena de percepción y transducción de la señal o ruta de señalización**, que requiere el reconocimiento del primer mensajero por un **receptor** y la utilización subsiguiente de una serie de moléculas (**segundos mensajeros o proteínas efectoras**), capaces de transmitir la señal que activará la respuesta. Esta cadena es la vía que utilizan las plantas para responder a todos los estímulos, tanto externos (luz, temperatura, fuerzas mecánicas, agua, etc.) como internos (hormonas, fuerzas mecánicas generadas por la pared, etc.), que modulan su desarrollo.

Las propiedades fundamentales de la cadena de transducción son tres: rapidez, sensibilidad y especificidad. Todas esas propiedades están, a su vez, controladas por la interacción de una red de elementos que actúan de forma positiva o negativa. Por tanto, los sistemas de transducción de señales no deben ser contemplados como meras cadenas lineales de causa y efecto (véanse el apartado 5.4.2 y la Fig. 18-15).

A continuación se resumen los principios básicos que regulan la percepción y la transducción de las señales hormonales.

5.4.1. La señal hormonal es percibida por proteínas de membrana o solubles

Como en todos los organismos vivos, las células vegetales están equipadas con una serie de receptores, de naturaleza proteica, capaces de reconocer las señales hormonales. **Los receptores deben cumplir dos propiedades fundamentales: unión específica y reversible a la hormona y, como consecuencia, inducción de una respuesta biológica.** La identificación de posibles receptores hormonales en las plan-

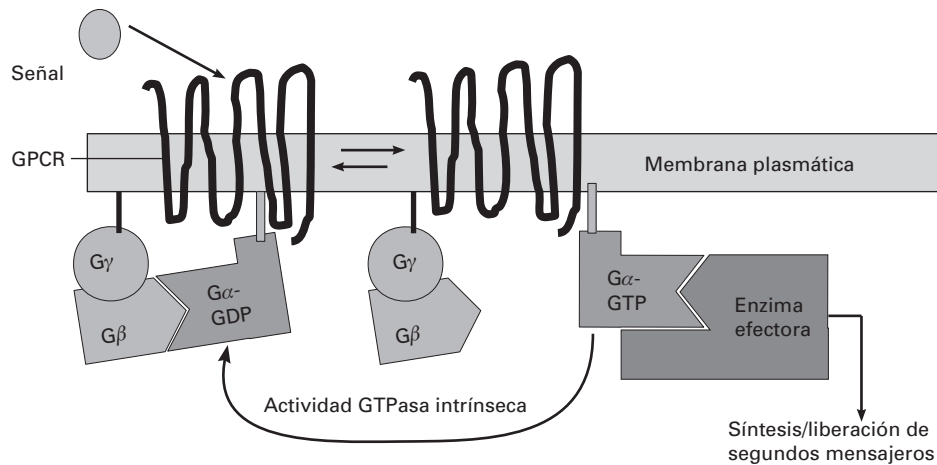


Figura 18-14. Modelo simplificado de la ruta de señalización de las proteínas G heterotriméricas. La ruta se inicia con la alteración de la conformación del receptor acoplado a la proteína G heterotrimérica (GPCR: del inglés G protein-coupled-receptor). En esencia, el GPCR es un factor de intercambio de nucleótidos de guanina que promueve el intercambio de GDP por GTP en G- α . Unida al GDP, la subunidad G- α está inactiva e interactúa con G- β . Al producirse la unión de la señal al GPCR, G- α cambia su conformación, produciéndose el intercambio de GDP por GTP y su separación del dímero G- β /G- γ . En este nuevo estado, G- α interactúa con enzimas efectoras a las que activa, produciéndose la síntesis y/o liberación de segundos mensajeros. La actividad GTPasa intrínseca de G- α causa la hidrólisis del GTP, produciéndose los cambios conformacionales que promueven la reasociación de G- α con G- β /G- γ . (Adaptado de Assmann, S.M. Science, 310:71-73, 2005.)

tas se ha realizado según dos enfoques experimentales diferentes, aunque complementarios:

1. **Enfoque bioquímico:** consiste en estudiar la interacción entre hormonas marcadas y fracciones proteicas celulares. El objetivo es aislar, mediante métodos adecuados de purificación, la proteína o proteínas capaces de reconocer las hormonas. Lógicamente, el paso siguiente es demostrar que se requiere un receptor purificado para activar una respuesta biológica.
2. **Enfoque genético:** se basa en el aislamiento de mutantes con defectos en su respuesta a las hormonas. Sea cual sea la modificación fisiológica del mutante (ausencia de respuesta en presencia de hormona o respuesta sin hormona), el aislamiento y la clonación del gen mutado conduciría a la identificación de la proteína cuya modificación originó el nuevo fenotipo. Por definición, esta proteína debe estar implicada en la percepción o en la ruta de transducción de la hormona.

Con la excepción de ABP1 (del inglés, *auxin binding protein 1*), uno de los receptores de auxinas (véase el Capítulo 19), la búsqueda de posibles receptores aplicando el enfoque bioquímico no ha dado buenos resultados. En cambio, el enfoque genético ha permitido, hasta la fecha, el aislamiento y caracterización de receptores para auxinas, giberelinas, citoquininas, etileno, ABA, brasinoesteroides y oligopéptidos. Los receptores identificados son tanto proteínas quinasas ligadas a membranas (receptores de brasinoesteroides, ABA, oligopéptido CLV3, etileno o citoquininas) como proteínas solubles, localizadas en el citoplasma, en el núcleo, o en ambos (auxinas, giberelinas y ABA).

Aunque ABP1, uno de los receptores de auxinas, es una proteína residente en el lumen del retículo endoplasmático, hay pruebas de su presencia en la superficie externa de la membrana plasmática.

5.4.2. La cadena de transducción generada depende del tipo de receptor

Los receptores no sólo detectan la señal, sino que actúan como transductores de ésta. La formación del complejo hormona-receptor provoca un cambio conformacional en el receptor que causa su activación. En su estado activado, el receptor inicia la cadena de transducción. En las plantas, las cadenas de transducción presentan una serie de mecanismos básicos iguales a los identificados en los animales. Sin embargo, la mayor plasticidad evolutiva de las plantas ha hecho que existan nuevos componentes en la maquinaria de señalización. En algunos casos, las cadenas de transducción guardan más relación con las de los procariontes que con las de los animales.

La cadena de transducción generada depende del tipo de receptor. Si el receptor es una proteína quinasa (RPK), la unión del ligando induce la actividad quinasa del receptor y la cadena de transducción tiene lugar a través de una cascada de proteínas quinasas que se fosforilan secuencialmente (Fig. 18-13). Las proteínas quinasas fundamentales en esta cascada pertenecen a la familia de las **MAP-quinasas** (*mitogen-activated protein kinases*, proteínas quinasas activadas por agentes mitógenos, MAPK). Las MAPK son proteínas quinasas de serina/treonina cuya activación total requiere la fosforilación de los dos aminoácidos. La proteína

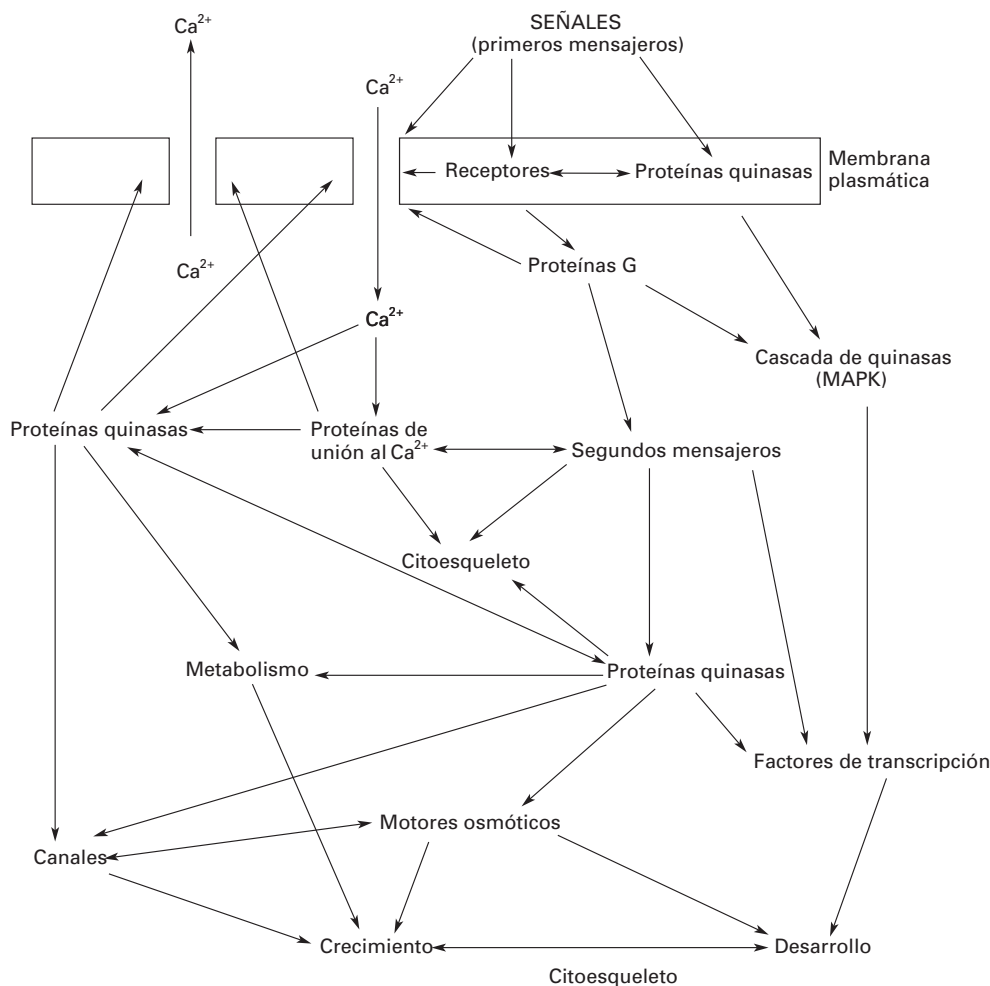


Figura 18-15. Modelo de percepción y transducción de señales en células vegetales. Las señales, incluidas las hormonas, pueden alterar los potenciales de membrana, activar los receptores o modificar las proteínas quinasa. En el modelo no se muestran los receptores solubles ni la síntesis de segundos mensajeros. (Adaptado de Trewavas, A., 2000.)

quinasa que cataliza esta doble fosforilación se denomina MAPKK (MAP-quinasa-quinasa). La necesidad de fosforilar los dos aminoácidos asegura que estas enzimas se mantengan inactivas, a menos que sean activadas por MAPKK. A su vez, las MAPKK son activadas por MAPKKK.

Los receptores de brasinoesteroides y del oligopéptido CLV3 son RPK de serina/treonina, mientras que los receptores de citoquininas y etileno son quinasa de histidina. La cadena de transducción que inician los receptores de citoquininas y etileno es similar a la que opera en los sistemas de dos componentes de bacterias y levaduras (véanse los Capítulos 21 y 22).

Cuando los **receptores están acoplados a proteínas G (GPCR, del inglés *G protein coupled receptor*)**, las rutas de transducción se inician con la activación de enzimas de la superfamilia de la **GTPasa (proteínas G)**. Los GPCR tienen siete dominios transmembrana, un dominio N-terminal extracelular y varios dominios citoplasmáticos de unión a la proteína G. Las proteínas G que interactúan con GPCR están

formadas por tres subunidades, una de las cuales intercambia GTP por GDP cuando el ligando se une al receptor (Fig. 18-14). De ese modo, las proteínas G activan una serie de proteínas efectoras como fosfolipasas de membrana (A, C o D), ciclasas y canales iónicos que regulan la producción de segundos mensajeros. A su vez, algunos de estos segundos mensajeros pueden activar proteínas quinasa específicas (véase la Fig. 18-15).

Hasta el momento se han identificado los siguientes **segundos mensajeros**: ácido fosfatídico (producto de la actividad de la fosfolipasa D), lisofosfolípidos (productos de la actividad de la fosfolipasa A), inositol-1,4,5-trifosfato (IP3), 1,2-diacilglicerol (DAG) (ambos producidos por la acción de la fosfolipasa C), guanosina monofosfato cíclica (cGMP), adenosina difosfato cíclica-ribosa (cADPR), Ca^{2+} , H^+ , agentes redox como el ácido ascórbico o el glutatión, peróxido de hidrógeno y radicales libres. Aunque la mayor parte de los organismos utiliza también la adenosina monofosfato cíclica (cAMP) como segundo mensajero, las angiospermas parecen

ser una excepción (las cantidades detectadas son mínimas, por lo que es difícil asignarle un papel en la transducción). La mayor parte de los segundos mensajeros son liberados al citoplasma, aunque los lisofosfolípidos y el DAG pueden permanecer en el plano de la membrana plasmática.

Todos los segundos mensajeros citados pueden, en teoría, participar en la transducción de cualquier señal, incluidas las hormonales. Algunos (p. ej., el ion calcio y los lisofosfolípidos), pueden activar proteínas quinasas, mientras que otros (IP3) movilizan el calcio activando la apertura de canales. El IP3 también se fija al citoesqueleto y altera su conformación y sus funciones.

Pese a que algunos componentes de la ruta de señalización que inician los GPCR están muy conservados en plantas y animales, aún existen lagunas importantes en el conocimiento de esta ruta en las plantas. En el caso particular de las hormonas, recientemente se ha identificado un GPCR que actúa como receptor del ABA (Lin y cols., *Science* 315: 1712-1716, 2007) pero se discute su participación en la ruta de señalización de auxinas que inicia el receptor ABP1; lo mismo sucede con el hipotético receptor de giberelinas ligado a la membrana plasmática. Debe hacerse notar, sin embargo, que no hay dudas acerca de la participación de las proteínas G en la regulación de canales iónicos, la proliferación celular y las respuestas a enfermedades.

La serie de reacciones activada por la cascada de proteínas quinasas y segundos mensajeros induce, finalmente, la respuesta apropiada. Algunos de estos efectores llegan al núcleo, donde activan proteínas reguladoras denominadas factores *trans* (factores de transcripción), que se unen a las

secuencias *cis* (sitios de reconocimiento en el promotor génico) para regular la actividad de la RNA polimerasa e inducir la expresión de genes específicos (Figs. 18-13 y 18-15).

Posiblemente, las **cadena de transducción de señales más novedosas son las que activan los receptores solubles de auxinas (TIR1, del inglés *transport inhibitor response 1*) y giberelinas (GID1, del inglés *GA insensitive dwarf 1*)**, recientemente descubiertos (véanse los Capítulos 19 y 20). Estos receptores forman parte del complejo enzimático E3 ubiquitina ligasa (caso de las auxinas) o interactúan con él (como las giberelinas). Este complejo se encarga de marcar selectivamente las proteínas para su degradación en el proteosoma. En ausencia de las hormonas, los genes de respuesta primaria a ellas están inactivos debido a la existencia de represores transcripcionales que actúan como reguladores negativos de las rutas de señalización. **La unión de las auxinas o las giberelinas a sus respectivos receptores inicia una cadena de transducción que lleva a la ubiquitinación y degradación de los represores, lo que posibilita la transcripción de los genes.**

En el ámbito de la acción hormonal, se acostumbra a distinguir entre respuestas rápidas (que pueden no requerir cambios en la expresión génica) y respuestas lentas (que requieren tales cambios). Siguiendo a Trewavas, esta distinción es incorrecta, puesto que los dos tipos de respuestas son controlados por el mismo sistema de transducción. Las acciones rápidas (p. ej., cambios en los flujos iónicos) y lentas (p. ej., cambios en la transcripción) estarían estrechamente conectadas; la única diferencia radicaría en su separación temporal.



RESUMEN

- El desarrollo se define como el conjunto de cambios graduales y progresivos en tamaño (crecimiento), estructura y función (diferenciación) que hace posible la transformación del cigoto en una planta adulta capaz de reproducirse.
- Todos los órganos de la planta derivan, en última instancia, de la actividad de distintos tipos de meristemas. El denominado cuerpo primario es producido por los meristemas apicales del tallo y de la raíz, que se forman durante la embriogénesis. Las plantas maduras también poseen otros meristemas que no están presentes en el embrión, entre ellos los meristemas reproductores, que originan flores, y el *cámbium*, que produce el engrosamiento secundario de los tallos y las raíces de muchas plantas.
- Los meristemas realizan dos funciones básicas: automantenimiento como región formadora, e iniciación de tejidos y órganos. El análisis de mutantes con defectos específicos en el desarrollo de los meristemas ha permitido el aislamiento de genes que regulan su función y organización. Algunos de estos genes mantienen las células troncales y otros dirigen la diferenciación de las células derivadas. Las interacciones entre los dos grupos de genes son necesarias para mantener la organización de los meristemas.
- Las hormonas son señales químicas que facilitan la comunicación entre las células y coordinan sus actividades. El control de la respuesta hormonal se lleva a cabo a través de cambios en la concentración y la sensibilidad de los tejidos a las hormonas.
- Las funciones de las hormonas vegetales se solapan ampliamente, por lo que la regulación hormonal del desarrollo de las plantas debe contemplarse desde la perspectiva de una interacción entre los distintos grupos de hormonas.
- Las células responden a las señales hormonales mediante un sistema de acoplamiento estímulo-respuesta que requiere el reconocimiento de la hormona por un receptor y la utilización subsiguiente de una serie de moléculas capaces de transmitir la señal que activará la respuesta. El conjunto constituye la denominada cadena de transducción de la señal hormonal o ruta de señalización.

PROBLEMAS Y CUESTIONES



- 1 ¿Por qué las angiospermas presentan alternancia de generaciones? ¿Qué representa el grano de polen?
- 2 Compare estructural y funcionalmente los meristemos apicales del tallo y la raíz.
- 3 ¿Desarrollan cuerpo secundario todas las plantas? ¿Qué meristemos dan origen al cuerpo secundario de las plantas?
- 4 Diferencie entre estructuras indeterminadas y determinadas.
- 5 Compare y contraste el papel de la embriogénesis en el desarrollo de las plantas y los animales.
- 6 Comente los puntos básicos del control del ciclo celular en las plantas.
- 7 ¿Cumplen las hormonas vegetales las premisas fundamentales del concepto clásico de hormona?
- 8 Enumere las etapas fundamentales de la cadena de percepción y transducción de la señal hormonal en las plantas (ruta de señalización).
- 9 Defina el concepto de filotaxia y el papel de las auxinas en el establecimiento del patrón filotáctico.
- 10 Los mutantes *clv* (*clavata*) y *wus* (*wuschel*) producen fenotipos opuestos en los meristemos apicales del tallo. A partir de esos fenotipos, comente la función de los genes *CLV* y *WUS* en la regulación de la función de dichos meristemos.

RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES



- 1 Porque su ciclo vital transcurre entre un gametofito haploide y un esporofito diploide. El grano de polen es el gametofito masculino.
- 2 Estructuralmente, los dos meristemos presentan una división en zonas característica. No obstante, el meristemo apical de la raíz, al contrario que el meristemo apical del tallo, no ocupa una posición terminal, pues aparece cubierto por la caliptra. En los dos meristemos, el nicho de células troncales se mantiene gracias a señales procedentes de un pequeño grupo de células situadas en el «núcleo» de ambos meristemos: el centro organizador (en el meristemo apical del tallo) y el centro quiescente (en el meristemo apical de la raíz). Al contrario de lo que ocurre en el meristemo apical del tallo, el meristemo apical de la raíz no produce órganos laterales, ya que éstas se originan en el periciclo. No obstante, el meristemo apical de la raíz parece controlar la posición y el número de raíces laterales.
- 3 No, los meristemos que originan el cuerpo secundario son los denominados meristemos laterales o secundarios: *cámbium* vascular y *cámbium* del felógeno.
- 4 Las estructuras indeterminadas crecen indefinidamente gracias a la actividad de sus meristemos, mientras que las determinadas presentan un crecimiento limitado, es decir, crecen hasta alcanzar un cierto tamaño y, después de un período variable, envejecen y mueren.
- 5 El desarrollo de las plantas es fundamentalmente postembrionario y se debe a la actividad de los meristemos apicales del tallo y la raíz. Aunque durante la embriogénesis de las plantas se establece la polaridad apical basal del eje de la planta y el modelo básico de tejidos, el embrión maduro carece de la mayoría de los órganos y sistemas de tejidos de la planta adulta. En los animales, por el contrario, todo el plan del cuerpo completo y el de sus sistemas de órganos se establece durante la embriogénesis.
- 6 El ciclo celular está regulado por controles internos (residentes en el propio ciclo) y externos. Los puntos de control interno se sitúan en las transiciones entre las fases G1/S y G2/M, determinando, respectivamente, si la célula inicia una nueva replicación del DNA o entra en mitosis. Ambos puntos de control están regulados por la asociación periódica de dos tipos de proteínas: las ciclinas y las quinasas dependientes de ciclinas (CDK). El control externo del ciclo celular es llevado a cabo por una serie de señales que activan (auxinas, citoquininas, giberelinas, brasinoesteroides o azúcares) o reprimen (ABA e inhibidores) las ciclinas, las CDK, o ambas. La frecuencia de las divisiones celulares también está controlada por el tamaño de las propias células.



RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES (Cont.)

- 7) No, ya que: 1) cualquier órgano tiene capacidad para sintetizar hormonas; 2) el transporte no es un componente esencial de la acción hormonal; y 3) el control de la respuesta hormonal se lleva a cabo a través de cambios en la concentración y la sensibilidad de los tejidos a las hormonas.
- 8) Las etapas fundamentales de este proceso son: 1) percepción de la señal hormonal por un receptor específico; 2) generación y transmisión de la señal (transducción) a través de proteínas efectoras o segundos mensajeros; 3) activación de un cambio bioquímico o fisiológico (respuesta).
- 9) Los primordios foliares se forman en los laterales (zona periférica) del meristemo apical del tallo en una disposición ordenada y previsible, conocida como filotaxis o filotaxia (del griego, «orden foliar»). Así pues, estrictamente hablando la filotaxia es el modo en que se disponen las hojas en los tallos. No obstante, también es aplicable a la disposición de las inflorescencias, de las flores y de los órganos florales (recuérdese que el meristemo vegetativo sufre un cambio de fase y se transforma en meristemo floral, del que se originan los órganos florales). Las auxinas determinan tanto la formación de los primordios foliares como su posición en la zona periférica del meristemo (patrón filotáctico). Los primordios foliares sólo emergen en regiones de la zona periférica con elevada concentración de auxina; al formarse, se convierten en potentes sumideros que «roban» la auxina de las células que los rodean, por lo que el nuevo primordio sólo puede formarse a una distancia mínima tal que permita la acumulación de auxina.
- 10) Los mutantes *wus* no tienen ZC, por lo que carecen de células troncales. Los tres mutantes *clv* (1 a 3) forman meristemas muy voluminosos debido al incremento de células troncales en la ZC. Los mutantes *clv* y *wus* producen, pues, fenotipos opuestos, por lo que los genes *CLV* y *WUS* reprimen o promueven, respectivamente, las células troncales de la ZC. La regulación del meristemo apical del tallo implica básicamente a estos genes a través de un bucle de retroalimentación negativo que opera como sigue: la señal procedente del gen *WUS* especifica las células troncales de la ZC y activa la expresión del gen *CLV3* en las células troncales; el producto de este gen, el oligopéptido CLV3 de carácter hormonal, reprime la expresión del gen *WUS* a través de una cascada de proteínas quinasas que se inicia con la unión de CLV3 al receptor CLV1/CLV2. Este bucle permite al meristemo apical mantener el equilibrio entre la proliferación de células troncales y la pérdida de células debida a la diferenciación en la ZP y la ZM.



BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA

- Davies P J. Regulatory factors in hormone action: level, location and signal transduction. En: Davies PJ (ed.). *Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action*. Dordrecht, Kluwer Academic 2004; 16-35.
- De Jager SM, Maughan S, Dewitte W *et al*. The developmental context of cell-cycle control in plants. *Seminars in Cell Developmental Biology* 2005; 16:385-396.
- Dickison WC. *Integrative Plant Anatomy*. San Diego (California), Harcourt Academic Press, 2000.
- Golz JF. Signalling between the shoot apical meristem and developing lateral organs. *Plant Molecular Biology* 2006;60: 889-903.
- Nakajima K, Benfey PN. Signaling in and out: control of cell division and differentiation in the shoot and root. *The Plant Cell* 2002; 14:S265-S276.
- Kepinski S. Integrating hormone signaling and patterning mechanisms in plant development. *Current Opinion in Plant Biology* 2006; 9:28-34.
- Taiz L, Zeiger E. *Plant Physiology*. 4ª ed. Sunderland (Massachusetts), Sinauer Associates Inc. Publishers, 2006.
- Trewavas A. Signal perception and transduction. En: Buchanan B, Gruissem W, Jones R (eds.). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Rockville (Maryland), American Society of Plant Physiologists 2000; 930-987.
- Vernoux T, Benfey N. Signals that regulate stem cell activity during plant development. *Current opinion in Genetics and Development* 2005; 15:388-394.
- Weigel D, Jürgens G. Stem cells that make stems. *Nature* 2002; 415:751-754.
- Weijer D, Jürgens G. Auxin and embryo axis formation: the ends in sight? *Current Opinion in Plant Biology* 2005; 8:1-6.

19

Auxinas

MANUEL ACOSTA ECHEVERRÍA, JOSÉ SÁNCHEZ BRAVO Y MARINO BAÑÓN ARNAO



1. Estructura. 2. Actividad. 3. Metabolismo. 4. Transporte. 5. Efectos fisiológicos. 6. Mecanismo de acción. 7. Aplicaciones comerciales.

1. ESTRUCTURA

1.1. Las características estructurales y fisiológicas de las plantas justifican la existencia de hormonas

Las plantas superiores pueden considerarse estructuras pluricelulares complejas caracterizadas por su inmovilidad y por su autotrofia para el carbono. Esto significa que poseen un entorno limitado para la captación de nutrientes que, por lo general, se encuentran en concentraciones muy bajas, tanto en la atmósfera como en la disolución del suelo.

Con el fin de soslayar este impedimento, las plantas desarrollan una estructura dendrítica (ramas, hojas, raíces con pelos radicales) que favorece su contacto superficial con el medio. El soporte para tal estructura consiste en el relleno con agua de las vacuolas de las células, lo que reduce su compresibilidad, para formar así un sistema hidráulico que mantiene el conjunto desplegado y erecto. Las células se dotan, además, de unas paredes celulares construidas con materiales relativamente económicos, procedentes de la asimilación autotrófica del carbono (celulosas, hemicelulosas y pectinas), que aportan rigidez al sistema. La adición de lignina completa el refuerzo necesario.

Sin embargo, la eficacia mostrada por esta estructura para la captación de luz, agua y nutrientes se ve contrarrestada por el aislamiento que impone a las células individuales. Éstas, rodeadas por materiales aislantes, no pueden transmitir impulsos eléctricos a través de sus membranas. Por eso, la transmisión de información es mucho más difusa que en las células animales.

Por tanto, en las plantas el control del medio interno (**homeostasis**) se lleva a cabo mediante sustancias químicas que portan la información en sus estructuras moleculares. El hecho de que la transmisión de estas señales se tenga que realizar mediante difusión pasiva o facilitada por algún sistema de transporte masivo (xilema o floema) implica lentitud en los procesos de correlación. Por ello, los cambios morfogenéticos y de comportamiento se confunden a veces en las plantas, y las correlaciones espaciales pueden llegar a ser más importantes que las temporales. Así es como destacan en las plantas fenómenos como la polaridad, la simetría, los tropismos, y otros.

1.2. Las observaciones sobre los tropismos contribuyeron al descubrimiento de las hormonas vegetales

Consideraciones similares a las del epígrafe anterior llevaron a Julius von Sachs, a finales del siglo XIX, en Alemania, a postular la existencia de sustancias morfogenéticas que se moverían de forma polarizada a través de la planta y que determinarían la forma definitiva de cada órgano (raíz, tallo). Por las mismas fechas, Charles Darwin, en Inglaterra, se interesaba en la capacidad de movimiento que poseen las plantas, a pesar de las restricciones descritas anteriormente. Sus observaciones se extendieron a las plantas trepadoras y carnívoras, aunque fueron determinantes, sobre todo, sus estudios sobre el fototropismo en coleóptilos de gramíneas. El coleóptilo es una estructura de protección que envuelve la primera hoja de las

gramíneas, para evitar el daño mecánico cuando tiene lugar la germinación de la semilla. Esta primera hoja necesita protección porque debe abrirse camino a través del suelo para desarrollarse e iniciar la fotosíntesis (Fig. 19-1). En ausencia de luz, el coleóptilo (etioloado) crece considerablemente y, si es estimulado con iluminación unilateral (asimétrica), se curva

hacia el lugar de donde procede el estímulo, en una típica respuesta fototrópica (véase el Capítulo 24). La observación de este fenómeno llevó a Darwin a concluir que la plántula percibía el estímulo luminoso en el ápice del coleóptilo, pero algo se transmitía desde allí hasta las zonas más inferiores, desde donde se regía la curvatura (Fig. 19-1).

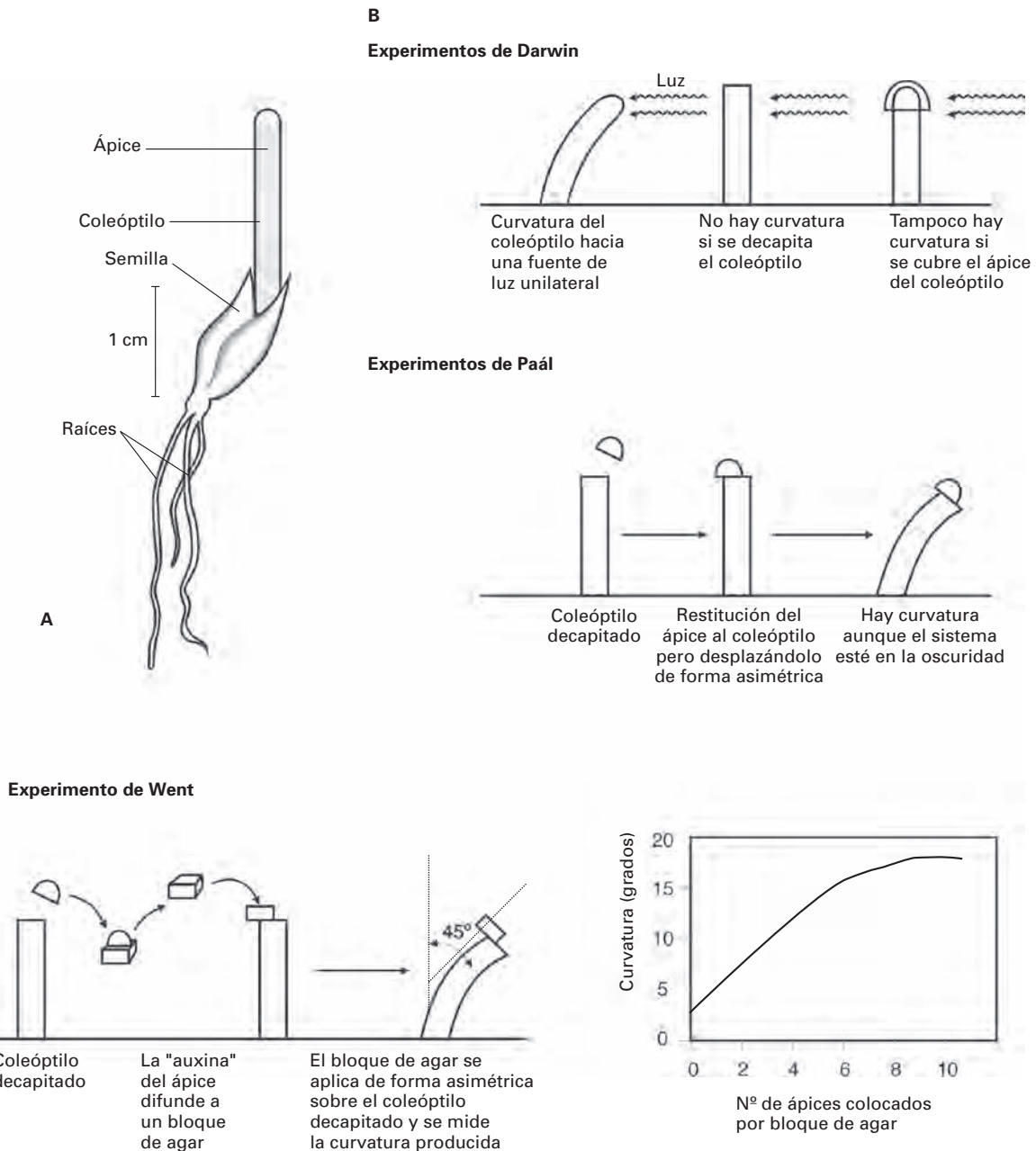


Figura 19-1. A. Emergencia del coleóptilo durante la germinación de gramíneas. B. Algunos de los experimentos con coleóptilos que permitieron el descubrimiento y la cuantificación de las auxinas. El experimento de Went es un bioensayo que permite relacionar la cantidad de estímulo (número de ápices que se colocan sobre un mismo bloque de agar para que difunda desde ellos la hormona) con la magnitud de la respuesta (curvatura producida por el crecimiento asimétrico de las células del coleóptilo: las que reciben el estímulo crecen más que las del lado opuesto, que no lo reciben).

Más tarde, A. Paál consiguió provocar la curvatura en un coleóptilo decapitado tras restituir el ápice, pero desplazado de forma asimétrica respecto a su posición inicial. Esto sucedía en ausencia de estímulo fototrópico, manteniendo el sistema en la oscuridad. La sustancia estimuladora se difundía hacia abajo sólo por un lado del coleóptilo, en una distribución asimétrica, de tal forma que las células del lado que recibía el estímulo crecían más que las del opuesto, originándose así la curvatura en el coleóptilo.

1.3. La hormona (estímulo) se puede cuantificar mediante un bioensayo (respuesta fisiológica)

Todas esas observaciones llevaron a F. W. Went a elaborar, en 1928, el primer **bioensayo** que permitía establecer una relación entre la cantidad de estímulo aplicado y la respuesta fisiológica observada. Utilizó *Avena sativa* como material vegetal y, por ello, a este bioensayo se le conoce como «test de curvatura del coleóptilo de avena». La peculiaridad del método de Went consistía en recoger la sustancia que se difundía desde los ápices de los coleóptilos sobre bloques de agar. Los bloques cargados se colocaban de forma asimétrica sobre los coleóptilos decapitados, y los ensayos se hacían en la oscuridad. Al cabo del tiempo, se medía la curvatura que presentaban los coleóptilos y se relacionaba con la cantidad de sustancia recogida en el bloque de agar. Posteriormente se han dado a conocer otros bioensayos, entre ellos el conocido «test de crecimiento recto (elongación) del coleóptilo de avena».

1.4. La primera hormona descubierta resultó ser el ácido indolil-3-acético y se denominó «auxina»

Una vez conocida la existencia de una sustancia estimuladora, se iniciaron los trabajos para aislar e identificar químicamente el compuesto. La escasa cantidad que podía obtenerse a partir de los ápices del coleóptilo, dejando que difundiese sobre bloques de agar, no permitía su análisis dada la escasa sensibilidad de las técnicas analíticas de la época; por ello se buscaron materiales alternativos con el fin de obtener una cantidad importante de sustancia, como la obtenida en el bioensayo de Went. Tras varios intentos, entre 1934 y 1935 dos grupos (el de Kögl, Haagen-Smit y Erxleben, partiendo de orina humana, y el de K. V. Thimann, usando extractos de cultivos del hongo *Rhizopus suinus*) consiguieron obtener una sustancia a la que se denominó «**auxina**» (del griego: hacer crecer, incrementar) y cuya estructura química resultó ser la del ácido indolil-3-acético, comúnmente llamado ácido indolacético o AIA (Fig. 19-2).

La presencia de AIA endógeno en las plantas se comprobó después, en 1946, al analizar el endospermo inmaduro

de semillas de maíz. Desde entonces se ha detectado y cuantificado en otros muchos materiales vegetales.

El conocimiento de una estructura química capaz de alterar el crecimiento de las plantas (*plant growth regulator*) aportó nuevos enfoques agronómicos a finales de los años cuarenta y durante los años cincuenta del pasado siglo. Surge así el concepto de «modificación química de las plantas» y se inicia la carrera para buscar nuevas estructuras. También se acuñan nuevos vocablos para designar estas sustancias que, en bajas concentraciones (< 1 mM), afectaban al desarrollo de las plantas, modificando algunos de sus procesos fisiológicos. Así, una **fitohormona** sería un producto de origen natural, endógeno en las plantas; mientras que un **fitorregulador** podría ser tanto una sustancia natural como sintética, aunque ambas desempeñarían funciones similares. Algunos de estos fitorreguladores, en concentraciones altas, podrían ser letales para la planta, y entonces pasarían a la categoría de **herbicida**.

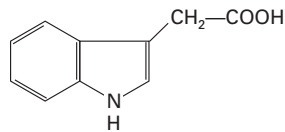
1.4.1. ¿Cuáles son las características químicas comunes a cualquier auxina?

El interés por diseñar nuevas moléculas activas llevó a plantear cuáles habían de ser los criterios mínimos necesarios para reconocer una auxina. Además, los bioensayos sugerían la existencia de sistemas saturables (receptores) capaces de ser incluso inhibidos por concentraciones altas de hormona. Esto último hacía pensar en la posibilidad de que existiera un sitio de unión de la auxina al receptor que tuviese dos o tres puntos de contacto, lo que provocaría inhibiciones en la acción al unirse varias moléculas de auxina, cada una a un punto de contacto distinto del receptor, impidiendo así una unión eficaz y, por tanto, la acción fisiológica adecuada.

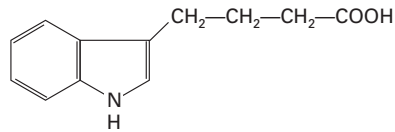
Actualmente se admite que una auxina debe poseer una estructura con una carga negativa en el carboxilo, separada de otra carga residual positiva por una distancia de 0.55 nm (5.5 Å) (Fig. 19-3). Esta última carga puede estar localizada sobre un anillo indólico o aromático, como en el AIA o el ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), respectivamente. Se ha podido comprobar que el anillo no es estrictamente necesario, ya que el N,N-dimetilcarboximetiltiocarbamato, carente de anillo pero con la distancia adecuada entre las cargas, posee carácter auxínico (Fig. 19-3).

El compuesto natural que se acepta como auxina es el AIA, distribuido ampliamente por todo el reino vegetal. Junto a él, también se consideran auxinas naturales el ácido fenilacético (detectado en los tallos de tomate y girasol), algunos cloroindoles (en el guisante) y, recientemente, el ácido indolbutírico.

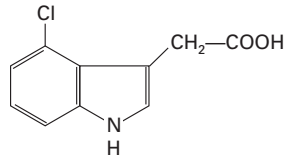
En cuanto a las **auxinas sintéticas**, las hay de naturaleza química muy diversa: ácidos indólicos, ácidos naftalénicos, clorofenoxiácidos, y derivados de los ácidos benzoico y picolínico. También tienen interés las llamadas antiauxinas (como el ácido *p*-clorofenoxi-isobutírico) que, por su analogía estructural y su carencia de efecto fisiológico, pueden inhibir la acción de las auxinas (Fig. 19-2).

Auxinas naturales

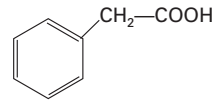
Ácido indolacético (AIA)



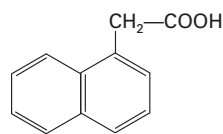
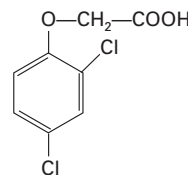
Ácido indolbutírico (IBA)



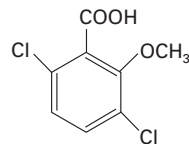
Ácido 4-cloro-indolacético



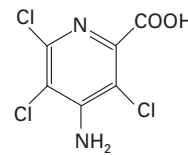
Ácido fenilacético

Auxinas sintéticasÁcido α -naftalenacético (NAA)

Ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D)



Ácido 2-metoxi-3,6-diclorobenzoico



Ácido 4-amino-3,5,6-tricloro picolínico

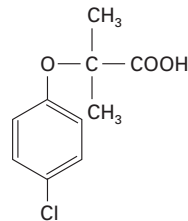
AntiauxinaÁcido α -(*p*-clorofenoxi)-isobutírico

Figura 19-2. Estructuras químicas correspondientes a algunas auxinas naturales y sintéticas típicas. La antiauxina tiene una analogía estructural con las auxinas, pero contrarresta su acción fisiológica.

2. ACTIVIDAD

2.1. Las respuestas que se producen tras la aplicación de auxinas a las plantas dependen de la concentración de la hormona, así como del tipo de órgano de que se trate

En la Figura 19-4 se aprecia que el crecimiento del tallo aumenta con la concentración de auxina hasta alcanzar la respuesta máxima, con una concentración próxima a 10^{-5} M. Las concentraciones supraóptimas reducen el crecimiento

hasta inhibirlo, llegando a producir incluso la muerte de la planta. Resultados similares se observan cuando se estudia el crecimiento de yemas y raíces, en las que la máxima respuesta se consigue a concentraciones de 10^{-8} y 10^{-10} M, respectivamente.

2.1.1. La regulación de la concentración de AIA es importante

La primera conclusión que se deduce de estos datos es que la intensidad de la respuesta a la auxina depende de la concentración, en cada órgano. Ello pone de manifiesto la impor-

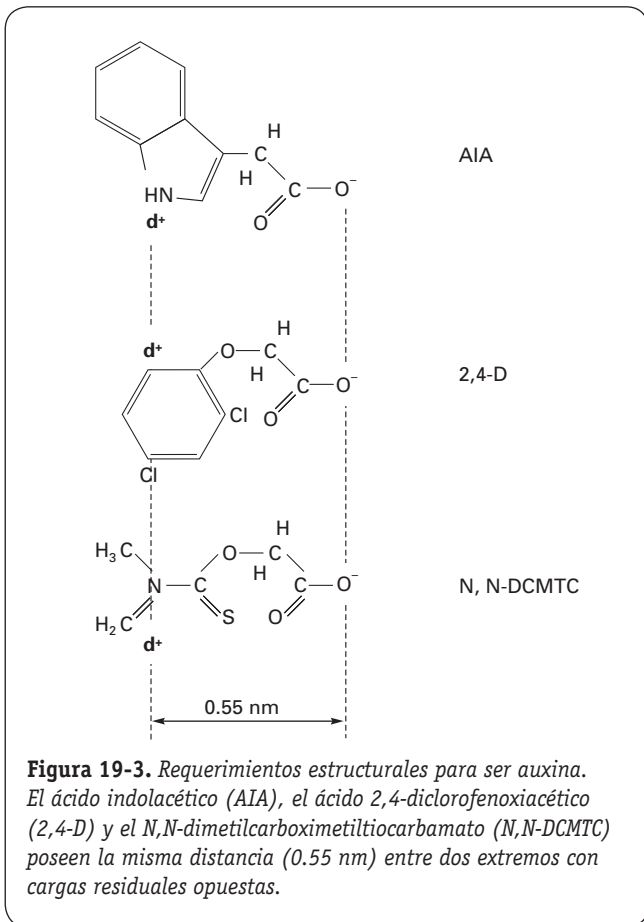


Figura 19-3. Requerimientos estructurales para ser auxina. El ácido indolacético (AIA), el ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) y el N,N-dimetilcarboximetiltiocarbamato (N,N-DCMTC) poseen la misma distancia (0.55 nm) entre dos extremos con cargas residuales opuestas.

tancia que para la planta tiene la existencia de mecanismos que regulen eficazmente la **concentración de hormona**, a fin de mantener en cada momento y lugar la concentración óptima. El esquema de la Figura 19-5 muestra los diferentes procesos que pueden modificar la concentración de AIA en un determinado tejido u órgano. La velocidad de biosíntesis, conjugación, hidrólisis de conjugados y oxidación (descarboxilativa y no descarboxilativa), así como la intensidad del transporte de llegada (importación) y de salida (exportación), son factores decisivos en la regulación de la concentración local de auxina. Además, hay que tener en cuenta todos los factores que influyen en cada uno de estos procesos, que serán comentados en los apartados siguientes (concentración de precursores de biosíntesis, activadores e inhibidores de las distintas enzimas, inhibidores naturales del transporte polar, etc.). A la hora de considerar la efectividad de la concentración de auxina también hay que tener en cuenta su posible **compartimentación**. El AIA es un ácido débil ($pK_a = 4.72$), por lo que su disociación es muy dependiente del pH. Teniendo en cuenta el pH de los diferentes compartimientos celulares (véase el apartado 4.4), la localización preferente del AIA podría ser el citoplasma, donde se encontraría en forma de anión. El cloroplasto, debido a su alcalinización, también se transforma en una trampa para el anión y alberga hasta un tercio del AIA celular. La funcionalidad dentro de este orgánulo no está clara, aunque el inicio

de la ruta de biosíntesis del AIA se localiza allí. La entrada a otros compartimientos, como las vacuolas, las vesículas del retículo endoplásmico o el aparato de Golgi, así como a orgánulos como los cloroplastos, podría realizarse mediante proteínas transportadoras que posibilitaran el paso a través de las membranas. De hecho, se sabe que existen transferasas (algunas dependientes de glutatión) que contribuyen a almacenar en las vacuolas los conjugados de los xenobióticos (sustancias extrañas a la célula). No se descarta que éste pueda ser el destino de algunos conjugados de AIA.

2.1.2. La sensibilidad frente a las auxinas también es importante

La segunda conclusión que se deduce de la Figura 19-4 es que cada órgano presenta una **sensibilidad** diferente a la auxina. Si tenemos en cuenta la concentración de hormona que produce la máxima respuesta, hemos de concluir que las raíces son más sensibles que las yemas, y éstas más sensibles que los tallos. Así, el tratamiento con una disolución $10^{-8}M$ de auxina produciría un crecimiento máximo en las yemas y una ligera estimulación en los tallos, mientras que el crecimiento de las raíces estaría fuertemente inhibido. La sensibilidad de un tejido u órgano puede variar con la edad y las condiciones ambientales. Los factores de los que depende la sensibilidad son muy diversos, pero los que probablemente desempeñen un papel más importante son la concentración de receptores hormonales, la efectividad de la unión receptor-hormona y la cadena de acontecimientos que sucede después de dicha unión, de la que depende la respuesta final. Aunque algunos autores sostienen que la respuesta hormonal únicamente estaría condicionada por la sensibilidad, la opinión más extendida es que en la acción hormonal tanto la variación de la concentración de hormona como la sensibilidad frente a ella son importantes.

2.1.3. La medida de la concentración hormonal endógena requiere técnicas fisicoquímicas e inmunológicas complejas

Aunque los bioensayos pueden establecer una relación cuantitativa entre la concentración exógena de hormona aplicada y la magnitud de la respuesta fisiológica, los valores de concentración endógena de la hormona son, en general, del orden de nanogramos de sustancia activa por gramo de peso fresco. Por tanto, el cálculo de estos valores requiere técnicas analíticas de sensibilidad y especificidad muy elevadas.

En el caso de las auxinas, tras varios fraccionamientos con distintos disolventes, los extractos se analizan por **cromatografía líquida de alta resolución** (HPLC), usando detectores fluorimétricos o electroquímicos. Al principio se incorpora al extracto una pequeña cantidad de AIA marcado radiactivamente, para conocer y corregir las pérdidas en cada

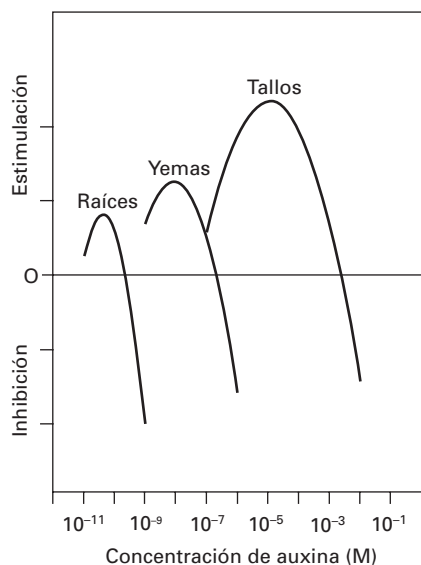


Figura 19-4. Influencia de la concentración de auxina sobre la respuesta de crecimiento (estimulación o inhibición) de raíces, yemas y tallos.

etapa. La separación y la cuantificación se pueden realizar mediante **cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas**.

Actualmente se pueden analizar extractos poco purificados sometiéndolos a una **cromatografía líquida acoplada a un espectrómetro de masas en tándem** (HPLC-MS/MS). Con esta técnica se consigue una gran precisión en la identificación de los compuestos. Para la cuantificación se consideran más fiables los ensayos de dilución isotópica que utilizan como patrón interno AIA marcado con ^{13}C (isótopo no radiactivo).

Cuando los extractos están muy purificados, también se puede utilizar un **inmunoensayo** para cuantificar el AIA. Existen en el mercado diversos anticuerpos monoclonales que reconocen el AIA unido a una proteína que actúa como antígeno.

Conviene no olvidar que los valores de concentración obtenidos pueden variar mucho, dado que el AIA puede estar en compartimientos subcelulares con volumen diferente, como el citoplasma, la vacuola, el espacio apoplástico o el cloroplasto.

3. METABOLISMO

3.1. Existen varias rutas para la biosíntesis del AIA

Durante muchos años se ha considerado que el precursor en la síntesis del AIA es el aminoácido triptófano. Hoy se admite que el AIA puede sintetizarse también a partir de un precursor del triptófano. Algunos estudios indican que, incluso en una misma planta y dependiendo de la edad, la síntesis de AIA puede ser dependiente o independiente del triptófano.

3.1.1. El aminoácido triptófano está considerado el principal precursor del AIA

La conversión del triptófano en AIA puede producirse por diferentes rutas (Fig. 19-6). En la mayoría de las especies vegetales, la ruta más frecuente es la del ácido indolpi-rúvico. Algunas especies presentan, además, la ruta de la triptamina, mientras que la ruta de la indolacetaldoxima es característica de la familia *Brassicaceae*. La funcionalidad de las distintas rutas se confirma mediante la presencia de los intermediarios como compuestos endógenos, la actividad

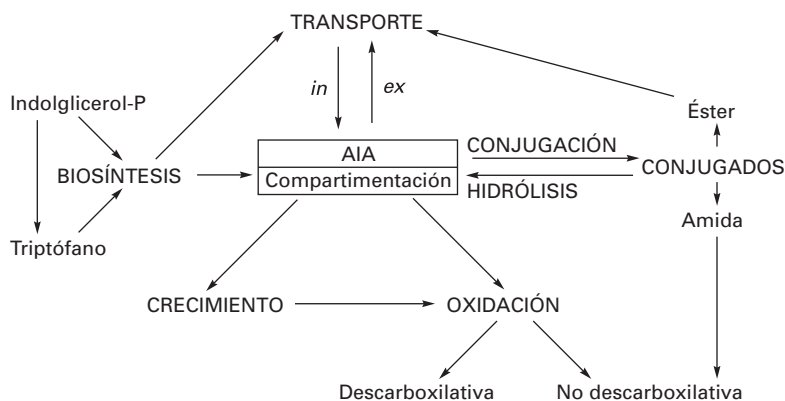


Figura 19-5. Regulación de la concentración de AIA. Los procesos que favorecen la acumulación de AIA en un tejido u órgano son: la biosíntesis in situ, el transporte de llegada (importación, in) y la hidrólisis de conjugados. Los que favorecen la disminución de la concentración de hormona libre son: la conjugación, la oxidación y el transporte de salida (exportación, ex). Tras la actuación de la auxina en el crecimiento, se produce su destrucción. La concentración efectiva de hormona también depende de su adecuada compartimentación en la célula.

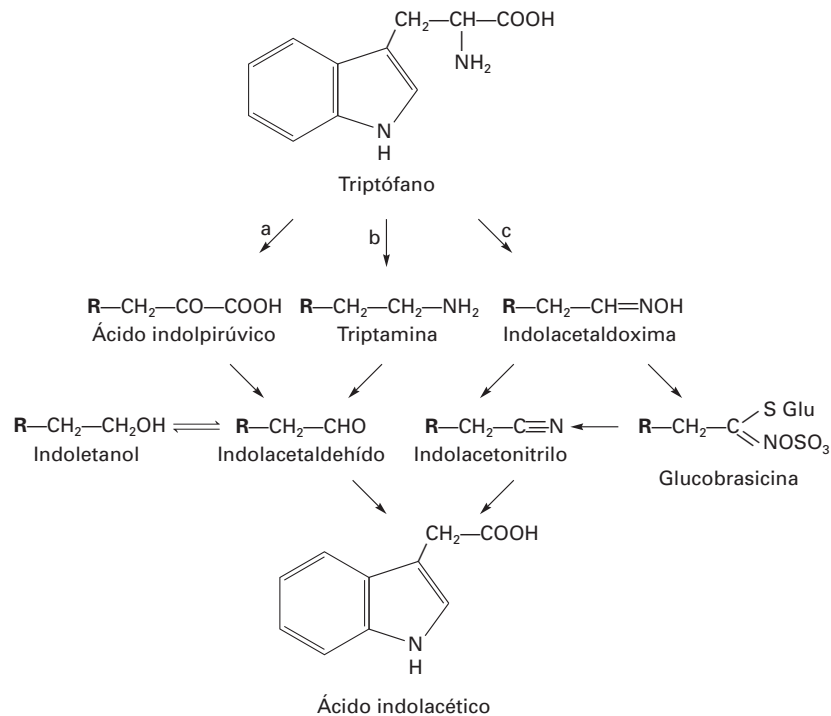


Figura 19-6. Biosíntesis del AIA a partir del triptófano. a) ruta del ácido indolpirúvico; b) ruta de la triptamina; c) ruta de la indolacetaldoxima. (R = anillo indólico).

biológica de los intermediarios (es decir, su capacidad para producir respuestas características de las auxinas cuando se aplican a las plantas), la formación de AIA cuando se adicionan los intermediarios a las plantas, y la detección en extractos vegetales de las actividades enzimáticas implicadas en las diferentes reacciones de cada ruta.

- Ruta del ácido indolpirúvico.** La transaminación del triptófano produce ácido indolpirúvico, que se descarboxila para dar indolacetaldéhidico; la oxidación del aldehído a ácido produce AIA. Como alternativa, algunas plantas pueden reducir el indolacetaldéhidico a indol-etanol, lo que puede incidir en la regulación de la biosíntesis de AIA.
- Ruta de la triptamina.** La descarboxilación del triptófano produce triptamina que, tras una desaminación oxidativa, se transforma en indolacetaldéhidico. Este compuesto es, por tanto, un intermediario común en la ruta anterior.
- Ruta de la indolacetaldoxima.** La descarboxilación oxidativa del triptófano produce indolacetaldoxima que, mediante la pérdida de agua, genera indolacetonitrilo. Esta transformación también puede producirse a través de la formación de glucobrasicina, un metabolito característico de las brassicáceas. La hidrólisis de indolacetonitrilo produce AIA.

Algunas de las enzimas que catalizan las distintas reacciones de cada ruta son poco específicas, y sólo han podido aislarse en algunas especies. Aunque la triptófano oxidasa, que actúa en la ruta de la triptamina, es muy específica de la forma L-triptófano, estudios recientes indican que el AIA

deriva de la forma D-triptófano. Este hecho, que debe ser investigado en profundidad, abre nuevas posibilidades a la regulación de la biosíntesis de AIA basadas en la variación racémica del L-triptófano, que es el isómero más abundante. En las etapas iniciales de la ruta de la indolacetaldoxima participan algunas enzimas específicas del tipo citocromo P450, mientras que las que actúan al final son nitrilasas.

La síntesis del ácido fenilacético (otra auxina natural menos frecuente) se produce a partir de la fenilalanina siguiendo dos rutas similares a las descritas en la síntesis del AIA dependiente de triptófano: la ruta del ácido fenilpirúvico y la de la feniletilamina (análogas a las del ácido indolpirúvico y la triptamina).

El ácido indolbutírico (IBA) se ha encontrado como compuesto endógeno, en forma libre y conjugada. Se formaría a partir del AIA con participación de una IBA-sintasa. Se ha comprobado que ejerce su acción pasando por el peroxisoma, donde sufre una β -oxidación (tiene un número par de carbonos en la cadena lateral) que lo transforma en AIA.

3.1.2. Pueden existir otras rutas alternativas independientes del triptófano

Existen datos experimentales que demuestran que la síntesis de AIA puede ser independiente del triptófano. Así, después de aplicar agua deuterada ($^2\text{H}_2\text{O}$) a ciertos tejidos, el AIA marcado con deuterio (^2H -AIA) se sintetiza antes que el ^2H -triptófano. El precursor de esta ruta parece ser el indolglíce-

rolfosfato, que a su vez es un precursor del triptófano (Fig. 19-7). La existencia de mutantes que bloquean la síntesis de triptófano y son deficientes en AIA corrobora la hipótesis de una ruta independiente del triptófano. Uno de los intermediarios de esta ruta sería el indolacetonitrilo, que también es un intermediario en la ruta del triptófano.

Además de la síntesis del AIA a partir del triptófano o del indolglicerolfosfato, existe otra vía que puede generar AIA. En determinadas etapas del desarrollo, como la germinación de semillas, el AIA necesario para el crecimiento de la planta joven puede producirse, como se explica en el siguiente apartado, a partir de la hidrólisis de auxinas ligadas y almacenadas en la semilla.

3.1.3. ¿Dónde se produce la biosíntesis del AIA en la planta?

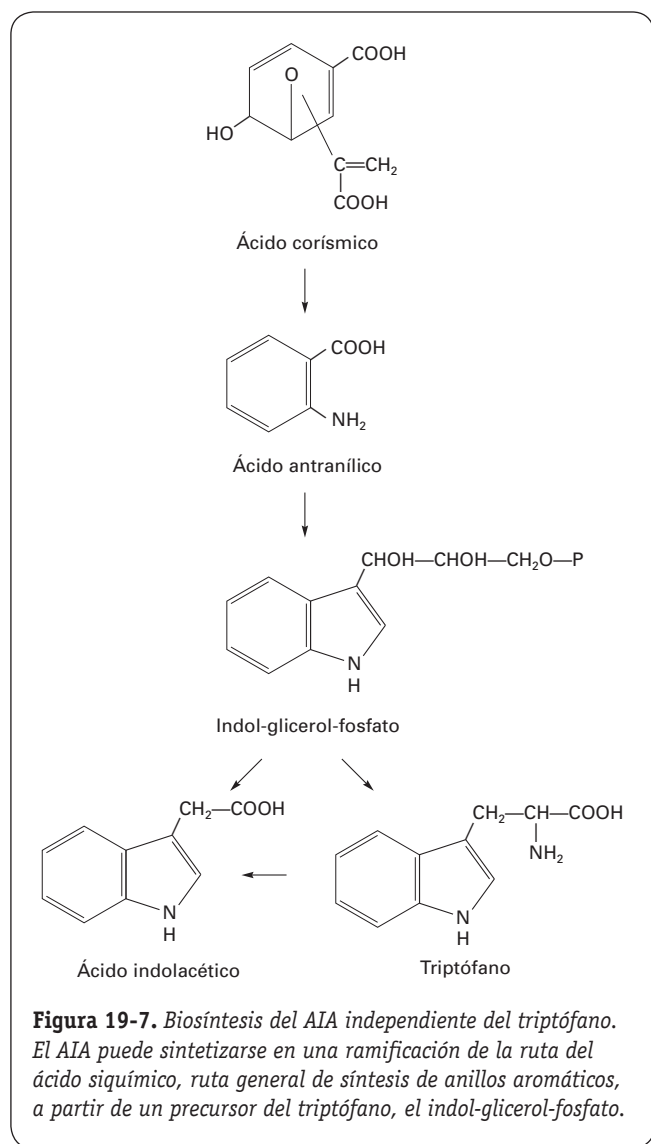
La existencia de una elevada concentración de AIA en un determinado tejido u órgano podría deberse a un balance

favorable del transporte (AIA importado > AIA exportado), y no necesariamente a su capacidad de biosíntesis. Además, deben tenerse en cuenta otros aspectos, como la capacidad del tejido para transformar en AIA los intermediarios de las diferentes rutas, para lo que se requiere la presencia en el tejido de dichos precursores e intermediarios, así como de las enzimas biosintéticas correspondientes. La información disponible indica que los ápices de coleóptilos, los tallos y las hojas jóvenes, el *cámbium* y las semillas en desarrollo son, en general, los lugares más importantes de biosíntesis. No obstante, se ha demostrado que otros órganos, como las hojas adultas, también pueden sintetizar AIA. Aunque las raíces contienen AIA, poseen una capacidad limitada para sintetizarlo, y se considera que la mayor parte del AIA procede del tallo.

Los lugares de la planta en los que se sintetiza o acumula AIA se pueden visualizar transformando plantas de *Arabidopsis thaliana* con una construcción como DR5::GUS ó DR5::GFP. Se trata de acoplar un promotor sensible a la auxina (DR5 procede de la familia de genes GH3; véase el apartado 6.3.2) con un gen que expresa una enzima (β -glucuronidasa) cuyo sustrato, al hidrolizarse, muestra un color azul. También se puede expresar el gen de una proteína con fluorescencia verde (GFP).

3.2. La conjugación del AIA permite conservar la estructura de la hormona, pero la priva de actividad biológica

Los términos «auxina ligada» o «conjugada» se utilizan para designar los compuestos formados por la unión covalente del AIA con otras moléculas. Es muy frecuente la conjugación con aminoácidos y con glucosa, aunque también se han detectado auxinas ligadas de elevado peso molecular en las que el AIA está unido a oligosacáridos, péptidos, e incluso a proteínas. La unión del AIA con los aminoácidos se produce mediante enlaces amida, que forman compuestos como el ácido indolacetilaspártico (AIAasp), mientras que la unión con azúcares se produce mediante enlaces éster, para dar compuestos como el indolacetilglucósido (AIAglu) (Fig. 19-8). Este compuesto puede transformarse en AIAinositol (AIAinos). En algunos tejidos, la mayor parte del AIA se encuentra en forma de conjugados. Los conjugados amida son característicos de las leguminosas, mientras que los ésteres abundan en los cereales. Al suministrar AIA a los tejidos vegetales de muchas especies se forma AIAasp; no obstante, también se han descrito conjugados con otros aminoácidos, como la alanina, la glicina y el ácido glutámico. El AIAglu y el AIAinos son los conjugados éster más frecuentes tras la aplicación de AIA. El sistema enzimático responsable de la síntesis de AIAasp no está caracterizado, pero parece que es posible inducirlo por AIA. Recientemente se ha clonado el gen *iaglu*, que codifica la enzima que esterifica AIA con glucosa.



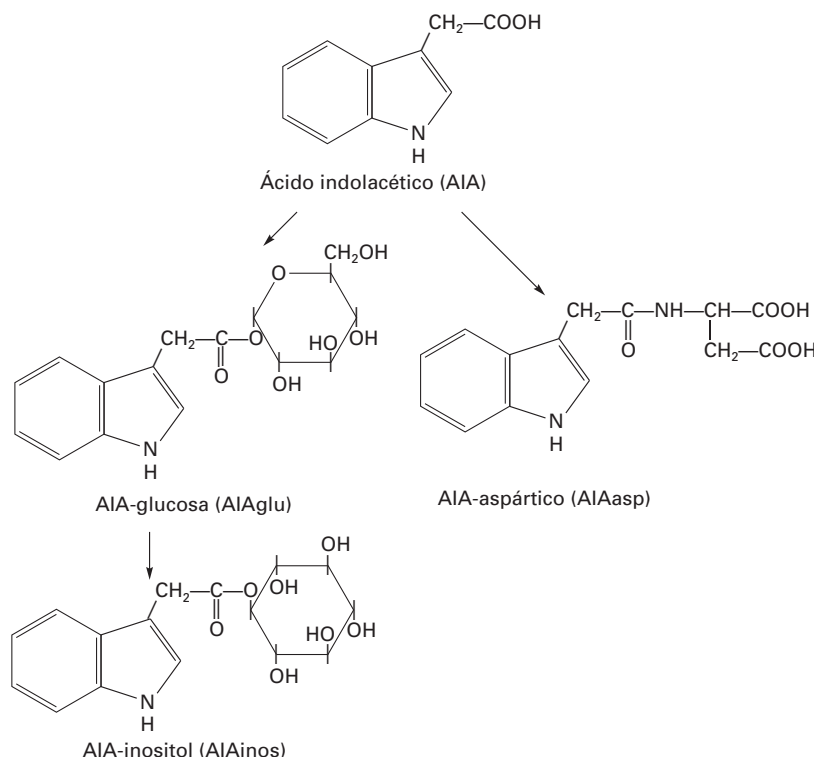


Figura 19-8. Conjugación del AIA. El AIA puede formar conjugados mediante enlace éster con glucosa o inositol, o mediante enlace amida con aminoácidos como el aspártico.

3.2.1. Las auxinas conjugadas pueden desempeñar funciones de almacenamiento, protección, transporte y desintoxicación

La función de almacenamiento o reserva del AIA estriba en la posibilidad de que las auxinas conjugadas puedan ser hidrolizadas en ciertas situaciones para dar AIA libre, lo que implica que algunos procesos de conjugación sean reversibles. En este sentido, es de destacar el hecho de que ya se han clonado genes que codifican enzimas capaces de hidrolizar AIAglu y AIAalanina. También se ha comprobado que el AIAasp se hidroliza durante las etapas de desarrollo, en los que aumenta la demanda de AIA, mientras que se acumula cuando la demanda es baja. Por otra parte, las auxinas ligadas protegen el AIA de la oxidación por la peroxidasa. Durante la germinación de las semillas de maíz, las auxinas ligadas como AIAinos son transportadas desde el endospermo hasta el tallo, donde se hidrolizan para liberar el AIA necesario para el crecimiento. Finalmente, la conjugación puede actuar como mecanismo de desintoxicación para eliminar el exceso de auxina, ya que en algunos tejidos el proceso es irreversible y puede incluir la compartimentación en vacuolas o en otro espacio intra o extracelular. Además, el AIAasp puede ser oxidado de forma no descarboxilativa (véase el apartado 3.3.2), lo que contribuye al catabolismo auxínico.

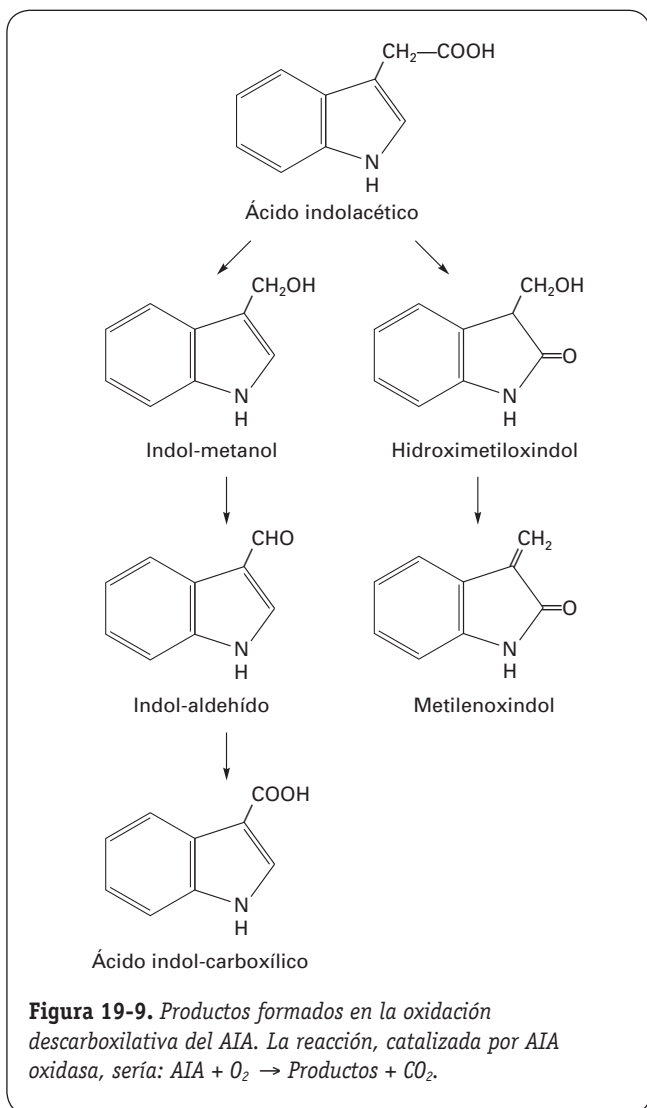
3.3. La oxidación del AIA es un proceso catabólico irreversible que implica la pérdida de la actividad biológica de la hormona

La oxidación puede ser descarboxilativa, si se produce la pérdida como CO_2 del grupo COOH de la cadena lateral, o no descarboxilativa, si se conserva dicha cadena.

Las dos rutas oxidativas son irreversibles, y los productos resultantes carecen de actividad biológica; ello indica que ambos procesos actúan como mecanismos de inactivación y desintoxicación de la hormona.

3.3.1. La oxidación descarboxilativa está catalizada por la AIA oxidasa, una actividad que poseen las peroxidasas vegetales

El peróxido de hidrógeno, los monofenoles y algunos iones metálicos como el Mn^{+2} activan la reacción, mientras que los difenoles y los polifenoles la inhiben. Los productos iniciales de la reacción son el indolmetanol y el hidroximetilindol, dependiendo de que la oxidación se produzca en la cadena lateral o en el núcleo indólico, respectivamente (Fig. 19-9). El indolmetanol es un sustrato de la peroxidasa y se transforma en indolaldehído, que mediante una reacción no



catalizada por la peroxidasa puede transformarse en ácido indolcarboxílico. Por su parte, el hidroximetiloxindol puede deshidratarse hasta metilnoxindol. La relación enzima/sustrato, el pH del medio y la presencia de fenoles y Mn^{+2} pueden modificar la proporción relativa de los productos formados. Tanto el indolmetanol como el ácido indolcarboxílico se han identificado como metabolitos endógenos de algunos tejidos. Aplicando a la planta AIA marcado radiactivamente (con ^{14}C en el C-2 de la cadena lateral o con 3H en el núcleo indólico), se han podido identificar los diferentes productos de la reacción.

3.3.2. La oxidación no descarboxilativa se produce en el anillo indólico del AIA sin pérdida del grupo carboxilo

La reacción da lugar al ácido 2-oxindol-3-acético y, posteriormente, al ácido 7-hidroxi-2-oxindol-3-acético. Como ya se ha indicado, el AIAasp también puede ser oxidado por

esta vía hasta ácido 3-hidroxi-2-oxindol-3-acetilaspártico (Fig. 19-10). Los grupos OH de estos compuestos pueden reaccionar con la glucosa para formar los correspondientes derivados glicosilados (Fig. 19-10). A diferencia de la oxidación descarboxilativa, la oxidación no descarboxilativa sólo se ha podido comprobar en ciertas especies, en alguna de las cuales se ha confirmado la presencia de los productos de oxidación como constituyentes naturales.

En estos aspectos del catabolismo de las auxinas se presenta como tarea importante la identificación de las enzimas implicadas, así como el aislamiento de los genes que las codifican. Todo ello contribuirá a la localización subcelular de los procesos.

4. TRANSPORTE

4.1. Las auxinas se transportan en la planta

Una de las características esenciales de las hormonas es la capacidad para desplazarse desde su lugar de biosíntesis hasta otras partes de la planta, donde ejercen su acción. No obstante, las hormonas vegetales, a diferencia de las animales, también pueden ejercer una acción local en las mismas células en las que se produce su biosíntesis. Esta biosíntesis puede ser estimulada por factores ambientales que, de esta forma, actúan como señal moduladora del desarrollo. Todas las hormonas vegetales pueden recorrer distancias cortas (entre células próximas) por difusión, y llegar a los diferentes órganos a través de los tejidos vasculares (xilema y floema). El AIA, además, puede ser transportado por células no vasculares, como las células del *cámbium* y las células parcialmente diferenciadas asociadas al floema, mediante un proceso diferente que se denomina **transporte polar**. Las auxinas sintéticas también experimentan transporte polar cuando se aplican a la planta.

4.2. El transporte polarizado es característico de las auxinas

Las principales características del transporte polar son las siguientes: 1) la velocidad de transporte es de unos 10 mm h^{-1} , unas 100 veces menor que la del floema, pero casi 100 veces mayor que la de difusión; 2) la dirección del transporte está polarizada, es decir, se produce desde el ápice hacia la base del tallo (transporte basípeto), con independencia de que el tallo se mantenga en posición normal (extremo apical hacia arriba) o invertida (Fig. 19-11); en la raíz, la dirección es preferentemente acrópeta (desde la base hacia el ápice), aunque también existe transporte basípeto (desde el ápice hacia la base) y lateral (desde las células próximas al cilindro vascular hacia la corteza externa) (Fig. 19-12); y 3) el movimiento del AIA requiere energía metabólica, ya que no se produce en ausencia de oxígeno ni en presencia de inhibidores de la síntesis de ATP.

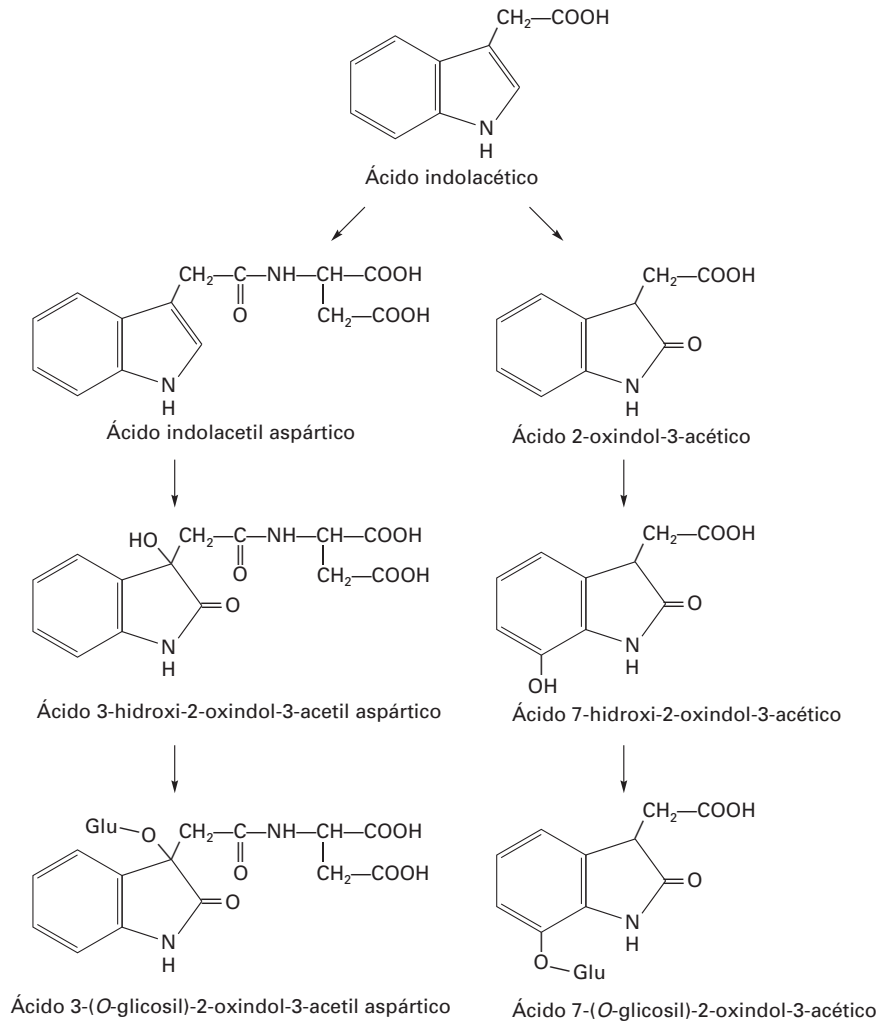


Figura 19-10. Productos formados en la oxidación no descarboxilativa del AIA.

4.3. Los parámetros de transporte de mayor significado fisiológico son la velocidad y la intensidad

La velocidad es el espacio recorrido por unidad de tiempo, mientras que la intensidad representa la cantidad de hormona transportada por unidad de tiempo. Uno de los métodos más utilizados para medir estos dos parámetros fue el propuesto por Van der Weij, tal como se describe en la Figura 19-11. Desde su primer diseño, en 1932, la principal modificación que ha experimentado este método es la utilización de AIA radiactivo, que permite una medida más correcta de la cantidad de hormona transportada que la que proporciona el bioensayo de curvatura utilizado en la formulación original. Los numerosos estudios sobre transporte polar indican que la velocidad de transporte depende de características inherentes a la planta, tales como la especie, el tipo de tejido, la edad, el estado de desarrollo, y otras; mientras que la intensidad depende, además, de factores metodológicos, como la longitud de las secciones o la concentración de hormona aplicada.

4.4. Para explicar el transporte polar de las auxinas se ha propuesto una hipótesis quimiosmótica

4.4.1. La hipótesis se basa en el gradiente de pH entre la pared y el citoplasma, la permeabilidad selectiva de la membrana y la localización de transportadores específicos en la base de las células transportadoras

Esta hipótesis presupone el movimiento del AIA desde una célula a la inmediatamente inferior a lo largo de una columna de células transportadoras (Fig. 19-13). La entrada del AIA a las células transportadoras se produciría por toda la superficie celular, bien mediante transportadores de entrada o por difusión del AIA no disociado (AIAH). La difusión se vería favorecida por el gradiente de pH existente a ambos lados de la membrana plasmática. Este gradiente de pH sería generado por bombas protónicas (H^+ -ATPasas

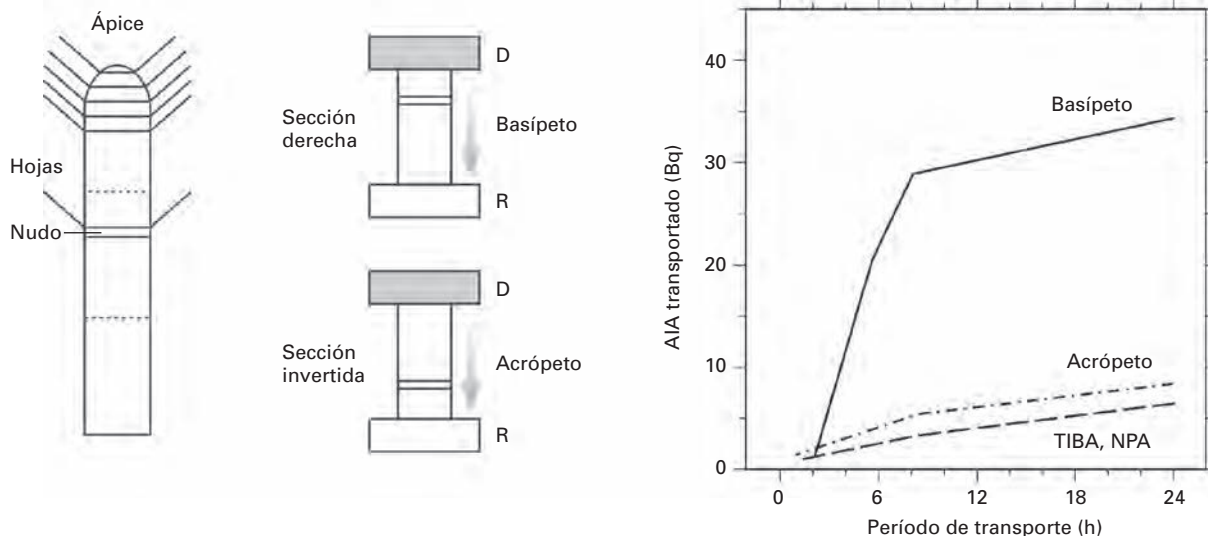


Figura 19-11. Transporte polar del AIA en el tallo de clavel. Una sección de tallo que contiene un nudo se coloca sobre un bloque de agar receptor (R); en el extremo opuesto de la sección se deposita un bloque de agar donador (D) con AIA radiactivo. A intervalos de una hora se cambia el bloque receptor y se determina la radiactividad transportada. En la gráfica se representa la radiactividad transportada en diferentes períodos por secciones derechas (nudo arriba) para medir el transporte basípeto, y por secciones invertidas (nudo abajo) para estudiar el transporte acrópeto. También se muestra el efecto de la adición de los inhibidores TIBA y NPA en las secciones derechas.

de la membrana plasmática), que mantendrían un pH más bajo en la pared celular (pH = 5) que en el citoplasma (pH entre 7 y 7.5). La membrana plasmática, permeable al AIA no disociado (AIAH), permitiría la entrada de la molécula, que, una vez en el interior de la célula, se disociaría en $\text{AIA}^- + \text{H}^+$ debido al mayor pH. La membrana es impermeable al anión (AIA^-), que sólo podría salir de la célula mediante transportadores específicos. La polaridad del transporte vendría dada por la distribución asimétrica de estos transportadores de salida, que estarían localizados, exclusivamente, en la base de las células transportadoras (Fig 19-13). Fuera de la célula, el bajo pH de la pared permitiría la transformación de parte del AIA^- en AIAH, que pasaría a la célula siguiente por difusión (AIAH) o mediante el transportador de entrada (AIA^-). Como la proporción de AIAH en la pared celular depende del pH, los transportadores de entrada aseguran la acumulación de la auxina en el interior de las células transportadoras. Algunas auxinas sintéticas, como el ácido 1-naftilacético, son mucho más permeables que el AIA y no necesitan transportadores de entrada.

4.4.2. Se han identificado genes que codifican proteínas transportadoras

Los transportadores de entrada pertenecen a la familia de las permeasas de aminoácidos. Además del *AUX1*, identificado en diversas especies, en *Arabidopsis thaliana* se han descrito los genes *LAX* (like *AUX*), con estructura y función similares. Son bastante específicos para las auxinas, ya que pueden transportar AIA y 2,4-D pero no triptófano, pese a su simili-

tud estructural con el AIA. Algunos estudios indican que los transportadores de entrada llevan a cabo el cotransporte de $1 \text{ AIA}^- + 2 \text{ H}^+$ (Fig. 19-13). Por su parte, los transportadores de salida presentan homología con los transportadores bacterianos; hasta el momento se ha identificado una familia de genes *PIN* (*pin formed*, así denominado porque el mutante presenta una inflorescencia en forma de alfiler) en diferentes especies. Se ha demostrado que la proteína *PIN1* se localiza en la base de las células transportadoras del tallo, lo que concuerda con la localización de los transportadores de salida prevista en la hipótesis quimiosmótica. En algunas especies se han identificado homólogos de los genes humanos *MDR/PGPs* (*multiple drug resistance/P-glycoproteins*), que parecen codificar transportadores de salida.

La expresión de los genes que codifican los transportadores está regulada por múltiples factores (entre otros, por la propia auxina), pero también existen procesos postranscripcionales que influyen en el transporte polar, tales como la fosforilación y el tráfico de vesículas. La importancia de la fosforilación de proteínas se pone de manifiesto al comprobar que el tratamiento del genotipo silvestre con inhibidores de proteína quinasa o fosfatasa mimetiza el fenotipo de mutantes cuyo transporte polar está alterado. Además, el mutante *pinoid* tiene un fenotipo similar al del mutante *pin*, y el gen *PINOID* codifica la expresión de una proteína quinasa. La alteración de la expresión de este gen altera el transporte polar y la localización subcelular de las proteínas *PIN*. En el transporte polar, el control del tráfico de vesículas es decisivo, ya que la localización subcelular de los transportadores (*PIN* y *AUX1*) en la membrana plasmática implica un tráfico

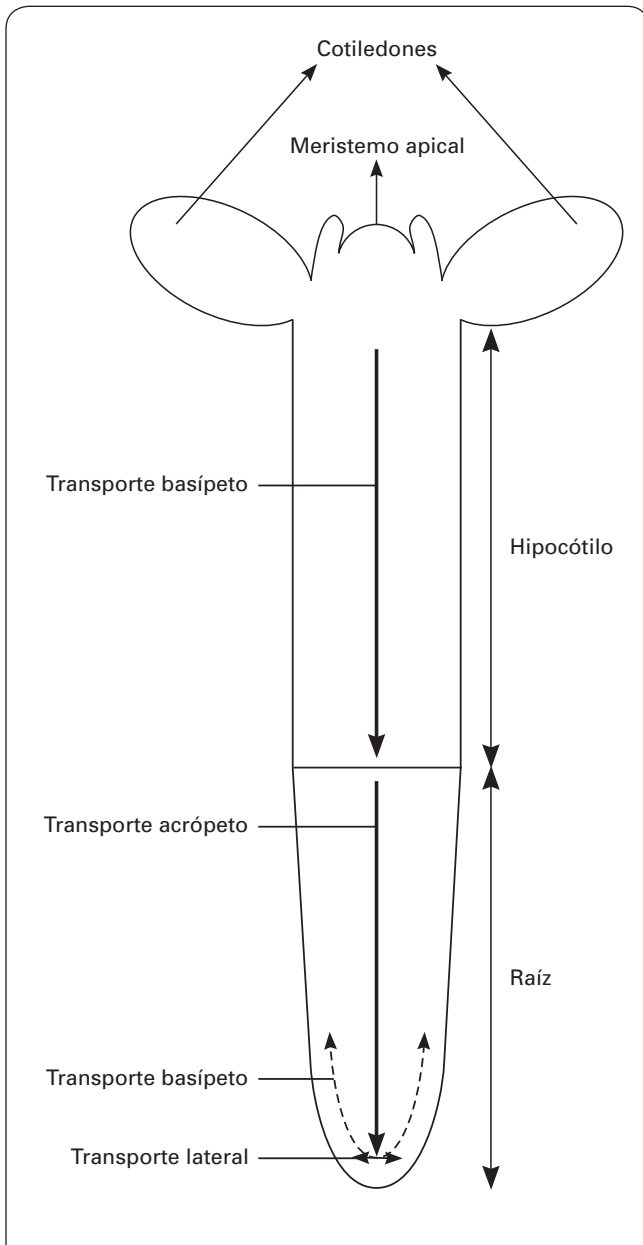


Figura 19-12. Esquema de una planta joven en la que se indica la dirección del transporte polar de auxina: basípeto en el tallo y la raíz y acrópeto en la raíz. En el extremo apical de la raíz existe un transporte lateral que permite a la auxina entrar en la ruta de transporte basípeto.

cíclico entre la membrana y los compartimientos endosómicos. Dicho tráfico puede ser inhibido por sustancias como la brefeldina A (BFA) o el NPA, que de esta forma inhiben el transporte polar de auxina (Fig. 19-13).

En definitiva, la regulación del transporte polar es una de las cuestiones pendientes de resolver. En este sentido, los factores que pueden influir en la síntesis, metabolismo y distribución de los transportadores pueden desempeñar un papel importante. El descubrimiento de que algunos fenoles naturales, como la quercetina, son inhibidores del transporte

polar, amplía las posibilidades de una regulación eficaz del proceso.

4.4.3. Los inhibidores del transporte polar bloquean el transporte de entrada o de salida

La existencia de sustancias, como el ácido naftilftalámico (NPA) y el ácido 2,3,5-triyodobenzoico (TIBA), que interactúan con los transportadores de salida e inhiben el transporte polar, respalda la hipótesis quimiosmótica. Los inhibidores del transporte polar (p. ej., NPA y TIBA) actúan como antiauxinas, y algunos son utilizados en agricultura como

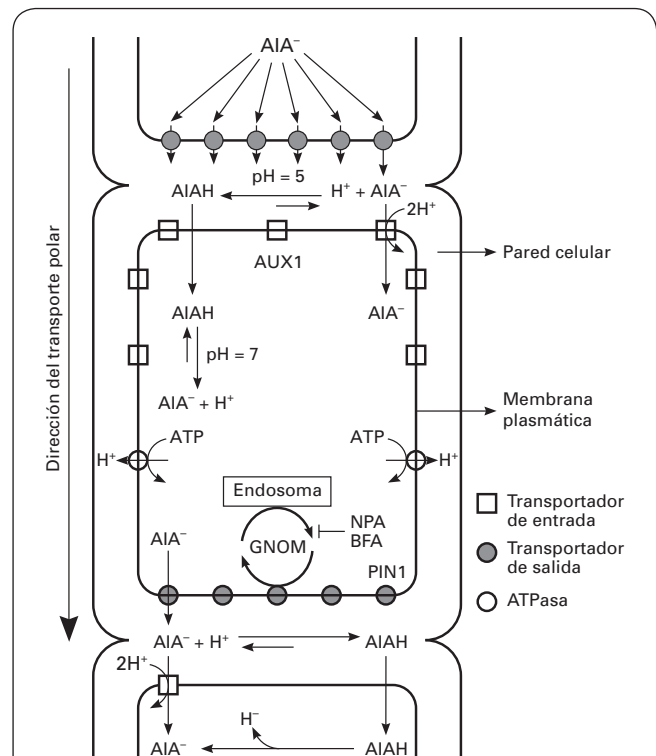


Figura 19-13. Esquema del transporte polar del AIA según la hipótesis quimiosmótica. En el exterior de la célula, la hormona se encuentra en forma no disociada (AIAH) debido al pH ácido de la pared (modulado por ATPasa). El AIAH puede pasar al interior por toda la superficie celular, bien por difusión o mediante transportadores de entrada. Al pH neutro o ligeramente alcalino del citoplasma, el AIAH se disocia en $AIA^- + H^+$. La membrana celular es impermeable al anión acumulado en el citoplasma, que sólo puede pasar mediante los transportadores de salida situados en la base de las células transportadoras. Se indican los transportadores de entrada (cuadrados) y de salida (círculos). El transportador de salida circula rápidamente entre la membrana plasmática y un compartimiento endosómico (endosoma). En esta ciclación participa la proteína GNOM y el proceso puede ser inhibido por sustancias como la brefeldina A (BFA, inhibidor del tráfico de vesículas) y el NPA.

herbicidas. A diferencia de NPA y TIBA, el ácido 1-naftoxiacético (NOA) interacciona con el transportador de entrada.

4.5. El transporte polar desempeña un papel importante en el modo de acción de las auxinas

Aunque no hay dudas de su existencia, el transporte polar de auxinas sigue siendo objeto de investigación porque diversos estudios indican que puede intervenir en procesos como el crecimiento del tallo, la dominancia apical, la diferenciación vascular, el enraizamiento de esquejes (formación de raíces adventicias), la formación de raíces secundarias, la localización en la yema apical de los primordios foliares (lo que determina la filotaxis u ordenación de las hojas en el tallo), y otros.

4.6. Para investigar la acción de las auxinas se han aislado mutantes y se han obtenido plantas transgénicas

Los mutantes sirven como herramientas para investigar la acción de las auxinas a todos los niveles, ya que las mutaciones definen los genes que se requieren para la actividad normal de la auxina en la planta. Utilizando *Arabidopsis thaliana* como planta modelo, se han podido aislar mutantes con alteraciones en las rutas de biosíntesis o conjugación de AIA (*trp*, *sur1*, *fass*), el transporte polar (*aux1*, *mp*, *rcn1*, *pin1*, *pinoid*) o la resistencia a la auxina (*axr1*, *axr2*). El estudio detallado de sus fenotipos puede aportar información valiosa sobre el mecanismo de acción de la hormona, al igual que la clonación de los genes definidos por la mutación. Conviene destacar que, en el caso de la auxina, las mutaciones que eliminan esta hormona son letales. Su presencia continua es necesaria para mantener la viabilidad (igual que sucede con las citoquininas), y ello explicaría la redundancia de algunas rutas metabólicas.

La obtención de plantas transgénicas que sobreexpresen o subexpresen genes relacionados con el metabolismo del AIA también ha resultado ser una estrategia interesante de investigación. Así, se han podido transferir al tabaco los genes *iaaM* e *iaaH* de *Agrobacterium tumefaciens*. Estos genes constituyen una ruta peculiar de la bacteria para transformar el triptófano en AIA. Su expresión en la planta eleva entre cuatro y diez veces los niveles de auxina, lo que provoca un aumento en la conjugación de AIA y ciertos cambios fenotípicos, como la dominancia apical y el desarrollo del sistema vascular más intensos, así como la proliferación de las raíces adventicias en ciertos casos. También se incrementa la producción de etileno y se observan otros cambios fenotípicos achacables a éste, como epinastia y reducción en el crecimiento de los entrenudos.

La transferencia del gen *iaaL* de *Pseudomonas savastanoi* expresa una enzima que conjuga AIA con lisina y reduce hasta veinte veces la concentración endógena de AIA libre. El cambio fenotípico en la planta transgénica se manifiesta tras la floración, con reducción de la dominancia apical y

del sistema vascular y un comportamiento similar al de las plantas que presentan niveles altos de citoquininas.

5. EFECTOS FISIOLÓGICOS

5.1. Las auxinas están implicadas en muchos procesos del desarrollo vegetal porque afectan a la división, el crecimiento y la diferenciación de las células

En general, la acción de las auxinas en el desarrollo vegetal no es una acción aislada, también influyen otras hormonas como el etileno, las giberelinas y las citoquininas. Desde su descubrimiento, el efecto producido por las auxinas en el crecimiento ha sido objeto de numerosos estudios. La respuesta a nivel celular (**alargamiento o elongación de las células** inducidos por auxinas), ha llevado a formular una hipótesis para su mecanismo de acción: la hipótesis del crecimiento por acidificación, que se expone más adelante. Los efectos producidos en el alargamiento de la raíz y los tallos ya han sido comentados (véase la Fig. 19-4). Además de esta acción sobre el crecimiento, las auxinas influyen de forma decisiva en procesos como la división celular del *cámbium*, la diferenciación vascular, la formación de raíces adventicias, la dominancia apical y el desarrollo de los frutos.

La reanudación de la actividad mitótica del *cámbium* en primavera está relacionada con la activación de la biosíntesis de AIA en la yema apical del tallo que se produce después del letargo invernal. En efecto, la actividad del *cámbium* cesa cuando la yema se suprime, y se reanuda cuando se aplica auxina al corte.

La aplicación de una yema o de un bloque de agar con auxina sobre la superficie de un callo (masa indiferenciada de células que se obtiene por cultivo *in vitro* de una pequeña porción de raíz o tallo) estimula la formación de traqueidas por diferenciación de las células del callo. En secciones de tallo de *Coleus* se ha encontrado una correlación positiva entre el número de elementos vasculares (traqueidas y células cribosas) regenerados y la concentración de auxina aplicada. En algunos casos, los efectos de las auxinas parecen estar producidos por la presencia de un gradiente de concentración entre distintas zonas de un órgano. Tal es el caso de las respuestas de crecimiento producidas por la luz y la gravedad (fototropismo y gravitropismo), y de la abscisión de las hojas, descritas con detalle en los Capítulos 24 y 28, respectivamente.

5.1.1. La regeneración por estaquillas o esquejes de tallo es una práctica muy utilizada en la propagación vegetativa de muchas especies agrícolas y ornamentales

En muchos casos el **enraizamiento**, es decir, la formación de raíces adventicias en la base del esqueje, es un proceso

espontáneo, pero en especies recalcitrantes se ha comprobado que la aplicación de AIA y auxinas sintéticas, como IBA y NAA, estimula el enraizamiento. La formación de raíces adventicias en esquejes es un proceso complejo que consta de, al menos, dos etapas: la formación de primordios de raíz a partir de ciertas células susceptibles y el crecimiento de las raíces. Ambas etapas requieren auxina, aunque en cada una de ellas las necesidades son diferentes y dependen de la especie.

5.1.2. El término «dominancia apical» se utiliza para definir la limitación del crecimiento de yemas y brotes laterales impuesta por la yema apical del tallo principal

En muchos árboles y arbustos, la dominancia apical es débil y la ramificación abundante, lo que da una forma más o menos esférica a la parte aérea de la planta. Otras especies, como el girasol o los cereales, presentan una dominancia apical extrema que se traduce en una inhibición del crecimiento de las yemas laterales y, por tanto, en la ausencia de tallos secundarios. En algunas coníferas, como el abeto, el ciprés y otras, la dominancia apical disminuye al aumentar la distancia del tallo principal al ápice, por lo que los tallos secundarios crecen menos cuanto más próximos se encuentran de dicho ápice. En las especies en las que se manifiesta la dominancia apical, la supresión de la yema principal permite el crecimiento de las yemas laterales, crecimiento que es inhibido cuando se aplica auxina al corte. Aunque estos resultados corroboran la idea de que la auxina procedente del ápice inhibe el crecimiento de las yemas laterales, algunos autores disienten de esta interpretación basándose en que la concentración de auxina exógena necesaria es muy superior a la de la yema suprimida. Recientemente se ha comprobado que la yema apical puede inhibir el transporte polar de la auxina endógena en la yema lateral, transporte que sería imprescindible para su crecimiento.

5.1.3. En muchas angiospermas, las auxinas estimulan la partenocarpia de los frutos

Los frutos partenocárpicos se caracterizan por la ausencia de semillas (véase el Capítulo 26). La **partenocarpia** puede producirse en algunas plantas de forma espontánea (p. ej., en algunas variedades de uva y especies cítricas), cuyos ovarios contienen mayor concentración de auxina que aquellas que precisan fertilización. La auxina es esencial para el crecimiento de los frutos, lo que en gran medida se debe al alargamiento de sus células. En algunas especies se ha comprobado que la polinización es la señal que estimula la biosíntesis de AIA en el ovario.

6. MECANISMO DE ACCIÓN

6.1. Investigar el mecanismo de acción de la auxina es una tarea reduccionista que permite conocer las piezas que lo componen y cómo funciona

En el apartado 5.4 del capítulo anterior se explica la forma en que actúa una hormona. En este caso, habría que describir (o reconstruir *in vitro*) todos los pasos que llevan desde la unión de la auxina a su receptor, pasando por la transducción de esta señal, hasta la medición de una respuesta fisiológica concreta (crecimiento o diferenciación). Por el momento, faltan elementos para completar esta secuencia y no hay criterios suficientes para vincular la simple unión de una molécula de auxina a una posible proteína receptora, con una determinada respuesta fisiológica. Mientras tanto, la investigación se puede continuar siguiendo alguno de los siguientes enfoques:

- Escoger un modelo fisiológico concreto (crecimiento de un coleóptilo o hipocótilo), y diseccionar las fases y los procesos que lo componen, aislando aquellos en los que puede participar la auxina. Sucesivamente se iría acotando el campo de estudio, desde el nivel tisular hacia el celular y el molecular.
- Buscar piezas sueltas del sistema (receptores, mensajeros secundarios, genes), caracterizarlas e integrarlas, para demostrar que forman parte del mecanismo que se investiga.

El objetivo final, como es lógico, será encontrar un punto de convergencia entre ambos enfoques.

6.2. El crecimiento de órganos sencillos es un buen modelo para saber cómo actúan las auxinas

La germinación de las semillas produce unas plántulas que poseen órganos sencillos (coleóptilos en las monocotiledóneas, hipocótilos o epicótilos en las dicotiledóneas) que responden a las auxinas de forma análoga a la que muestra la Figura 19-4. El crecimiento, que se observa en secciones aisladas de dichos órganos, puede reflejar la liberación de las restricciones que unos tejidos imponen sobre otros (la epidermis limita la expansión de otras células). Sin embargo, el incremento global e irreversible del tamaño del órgano integra el crecimiento de las células individuales de los distintos tejidos que lo constituyen.

6.2.1. ¿Cómo crece la célula vegetal?

La estructura de las células vegetales (véase el Capítulo 1) está condicionada por su contenido en agua y por su pared rí-

gida. Para que una célula crezca se necesita una fuerza directriz (gradiente de potencial hídrico favorable para la entrada de agua en la célula), así como una alteración de las propiedades elásticas y plásticas de la pared (ablandamiento que permita la expansión celular gracias a la tensión de turgencia celular). El aumento de tamaño irá acompañado por la síntesis de nuevos materiales que refuercen las membranas y rellenen las paredes y los espacios apoplásticos en crecimiento. Este crecimiento continuará hasta que, por razones deterministas no del todo aclaradas, se produzca su cese. La consolidación de las nuevas estructuras formadas hará irreversible el proceso, y la célula habrá alcanzado así, definitivamente, un mayor tamaño.

6.2.1.1. *El crecimiento tiene una interpretación biofísica*

Una ecuación que exprese la velocidad de incremento en el volumen celular (dV/dt) debe contener términos relativos a las fuerzas directrices que se acaban de indicar. En tal sentido, se ha deducido la ecuación:

$$\frac{dV}{dt} = \frac{m \cdot L}{m + L} (\psi_a - \pi - Y)$$

en la que m (extensibilidad de la pared) e Y (valor umbral de turgencia que debe superarse para que exista expansión celular) son términos que regulan la extensión irreversible de la pared. Por otra parte, L (conductividad hidráulica), π (potencial osmótico de la célula) y ψ_a (potencial hídrico apoplástico) son parámetros determinantes de la absorción de agua.

En consecuencia, cualquier factor que desencadene el fenómeno del crecimiento celular deberá aumentar m , L o ψ_a , o bien disminuir π o Y .

6.2.1.2. *El crecimiento tiene una interpretación bioquímica*

La pared celular es un entramado de fibras de celulosa unidas a hemicelulosas, sustancias pécticas, y algunas proteínas estructurales. El crecimiento implica la ruptura de algunos de estos enlaces para permitir la expansión celular. En las monocotiledóneas, parece existir una degradación en ciertos glucanos de la pared, mientras que en las dicotiledóneas probablemente tenga lugar una despolimerización en los xiloglucanos. No se conocen del todo las enzimas implicadas en ambos procesos. La ruptura de puentes de hidrógeno entre microfibrillas de celulosa, mediada por las proteínas llamadas «expansinas», es otro mecanismo importante (véase el Capítulo 1).

6.2.2. *¿Cómo hace crecer el AIA a la célula?*

Los apartados anteriores llevan a la conclusión de que la auxina debe estimular algún tipo de comunicación entre la célula y la pared que la envuelve. Desde el punto de vista bioquímico,

significa la producción, por parte de la auxina, de uno o varios «factores de ablandamiento de la pared», cuya naturaleza se investiga. Por otra parte, desde el punto de vista biofísico, parece ser que la auxina ejerce su efecto causando un rápido incremento en la extensibilidad celular (m).

6.2.2.1. *El efecto de la auxina se observa siguiendo la cinética del crecimiento*

Existen dispositivos (auxanómetros) que permiten seguir la evolución del crecimiento en el tiempo. La Figura 19-14 representa el efecto de la adición de AIA a una sección de hipocótilo de una dicotiledónea. Modificando las distintas condiciones experimentales en estos ensayos, se han podido conocer algunas de las características de la elongación celular inducida por auxinas. Así: a) se observa un período de latencia (8-10 min) entre la aplicación de la hormona y el incremento en la velocidad de crecimiento; b) se requiere la presencia continua de auxina y una osmorregulación suficiente para que la turgencia esté siempre por encima del umbral (Y), necesario para iniciar el crecimiento, y c) el proceso requiere energía (ATP; ATPasas funcionales), así como la síntesis de proteínas, ya que la acción de la auxina es bloqueada en ambos casos por inhibidores específicos.

6.2.2.2. *La auxina podría ejercer su acción a través de la acidificación del apoplasto*

En 1970, Rayle y Cleland en los Estados Unidos y Hager en Alemania plantearon, por separado, que los protones podrían ser el «factor de ablandamiento celular». Aunque existen diferencias de pH entre compartimientos celulares (Fig. 19-13), esta «teoría del crecimiento por acidificación» sostiene que la estimulación del crecimiento producida por la auxina se debería a la excreción de protones hacia el espacio apoplástico, con disminución de su pH por debajo de 5.5, y la consiguiente alteración en la estabilidad de los enlaces de la pared o la actividad de ciertas enzimas. La teoría exige que se cumplan algunas premisas: a) que la auxina provoque la excreción de protones en las células que crecen; b) que la adición de ácidos a los tejidos ejerza un efecto similar al de la auxina (siempre que la acidez alcance las paredes celulares); c) que las disoluciones reguladoras neutras, infiltradas en los tejidos, contrarresten la acción de la hormona; y d) que cualquier agente que induzca la excreción de protones también provoque un crecimiento celular rápido. Algunos tejidos cumplen estos requisitos, pero existen lagunas que impiden generalizar la teoría. Así, el crecimiento mediante ácidos no es sostenido, mientras que con la auxina sí lo es. Por tanto, deben existir más «factores de ablandamiento», además de los protones. Por otra parte, es necesario explicar el período de latencia en la acción. En cualquier caso, existen varias alternativas para justificar la salida de protones, que podría tener lugar por activación de las ATPasas, alteración en su velocidad de recambio (aumento en el número de moléculas de enzima) o, si la excreción de protones tiene lugar de forma masiva, a

través de la fusión de vesículas del aparato de Golgi (cargadas de protones) con la membrana celular externa.

6.2.2.3. El crecimiento podría implicar varios procesos con fases que se solapan

La observación de la cinética de la Figura 19-14 llevó a Vanderhoef a extrapolar el trazo continuo y sugerir que, tras la aplicación de auxina, existiría una primera fase del crecimiento, que duraría aproximadamente una hora, seguida de una segunda fase más prolongada, en la que la velocidad de crecimiento se mantendría estacionaria. En la primera fase existen cambios asociados a la membrana plasmática que implican flujo de iones (K^+), hiperpolarización, o activación de MAP-quinasas. También se manifiestan los genes de expresión rápida (véase el apartado 6.3.2). En la segunda fase se expresan otros genes relacionados con la modificación y la construcción de nuevos materiales de la pared celular.

6.3. El aislamiento de elementos de la cadena de percepción y transducción de la señal hormonal es otra forma de investigar el mecanismo de acción

Esta estrategia se basa en asumir el modelo propuesto en el apartado 5.4 del capítulo anterior, profundizando en las distintas etapas que allí se indican. Pero hay que distinguir entre los efectos debidos estrictamente a la hormona, y aquellos otros que pueden aparecer como consecuencia de una situación de estrés por alterarse el sutil equilibrio entre concentración y sensibilidad en los tejidos. A veces, un tratamiento excesivo con auxina origina síntomas similares

a los producidos por el etileno, y la aparición de éste puede ser la respuesta al estrés causado por aquélla.

6.3.1. Existen receptores auxínicos

Una proteína se considera receptor auxínico cuando presenta una elevada especificidad para estas sustancias (naturales o sintéticas), así como una alta afinidad, con valores de la constante de disociación del complejo hormona-receptor (K_d) próximos a la concentración endógena de auxina (10^{-7} M). La unión es reversible y no tiene carácter catalítico.

El uso de técnicas sofisticadas de separación (como las columnas de inmunoafinidad) ha permitido caracterizar algunas proteínas que podrían englobarse en la categoría de receptores. No obstante, se han descartado varias por tratarse en realidad de transportadores, e incluso se ha descartado una transferasa de glutatión con alta afinidad por el AIA, pero cuya función era la desintoxicación.

Se admite que pueden existir dos tipos de receptores, uno externo y otro intracelular. Al fin y al cabo, como se indicó en el apartado 4.4, el citoplasma es una trampa para el AIA⁻ más aún si el pH externo es más ácido (el AIA y el pH no tienen efectos aditivos sobre el crecimiento, es decir, no actúan independientemente, sino más bien de modo sinérgico).

El receptor más discutido es una ABP1 (*auxin binding protein 1*) aislada en coleóptilos del maíz, que consiste en un dímero con dos subunidades de 22 kDa cada una. La proteína se ha purificado y secuenciado, habiéndose obtenido su correspondiente cDNA. Curiosamente, la secuencia proteica contiene un motivo KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu), característico de las proteínas que son retenidas en el lumen del retículo endoplasmático. Aunque ésta podría ser su localización subcelular, ello contradice la idea de que este receptor debería estar situado en la membrana externa de la célula. Es posible que una pequeña fracción se sitúe allí, pues cuando se añade ABP1 purificado a protoplastos del tabaco y se les trata con auxina, se observa un aumento del volumen y un incremento en la ATPasa de membrana. No obstante, si se incuban los protoplastos con anticuerpos contra ABP1, para bloquear su actividad receptora, no se inhiben otras repuestas a la auxina. Ello sugiere la posibilidad de que existan receptores alternativos.

En cualquier caso, la unión al receptor es el primer paso de una cadena de transmisión de señales en la que pueden estar involucrados mensajeros secundarios como los señalados en el apartado 5.4.2 del capítulo anterior. En el caso de las auxinas, todavía se debe profundizar más en este campo, aunque existen indicios de la participación de la fosfolipasa A_2 , la acidificación del citoplasma, el incremento del calcio citoplásmico o la activación de MAP-quinasas.

Además de lo expuesto en los párrafos anteriores, se han aportado pruebas de la existencia de un receptor intracelular al que se uniría directamente el AIA, dando como resultado un complejo que podría alterar la pauta de expresión génica sin que fuera necesario otro tipo de transducción de señal. Así, al investigar el transporte polar se identificó el gen *TIR1* (*transport inhibitor response 1*) en plantas de *Arabidopsis*

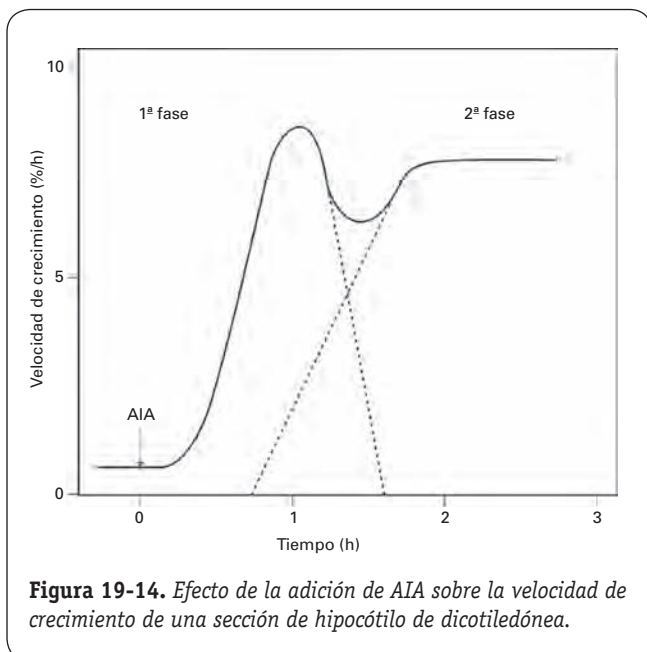


Figura 19-14. Efecto de la adición de AIA sobre la velocidad de crecimiento de una sección de hipocótilo de dicotiledónea.

tolerantes al inhibidor NPA. Después se vio que TIR1 estaba relacionado con la acción de la auxina y, al clonar el gen, se comprobó que su producto pertenecía a una clase de proteínas F-box solubles, implicadas en los procesos proteolíticos en los que participa la ubiquitina. Los grupos de Estelle M. y Leyser O. (2005) han demostrado, por separado, que el AIA se une a la proteína TIR1 (formando parte del complejo de ubiquitinización SCF^{TIR1}) con una afinidad (Kd = 50 nM) que se correspondería bien con la concentración de auxina esperable *in vivo*. Los complejos SCF regulan la cantidad de proteína presente en la célula eucariótica, ya que catalizan la adición (dependiente de ATP) de moléculas de ubiquitina para marcar a las proteínas que deben ser conducidas hacia el proteosoma 26S, para su degradación.

6.3.2. Las auxinas modifican la expresión génica

En los años sesenta del siglo pasado se demostró, mediante el uso de inhibidores de la transcripción y la traducción, que la elongación sostenida de secciones de coleóptilos e hipocótilos requería la síntesis continua de RNA y proteínas. Después, las nuevas técnicas de biología molecular han dado paso a otros enfoques. La incubación de las secciones con disoluciones que contienen aminoácidos marcados radiactivamente permite separar, por electroforesis bidimensional en geles de poli-acrilamida, distintos polipéptidos marcados *in vivo*. La incubación en presencia o ausencia de auxina muestra que ésta induce marcaciones específicas. Por otra parte, se han construido genotecas de cDNA preparadas a partir de mRNA extraído de tejido tratado con auxina. Mediante métodos de búsqueda por hibridación diferencial, se han caracterizado numerosos cDNA de respuesta auxínica que se pueden agrupar en dos clases: a) secuencias que se inducen después de una hora o más de exposición a la auxina (respuestas a largo plazo), y b) secuencias que son moduladas a los pocos minutos de la aplicación de auxina (respuestas a corto plazo).

La expresión rápida de estos últimos genes es independiente de la síntesis *de novo* de proteínas, por lo que se cree que los factores necesarios para la respuesta ya existirían antes de la adición de auxina. La cicloheximida, en lugar de inhibir la síntesis de estas proteínas, la estimula. Por tanto, el gen podría estar regulado por proteínas represoras de vida corta, y el recambio rápido de estas últimas es el que se vería afectado por la cicloheximida. Algunos genes de expresión rápida codifican proteínas necesarias para regular la transcripción de los genes de expresión tardía que se requieren en las respuestas hormonales a largo plazo, y a los que sí afecta la inhibición por cicloheximida.

Existen varias clases de genes de expresión rápida en respuesta a la auxina:

SAUR (*small auxin up-regulated RNA*): Se trata de un grupo de RNA que se induce en hipocótilos de soja al cabo de 2-5 minutos de ser tratados con auxina. Se conocen cinco genes agrupados, sin intrones. Las proteínas que codifican podrían afectar al crecimiento, aunque su expresión más característica se ha

observado en experimentos sobre gravitropismo. Los SAUR se acumulan en la parte inferior de un hipocótilo de soja, que se curva como respuesta a la gravedad (Fig. 19-15).

GH3 (toman el nombre de Gretchen Hagen, su descubridora): Se inducen en la soja o en *Arabidopsis* después de 5 minutos de tratamiento con auxina. Su mutación produce enanismo. Participan en la regulación de la concentración de AIA por conjugación. Su promotor típico se utiliza para la detección de auxinas (DR5::GUS, véase el apartado 3.1.3).

AUX/IAA: En *Arabidopsis* se conocen 29 miembros de esta familia de genes que se inducen entre 5 y 60 minutos después de la aplicación hormonal. Las proteínas que expresan sufren un recambio rápido, pues su vida media es muy corta (7 min.), y tienen una localización nuclear. El mecanismo de acción de estas proteínas es el que se ha investigado con más detalle (véase el apartado 6.3.3).

Además de los anteriores, existen otros genes inducibles por auxinas (relacionados con la síntesis de etileno, con la división celular, o con proteínas moduladas por calcio, de unión al DNA, asociadas a las paredes celulares o a transferasas). También se han descrito algunos genes del metabolismo secundario o relacionados con la patogénesis que son reprimidos por la auxina. En todo caso, no debe olvidarse lo señalado al principio (apartado 6.3) sobre los efectos primarios de la hormona y los efectos debidos al estrés.

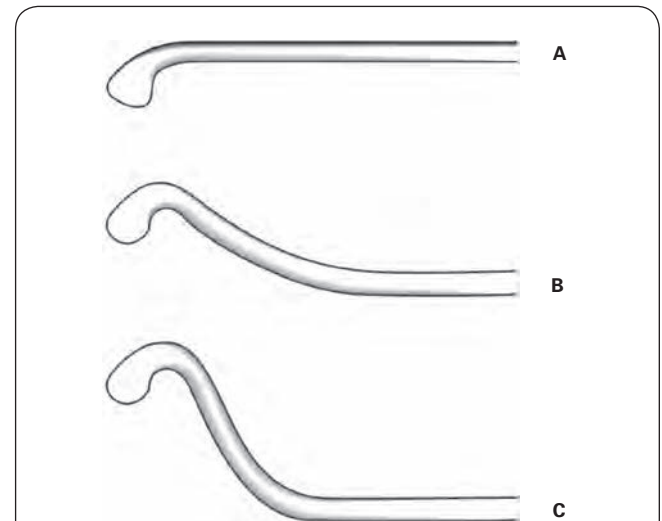


Figura 19-15. Representación esquemática de la expresión asimétrica de SAUR durante la respuesta gravitropica de hipocótilos de soja. La línea indica el contorno del hipocótilo. Las zonas oscuras muestran la intensidad de la expresión de SAUR. La distribución simétrica inicial (A) se altera durante la curvatura gravitropica, produciéndose mayor expresión en la zona inferior con mayor crecimiento (B); la simetría se restablece en la porción erecta del hipocótilo (C). La expresión de SAUR se localiza principalmente en la epidermis y la corteza.

6.3.3. Las proteínas AUX/IAA regulan de forma negativa la expresión génica

En los genes de expresión rápida existen promotores con secuencias TGCTC características que reciben el nombre de *elementos de respuesta a la auxina* (AuxRE). A ellos se unen los factores de respuesta a la auxina (ARF), que son proteínas nucleares de vida corta que actúan como factores de transcripción. Existe especificidad en esta unión (se conocen 23 proteínas ARF diferentes en *Arabidopsis*), lo que puede determinar la activación o la represión del gen.

Sobre este sistema actúan las proteínas AUX/IAA, que actúan como reguladores secundarios. Son también proteínas nucleares de vida corta que se unen a las ARF formando heterodímeros; en estas uniones puede haber también especificidad (se han descrito hasta 29 AUX/IAA en *Arabidopsis*). La unión de una AUX/IAA con una ARF permite la regulación de la transcripción de los genes. De hecho, una AUX/IAA reprime la transcripción si la ARF es un factor activador, mientras que si la ARF es un factor represor, la AUX/IAA actuaría como un activador transcripcional.

Con este modelo se puede explicar un mecanismo de acción del AIA:

Cuando su concentración es baja, el heterodímero AUX/IAA-ARF permanece estable y no hay expresión ni represión del gen regulado por los AuxRE (Fig. 19-16 A).

Si la concentración de AIA supera un cierto umbral, se inicia un cambio de fase en el funcionamiento celular. El AIA se une a su receptor TIR1, reclutándose las proteínas restantes que forman el complejo SCF^{TIR1}. Este proceso debe completarse en el núcleo y condiciona el inicio del proceso de marcación de AUX/IAA con ubiquitina (lo que requiere el reclutamiento de otras proteínas

adicionales). El resultado final es el envío de la proteína marcada al proteosoma 26S para su destrucción (Fig. 19-16 B).

La destrucción de AUX/IAA rompe el heterodímero formado con ARF; de este modo puede iniciarse la regulación definitiva del gen y la expresión de las proteínas que llevarán a cabo en la célula los cambios atribuibles a la acción auxínica. Se sabe además que, una vez destruida la AUX/IAA, la proteína ARF puede formar homodímeros consigo misma, lo que potencia la expresión del gen.

El mecanismo suele contar con otro bucle de regulación, ya que entre los genes expresados suele estar el gen que codifica para la expresión de la misma proteína AUX/IAA; esta proteína volvería a ejercer de nuevo su función, una vez que la concentración de AIA disminuyese por debajo de su umbral. El sistema quedaría preparado para un nuevo cambio de fase en cuanto se alterase otra vez la concentración endógena de AIA.

7. APLICACIONES COMERCIALES

7.1. Las auxinas, utilizadas como fitorreguladores, tienen numerosas aplicaciones comerciales, tanto agronómicas como biotecnológicas

Los fitorreguladores sintéticos constituyen, dentro de los agroquímicos, un grupo de sustancias que, añadidas en cantidades muy pequeñas, modifican las pautas normales de desarrollo de las plantas y pueden ayudar a incrementar la productividad, mejorar la calidad del cultivo, facilitar la recolección, etcétera.

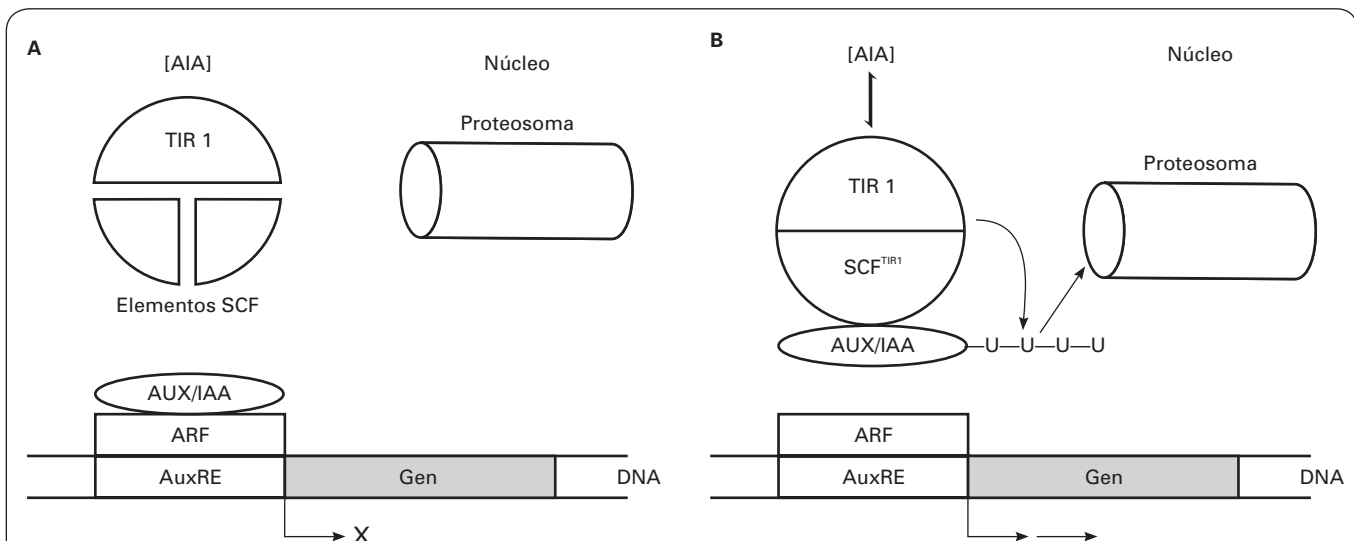


Figura 19-16. Efecto de la concentración de auxina sobre la expresión génica. **A.** Cuando la concentración de AIA es baja, el heterodímero formado por las proteínas AUX/IAA y ARF se mantiene unido sobre la región AuxRE, impidiendo la regulación del gen de respuesta a la auxina. **B.** Cuando la concentración de AIA es alta, éste se une con un receptor TIR1 del complejo de ubiquitinización (SCF^{TIR1}) que marca a la proteína AUX/IAA con ubiquitina (poli-U) para que se destruya en el proteosoma. La ruptura del heterodímero permite la regulación del gen.

CUADRO 19-1. Algunos fitorreguladores auxínicos utilizados en agronomía. El nombre químico, que da alguna idea sobre su estructura, suele simplificarse en un nombre común más sencillo de utilizar (siglas o acrónimo). En cada caso se indica su aplicación más típica.

Nombre común	Nombre químico	Aplicaciones
IBA	Ácido indol-3-butírico	• Enraizamiento
NAA	Ácido 1-naftilacético	• Enraizamiento
4-CPA	Ácido 4-clorofenoxiacético	• Aclareo
2-NOA	Ácido 2-naftiloxiacético	• Retardante en caída de frutos
NAA-m	Ácido 2-(1-naftil) acetamida	• Cuajado de frutos
2,4-D	Ácido 2,4-diclorofenoxiacético (en forma de ésteres y sales)	• Aclareo
2,4-DP	Ácido 2-(2,4-diclorofenoxi) propiónico	• Cuajado de frutos
		• Retardo en la caída de frutos
		• Modificador del aspecto de los frutos

Los fitorreguladores auxínicos sintéticos fueron utilizados al principio como herbicidas debido a su estabilidad (son muy resistentes a la oxidación por la luz, las enzimas, u otros agentes). Actualmente se comercializan en diversas formulaciones con numerosas posibilidades de empleo según las circunstancias agrícolas, los tipos de cultivo y las formas de aplicación que existen. Los tipos de fitorregula-

dores, y sus aplicaciones, dosificación y formas de empleo se recogen en catálogos, *vademécums* y guías de productos agroquímicos.

En el Cuadro 19-1 se muestran algunos de los fitorreguladores auxínicos más utilizados, con su nomenclatura química y sus nombres comunes. Junto a ellos se indican sus aplicaciones más extendidas.



RESUMEN

- Las observaciones sobre los tropismos permitieron descubrir las primeras hormonas vegetales, a las que se llamó auxinas. Su representante característico es el ácido indolacético (AIA), aunque existen otras auxinas naturales y sintéticas.
- La respuesta de la planta a la auxina depende de su concentración y de la sensibilidad de los tejidos frente a ella.
- La regulación de la concentración hormonal endógena implica procesos metabólicos de biosíntesis, conjugación y oxidación. La compartimentación y el transporte de las auxinas son también importantes.
- El transporte polarizado es característico de las auxinas. La presencia y la distribución subcelular asimétrica de los transportadores tiene especial relevancia fisiológica.
- Las auxinas participan en muchos procesos del desarrollo vegetal: crecimiento, dominancia apical, enraizamiento, partenocarpia, tropismos, abscisión, etc.; por ello se utilizan como fitorreguladores auxinas sintéticas, con numerosas aplicaciones agronómicas y biotecnológicas.
- Las auxinas favorecen el crecimiento porque modifican la extensibilidad celular, al producir factores que ablandan la pared. Uno de estos factores podría ser la acidificación del espacio apoplástico.
- Se han obtenido mutantes y plantas transgénicas que se emplean como herramientas para investigar el mecanismo de acción del AIA.
- Las auxinas también ejercen su acción modificando la expresión génica.
- La unión de la auxina a un receptor soluble intracelular puede poner en marcha un proceso de proteólisis en el que interviene la ubiquitina. En este caso se destruyen proteínas represoras de factores de transcripción que, a su vez, afectan a la expresión de los genes.

PROBLEMAS Y CUESTIONES



- 1 Después de decapitar un coleóptilo, el ápice se coloca sobre un bloque de agar y éste, a su vez, se sitúa de forma simétrica sobre el coleóptilo decapitado: a) ¿Qué respuesta cabe esperar ante una iluminación lateral? b) ¿Qué ocurriría si el bloque de agar fuera sustituido por una lámina metálica?
- 2 Para estudiar el metabolismo auxínico se utilizan disoluciones de AIA marcado con ^{14}C en el grupo carboxilo (I) o en el C-2 de la cadena lateral (II). Indique el tipo de productos metabólicos radiactivos que pueden aparecer cuando a las disoluciones se adicionan secciones de tallo (a) o peroxidasa purificada (b).
- 3 Después de incubar material vegetal con ^3H -AIA, se aíslan, entre otros, los productos radiactivos A y B. Cuando una disolución de A se incubaba en dicho material, se obtiene AIA radiactivo, lo que no sucede con B. Indique la posible naturaleza química de A y B y comente las capacidades metabólicas del material.
- 4 Teniendo en cuenta los requerimientos estructurales de las auxinas (Fig. 19-3), ¿cómo justificaría la ausencia de actividad auxínica en las auxinas ligadas y en los productos de oxidación?
- 5 El tramo lineal de la curva de transporte basípeto representado en la Figura 19-11 se ajusta por mínimos cuadrados, obteniéndose la ecuación: $y = 6.0x - 12.6$. Teniendo en cuenta que la pendiente de la ecuación representa la intensidad del transporte, y que el punto de corte con el eje de abscisas mide el tiempo del transporte, calcule la intensidad (en Bq h^{-1}) y la velocidad del transporte (en mm h^{-1}) para una longitud de sección de 10 mm.
- 6 Cuando una sección de epicótilo o hipocótilo localizada en la zona de crecimiento se divide parcialmente, en sentido longitudinal, las dos mitades resultantes se separan y curvan hacia el exterior. La curvatura es escasa si previamente se suprime la epidermis, y cambia si la sección partida se mantiene inmersa durante unas horas en disolución de AIA.
 - a) ¿Qué fenómeno puede explicar la curvatura? b) ¿Qué tejidos pueden limitar el crecimiento del órgano inducido por AIA?
- 7 Algunos autores han relacionado la curvatura fototrópica con alteraciones en el transporte polar del AIA. ¿Qué efectos podría producir la luz en el sistema de transporte polar de la zona iluminada?
- 8 Como se observa en la Figura 19-4, una alta concentración de auxina puede inhibir el crecimiento. Suponiendo que el receptor hormonal presente dos puntos de unión con la molécula de auxina, ¿cómo podría explicarse la citada inhibición?
- 9 Después de triturar un tejido, se obtiene un extracto capaz de catalizar la oxidación descarboxilativa del AIA. ¿Puede deducirse que la reacción también se produciría en el tejido intacto?
- 10 Cuando se determina el contenido endógeno de AIA a lo largo del tallo, la zona de crecimiento presenta, en general, una concentración mayor que las zonas inferiores sin crecimiento. En este caso, ¿cuál sería el factor limitante del crecimiento: la concentración de la hormona o la sensibilidad del tejido?
- 11 La ecuación de Henderson-Hasselbach ($\text{pKa} = \text{pH} + \log \frac{[\text{AIAH}]}{[\text{AIA}^-]}$) permite calcular la influencia del pH en el reparto de auxina entre su forma no disociada (AIAH) y su forma disociada (AIA^-). Siendo $\text{pKa} = 4.72$ para el ácido indolacético, calcule el porcentaje de hormona no disociada que cabe esperar en los dos compartimientos señalados en la Fig. 9-13: citoplasma ($\text{pH} = 7$) y apoplasto ($\text{pH} = 5$).
- 12 El tratamiento de los hipocótilos de soja con AIA pone de manifiesto la expresión de ciertos mRNA en un período de tiempo muy corto (5 min). Un efecto similar se observa al tratar los hipocótilos con cicloheximida (inhibidor de la síntesis de proteínas). ¿Cómo explicaría la coincidencia de resultados?



RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1) a) Curvatura fototrópica, ya que el agar es permeable al AIA del ápice; b) no hay respuesta, ya que la lámina impide el paso de la hormona.
- 2) a) Auxinas ligadas y productos de la oxidación no descarboxilativa en el caso I; en el caso II aparecerían, además, productos de la descarboxilación oxidativa. b) Ninguno en el caso I; productos de la oxidación descarboxilativa en el II.
- 3) A es una auxina ligada susceptible de hidrólisis; B puede ser un producto de oxidación o una auxina ligada no hidrolizable. El material puede experimentar conjugación reversible.
- 4) En las auxinas ligadas, el grupo COOH no está libre; los productos de la oxidación descarboxilativa carecen del COOH; en la oxidación no descarboxilativa los sustituyentes en el núcleo indólico pueden alterar la conformación espacial.
- 5) Intensidad = 6.0; velocidad = 4.7.
- 6) a) La epidermis está sometida a una tensión que retrae los restantes tejidos (doblándolos) cuando la envoltura epidérmica se rompe. b) La epidermis, ya que la curvatura provocada por este tejido cambia en presencia de AIA.
- 7) Una reducción del AIA transportado ocasionada por un descenso en la concentración de los transportadores, o por la formación de inhibidores del transporte polar.
- 8) La respuesta de crecimiento depende del número de uniones efectivas entre la auxina y su receptor (una molécula de cada una para formar el complejo activo receptor-hormona). Si la concentración de auxina es alta, el número de uniones no efectivas puede aumentar, puesto que dos moléculas de auxina se pueden unir (por puntos diferentes) a una misma molécula de receptor.
- 9) No necesariamente, ya que al triturar el tejido se pueden liberar enzimas (peroxidasas) de compartimientos celulares inaccesibles para el AIA.
- 10) La zona de crecimiento no puede ser insensible al AIA ya que, si lo fuera, no habría crecimiento pese a la mayor concentración de hormona. Las zonas sin crecimiento no pueden ser más sensibles que las de crecimiento, pues si lo fueran podrían crecer en respuesta a una menor concentración de AIA.
- 11) Es necesario despejar en la ecuación el valor de la fracción $[AIAH] / [AIA^-]$ (llamémosla B), que sirve para calcular el porcentaje de AIAH; $B = AIAH / (100 - AIAH)$. Despejando AIAH resulta $pH(7) = 0.5\%$; $pH(5) = 34.5\%$. En el citoplasma está disociado el 99.5% del ácido indolacético, mientras que en el apoplasto existe una mayor proporción (34.5%) de forma no disociada.
- 12) En ambos casos se elimina la influencia de una proteína represora de vida corta que impide la expresión de los mRNA. En el caso de la auxina, se induce la destrucción de la proteína por ubiquitinización, mientras que en el caso de la cicloheximida, lo que se impide es su recambio a través de la síntesis de proteínas.



BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA

1. Azcón-Bieto, J, Talón M. (eds.). *Fisiología y Bioquímica Vegetal*. Madrid, McGraw-Hill/Interamericana, 1993.
2. Barceló J et al. *Fisiología Vegetal*. 6.ª ed. Madrid, Pirámide, 1992.
3. Davies P J. (ed.): *Plant Hormones*. 1.ª, 2ª y 3ª eds. Dordrecht, Kluwer, 1987, 1995 y 2004.
4. De Liñán C. (ed.) *Vademécum de Productos Fitosanitarios*. Madrid, Ediciones Agrotécnicas, 1997.
5. Mohr H, Schopfer P. *Plant Physiology*. Berlín, Springer-Verlag, 1995.
6. Moore TC. *Biochemistry and Physiology of Plant Hormones*. 2ª ed. New York, Springer-Verlag, 1989.
7. Perrot-Rechenmann C, Hagen G. (eds.). *Auxin Molecular Biology*. Dordrecht, Kluwer, 2002.
8. Salisbury FB, Ross CW. *Fisiología Vegetal*. México, Grupo Editorial Iberoamérica, 1994.
9. Srivastava LM. *Plant Growth and Development (Hormones and Environment)*. Londres, Academic Press, 2002.
10. Taiz L, Zeiger E. *Plant Physiology*, 2ª, 3ª y 4ª eds. Sunderland (Massachusetts), Sinauer, 1998, 2002 y 2006.
11. Yagüe JI, Bolívar C. (eds.). *Guía Práctica de Herbicidas y Fitorreguladores*. Madrid, Mundi-Prensa, 1995.
12. Varios autores. *Physiologia Plantarum*, 1997; 100(3): 407-473.
14. Varios autores. *The Plant Cell*, 1997; 9(7):1077-1244.

20

Giberelinas

DOMINGO J. IGLESIAS Y MANUEL TALÓN



1. Estructura química. 2. Actividad biológica. 3. Biosíntesis y metabolismo. 4. Efectos fisiológicos. 5. Rutas de señalización y expresión génica. 6. Aplicaciones comerciales.

1. ESTRUCTURA QUÍMICA

1.1. Las GAs son hormonas endógenas de los vegetales superiores que regulan numerosos aspectos del desarrollo

Las giberelinas (GAs) son compuestos naturales que actúan como reguladores endógenos del crecimiento y el desarrollo en los vegetales superiores. Este grupo de hormonas fue descubierto por azar por fitopatólogos japoneses que estudiaban en el arroz una enfermedad conocida como *bakanae* (planta loca), causada por el hongo *Gibberella fujikuroi*. El ataque del hongo produce en esta especie un crecimiento excesivo de los tallos y los brotes. Posteriormente, en 1955, se aisló a partir del filtrado segregado por el hongo el compuesto inductor del crecimiento del tallo, que se denominó **ácido giberélico** (hoy conocido como giberelina A₃ o GA₃). Unos pocos años después, se comprobó que las plantas también poseen compuestos con estructuras muy semejantes al ácido giberélico. Desde entonces se han aislado y caracterizado hasta 136 GAs, la mayoría de ellas a partir de vegetales superiores, y el resto, a partir de *Gibberella*.

Los estudios de aplicaciones exógenas a las plantas y las investigaciones con plantas mutantes deficientes en GAs y con plantas transgénicas indican que las giberelinas son reguladores esenciales del desarrollo. Las GAs son, por tanto, fitohormonas u hormonas nativas que afectan, regulan o modulan múltiples y variadas respuestas del crecimiento. Los efectos más evidentes se observan en la estimulación del crecimiento del tallo, la inducción del desarrollo del fruto y la germinación de las

semillas. La elongación del tallo, en general, es una respuesta muy acusada, incluso espectacular, en las plantas que crecen en «roseta» y en algunas variedades que muestran enanismo genético. Como se describe posteriormente, otros efectos son más sutiles y solamente se dan en determinadas plantas o en estados específicos del desarrollo.

1.2. Las GAs con 20 átomos de carbono son precursoras de las GAs con 19 átomos de carbono

Desde el punto de vista químico, las GAs constituyen una familia de **diterpenos tetracíclicos ácidos**, cuya estructura básica está constituida por un anillo de *ent*-giberelano (Fig. 20-1). Sin embargo, y a nivel fisiológico, en este grupo solamente se pueden distinguir unos pocos miembros con capacidad intrínseca para influir en el crecimiento de los vegetales (giberelinas activas). En la descripción que sigue se resumen en cuatro los aspectos básicos de la estructura química de las giberelinas:

- Las GAs poseen un esqueleto de *ent*-giberelano que puede ser de 20 átomos de carbono (giberelinas C₂₀) o de 19 átomos de carbono (giberelinas C₁₉).
- Las GAs C₂₀ se metabolizan mediante oxidaciones continuas del C-20 (carbono en la posición 20), que inicialmente existe como grupo metilo (CH₃) y que se transforma sucesivamente en hidroximetilo (CH₂OH), aldehído (CHO) y, finalmente, en carboxílico (COOH).

- c) Las GAs C_{20} , que portan un grupo aldehído en el C-20, son precursoras de las GAs C_{19} y pierden ese carbono al convertirse en GAs C_{19} . En esta conversión, el grupo carboxílico en la posición 19 se une al C-10 (Fig. 20-1).
- d) La inserción de grupos hidroxilos en las posiciones C-3 y C-2 determina la actividad biológica de las GAs.

El subíndice de cada GA tiene relación con la cronología de su caracterización, y no indica necesariamente una relación metabólica entre ellas.

2. ACTIVIDAD BIOLÓGICA

La mayor parte de las giberelinas pertenecientes a esta vasta familia de compuestos no posee capacidad *per se* para regular el desarrollo de las plantas. De hecho, casi todas las giberelinas son precursores o productos inactivados, laterales o finales, de las rutas que sintetizan las **GAs activas**. La capacidad individual de cada giberelina para modificar el crecimiento, o su actividad biológica, se determinó en la década de los setenta del siglo pasado mediante ensayos biológicos, denominados **bioensayos**. En los bioensayos se estudia la respuesta de una determinada GA en un proceso fisiológico dado. Muchos bioensayos se basan en la capacidad de las GAs para inducir la elongación de hipocótilos, coleóptilos o tallitos y vainas de las hojas de plántulas de variedades enanas de arroz, lechuga, maíz o guisante, por ejemplo. En este tipo de pruebas se añade giberelina (o un extracto vegetal del que se desconoce si posee GAs) a los ápices de las plántulas, y se observa si a los pocos días se produce el crecimiento del órgano. Si la respuesta es positiva, se deduce que la giberelina es una GA activa o uno de sus precursores. En otros bioensayos se estudian diferentes respuestas que también producen las GAs, como la estimulación de la secreción y la liberación de α -amilasa en la capa de aleurona de las semillas de los cereales.

2.1. Las GAs C_{19} que portan un grupo hidroxilo en la posición 3β , como GA_1 y GA_4 , muestran una elevada actividad biológica

Los estudios mencionados pusieron de manifiesto que las GAs C_{19} que portan un grupo hidroxilo en la posición 3β , como GA_1 , GA_4 , GA_3 y GA_7 , exhiben una actividad biológica muy elevada. Mediante ingeniosos experimentos con plantas mutantes (o con **inhibidores químicos**) en la síntesis de giberelinas, se puede demostrar que GA_1 es una **giberelina activa per se**. De hecho, algunos investigadores pensaron que esta GA, cuya distribución es universal en el reino vegetal, era en realidad «la hormona» endógena biológicamente activa. En los últimos años, sin embargo, se tiende a aceptar que la GA_4 posee también actividad biológica intrínseca. La actividad biológica de la GA_3 no se debe a su conversión en GA_1 , por lo que, en principio, es lógico pensar que esa GA también posee actividad intrínseca. Sin embargo, y a diferencia de la GA_1 , la presencia de GA_3 y GA_7 en las plantas es escasa, de modo que su función como fitohormonas endógenas no puede generalizarse a todos los vegetales. En cualquier caso, los estudios anteriores indican que solamente las estructuras C_{19} que portan grupos hidroxilos en la posición 3β muestran actividad biológica. Por tanto, podemos afirmar que si las GAs C_{20} y aquellas que no poseen grupos hidroxilos muestran actividad, es porque se metabolizan en la planta a GAs C_{19} 3β -hidroxiladas. De igual forma, la actividad que muestran algunos conjugados de GAs (giberelinas unidas a azúcares, principalmente) debe atribuirse a la liberación de las GAs por las enzimas del tejido vegetal, y a su posterior metabolismo a GAs C_{19} 3β -hidroxiladas.

2.2. Las GAs activas se «desactivan» mediante la incorporación de un grupo 2β -hidroxilo

Las giberelinas activas, y en algunos casos también los precursores de las giberelinas activas, son finalmente «desac-

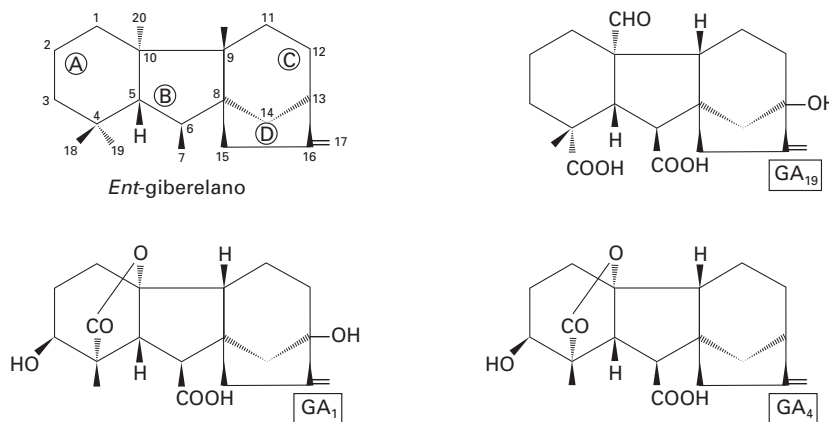


Figura 20-1. En el esqueleto de ent-giberelano, estructura básica de todas las GAs, se han señalado sus cuatro anillos (A, B, C y D) y se han numerado sus átomos de carbono (1 a 20) con la designación clásica. También se muestran estructuras de giberelinas C_{20} (GA_{19}) y C_{19} (GA_1 y GA_4) comunes en los vegetales superiores. \blacktriangle = configuración en β ; \triangle = configuración en α .

tivadas» con carácter irreversible. El mecanismo más común de **desactivación** es la incorporación de un grupo hidroxilo en la posición 2 β . Las GAs 2 β -hidroxiladas son, por tanto, productos finales de la ruta sintética sin actividad biológica. La presencia de un grupo ácido en la posición C-20 (GA tricarbóxilica) también confiere inactividad irreversible. Así, las GAs 2 β -hidroxiladas, las GAs tricarbóxicas, los conjugados de GAs y los catabolitos de GAs tienden a acumularse *in vivo*, mientras que los intermediarios permanecen en niveles bajos.

3. BIOSÍNTESIS Y METABOLISMO

Los primeros pasos en la ruta de síntesis de GAs son comunes al resto de los compuestos terpenoides y se han descrito tanto en animales como en vegetales (véase el Capítulo 17). Un terpenoide es una sustancia compuesta por bloques o unidades de cinco átomos de carbono denominadas **isoprenos**. Atendiendo al número de isoprenos, los compuestos terpenoides se clasifican en monoterpenos (C₁₀), sesquiterpenos (C₁₅), diterpenos (C₂₀) como las GAs, triterpenos (C₃₀) como los esteroides, y tetraterpenos (C₄₀) como los carotenoides. Estos primeros pasos abarcan la síntesis de geranylgeranyl pirofosfato (GGPP; GGDP si se utiliza el sinónimo difosfato), el precursor de los diterpenos y, por tanto, de las giberelinas. El GGPP se sintetiza principalmente en los plastidios a través de la ruta del metileritritol fosfato (MEP), aunque también se ha descrito una ruta de síntesis complementaria dependiente del mevalonato (MVA) ubicada en el citoplasma.

3.1. La biosíntesis de GAs se inicia con la formación de kaureno y termina, mediante reacciones sucesivas de oxidación, con la interconversión de las distintas GAs

Los estudios con plantas **mutantes deficientes en GAs** y otras investigaciones paralelas permiten dividir la biosíntesis de las GAs en tres etapas: 1) desde geranylgeranildifos-

fato a *ent*-kaureno; 2) desde *ent*-kaureno a GA₁₂-aldehído, y 3) desde GA₁₂-aldehído a las GAs.

Etapa 1. Desde geranylgeranyl difosfato a *ent*-kaureno. La transformación que bifurca el flujo biosintético hacia la síntesis de GAs y, por tanto, el primer paso específico de la ruta de síntesis de las GAs, es la ciclación de GGDP a ***ent*-copalil difosfato** (CPP o CDP). Este compuesto se convierte seguidamente en ***ent*-kaureno** (Fig. 20-2).

Etapa 2. Desde *ent*-kaureno a GA₁₂-aldehído. En esta etapa, la oxidación secuencial del *ent*-kaureno produce *ent*-kaurenol, *ent*-kaurenal y ácido *ent*-kaurenoico (Fig. 20-3). Posteriormente, el ácido kaurenoico se hidroxila primero, y después, por contracción del anillo B, produce GA₁₂-aldehído. Las enzimas implicadas en esta serie de reacciones oxidativas son monooxigenasas dependientes del sistema del citocromo P-450 que se ubican en la membrana del retículo endoplasmático.

Etapa 3. Desde GA₁₂-aldehído a las GAs. El primer paso de esta etapa es la oxidación de GA₁₂-aldehído a GA₁₂. El metabolismo posterior de GA₁₂ puede variar entre especies, incluso entre tejidos de la misma especie. En general, GA₁₂ incorpora un grupo hidroxilo en C-13 para transformarse en GA₅₃, el primer miembro de la **ruta de síntesis de la 13-hidroxilación**, que es la vía predominante en la mayoría de las especies (Fig. 20-4). El C-20 de GA₅₃ sufre entonces dos oxidaciones sucesivas para dar GA₄₄ y GA₁₉. En una ramificación lateral de la ruta metabólica principal, el C-20 de GA₁₉ puede ser oxidado de nuevo para dar lugar a GA₁₇. Esta ramificación constituye un proceso de inactivación irreversible que rinde compuestos tricarbóxicos sin actividad biológica. La ruta principal de la 13-hidroxilación continúa con la eliminación del C-20 de GA₁₉, sintetizándose GA₂₀, que es la primera GA C₁₉ de la ruta. La incorporación de un grupo hidroxilo en la posición 3 β de GA₂₀ rinde GA₁ (Fig. 20-4). Este compuesto posee elevada actividad biológica y se cree que es la hormona endógena verdadera de la ruta de la 13-hidroxilación. Al final de la ruta, las GAs C₁₉ se desactivan de forma irreversible mediante la 2 β -hidroxilación. Así, GA₂₀ y GA₁ se transforman en los productos inactivos GA₂₉ y GA₈, respectivamente. Las GAs 2 β -hidroxiladas pueden ser oxidadas para formar productos catabólicos finales, como GA₂₉-y GA₈-catabolitos. Las GAs pueden conjugarse de forma covalente con moléculas menores, principalmente glucosa, formando los conjugados de GAs.

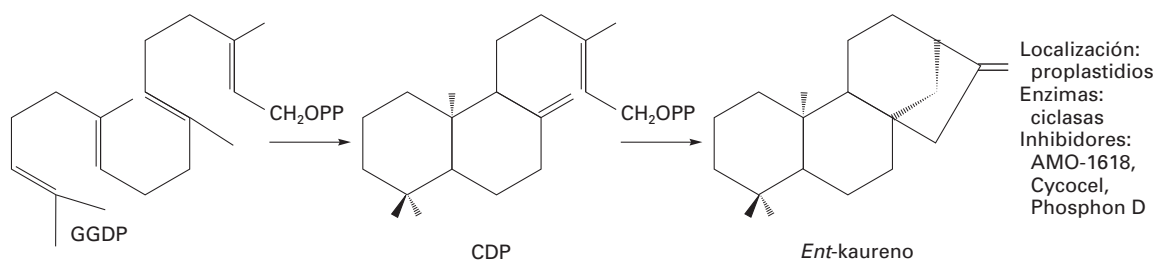


Figura 20-2. Etapa 1 de la ruta de síntesis de GAs. La ciclación del geranylgeranyl difosfato (GGDP) a *ent*-kaureno a través del intermediario copalil difosfato (CDP) se localiza en los proplastidios de los tejidos meristemáticos y está catalizada por ciclasas.

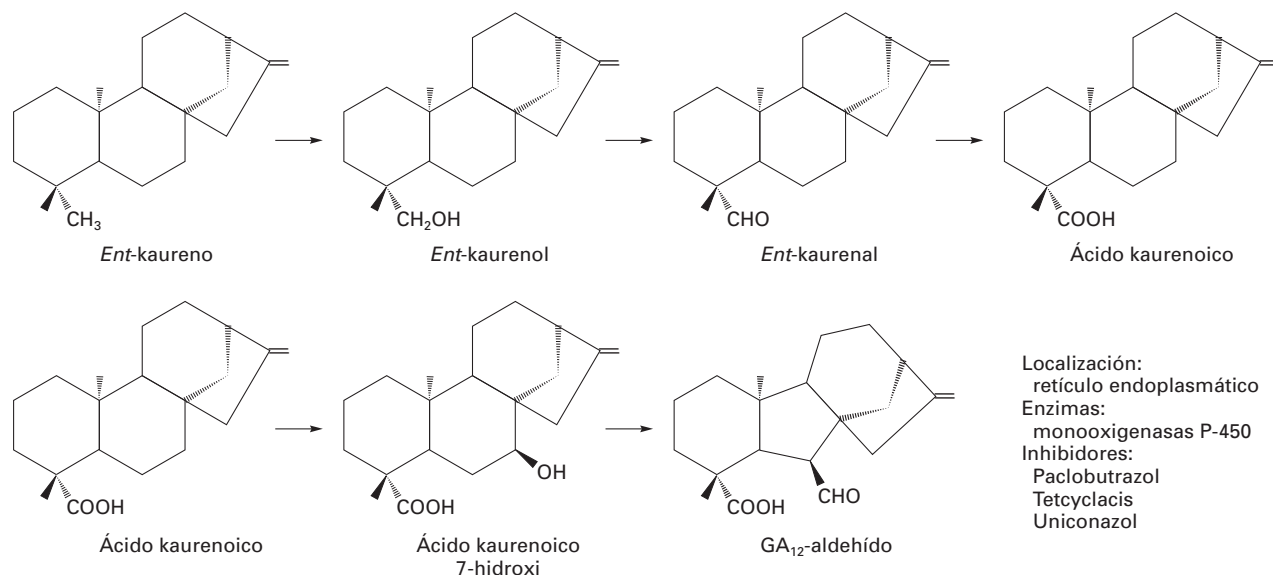


Figura 20-3. Etapa 2 de la ruta de síntesis de GAs. La conversión de ent-kaureno a GA_{12} -aldehído se produce en pasos oxidativos sucesivos y tiene lugar en las membranas del retículo endoplasmático. Las enzimas implicadas son monooxigenasas dependientes del sistema del citocromo P-450.

Además de la vía de la 13-hidroxilación (todos los miembros presentan un grupo hidroxilo en la posición C-13), existen otras rutas que pueden operar conjuntamente con ésta, o bien como rutas mayoritarias en determinadas especies.

Son la **vía de la 3 β -hidroxilación** (todos los miembros presentan un grupo hidroxilo en la posición 3 β) y la **vía de la no-hidroxilación** (las GAs no presentan grupos hidroxilos en las posiciones 3 β - y 13). Ambas rutas biosintéticas siguen

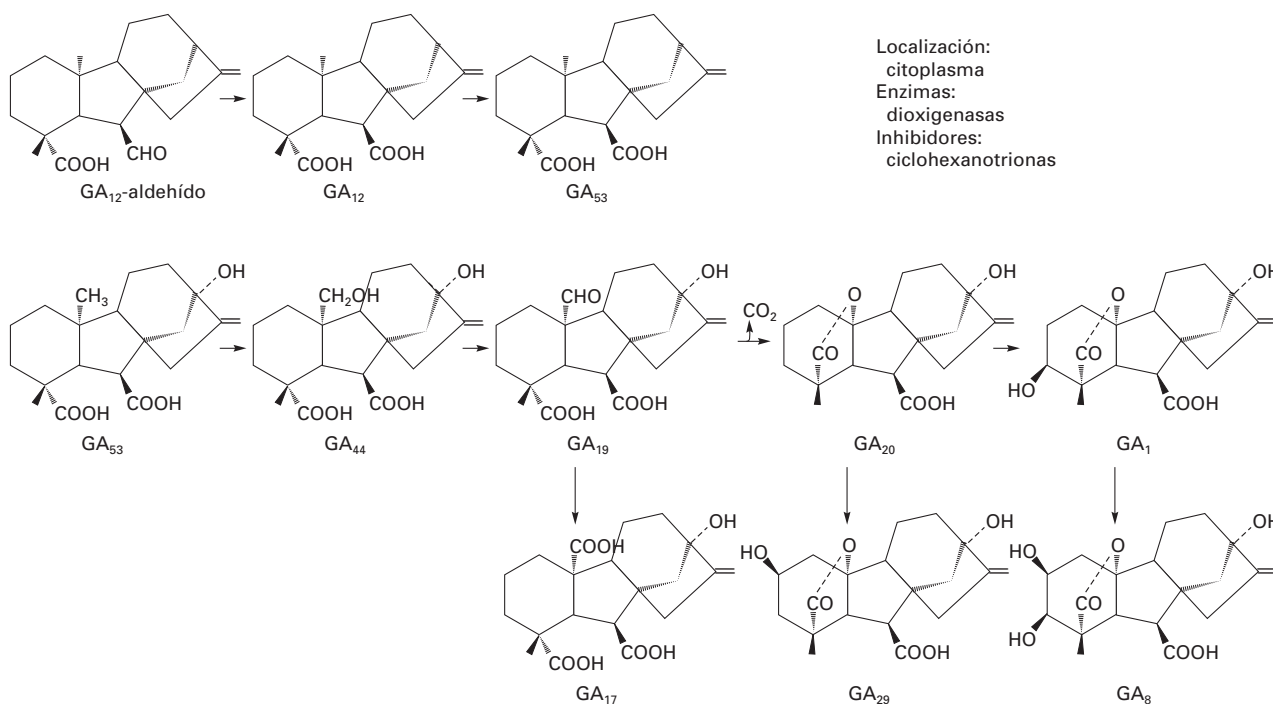


Figura 20-4. Etapa 3 de la ruta de síntesis de GAs. La conversión de GA_{12} -aldehído a las distintas GAs se produce en el citoplasma por dioxigenasas solubles.

una secuencia de oxidaciones paralela a la que se describió en la ruta de la 13-hidroxilación (Fig. 20-5). De hecho, los orígenes de las vías de la no-hidroxilación y de la 3-hidroxilación pueden interpretarse como «errores» de las enzimas implicadas en las interconversiones de las GAs. Por ejemplo, si GA_{12} «escapa» a la 13-hidroxilación, puede generar una secuencia formada por miembros no 13-hidroxilados. Las tres rutas, en principio, pueden estar conectadas entre sí mediante hidroxilaciones 3β ó 13.

3.2. Los genes que codifican las enzimas de biosíntesis pertenecen a pequeñas familias multigénicas, cuyos miembros se expresan de forma diferencial

3.2.1. Las enzimas de la etapa 1 son ciclasas que se localizan en el proplastidio

Las enzimas que catalizan la ciclación de GGDP a CDP y de éste a *ent*-kaureno son **ciclasas** denominadas **ent-copalil difosfato sintasa (CPS)** y **ent-kaureno sintasa (KS)**, respectivamente (Fig. 20-6). Estas dos enzimas se localizan en los proplastidios de los tejidos meristemáticos de los brotes, pero no en los cloroplastos maduros. Algunos inhibidores o retardadores del crecimiento, como el AMO-1618 y el CCC, inhiben la actividad copalil difosfato sintasa, mientras que otros, como el Phosphon D, también inhiben la kaureno

sintasa. Los genes que codifican CPS se han estudiado en diversas especies, entre ellas *Arabidopsis*, cítricos, guisante, arroz, maíz y calabaza. En el caso de *Arabidopsis*, la expresión de GA_1 , uno de los genes que codifican esta enzima, es elevada no sólo en los tejidos con crecimiento activo, como ápices de brotes y raíces y silicuas, sino también en los tejidos vasculares de hojas ya expandidas. En la calabaza se han aislado dos genes que codifican esta actividad, y que se expresan de forma diferencial en cotiledones y raíces, pudiendo estar implicados en diferentes estados del desarrollo. En *Arabidopsis*, y también en el maíz, se ha sugerido que existen al menos dos genes que codifican la copalil difosfato sintasa. En cuanto a los genes que codifican KS, se han investigado también en *Arabidopsis*, arroz y calabaza. Parece ser más abundante en aquellos tejidos en desarrollo, si bien en ciertas especies, entre ellas *Arabidopsis*, se ha hallado una expresión constitutiva. En el caso de la calabaza, su actividad se halla codificada por un par de genes, esta vez de expresión constante en los diferentes tejidos considerados.

3.2.2. Las enzimas de la etapa 2 son proteínas microsomales, ligadas al retículo endoplasmático y dependientes del citocromo P-450

Las enzimas de esta etapa son **monooxigenasas dependientes del citocromo P-450**, ligadas a las membranas (enzimas microsomales) del retículo endoplasmático. Los tres pasos oxidativos del kaureno a ácido kaurenoico están catalizados por la **kaureno oxidasa (KO)**. El ancymidol y los triazoles, como el paclobutrazol y el tetraclacis, por ejemplo, son retardadores del crecimiento que interactúan con el citocromo P-450 inhibiendo las monooxigenasas dependientes de este sistema y, por tanto, la oxidación del kaureno. Su localización es citoplasmática, en la cara externa del retículo endoplasmático. Al parecer, esta enzima es la encargada de ligar los pasos de biosíntesis que tienen lugar en los plastidios con los que tienen lugar en el retículo endoplasmático. El gen que codifica KO se ha estudiado en varias especies, entre ellas *Arabidopsis*, arroz, guisante y calabaza. En *Arabidopsis* presenta una expresión común en todos los tejidos de la planta, incluidas las inflorescencias. Sin embargo, no se conoce con tanta precisión qué enzimas y genes controlan la formación de GA_{12} -aldehído a partir del ácido kaurenoico.

3.2.3. Las enzimas de la etapa 3 son dioxigenasas solubles localizadas en el citoplasma

Todos los pasos oxidativos de esta etapa están catalizados por **dioxigenasas** solubles que se localizan en el citoplasma (Fig. 20-6) y requieren 2-oxoglutarato y oxígeno molecular como cosustratos, y hierro y ascorbato como cofactores. Los pasos oxidativos del C-20 (carbono 20) y su posterior

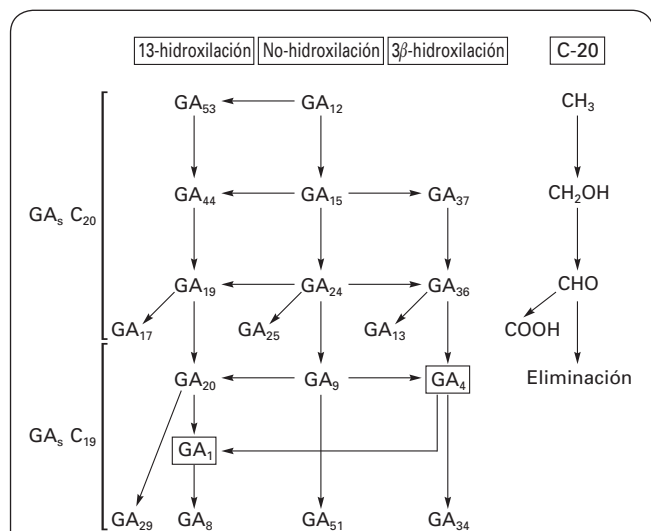


Figura 20-5. Interconversiones de GAs en la ruta de la 13-hidroxilación (los miembros presentan un grupo hidroxilo en la posición C-13), en la ruta de la no hidroxilación (los miembros de esta ruta no presentan grupos hidroxilos en las posiciones 3β ni 13), y en la ruta de la 3β -hidroxilación (los miembros de esta ruta presentan un grupo hidroxilo en la posición 3β). Se ilustran las relaciones entre GAs C_{20} y C_{19} y se muestran también los estados de oxidación del C-20 de las GAs C_{20} en las tres rutas.

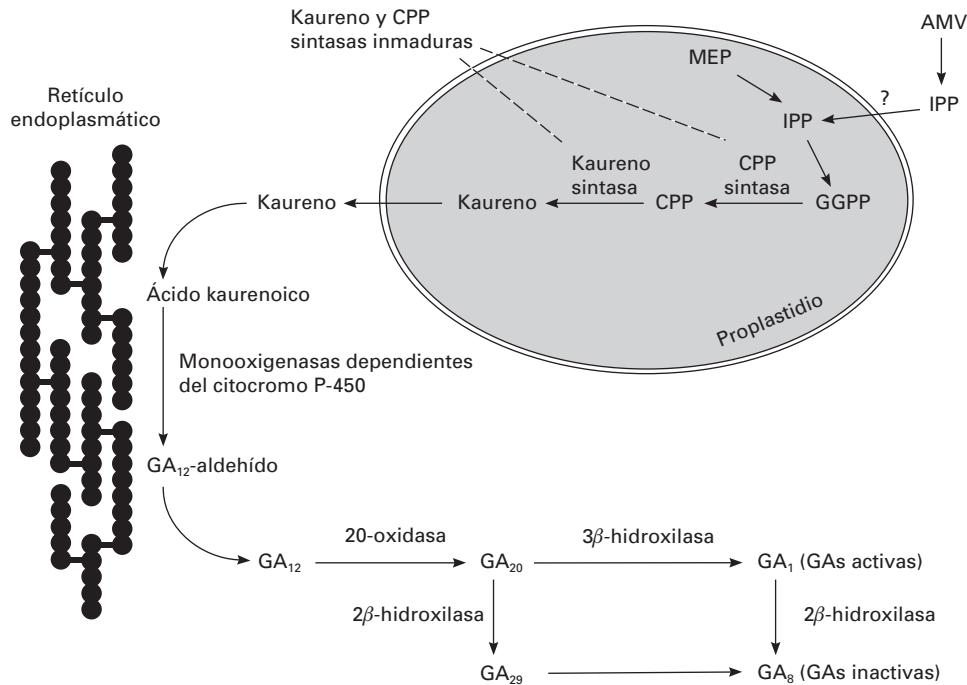


Figura 20-6. Esquema general de las rutas de síntesis de GAs y su compartimentación subcelular. El kaureno es sintetizado por enzimas solubles localizadas en los proplastidios o plastidios. Las enzimas microsomales asociadas al retículo endoplasmático convierten el kaureno en GA_{12} -aldehído, y este compuesto es finalmente oxidado de nuevo por enzimas solubles para formar las distintas GAs. Algunas de estas GAs, como la GA_1 , son giberelinas activas porque muestran actividad hormonal intrínseca, en contraposición a las giberelinas inactivas. AMV: ácido mevalónico; IPP: isopentenil pirofosfato; GGPP: geranylgeranyl pirofosfato; CPP: copalil pirofosfato. MEP: metileritritol.

eliminación están controlados por una enzima multifuncional, la **oxidasa del C-20 de las GAs** (GA 20-oxidasa) que, en definitiva, convierte GAs C_{20} en GAs C_{19} . Esta proteína multifuncional cataliza las reacciones de oxidación y eliminación del C-20 en las tres vías biosintéticas. La actividad **3 β -hidroxilasa**, que añade un grupo hidroxilo a la posición 3 y confiere actividad a las GAs C_{19} , reside en enzimas 3 β -hidroxilasas. De igual modo, la actividad **2 β -hidroxilasa**, que incorpora un grupo hidroxilo en la posición 2 y, por tanto, «desactiva» irreversiblemente las giberelinas activas, está controlada por las enzimas 2 β -hidroxilasas. Los retardadores del crecimiento del tipo ciclohexanotriomas, como el BX-112 o el LAB 198 999, son estructuralmente muy similares al 2-oxoglutarato y, probablemente, compiten con este compuesto como sustratos de las dioxigenasas. En la ruta de síntesis de las GAs, las ciclohexanotriomas bloquean principalmente las hidroxilaciones 3 β , aunque también se han señalado efectos inhibitorios sobre la 2 β -hidroxilación y, con menos intensidad, sobre las oxidasas de GAs C_{20} . Su efecto más importante, por tanto, se relaciona con la reducción de los niveles de GAs 3 β -hidroxilasas.

Las dioxigenasas están codificadas por pequeñas familias multigénicas, cuyos miembros se expresan diferencialmente por órganos y estados de desarrollo. Esta observación constituye una característica importante, probablemente relacionada con la regulación del crecimiento. Los genes que codifican las GA 20-oxidasas se han clonado en multitud

de especies, en las que se ha estudiado su expresión. Entre ellas destacan *Arabidopsis*, tomate, calabaza, espinaca, patata, guisante, judía, arroz y trigo. Genes que codifican las GA 20-oxidasas se han encontrado en diversas especies, como *Arabidopsis*, guisante, trigo o tomate. En *Arabidopsis* se han descrito hasta diez miembros de esta familia. Uno de ellos, el gen *GA5*, que codifica una de estas oxidasas, se expresa predominantemente en el tallo y en las flores, mientras que los otros dos genes se expresan en las silicuas y las flores con distinta intensidad. En el guisante y en la judía también existe expresión diferencial en los entrenudos, las hojas jóvenes y las semillas en desarrollo. Todas estas GA 20-oxidasas (a excepción de una aislada en el endospermo de calabaza) rinden principalmente GAs C_{19} como productos finales. La enzima de calabaza produce, por el contrario, más GAs C_{20} tricarbóxicas que GAs C_{19} .

Las GA 3-oxidasas también están organizadas en familias multigénicas. Se han clonado en *Arabidopsis*, arroz, tabaco, guisante, calabaza y trigo. Las 3 β -hidroxilasas están codificadas, en general, por pares de genes, como se ha detectado en la lechuga, el tomate o la judía. La expresión de uno de estos genes suele ser evidente en raíces, hojas, entrenudos e, incluso, en tejidos maduros sin crecimiento, mientras que el otro miembro del par se expresa con claridad en las semillas en desarrollo. En *Arabidopsis*, sin embargo, se han detectado al menos cuatro componentes de esta familia, con una elevada especificidad en los órganos y procesos de desarrollo

en que intervienen. Así, por ejemplo, en esta especie el gen que se expresa abundantemente en los tejidos vegetativos corresponde al *locus GA4*, mientras que en el guisante este mismo gen corresponde al *locus Le* que utilizó Mendel en sus investigaciones sobre la herencia de caracteres. Las GA 3-hidroxilasas pueden mostrar distinta afinidad por los sustratos, de forma que algunas de ellas prefieren GAs no hidroxiladas, como GA₉, antes que giberelinas hidroxiladas, como GA₂₀, y viceversa.

Las GA 2-oxidadas también se han estudiado en diferentes especies. En el caso de *Arabidopsis* se han descrito hasta el momento ocho genes que codifican esta enzima. También se han descrito en otras especies (p. ej. arroz, espinaca, guisante, calabaza), si bien el patrón de expresión observado ha sido muy variable. Estas actividades son capaces de incorporar un grupo hidroxilo en la posición 2 de las GAs C₁₉. Así, convierten GA₉ en GA₅₁ y GA₂₀ en GA₂₉, por ejemplo. Los tres genes aislados parecen expresarse en los órganos que se encuentran en desarrollo, ya sean raíces, tallos o flores.

3.3. Las condiciones ambientales, principalmente la luz, controlan la síntesis de GAs

Se sabe desde hace bastante tiempo que los factores ambientales, como la temperatura y, sobre todo, las condiciones luminosas en que se desarrollan las plantas, modifican profundamente la síntesis de giberelinas. Los efectos mejor estudiados se han relacionado con la duración del fotoperíodo y con la calidad de la luz. En relación con el fotoperíodo, las especies de «**día largo**» (*long-day*, LD, 8 horas de luz intensa y 16 horas de luz de baja intensidad) experimentan elongación del tallo en estas condiciones; las especies de «**día corto**» (*short-day*, SD, 8 horas de luz intensa y 16 horas de oscuridad) muestran elongación del tallo en día corto, y las especies **neutras** no presentan requerimientos de fotoperíodo. En las primeras, la elongación inducida por el día largo está mediatizada por las GAs. En la espinaca, por ejemplo, las condiciones inductivas incrementan los niveles de GAs activas, mientras que las condiciones de día corto los reducen. Este efecto es debido, en gran parte, a la regulación de la expresión de la GA 20-oxidasa de la espinaca, que es más abundante en condiciones de día largo que en condiciones no inductivas de día corto o en oscuridad. En algunas especies, el efecto del fotoperíodo sobre el contenido de giberelinas también afecta a procesos reproductivos como la floración (Capítulo 25). En otras, como la patata, los transcritos de la GA 20-oxidasa muestran diferencias en sus patrones de expresión durante la exposición a condiciones de día largo o corto, estimulando o reduciendo de esta forma el crecimiento vegetativo y afectando al proceso de tuberización.

En algunas especies, la luz roja promueve la germinación de semillas mediante el aumento de la biosíntesis de giberelinas y la modificación de la respuesta de los tejidos a éstas. Al parecer, los fitocromos median en estos procesos a través

de cambios en la biosíntesis, en la degradación de intermediarios proteicos, o en ambos procesos. Así, por ejemplo, en *Arabidopsis* la degradación de la proteína PIL5 inducida por los fitocromos parece desencadenar la germinación de semillas, incrementando la síntesis de giberelinas (posiblemente a través de la inducción de GA 3-oxidadas y de la represión de GA 2-oxidadas). En el guisante y otras especies herbáceas, la desetiología de las plántulas se puede iniciar, asimismo, con un pulso de luz roja. Sin embargo, en esta especie se incrementa la expresión de las 20-oxidadas.

La luz azul también afecta al crecimiento. En el guisante, por ejemplo, se han descrito reducciones del desarrollo debidas al incremento de la transformación de la giberelina bioactiva GA₁ en el catabolito inactivo GA₈. Este proceso parece implicar directamente a fitocromos y criptocromos, que contribuirían a la inducción de los niveles de transcritos de la GA 2-oxidasa.

La síntesis de GAs también se modifica como consecuencia de otros cambios en el ambiente. En los últimos años se han presentado pruebas de que el contenido en GAs (o la ruta de señalización, o ambos) se reduce o atenúa como respuesta a diversos tipos de estrés tanto bióticos como abióticos. La respuesta a estos cambios conduce, en general, a una detención del desarrollo como primera medida de defensa frente a las condiciones adversas.

3.4. La biosíntesis de GAs también está regulada por mecanismos de retroalimentación positiva y negativa

Los niveles de GAs activas se regulan mediante complejos mecanismos de control. Entre los factores internos existe un mecanismo muy eficaz basado en la «**retroalimentación**», **negativa o positiva**, inducida por los mismos niveles de GA activa. Si la planta percibe que posee niveles elevados de GAs activas, tiende a reducir los niveles de GAs C₁₉ y a aumentar los de los precursores C₂₀. Ello implica la existencia de un control homeostático que regula los niveles de GAs bioactivas mediante la retroalimentación de las enzimas finales de la ruta sintética. Esta retroalimentación parece operar, al menos en parte, a través del control de la acumulación de los transcritos de estas enzimas. No parece que exista una regulación por retroalimentación sobre los genes de la primera parte de la ruta biosintética de las GAs, sino que más bien este mecanismo de regulación opera sobre las GA 20-, GA 3- y GA 2-oxidadas. Así, en condiciones de insuficiencia de GA los transcritos de las 20-oxidadas aparecen elevados, como ocurre en los mutantes de *Arabidopsis* deficientes en giberelinas, mientras que se reducen a niveles ínfimos cuando las plantas se tratan con GAs exógenas. Un comportamiento similar presentan los mRNA del gen *GA4* que codifica para la actividad 3β-hidroxilasa. Este tipo de retroalimentación es «negativa» porque la abundancia del producto final reduce las actividades enzimáticas que regulan su propia síntesis. Sin embargo, las 2β-hidroxilasas están sometidas a retroalimentación positiva, de forma que el incremento de GAs acti-

vas aumenta la acumulación de sus transcritos. Todos estos resultados indican que la homeostasis de las GAs se consigue gracias a una estrecha interacción entre el metabolismo y la ruta de señalización de estas hormonas, en la que los mecanismos de retroalimentación, tanto positiva como negativa, desempeñan un papel fundamental.

3.5. Existen otros componentes endógenos que regulan la expresión de genes de síntesis de GAs

La síntesis de GAs también está afectada por otras hormonas, principalmente por auxinas y brasinosteroides. Mediante experimentos de decapitación del ápice del guisante se ha demostrado que las auxinas promueven la expresión de las GA 3-oxidasas y la represión de los genes de GA 2-oxidasa. En el tabaco, el efecto inductor de las auxinas se ejerce sobre la expresión de la GA 20-oxidasa. Otras pruebas que confirman la participación de las auxinas se han obtenido con mutantes semienanos deficientes en el transporte de auxinas, que recuperan parcialmente su fenotipo tras la aplicación de GAs C₁₉. Al parecer, este tipo de interacción entre las auxinas y el metabolismo de GAs es general tanto en especies monocotiledóneas como en las dicotiledóneas, y en distintos órganos, tanto reproductivos como vegetativos.

Por otra parte, se ha visto que, durante el proceso de germinación, los brasinosteroides regulan positivamente la expresión de GA 20-oxidasa. Los brasinosteroides también inducen la germinación de los mutantes *ga1*, extremadamente deficientes en giberelinas.

Los efectos sobre la síntesis de GAs parecen estar mediados, en último término, por **reguladores transcripcionales** específicos con capacidad para modular su biosíntesis. Probablemente los factores mejor estudiados son los genes homeóticos de tipo *KNOX* (del inglés, *KNOTTED1*-Like Homeobox), que codifican reguladores transcripcionales de la síntesis de GAs. En el tabaco, por ejemplo, se han descrito las secuencias reguladoras del gen GA 20-oxidasa que reconoce la proteína NTH15, perteneciente a la familia *KNOX*. La expresión de los genes *KNOX*, tanto en meristemos apicales como en primordios foliares, reprime la expresión de GA 20-oxidasa. La proteína RSG (del inglés, *repression of shoot growth*) es otro tipo de regulador, que por una parte participa en la regulación por retroalimentación de la actividad GA 20-oxidasa y, por otra, induce la transcripción de la *entkaureno oxidasa*. También se han descrito otros reguladores transcripcionales que generan fenotipos enanos cuando se sobreexpresan, como *DDF1* (del inglés, *DWARF AND DELAYED FLOWERING1*) y *AGL15* (del inglés, *AGAMOUS-LIKE15*).

4. EFECTOS FISIOLÓGICOS

Durante el crecimiento de las plantas, las GAs producen numerosos **efectos pleiotrópicos**, puesto que regulan un amplio y variado conjunto de procesos fisiológicos. Estas

respuestas afectan prácticamente a todas las fases del desarrollo, tanto al crecimiento vegetativo como al reproductivo. Las GAs son los factores hormonales determinantes en el control de la elongación del tallo, y en algunas plantas pueden causar la reversión desde la fase de adulto a la fase juvenil (véase el Capítulo 28). Las GAs también modifican sustancialmente los procesos reproductivos de los vegetales, participando en el control de la inducción de la floración, en el crecimiento y la producción de flores, en el cuajado, y en el desarrollo y maduración de los frutos. Las GAs, asimismo, suplen los requerimientos de luz o frío que precisan muchas semillas para germinar y, en los cereales, regulan la hidrólisis de las sustancias de reserva de las semillas.

4.1. Las mutaciones en la biosíntesis de GAs muestran que estas hormonas controlan el crecimiento y la elongación del tallo

Las variedades de plantas producidas por mutaciones que afectan al metabolismo o a la acción de las GAs se reconocen fácilmente porque muestran alteraciones muy evidentes en la altura normal de la especie. Estas mutaciones, en principio, pueden afectar a la biosíntesis de GAs activas, al proceso de «desactivación», o al mecanismo de transducción de la señal.

4.1.1. Las mutaciones en la biosíntesis de GAs reducen los niveles de GAs activas y generan fenotipos enanos

Las mutaciones en los genes de la biosíntesis de GAs impiden o dificultan la síntesis de niveles adecuados de GAs activas para inducir el desarrollo del tallo. Las plantas mutantes que presentan estas alteraciones generan tallos con el mismo número de entrenudos que los genotipos salvajes, pero más cortos, y hojas de un color verde oscuro intenso. Las mutaciones muy graves también producen esterilidad. Estos mutantes, al ser **deficientes en GAs**, responden a la aplicación de GAs exógenas con la recuperación del fenotipo normal. Todas las mutaciones de este tipo analizadas hasta la fecha son recesivas.

En *Arabidopsis thaliana* se han descrito mutaciones en cinco *loci* que producen plantas mutantes enanas que responden a la aplicación de GAs: *ga1*, *ga2*, *ga3*, *ga4* y *ga5*. En el genotipo salvaje de *Arabidopsis* operan las tres vías mayoritarias de síntesis de GAs: la vía de la 13-hidroxilación, la vía de la no-hidroxilación y la vía de la 3β-hidroxilación (véase la Fig. 20-5). Las mutaciones *ga1*, *ga2*, y *ga3* afectan a la copalil difosfato sintasa, a la kaureno sintasa y a la kaureno oxidasa, respectivamente. Existen alelos muy afectados por estas tres mutaciones que contienen niveles muy reducidos de todas las GAs presentes en el genotipo salvaje y producen fenotipos con enanismo extremo. Las mutaciones *ga4*

y *ga5* producen plantas semienanas de, aproximadamente, la mitad de la longitud del genotipo salvaje (Fig. 20-7). La mutación *ga5* controla la actividad 20-oxidasa, y los mutantes *ga5* contienen niveles reducidos de todas las GAs C_{19} en las tres vías biosintéticas. El gen *GA4* codifica una proteína con actividad 3 β -hidroxilasa y las mutaciones de este gen bloquean la 3 β -hidroxilación de diferentes GAs. El mutante *ga4* presenta niveles reducidos de todas las GAs que poseen un grupo 3 β -hidroxilo, incluida la secuencia completa de la vía de la 3 β -hidroxilación.

En otras especies, como por ejemplo maíz, arroz, tomate, calabaza o lechuga, también se han descrito mutaciones que controlan la biosíntesis de GAs. Todas estas mutaciones producen enanismo de diversa intensidad. En *Pisum sativum* el alelo *le*, que controla la 3 β -hidroxilación de GA_{20} a GA_{1} , es una de las siete mutaciones que estudió Mendel en su investigación sobre la herencia.

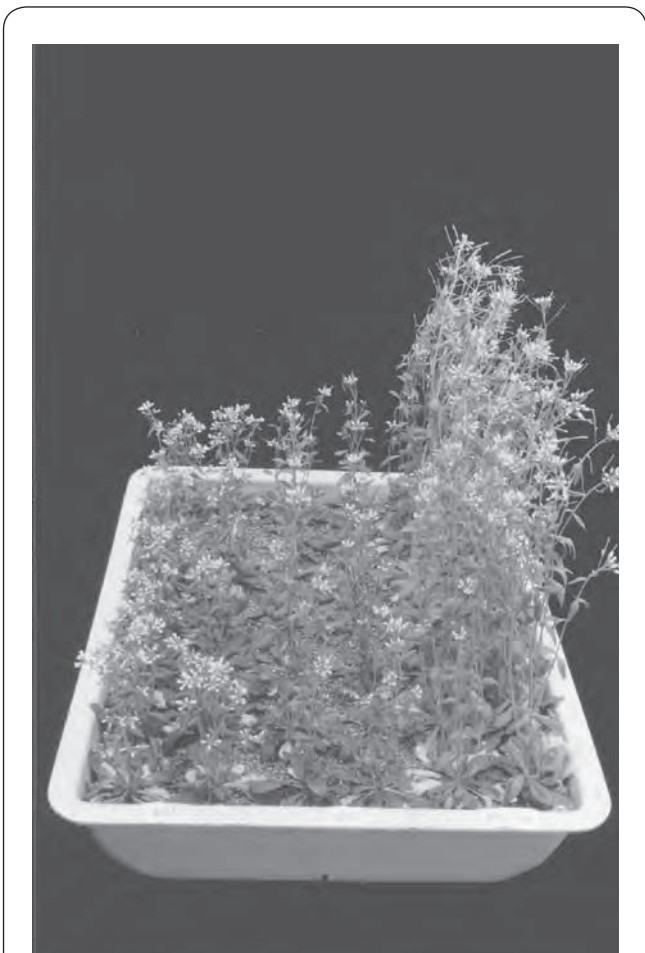


Figura 20-7. Efecto de las mutaciones semienanzantes *ga4* y *ga5* de *Arabidopsis thaliana* en la elongación del tallo. La mutación *ga4* (izq.) afecta a la 3 β -hidroxilasa y la mutación *ga5* (centro), a la 20-oxidasa. Ambas lesiones reducen los niveles de giberelinas activas y la altura del tallo, en comparación con el genotipo salvaje (der.).

4.1.2. Las mutaciones de «desactivación» bloquean la 2 β -hidroxilación y generan fenotipos esbeltos

El primer mutante originado por bloqueo de la 2 β -hidroxilación, el paso de **desactivación**, fue descrito en el **guisante** y presentaba un bloqueo de la conversión de GA_{20} a GA_{29} , provocando la acumulación de la primera en semillas maduras. El fenotipo que muestra es un tallo de tipo *slender* (delgado, esbelto) con entrenudos largos.

4.1.3. Las mutaciones de respuesta afectan a la vía de transducción de la señal y generan fenotipos enanos o esbeltos

En general, los mutantes de respuesta identifican pasos importantes de la vía de transducción de la señal de las GAs, como se verá más adelante. El grupo puede ser dividido en dos clases, mutantes con fenotipo enano y mutantes con fenotipo elongado.

Los mutantes de respuesta con fenotipo enano, también conocidos como **mutantes «insensibles»**, son fenotípicamente idénticos a los mutantes deficientes en GAs; sin embargo, muestran una respuesta nula o muy reducida a las GAs exógenas. Las mutaciones, en general, presentan dominancia parcial, y los mutantes suelen acumular niveles extraordinariamente elevados de GAs C_{19} . Algunas mutaciones representativas de este grupo fueron descritas en *Arabidopsis* (gen *GAI*), en el maíz (gen *D8*) y en el trigo (genes *Rht1* y *Rht2*, del inglés, *reduced height triticum*). Estos genotipos de trigo, más compactos y resistentes que las variedades tradicionales, constituyen el material vegetal sobre el que se sustentó la «revolución verde» en el Sudeste Asiático (Peng y cols., *Nature* 400:256–261, 1999). Otro gen importante es el *RGA* (represor de *ga1*), que revierte parcialmente aspectos fenotípicos de la deficiencia extrema de giberelinas.

Los mutantes de respuesta con fenotipo esbelto son por lo general recesivos y, a diferencia de las mutaciones anteriores, no producen fenotipos enanos. En estos mutantes el tallo es de tipo esbelto («**slender**» como en *sln1* y *slr1*), más delgado y alto de lo normal. Las mutaciones también reducen la sensibilidad a las GAs y sus niveles endógenos, de modo que la elongación del tallo parece ser enteramente independiente de éstas. De hecho, se comportan como si estuvieran sobresaturados con GAs, y muestran una respuesta típica de GA constitutiva, incluso en su ausencia. En *Arabidopsis*, el mutante *spy* produce plantas de floración temprana, tallo esbelto, silicuas partenocárpicas y granos de polen defectivos.

4.2. El fotoperíodo de día largo induce elongación del tallo a través de las GAs

El crecimiento del tallo en las plantas de día largo depende del fotoperíodo. En condiciones de día corto, las especies

de «plantas en roseta» con necesidad absoluta de LD, como las plantas de espinaca o de *Silene armeria*, desarrollan una roseta de hojas basales que permanece en estado vegetativo indefinidamente (Fig. 20-8). El crecimiento del tallo, y la floración que se produce inmediatamente después, sólo tiene lugar en condiciones de LD. Diversas líneas de estudio indican que la elongación del tallo en estas plantas está mediatizada por el **control fotoperiódico del metabolismo de las GAs**. Así, la aplicación de GAs en condiciones de fotoperíodo no inductivas estimulan la elongación del tallo, mientras que los inhibidores de la síntesis de GAs suprimen el crecimiento inducido en LD. Este efecto promotor de las condiciones de día largo en la elongación del tallo se debe a un incremento endógeno de GAs activas. El LD regula específicamente la expresión del gen GA 20-oxidasa, cuyos transcritos se incrementan en condiciones de día largo y se reducen en condiciones no inductivas. Así, la actividad enzimática responsable de la conversión de GA₅₃ a GA₂₀



Figura 20-8. Efecto del fotoperíodo en el crecimiento del tallo y la floración de *Silene armeria*. Las plantas de la izquierda crecieron en condiciones no inductivas de día corto y nunca desarrollaron el tallo ni florecieron. Este hábito de crecimiento se denomina crecimiento «en roseta». Las plantas de la derecha se cultivaron en condiciones inductivas de día largo y desarrollaron el tallo y comenzaron la floración.

desaparece paulatinamente en la oscuridad y alcanza un nivel máximo constante en la luz. En SD, los niveles de GA fluctúan cíclicamente dentro de un margen pequeño de valores, con mínimos al final de la fase de oscuridad. En *Silene*, el LD incrementa hasta 30 veces el contenido en GA₁ de los brotes apicales en crecimiento. Este incremento activa los procesos de división celular del meristemo subapical y provoca el desarrollo del tallo (Fig. 20-9).

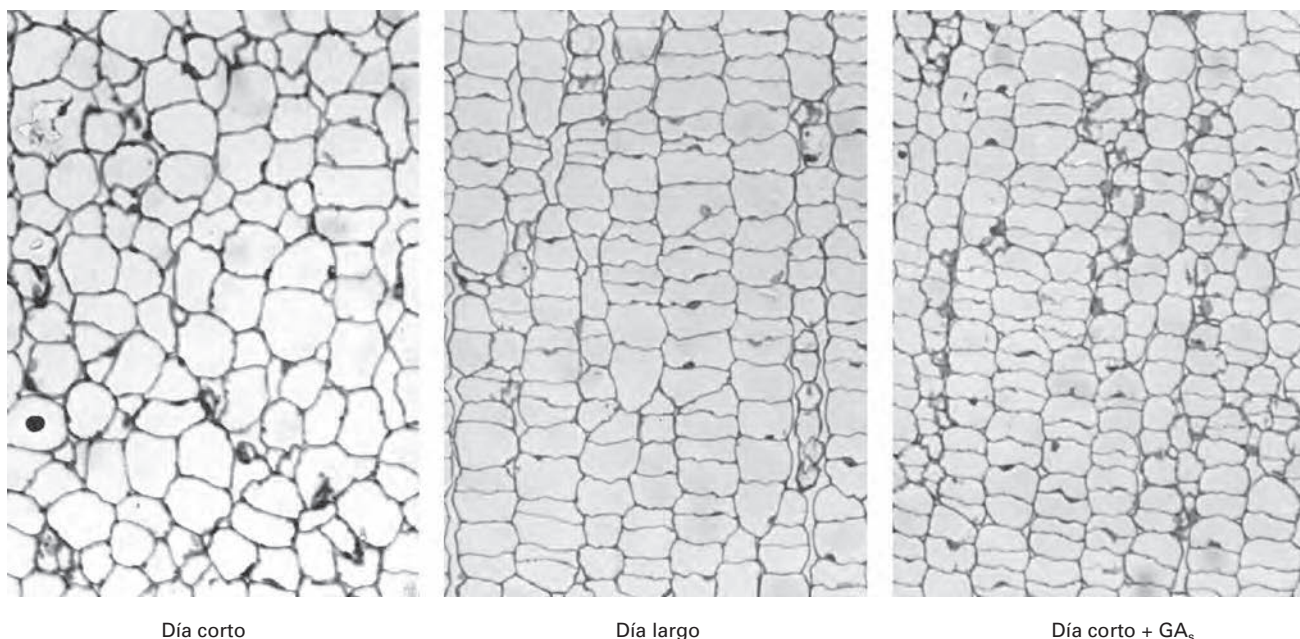
4.3. Los fenotipos de las plantas transgénicas que presentan alteraciones en la síntesis de GAs confirman los efectos fisiológicos atribuidos a las GAs

Mediante la generación de plantas transgénicas que expresan en diferente grado los genes de la síntesis de giberelinas, se ha estudiado el efecto de la **manipulación de la producción de GAs**. Los resultados obtenidos con distintos genes y especies confirman, en gran medida, los efectos tradicionalmente atribuidos a las GAs en el control y la regulación del crecimiento. Con el gen de la copalil fosfato sintasa dispuesta en antisentido, se han transformado plantas de soja, de manera que muestran un fenotipo enano heredable, con retraso en el crecimiento vegetativo, reproductivo y en la floración. Este enanismo se correlaciona con los niveles de mRNA de la enzima y de GA₁ en el hipocótilo. La transformación de *Arabidopsis* con el gen *GA5* en antisentido produce, asimismo, reducción y retraso del crecimiento, mientras que en los transformantes que sobreexpresan el gen, aumentan las GAs C₁₉, la elongación del hipocótilo y la altura final del tallo. Estas plantas también elongan y florecen antes, tanto en condiciones de día largo como en las de día corto. El gen *GA5* de *Arabidopsis* y el gen ortólogo de cítricos se han sobreexpresado también en plantas de tabaco con y sin requerimientos de LD, obteniéndose resultados similares (Fig. 20-10). Los transformantes muestran elongación del tallo y floración en condiciones inductivas y no inductivas, y alcanzan alturas superiores a las plantas control. El gen que codifica la 2β-hidroxilasa se ha utilizado en experimentos de transformación de *Arabidopsis*. Las plantas que sobreexpresan este gen muestran un fenotipo enano realmente acusado, sin apenas desarrollo del tallo.

4.4. Las GAs promocionan el crecimiento y el desarrollo a través de la estimulación de la división y la elongación celulares

Las GAs, entre otros efectos, activan la división celular al acortar la interfase del ciclo celular e inducir a las células en fase G₁ a sintetizar DNA. También modifican la extensibilidad de la pared celular, inducen la deposición transversal de microtúbulos y participan en la regulación del transporte de calcio.

En las plantas en roseta, las condiciones de LD o la aplicación de GAs incrementa el tamaño de la región meriste-



Día corto

Día largo

Día corto + GA₃

Figura 20-9. Efecto del fotoperíodo y las GAs en la estimulación de la división celular en el meristemo subapical del tallo de *Silene armeria*. En condiciones de día corto, las células ni experimentan división celular ni muestran una orientación predominante. En condiciones de día largo, por el contrario, las células sufren una división celular muy activa y se orientan en largas columnas. El efecto del día largo puede ser simulado en condiciones no inductivas de día corto mediante la aplicación de GAs exógenas a las plantas.

mática subapical al aumentar la proporción de células que entran en división celular. Esta nueva región meristemática produce la inmensa mayoría de las células que contribuyen posteriormente a la elongación del tallo (Fig. 20-9). Las GAs, sin embargo, no tienen un efecto pronunciado en la inducción de la división celular en cultivos celulares o en secciones aisladas de plantas. En cambio, en algunos sistemas (como fragmentos de hipocótilos de pepino, de tallos de arroz de agua profunda y de coleóptilos de trigo), la aplicación de GAs produce una respuesta de elongación celular muy acusada. En el arroz de agua profunda se ha observado que las GAs mediatizan el efecto tan llamativo que la inundación tiene sobre la elongación de los tallos, que crecen a razón de 0.5 cm/h.

4.5. En algunas plantas, las GAs pueden participar en los procesos de inducción floral

Se han presentado datos, tanto a favor como en contra, de la función reguladora de las GAs en los procesos de **inducción floral** de distintas especies. Aunque parecen existir pruebas de que en ciertas especies herbáceas las giberelinas son «florigenos» potenciales (p. ej., en *Lolium*), la afirmación de que actúan como inductores de la floración no puede generalizarse. En las especies que necesitan frío para florecer (vernalización) y, en general, en las plantas de LD cultivadas en condiciones no inductivas, la elongación y la floración se estimulan con la



Figura 20-10. Efectos de la sobreexpresión de la 20-oxidasa de *Citrus* en plantas transgénicas de tabaco. A la izquierda se muestra una planta control de tabaco no transformada. En el centro se muestra una línea transformada que, sin embargo, no expresa la 20-oxidasa de los cítricos. La planta de la derecha corresponde a una línea transformada que expresa dicha enzima.

aplicación de GAs. Estas observaciones hablan a favor de una función inductora. Otros trabajos muestran que niveles distintos de GAs en las diversas posiciones de la planta determinan intensidades diferentes de floración. También se ha demostrado que en *Arabidopsis*, una planta que en SD florece con retraso respecto al LD, los mutantes extremadamente deficientes en giberelinas no florecen en SD a menos que sean tratados con GAs. Se ha sugerido que los genes *LFY* (del inglés, *LEAFY*, véase el Capítulo 25) y *PPF1* (del inglés, *FLOWERING PROMOTING FACTOR-1*) podrían mediatizar parte de la respuesta a las GAs, pero incluso en este caso, las giberelinas parecen más claramente implicadas en la promoción de diversos aspectos del desarrollo floral, como la identidad de los órganos del meristemo floral (véase posteriormente), el crecimiento de anteras, o el desarrollo y la pigmentación de la corola.

En *Silene*, por el contrario, la aplicación de GAs en SD induce elongación del tallo sin desarrollo floral (Fig. 20-11). De hecho, en muchas plantas leñosas las GAs se comportan como inhibidores de la floración. Este efecto se ha descrito en algunas especies de interés agronómico (p. ej., en el manzano y los cítricos). Sin embargo, en el caso de las gimnospermas, las GAs parecen actuar como inductoras de la floración.

4.6. Las GAs controlan el crecimiento y el desarrollo de numerosos frutos

La regulación del crecimiento de los frutos depende, en gran medida, de las hormonas sintetizadas en las semillas y, en particular, de las GAs (véase el Capítulo 26). En muchas especies se ha demostrado que el número de frutos que cuajan, e incluso el tamaño de éstos, se correlacionan con el número de semillas. En los frutos con semillas, la ausencia de polinización y de semillas detiene el crecimiento del fruto y provoca su abscisión. En el guisante, la pera, la fresa y el tomate, por ejemplo, la aplicación de GA_3 a frutos no polinizados supe el efecto de la polinización y de las semillas y estimula el **crecimiento partenocárpico del fruto**. Otras observaciones que relacionan las GAs con el desarrollo del fruto se han obtenido en los mutantes muy deficientes en giberelinas, que no producen frutos o lo hacen a menor escala. Todos estos ejemplos ponen de manifiesto que las GAs producidas en las semillas regulan el crecimiento del fruto.

En *Arabidopsis*, y también en el guisante, se han presentado pruebas que sugieren que, además de las GAs generadas en las semillas, el desarrollo de las silicuas y las vainas precisa de las GAs de los tejidos maternos. Así, la poliniza-

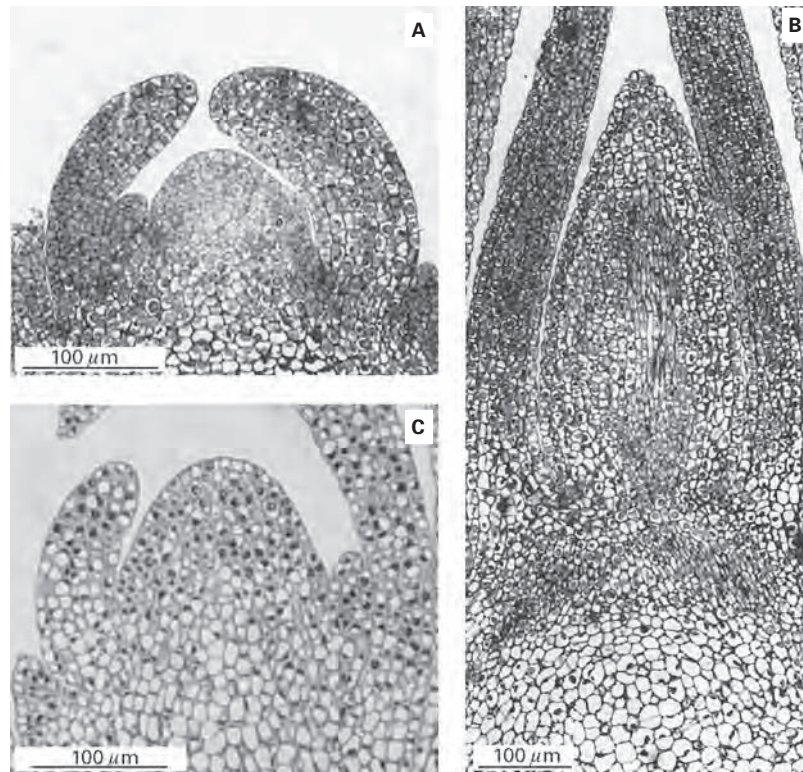


Figura 20-11. Efecto del fotoperíodo y de las giberelinas en la transición floral del meristemo apical de *Silene armeria*. **A.** En condiciones de día corto, el meristemo apical siempre muestra una estructura vegetativa clásica. **B.** En condiciones de día largo, los meristemas vegetativos se transforman en meristemas florales. **C.** El tratamiento con giberelinas a las plantas que se cultivan en día corto nunca provoca la transición del meristemo vegetativo a meristemo floral y, por tanto, no induce floración. Este tratamiento, sin embargo, sí induce el desarrollo del tallo.

ción induce la síntesis de GA_1 en las semillas y el pericarpio al inducir la expresión de GA 3-oxidasas. Paralelamente, el crecimiento del pericarpio es sustentado por las semillas que, favoreciendo la presencia de auxinas en dicho tejido, provocan incrementos de los niveles de la giberelina activa GA_1 a través de la estimulación de la síntesis de GA 20-oxidasa y GA 3-oxidasa.

Por otro lado, los frutos genéticamente partenocárpico, como es el caso de los cítricos, contienen niveles de GAs normales. Esta observación indica que, en los frutos sin semillas, el factor responsable de la partenocarpia estimula la presencia de niveles de GAs relativamente altos en los tejidos de los ovarios, induciendo el desarrollo del fruto en ausencia de polinización o fertilización. En el tomate, por ejemplo, los genotipos partenocárpico facultativos que pueden desarrollar frutos en ausencia de polinización, presentan un fuerte incremento de la actividad GA 20-oxidasa y de los niveles de GA_{20} en los ovarios no polinizados.

4.7. Las GAs estimulan la germinación de numerosas especies y, en los cereales, coordinan la movilización de reservas que sustentan el crecimiento inicial de las plántulas

Se han presentado numerosas pruebas del papel de las giberelinas en el proceso de germinación. En primer lugar, en algunas especies las GAs suplen los requisitos de luz o frío que

precisan muchas semillas para germinar. La inducción de la germinación por estratificación (tratamiento con temperaturas bajas) se asemeja mucho conceptualmente al efecto de la vernalización en la floración, y también está mediatizada por las GAs. Se han obtenido otras pruebas con los mutantes extremadamente deficientes en GAs de *Arabidopsis* y el tomate, que no germinan sin la aplicación externa de esta hormona.

En la semilla madura de guisante, la 3-hidroxilación de GA_{20} a GA_1 se produce al inicio de la germinación y activa el crecimiento de los 10 primeros entrenudos de la planta. En las semillas de lechuga y *Arabidopsis*, se ha mostrado que la germinación está regulada por el fitocromo. En general, la luz roja aumenta la expresión de la 3 β -hidroxilasa y la represión de la 2-hidroxilasa, incrementando la síntesis de GA_1 , mientras que la luz roja lejana anula estos efectos (Fig. 20-12).

En los cereales, la movilización de reservas está coordinada por las GAs producidas en el embrión. Esta movilización sostiene el crecimiento de la plántula recién germinada hasta que ésta es fotosintéticamente activa. El embrión de las semillas de los cereales es un tejido diploide que contiene un órgano especializado de absorción, el escutelo. El endospermo, por otro lado, es un tejido de reserva triploide compuesto por el endospermo almidonoso, formado por células que almacenan granos de almidón; y la capa de aleurona, constituida por unas pocas capas de células que contienen cuerpos proteicos y lipídicos (Fig. 20-13). Inmediatamente después de la germinación, la capa de aleurona libera en el endospermo enzimas hidrolíticas responsables de la degradación de las reservas. Una vez formados, azúcares, aminoácidos y demás compuestos solubles son absorbidos por el escutelo y transportados

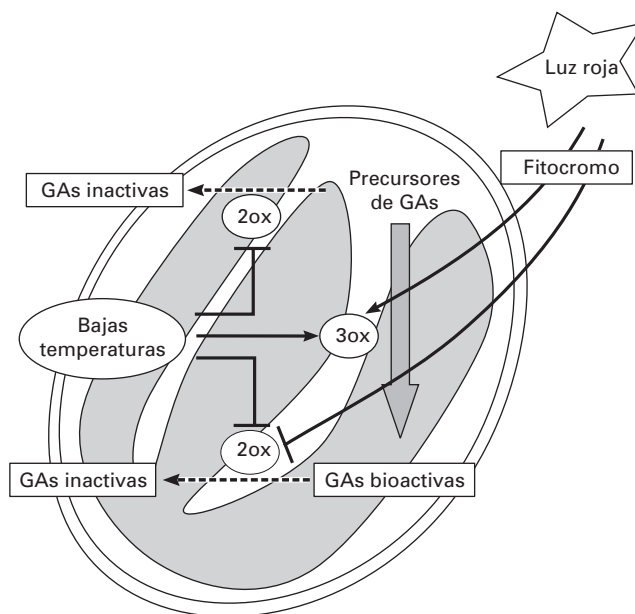


Figura 20-12. Modelo de la activación de la germinación de semillas por las GAs. Junto con las bajas temperaturas, la estimulación por la luz roja mediada por el fitocromo conduce a un incremento de la biosíntesis de GAs activas. Estos estímulos inhiben la expresión de GA 2-oxidasa y estimulan los transcritos de GA 3-oxidasa, induciendo así el crecimiento del embrión.

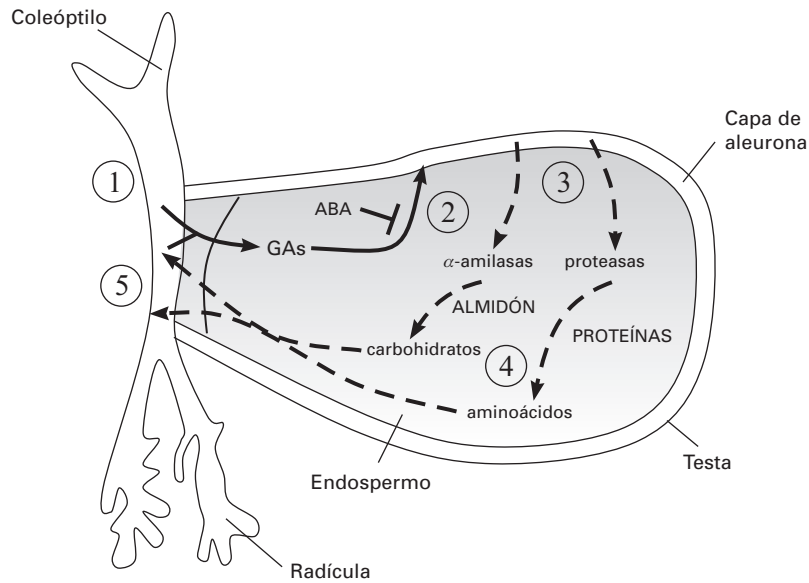


Figura 20-13. Representación esquemática de la movilización de reservas que tiene lugar en las semillas de cebada. Las GAs producidas en el embrión y el escutelo (1) alcanzan la capa de aleurona (2), donde estimulan la síntesis de enzimas hidrolíticas, principalmente α -amilasas y proteasas (3). Las amilasas degradan el almidón, y las proteasas las proteínas (4). Los productos de reserva así digeridos son absorbidos por la plántula en crecimiento (5), lo que permite su crecimiento y desarrollo.

a los órganos en crecimiento para su sustento. La liberación enzimática depende de la presencia del embrión, que contiene GAs endógenas que son transportadas al endospermo, y de ahí a la capa de aleurona. El efecto inductivo del embrión puede ser suplido por soluciones tamponadas que contengan GA y Ca^{2+} . A diferencia del Ca^{2+} , que es un factor necesario durante el procesamiento y la liberación de las enzimas hidrolíticas, las GAs promueven directamente la síntesis de **α -amilasas** y **proteasas** al activar la transcripción génica. El proceso de señalización correspondiente es bastante complejo. Existen redes de señalización en las que diferentes elementos, entre ellos otras hormonas como el ácido abscísico (ABA) que contrarresta la respuesta de las GAs, participan e interactúan con las giberelinas. Otros elementos de naturaleza química variada (p. ej., fosfolípidos) también se ha observado que participan como mediadores del proceso.

5. RUTAS DE SEÑALIZACIÓN Y EXPRESIÓN GÉNICA

5.1. La existencia de receptores de GAs en la membrana plasmática es todavía una incógnita, aunque sí se han aislado receptores en el núcleo

Durante mucho tiempo se han buscado los «receptores de GAs», los elementos iniciales de la señal inducida por las GAs, entre las proteínas de membrana con mayor o menor capaci-

dad de unión a las GAs. Sin embargo, el papel de receptor en sentido estricto no ha sido probado en ninguno de estos casos, y su existencia sigue siendo una incógnita. Por otra parte, diversos estudios han mostrado que, en el proceso de transporte de la señal desde la membrana plasmática al núcleo, intervienen proteínas G heterotriméricas, como las D1 (del inglés, DWARF1), que actúan como reguladores positivos.

El primer receptor de GAs se identificó a partir del estudio de la proteína GID1 (del inglés *GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF 1*) arroz (Lynn y cols., *The Plant Cell* 18:278-282, 2006).

Se localiza en el núcleo, y se une a GAs en muy bajas concentraciones, actuando como un regulador positivo de la señalización (Fig. 20-14). Por consiguiente, y según el modelo actual, en una primera fase las GAs serían percibidas por un hipotético receptor en la membrana plasmática y, posteriormente, por GID1 en el núcleo.

5.2. La ruta de transducción de la señal de GAs, caracterizada por la presencia de varios reguladores positivos y negativos, es muy compleja

Una vez en el núcleo, la señal percibida por GID1 sería transmitida a través de un proceso complejo mediado por quinasas, en el que intervienen otros reguladores positivos, como GID2 (del inglés, *GA-GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF 2*) y SLY1 (*SLEEPY1*). Estas proteínas son homólogas a las F-box y, muy probablemente, forman parte de una subunidad del complejo

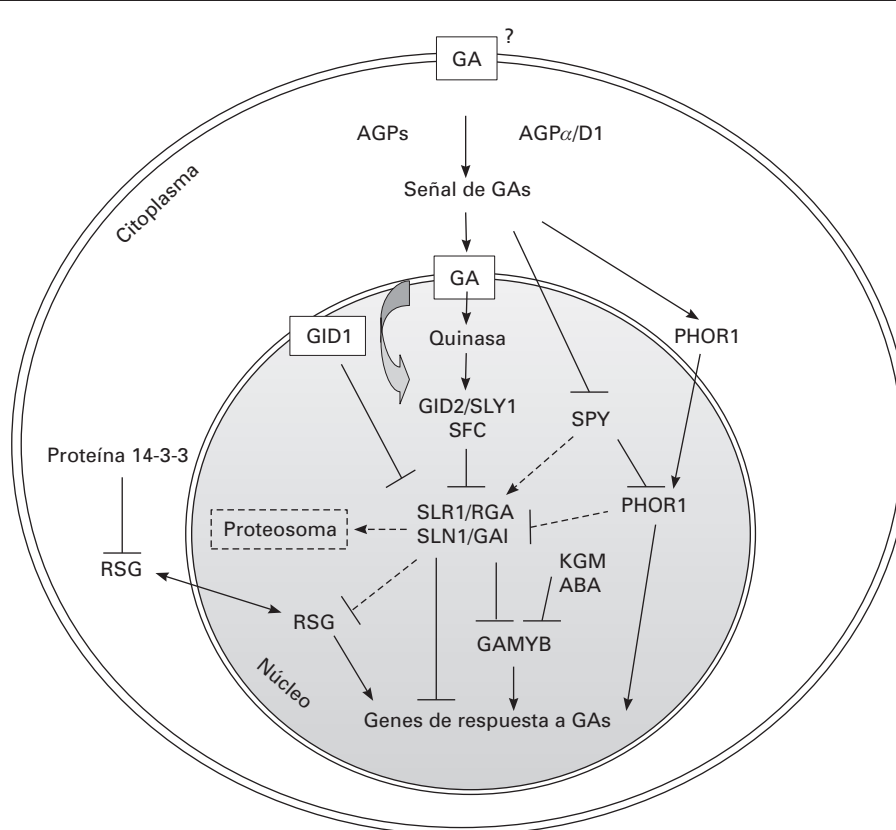


Figura 20-14. Ruta de transducción de la señal de GAs. Hasta el momento sólo se ha identificado con seguridad un único receptor de la señal de GAs, *GID1*, de localización nuclear. Obsérvese en el núcleo el papel central que desempeñan las proteínas *DELLA* como reguladores negativos. Otros muchos reguladores (positivos y negativos) modulan la actividad represora de las proteínas *DELLA* sobre la transducción de la señal de GAs. La inactivación de estas proteínas permite que la señal se transmita, induciendo cambios en la expresión génica. (Adaptado de Gomi y Matsuoka, 2003.)

SCF nuclear, un tipo de ubiquitina-E3-ligasa que participa en los procesos que implican proteólisis en las plantas (Sasaki y cols., *Science* 299: 1896–1898, 2003). Ambas proteínas parecen modular la respuesta a las GAs, controlando la estabilidad de las proteínas *DELLA*, elementos clave del proceso de señalización.

En *Arabidopsis* se han descrito al menos cinco tipos de proteínas *DELLA* (*RGA*, *GAI*, *RGL1*, *RGL2*, *RGL3*). Pertenecen a una subfamilia de la familia de proteínas *GRAS* (presentan dominios *GRAS*), propias de los vegetales, que contienen motivos específicos en su región amino-terminal, los llamados dominios *DELLA* (*DELLA* y *TVHYNP*; Fig. 20-15). Sin embargo, en algunas especies de cereales, como el arroz y la cebada, sólo se ha descrito un único gen *DELLA*.

Las mutaciones en las proteínas *DELLA* explican los dos fenotipos de «mutantes de respuesta», mutantes enanos y mutantes esbeltos, mencionados en el apartado 4.1.3. La característica fundamental que explica estos fenotipos es que las proteínas *DELLA* actúan como represores (reguladores negativos) de la acción de las GAs, es decir, en su ausencia inhiben las respuestas atribuidas a las GAs, mientras que en su presencia son rápidamente degradadas, posibilitando su efecto (Fig. 20-16 A). Como se indicó anteriormente, el complejo SCF-SLY1/*GID2*, que

mediaría en la degradación de las proteínas *DELLA* a través de la ruta ubiquitina-proteosoma, adquiere, por tanto, una gran relevancia como elemento regulador de la ruta de señalización (Fig. 20-16 B). Así, las mutaciones que exhiben un fenotipo enano

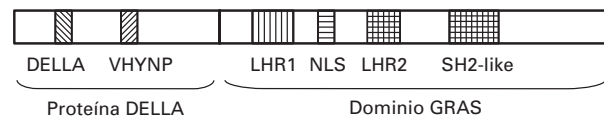


Figura 20-15. Esquema de la estructura de las proteínas *DELLA*. Son proteínas pertenecientes a la familia de proteínas *GRAS*, altamente específicas de vegetales y que contienen, además de los motivos particulares de esta familia (dominios *GRAS*), motivos específicos en su región amino-terminal conocidos como dominios *DELLA*. Funcionan como reguladores negativos de la señalización de las GAs, y sus regiones *DELLA* y *TVHYNP* son necesarias para desempeñar su función. En el núcleo, las proteínas *DELLA* actúan como represoras de la acción de las GAs, de manera que en su presencia son rápidamente degradadas, permitiendo que se desencadene el proceso de señalización. (Adaptado de Sun y Gubler, 2004.)

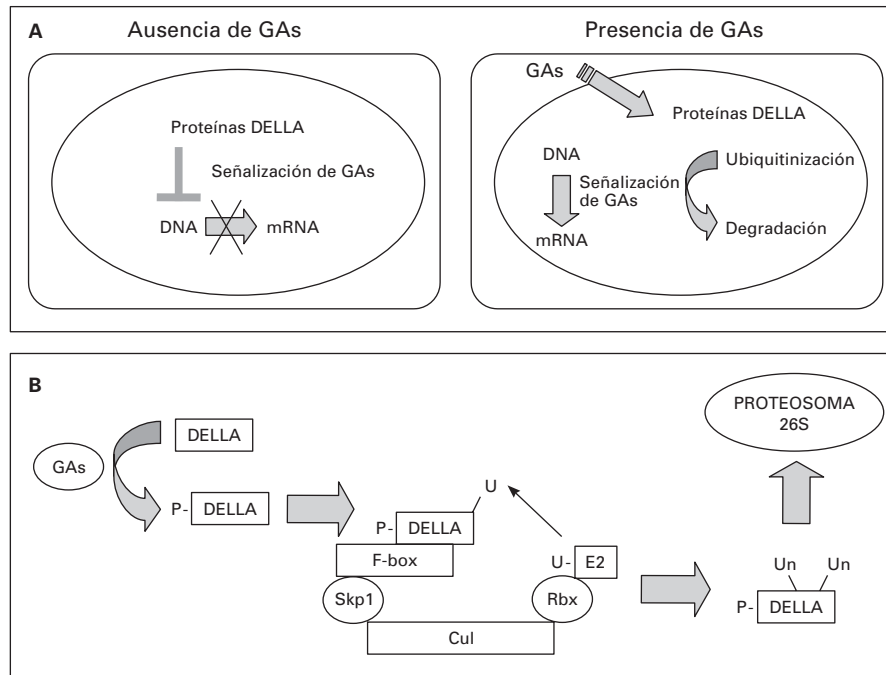


Figura 20-16. A. Función de las proteínas DELLA como reguladores negativos en el proceso de señalización de las GAs. En ausencia de GAs, las proteínas DELLA reprimen las etapas posteriores de señalización de modo permanente. Por el contrario, las GAs inducen la degradación de las proteínas DELLA y permiten la transducción de la señal. **B.** El proceso de degradación de las proteínas DELLA comienza con una etapa de fosforilación que posibilita su reconocimiento por la proteína F-box de la ubiquitina ligasa E3 (complejo SCF, Skp1-Culina-F-box). La ubiquitina (U) se conjuga con las proteínas DELLA a través de la ruta metabólica conocida como E2. Una vez formada una cadena característica de poliubiquitina (Un), la proteína DELLA es degradada por el proteosoma 26S y las ubiquitinas recicladas. (Adaptado de Sun y Gubler, 2004.)

insensible a las GAs están causadas por «ganancia de función» (deleciones o alteraciones) de la región DELLA. Una explicación plausible es que en estos mutantes la proteína DELLA mutada no puede degradarse ni siquiera en presencia de GAs y, por tanto, reprime continuamente las respuestas dependientes de GAs, entre ellas la elongación del tallo (Dill y cols., *Proc Natl Acad Sci USA* 98:14162–14167). Como se vio anteriormente, estas mutaciones están representadas en *Arabidopsis* por los mutantes *gai* y *rga1-3*, y en el maíz y el trigo por *dwarf 8 (d8)* y *reduced height triticum (rht)*.

Un segundo grupo de mutantes comprende aquellos fenotipos altos también insensibles a las GAs, originados por mutaciones recesivas de «pérdida de función» que presentaban fenotipos *slender*, como los aislados en el arroz y la cebada (*slr1* y *sln1*, respectivamente). En estos mutantes, la proteína DELLA mutada se altera de tal forma que no ejerce su función represora, no puede reprimir las respuestas de las GAs y posibilita su expresión permanente.

Como reguladores positivos de la señalización destaca *PHOR1* (del inglés, *PHOTOPERIOD-RESPONSIVE 1*), un gen que codifica una proteína con repeticiones muy características, de tipo *armadillo*. Su deficiencia provoca un fenotipo semianano, mientras que su sobreexpresión produce un fenotipo con entrenudos largos. *PHOR1*, por tanto, ejerce un papel activador de la señalización de las GAs. En ausencia de éstas, un motivo proteico específico retiene a *PHOR1* inactivo

en el citosol, pero durante la señalización dicho motivo es inhibido, *PHOR1* es transportado al núcleo y se estimula la transcripción de genes que codifican productos inductores de respuesta a las GAs. Este efecto puede producirse de modo directo o a través de la inhibición de las proteínas DELLA.

Un regulador negativo adicional de la señalización es *SPY* (*SPINDLY*), una N-acetil glucosamina transferasa que se encuentra tanto en el citoplasma como en el núcleo, y que participa en el reconocimiento y la interacción proteína-proteína. *SPY* posee la capacidad de modificar postraduccionalmente proteínas que interfieren o compiten con quinasas por los lugares de fosforilación. En ausencia de GAs, *SPY* induciría la síntesis y la estabilidad de las proteínas DELLA evitando su degradación, al tiempo que inhibiría a los reguladores positivos, como *PHOR1*. En presencia de GAs, sin embargo, su expresión se vería drásticamente inhibida, y liberaría de su represión a otros reguladores positivos, como *PHOR1*. Todo ello hace que el fenotipo de los mutantes *spy* sea muy similar al de plantas tratadas con GAs (fenotipo *slender*).

En las etapas finales de la señalización se encuentran los factores de transcripción MYB, reguladores positivos de la respuesta a las GAs (*GAMYB*). Estos factores interactúan con *KGM* (del inglés, *KINASE-ASSOCIATED WITH GAMYB*), una proteína quinasa que funcionaría como un represor de *GAMYB*, al igual que el ácido abscísico (ABA) (Fig. 20-14). La presencia

de proteínas DELLA parece inhibir la expresión de GAMYB, mientras que, en su ausencia, GAMYB transduciría la señal estimulando la expresión de genes de respuesta a las GAs. Otro regulador positivo en estas etapas posteriores es *RSG* (del inglés, *repression of shoot growth*), que parece actuar de modo independiente, activando directamente los genes de respuesta a GAs. Su función está regulada por proteínas de tipo 14-3-3, que controlan su localización subcelular en el núcleo y, por consiguiente, su eficiencia como efector transcripcional.

Se han descrito otros reguladores de la señalización de GAs, cuya posición en la ruta de señalización aún no se ha aclarado por completo. Así, *SHI* (del inglés, *SHORT INTERNODES*) parece comportarse como un regulador negativo de la señalización de GAs, mientras que *PICKLE (PKL)* codifica un factor de remodelado de cromatina. Este regulador positivo podría intervenir en procesos de represión génica durante la diferenciación de la raíz, la germinación de la semilla o la transición de embrión a estado adulto.

Además del ABA, en el proceso de señalización de las GAs también pueden interactuar otras hormonas. Así, las auxinas, por ejemplo, podrían participar en el proceso de degradación de ciertos tipos de proteínas DELLA.

5.3. La respuesta a las GAs implica, finalmente, cambios en la expresión génica

5.3.1. La capa de aleurona de las semillas de cebada es un tejido modelo para el estudio de la regulación de la expresión génica por parte de las GAs

Los efectos de las GAs se ejercen, en último término, a través de la activación de la transcripción de los genes de respuesta a las GAs. En este campo, el conocimiento más preciso se ha obtenido estudiando el sistema de la capa de aleurona de las semillas de los cereales, donde las GAs y el ABA de forma antagónica regulan la expresión génica que codifican proteasas, glucanasas y, principalmente, α -amilasas. El efecto mejor estudiado en este sistema es la regulación de la expresión génica de α -amilasa. Las GAs incrementan considerablemente los niveles de mRNA de la α -amilasa 1-2 horas antes de que se produzca la liberación de la proteína en el medio.

Como se indicó en el apartado precedente, la presencia de GAs provoca la degradación rápida de las proteínas DELLA induciendo la expresión de GAMYB, un factor de transcripción que, en definitiva, activaría la expresión de los genes de α -amilasa. Las proteínas DELLA, sin embargo, no interactúan físicamente con el promotor del gen *GAMYB*, por lo que la activación de su expresión se debe a factores transcripcionales o a reguladores de la cromatina por ahora desconocidos (Fig. 20-17). Los resultados sí muestran de forma inequívoca que la presencia de GAs incrementa el mRNA y el contenido de proteínas GAMYB, es decir, que activa su transcripción y traducción (Gubler y cols., *Plant Physiol* 129:191-200,

2002). Otras observaciones complementarias también indican la existencia de mecanismos postranscripcionales que modifican la función de *GAMYB*. En prácticamente todos los tejidos y órganos de la planta (excepto, curiosamente, en la capa de aleurona) se ha demostrado que este tipo de regulación postranscripcional se ejerce a través de microRNA (véase el apartado siguiente). La naturaleza de esta regulación en la capa de aleurona todavía se desconoce.

Las proteínas GAMYB, una vez ensambladas en el citoplasma, penetran en el núcleo para transactivar la transcripción de los genes de la amilasa. *GAMYB*, de hecho, es el único factor de transcripción regulado por GAs que es necesario para la activación transcripcional de los promotores de la α -amilasa. Los promotores de estos genes contienen un «**complejo de respuesta a las GAs**» (GARC) principalmente compuesto por «**elementos que responden a las GAs**» (GARE), la secuencia TATCCAC y la caja de pirimidina (Fig. 20-18).

En ausencia de GAs, HRT, una proteína de localización nuclear, se une directamente a la zona que contiene el elemento GARE en el promotor del gen de la α -amilasa, reprimiendo de esta forma la expresión génica. En presencia de GAs, GAMYB desplaza a HRT, se une específicamente a GARE y activa su transcripción. La mutación de las cajas GARE demuestra que este motivo génico es el elemento que reconoce la señal hormonal. Además, existen otros factores de transcripción de tipo DOF (del inglés, *DNA binding with one finger proteins*), como BPBF y SAD, que se unen a las cajas de pirimidina de los GARC de forma competitiva, regulando, pues, la intensidad de la expresión. Las proteínas BPBF actúan como represores en ausencia de GAs, mientras que otras, como SAD, funcionan como activadores tras la aplicación de GAs.

Concluido el proceso de transcripción, los mRNA de la amilasa son traducidos en el citoplasma, posibilitando la síntesis de α -amilasa. La enzima hidrolítica se libera al exterior de la célula, donde cataliza, finalmente, la degradación del almidón.

5.3.2. Otros genes de respuesta a GAs están implicados en procesos fundamentales del desarrollo como la elongación, el crecimiento y la inducción floral

En algunos casos, los genes diana de GAMYB todavía tienen que ser definitivamente identificados, aunque el progreso en este campo es notorio. Así, mediante estudios con chips de DNA en semillas de *Arabidopsis*, se han detectado unos 250 genes que modifican su expresión en respuesta a la aplicación de GAs durante la germinación y la elongación inicial de las plántulas. El 20% de ellos contiene elementos GARE en su región promotora, lo que indica que se trata de genes de respuesta temprana a las GAs, porque interactúan con el factor GAMYB. En *Arabidopsis* y en el arroz, los genes ortólogos a *GAMYB* se expresan en prácticamente todos los tejidos

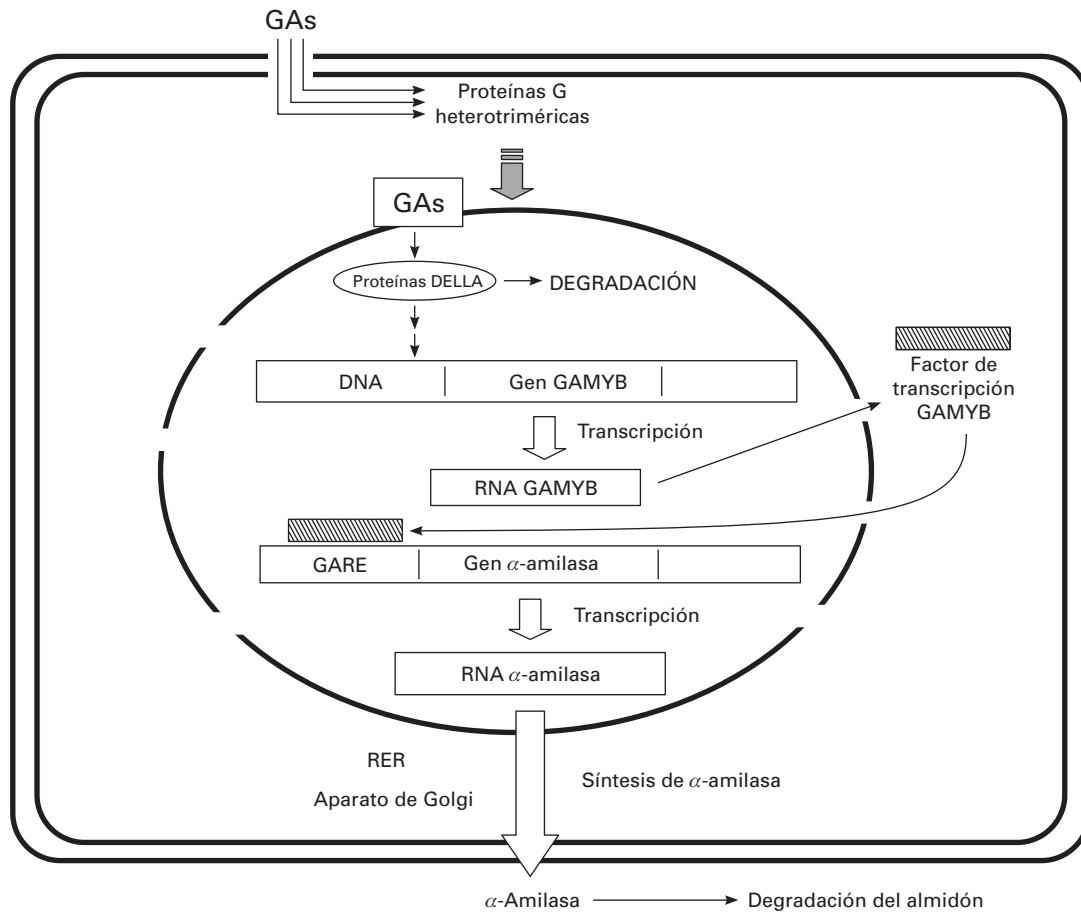


Figura 20-17. Regulación de la transcripción de los genes de la α -amilasa en la capa de aleurona de la semilla de los cereales. La degradación de las proteínas DELLA regula la expresión de GAMYB (el factor de transcripción de respuesta a giberelinas) mediante factores desconocidos de transcripción, o quizás también de la cromatina. Aunque no se muestra en la figura, GAMYB también se regula postranscripcionalmente. Tras penetrar en el núcleo, la proteína GAMYB se une al promotor del gen de la α -amilasa, activando su transcripción. La enzima es sintetizada en el citoplasma y, finalmente, liberada al exterior de la célula. (Adaptado de Taiz y Zeiger, 2002.)

en crecimiento, como los brotes vegetativos en desarrollo, en las anteras y en las zonas próximas a los internodos. Como se mencionó anteriormente, la función de GAMYB está también regulada postranscripcionalmente. La naturaleza de este tipo de regulación sobre GAMYB ha sido específicamente atribuida a miR159, un microRNA que actúa como regulador negativo de los genes de respuesta a las giberelinas en la mayor parte de los tejidos y los órganos, excepto en la capa de aleurona. Los microRNA ejercen modificaciones postranscripcionales alterando la estabilidad del mRNA y reduciendo principalmente la traducción a proteínas, aunque también pueden actuar a nivel transcripcional mediante el proceso de metilación.

Uno de los efectos fundamentales de las GAs en los procesos de crecimiento y elongación celular está mediatizado por modificaciones ostensibles en la **extensibilidad** de las paredes celulares. Así, se ha dado a conocer que las GAs aumentan la expresión de algunos genes implicados en la elongación celular relacionados, por ejemplo, con acuaporinas de la membrana del tonoplasto o con actividades enzi-

máticas de la pared celular. Tal es el caso de *GLU1* del arroz, que codifica una endoglucanasa cuyos mutantes (*OsGlu1*) muestran un fenotipo enano relacionado con la señalización de GAs. Otra diana potencial de las GAs en los procesos de expansión celular es la orientación de las microfibrillas de celulosa en las paredes celulares que determina la polaridad de la expansión celular. Se ha demostrado que las GAs inducen en el entrenudo de avena la expresión de los transcritos de α - β -tubulinas, cuya síntesis se cree necesaria en la reorientación de los microtúbulos que, a su vez, controlan la acumulación de microfibrillas. El ácido giberélico también estimula la actividad endotransglicosilasa, que promueve la motilidad de las microfibrillas de hemicelulosa, incrementando su extensibilidad. No obstante, éste es un proceso complejo que requiere la participación de otros compuestos de naturaleza hormonal, como las auxinas. En el meristemo intercalar del «arroz de aguas profundas», las GAs también inducen la expresión de genes relacionados con las ciclinas, que son proteínas reguladoras del ciclo celular.

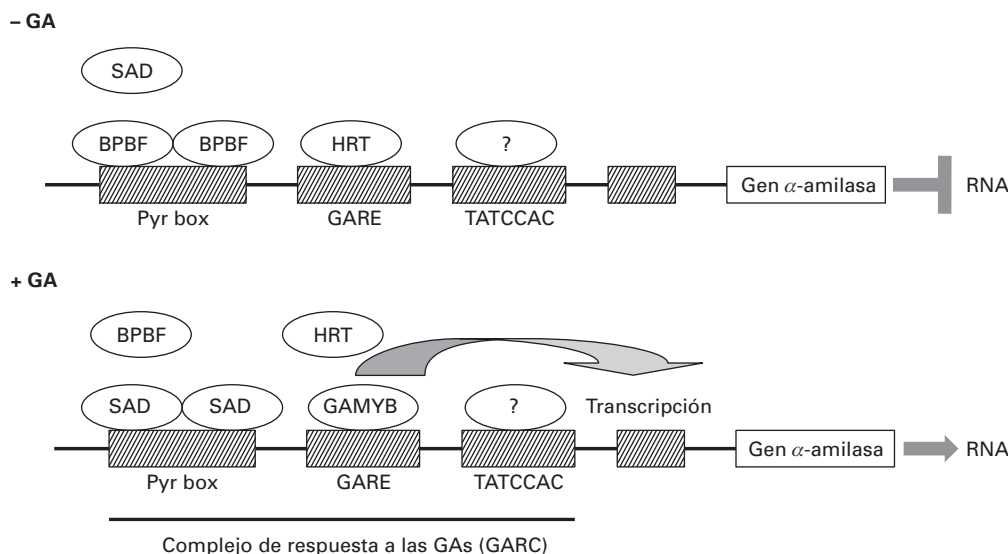


Figura 20-18. Complejo de respuesta a las GAs (GARC) de los promotores de los genes de la α -amilasa y factores de transcripción implicados. Los promotores de estos genes contienen un «complejo de respuesta a las GAs» (GARC) básicamente compuesto por «elementos que responden a las GAs» (GARE), la secuencia TATCCAC y la caja de pirimidina. En la regulación de la transcripción de los genes de la amilasa participan factores que, en ausencia de GAs, actúan como represores de la transcripción, como las proteínas BPBF, que se unen a las cajas de pirimidina, y las proteínas HRT, que se unen a los elementos GARE. En presencia de GAs, las proteínas SAD y GAMYB compiten con los represores BPBF y HRT, respectivamente, desplazándolos de sus puntos de unión al DNA y activando la transcripción. (Adaptado de Sun y Gubler, 2004.)

Las GAs también promueven cambios en la expresión génica de los tejidos reproductivos. En la corola de las flores de petunia, estas hormonas gobiernan la coloración y el crecimiento de los pétalos a través del control de varios genes que intervienen en la síntesis de antocianos, como la chalcona sintasa y la chalcona isomerasa. También se han detectado genes que codifican proteínas ricas en prolina y glicina, implicadas en el desarrollo de pétalos y estambres. Por otro lado, las GAs regulan directa o indirectamente la expresión de genes homeóticos, como *LEAFY*, que determinan la identidad de los órganos florales (véase el Capítulo 25). En los ápices de los brotes de *Arabidopsis*, por ejemplo, la proteína *GAMYB* se une al elemento GARE del promotor de este gen. La expresión de *GAMYB* también aumenta en las plantas expuestas a tratamientos de día largo y, de forma consistente, en distintos tejidos de las anteras en desarrollo.

6. APLICACIONES COMERCIALES

La giberelina disponible comercialmente es el **ácido giberélico o GA₃**, que se obtiene por fermentación de los extractos del hongo *Gibberella*. Las GAs se emplean en la producción de uva sin semillas, y en la de manzanas, para aumentar su tamaño y calidad, mientras que en los cítricos autoincompatibles incrementan el cuajado del fruto. En general, las GAs son capaces

de estimular el cuajado de especies que contienen un número reducido de óvulos, como el melocotón, el albaricoque o la cereza. En los cítricos, el cambio de coloración de verde a naranja se retrasa también con las GAs, un tratamiento que, además, previene diversas alteraciones de la corteza.

Las GAs se utilizan para estimular el desarrollo del tallo en la caña de azúcar y en la alcachofa, y del pecíolo en el apio. El incremento y el adelanto en la producción de malta a partir de los granos de cebada también es una aplicación comercial de estos compuestos. Las GAs se usan, asimismo, para romper la latencia de tubérculos de patata o como inductores de la germinación del arroz y de variedades enanas. En la mejora vegetal de las gimnospermas, se utilizan para inducir una floración precoz, y en la calabaza, para incrementar la proporción de flores masculinas. Existen otras aplicaciones de las GAs, menos comunes pero no por ello menos útiles, como, por ejemplo, su empleo para modificar la arquitectura de la planta, sobre todo en especies arbóreas.

Los inhibidores de la síntesis de GAs, que en general actúan como retardadores del desarrollo, también son empleados habitualmente en la agricultura con distintos fines. Así, el paclobutrazol y otros compuestos se utilizan comúnmente en floricultura para reducir el desarrollo de especies como los crisantemos o las poinsetias, mientras que en los cereales se pretende evitar el «encamado», y en las especies frutales el crecimiento excesivo del árbol.



RESUMEN

- Las GAs constituyen una amplia familia de diterpenos ácidos que regulan el crecimiento y el desarrollo de los vegetales superiores. En esta familia de compuestos, estructurada en tres rutas biosintéticas, solamente las GAs C_{19} 3β -hidroxiladas, como GA_1 y GA_4 muestran actividad biológica. La biosíntesis de GAs se inicia en el proplastidio y finaliza en el citoplasma. Los genes que codifican las enzimas biosintéticas se agrupan en pequeñas familias multigénicas, y se expresan diferencialmente. La biosíntesis está sometida a controles internos, como la retroalimentación negativa, y a factores ambientales, como el fotoperíodo.
- Las GAs producen efectos pleiotrópicos, de entre los cuales la elongación del tallo es el más espectacular. La elongación del tallo inducida por el día largo también es atribuible al incremento de los niveles de GAs que, a su vez, activan la división y elongación celulares. Los mutantes de biosíntesis presentan niveles reducidos de GAs y un fenotipo enano, mientras que los mutantes de respuesta son insensibles a las GAs pero pueden ser enanos o esbeltos. En la capa de aleurona de las semillas de los cereales, las GAs regulan la expresión de α -amilasa activando su transcripción.
- Hasta el momento se ha descrito un único receptor de GAs, que se ubica en el núcleo celular. La señal de GAs, después de su percepción por el receptor, se propaga por una vía de transducción de señales muy compleja en la que participan reguladores tanto positivos como negativos.
- Posiblemente, las proteínas DELLA, que actúan como reguladores negativos, constituyen los elementos clave de esta ruta, y sus mutaciones explican los fenotipos observados en los mutantes de respuesta. La degradación de estas proteínas propicia la transmisión de la señal de GAs que, en último término, activa la transcripción de *GAMYB*, el factor de transcripción que posibilita la inducción de los genes de respuesta de GAs. *GAMYB* también se regula postranscripcionalmente a través de microRNA.
- Los promotores de los genes de respuesta a las GAs, como los de la α -amilasa, poseen un complejo GARC de respuesta a las GAs que está compuesto, entre otros, por elementos GARE que responden específicamente a la señal hormonal de GAs y al que se une *GAMYB*. Los genes de respuesta de las GAs son numerosos y participan en la regulación de procesos básicos del desarrollo vegetativo y reproductivo, como la germinación, el crecimiento del tallo, la inducción floral y el desarrollo de los frutos.



PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1 ¿Cuáles son las etapas en que puede dividirse la biosíntesis de GAs, y en qué argumentos se sustenta esta división?
- 2 Las enzimas 20 oxidasas transforman GAs C_{20} en GAs C_{19} . a) En la ruta de la 13-hidroxilación, estas enzimas convierten GA_{19} en GA_{20} ; y b) en la calabaza, producen GAs tricarboxílicas con preferencia. ¿Contradicen estos dos hechos la afirmación inicial?
- 3 Si la actividad biológica de las GAs reside exclusivamente en estructuras C_{19} que portan un grupo 3β -hidroxilo, ¿por qué en los bioensayos muestran actividad?: a) las GAs C_{20} , b) las GAs no hidroxiladas, y c) los conjugados de GAs. d) ¿Qué GAs nunca exhiben actividad?
- 4 Por el momento sólo se ha identificado un receptor de GAs, *GID1*, que además, en contra de lo esperado, presenta localización nuclear. Basándose en la información contenida en este capítulo, explique la presencia (presumible pero no demostrada hasta la fecha) de hipotéticos receptores, transportadores o canales de GAs en la membrana plasmática.
- 5 En general, en los cultivos agrícolas se observa que todas las plantas, cuando se encuentran en estado vegetativo, presentan una gran uniformidad. Sin embargo, en estos mismos campos destacan a veces unas pocas plantas que ya han desarrollado el tallo y han florecido, a diferencia de las demás. Si este fenómeno se relacionara con las GAs, ¿qué hipótesis pueden adelantarse para explicarlo?
- 6 Asumiendo que las mutaciones siguientes son muy graves o extremas, prediga el fenotipo del tallo de plantas mutantes para: a) la región DELLA; b) la proteína DELLA, en una zona distinta del dominio DELLA; c) el factor *GAMYB*; d) el elemento GARE; e) el microRNA, *miR159*; f) el receptor *GID1*; g) el transporte de auxinas; h) la 2β -hidroxilasa; i) la proteína *G(d1)*; j) la proteína *PHOR1*; k) la proteína *SPINDLY*; l) la proteína *SHI*; m) la proteína *PICKLE*; y n) *miR159* en relación a la liberación de amilasa?
- 7 Si la liberación de α -amilasa se produce en la capa de aleurona, ¿por qué es necesaria la presencia del embrión para que aquélla tenga lugar?

PROBLEMAS Y CUESTIONES (Cont.)



- 8) Prediga el fenotipo en relación con la elongación del tallo, la floración y los niveles de GA_1 de una planta de espinaca que se cultiva en condiciones de LD y se expone a los tratamientos: a) paclobutrazol, b) ciclohexanotriomas, c) paclobutrazol + GA_{20} , d) paclobutrazol + GA_1 , e) ciclohexanotriomas + GA_{20} , y f) ciclohexanotriomas + GA_1 .
- 9) De acuerdo con las hipótesis actuales mencione cuatro componentes esenciales, y sus funciones, en la ruta de transducción de GAs.
- 10) a) ¿Qué relación existe entre el gen GA_1 (o el mutante *ga1*) y la giberelina GA_1 ? b) ¿Y entre el gen GA_4 (o el mutante *ga4*) y la giberelina GA_4 ?

RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES



- 1) Etapa 1: desde GGPP a kaureno. Etapa 2: desde kaureno a GA_{12} -aldehído. Etapa 3: desde GA_{12} aldehído a las distintas GAs. Esta división se realiza por conveniencia, aunque quizá pueda argumentarse que en la primera etapa actúan enzimas solubles; en la segunda, microsomas; y en la tercera, solubles de nuevo.
- 2) a) No. GA_{19} es una GA C₋₂₀, mientras que GA_{20} es una GA C₋₁₉. b) Sí. La mayoría de enzimas generan GAs con 19 átomos de carbono y una pequeña proporción de GAs C₋₂₀ tricarbóxicas. La enzima de calabaza es una excepción e invierte esta relación.
- 3) a), b) y c) Porque las plantas poseen enzimas que pueden liberar las GAs de los conjugados y, también, transformar los precursores C₋₂₀ en GAs activas. d) Las GAs 2β-hidroxilasas y las GAs tricarbóxicas.
- 4) Sabemos que la «percepción» de GAs es nuclear pero, como existen fenómenos de transporte de GAs entre tejidos (p. ej., entre el embrión y la capa de aleurona) y sabemos que la aplicación exógena de GAs tiene efectos en las plantas, parece necesaria la presencia de algún componente que permita el paso al interior celular a través de la membrana plasmática.
- 5) Que las plantas que elongaron eran: 1) tratadas con GAs; 2) atacadas por *Gibberella*; 3) mutaciones de respuesta constitutiva a las GAs; 4) mutaciones que las independizan del fotoperíodo, o 5) del requerimiento de frío en la fase de semilla, o 6) en la fase vegetativa.
- 6) Los fenotipos predichos serían:
- | | |
|---------------------|---------|
| a) región DELLA | enano |
| b) proteína DELLA | esbelto |
| c) factor GAMYB | enano |
| d) elemento GARE | enano |
| e) microRNA, miR159 | esbelto |
| f) receptor GID1 | enano |
- g) transporte de auxinas enano
 h) 2β-hidroxilasa esbelto
 i) proteína G (D1) enano
 j) proteína PHOR1 enano
 k) proteína SPINDLY esbelto
 l) proteína SHI esbelto
 m) proteína PICKLE enano
 n) el fenotipo para la liberación de amilasa sería normal.
- 7) Porque contiene las GAs que se translocan a la capa de aleurona.
- 8) Elongación Floración Niveles de GA,
- | | | | |
|---|----|----|---------|
| A | No | Sí | Mínimos |
| B | No | Sí | Mínimos |
| C | Sí | Sí | Máximos |
| D | Sí | Sí | Máximos |
| E | No | Sí | Mínimos |
| F | Sí | Sí | Máximos |
- 9) Primero, el receptor de GAs, GID1, una proteína de localización nuclear que se une a las GAs en muy bajas concentraciones y que actúa como un regulador positivo de la señalización. Segundo, las proteínas DELLA, que actúan como represores (reguladores negativos) de la acción de las GAs; es decir, en ausencia de GAs inhiben las respuestas atribuidas a las GAs, mientras que en su presencia son rápidamente degradadas. Tercero, los factores de transcripción GAMYB, reguladores positivos de la respuesta a las GAs. Cuarto, el complejo GARC de los promotores de los genes de respuesta a las GAs, compuesto, entre otros, por el elemento GARE al que se une específicamente GAMYB.
- 10) En *Arabidopsis*, a) la mutación *ga1* inactiva la CPS, proteína codificada por el gen *GA1*; y b) la mutación *ga4* inactiva la 3β-hidroxilasa, proteína codificada por el gen *GA4*, que transforma GA_{20} , y GA_9 , respectivamente, en GA_1 y GA_4 .

**BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA**

1. Crozier A. (ed.): *The Biochemistry and Physiology of Gibberellins*, Vol. 1 y 2. New York, Praeger Publishers, 1983.
2. Davies PJ (ed.). *Plant Hormones. Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 1995.
3. Gomi K, Matsuoka M. Gibberellin signalling pathway. *Curr Op Plant Biol* 2003; 6:489-493.
4. Graebe JE. Gibberellin biosynthesis and control. *Annu Rev Plant Physiol* 1987; 38:419.
5. Hedden P. Recent advances in gibberellin biosynthesis. *J Exp Bot* 50:553-563.
6. Hedden P, Kamiya Y. Gibberellin biosynthesis: enzymes, genes and their regulation. *Annu Rev Plant Physiol Mol Biol* 1997; 48:431.
7. Hedden P, Phillips AL. Gibberellin metabolism: new insights revealed by the genes. *Trends Plant Sci* 2000; 5:523-530.
8. Richards DE, King KE, Ait-ali T *et al.* How gibberellin regulates plant growth and development: a molecular genetic analysis of gibberellin signaling. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 2001; 52:67-88.
9. Sun T, Gubler F. Molecular mechanism of gibberellin signaling in plants. *Annu Rev Plant Biol* 2004; 55:197-223.
10. Taiz L, Zeiger E. *Plant Physiology* (3ª ed.) Ed. Sinaver Associates, Inc. Publishers. Sunderland, EEUU, 2002.
11. Thomas SG, Sun T. Update on gibberellin signaling. A tale of the tall and the short. *Plant Physiol* 2004; 135: 668-676.

21

Citoquininas

JUAN SEGURA



1. Concepto de citoquinina. 2. Identificación de la primera citoquinina. 3. Estructura de las citoquininas. 4. Análisis e identificación de las citoquininas. 5. Relaciones entre estructura y actividad de las citoquininas. 6. Bioquímica de las citoquininas. 7. Lugares de síntesis y transporte de las citoquininas en las plantas. 8. Efectos fisiológicos de las citoquininas. 9. Habitación a las citoquininas. 10. Ruta de señalización de las citoquininas. 11. Aplicaciones comerciales de las citoquininas.

1. CONCEPTO DE CITOQUININA

Históricamente, el término **citoquinina** se acuñó como nombre genérico de una serie de sustancias, naturales o sintéticas, capaces de **estimular la división celular en presencia de auxinas**. Hoy sabemos que las citoquininas, como las restantes hormonas vegetales, ejercen multitud de efectos sobre el desarrollo de las plantas. No obstante, y dado que las interacciones, sinérgicas o antagónicas, entre auxinas y citoquininas son la base para explicar una serie de procesos fisiológicos, entre ellos la regulación de la división celular, esta denominación continúa siendo válida.

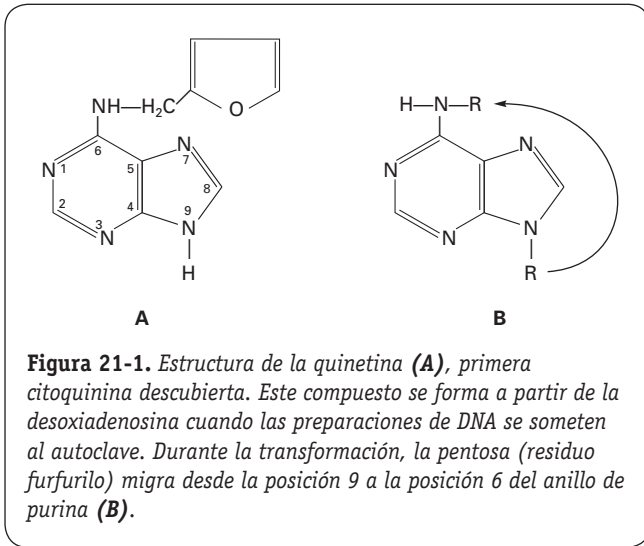
En los últimos años, y fundamentalmente gracias a la secuenciación del genoma de *Arabidopsis thaliana*, se han producido avances muy notables en nuestros conocimientos sobre la biosíntesis, el metabolismo y la ruta de señalización de las citoquininas. En concreto, se han identificado los genes que codifican las enzimas clave de su biosíntesis, interconversiones metabólicas y degradación. Además, ha aparecido un modelo de señalización que es semejante a la transducción de señales del sistema de dos componentes que opera en bacterias y levaduras. En poco tiempo, las citoquininas han pasado a ser uno de los grupos hormonales mejor conocidos de las plantas. Desde su descubrimiento, en la década de los años cincuenta del pasado siglo, las citoquininas se revelaron como hormonas clave en la regulación del desarrollo de las plantas. Sin embargo, la mayor parte de los trabajos sobre las citoquininas se basaron, primero, en los efectos de la aplicación exógena de hormonas y, más recientemente, en estudios en plantas transgénicas con nive-

les alterados de citoquininas. Las investigaciones actuales, centradas en el análisis funcional de los componentes de la ruta de señalización (receptores proteína quinasa, fosfotransferasas y reguladores de respuesta), genes de respuesta primaria y proteínas que codifican, están permitiendo conocer el verdadero papel de las citoquininas en el desarrollo de las plantas.

2. IDENTIFICACIÓN DE LA PRIMERA CITOQUININA

La idea de que la división celular en las plantas está controlada por factores químicos endógenos data de 1892, y se debe al fisiólogo alemán Weisner. Aunque en 1913 Haberlandt obtuvo las primeras comprobaciones experimentales de esta hipótesis, **el descubrimiento de las citoquininas tuvo lugar en 1956, cuando el grupo de Skoog aisló la quinentina** (6-furfurilaminopurina; Fig. 21-1) a partir del DNA de esperma de arenque sometido al autoclave. El nombre asignado a esa sustancia se basó, obviamente, en su capacidad para promover la división celular (citocinesis) en los tejidos vegetales.

La quinentina fue descubierta como resultado de las investigaciones realizadas para identificar factores químicos capaces de estimular la proliferación celular en explantos de médula de tabaco (*Nicotiana tabacum* cv. Wisconsin No. 38) cultivados *in vitro*. El grupo de Skoog comprobó que, si estos explantos se cultivaban en un medio enriquecido con auxina, sólo se producía elongación celular. La inducción de la división celular únicamente tenía lugar cuando la mé-



dula se cultivaba junto con el tejido vascular adyacente, o cuando el medio de cultivo se suplementaba con extractos de tejidos vegetales. Partiendo de estos resultados, el grupo de Skoog investigó un gran número de materiales (leche de coco, extractos de malta y levaduras, ácidos nucleicos o sus constituyentes, etc.) como fuente potencial del factor responsable de la promoción de la división celular, lo que condujo al aislamiento de la quinentina en 1956.

A pesar de que la **quinentina** tiene una gran actividad biológica, **no es sintetizada por las plantas**. De hecho, puede obtenerse sometiendo al autoclave una mezcla de adenina y furfural alcohol. En las preparaciones de DNA sometidas al autoclave, la formación de quinentina es fruto de una reorganización interna de la desoxiadenosina, en la que la pentosa (grupo furfurilo) migra desde la posición 9 a la posición 6 del anillo de adenina. **La primera citoquinina natural fue aislada por los grupos de Miller y Letham, en 1963**, en semillas inmaduras de maíz. La sustancia se identificó químicamente como 6-(4-hidroxi-3-metilbut-*trans*-2-enilamino) purina y recibió el nombre común de **zeatina**. Desde entonces se han descubierto más de un centenar de productos, naturales y sintéticos, que ejercen efectos fisiológicos análogos a los de la quinentina.

3. ESTRUCTURA DE LAS CITOQUININAS

3.1. Las citoquininas naturales son purinas sustituidas

Las citoquininas naturales conocidas son **derivados de la base púrica adenina** (6-aminopurina). Todas ellas poseen un sustituyente, de naturaleza isoprenoide o aromática, en el nitrógeno amínico de la posición 6 del anillo de purina (Figs. 21-2 y 21-3). El modo normal de escribir el nombre químico completo de una citoquinina es referirse a ella como una 6-amino purina sustituida o como una adenina sustituida en N⁶. Las citoquininas pueden encontrarse en las

plantas como **bases libres** o formando **conjugados** con diversos compuestos químicos que se unen al anillo de purina o a la cadena lateral. Las principales formas conjugadas de las citoquininas son:

1. **Nucleósidos** (ribósidos): se forman por conjugación con la ribosa en la posición 9 del anillo de purina.
2. **Nucleótidos** (ribótidos): el ácido ortofosfórico se esterifica, en posición 5', con el correspondiente ribósido.
3. **Glicósidos**: se forman por conjugación con un resto de glucosa, que se une al anillo (N-glicósidos) o al grupo hidroxilo de la cadena lateral (O-glicósidos). Los N-glicósidos pueden ser 3-, 7- y 9-glicosilderivados, dependiendo de que la glucosa se conjugue con los grupos amino en posición 3 ó 7 del anillo o con el grupo imino en posición 9, respectivamente.
4. **Alanilderivados**: presentan un residuo de alanina unido al grupo imino en posición 9 del anillo de purina.
5. **Metiltioderivados**: presentan un grupo (CH₃S-) unido al carbono en posición 2 del anillo de purina.

En la actualidad hay descritas unas 35 especies químicas distintas de citoquininas en las plantas, incluidas las bases libres y sus múltiples conjugados. Las citoquininas también son sintetizadas por microorganismos (bacterias y hongos), la mayoría de los cuales son fitopatógenos (p. ej., las bacterias *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas savastanoi* y *Corynebacterium fascians*, y el hongo *Plasmodiophora brassicae*). Estos microorganismos segregan grandes cantidades de citoquininas o hacen que las plantas sinteticen la hormona, lo que provoca alteraciones importantes en el desarrollo de las plantas. Por último, las citoquininas también aparecen específicamente en ciertos tRNA de plantas, algas, hongos, animales y microorganismos.

3.2. Las citoquininas naturales se clasifican atendiendo a la naturaleza química del sustituyente en N⁶ de la adenina

En las Figuras 21-2 y 21-3 se muestra la estructura de las principales citoquininas naturales, con sus nombres comunes y la lista de abreviaturas. Para la nomenclatura y abreviaturas hemos adoptado el sistema de Letham, en el que las distintas especies químicas se designan tomando como referencia las bases libres. A partir de estos compuestos, los sustituyentes unidos al anillo de purina se denotan entre corchetes, y los unidos a la cadena lateral entre paréntesis (para simplificar y facilitar la lectura, en el texto y en algunas figuras se ha eliminado a veces el uso de paréntesis y corchetes).

La naturaleza química (isoprenoide o aromática) del sustituyente en N⁶ de la adenina permite **clasificar** las citoquininas en dos grandes clases denominadas, respectivamente, **citoquininas isoprenoídicas** y **citoquininas aromáticas**. Cada clase se subdivide en tres familias que se corresponden con las seis bases libres identificadas hasta el momento en las plantas:

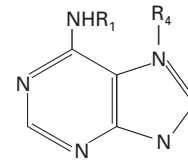
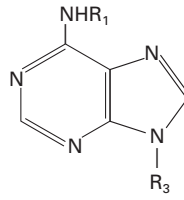
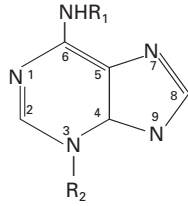


R1	R2	R3	R4	Nombre común	Abreviatura
	H	H	-	N ⁶ (Δ ² -isopentenil)adenina	iP
	H	ribosil	-	N ⁶ (Δ ² -isopentenil)adenosina	[9R] iP
	CH ₃ S	ribosil	-	2-metiltio-N ⁶ (Δ ² -isopentenil)adenosina	[2MeS9R] iP
	H	ribótido	-	N ⁶ (Δ ² -isopentenil)adenosina-5'-P	[9R-5'P] iP
	H	-	glicosil	N ⁶ (Δ ² -isopentenil)adenina-7-glicósido	[7G] iP
	H	H	-	<i>trans</i> -zeatina	Z
	H	ribosil	-	<i>t</i> -zeatina ribósido	[9R] Z
	H	glicosil	-	<i>t</i> -zeatina-9-glicósido	[9G] Z
	H	-	glicosil	<i>t</i> -zeatina-7-glicósido	[7G] Z
	H	alanil	-	ácido lupínico	[9Ala] Z
	H	ribótido	-	<i>t</i> -zeatina ribósido-5'-P	[9R-5'P] Z
	CH ₃ S	ribosil	-	2-metiltio- <i>t</i> -zeatina ribósido	[2MeS9R] Z
	H	H	-	<i>t</i> -zeatina-0-glicósido	(0G) Z
	H	ribosil	-	<i>t</i> -zeatina ribósido-0-glicósido	(0G)[9R] Z
	H	H	-	<i>cis</i> -zeatina	<i>cis</i> -Z
	CH ₃ S	ribosil	-	2-metiltio- <i>cis</i> -zeatina ribósido	<i>cis</i> -[2MeS9R] Z
	H	H	-	dihidrozeatina	(diH) Z
	H	ribosil	-	dihidrozeatina ribósido	(diH)[9R] Z
	H	glicosil	-	dihidrozeatina-9-glicósido	(diH)[9G] Z
	H	-	glicosil	dihidrozeatina-7-glicósido	(diH)[7G] Z
	H	alanil	-	ácido dihidrolupínico	(diH)[9Ala] Z
	H	ribótido	-	dihidrozeatina ribósido-5'-P	(diH)[9R-5'P] Z
	H	H	-	dihidrozeatina-0-glicósido	(diHOG) Z
	H	ribosil	-	dihidrozeatina ribósido-0-glicósido	(diHOG)[9R] Z

Figura 21-2. Estructura, nomenclatura y abreviaturas de las principales citoquininas isoprenoídicas. Los sustituyentes glicosil [G] y ribosil [R] se refieren a los grupos β-D-glucopiranosil y β-D-ribofuranosil, respectivamente. P = monofosfato. (Adaptado de McGaw, B. A. y Burch, L. R., En: Plant Hormones, Physiology, Biochemistry and Metabolism, Davies, P.J. (ed) Dordrecht, Kluwer Academia, 98-117, 1995.)

- Citoquininas isoprenoídicas** (Fig. 21-2): Comprende las familias de la isopenteniladenina (iP), la zeatina (Z) y la dihidrozeatina [(diH)Z o DZ]. El rasgo estructural que diferencia la isopenteniladenina de la zeatina es la presencia, en la segunda, de un grupo hidroxilo unido al carbono 4 de la cadena lateral isoprenoide. Ambas poseen un doble enlace entre los átomos de carbono 2 y 3 de dicha cadena, lo que las distingue de la familia de la dihidrozeatina, cuya cadena lateral está saturada. La zeatina ha sido identificada en forma tanto *cis* (*cZ*) como *trans* (*tZ*), aunque la más activa es la segunda.
- Citoquininas aromáticas** (Fig. 21-3): Incluye las familias de la benciladenina (BA), la *orto*-hidroxibenciladenina y la *meta*-hidroxibenciladenina. La cadena lateral de estas citoquininas consta de 7 carbonos estructurados en forma de grupo metil-benceno. En la *orto*- y *meta*-hidroxibenciladenina, el anillo de benceno presenta un radical hidroxilo en posición 2 (*orto*) o 3 (*meta*), respectivamente.

La existencia, como citoquininas naturales, de la zeatina, la dihidrozeatina y la isopenteniladenina (y de sus distintas formas conjugadas) fue aceptada desde su descubrimiento.



R1	R2	R3	R4	Nombre común	Abreviatura
	-	H	-	N ⁶ (bencil)adenina	BA o BAP
	-	ribosil	-	N ⁶ (bencil)adenosina	[9R] BA
	-	ribótido	-	N ⁶ (bencil)adenosina-5'-P	[9R-5'-P] BA
	-	-	glicosil	N ⁶ (bencil)adenina-7-glicósido	[7G] BA
	-	glicosil	-	N ⁶ (bencil)adenina-9-glicósido	[9G] BA
	-	alanina	-	N ⁶ (bencil)adenina-9-alanina	[9Ala] BA
	-	H	-	N ⁶ (mOH-bencil)adenina	(mOH) BA
	-	ribosil	-	N ⁶ (mOH-bencil)adenosina	(mOH)[9R] BA
	-	ribótido	-	N ⁶ (mOH-bencil)adenosina-5'-P	(mOH)[9R-5'-P] BA
	-	-	glicosil	N ⁶ (mOH-bencil)adenina-7-glicósido	(mOH)[7G] BA
	-	glicosil	-	N ⁶ (mOH-bencil)adenina-9-glicósido	(mOH)[9G] BA
	-	alanina	-	N ⁶ (mOH-bencil)adenina-9-alanina	(mOH)[9Ala] BA
	-	H	-	N ⁶ (mOH-bencil)adenina-0-glicósido	(mOG) BA
	-	-	-	-	-
	-	H	-	N ⁶ (oOH-bencil)adenina	(oOH) BA
	-	ribosil	-	N ⁶ (oOH-bencil)adenosina	(oOH)[9R] BA
	-	glicosil	-	N ⁶ (oOH-bencil)adenina-9-glicósido	(oOH)[9G] BA

Figura 21-3. Estructura, nomenclatura y abreviaturas de las principales citoquininas aromáticas. Los sustituyentes glicosil [G] y ribosil [R] se refieren a los grupos β -D-glicopiranosil y β -D-ribofuranosil, respectivamente. P = monofosfato. (Adaptado de Strnad, M., 1997.)

En cambio, ha habido discusión sobre la presencia en las plantas de las citoquininas aromáticas. De hecho, hasta fechas muy recientes se consideraban citoquininas sintéticas. No obstante, el desarrollo de las técnicas analíticas ha permitido aislar e identificar en algunas plantas las tres familias de citoquininas aromáticas. Dado que la *orto*- y la *meta*-hidroxibenciladenina se aislaron, por vez primera, en hojas de chopo, algunos autores las denominan topolinas (nombre derivado de la denominación checa de chopo: *topol*).

Las citoquininas más abundantes en las plantas son las isoprenoídicas, especialmente la iP y la tZ, aunque existen diferencias entre especies. Así, iP y tZ son las formas predominantes en *Arabidopsis*, mientras que en el maíz y el arroz hay cantidades elevadas de cZ.

3.3. Las citoquininas aparecen como bases inusuales de ciertos tRNA

Las citoquininas son «únicas» entre las hormonas vegetales, ya que varias de ellas aparecen como componentes de algunos tRNA. Concretamente, en dichos ácidos nucleicos se han identificado: [9R] iP, *cis/trans*-[9R] Z, [2MeS9R] iP y *cis/trans*-[2MeS9R] Z. En las plantas, las metiltio-citoquininas son exclusivas de los tRNA. Sin embargo, los restantes compuestos también han sido identificados en forma libre.

La localización de las citoquininas en los tRNA es muy específica: siempre se sitúan **inmediatamente adyacentes al extremo 3' del anticodón**, formando el residuo central de una secuencia AAA. Otro hecho interesante es que todos los

tRNA con citoquininas reconocen codones que comienzan por U. Estos tRNA son los isoaceptores de los aminoácidos cisteína, leucina, fenilalanina, serina, triptófano y tirosina.

Como se indicó anteriormente, los tRNA con citoquininas se encuentran en todos los organismos vivos, tanto procariotas como eucariotas. Por ello, cabe suponer que estas citoquininas desempeñen un papel importante durante la síntesis de proteínas en los ribosomas. Se ha sugerido que estas citoquininas incrementan la afinidad de unión entre el aminoacil tRNA y el ribosoma, facilitando el reconocimiento de los codones.

La actividad hormonal de las citoquininas naturales en las plantas es exclusiva de los compuestos libres y no está mediatizada por los tRNA con citoquininas. Esta afirmación se fundamenta en tres hechos experimentalmente constatados:

1. La mayoría de las citoquininas naturales nunca se han encontrado como constituyentes de los tRNA.
2. La incorporación de BA exógena a los tRNA es mínima y no es específica (no está confinada al extremo 3' del anticodón).
3. Los tRNA de callos de tabaco dependientes de citoquininas para su crecimiento contienen el complemento usual de citoquininas cuando son cultivados en presencia de BA.

3.4. Las fenilureas presentan actividad como citoquininas

En la Figura 21-4 A se muestran las estructuras químicas de dos derivados de la fenilurea, que ejercen efectos análogos a la quinina y que, obviamente, también se clasifican como citoquininas. Prácticamente todos estos compuestos son citoquininas sintéticas. Aunque la 1,3-difenilurea fue aislada en la leche de coco (endospermo líquido), su identificación como citoquinina natural es cuestionable, ya que nunca más fue encontrada en extractos vegetales. Dado que la leche de coco es muy rica en [9R] Z, es probable que sea esta citoquinina natural, y no la 1,3-difenilurea, la responsable de su actividad promotora de la división celular. Actualmente, la fenilurea más utilizada como citoquinina sintética es el **tiadiazurón**. En algunas plantas este compuesto, inicialmente registrado como un defoliante del algodón, es más eficaz que las citoquininas naturales en la promoción del desarrollo de yemas axilares, o en la diferenciación de yemas adventicias en cultivos *in vitro*.

4. ANÁLISIS E IDENTIFICACIÓN DE LAS CITOQUININAS

Los contenidos endógenos en citoquininas de la mayoría de los tejidos vegetales son muy bajos (1-10 nM), lo que conlleva problemas importantes para su aislamiento e identificación. El método más fiable de cuantificación de las citoquininas endógenas es el de dilución isotópica estable, que utiliza la **espectrometría de masas en combinación con la cromato-**

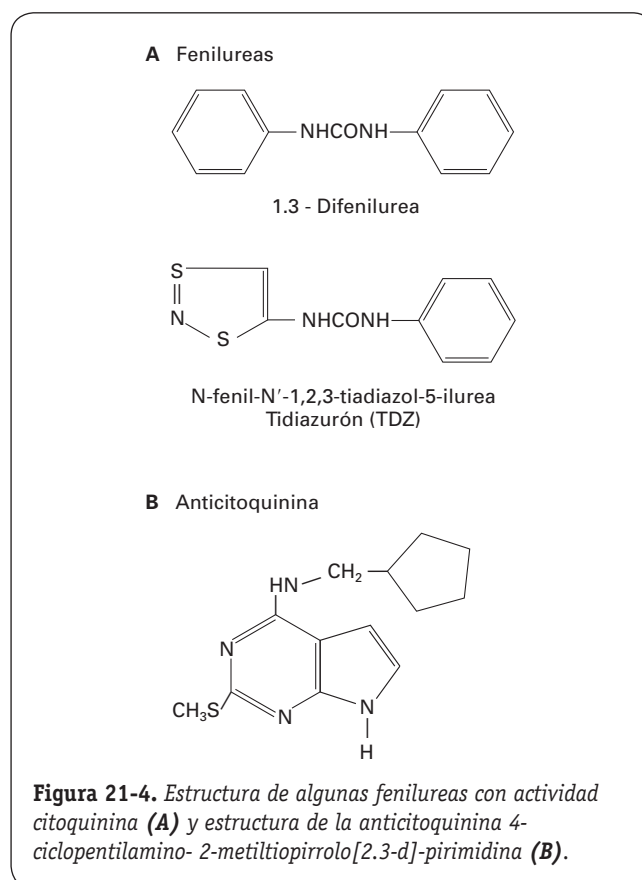
grafía de gases (GC-MS). La cuantificación de las citoquininas también puede realizarse mediante radioinmunoensayos, aunque los resultados obtenidos con esta técnica deben validarse con métodos fisicoquímicos, especialmente con GC-MS.

Aún reconociendo su importancia histórica (y valor pedagógico), los bioensayos no son un método fiable de cuantificación de citoquininas (ni de ninguna hormona). Pese a ello, los bioensayos de citoquininas siguen teniendo gran utilidad, ya que se emplean sistemáticamente como detectores específicos de la actividad del extracto inicial y de las muestras resultantes del proceso de purificación.

De forma muy general, los bioensayos de citoquininas pueden dividirse en cuatro grandes grupos: 1) promoción de la división celular, 2) retraso de la senescencia foliar, 3) promoción de la expansión celular, y 4) inducción de síntesis de pigmentos. Dado que, por definición, las citoquininas son promotoras de la división celular en los tejidos cultivados *in vitro* (p. ej., callo de tabaco o soja), los bioensayos del primer grupo son los únicos que demuestran, de forma concluyente, la presencia de citoquininas en un extracto vegetal.

5. RELACIONES ENTRE ESTRUCTURA Y ACTIVIDAD DE LAS CITOQUININAS

La identificación de la quinina como una 6-amino purina sustituida condujo a la síntesis de un gran número de com-



puestos análogos que presentaban actividad de citoquininas. Este trabajo también permitió establecer la base química de la actividad biológica de las citoquininas.

La actividad biológica de las citoquininas depende tanto de la naturaleza química del sustituyente en N⁶ de la adenina como de la integridad del propio anillo de purina. Como es lógico, existen excepciones a esta regla (caso de los derivados de las fenilureas). No obstante, estos compuestos siempre presentan menos actividad en los bioensayos de división celular.

La presencia de una cadena lateral en N⁶ es fundamental para que las citoquininas promuevan la división celular. En general, tanto la longitud (con un óptimo entre cuatro y seis átomos de carbono) como el grado de insaturación de esta cadena influyen significativamente en la actividad biológica de las citoquininas. Por ejemplo, la dihidrozeatina, cuya cadena lateral no presenta doble enlace, es menos activa que la zeatina o la isopenteniladenina. También es importante la estereoquímica del doble enlace de la cadena lateral de la zeatina. Aunque en las plantas se encuentran tanto las formas *cis* como *trans*, la más activa es la *trans*-zeatina. Los sustituyentes aromáticos (caso de la BA) también confieren una gran actividad.

Las sustituciones en diferentes posiciones del anillo de adenina reducen, generalmente, la actividad de las citoquininas. Lo mismo ocurre cuando se altera la estructura del anillo, aunque en este caso los nuevos compuestos suelen ser inactivos. A veces, estas alteraciones conducen a la formación de **anticitoquininas**, es decir, compuestos que inhiben reversiblemente la actividad de las citoquininas. Tal es el caso, por ejemplo, de la 4-ciclopentilamino-2-metil-tiopirrol[2,3-d]-pirimidina (Fig. 21-4 B).

6. BIOQUÍMICA DE LAS CITOQUININAS

Los niveles de citoquininas en las plantas dependen de su biosíntesis o su absorción, a partir de fuentes extracelulares, interconversiones metabólicas, inactivación y degradación. Esta serie de mecanismos se trata en los siguientes apartados.

6.1. Las plantas pueden obtener citoquininas a partir de la hidrólisis de los tRNA con citoquininas

Las citoquininas presentes en los tRNA no se incorporan como tales al polímero, sino que son producto de una modificación postranscripcional. **El primer paso de esta modificación es la prenilación en N⁶ del residuo de adenina adyacente al extremo 3' del anticodón** con dimetilalil difosfato (DMAPP). La reacción (Fig. 21-5) es catalizada por la enzima tRNA-isopentenil transferasa (tRNA-IPT), que manifiesta una gran especificidad para el tRNA (no utiliza ácidos oligoadenílicos, AMP ni adenosina como sustratos). Posteriormente, se producen las modificaciones (hidroxilación en *cis* de la cadena lateral, metilación del anillo, etc.) que conducen a la for-

mación de las distintas citoquininas presentes en los tRNA (véase el apartado 3.3). Los estudios de marcado con isótopos radiactivos demuestran que el **DMAPP incorporado al residuo adenina de los tRNA procede, mayoritariamente, de la ruta del mevalonato (MVA)** (Fig. 21-6). Como se explicó en el Capítulo 17, en las plantas, la formación de las unidades C5, isopentenil difosfato (IPP) y DMAPP, procede de dos rutas alternativas: la ruta clásica del MVA, localizada en el citoplasma, y la ruta del metileritritol fosfato (MEP), localizada en los plastos. En *Arabidopsis* se han identificado dos genes (*AtIPT2* y *AtIPT9*) que codifican tRNA-IPT.

La presencia de citoquininas en algunos tRNA abre la posibilidad de que las citoquininas se sinteticen a partir de la hidrólisis de dichos RNA. Según esta hipótesis, la liberación de los derivados de isopentenil adenina y zeatina presentes en los tRNA inicia la serie de transformaciones que conduce a la formación de las distintas especies químicas de citoquininas (Fig. 21-6).

El recambio (hidrólisis) normal de los tRNA puede contribuir a la formación de citoquininas libres, especialmente en plantas que, como el maíz y el arroz, contienen cantidades elevadas de CZ. No obstante, los datos experimentales disponibles demuestran que la degradación de los tRNA no es la fuente principal de citoquininas en las plantas. Estas pruebas pueden resumirse así:

- La mayor parte de las citoquininas libres no se encuentran en los tRNA o son estructuralmente distintas. Así, la zeatina libre es mayoritariamente su isómero *trans*, mientras que la zeatina presente en el tRNA es su isómero *cis*.
- Los tejidos vegetales cultivados *in vitro* que requieren un aporte exógeno de citoquininas para crecer, contienen citoquininas en sus tRNA.
- La velocidad de recambio de los tRNA de los tejidos que no requieren citoquininas es demasiado baja para explicar los niveles de citoquininas endógenas.
- La actividad citoquinina asociada a los tRNA en ápices radiculares (una de las fuentes principales de citoquininas) sólo representa el 27% del total. Además, la aplicación de adenina radiactiva exógena a diversos sistemas vegetales provoca el marcado de diversas citoquininas libres, muchas de ellas distintas a las que están presentes en los tRNA.

Pese a lo expuesto, se ha sugerido la existencia de recambios selectivos en subpoblaciones de tRNA ricos en [9R] iP o *trans*-[9R] Z. Además, en algunos tejidos vegetales se ha detectado la presencia de *cis-trans*-zeatina isomerasa, que podría catalizar la transformación de la *cis*-[9R] Z derivada del tRNA en el isómero *trans*.

6.2. La mayoría de las citoquininas son sintetizadas *de novo* (directamente) por las plantas

Aunque la hidrólisis de los tRNA puede contribuir a la formación de citoquininas libres, las plantas poseen sistemas

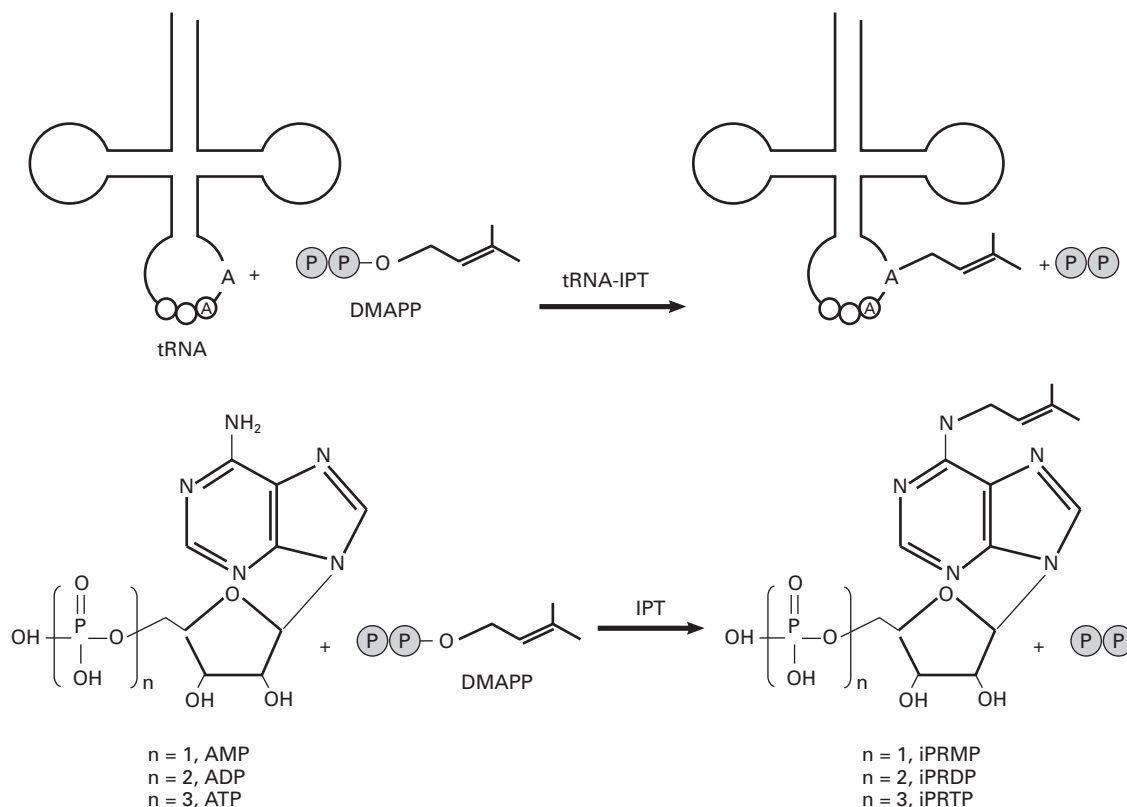


Figura 21-5. Reacciones primarias de la biosíntesis de citoquininas isoprenoídicas catalizadas por IPT (isopentenil transferasa) y tRNA-IPT. DMAPP, dimetilalil difosfato; iPRMP, iPRMD y iPRTP, ribósidos mono-, di- y tri-fosfato de la isopentenil adenina (iP). (Adaptado de Sakakibara, H. En: *Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action*. Davies, P. J. (ed.), Dordrecht, Kluwer Academic, 95-114, 2004.)

enzimáticos capaces de sintetizar *de novo* estos compuestos. Actualmente se considera que la **síntesis directa de citoquininas** libres es la **ruta principal** (o exclusiva) existente en las plantas.

El primer paso en la biosíntesis directa de las citoquininas isoprenoídicas es la N⁶-prenilación de la adenosina 5'-fosfato (AMP, ADP o ATP) con DMAPP, rindiendo los correspondientes ribósidos mono, di y trifosfato de iP (Figs. 21-5 y 21-6). La reacción es catalizada por las adenosina fosfato-isopentenil transferasas (IPT). Aunque se han realizado muchos estudios para purificar y caracterizar las IPT de las plantas, sólo se conocen algunas de sus propiedades bioquímicas. Las dificultades que plantea su caracterización pueden deberse tanto a su baja concentración como a la inestabilidad de la enzima.

Hasta el momento, los genes *IPT* han sido identificados en *Arabidopsis*, petunia y lúpulo. En *Arabidopsis* se han identificado 7 genes (*AtIPT1* y *AtIPT3* a *AtIPT8*), cuyos patrones de expresión varían en los distintos tejidos y órganos de la planta. Las **proteínas IPT de las plantas** muestran variaciones en sus Km para AMP, ADP y ATP, aunque todas ellas **utilizan preferentemente ADP y ATP** como aceptores del DMAPP. Las IPT de *Agrobacterium tumefaciens* muestran, sin embargo, una gran especificidad por el AMP. Dado que

las plantas transgénicas de *Arabidopsis* que sobreexpresan cualquiera de los siete genes *IPT* acumulan mayoritariamente citoquininas de la familia de la iP, se supone que todas las enzimas IPT muestran las mismas preferencias de sustrato para el donador isoprenoídico.

En principio, los **nucleótidos de iP**, especialmente iPRDP e iPRTP, pueden considerarse los **precursores de las tres familias de citoquininas isoprenoídicas** de las plantas, ya que a partir de ellos se forman los nucleósidos y las bases libres de iP, tZ y DZ (véase la Fig. 21-6).

La síntesis de tZ implica la hidroxilación estereoespecífica de la cadena lateral de los nucleótidos de iP (nunca de los nucleósidos o de la base libre). La reacción es catalizada por citocromo P-450 monooxigenasas (P-450). La **dihidrozeatina** (y sus derivados) se forma por reducción de la cadena lateral de la *trans*-zeatina. Esta reacción es catalizada por una zeatina reductasa dependiente de NADPH. La enzima reconoce tanto la base libre como el nucleósido y el nucleótido de tZ.

La síntesis de tZ puede realizarse por una **ruta independiente de los nucleótidos de iP**. La primera reacción de la ruta independiente también es catalizada por las IPT e implica la formación de nucleótidos de tZ utilizando como donador de restos prenilo un precursor hidroxilado, por el momento desconocido. Se especula que un posible precursor puede ser el

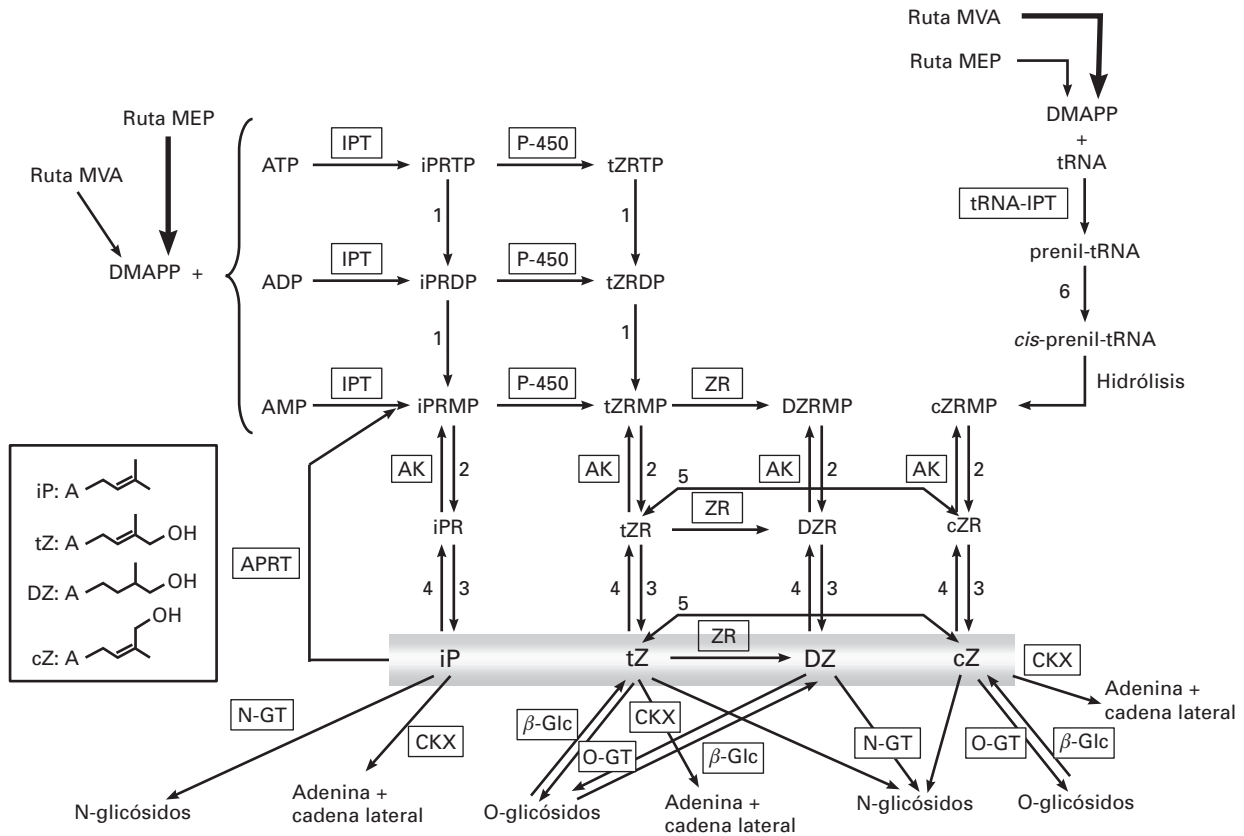


Figura 21-6. Principales rutas del metabolismo de las citoquininas isoprenoidicas en las plantas. La cadena isoprenoidica lateral de isopentenil adenina (iP), trans-zeatina (tZ) y dihidrozeatina (DZ) se origina, predominantemente, de la ruta del metileritritol fosfato (ruta MEP), mientras que la de la cis-zeatina (cZ) deriva, mayoritariamente, de la ruta del mevalonato (ruta MVA). En la síntesis de novo de citoquininas, el primer paso es la formación de nucleótidos de iP a partir de un nucleótido de adenina y el resto prenilo del dimetilalil difosfato (DMAPP), en una reacción catalizada por isopentenil transferasas (IPT). Las IPT de plantas utilizan preferentemente ATP y ADP como aceptores de DMAPP. Los nucleótidos de iP así formados son transformados en el ribósido y, finalmente, en iP. La tZ se forma por hidroxilación de la cadena lateral de los nucleótidos de iP, aunque también existe una ruta independiente de los nucleótidos de iP (véase texto). La DZ se forma por reducción de la cadena lateral de la tZ. La cZ procede tanto de la hidrólisis de los prenil-tRNA como de las interconversiones con tZ, catalizadas por cis-trans isomerases.

Las citoquininas iP y tZ pueden ser catabolizadas por la citoquinina oxidasa/deshidrogenada (CKX), rindiendo adenina y la cadena lateral. La tZ (y en menor medida cZ y DZ) pueden ser reversiblemente convertidas en O-glicósidos por O-glicosil transferasas (O-GT) y beta-glicosidasas (beta-Glc). Las bases libres también pueden ser convertidas en N-glicósidos por N-glicosil transferasas (N-GT). AK: adenosina quinasa; APRT: adenina fosforribosiltransferasa; P-450: citocromo P-450 monooxigenasa; ZR: zeatina reductasa; 1: fosfatasa; 2: 5' ribonucleótido fosfohidrolasa; 3: adenosina nucleosidasa; 4: purina nucleósido fosforilasa; 5: zeatina cis-trans isomerasa; 6: citoquinina cis-hidroxilasa. (Adaptado de Sakakibara H, 2006).

hidroximetilbutenil difosfato (HMBDP), uno de los intermediarios de la ruta MEP. De hecho, una de las IPT de *Agrobacterium*, denominada *Tzs* (véase más adelante) cataliza la formación directa de tZRMP a partir de AMP y HMBDP. Por el momento se desconoce la contribución real de esta ruta en las plantas.

La **cis-zeatina** deriva mayoritariamente de la hidrólisis de los tRNA, aunque también se producen isomerizaciones *cis-trans*, tanto a nivel de las bases libres como de sus nucleósidos (Fig. 21-6).

Un aspecto de gran interés en la ruta de biosíntesis de las citoquininas isoprenoidicas es conocer el origen metabólico del DMAPP (véase la Fig. 21-6). Como se ha indicado anteriormente, este compuesto es sintetizado tanto por la ruta

MEP como por la clásica del MVA. En algunos sistemas (células BY-2 de tabaco tratadas con inhibidores específicos de estas rutas, por ejemplo), la ruta preferida es la MVA. No obstante, en *Arabidopsis*, cuatro de las siete proteínas IPT se localizan en los plastos, por lo que parece claro que estos orgánulos son el compartimiento básico para la síntesis de las citoquininas isoprenoidicas. Estudios de marcaje isotópico con ^{13}C también demuestran que **la cadena lateral de iP y tZ deriva, mayoritariamente, de la ruta MEP**. De hecho, y como antes se comentó, el HMBDP, uno de los intermediarios de la ruta MEP, también puede ser utilizado como donador de grupos prenilo en la reacción catalizada por las IPT. Sin embargo, no se descarta la contribución de la ruta MVA (véase la Fig. 21-6) en cier-

tas condiciones de crecimiento o ambientales. Por otra parte, se ha sugerido que el, hasta ahora no identificado precursor de la cadena lateral de la tZ sintetizada por la ruta independiente de nucleótidos de iP, deriva de la ruta MVA. **La cadena lateral de la cZ deriva primariamente de la ruta MVA.**

Por el momento se desconoce la reacción inicial que conduce a la síntesis de las **citoquininas aromáticas**, aunque se ha sugerido que el anillo bencénico se origina a partir del metabolismo de los fenoles. La hidroxilación debe ser también un paso inicial en la biosíntesis de las citoquininas aromáticas (oOH) BA y (mOH) BA. Sin embargo, estas citoquininas nunca se han detectado en experimentos de marcado radiactivo, por lo que no se descarta la existencia de una ruta independiente de síntesis para las citoquininas aromáticas hidroxiladas.

Varias bacterias fitopatógenas, entre ellas *Agrobacterium tumefaciens*, producen citoquininas. El paso clave del proceso biosintético en *Agrobacterium* es la adición del grupo prenilo del DMAPP al N⁶ del AMP, en una reacción catalizada por la enzima IPT.

A. tumefaciens provoca en las plantas, especialmente en las dicotiledóneas, una enfermedad neoplásica denominada **agalla de cuello o corona**. El tumor es inducido por la integración de un segmento de DNA (conocido como T-DNA) del plásmido Ti de la bacteria en el genoma de la planta. La región T-DNA posee genes específicos para la biosíntesis de auxinas y citoquininas (Fig. 21-8). El gen *IPT* presente en el T-DNA se denomina también *Tmr* (tumor con raíces, causado por la anulación del gen *IPT*), mientras que los genes de síntesis de auxinas se denominan *Tms* [tumor con tallos (del inglés *shoot*), causado por la anulación de los genes de biosíntesis de auxina] (véase también el apartado 8.2). *Agrobacterium* posee un segundo gen *IPT*, denominado *Tzs* (del inglés, *trans-zeatin-synthesizing*), que no se integra en el genoma de la planta, ya que se sitúa en la región *vir* (por virulencia) del T-DNA, que dirige el proceso de infección. En última instancia, la activación de los genes *Tmr* y *Tms* y la superproducción de ambas hormonas provocan la formación de las agallas (véase el Capítulo 30). Algunos estudios en plantas transformadas con *A. tumefaciens* sugieren que **la IPT codificada por el gen *Tmr* sintetiza el nucleótido de tZ por la ruta independiente de los nucleótidos de iP**. El incremento en los niveles endógenos de citoquininas, provocado por la sobreexpresión del gen *Tmr* de *Agrobacterium* en las plantas, siempre va acompañado de cambios fenotípicos que guardan una estrecha relación con los efectos fisiológicos inducidos por las citoquininas exógenas (véase el apartado 8).

6.3. Las interconversiones entre bases, nucleósidos y nucleótidos constituyen la ruta principal del metabolismo de las citoquininas

Las citoquininas aisladas de las plantas se encuentran como bases libres o formando sus respectivos nucleósidos (ribósidos) o nucleótidos (ribótidos). En todos los tejidos in-

vestigados, las citoquininas naturales más abundantes son los ribósidos y sus 5' mono-, di- y tri-fosfatos (Figs. 21-2 y 21-3). La conjugación con ribosa siempre aparece confinada a la posición 9 del anillo de purina.

Las **reacciones de interconversión entre bases libres**, ribósidos y ribótidos parecen estar catalizadas por las mismas enzimas implicadas en el metabolismo de los adenilatos (Fig. 21-6). Así, estudios de trazado metabólico, en los que se suministra a las células citoquininas marcadas con ³H o ¹⁴C, muestran que la conversión de la citoquinina básica en su correspondiente nucleótido puede realizarse en un solo paso, catalizado por la adenina fosforribosiltransferasa, o en una doble reacción, que implica la acción secuencial de la purina nucleósido fosforilasa y la adenosina quinasa (Fig. 21-6). Casi todas estas enzimas han sido parcialmente purificadas y tienen actividad sobre las citoquininas *in vitro*, aunque siempre presentan mayor afinidad por los sustratos correspondientes de adenina.

Los resultados obtenidos en diversos bioensayos sugieren que las bases libres son las formas biológicamente más activas de las citoquininas, al menos en la división celular. De hecho, la expresión heteróloga de los receptores de citoquininas (véase el apartado 10.1) en levaduras y *Escherichia coli* confirma que las bases libres son sus ligandos primarios. Las células de tabaco son impermeables a los nucleótidos, pero las bases libres y los ribósidos correspondientes son fácilmente intercambiables con el medio externo. Estos resultados sugieren que la actividad de las citoquininas en las células puede estar controlada por la velocidad de conversión de los ribótidos y los ribósidos en bases libres. Las enzimas que convierten los ribonucleótidos de citoquininas en sus correspondientes nucleósidos (5'-nucleotidasas), y éstos en bases libres (adenosina nucleosidasas), han sido parcialmente purificadas en diversos tejidos vegetales.

6.4. La conjugación de las citoquininas con restos glicídicos regula los niveles endógenos de citoquininas libres biológicamente activas

La **conjugación de las citoquininas** con la glucosa (Figs. 21-2, 21-3 y 21-6) se realiza tanto en el anillo de purina (N-glicósidos) como en el grupo hidroxilo de la cadena lateral (O-glicósidos).

De los tres tipos de N-glicósidos (residuo de glucosa en posición 3, 7 ó 9 del anillo de purina) aislados en las plantas, los mayoritarios son los 7- y 9-glicósidos. El metabolismo y el significado fisiológico de estos compuestos están por determinar. Además, la información sobre la biología molecular de la N-glicosilación es aún escasa. No obstante, se han aislado N-glicosiltransferasas que catalizan la formación de los 7-y 9-glicósidos de citoquininas isoprenoídicas y aromáticas. Todas ellas presentan un requerimiento estricto de UDP-glucosa como complejo donador del resto glicídico.

Los N-glicósidos de citoquininas son biológicamente inactivos y muy estables *in vivo*, donde no pare-

cen existir hidrolasas capaces de liberar la hormona libre del conjugado. Por tanto, se sospecha que la N-glicosilación puede regular los niveles de citoquininas activas mediante su inactivación. Algunos estudios han permitido relacionar los N-glicósidos con la patogenicidad de *Agrobacterium rhizogenes*. Esta bacteria es responsable de una enfermedad neoplásica denominada «síndrome de las raíces vellosas o en cabellera». La enfermedad es causada por la integración en el genoma de la planta de un fragmento de DNA (T-DNA) del plásmido Ri de la bacteria. En el T-DNA se encuentran, entre otros, los denominados genes *rol* (A, B, C y D), los cuales no sólo afectan a la rizogénesis, sino que también causan alteraciones en el metabolismo de las hormonas vegetales. Por ejemplo, el producto del gen *rol* C es una β -glicosidasa capaz de hidrolizar los N-glicósidos y liberar citoquininas, lo que provoca una serie de cambios fenotípicos en las plantas transformadas con estos genes (recuérdese que en las plantas no transformadas los N-glicósidos son muy estables y nunca liberan citoquininas).

La amplia distribución y la abundancia en las plantas de los O-glicósidos de citoquininas permiten suponer su importancia. Aunque en la mayoría de los casos el azúcar que se condensa con el OH de la cadena lateral de las citoquininas isoprenoídicas (tZ, DZ y cZ) o aromáticas (*orto* y *meta* hidroxibenciladenina) es la glucosa, también puede unirse la xilosa. La formación de estos compuestos está catalizada por enzimas del tipo citoquinina-O-glicosiltransferasas. Los genes que codifican estas enzimas están muy bien caracterizados.

En contraste con los N-glicósidos, los O-glicósidos son biológicamente muy activos, por sí mismos o como productos de la actividad β -glicosidasa. Además, los O-glicósidos no son sustratos específicos de la citoquinina oxidasa/deshidrogenasa (véase el apartado 6.6). Estos hechos sugieren que los **O-glicósidos representan formas de almacenamiento de citoquininas**, que son convertidas en las bases biológicamente activas cuando la planta así lo requiere. De hecho, el contenido en O-glicósidos sufre cambios importantes durante ciertas fases del desarrollo de las plantas (germinación, desarrollo de yemas laterales o ruptura de la dormición de los tubérculos de patata).

6.5. La conjugación con aminoácidos inactiva las citoquininas

Las citoquininas naturales pueden sufrir reacciones de alquilación en la posición 9 del anillo de purina. El primer metabolito de este tipo aislado en las plantas fue el ácido lupínico, un conjugado de la tZ con el aminoácido alanina (Fig. 21-2). Todos los alanilderivados de citoquininas aislados hasta la fecha se caracterizan por ser metabólicamente muy estables y poco activos en bioensayos. La formación de los alanilderivados de tZ, cZ, iP y DZ está catalizada por la enzima β -(9-citoquinina) alanina sintasa, que utiliza O-acetilserina como donante de alanina.

6.6. Las plantas poseen sistemas enzimáticos capaces de degradar las citoquininas

Como se comentó en el apartado 5, la actividad biológica de las citoquininas viene determinada, en gran medida, por la presencia de una cadena lateral en posición N⁶ del anillo de purina. Por consiguiente, su pérdida implica la **inactivación de la hormona**. Hasta la fecha, la única enzima identificada en las plantas capaz de realizar este proceso degradativo es la **citoquinina oxidasa/deshidrogenasa (CKX)**. La enzima se ha aislado de varias fuentes y muestra importantes variaciones en cuanto a sus propiedades bioquímicas (óptimo de pH, masa molecular, constante de Michaelis y estimulación de su actividad en presencia de complejos imidazol-Cu²⁺). No obstante, todas las isoformas de la enzima tienen una gran especificidad para el sustrato, siendo el preferido la iP.

La CKX es una proteína monomérica con una masa molecular de aproximadamente 60 kD. La enzima degrada las bases y nucleósidos de las citoquininas isoprenoídicas que tienen una cadena lateral insaturada (iP, tZ y cZ; véase la Fig. 21-6), mientras que los nucleótidos son resistentes a su acción. En el caso de la iP, los productos de la degradación son adenina y 3-metil-2-butenal. **El doble enlace de la cadena lateral de la isopenteniladenina y la zeatina parece ser clave para que la enzima reconozca el sustrato, ya que la reducción del enlace confiere resistencia a CKX**. Por tanto, las citoquininas de la familia de la dihidrozeatina son resistentes a la CKX. Las modificaciones de la cadena lateral, como la O-glicosilación, también confieren resistencia a la enzima. Las citoquininas aromáticas no son, normalmente, sustratos de la CKX. Sin embargo, la BA puede competir con la iP como sustrato de algunas CKX. Además, una proporción importante (entre el 40 y el 80%) de la BA y la quinetina suministradas a los tejidos vegetales es degradada por eliminación de la cadena lateral.

Aunque las CKX se caracterizaron inicialmente como aminooxidasas con cobre, estudios recientes demuestran que son flavoproteínas de FAD que no requieren oxígeno durante la degradación de las citoquininas ni producen peróxido de hidrógeno. De ahí que el nombre actual de la enzima sea citoquinina oxidasa/deshidrogenasa. Los genes de la CKX se han identificado en varias plantas, entre ellas el maíz y *Arabidopsis*. En el genoma de esta última especie existen 7 genes *CKX*, que muestran patrones de expresión diferentes.

La **CKX regula los niveles endógenos de citoquininas en las plantas**. Esta función ha sido avalada por numerosos datos experimentales. Así, la actividad CKX se correlaciona positivamente con los contenidos en citoquininas isoprenoídicas que son sustrato de la enzima. Además, y de forma sorprendente, dicha actividad es promovida tanto por sus sustratos como por las citoquininas que no son sustratos de la enzima. Por el momento, no se conoce el mecanismo mediante el cual las citoquininas que no son sustrato de la enzima promueven su actividad. La participación de la CKX en la regulación de los niveles endógenos de citoquininas

también ha sido demostrada en plantas transgénicas que expresan el gen *IPT* de *A. tumefaciens*. Dado que dicho gen puede fusionarse con promotores constitutivos, inducibles (por choque térmico o luz) o específicos de órganos (o tejidos), resulta fácil seleccionar el nivel, la duración y el lugar de expresión de dicho gen en las plantas transgénicas. Utilizando este enfoque, se ha demostrado que la activación de la CKX es consecuencia directa de la expresión del gen *IPT*. Además, esta activación se correlaciona con un incremento generalizado en las citoquininas libres, muchas de las cuales no son sustrato de la enzima.

Hasta la fecha no se han aislado mutantes de biosíntesis de citoquininas, posiblemente porque la mutación es letal para las plantas. Por ello, la sobreexpresión de CKX en las plantas transgénicas es útil para conocer los efectos fenotípicos de niveles reducidos en las citoquininas. Los estudios realizados, tanto en el tabaco como en *Arabidopsis*, demuestran que **la deficiencia en citoquininas provoca una reducción en la actividad de los meristemas vegetativos y florales del tallo, lo que indica un requerimiento absoluto por la hormona. En contraste, el crecimiento de las raíces se incrementa significativamente, y ello sugiere que las citoquininas son reguladores negativos del desarrollo radicular y de la formación de las raíces laterales.** No obstante, estos resultados deben ser interpretados con cautela, porque experimentos recientes con mutantes de pérdida de función de los receptores de citoquininas parecen demostrar que dichas hormonas también actúan como reguladores positivos del desarrollo de las raíces (véase el apartado 10.4).

6.7. Hormonas y nutrientes participan en el control de los niveles endógenos de citoquininas

Muchos de los efectos fisiológicos de las citoquininas pueden explicarse por su interacción con las auxinas (véase el apartado 8). Esta interacción se manifiesta inicialmente a nivel bioquímico, ya que ambas hormonas participan en el control mutuo de su abundancia. La clonación de los genes clave de la ruta biosintética de las citoquininas está permitiendo conocer las bases moleculares de este control y además pone de manifiesto que otras hormonas, como el ABA y las propias citoquininas, regulan la expresión de estos genes. En *Arabidopsis*, por ejemplo, **las auxinas promueven la expresión de los transcritos de los genes *IPT5* e *IPT7* en las raíces**, mientras que las citoquininas regulan negativamente la transcripción de los genes *IPT1*, *3*, *5* y *7*. En el **guisante, las auxinas reprimen la expresión de los genes *IPT*, tanto en los tallos como en las raíces.** En *Arabidopsis*, la expresión de los genes que codifican las citocromo P450 monooxigenasas, que catalizan la conversión de los nucleótidos de iP en los de tZ (véase la Fig. 21-6), es activada por las citoquininas en las raíces, pero reprimida por las auxinas y el ABA. Finalmente, los genes *CKX* del maíz son activados por citoquininas y ABA. Estos patrones de expresión sugieren que **las enzimas regulan antagónicamente los niveles**

celulares de citoquininas y el balance entre iP y tZ, que interactúa con auxinas, ABA, o con ambos.

En relación con los **nutrientes**, se ha demostrado que la síntesis de citoquininas resulta afectada por la fuente de nitrógeno disponible para las plantas. Por ejemplo, en condiciones limitantes de nitrógeno, el nitrato induce la expresión del gen *IPT3* en las raíces, lo que se traduce en un incremento de las citoquininas en el xilema y en un mayor transporte de la hormona hasta las hojas. Este resultado sugiere que **las citoquininas pueden actuar como señales a larga distancia** que coordinan el desarrollo de raíces y tallos (véase el apartado 7).

7. LUGARES DE SÍNTESIS Y TRANSPORTE DE LAS CITOQUININAS EN LAS PLANTAS

Se ha considerado, casi de forma axiomática, que las citoquininas son sintetizadas, mayoritariamente, en las zonas meristemáticas de las raíces. Tal hecho, sin embargo, no excluye la participación de los órganos aéreos, especialmente de los tejidos meristemáticos, en el proceso de biosíntesis de estas hormonas. Durante la fase reproductora, también aparecen otros centros de producción importante de citoquininas, principalmente el endospermo (durante el desarrollo de las semillas) o el eje embrionario, que se convierte en el centro de producción y de distribución de las citoquininas cuando se inicia la germinación de las semillas. Los análisis de los patrones de expresión espacial de los genes *IPT*, utilizando sus promotores unidos a genes delatores, confirman que **la síntesis de citoquininas se produce tanto en las raíces como en los órganos aéreos.** A la misma conclusión se llegó a partir de estudios de marcado con deuterio.

Una vez sintetizadas, las citoquininas pueden ser distribuidas a otras partes de la planta a través del xilema, el floema, o ambos. La utilización de uno u otro sistema conductor depende del lugar en el que las citoquininas fueron sintetizadas inicialmente. La presencia de citoquininas en los exudados, ya sean de xilema o de floema, es un hecho común en la totalidad de las plantas examinadas. Aunque en dichos exudados se detectan citoquininas libres, las formas predominantes son los nucleósidos de tZ. Además, la movilidad (en el xilema o en el floema) de los ribósidos de quinolina es mayor que la de la quinolina o BA libres. Así pues, **los nucleósidos deben considerarse las formas predominantes del transporte de citoquininas.** En principio, el transporte a larga distancia, vía xilema o floema, de las citoquininas puede considerarse inespecífico. No obstante, la existencia de transportadores ENT (del inglés, *equilibrative nucleoside transporter*) que median la carga de nucleósidos de citoquininas y de la adenosina en el xilema y el floema, puede conferir un cierto grado de especificidad al transporte de la hormona.

Como se indicó anteriormente, las citoquininas activan la transcripción de las P-450 monooxigenasas en la raíz. Dado que estas enzimas catalizan la conversión de iP en tZ, la ya comentada inducción del gen *IPT3* por nitrato (véase

el apartado 6.7), explica por qué la aplicación de este anión promueve la acumulación de tZ en la raíz. Esta citoquinina es mayoritaria en el xilema, y su transporte a las hojas es controlado por el nitrato disponible en la rizosfera. Por tanto, las **citoquininas pueden tener un papel fundamental coordinando el desarrollo de raíces y tallos**, al actuar como la señal que lleva información hasta los tallos del estado nutritivo de las raíces.

A nivel celular, las citoquininas pueden moverse por difusión o utilizando sistemas selectivos de transporte. En cultivos de células de *Arabidopsis*, se ha demostrado que las citoquininas libres y la adenina utilizan permeasas acopladas a la bomba de protones para atravesar la membrana plasmática. Estos transportadores se denominan genéricamente **permeasas de purina (PUP)**. En el genoma de *Arabidopsis* existen dos genes *PUP*, que se expresan uno en el epiteo de los hidátodos y el otro en el floema, lo que sugiere una posible función en el transporte a larga distancia de las citoquininas.

Las citoquininas se sintetizan mayoritariamente en los plastos, por lo que deben existir transportadores implicados en la distribución intracelular de la hormona. Por el momento se desconoce si las citoquininas utilizan sistemas de transporte específicos o los de los compuestos estructuralmente relacionados (purinas y nucleósidos).

8. EFECTOS FISIOLÓGICOS DE LAS CITOQUININAS

Entre los procesos en los que las citoquininas están implicadas cabe señalar la división celular, la proliferación de yemas axilares (ruptura de la dominancia apical), la neoformación de órganos *in vitro*, la senescencia foliar, el desarrollo de los cloroplastos y la floración. En la mayor parte de estos procesos, las citoquininas actúan en concierto con otros estímulos, especialmente hormonales y ambientales. De particular importancia a este respecto son las interacciones de las citoquininas con las auxinas y con la luz. Muchos de los procesos fisiológicos controlados por las citoquininas se tratan de forma exhaustiva en otros capítulos, por lo que aquí sólo nos detendremos en los aspectos más directamente implicados en la función biológica de estas hormonas.

8.1. Las citoquininas y las auxinas controlan el ciclo celular

Como se indicó en el Capítulo 18, el **ciclo celular es regulado por la asociación periódica de ciclínas y quinasas dependientes de ciclínas (CDKs)**. En muchos casos, el control de la expresión de estas proteínas puede explicarse por una **interacción positiva entre auxinas y citoquininas**. Por ejemplo, experimentos realizados en tejidos de médula de tabaco cultivados *in vitro* demuestran que la expresión de una CDK, denominada p34^{cdc2}, es dependiente de las auxinas. No obstante, la actividad catalítica de esta proteína

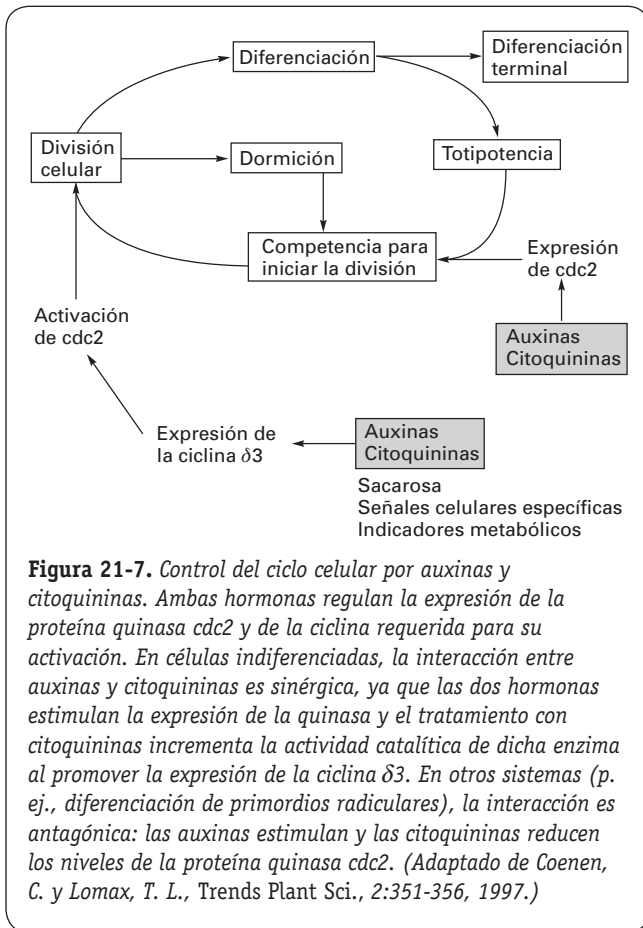
requiere la presencia en el medio de citoquininas. Dado que las citoquininas incrementan la abundancia de los mRNA de las ciclínas, es posible que la activación de la p34^{cdc2} sea consecuencia de la síntesis de una ciclína específica para esa proteína p34^{cdc2}. De hecho, la expresión constitutiva de ciclínas de tipo D en *Arabidopsis* es suficiente para eliminar la dependencia de citoquininas en células cultivadas *in vitro*, lo que indica que estas hormonas promueven la proliferación celular a través de la inducción de las ciclínas D.

Esta interacción entre auxinas y citoquininas ha sido corroborada en experimentos de expresión génica transitoria utilizando protoplastos de tabaco. En dichos experimentos, los protoplastos se transformaron con una construcción que incluía el promotor del gen *CDC2* (del inglés, *cell division cycle*) de *Arabidopsis thaliana* y la región codificadora del gen *GUS* (que codifica la enzima bacteriana β-glucuronidasa). En este sistema, la actividad *GUS*, que puede determinarse fluorimétrica e histoquímicamente, está bajo el control del promotor del gen *CDC2*. La expresión del gen *GUS* fue inducida por las auxinas y, en menor medida, por las citoquininas. La aplicación conjunta de las dos hormonas hizo que la expresión fuera mayor que con cada una por separado. Los efectos de las auxinas y las citoquininas sobre la expresión del gen *GUS* persistieron incluso cuando los protoplastos fueron tratados con inhibidores de la división celular. Además, las dos hormonas fueron necesarias para inducir la división celular de los protoplastos.

En la Figura 21-7 se expone un modelo de control del ciclo celular basado en la interacción entre auxinas y citoquininas. Esta interacción es sinérgica en células indiferenciadas, pero en otros sistemas (p. ej., iniciación de raíces laterales), la interacción parece ser antagónica, ya que las auxinas estimulan y las citoquininas reducen los niveles de CDK.

En el conjunto de la planta, la importancia de las citoquininas en la regulación del ciclo celular se pone de manifiesto por la participación de estas hormonas en el mantenimiento de los meristemos. De hecho, las mutaciones de pérdida de función de los tres receptores de citoquininas causan drásticas reducciones de la división celular en los meristemos apicales del tallo y la raíz de *Arabidopsis* (véase el apartado 10.4). Como se explicó en el Capítulo 18 (véase el apartado 4.1.3), el mantenimiento del meristemo apical del tallo depende de la expresión continuada de los genes *KNOX*, especialmente del gen *STM*. Trabajos recientes demuestran que las citoquininas promueven la transcripción de los genes *KNOX*, y que la sobreexpresión de estos genes conduce a incrementos en los niveles de citoquininas. Tales resultados sugieren una interdependencia positiva entre las citoquininas y los genes que mantienen el estado indeterminado de los meristemos.

Una prueba más de la participación de las citoquininas en la regulación del ciclo celular es el descubrimiento de una serie de citoquininas aromáticas sintéticas (adeninas trisustituidas en C2, N⁶ y N⁹) que inhiben selectivamente las CDK. Estos compuestos inhiben el ciclo celular, en la transición entre las fases G1/S y G2/M, en células tanto vegetales como animales. Dado que los inhibidores de las CDK derivados de



las citoquininas aromáticas mimetizan las funciones de los inhibidores naturales de las CDK, sería de gran interés saber si estos compuestos se encuentran de forma natural en las plantas.

Pese a lo expuesto, y como se indicó en el Capítulo 18, las funciones reguladoras de las hormonas se solapan ampliamente. En las plantas, ninguna hormona tiene el control exclusivo de un determinado proceso fisiológico. En este sentido, recuérdese que en la regulación de las ciclinas y las CDKs que controlan las transiciones G1/S y G2/M del ciclo celular, no sólo participan auxinas y citoquininas, sino también giberelinas, brasinoesteroides, ABA y azúcares (véase el apartado 1.3 del Capítulo 18).

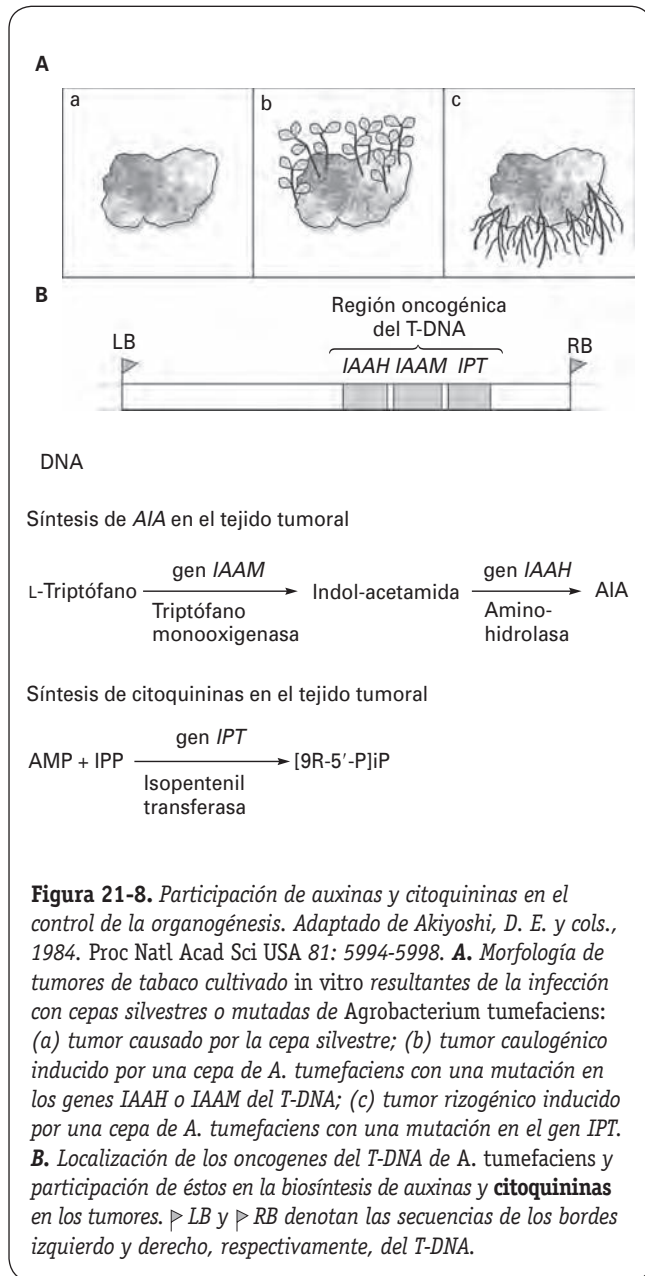
8.2. La interacción entre citoquininas y auxinas regula la neoformación de órganos

La **totipotencia celular** hace posible que los tejidos vegetales cultivados *in vitro* tengan capacidad para diferenciar los meristemas adventicios y regenerar nuevos órganos (organogénesis). Aunque la organogénesis es el resultado de una interacción entre el material vegetal (explanto), el medio de cultivo y las condiciones ambientales, las fitohormonas desempeñan el papel principal. Hasta el momento, la hipó-

tesis más aceptada para explicar el control hormonal de la organogénesis postula que dicho proceso está regulado por cambios en los niveles endógenos de auxinas y citoquininas. Esta hipótesis surge en 1957, cuando Skoog y Miller demuestran que la concentración relativa de auxinas y citoquininas exógenas controla la formación de órganos en cultivos de callo de médula de tabaco. De acuerdo con lo que se ha denominado el **modelo Skoog-Miller de la organogénesis**, la diferenciación de yemas vegetativas (caulogénesis) es promovida por balances auxina/citoquinina favorables a las citoquininas, mientras que los balances favorables a las auxinas inducen la formación de raíces (rizogénesis).

Las **pruebas** más concluyentes sobre la operatividad *in vivo* del modelo de Skoog-Miller se han obtenido en experimentos de **transformación genética** utilizando *A. tumefaciens* como vector (Fig. 21-8). Si los tejidos se transforman con cepas silvestres de la bacteria, se forma un callo (tumor) no organogénico que presenta niveles elevados de citoquininas y auxinas (véase el Capítulo 30). Sin embargo, cuando los tejidos se transforman con cepas de *A. tumefaciens* que presentan mutaciones en los genes de biosíntesis de auxinas o citoquininas de la región T-DNA del plásmido Ti, se originan alteraciones tanto en la morfología del tumor como en su balance auxina/citoquinina. Así, la inactivación del gen responsable de la biosíntesis de citoquininas (*IPT*) incrementa el cociente auxina/citoquinina y provoca la formación de tumores rizogénicos (*tmr*); inversamente, la inactivación de cualquiera de los genes responsables de la síntesis de auxinas (*IAAM* o *IAAH*) disminuye el cociente auxina/citoquinina y origina tumores caulogénicos (*tms*).

Una de las demostraciones más claras de la relación entre concentración endógena de citoquininas y neoformación de órganos se ha obtenido en plantas transgénicas de tabaco capaces de desarrollar **hojas vivíparas** (forman yemas adventicias sobre su superficie adaxial). La construcción empleada para transformar estas plantas contenía un **transposón** (elemento genético móvil) del maíz entre el promotor y la secuencia codificadora del gen *IPT* de *A. tumefaciens*. En este tipo de construcciones, la transcripción del gen *IPT* sólo se produce cuando el elemento móvil salta de la construcción. Durante el desarrollo de la planta, la escisión del elemento móvil es aleatoria, lo que conduce a la formación de sectores celulares con un elevado contenido en citoquininas endógenas capaces de diferenciar las yemas adventicias. Otro resultado interesante de estos experimentos fue constatar que la activación del gen *IPT* se produjo en muchas células foliares, pero sólo las del parénquima vascular regeneraron los tallos. Ello sugiere que la respuesta de las células a las citoquininas viene determinada tanto por la concentración de citoquininas como por el tipo celular. El papel central de las citoquininas como inductoras de la regeneración de los tallos también ha sido demostrado con el **gen *Sho* (del inglés, shooting) de *Petunia hybrida***, que codifica una *IPT*. La transformación genética de hojas de tabaco con una construcción que contiene el gen *Sho* bajo el control de un promotor constitutivo, promueve la regeneración de los tallos adventicios en un medio de cultivo desprovisto de auxinas y citoquininas.



8.3. La interacción auxinas-citoquininas participa en el control de la dominancia apical

La **dominancia apical** se define como el control ejercido por el ápice caulinar sobre el crecimiento (rebrote) de las yemas laterales (axilares). En muchas especies, este control parece ser fruto de una **interacción entre auxinas y citoquininas**: el ácido indolacético (AIA) sintetizado en el ápice caulinar se transporta en sentido basípeto (véase Capítulo 19) y suprime el crecimiento de las yemas laterales, mientras que las citoquininas (especialmente la tZ), procedentes de la raíz, promueven el rebrote de las yemas axilares.

Existen numerosos datos experimentales que respaldan esta hipótesis. Así, la decapitación de la planta conduce a

un incremento importante de los niveles de citoquininas en el fluido xilemático y a la ruptura de la dominancia apical. El efecto se elimina tratando la zona decapitada con auxina. Además, la aplicación exógena de citoquininas promueve el crecimiento de las yemas axilares, mientras que la dominancia apical es anulada o reducida por los inhibidores del transporte polar de la auxina.

Experimentos con **plantas transgénicas** también parecen corroborar que la interacción entre auxinas y citoquininas es el factor determinante del control de la dominancia apical. Por ejemplo, las plantas transgénicas superproductoras de AIA (transformadas con genes de biosíntesis de auxinas del plásmido Ti de *A. tumefaciens*) exhiben mayor dominancia apical que las superproductoras de citoquininas (expresan constitutivamente alguno de los genes *IPT*). Además, la dominancia apical en las plantas superproductoras de auxina puede eliminarse aplicando citoquininas exógenas, lo que sugiere que este proceso está regulado por el cociente auxina/citoquinina existente en las yemas axilares. La reducción en los niveles de auxina libre de las plantas transgénicas es equivalente al incremento de citoquininas. Así, las plantas transgénicas que expresan el gen *IAAL* (que codifica la enzima lisina sintetasa, promotora de la formación de conjugados de AIA) tienen niveles de AIA bajos y una dominancia apical muy reducida, semejante a la que presentan plantas transgénicas que expresan el gen *IPT*.

Aunque la hipótesis de la acción antagónica entre auxinas y citoquininas es muy atractiva, no explica el mecanismo mediante el cual la auxina ejerce su efecto represor. Dado que la auxina aplicada al ápice caulinar no entra en las yemas laterales, su efecto debe de estar mediado por otras señales. Muy posiblemente, una de esas señales sean las citoquininas. De hecho, **trabajos recientes en el guisante revelan que la auxina procedente del ápice caulinar reprime la expresión de los genes *IPT* en los nudos** y, por tanto, la síntesis de citoquininas y el rebrote de las yemas. Al decapitar la planta, el nivel de auxina decrece en el tallo, los genes *IPT* se expresan y se produce el rebrote de las yemas laterales.

Las citoquininas no son, sin embargo, los únicos mediadores de la acción represora de las auxinas, como lo demuestra una serie de estudios realizados con mutantes sin dominancia apical. El fenotipo de estos **mutantes**, denominados *ramous* (*rms*) en el guisante, *more axillary growth* (*max*) en *Arabidopsis* y *decreased apical dominance* (*dad*) en la petunia, no guarda relación con los niveles endógenos de auxinas y citoquininas. Experimentos de injertos recíprocos (entre raíces y partes aéreas de plantas silvestres y mutantes) sugieren que algunas de las proteínas codificadas por los genes *RMS*, *MAX* y *DAD* están implicadas en la síntesis o percepción de **una nueva señal que se mueve acrópetamente y reprime el rebrote de las yemas**. Dado que algunos de estos genes codifican dioxigenasas que rompen los carotenoides, es posible que un derivado de la oxidación de estos pigmentos sea la señal que reprime el rebrote de las yemas (recientemente se ha acuñado el término **SMS, del inglés shoot multiplication signal**, para designarla). Aun-

que se conocen algunos pasos de la ruta de señalización de SMS, los modelos propuestos son todavía muy especulativos, por lo que su descripción queda fuera del alcance de este capítulo. Los datos experimentales disponibles demuestran, no obstante, que los genes implicados en la ruta de señalización de SMS presentan grados variables de regulación por auxina, aunque también existen puntos de control independientes de esta hormona. Además, en el proceso de regulación también están implicadas las citoquininas (Beveridge, *Curr. Opin. Plant Biol* 9:35-40, 2006).

8.4. Las citoquininas retrasan la senescencia foliar

La senescencia foliar debe ser considerada como una forma de **muerte celular programada** (véase el Capítulo 28). Los datos sobre el papel de las citoquininas en la senescencia surgen de estudios sobre:

- Aplicación exógena** de citoquininas, que retrasa la senescencia tanto de las hojas unidas a la planta como de las aisladas e incubadas en la oscuridad. En las hojas unidas a la planta, el efecto es consecuencia de la habilidad de las citoquininas para dirigir el movimiento de las sustancias hacia las áreas tratadas con ellas, que se transforman en sumideros con una elevada actividad metabólica. Este fenómeno se denomina **«acumulación dirigida»** o «transporte dirigido» por citoquininas.
- Correlación** entre los niveles endógenos de citoquininas y el grado de senescencia, habiéndose observado que la concentración de estas hormonas disminuye al ir progresando la senescencia. Aunque las hojas pueden sintetizar citoquininas, se asume que la fuente principal de estas hormonas es la raíz. De hecho, en muchas plantas el inicio de la senescencia se relaciona con una brusca caída de la concentración de citoquininas en el fluido xilemático.
- Estudios **con plantas transgénicas** capaces de producir niveles elevados de citoquininas. La mayoría de las plantas transgénicas que expresan alguno de los genes *IPT* (y sintetizan concentraciones elevadas de citoquininas) exhiben algún grado de retraso en su senescencia foliar, aunque también manifiestan una serie de anomalías, morfológicas y en su desarrollo. Este fenotipo es lógico, puesto que las citoquininas influyen sobre muchos procesos del desarrollo de las plantas, por lo que una superproducción de la hormona antes del inicio de la senescencia interfiere en el desarrollo normal de la planta. Para evitar estos problemas, también se han utilizado construcciones en las que el gen *IPT* se ha puesto bajo el control de promotores de genes específicos de senescencia foliar (p. ej., el del gen *SAG12*, del inglés *senescence associated genes*, de *Arabidopsis thaliana*). Este promotor sólo activa la expresión del gen *IPT* en las hojas cuando se inicia el programa de senescencia. Ello provoca un incremento de citoquininas, lo que impide la senescencia

de la hoja. La inhibición de la senescencia provoca, a su vez, la atenuación del promotor, evitando la acumulación de citoquininas hasta concentraciones que interferirían en otros procesos del desarrollo (Fig. 21-9). Por tanto, la senescencia en las plantas de tabaco transformadas con esta construcción se retarda, sin la aparición de cambios aparentes en las pautas normales de desarrollo, lo que confirma el papel de las citoquininas en la senescencia. Es de destacar, además, que en estas plantas el período floral se prolonga y aumenta la longevidad.

A escala molecular, las citoquininas pueden inhibir la senescencia suprimiendo la expresión de los genes específicos de senescencia o favoreciendo la actividad de los genes implicados en la fotosíntesis (primer proceso afectado por la senescencia). Las alteraciones en los cloroplastos marcan el inicio de la senescencia, por lo que cabe suponer que estos orgánulos sean también la «diana» de la acción antisenescente de las citoquininas.

8.5. Las citoquininas también promueven la expansión celular

Las citoquininas exógenas inducen un importante incremento en el tamaño de las células de los cotiledones y las hojas de las plantas. El proceso se lleva a cabo exclusivamente por alargamiento celular. Este efecto es la base de un bioensayo de citoquininas en el que se utilizan secciones de cotiledón o de hoja de rábano. Las citoquininas también pueden modificar la forma de las hojas en las plantas intactas; esta acción puede estar relacionada con la ya comentada **interdependencia entre las citoquininas y los genes *KNOX*** (véase el apartado 8.1). De hecho, la expresión

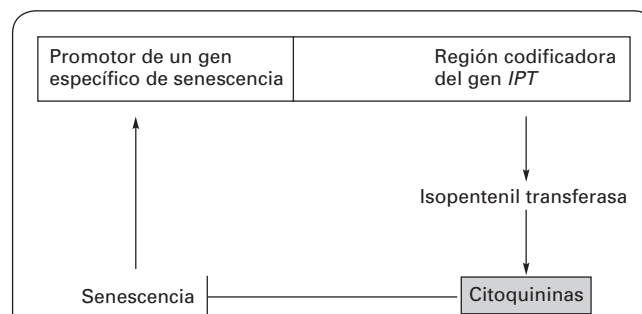


Figura 21-9. Demostración de la acción antisenescente de las citoquininas en plantas transgénicas que expresan el gen *IPT* de *A. tumefaciens*. La expresión del gen está bajo el control del promotor de un gen específico de senescencia. Al iniciarse el proceso de senescencia, el promotor induce la expresión del gen *IPT*, lo que se traduce en la síntesis de citoquininas. El incremento de citoquininas inhibe la senescencia, lo que se traduce en la supresión de la actividad del promotor específico de senescencia para impedir la superproducción de la hormona. (Tomado de Gan, S. y Amasino, R. M., 1997. *Plant Physiol*, 113: 313-319.)

constitutiva de estos genes provoca en las hojas un crecimiento indeterminado, así como cambios muy llamativos en su forma (formación de tallos ectópicos en las hojas simples o un incremento muy considerable del número de folíolos en las hojas compuestas).

8.6. La acción concertada de las citoquininas y la luz controla la germinación, la síntesis de pigmentos y el desarrollo de cloroplastos

Las citoquininas exógenas pueden suplir los requerimientos luminosos (o interactuar con ellos) de una serie de procesos fisiológicos tan variados como la germinación de semillas sensibles a la luz, la síntesis de pigmentos o el desarrollo de los cloroplastos.

La germinación de semillas sensibles a la luz es un proceso controlado por los fitocromos (véase el Capítulo 23). En ciertos casos (p. ej., la germinación de semillas de *Lactuca sativa* var. Gran Rapid), las citoquininas pueden suplir el estímulo de luz roja, necesario para la germinación, o actuar sinérgicamente con los fitocromos.

La acción sinérgica entre las citoquininas y la luz también se ha demostrado en la acumulación de antocianina en cotiledones aislados de mostaza y en la síntesis de betalaina en plántulas de *Amaranthus*, procesos igualmente controlados por los fitocromos.

Las citoquininas exógenas exhiben complejas interacciones con la luz durante el desarrollo de los cloroplastos. En particular, estimulan la síntesis de algunos de los constituyentes de los cloroplastos durante la transformación de los etioplastos en cloroplastos, un proceso absolutamente dependiente de la luz.

El aislamiento de una serie de mutantes de los fitocromos capaces de desarrollarse en la oscuridad ha permitido estudiar con mayor detalle las interacciones entre la luz y las citoquininas. Por ejemplo, los mutantes *det* (de-etiolados) de *A. thaliana* presentan en la oscuridad muchas de las características fenotípicas de las plantas crecidas con luz (desarrollo de hojas y cloroplastos, inhibición de la elongación del hipocótilo y expresión de genes regulados por la luz, como los que codifican las proteínas de la antena del PSII). Esta respuesta fotomorfogénica constitutiva de los mutantes se reproduce, parcialmente, cuando las plantas silvestres se cultivan en la oscuridad en presencia de citoquininas. Las citoquininas exógenas suplen, incluso, los requerimientos luminosos para la expresión de los genes que codifican las proteínas de la antena del PSII. Corroborando lo anterior, algunos **mutantes superproductores de citoquininas** también muestran, parcialmente, fotomorfogénesis constitutiva cuando se cultivan en la oscuridad.

La dilucidación de la ruta de señalización de las citoquininas (véase el apartado 10) está en vías de proporcionar una explicación causal para algunas de estas interacciones. Concretamente, se ha demostrado que uno de los **reguladores**

de respuesta de tipo A (ARR4) se acumula como respuesta a la luz roja e **interactúa con el fitocromo B**, estabilizando la forma activa (Pfr) de éste; además, la sobreexpresión del gen *ARR4* causa hipersensibilidad a la luz roja.

8.7. Las citoquininas pueden mediatizar la transición floral en algunas plantas de día largo

Durante la transición desde el estado vegetativo al reproductor, las plantas producen una serie de señales transmisibles que, en última instancia, inducen la floración (véase el Capítulo 25). Trabajos recientes en *Arabidopsis* sugieren que la señal desencadenante de la evocación floral es la proteína FT (del inglés, *flowering locus T*). En condiciones fotoperiódicas adecuadas, esta macromolécula es sintetizada en las hojas y transportada, vía floema, hasta los meristemas vegetativos del tallo, donde, inicia las reacciones que conducen a la activación de los genes de identidad de los meristemas florales. Otros datos experimentales sugieren, además, que en el control de la transición floral también pueden participar nutrientes (sacarosa y Ca^{2+}) y hormonas. Así, en *Sinapis alba*, una planta de día largo, la inducción fotoperiódica de la floración conduce a un incremento en la concentración de citoquininas en la yema vegetativa apical, inmediatamente antes de que se inicie la serie de procesos que causan su transformación en meristemo floral. Este hecho viene precedido por un incremento transitorio en los niveles de citoquininas del fluido xilemático, lo que sugiere que las citoquininas procedentes de las raíces participan en la inducción floral de *Sinapis alba*. Pese a ello, se requieren más investigaciones para corroborar la participación de las citoquininas en el control de la floración.

9. HABITUACIÓN A LAS CITOQUININAS

Las células que normalmente necesitan un aporte exógeno de citoquininas para crecer en cultivo pueden perderlo de forma espontánea o como resultado de un tratamiento inductor. Este fenómeno recibe el nombre de **«habituación a las citoquininas»**.

Puesto que en muchos casos el estado habituado es reversible, se ha sugerido que la habituación a las citoquininas puede ser de origen epigenético, y no el resultado de una mutación. Sin embargo, la identificación de *loci* monogénicos (total o parcialmente dominantes) en hojas de plantas de tabaco regeneradas a partir de líneas celulares habituadas no descarta el origen genético de este fenómeno.

Por el momento se desconoce la base fisiológica de la habituación a las citoquininas. Algunas líneas celulares habituadas contienen niveles elevados de citoquininas, lo que explicaría su autotrofia para estas hormonas. En otras líneas celulares, sin embargo, los niveles de citoquininas son indetectables, por lo que la superproducción de estas hormonas no parece ser la responsable del fenotipo habituado. Se ha

sugerido que el control del ciclo celular mediatizado por citoquininas está constitutivamente activado en los fenotipos habituados. Alternativamente, los controles del ciclo celular mediatizados por citoquininas pueden ser activados por otras señales que, lógicamente, estarían implicadas en el proceso de habituación a las citoquininas.

10. RUTA DE SEÑALIZACIÓN DE LAS CITOQUININAS

La ruta de señalización de las citoquininas es similar a la que opera en la transducción de señales a través del sistema de dos componentes de bacterias y levaduras (Fig. 21-10). En las bacterias se han identificado alrededor de 40 sistemas de dos componentes, que son utilizados para responder a varios estímulos ambientales. El sistema más simple (y común) consta de dos proteínas (el sensor histidina quinasa y el regulador de respuesta) y funciona a través de una fosforilación alternante entre residuos de histidina y aspartato. Además, normalmente el regulador de respuesta regula directamente la transcripción.

En la ruta de señalización de las citoquininas el sistema es más complejo, ya que implica **cuatro eventos de fosforilación** entre los residuos de histidina y aspartato; además, para realizar la transferencia de fosfatos aparece una tercera proteína. Como se aprecia en la Figura 21.10, el sistema consta de un sensor histidina quinasa fusionado a un dominio receptor de reguladores de respuesta (denominado por ello **sensor quinasa híbrido**), y una

histidina fosfotransferasa, que media la transferencia del fosfato entre el sensor y el regulador de respuesta.

En los siguientes apartados se expone de forma pormenorizada la ruta de señalización de las citoquininas.

10.1. Los receptores de citoquininas son sensores histidina quinasa híbridos

La identificación de posibles receptores de citoquininas se ha realizado siguiendo los enfoques bioquímico y genético explicados en el Capítulo 18 (véase el apartado 5.4.1 de dicho capítulo).

La estrategia bioquímica ha conducido al aislamiento de numerosas proteínas de unión a citoquininas (**CBP**, del inglés *cytokinin binding protein*) en muchas especies (desde musgos hasta angiospermas) y tejidos vegetales (germen de trigo y cebada, hojas de monocotiledóneas y dicotiledóneas, tejidos cultivados *in vitro*, etc.). Las distintas CBP presentan una gran diversidad en cuanto a su masa molecular, número de cadenas polipeptídicas y afinidad por las citoquininas. Sin embargo, **ninguna de las CBP identificadas cumple las dos propiedades fundamentales de los receptores** (véase el apartado 5.4.1 del Capítulo 18).

En cambio, el enfoque genético se ha revelado como una herramienta fundamental para el aislamiento de los receptores de citoquininas. El primer hito en este campo fue el aislamiento de mutantes de morfogénesis de *A. thaliana* denominados *cki1* y *cki2* (del inglés, *cytokinin independent*). Los mutantes se obtuvieron mediante mutagénesis

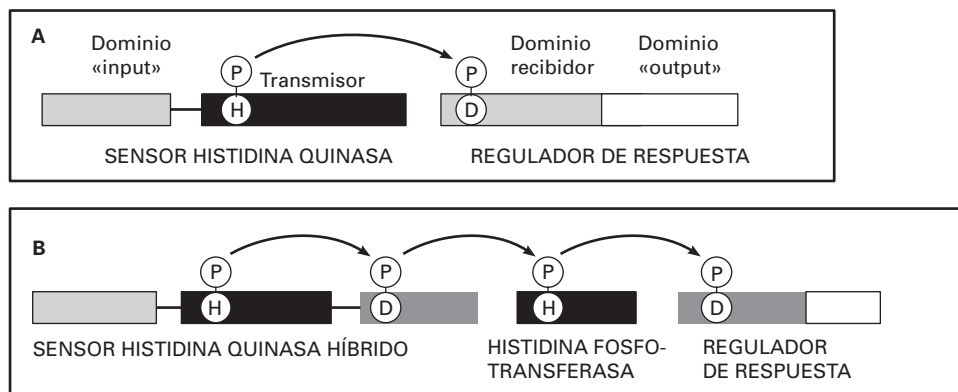


Figura 21-10. Comparación entre las rutas de señalización del sistema bacteriano de dos componentes y de las citoquininas. En las bacterias (A), el primer componente es un sensor histidina quinasa que contiene un dominio input y un dominio transmisor (histidina quinasa) que se autofosforila en un residuo histidina (H) cuando el dominio input percibe la señal; el segundo componente (regulador de respuesta) consta de un dominio receptor, que es fosforilado en un residuo aspartato (D) por la histidina quinasa del sensor, y de un dominio output que transfiere la señal a otros componentes (normalmente, el regulador de respuesta actúa como factor de transcripción). La ruta de señalización de las citoquininas (B) consta de receptores, proteínas de transferencia de fosfato y reguladores de respuesta. Los receptores son sensores histidina quinasa híbridos (el dominio receptor del regulador de respuesta está fusionado con el sensor). La unión de la hormona al dominio input del receptor causa la autofosforilación de la quinasa (en H) y la transferencia del fosfato al residuo aspartato (D) de su receptor, que lo transfiere a un residuo H de la proteína de transferencia de fosfato (histidina fosfotransferasa), que a su vez fosforila a los reguladores de respuesta, los cuales transfieren la señal a otros componentes. (Adaptado de Ferreira, F.J. y Kieber, J.J., 2005.)

por inserción de T-DNA (*T-DNA tagging*). Los explantos de los mutantes *cki1* y *cki2* forman callo y regeneran tallos *in vitro* en ausencia de citoquininas. El mutante *cki1* no produce raíces ni flores; sin embargo, *cki2* forma semillas, y las plantas obtenidas de su germinación mantienen la capacidad para formar callo y tallos en ausencia de citoquininas. El hecho experimental más interesante es que el gen *CKI1* codifica una proteína histidina quinasa híbrida con analogías con los sensores histidina quinasa del sistema de dos componentes de bacterias y levaduras. No obstante, todavía no se ha demostrado que la proteína CKI1 se una con las citoquininas a niveles fisiológicos.

En 2001 se identificó el primer receptor de citoquininas en *Arabidopsis thaliana*, también una histidina quinasa híbrida, denominado **CRE1** (del inglés, *cytokinin response 1*), **WOL** (del inglés, *wooden leg*) o **AHK4** (por *Arabidopsis* histidina quinasa 4). La disponibilidad de la secuencia génica de *A. thaliana* permitió identificar rápidamente los dos restantes receptores de citoquininas presentes en esta especie, denominados **AHK2** y **AHK3**. En la Figura 21-11 se resumen las principales características estructurales de estos receptores.

Las **evidencias funcionales** de que las proteínas AHK son receptores de citoquininas se obtuvieron en experimentos de **complementación en levaduras y *Escherichia coli***. Ambos hospedadores heterólogos adquieren sensibilidad a las citoquininas y responden tanto a las citoquininas naturales como a las sintéticas en concentraciones muy bajas, de hasta 5×10^{-8} M. Además, la expresión en las plantas transgénicas de cualquiera de los tres receptores conduce a fenotipos constitutivos independientes de la concentración exógena de citoquinina. Los tres receptores se diferencian por sus lugares y niveles de expresión en las plantas. Además, análisis con mutantes de pérdida de función demue-

tran que los mutantes simples son morfológicamente indistinguibles de las plantas silvestres, mientras que el triple mutante (*ahk2-ahk3-ahk4*) tiene un fenotipo más severo que cualquiera de las combinaciones de dobles mutantes. Estos resultados demuestran que **los receptores actúan como elementos positivos y redundantes de la ruta de señalización de las citoquininas**.

En *Arabidopsis*, también se han identificado las histidina quinasa AHK1 y AHK5. La primera es un osmosensor que inicia una cascada de fosforilaciones en la que participan fosfotransferasas y reguladores de respuesta, pero no hay pruebas de que participe en la ruta de señalización de las citoquininas. AHK5 es la proteína CKI2, antes mencionada.

10.2. Las fosfotransferasas actúan como lanzaderas transmisoras de la señal entre el citoplasma y el núcleo

Genéricamente, las fosfotransferasas se denominan histidina fosfotransferasas de *Arabidopsis* (**AHP**). Los 5 genes *AHP* identificados en *Arabidopsis* codifican proteínas con un dominio muy conservado, responsable de la fosfotransferencia histidina-aspartato (Fig. 21-11). La transcripción de los genes *AHP* no resulta afectada por las citoquininas. Sin embargo, estas hormonas promueven la transferencia de algunas AHP desde el citoplasma al núcleo, por lo que se **encargan de transmitir la señal desde el receptor a los reguladores de respuesta**.

Las AHP son histidina fosfotransferasas genuinas, ya que: 1) complementan mutantes histidina fosfotransferasa de levaduras; 2) en experimentos *in vitro*, aceptan fosfatos de

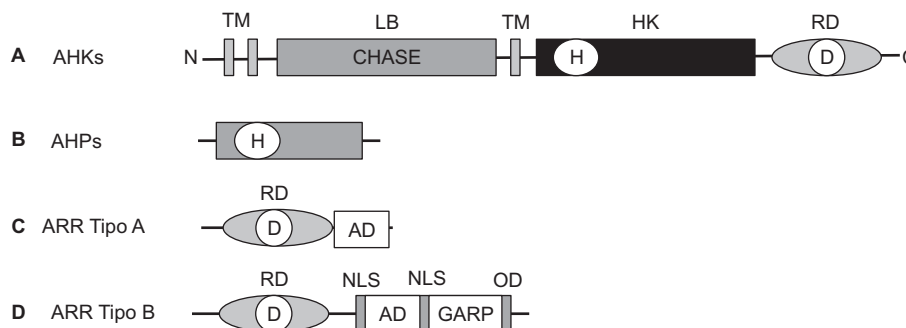


Figura 21-11. Características estructurales de los componentes de la ruta de señalización de las citoquininas en *Arabidopsis thaliana*. **(A) RECEPTORES:** se denominan genéricamente AHK (por *Arabidopsis* histidina quinasa); se han identificado tres: AHK2, AHK3 y AHK4, también denominado cytokinin response 1 (CR1) y wooden leg (WOL); todos contienen un dominio extracelular de unión al ligando (LB) llamado CHASE (ciclaza/histidina quinasa asociada al sensor extracelular), con dos (AHK4) o tres (AHK2 y AHK3) segmentos transmembrana (TM), un dominio histidina quinasa (HK) y un dominio receptor (RD). H y D son los residuos histidina y aspartato, respectivamente, que se fosforilan. **(B) FOSFOTRANSFERASAS:** se denominan genéricamente histidina fosfotransferasas de *Arabidopsis* (AHP1 a AHP5). Median la transferencia de fosfato desde el receptor a los reguladores de respuesta, emigrando desde el citoplasma al núcleo. **(C y D) REGULADORES DE RESPUESTA** de *Arabidopsis* (ARR); se han identificado 23, que se subdividen en dos tipos; los ARR de tipo A (C) tienen un dominio receptor (RD) y un dominio ácido (AD) C-terminal muy corto; los ARR de tipo B (D) tienen, además de los dominios RD y AD, un dominio C-terminal de unión al DNA de tipo GARP (acrónimo de las tres primeras proteínas de la familia). NLS: señal de localización nuclear; OD: dominio output. (Adaptado de Heyl, A. y Schmölling, S. *Current Opinion in Plant Biology*, 6:480-488, 2003.)

preparaciones de membrana de *E. coli* y los transfieren a los reguladores de respuesta de *Arabidopsis*; y 3) *in vivo*, compiten por la fosfotransferencia con las histidina fosfotransferasas de *E. coli*. En análisis de doble híbrido de levaduras, las AHP interactúan con los receptores de citoquininas y con reguladores de respuesta, en consonancia con su papel como mediadores de la transferencia de fosfato entre estos dos componentes de la ruta de señalización de las citoquininas.

Como en el caso de los receptores, los mutantes simples o dobles de AHP son morfológicamente indistinguibles de las plantas silvestres. Sin embargo, los triples mutantes presentan menor sensibilidad a las citoquininas exógenas, mientras que el mutante quintuple falla en la expresión de genes de respuesta a las citoquininas y muestra graves defectos morfológicos. Estos experimentos confirman la participación de las AHP en la ruta de señalización y demuestran su elevada redundancia.

10.3. Los reguladores de respuesta son los componentes finales de la ruta de señalización de las citoquininas

En *Arabidopsis* se han identificado 23 genes que codifican reguladores de respuesta (ARR). Atendiendo a su estructura, los ARR se subdividen en dos clases: A y B (véase la Fig. 21-11). Los **ARR-tipo A** tienen un dominio receptor en el extremo N-terminal y un dominio ácido muy corto en su extremo C-terminal; los **ARR-tipo B** contienen, además del receptor, un dominio de unión al DNA denominado GARP (siglas de las tres primeras proteínas identificadas en la familia). Los genes de los dos tipos de ARR responden de manera distinta a las citoquininas. **Los ARR-tipo A son genes de respuesta primaria a las citoquininas**, ya que la abundancia de sus transcritos se incrementa rápidamente (10 min) en presencia de las citoquininas. En cambio, la expresión de los genes *ARR-tipo B* no se ve afectada por dichas hormonas.

En la ruta de señalización, los ARR tipo B actúan antes que los de tipo A. **Los ARR-tipo B son factores de transcripción**, por lo que exclusivamente se localizan en el núcleo. La secuencia consenso de DNA a la que se une su dominio GARP es 5'-(G/A)GGAT(T/C)-3'. Esta secuencia, denominada genéricamente CRE (del inglés, *cytokinin responsive element*) se encuentra en el promotor de muchos de los genes de respuesta primaria a las citoquininas, como los que codifican a los ARR-tipo A. Se ha demostrado la participación de algunos ARR tipo B como elementos **positivos de la ruta de señalización de las citoquininas**, ya que su sobreexpresión es suficiente para activar respuestas en ausencia de la hormona.

Los ARR tipo A pueden localizarse en el núcleo, el citoplasma, o en ambos. Los patrones de expresión de los genes *ARR-tipo A* son muy variados; algunos muestran mucha expresión en zonas localizadas, como los meristemos primarios, mientras que otros se expresan en todas las células de la planta; no obstante, es poco lo que se sabe sobre la función molecular de estos genes. **Algunos ARR tipo A son reguladores negativos de la ruta de señalización**, y su sobreexpresión disminuye la sensibilidad a las citoquininas.

En consonancia con este resultado, los mutantes múltiples de los genes *ARR-tipo A* son hipersensibles a las citoquininas. No obstante, ninguno de los mutantes simples ejerce efectos notables sobre la morfología de la planta, lo que demuestra el solapamiento funcional de estos reguladores de respuesta. Por último, es de destacar que algunos ARR-tipo A también pueden actuar como reguladores positivos de la ruta de señalización.

10.4. Significación funcional de la ruta de señalización de las citoquininas

En la Figura 21-12 se muestra un modelo general simplificado de la ruta de señalización de las citoquininas en *Arabidopsis*. El modelo se sustenta en un gran número de datos experimentales y puede ser válido para todas las plantas. **La unión de la citoquinina al receptor inicia una cascada de fosforilaciones que lleva a la fosforilación y activación de los reguladores de respuesta de tipo B a través de las fosfotransferasas AHP.** Los reguladores de respuesta de tipo B son factores de transcripción que inducen la expresión de genes de respuesta primaria a las citoquininas, como los que codifican los reguladores de respuesta de tipo A. Estos reguladores también pueden ser fosforilados por las AHP en respuesta a las citoquininas. **Finalmente, los dos tipos de reguladores de respuesta interactúan con diversos efectores que, en última instancia, median las acciones fisiológicas de las citoquininas.** En el modelo también se indica que los **reguladores de respuesta de tipo A pueden inhibir la transcripción de sus propios genes**, proporcionando así un **mecanismo adicional de regulación** de la ruta basado en un bucle de retroalimentación negativo. La ruta de señalización también puede estar regulada en los propios receptores. A este respecto, se ha demostrado que, **en ausencia de citoquininas, los receptores AHK actúan como fosfatasas** que desfosforilan a las fosfotransferasas (Mähönen y cols., *Current Biology*, 16:1116-1122, 2006).

Otro posible mecanismo de regulación de la ruta de señalización (no incluido en la Fig. 21-12) lo lleva a cabo una nueva fosfotransferasa (denominada AHP6) que carece del dominio conservado de histidina requerido para la fosfotransferencia. Un trabajo reciente demuestra la existencia de una **interacción negativa recíproca entre AHP6 y la ruta de señalización de las citoquininas.** Esta interacción recíproca regula la proliferación y la diferenciación de linajes celulares durante el desarrollo vascular en la raíz de *Arabidopsis*; en concreto, las citoquininas reprimen la diferenciación del protoxilema, mientras que la AHP6 contrarresta la acción de las citoquininas, permitiendo la formación de protoxilema (Mähönen y cols., *Science* 311:94-98, 2006).

Todavía no son muchos los genes identificados que puedan clasificarse como **genes de respuesta primaria** a las citoquininas. Además de los que codifican a los reguladores de respuesta de tipo A, cabe citar el gen *CKX* (*citoquinina oxidasa/deshidrogenasa*), dos genes *CRF* (del inglés, *cytokinin response factor*) y varios genes relacionados tanto

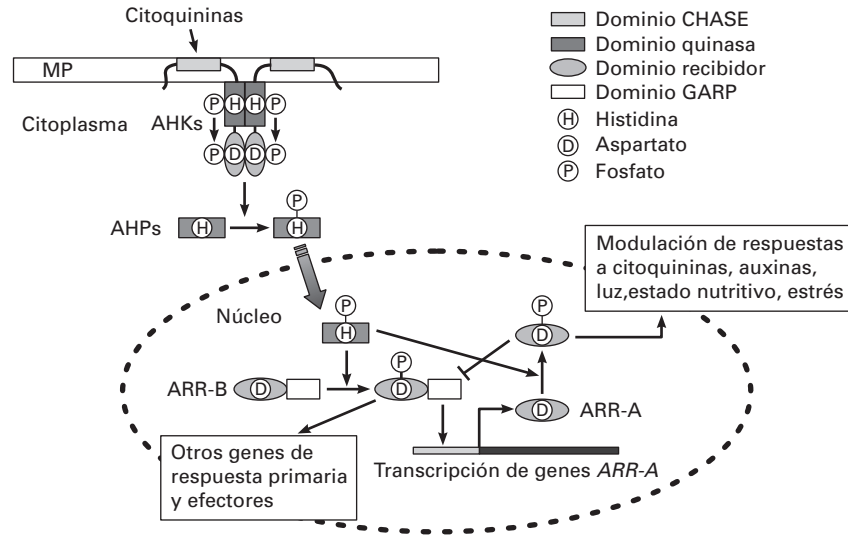


Figura 21-12. Modelo general de la ruta de señalización de las citoquininas. La unión de la hormona al dominio CHASE del receptor histidina quinasa (AHK) induce la dimerización de éste y su autofosforilación en un residuo H del dominio quinasa; rápidamente, el fosfato es transferido a un residuo D del dominio receptor del receptor. Seguidamente, el fosfato es transferido a un residuo H de la fosfotransferasa AHP que, como consecuencia, emigra al núcleo y transfiere el fosfato a un residuo D de un regulador de respuesta de tipo B (ARR-B), que activa la transcripción de los genes de los reguladores de respuesta de tipo A (ARR-A) y otros genes de respuesta primaria a las citoquininas. Los ARR-A pueden actuar como reguladores negativos de la ruta de señalización reprimiendo su propia transcripción (línea troncada), modular (positiva o negativamente) las actividades de las citoquininas o modular otras rutas de señalización a través de interacciones proteína-proteína. (Adaptado de Heyl, A. y Schmölling, S., *Current Opinion in Plant Biology* 6:480-488; 2003, y Ferreira, F.J y Kieber J.J., 2005.)

con las auxinas como con la resistencia a enfermedades. La transcripción de todos estos genes es activada por la ruta de señalización de las citoquininas a través de los reguladores de respuesta de tipo B (Fig. 21-12).

Los genes CRF codifican factores de transcripción del grupo AP2/ERF, perteneciente a la familia de factores de respuesta al etileno (ERF). Las proteínas CRF se acumulan en el núcleo en respuesta a las citoquininas; esta relocalización depende también de las AHP activadas por los receptores. Sin embargo, una vez en el núcleo, las proteínas CRF actúan conjuntamente con los ARR de tipo B para mediar la expresión de genes regulados por citoquininas. Este descubrimiento es importante porque demuestra que en la ruta de señalización de las citoquininas pueden participar factores de transcripción diferentes a los reguladores de respuesta de tipo B (Rasote y cols., *PNAS* 103:11081-11085, 2006).

La ruta de señalización de las citoquininas tiene una interesante interrelación con la de las giberelinas, posiblemente a través de la proteína SPY, un regulador negativo de la ruta de señalización de las giberelinas (véase el Capítulo 20), que actúa como regulador positivo de la ruta de señalización de las citoquininas (un mutante del gen *SPY* de *Arabidopsis* es resistente a las citoquininas exógenas). Las dos hormonas ejercen efectos antagónicos sobre diversos procesos fisiológicos, por lo que la coordinación entre ambas resulta esencial. Se ha sugerido que, cuando los niveles de giberelinas son bajos, el gen *SPY* reprime la acción de las giberelinas y actúa como regulador positivo de la ruta de se-

ñalización de las citoquininas, probablemente a nivel de los reguladores de respuesta. Cuando los niveles de giberelinas aumentan, el gen *SPY* es reprimido y la ruta de señalización de citoquininas resulta inhibida (Greenboim-Wainberg y cols., *Plant Cell* 17:92-102, 2004).

Para dilucidar el papel real de las citoquininas en el desarrollo de las plantas debemos situar los componentes de la ruta de señalización en un contexto funcional. Por ahora, nuestros conocimientos sobre la significación funcional de los componentes de la ruta de señalización aún son escasos. No obstante, las investigaciones en curso, basadas en la interrupción de la ruta de señalización mediante mutaciones de los genes que codifican los componentes de ésta, están produciendo avances muy relevantes en este campo. Aunque la revisión de estas investigaciones queda fuera del alcance de este capítulo, como muestra de la importancia de este enfoque experimental es interesante comentar algunos de los resultados obtenidos con **mutantes de pérdida de función de los receptores** de citoquininas (Higuchi y cols., *PNAS*, 101:8821-8826, 2004; Riefler y cols., *Plant Cell*, 18:40-54, 2006).

Debido a su redundancia génica, **las alteraciones fenotípicas son especialmente evidentes en los triples mutantes *ahk2-ahk3-ahk4***. Estos mutantes son enanos y presentan una drástica disminución en el tamaño de la roseta, causada por una reducción en el número de células (no de su tamaño) y de primordios foliares. Los triples mutantes tienen, además, meristemas apicales del tallo muy pequeños, poco tejido vascular, y floración nula o mínima (si la

hay, las flores son estériles). El efecto negativo sobre la floración sugiere que el meristemo floral gasta rápidamente sus células troncales. Este fenotipo es semejante al obtenido con plantas transgénicas de tabaco y *Arabidopsis* con niveles reducidos de citoquininas debido a la sobreexpresión de la citoquinina oxidasa/deshidrogenasa (CKX).

El desarrollo radicular también queda drásticamente reducido en el triple mutante. Al igual que en el meristemo apical del tallo, este fenotipo parece ser una consecuencia de la pérdida prematura de las células troncales del meristemo radicular. Sorprendentemente, estos resultados difieren de los obtenidos con plantas transgénicas que sobreexpresan CKX, las cuales tienen un sistema radicular mayor y meristemas radiculares más grandes que las plantas silvestres. En su día, los resultados obtenidos con las plantas transgénicas para CKX fueron interpretados como la constatación de uno de los paradigmas de la acción de las citoquininas en las plantas (efectos opuestos en tallos y raíces). Sin embargo, la anulación de los tres receptores demuestra claramente que **las citoquininas son necesarias tanto para el desarrollo de los tallos como para el de las raíces**. A fin de armonizar las aparentes contradicciones de los resultados obtenidos con plantas transgénicas y mutantes, se ha sugerido que los niveles endógenos de citoquininas en las raíces son, normalmente, supraóptimos (lo que implica una inhibición del crecimiento radicular). Por ello, una reducción relativamente pequeña en los niveles de citoquininas (como la provocada por la sobreexpresión de CKX) favorecería el crecimiento radicular. En cambio, una reducción por debajo del nivel crítico de citoquininas afectaría negativamente al desarrollo radicular (en nuestro caso, la anulación de los receptores confiere insensibilidad a las citoquininas y, en consecuencia, el crecimiento radicular se reduce).

Nótese, finalmente, que la **mutación triple *ahk2-ahk3-ahk4* no es letal**. La falta de respuestas detectables a las citoquininas de este mutante (incluidas la ausencia de in-

ducción de genes de respuesta primaria y la incapacidad para responder a las citoquininas en ensayos de morfogénesis *in vitro*), hace que se ponga en duda si las plantas necesitan realmente citoquininas para su desarrollo. Por ejemplo, es posible que las citoquininas sólo sean necesarias para el mantenimiento de los meristemas, pero no para su establecimiento. Para explicar la viabilidad del triple mutante se ha sugerido que las plantas pueden poseer otros receptores de citoquininas. Otra posibilidad es que, en ausencia de receptores, la cascada de fosforilaciones sea iniciada por fosfotransferasas no análogas. Las investigaciones futuras permitirán dilucidar todas estas cuestiones.

11. APLICACIONES COMERCIALES DE LAS CITOQUININAS

Las citoquininas tienen una gran importancia económica. La industria de la micropropagación (véase el Capítulo 30) está basada en la capacidad de las citoquininas, solas o en combinación con las auxinas, para promover el rebrote de las yemas axilares y la neoformación de tallos adventicios.

La capacidad de las citoquininas para reducir la dominancia apical también es la base de su empleo en una serie de preparados comerciales que incrementan la ramificación de las plantas con interés frutícola (manzano) u ornamental (claveles o rosales). En este caso, principalmente se emplean preparados basados en BA o en citoquininas sintéticas. Las citoquininas también se utilizan, en combinación con las giberelinas, para controlar la forma y el tamaño de los frutos de algunas variedades de manzano.

El reciente descubrimiento de citoquininas aromáticas sintéticas que inhiben selectivamente el ciclo celular en plantas y animales abre grandes posibilidades para la búsqueda de nuevos agentes con actividad anticancerígena.

RESUMEN



- Las citoquininas son sustancias que promueven la división celular y ejercen otras funciones reguladoras del desarrollo de las plantas, de forma similar a la quinina.
- Desde el punto de vista químico, las citoquininas naturales son adeninas sustituidas, en posición N⁶, con una cadena lateral isoprenoide o con un anillo aromático. En las plantas, las citoquininas se encuentran como bases libres o formando conjugados con diversos compuestos que se unen al anillo de purina o a la cadena lateral. Además, aparecen específicamente en ciertos tRNA de todos los organismos vivos.
- Los niveles de citoquininas en las plantas dependen de su biosíntesis, sus interconversiones metabólicas y su degradación. Las citoquininas son mayoritariamente sintetizadas *de novo*, aunque no se descarta que la hidrólisis de los tRNA también contribuya a su formación. Las interconversiones entre bases, ribósidos y ribótidos constituyen la ruta principal del metabolismo de las citoquininas. Tanto el anillo de purina como el sustituyente en N⁶ pueden sufrir una serie de modificaciones que conducen a la inactivación o degradación de las citoquininas.
- La secuenciación del genoma de *Arabidopsis thaliana* ha sido un factor decisivo para el aislamiento y la caracterización de los componentes de la ruta de señalización de las citoquininas. Dicha ruta, similar a la que opera en la transducción de señales a través del sistema de dos componentes de bacterias y levaduras, está integrada por receptores histidina quinasa, fosfotransferasas y reguladores de respuesta. Las fosfotransferasas actúan como lanzaderas que conectan la señal



RESUMEN (Cont.)

entre los receptores y los reguladores de respuesta, algunos de los cuales son factores de transcripción que activan la expresión de genes de respuesta primaria a las citoquininas. Aunque la ruta fue dilucidada inicialmente en *Arabidopsis*, numerosos datos experimentales sugieren que este modelo de señalización es válido para todas las plantas.

- El tratamiento con citoquininas exógenas, la cuantificación de los niveles hormonales endógenos, los estudios con plantas transgénicas y, sobre todo, el análisis de mutantes defectivos en los componentes de la ruta de señalización, demuestran que las citoquininas son hormonas clave para el control del desarrollo de las plantas, y que participan en procesos tan diversos como los de división celular, proliferación de yemas axilares, neoformación de órganos, desarrollo de cloroplastos, senescencia y control del estado nutritivo de la planta. En la mayor parte de estos procesos, las citoquininas actúan en concierto con otros estímulos hormonales y ambientales.



PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1 Describa los mecanismos que intervienen en la regulación de los niveles de citoquininas en las plantas.
- 2 ¿Es correcto afirmar que todas las citoquininas isoprenoidicas derivan exclusivamente de los ribótidos de isopenteniladenina (iPRDP e iPRTP)?
- 3 ¿Qué fenotipo cabe esperar de una planta transgénica que sobreexpresa el gen *IPT* de *Agrobacterium tumefaciens*?
- 4 Según las hipótesis actuales, ¿puede afirmarse que la dominancia apical es controlada exclusivamente por una interacción auxinas/citoquininas?
- 5 ¿Qué pruebas aportaría para demostrar que las citoquininas presentes en los tRNA no tienen acción hormonal?
- 6 Estructuralmente, ¿cuáles son los requisitos químicos para que las citoquininas presenten actividad?
- 7 Explique la aparente contradicción entre el fenotipo de plantas transgénicas que sobreexpresan el gen que codifica la citoquinina oxidasa/deshidrogenasa (CKX) y el de los triples mutantes de pérdida de función de los receptores de citoquininas (*ahk2-ahk3-ahk4*).
- 8 Cite algunos procesos fisiológicos regulados por la interacción entre las citoquininas y la luz.
- 9 De acuerdo con los datos experimentales actuales, ¿cuáles son los principales componentes de la ruta de señalización de las citoquininas?
- 10 Describa los principios básicos del modelo de Skoog-Miller sobre la regulación de la organogénesis.



RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1 Los niveles de citoquininas activas en las células son regulados por las tasas de biosíntesis o de absorción a partir de fuentes extracelulares; interconversiones metabólicas entre bases, ribósidos y ribótidos; conjugación con restos glicídicos o aminoácidos y degradación enzimática vía citoquinina oxidasa/deshidrogenasa.
- 2 Los ribótidos de iP son uno de los productos de la reacción catalizada por la enzima isopentenil transferasa (IPT), que transfiere el resto prenilo del dimetilalil difosfato (DMAPP) al ADP o al ATP. A partir de ellos se forman los ribósidos y bases libres de iP, tZ y DZ. Aunque cuantitativamente esta ruta es la más importante, las plantas también pueden sintetizar tZ por una ruta independiente de los nucleótidos de iP. En esta ruta, la enzima clave es también la IPT, pero en este caso el donador de restos prenilo es un precursor hidroxilado. Por tanto, la afirmación es falsa.
- 3 La sobreexpresión del gen bacteriano supone un incremento de los niveles endógenos de citoquininas, lo que provoca cambios fenotípicos que guardan una estrecha relación con los efectos inducidos por las citoquininas exógenas, especialmente retraso de la senescencia foliar y reducción en la dominancia apical.



RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES (Cont.)

- 4 Una serie de trabajos basados en la decapitación de las plantas, la aplicación exógena de auxinas o citoquininas y la utilización de plantas transgénicas con niveles alterados de auxinas o citoquininas sugirió que la dominancia apical era el resultado de una interacción entre las auxinas (represoras del rebrote de las yemas axilares) y las citoquininas (promotoras del rebrote de las yemas axilares). Sin embargo, en los mutantes *ramous (rms)* del guisante o *more axillary growth (max)* de *Arabidopsis*, la ausencia de dominancia apical no se correlaciona con los niveles endógenos de auxinas o citoquininas. Experimentos de injertos recíprocos entre raíces y partes aéreas de plantas silvestres y mutantes sugieren la existencia de una nueva señal (probablemente un producto de la degradación de carotenoides) que se mueve acrópeta y reprime el rebrote de las yemas. Actualmente, se supone que el rebrote de las yemas axilares está regulado por una compleja interacción entre esta señal, las auxinas y, probablemente, las citoquininas. Por tanto, los datos experimentales disponibles no permiten afirmar que la dominancia apical sólo sea el resultado de una interacción entre auxinas y citoquininas.
- 5 Básicamente tres: 1) la mayoría de las citoquininas naturales nunca se han encontrado como constituyente de los tRNA; 2) la incorporación de BA exógena a los tRNA es mínima e inespecífica, es decir, no está confinada al extremo 3' del anticodón, y 3) los tRNA de callos de tabaco dependientes de citoquininas para su crecimiento contienen el complemento usual de las citoquininas cuando se cultivan en presencia de BA.
- 6 La actividad biológica de las citoquininas depende de la integridad del anillo de purina y de la naturaleza química del sustituyente en N⁶ de la adenina.
- 7 La sobreexpresión de cualquiera de los genes de la citoquinina oxidasa/deshidrogenasa (CKX) reduce los niveles de citoquininas en las plantas y provoca una drástica reducción en el desarrollo del meristemo apical del tallo. En la raíz, el efecto es opuesto, existe un incremento considerable en el tamaño de su meristemo apical. En el mutante *ahk2-ahk3-ahk4*, tanto el meristemo apical del tallo como el meristemo apical de la raíz muestran una drástica reducción, lo que demuestra que las citoquininas son necesarias para el desarrollo de ambos meristemas. Para explicar esta contradicción se ha sugerido que los niveles de citoquininas en las raíces son supraóptimos y, por tanto, inhibitorios. Si ello es así, la reducción en citoquininas causada por la sobreexpresión de CKX podría incrementar el desarrollo de la raíz. No obstante, si la reducción en el nivel de citoquininas es muy grande (o, como sucede en el triple mutante, la planta es incapaz de responder a las citoquininas), se produciría una reducción en el desarrollo radicular.
- 8 Las citoquininas pueden suplir los requerimientos luminosos (o interactuar con ellos) de procesos tales como los de germinación de semillas sensibles a la luz, síntesis de antocianos y desarrollo de los cloroplastos.
- 9 La ruta de señalización de las citoquininas es similar a la que utilizan las bacterias para la transducción de señales ambientales, conocida con el nombre de sistema de dos componentes. En las bacterias, el sistema más común consta de un sensor histidina quinasa y el regulador de respuesta, y funciona a través de una fosforilación alternante entre residuos de los aminoácidos histidina y aspartato. La ruta de señalización de citoquininas es más compleja, ya que implica cuatro episodios de fosforilación entre los residuos de histidina y aspartato; además, aparece una tercera proteína para realizar la transferencia de fosfatos. Básicamente, el sistema consta de: 1) un sensor (receptor) histidina quinasa híbrido, en el que el sensor histidina quinasa está fusionado con uno de los dominios del regulador de respuesta, 2) reguladores de respuesta de dos tipos (denominados A y B), y 3) una histidina fosfotransferasa que media la transferencia de fosfato entre el sensor y el regulador de respuesta.
- 10 El modelo sugiere que la diferenciación de yemas vegetativas se promueve por balances auxina/citoquinina favorables a las citoquininas, mientras que los balances favorables a las auxinas inducen la formación de raíces.

**BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA**

1. FanKhauser, C. Light perception in plants: cytokinins and red light join forces to keep phytochrome B active. *Trends in Plant Sciences* 2002; 7: 143-145.
2. Ferreira FJ, Kieber JJ. Cytokinin signaling. *Current Opinion in Plant Biology* 2005; 8:518-525.
3. Howell SH, Lall S, Che P. Cytokinins and shoot development. *Trends in Plant Sciences* 2003; 8:453-459.
4. Maxwell BB, Kieber JJ. Cytokinin signal transduction. En: Davies PJ (ed.). *Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action*. Dordrecht, Kluwer Academic, 2004; 321-349.
5. Roef L, Van Onckelen H. Cytokinin regulation of cell division cycle. En: Davies PJ (ed.). *Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action*. Dordrecht, Kluwer Academic, 2004; 241-261.
6. Sakakibara H, Takei K, Hirose N. Interactions between nitrogen and cytokinin in the regulation of metabolism and development. *Trends in Plant Sciences* 2006; 11: 440-448.
7. Sakakibara H. Cytokinins: activity, biosynthesis, and translocation. *Annual Review of Plant Biology* 2006; 57: 431-449.
8. Schmölling T. New insights into the functions of cytokinins in plant development. *Journal of Plant Growth Regulation* 2002; 21:40-49.
9. Shani E, Yanai O, Ori N. The role of hormones in shoot apical meristem function. *Current Opinion in Plant Biology* 2006; 9:484-489.
10. Strnad, M. The aromatic cytokinins. *Physiologia Plantarum* 1997; 101:674-688.

Etileno, ácido abscísico y otros reguladores del desarrollo

LORENZO ZACARÍAS Y M.^a TERESA LAFUENTE



1. Etileno. 2. Ácido abscísico. 3. Otros reguladores del desarrollo.

1. ETILENO

1.1. La naturaleza gaseosa del etileno le confiere características especiales entre los reguladores

De entre las diferentes moléculas con características de reguladores del desarrollo, tanto en las plantas como en el reino animal, el etileno es la de estructura química más simple con actividad en forma gaseosa. Su efecto en las plantas se produce en concentraciones muy bajas y se manifiesta prácticamente en todas las etapas de su ciclo biológico, desde la germinación de las semillas hasta la maduración y senescencia, o en respuesta al estrés. El hecho de ser un gas a temperatura y presión ambientes le confiere unas características peculiares: la capacidad de difundirse libremente por los espacios intercelulares, la de coordinar una respuesta rápida y uniforme en los tejidos y, además, la posibilidad de alterar su concentración interna simplemente modulando la velocidad de síntesis del gas, sin la participación de un sistema metabólico adicional para reducir la concentración de hormona libre.

La primera descripción del efecto del etileno en las plantas data de principios del siglo xx, cuando Neljubow observó que en las plántulas etioladas del guisante este gas ocasionaba la reducción de la elongación, el engrosamiento del hipocótilo y el cambio en la orientación del desarrollo. Este efecto, conocido como «triple respuesta», se ha utilizado, más de ochenta años después, como sistema de selección de mutantes insensibles a la acción del etileno, especialmente

en la pequeña crucífera *Arabidopsis thaliana*, y su descubrimiento ha representado el mayor avance en los conocimientos sobre el modo de acción de la hormona y sobre su implicación directa en los distintos procesos del desarrollo o frente a situaciones de estrés.

1.2. La actividad ACC sintasa es la etapa limitante de la síntesis de etileno, aunque la regulación de la ACC oxidasa puede ser un mecanismo adicional de control

La primera etapa de la biosíntesis de etileno en las plantas superiores, que es diferente de la de los vegetales inferiores y los microorganismos, es la formación de **S-adenosilmetionina (SAM)** desde el aminoácido metionina (Fig. 22-1). Esta conversión está catalizada por la enzima S-adenosilmetionina sintasa y no es específica de la síntesis de etileno, ya que la SAM es también un precursor de otras rutas metabólicas, como la síntesis de poliaminas, y participa en reacciones de transmetilación de lípidos, carbohidratos y ácidos nucleicos. La primera etapa específica de la síntesis de etileno es la conversión de la SAM en **ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC)**, a través de la enzima **ACC sintasa (ACS)**. Existen múltiples factores, tanto internos como externos, que estimulan la producción de etileno en los tejidos vegetales, de forma concomitante con el aumento en el contenido de ACC y la síntesis *de novo* de ACS. Ello indica que esta actividad constituye, en la mayor parte de las situaciones

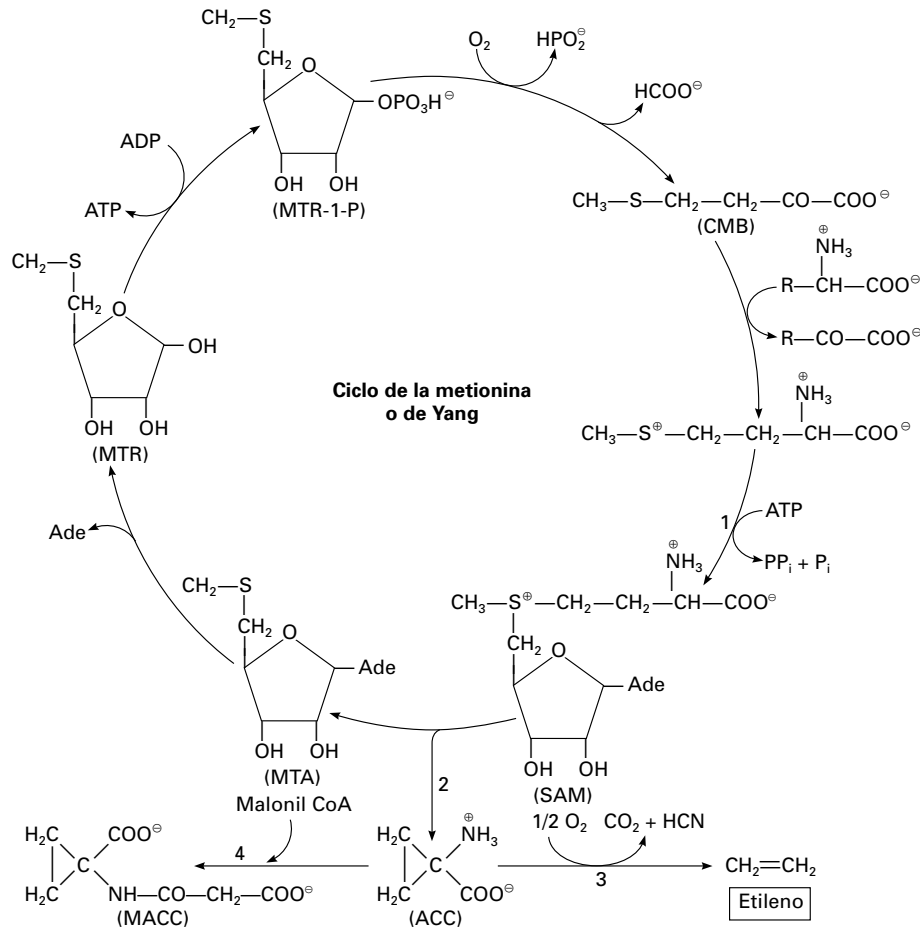
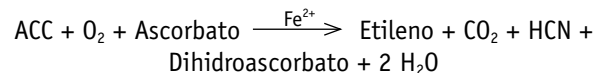


Figura 22-1. Ciclo de la metionina, o de Yang, en relación con la biosíntesis de etileno. Las principales enzimas implicadas en la síntesis se indican con números: 1, S-adenosilmetionina sintasa; 2, ACC sintasa; 3, ACC oxidasa; 4, ACC N-maloniltransferasa. Abreviaturas de los intermediarios del ciclo: MTA, 5'-metiltioadenosina; MTR, 5'-metiltiorribosa; MTR-1-P, 5'-metiltiorribosa-1-fosfato; CMB, 2-ceto-4-metil-tiobutirato; SAM, S-adenosilmetionina; ACC, ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico.

fisiológicas, la etapa reguladora limitante de la producción de etileno. La actividad ACS se localiza predominantemente en el citosol y aun en su fase máxima es muy escasa. Otra de las características de la ACS es su corta vida media, entre 30 y 60 minutos. Esta propiedad parece estar relacionada con la inactivación de la ACS por su sustrato (denominada **inactivación suicida**), de tal forma que la unión de la SAM al centro activo de la ACS originaría un compuesto que inactivaría irreversiblemente la enzima. Además, existen otros reguladores metabólicos que participan en la estabilidad de la proteína ACS. Todo ello contribuye a mantener un estricto control transcripcional y postranscripcional de la actividad ACS y, por consiguiente, a limitar la producción de etileno en las células.

La etapa final de la síntesis de etileno es la oxidación de ACC a etileno por la enzima **ACC oxidasa** (ACO). Esta actividad fue difícil de caracterizar durante varias décadas, hasta que se descubrió que, como otras oxigenasas, requiere iones hierro y ascorbato. Además, la actividad se estimula por CO_2 , de forma que la reacción puede resumirse como:



La ACO tiene una alta afinidad por su sustrato y necesita la presencia de oxígeno para su actividad. También sufre **inactivación catalítica** pero, a diferencia de la ACS, su mecanismo se desconoce. Esta característica común a ambas enzimas sugiere que las plantas han podido desarrollar un mecanismo bioquímico que permita detener de forma rápida y eficiente la síntesis de etileno, y controlar así la persistencia de sus efectos fisiológicos.

A pesar de que en la mayoría de los tejidos vegetales la actividad ACO es constitutiva, es decir, esos tejidos poseen capacidad para convertir ACC exógeno en etileno, la síntesis de la enzima y su actividad también son inducidos de forma específica en determinados procesos del desarrollo. Por ejemplo, durante la maduración de ciertos frutos climatéricos, la actividad ACO se incrementa antes que la de la ACS y es estimulada por el etileno, lo que indica que la

regulación de la ACO constituye un mecanismo adicional de control de la síntesis de etileno.

La formación de etileno a partir de ACC va acompañada de la generación de ácido cianhídrico (HCN), que es sumamente tóxico para las plantas. La eliminación del HCN tiene lugar mediante la reacción catalizada por la enzima β -cianoalanina sintasa, que genera β -cianoalanina, cuya velocidad de reacción es muy superior a la de síntesis de HCN y, por tanto, mantiene su concentración por debajo de los niveles celulares tóxicos.

Una etapa alternativa a la oxidación de ACC en etileno la constituye la síntesis del compuesto conjugado **malonil-ACC**, mediante la acción de la ACC N-maloniltransferasa. Este proceso es irreversible en condiciones fisiológicas, de forma que la conjugación de ACC se puede considerar una forma de almacenamiento del precursor del etileno y un proceso adicional para controlar la concentración de ACC disponible para la conversión a etileno.

La metionina es un aminoácido minoritario en las plantas; sin embargo, su suministro como sustrato en las diferentes rutas metabólicas en las que participa está asegurado a través del reciclaje en forma de metiltioadenosina (MTA) y de otros intermediarios que se muestran en la Figura 22-1. El resultado neto de este ciclo, conocido como **ciclo de la metionina** o **ciclo de Yang**, es la formación de etileno desde el anillo de ribosa del ATP, mientras que el grupo sulfidrilo se conserva para regenerar de nuevo metionina. De esta forma, con disponibilidad de ATP se puede conseguir una alta tasa de producción de etileno, pese a la baja concentración de metionina intracelular.

1.3. Tanto la ACC sintasa como la ACC oxidasa están codificadas por familias de genes que se expresan diferencialmente

Una de las características de la producción de etileno es la diversidad de factores, tanto endógenos como exógenos, que pueden estimularla o suprimirla. Estos efectos, sin embargo, son variables y dependen de la especie vegetal, el tejido y su estado de desarrollo. En la mayor parte de las situaciones biológicas o de respuesta al estrés, la etapa reguladora limitante de la síntesis de etileno es la ACC sintasa, como ya se explicó. Esta enzima está codificada por una familia de genes extraordinariamente divergente, cuyos miembros se expresan de forma diferente en respuesta a distintos factores. Así, en el tomate, por ejemplo, uno o varios genes se expresan en respuesta a las auxinas, otros durante la maduración del fruto y otros por heridas. En general, la similitud entre tales genes es muy escasa. Existe, por tanto, una alta especificidad en la regulación de la expresión de la ACS, tanto de estímulo como de tejido, y se ha observado mayor homología entre las ACS que son inducidas por un mismo factor en diferentes plantas que entre las distintas ACS de una misma especie. Estas características permiten regular diferencialmente la síntesis de etileno ante cada proceso o estímulo específico, y adaptar o coordinar así las respuestas

fisiológicas particulares frente a dicha situación. Por otra parte, la enzima ACO también está codificada por un pequeño número de genes, que se expresan asimismo de forma diferencial en varios órganos y en distintos estados del desarrollo. La regulación coordinada y específica de cada una de estas enzimas determinará la producción de etileno frente a cada situación, y su consiguiente respuesta fisiológica. En diferentes especies (tomate, melón, manzana y plátano, entre otras) se han generado plantas transgénicas en las que se ha manipulado genéticamente la producción de etileno. Estas plantas tienen alterados diferentes procesos fisiológicos regulados por el etileno, como la maduración del fruto, la senescencia foliar, la abscisión y las respuestas al estrés. Los estudios realizados en estas plantas han permitido identificar procesos dependientes e independientes del etileno, y han abierto las puertas al control biotecnológico de los efectos del etileno para mejorarlas con fines comerciales.

1.4. El etileno también regula su propia síntesis

Una propiedad importante del etileno es su capacidad para controlar su propia síntesis, tanto estimulándola como inhibiéndola. La activación de la producción de etileno por el mismo gas (denominada **autocatálisis**) se ha demostrado en diferentes tejidos y es un proceso característico durante la maduración de los frutos climatéricos o la senescencia de determinadas especies de flores (véanse los Capítulos 26 y 28). Este proceso requiere la presencia continua de etileno y estimula coordinadamente la síntesis y la actividad de ambas enzimas, ACS y ACO. La inducción de ACO por el etileno parece ser previa a la de ACS, de forma que se incrementan progresivamente los niveles basales de etileno sin que ello afecte al nivel de su precursor metabólico, ACC. Cuando la concentración de etileno ha superado un nivel umbral, comenzaría la estimulación de la actividad ACS, con el consiguiente aumento de ACC y, dado que la actividad ACO ya está previamente intensificada, tiene lugar el aumento masivo de la producción de etileno, característico durante el climaterio de los frutos. En otras situaciones del desarrollo, o en condiciones adversas, la actividad ACO también puede ser estimulada por el etileno; no así la actividad ACS. La autocatálisis de la producción de etileno es, por tanto, la estimulación por la hormona de la expresión y de la actividad de una ACS específica. Este proceso solamente se produce durante la maduración de los frutos climatéricos y es el que determina la entrada irreversible en el proceso de senescencia celular característico de la maduración.

Por otra parte, el etileno también puede actuar negativamente en su biosíntesis. Este proceso es rápido y reversible, e implica diferentes mecanismos: el etileno inhibe la actividad ACS y, dependiendo de los tejidos, también puede suprimir la ACO. Además, se ha demostrado que incrementa la actividad ACC-malonil-transferasa, lo que ocasiona una reducción general del contenido de ACC disponible para la formación de etileno.

1.5. Se han caracterizado los receptores del etileno, que parecen actuar como reguladores negativos de la ruta de transducción de la señal hormonal

El mecanismo por el cual las células vegetales perciben y transmiten la señal del etileno es, posiblemente, el mejor conocido de entre los diferentes reguladores del desarrollo. Estos avances han sido posibles gracias a la caracterización de amplias familias de mutantes de *Arabidopsis thaliana* afectados en la sensibilidad y en la respuesta al etileno (Fig. 22-2). Su análisis genético y molecular ha permitido caracterizar no sólo los **receptores del etileno**, sino otros elementos que participan en la ruta de transducción de la señal hormonal. Los avances realizados en esta planta modelo se han extendido a otras plantas de interés agronómico, como por ejemplo el tomate, y también a otros procesos más complejos del desarrollo y de las respuestas al estrés. La primera proteína que se identificó de forma concluyente como un receptor hormonal fue la denominada ETR1, que corresponde a la proteína codificada por un gen cuya mutación provoca una completa resistencia a la acción del etileno. Después se han identificado otros miembros de esta familia y se ha comprobado que son similares a las proteínas con

actividad histidina quinasa de la familia de receptores de dos componentes implicada en la transmisión de la señal en las bacterias. Los receptores están organizados estructuralmente en tres dominios: el dominio o módulo sensor, por el que se une el etileno; el dominio quinasa, que puede variar en los diferentes receptores, pero que es el que contiene una serie de restos de His que se autofosforilan y, finalmente, el dominio de respuesta, que está ausente en algunos de los receptores. Estas proteínas actúan como dímeros y necesitan Cu^+ para mantener una alta afinidad en la unión con el etileno. En plantas de *Arabidopsis* o de tomate, que es en las que se ha investigado más intensamente, se ha comprobado que existen 5 y 6 proteínas, respectivamente, que actúan como receptores de etileno, y que se agrupan en dos subfamilias, según contengan el dominio sensor y el de respuesta (como los receptores ETR), o solamente el dominio sensor (como los receptores ERS) (Fig. 22-3). Estos receptores también se han aislado en otras muchas plantas, e incluso se ha demostrado que su manipulación por procedimientos biotecnológicos ocasiona la insensibilidad de las plantas a la acción del etileno, como ocurre en *Arabidopsis*. En todos los casos, se ha evidenciado que las proteínas correspondientes a los receptores tienen capacidad para unir etileno, y que las mutaciones en cada una de ellas confieren insensibilidad a la hormona, aunque con diferente intensidad; de ello se deduce que los dominios carentes en los receptores ERS no son esenciales para la transducción de la señal. Por debajo de los receptores del etileno se ha comprobado que actúan unas proteínas, denominadas CTR, que tienen homología con las quinatas tipo treonina-serina o Raf. Estas proteínas interactúan directamente con los receptores ETR y ERS, y las mutaciones en los genes que las codifican originan un fenotipo en el que se manifiesta de forma constitutiva la respuesta al etileno en ausencia de la hormona. Este dato indica claramente que la interacción receptor-CTR actúa como un regulador negativo de la ruta de señalización. Así, durante el desarrollo normal de las plantas, y en ausencia de etileno, los receptores y la proteína CTR estarían unidos y se suprimirían las respuestas a la hormona. Cuando el etileno se une a su receptor, la unión con CTR se rompe, y entonces se suprime la inhibición y se desencadenan las etapas subsiguientes de la cascada de transducción hormonal, produciéndose así la respuesta hormonal (Fig. 22-3).

Los resultados genético-moleculares refuerzan las observaciones bioquímicas y establecen un posible modelo de regulación negativa de las respuestas al etileno. Este modelo establece que los niveles bajos de receptor implicarían menor represión de la ruta de transducción y, en consecuencia, una alta sensibilidad a la hormona. En cambio, una concentración elevada de receptores hormonales implicaría una mayor inactivación de la ruta y se requeriría mayor concentración de etileno para hacerla operativa. A pesar de que este modelo es opuesto al modelo clásico de acción hormonal, supone ciertas ventajas funcionales en la transducción de la señal del etileno, y existen pruebas de que modelos similares son los que regulan las señales de otras hormonas vegetales. En este modelo, la entrada en funcionamiento de la ruta de

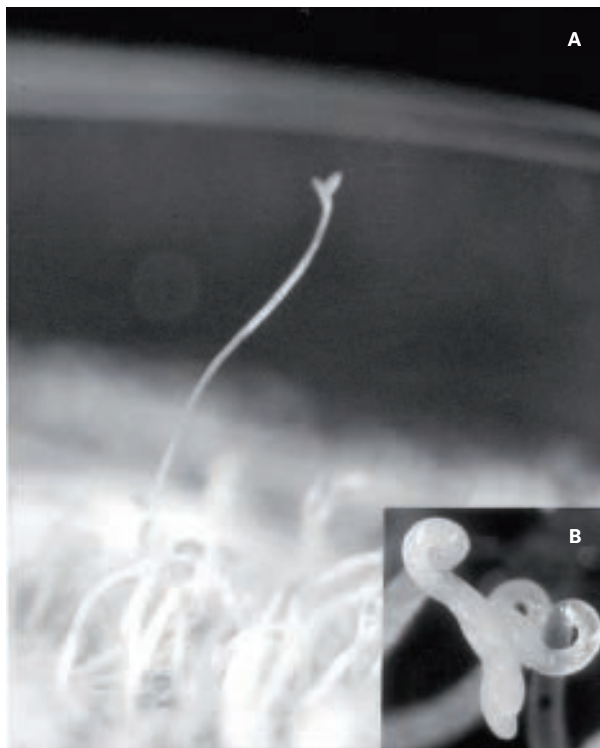
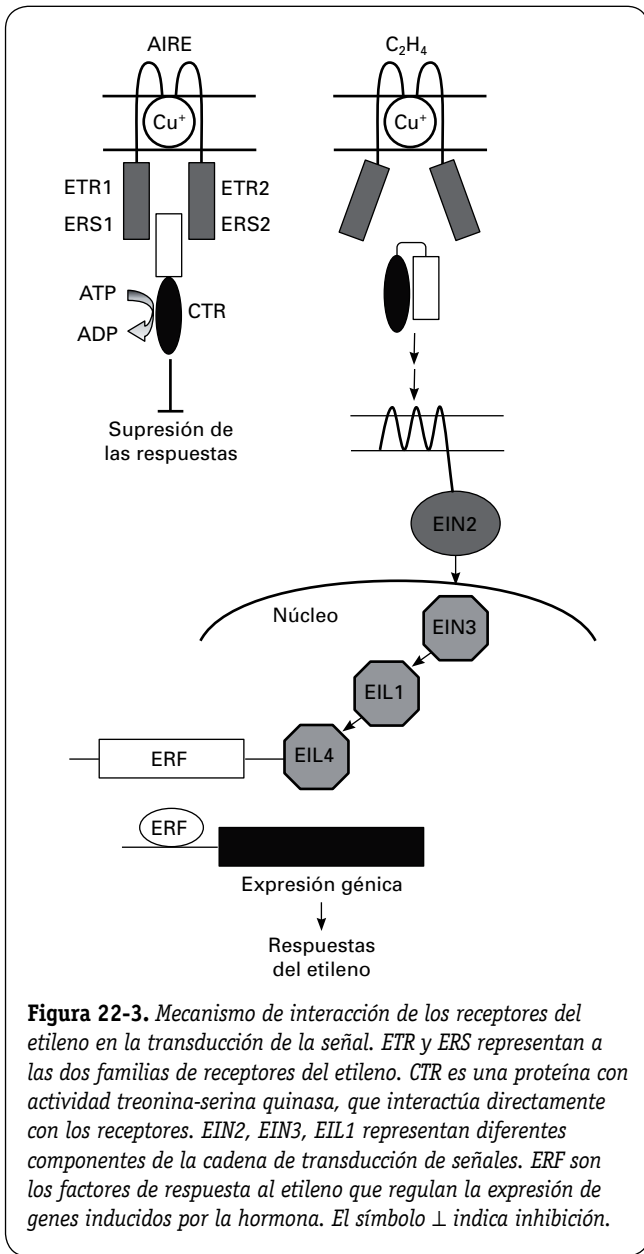


Figura 22-2. **A.** Mutante de *Arabidopsis thaliana* insensible al etileno. **B.** Efecto del etileno en la formación del gancho plumular en plántulas silvestres de *A. thaliana* cultivadas en una atmósfera enriquecida con etileno ($15 \mu\text{L/L}$). (Fotos de L. Zacarías.)



señalización puede ser mucho más rápida, ya que tan pronto se estimula la síntesis de etileno y el gas se une al receptor, la inhibición se paraliza y se activan las respuestas, es decir, se hace operativo un sistema ya existente que hasta ese momento estaba inactivo. Además, la síntesis de nuevos receptores sería una forma rápida y eficiente de frenar la acción del etileno una vez que el proceso está en marcha, lo que puede ser especialmente necesario cuando es preciso frenar los efectos del etileno y restaurar el hábito normal del desarrollo. Dado que la acción del etileno puede entrañar procesos de deterioro y terminales en la vida de las plantas (como los de senescencia, maduración, necrosis patogénica, etc.), éstas han debido adoptar un sistema rápido y eficiente para reducir la acción de la hormona en las situaciones en las que es necesario, de modo que el desarrollo pueda continuar normalmente.

Así pues, la regulación de la síntesis de receptores parece un paso importante para determinar la acción y los efectos fisiológicos del etileno. Los datos actuales indican que cada uno de los receptores obedece a inductores y represores distintos, y que en las diversas fases del desarrollo, maduración y senescencia se regulan de forma diferente. Así, el receptor ETR1 parece que se expresa de forma constitutiva durante la maduración de los frutos de tomate, mientras que los del tipo ERS1 siguen un patrón similar al de la producción de etileno. En algunos de estos receptores, por ejemplo ERS2 (que corresponde a la mutación NR) y ETR4, existe un proceso denominado compensación funcional, por el que en ausencia del receptor ERS2 el nivel del otro receptor ETR4 aumenta, pero no a la inversa. Este proceso se ha comprobado en plantas de tomate; en ausencia de ERS2, las plantas y los frutos manifiestan más sensibilidad al etileno, lo que corrobora el proceso anterior de regulación negativa de las respuestas al etileno. Sin embargo, no se ha podido demostrar en plantas de *Arabidopsis*, lo que significa que, en función de las respuestas específicas y de las funciones del etileno en cada tejido y proceso del desarrollo, se han adquirido mecanismos diferentes de regulación. Posiblemente, en el proceso de maduración del fruto, que es sumamente especializado y selectivo, y que implica la senescencia de ese órgano, se han desarrollado mecanismos diferentes para compensar y garantizar la acción del etileno, que no existen en otras plantas, como *Arabidopsis*, en las que este proceso no se produce.

Por debajo de los receptores y de la unión al CTR se encuentra otra extensa serie de moléculas en la secuencia de transmisión de la señal del etileno. La proteína EIN2 es una proteína integral de membrana, con homología con la familia de transportadores de iones metálicos NRAMP y que se ha comprobado que actúa inmediatamente después del CTR. La transducción de la señal desde el CTR se produce mediante una cadena de actividades proteína quinasa, de las que, no obstante, no se han identificado todos los elementos. Por debajo de EIN2 se encuentran una serie de factores de transcripción, que parecen interactuar entre sí en la regulación transcripcional de los genes de respuesta al etileno. Se ha comprobado que estos elementos actúan como dímeros que se unen a secuencias concretas de los promotores de los factores de respuesta al etileno (ERF). Estos factores se unen, a su vez, a las secuencias consenso GCC de los promotores de los genes regulados por el etileno. Los niveles celulares de las proteínas EIN3 se regulan por proteólisis mediada por ubiquitinación. La información de que se dispone en la actualidad indica que, desde los receptores hasta EIN3/EIN, son componentes comunes en la señalización de todas las respuestas del etileno. La integración de señales independientes al etileno se realiza en este componente o a partir de él, lo que serviría para diversificar las respuestas a la hormona. Las proteínas ERF pertenecen a una amplia familia muy heterogénea, que participa en múltiples procesos del desarrollo. La inducción específica de los diferentes miembros de estos reguladores (que a su vez inducirían genes concretos) sería un mecanismo adicional

para controlar las respuestas específicas del etileno. Estas proteínas son, por su parte, las intermediarias con las que pueden converger o interactuar proteínas reguladas por otras hormonas, y constituyen una etapa en la que se puede producir la interconexión entre los diferentes reguladores del desarrollo (en este caso, en la señalización del etileno). Así, existen secuencias de respuesta al etileno en promotores de genes regulados por el ácido jasmónico y, a su vez, se ha comprobado que factores de transcripción regulados por esta hormona interactúan directamente con EIN3.

Por otra parte, la identificación y la posible utilización práctica (sobre todo en la maduración y la postrecolección de frutas y hortalizas) de inhibidores de la acción del etileno ha suscitado un enorme interés durante décadas. El ion plata fue uno de los primeros inhibidores identificado, y se utilizó mucho en experimentación y en plantas ornamentales, ya que es un potente inhibidor competitivo de la acción del etileno. Las olefinas cíclicas pueden inhibir la acción del etileno. En concreto, el 1-metilciclopropeno (1-MCP) es un potente inhibidor de la acción de la hormona, que se une irreversiblemente al receptor hormonal y es activo en concentraciones muy bajas. El 1-MCP se aplica como un gas y carece de toxicidad, lo que ha llevado a plantear su aplicación comercial en frutos y hortalizas. La supresión de la acción del etileno por el 1-MCP se pierde con el tiempo, a medida que se sintetizan nuevos receptores; de este modo se pueden restaurar las características de los frutos una vez finalizado el transporte y la conservación (véase el Capítulo 28). Por su parte, el dióxido de carbono es un inhibidor competitivo de la acción del etileno, y su utilización en concentraciones elevadas es uno de los motivos de que se apliquen atmósferas controladas en la conservación de frutos y hortalizas.

1.6. Las funciones fisiológicas del etileno son muy variadas

Aunque la acción del etileno se ha vinculado a menudo a procesos inhibidores del desarrollo o de estrés, no debe considerarse como negativa en sí misma, sino más bien como parte de los mecanismos desarrollados por las plantas para adaptarse y responder a condiciones nuevas. El efecto del etileno, además, puede estar directa o indirectamente modulado por el balance con otras hormonas. En este sentido, el análisis de los efectos del etileno en los mutantes insensibles, o en las plantas transgénicas con reducida capacidad de síntesis, está ayudando considerablemente a dilucidar sus efectos fisiológicos y la interacción con otras hormonas. A continuación se describen algunos de los efectos más característicos del etileno en el crecimiento y en la respuesta al estrés.

1.6.1. El etileno estimula la germinación de las semillas

El etileno favorece la capacidad de germinación de las semillas de numerosas especies, y se ha constatado un aumento de su síntesis durante la ruptura de las cubiertas y la

emergencia de la radícula (véase el Capítulo 27). Además, también promueve la ruptura de la dormición de las semillas, un efecto que parece estar mediado por el balance entre las giberelinas y el ácido abscísico (ABA). En general, la acción del etileno en estos procesos puede ser la de promover el desarrollo de las células, ayudando a generar la fuerza necesaria para la ruptura de las cubiertas de las semillas.

1.6.2. El crecimiento del tallo y la raíz se inhiben por efecto del etileno

El efecto del etileno en las plántulas en crecimiento provoca la denominada «**respuesta triple**», que consiste en la reducción de la elongación, el incremento del desarrollo lateral y el cambio en la orientación del desarrollo, originando hipocótilos más cortos, gruesos, y con el gancho plumular cerrado (Fig. 22-2). Este tipo de estructuras se induce igualmente cuando el crecimiento de las plántulas es obstaculizado mecánicamente, lo que indica que el etileno podría controlar la respuesta de las plantas en dichas condiciones. Esa morfología particular facilita y protege al meristemo apical durante la emergencia de la plántula del suelo. La curvatura del gancho plumular se origina por un crecimiento desigual entre las células de la parte interna y externa de éste. Las células de la zona interna tienen mayor capacidad de síntesis de etileno y menor velocidad de desarrollo que las de la zona externa. La acción del etileno en este proceso está modulada por la luz, y por la síntesis y el transporte de auxinas.

El desarrollo vertical de la raíz también es inhibido por la acción del etileno, a la vez que se incrementa la expansión radial. Este efecto es dependiente de la concentración, ya que con bajas dosis del gas se puede estimular la elongación de la raíz. Aunque las auxinas pueden reproducir el efecto inhibidor del etileno, los estudios con mutantes indican que la acción de aquéllas no se ejerce a través de la estimulación de la síntesis de etileno. Otro efecto característico del etileno en las raíces es la inducción del movimiento helicoidal, posiblemente modulando de forma diferencial el crecimiento de las distintas células de este órgano. En general, el efecto inhibidor del etileno en la elongación del tallo y de la raíz se ejerce a través de un cambio en la orientación de los microtúbulos, que pasan a depositarse de forma longitudinal respecto al eje de crecimiento, en lugar de transversalmente, como ocurre durante el desarrollo normal, lo que origina la expansión radial de las células.

1.6.3. El etileno participa en la diferenciación radicular

El etileno está implicado en la inducción de raíces laterales, adventicias y pelos radiculares. Aunque en cada uno de estos procesos pueden existir mecanismos particulares de diferenciación, el etileno actúa en todos ellos promoviendo el número y el desarrollo de las estructuras. En este caso, su

acción también está mediada por las auxinas o conectada con ellas, y se ha sugerido que en la formación de pelos radiculares puede existir una ruta en la que ambas hormonas actúen coordinadamente, y otra ruta independiente para cada una de ellas. La acción de las hormonas se realizaría promoviendo el desarrollo radial de las células epidérmicas, una vez que se ha producido su diferenciación.

1.6.4. El etileno afecta a la emergencia y al desarrollo de las hojas

En diferentes especies se ha observado que la emergencia de las hojas se asocia a un aumento en la producción de etileno; sin embargo, este gas inhibe el desarrollo de las hojas, y en los mutantes insensibles de *Arabidopsis* las hojas en roseta son más grandes que las de la planta silvestre. La acción del etileno controlando la expansión foliar se ejerce por inhibición del alargamiento celular, más que por un efecto en la división celular, **y parece estar mediado por las giberelinas.**

1.6.5. El etileno promueve el desarrollo de las plantas acuáticas

A diferencia de su efecto en las plantas de hábitat terrestre, el etileno promueve el crecimiento de las plantas adaptadas a ambientes acuáticos. El rápido crecimiento del tallo en estas especies está controlado por la inducción de ACC, debida a la hipoxia, que origina un aumento de la síntesis y la sensibilidad al etileno. Este efecto, además, provoca el descenso de la concentración de ABA y un aumento de giberelinas, lo que se traduce en la estimulación de la elongación del tallo.

1.6.6. La acción del etileno controla las respuestas al estrés

La alteración en condiciones normales del desarrollo, bien por agentes químicos (metales pesados, lluvia ácida, ozono), físicos (heridas, deficiencia hídrica, encharcamiento, radiaciones, altas o bajas temperaturas) o biológicos (insectos, hongos, bacterias o virus) ocasiona, en la mayor parte de los casos, un incremento en la producción de etileno, que puede actuar como una señal común controlando las diferentes respuestas de las plantas frente a dichas situaciones. Aunque los diversos tipos de estrés ambientales pueden inducir respuestas específicas, se ha demostrado que la activación de la ACS y de la ACO son mecanismos comunes a todos ellos y constituyen también las etapas de control de la síntesis de etileno (véase el Capítulo 29).

El aumento en la producción de etileno provocado por las heridas y la **inducción de epinastia** en las hojas fueron los primeros indicios de la implicación de la hormona en los procesos de estrés. El efecto del etileno es, sin embargo, parte

de las diferentes señales inducidas frente a esta situación, ya que otros reguladores, como el ABA y el ácido jasmónico, inducen directa o indirectamente algunas de las respuestas de protección frente a la herida. La epinastia de las hojas es una de las características de ciertas plantas frente al encharcamiento o el déficit hídrico. El etileno modula esta respuesta de forma similar a la del gancho plumular, reduciendo la velocidad de desarrollo de las células de la parte ventral del peciolo respecto a las de la parte dorsal. La estimulación de este proceso, al igual que la abscisión de las hojas inducida por la hidratación después de períodos de sequía (véase el Capítulo 29), se produce mediante el transporte de ACC desde la raíz a las hojas, lo que demuestra que la raíz es el primer sensor de estas situaciones de estrés y produce señales hormonales que originan la respuesta fisiológica en otros tejidos de la planta.

La **infección por patógenos** es otro de los procesos característicos en los que está implicado el etileno. La formación de células necróticas por el ataque de patógenos ocasiona un aumento de la producción de etileno, y la hormona induce, además, la expresión de proteínas relacionadas con la patogénesis. La mayoría de los estudios, sin embargo, no han logrado determinar con exactitud si el etileno es un inductor de la respuesta al patógeno o una de las diferentes respuestas a la infección. El análisis del comportamiento de los mutantes insensibles al etileno de *Arabidopsis* y el tomate ha permitido deducir que algunos componentes de la ruta de transducción del etileno pueden estar implicados en la formación de la herida necrótica por el patógeno, pero que la hormona no tiene un papel esencial en el proceso. Se ha sugerido que la formación de lesiones primarias por el patógeno sería una respuesta independiente del etileno, mientras que el desarrollo de los síntomas sí podría estar mediatizado por la hormona. La acción del etileno en la patogénesis depende de la especie vegetal y del agente patógeno (Broekaert y cols., *Annu Rev. Phytopathol*, 44:393-416, 2006).

En muchas especies, el etileno también es el efector final que regula la abscisión natural de distintos órganos perecederos, mediante la estimulación de las enzimas hidrolíticas de la pared celular (véase Capítulo 28). En *A. thaliana*, la abscisión de los pétalos de las flores, por ejemplo, está controlada por el etileno. La senescencia de las flores del clavel, por otro lado, también está inducida por esta hormona, como se demuestra en experimentos de aplicación de etileno y de inhibidores de su síntesis o de su acción (Fig. 22-4).

1.6.7. La acción del etileno en la maduración del fruto es muy diversa y compleja, y afecta tanto a los frutos climatéricos como a los no climatéricos

La clasificación tradicional entre frutos de maduración climatérica y de maduración no climatérica se basa en la estimulación o no, respectivamente, de la respiración y de la producción de etileno durante este proceso. Sin embargo, en los últimos años se han acumulado pruebas (principalmente

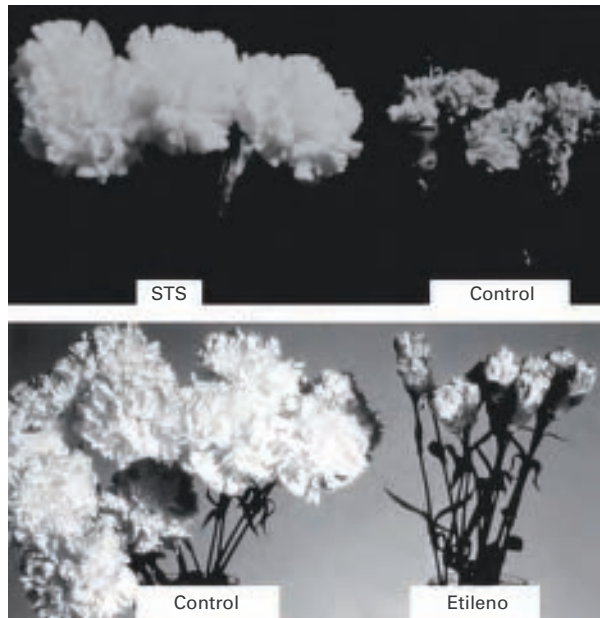


Figura 22-4. El etileno regula la senescencia de las flores de clavel. El tratamiento con el inhibidor de la acción del etileno (tiosulfato de plata, STS) retrasa la senescencia de las flores del clavel (foto superior). La aplicación de etileno, por el contrario, acelera la senescencia de las flores (foto inferior).

de plantas transgénicas y de la utilización del inhibidor de la acción del etileno 1-MCP) que están ayudando a comprender el papel del etileno en la maduración de ambos tipos de frutos.

La identificación molecular de los genes de biosíntesis del etileno ha permitido entender el mecanismo de la autocatálisis durante la maduración de los frutos climatéricos. Este mecanismo únicamente se da durante la maduración de este tipo de frutos, y consiste en la activación de la expresión de una ACC sintasa que es capaz de ser estimulada por el propio etileno. En el tomate, por ejemplo, entre los nueve miembros de la familia de las ACS se ha demostrado que solamente la ACS2 y la ACS4 se expresan al inicio de la maduración, y que son, a su vez, inducibles por el etileno. La expresión y la actividad de la ACO que se induce durante la maduración, es también estimulable por el etileno, como lo es asimismo la actividad inducida por otros estímulos o procesos (heridas, patógenos, etc.). Sin embargo, sólo la ACS que se expresa durante la maduración es inducible por etileno, y este mecanismo es el que confiere especificidad al proceso y constituye el elemento central de la autocatálisis. En los frutos no climatéricos, sin embargo, la acción del etileno activando la ACO también se ha mantenido; pero la ACS suele ser, por lo general, inhibida por el etileno, como se ha demostrado en frutos de fresa o cítricos, y es uno de los elementos que diferencian a estos dos tipos de frutos.

La disponibilidad de mutantes (sobre todo de tomate) y de plantas transgénicas en las que se ha manipulado mediante técnicas biotecnológicas la producción de etileno,

ha sido esencial para identificar nuevos intermediarios en la regulación de la maduración del fruto. En los frutos de melón en los que se ha reducido la síntesis de etileno por inhibición de la actividad ACO (mediante la inserción del gen antisentido de la ACO), se ha demostrado que el etileno es necesario, pero no suficiente, para que se desencadene la maduración del fruto, y que existen factores (posiblemente del desarrollo o ambientales que no dependen del etileno) que son también necesarios para que el fruto adquiera la competencia para madurar. Por tanto, algunos procesos de la señalización del etileno son específicos de la maduración del fruto, y es en ellos en los que parece residir, o a través de los que se controlan, los efectos de la hormona en los diferentes procesos de la maduración. El caso de la mutación *rin* en el tomate es uno de los ejemplos de elementos moleculares que controlan la maduración del fruto. Los frutos de este mutante tienen bloqueada su maduración, pero no por un defecto en la sensibilidad a la hormona, ya que otros tejidos responden con normalidad. Se ha demostrado que la mutación ha afectado a un gen de la familia que contiene cajas MADS, que se induce al inicio de la maduración de forma independiente al etileno. Curiosamente, también existen genes similares en frutos no climatéricos, como la fresa. Aunque las evidencias actuales todavía no son completas y no se conoce toda la secuencia de acontecimientos que intervienen, la concepción del proceso de maduración ha cambiado sustancialmente. Así, la transición hacia los procesos irreversibles que conducen a la maduración del fruto y a su senescencia parece que se inicia por factores que actúan en etapas anteriores a las de síntesis y percepción del etileno, y la hormona sería el elemento que coordina y uniformiza las respuestas posteriores. Dichos factores no se conocen todavía, pero hay pruebas de que están bajo control del desarrollo y del ambiente. Es posible que este tipo de control anterior al etileno esté conservado en los frutos climatéricos y no climatéricos, y que una de las diferencias entre ambos tipos de frutos resida en los procesos que se señalicen o activen a partir de estas etapas.

A pesar de la importancia del etileno en el control de la maduración, su implicación en los diferentes procesos fisiológicos y bioquímicos asociados a la misma es muy compleja y desigual. Así, se ha demostrado que existen procesos de maduración que son dependientes e independientes del etileno, pero tampoco en estos casos existe un comportamiento uniforme, ya que las respuestas pueden ser diferentes y con distintos niveles de concentración en los diversos frutos climatéricos. Por ejemplo, en los frutos de melón se ha demostrado que la maduración de la pulpa no depende del etileno, pero sí la de la piel. En los frutos del tomate, la coloración del fruto se bloquea en los mutantes de la síntesis y percepción del etileno, pero no todos los genes implicados en la síntesis de carotenoides están regulados por el etileno, ni lo están de la misma forma. Además, en el control por el etileno de los procesos que coexisten durante la maduración, se ha demostrado que cada uno de ellos puede tener un diferente umbral de respuesta y de saturación. Estos mecanismos bioquímicos y moleculares permiten controlar de forma

global la duración e intensidad de las múltiples y diferentes transformaciones que tienen lugar en los frutos durante la maduración.

En cambio, el hecho de que los frutos no climatéricos no experimenten un aumento significativo en la producción de etileno durante la maduración, y que generalmente presenten menores concentraciones del gas, no significa que la hormona no esté implicada en el proceso. La utilización del inhibidor de la acción del etileno, 1-MCP, está corroborando resultados anteriores, y en general se admite que el etileno controla parte de los procesos que tienen lugar durante la maduración de los frutos no climatéricos. En la uva se ha demostrado que la supresión de la acción del etileno reduce la síntesis de antocianos y la acidez, lo que indica que estos procesos están regulados por el etileno o que responden a concentraciones muy reducidas de la hormona. De manera análoga, en frutos cítricos, el etileno parece controlar la degradación de clorofila y la síntesis de carotenoides que acompañan a la coloración del fruto, pero su acción parece que se ejerce en un momento concreto y controlando la velocidad del proceso. A pesar de que no se han podido relacionar los cambios en la expresión de los genes de los receptores del etileno con las transformaciones de la maduración, se admite que estos procesos pueden ser controlados por cambios en la sensibilidad al etileno.

2. ÁCIDO ABSCÍSIKO

2.1. El ABA es un regulador esencial del desarrollo, que en un principio se relacionó con procesos de latencia y abscisión

El ácido abscísico (ABA) es un regulador esencial del crecimiento de las plantas (Fig. 22-5) que se encuentra en pequeñas cantidades en todos los tejidos vegetales. También puede estar presente en algunos musgos, algas verdes, cianobacterias y varios hongos fitopatógenos. En 1963, Addicott y cols., aislaron dos compuestos responsables de la abscisión de frutos del algodón («abscisín I» y «abscisín II»), siendo el segundo de ellos el más activo. En el mismo año, otros dos grupos aislaron los compuestos «dormín», que causaba dormición en las plantas leñosas, y «lupine», responsable de la abscisión en las flores de *Lupinus luteus*. Ambos compuestos eran iguales al «abscisín II» (Fig. 22-6), y se acordó denominarlos ácido abscísico.

2.2. El ABA se sintetiza a partir de epoxy-carotenoides y se cataboliza mediante oxidación y conjugación

El ABA ($C_{15}H_{20}O_4$) es un sesquiterpeno apocarotenoide, que se sintetiza en los cloroplastos y otros plastidios mediante la escisión oxidativa de los epoxycarotenoides neoxantina y



Figura 22-5. Mutante de tomate *flacca* deficiente en ABA. Se muestra una planta adulta y un detalle de la pronunciada curvatura de los pecíolos y de las nervaduras de las hojas.

violaxantina. Su forma natural es (+)-(S)-ABA. Su fotoisomerización produce, en una proporción de aproximadamente el 50 %, los **isómeros *cis* y *trans***, este último biológicamente inactivo.

Las reacciones iniciales que intervienen en la síntesis del ABA son idénticas a las de otros isoprenoides, tales como las giberelinas, los esteroides y los carotenoides (véase el Capítulo 20). En principio, se propusieron dos rutas diferentes de biosíntesis: una **ruta directa** desde el ácido mevalónico (MVA), que implica la ciclación y la oxidación de un precursor C15, y una **ruta indirecta**, vía escisión oxidativa de un carotenoide oxigenado. La utilización de mutantes con la ruta de biosíntesis de carotenoides bloqueada en sus primeras etapas y de un inhibidor específico de la biosíntesis de carotenoides (fluridona) ha permitido finalmente dilucidar la ruta operativa del ABA en las plantas. Los resultados de estas experiencias y el hecho de que en hojas etioladas tratadas con ese inhibidor y sometidas a estrés hídrico se obtenga una relación estequiométrica de uno a uno entre los descensos de violaxantina y neoxantina, así como el incremento concomitante del ABA y sus metabolitos, son pruebas concluyentes de que solamente la ruta *indirecta* (Fig. 22-6) funciona en las plantas, y de que los epoxycarotenoides son los precursores del ABA.

Las xantofilas zeaxantina, anteraxantina, neoxantina y violaxantina son los precursores de la xantoxina, que se oxida a ABA vía aldehído abscísico. Como consecuencia del desdoblamiento de las xantofilas, se forman la xantoxina *cis* y *trans*, pero únicamente la *cis* se convierte en ABA. Por

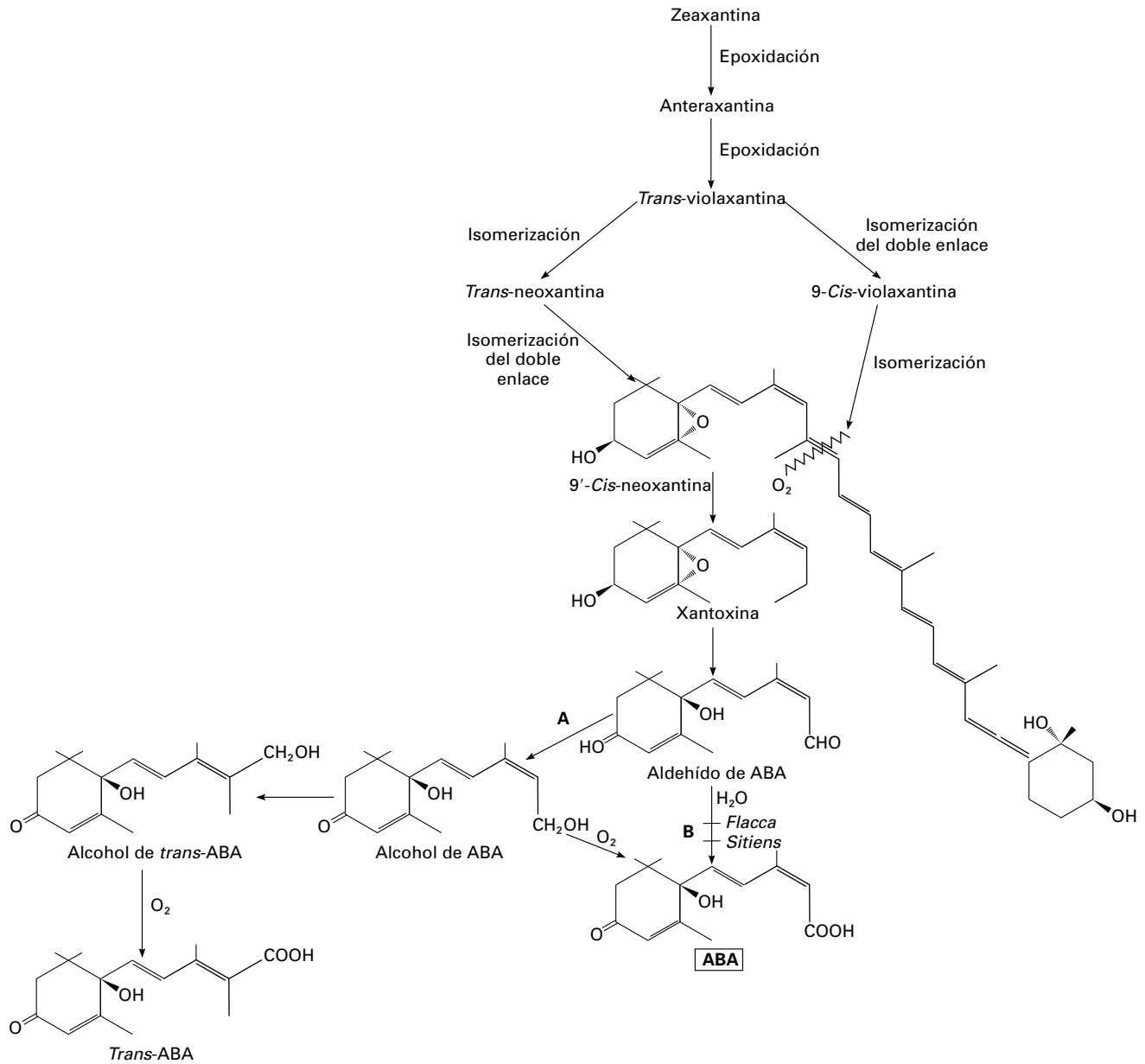


Figura 22-6. Ruta de biosíntesis del ABA a partir de la zeaxantina. La ruta alternativa se inicia a partir de la etapa (A). En la etapa (B) se muestra la conversión biosintética bloqueada en los mutantes *flacca* y *sitiens* del tomate.

tanto, en el momento de la ruptura las moléculas de xantofila deben estar en configuración 9-*cis*. La utilización de los mutantes de tomate deficientes en ABA, *flacca* (Fig. 22-5) y *sitiens*, en los que la oxidación del aldehído a ABA está bloqueada, ha puesto de manifiesto que existe una ruta alternativa menor, por la que el alcohol de ABA y el alcohol de t-ABA se convierten en ABA y t-ABA por acción de una monooxigenasa dependiente del sistema del citocromo P-450.

La regulación de la biosíntesis de esta hormona no se ha caracterizado, aunque en estudios de respuesta al estrés hídrico se ha sugerido que las etapas limitantes de su biosíntesis son, probablemente, el desdoblamiento de la xantofila para producir xantoxina y el cambio de isómero de

la configuración *trans* a la 9'-*cis* (Fig. 22-6). La utilización de mutantes deficientes en ABA ha puesto de manifiesto, además, que la 9-*cis*-epoxicarotenoide dioxigenasa (NCED) puede ser una de las enzimas claves en la regulación de la biosíntesis del ABA.

El catabolismo del ABA tiene lugar fundamentalmente a través de la oxidación y la conjugación del ABA (Fig. 22-7). El ABA puede metabolizarse por la enzima ABA 8'-hidroxilasa, que es inducida por la propia hormona. Una monooxigenasa dependiente del sistema del citocromo P-450 cataliza la **hidroxilación del ABA** y origina un intermediario inestable que se convierte en ácido faseico (PA). Éste, a su vez, puede reducirse en ácido dihidrofaseico (DPA). El éster glicosídico

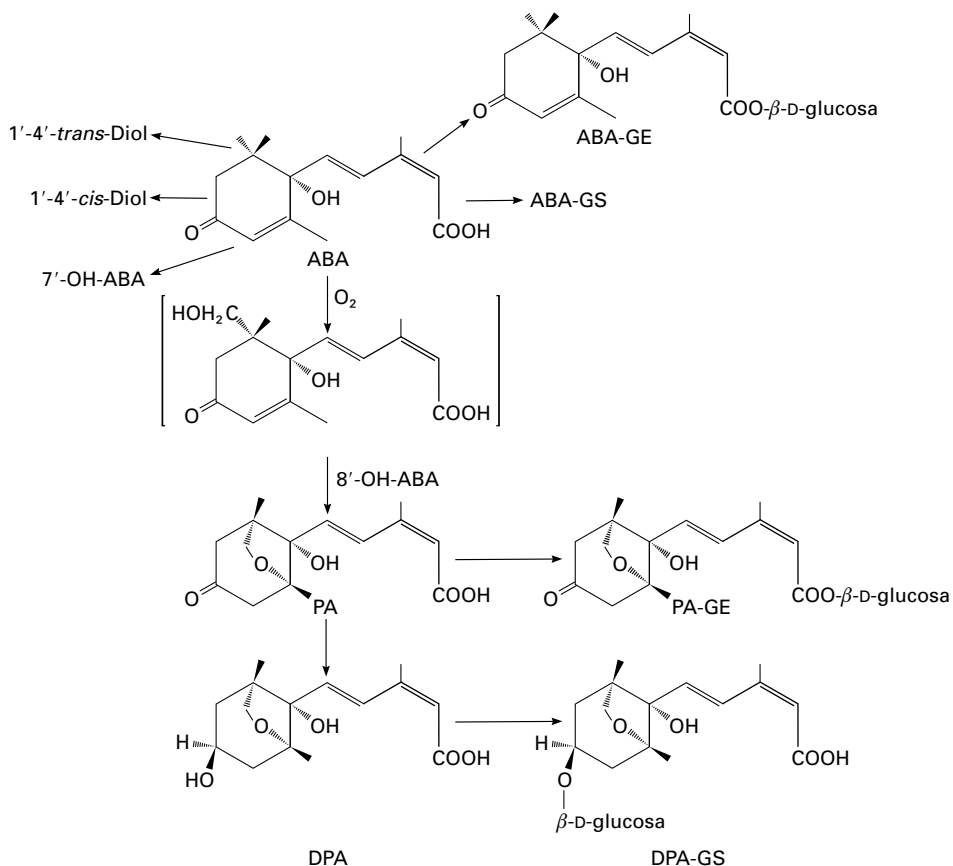


Figura 22-7. Catabolismo del (+)-S-ABA. PA: ácido faseico; DPA: ácido dihidrofaseico; PAGA: éster glicosídico de PA; ABAGE: éster glicosídico de ABA; ABA-GS: 1' glicosido de ABA; DPA-GS: glicosido de DPA.

de ABA (ABA-GE) es uno de los metabolitos conjugados más abundantes. En general, estos metabolitos se almacenan en la vacuola, donde no están expuestos a hidrólisis.

El descenso rápido del ABA que se produce durante la rehidratación y la recuperación del estrés hídrico coincide con un incremento de PA. Este proceso puede ser inhibido con un inhibidor de las monooxigenasas dependientes del sistema del citocromo P-450 en presencia de oxígeno. En cambio, el ABA-GE no aumenta después de la rehidratación.

2.3. El pH de los distintos compartimientos extracelulares puede controlar la distribución del ABA

El ABA es un ácido débil ($pK_a = 4.75$). Las biomembranas son permeables a la forma protonada. Por tanto, la acumulación de ABA se producirá en los compartimientos celulares alcalinos y dependerá de los valores relativos de pH de los compartimientos intracelulares y extracelulares. En respuesta al estrés, los niveles de ABA aumentan antes en el apoplasto que en cualquier otro lugar de la hoja, ya que se reduce el gradiente de pH entre el citoplasma y el apoplasto y, en consecuencia, el flujo del ABA desde la célula se promueve.

2.4. Las funciones fisiológicas del ABA son muy diversas

El ABA presenta efectos fisiológicos implicados en respuestas al estrés y en procesos del desarrollo.

2.4.1. El ABA aumenta por el estrés hídrico e induce el cierre de los estomas

En las plantas superiores, una de las respuestas características frente al **estrés hídrico** es el incremento en el contenido de ABA. La función del ABA en la protección de las plantas frente a este estrés es doble: reduce la transpiración e induce la síntesis de proteínas que favorecen la resistencia a la desecación. Se ha demostrado que la aplicación de ABA a hojas de distintas especies provoca el cierre de los estomas, y que éstos permanecen cerrados, tanto con luz como en la oscuridad, durante varios días, dependiendo, probablemente, del tiempo necesario para metabolizar el ABA.

El ABA induce el **cierre de los estomas** inhibiendo una H⁺-ATPasa de la membrana plasmática de las células guarda. Esta enzima transfiere protones fuera de las células guarda y favorece la entrada y la acumulación rápida de K⁺, lo que

fomenta la entrada de agua y la apertura de los estomas. Sin embargo, cuando el ABA actúa en la superficie exterior de la membrana plasmática de las células guarda, este proceso se invierte, de forma que cesa el flujo de K^+ al interior, se reduce la turgencia y, finalmente, los estomas se cierran.

El ABA puede sintetizarse en las células guarda o puede ser el resultado de la redistribución del ABA dentro de la hoja en respuesta al estrés hídrico. Debido a que las células guarda no están conectadas con sus células vecinas mediante plasmodesmos, el ABA llega a ellas vía apoplasto. Esta hormona aumenta las raíces y en las hojas, separadas o no de la planta, en respuesta al déficit hídrico. El ABA formado en las raíces se transporta a través del xilema a las hojas, donde ocasiona el cierre de los estomas, aunque no se haya producido ningún cambio en el estado hídrico de las hojas. Así, el aporte de ABA de las raíces, que proviene fundamentalmente de los ápices radiculares, actúa como una señal mediante la cual las plantas regulan su estado hídrico en los suelos secos para adaptar su funcionamiento antes de que el estrés sea más intenso.

2.4.2. El ABA puede ser un mecanismo de defensa frente a otros tipos de estrés

El ABA se incrementa también en respuesta a otros tipos de estrés, como las lesiones, y el estrés salino y térmico. Todos ellos pueden causar deshidratación, que podría ser la señal común que indujera la transcripción de los genes responsables de la síntesis de la hormona (véase el Capítulo 29). Aunque el ABA regula la expresión de genes que confieren protección frente a la deshidratación, no es el único regulador implicado en la respuesta al estrés hídrico, ya que muchos de los cambios inducidos por la sequía no se inducen cuando se aplica ABA de forma exógena.

Los mutantes de *Arabidopsis* han puesto de manifiesto que la deficiencia de ABA reduce la **tolerancia a la congelación**. Del mismo modo, un mutante insensible a esta hormona (*abi1*) es incapaz de expresar los genes regulados por el frío como respuesta al ABA, aunque puede inducir su transcripción cuando se expone a este estrés. Como consecuencia del **estrés salino**, el ABA se incrementa especialmente en las raíces. La salinidad induce la formación de varias proteínas, y en especial de una de bajo peso molecular denominada «osmotina», que puede ser inducida, a su vez, por el ABA. Además, el ABA o la sal inducen genes que codifican **proteínas LEA** (del inglés, *late embryogenesis-abundant*), muy abundantes al final de la embriogénesis, a través de rutas separadas (véase el Capítulo 27). Por tanto, el ABA parece que no es el único mecanismo de respuesta frente al estrés salino.

El incremento del ABA en respuesta a las **heridas** es **sistémico**, es decir, se produce incluso en los tejidos no lesionados. Al mismo tiempo, se transcriben sistémicamente a través de toda la planta los genes del inhibidor II de las proteasas, *pin2*, hecho que no ocurre en un mutante deficiente en ABA. Estos genes no se transcriben en las mismas plantas al ser sometidas a un déficit hídrico, a pesar de que el ABA se incrementa hasta 10 veces. Parece claro, pues, que se requieren otros factores,

además del ABA, en la respuesta a las lesiones. El ácido jasmónico induce algunos genes que también se expresan mediante el ABA, entre ellos los *pin2*, lo que indica que las rutas de estos dos reguladores del crecimiento pueden interactuar modulando elementos comunes en respuesta a la herida.

2.4.3. El ABA controla el desarrollo embrionario de las semillas

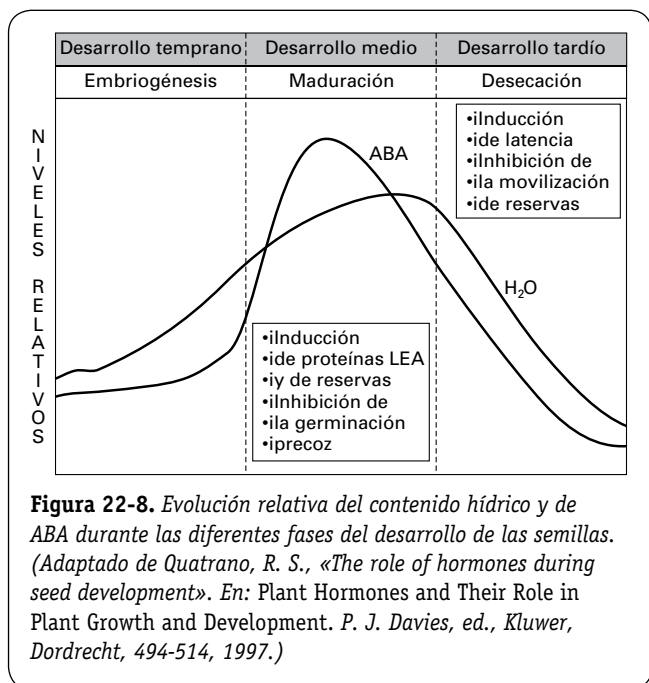
El desarrollo embrionario es dependiente del ABA. Este proceso se puede dividir en tres etapas: 1) mitosis y diferenciación celular; 2) expansión celular y acumulación de reservas (proteínas, grasas, almidón), y 3) maduración, proceso en el que las semillas se secan y pasan a un estado de dormición (Capítulo 27).

Una cuestión interesante es por qué los embriones no presentan **viviparismo**, es decir, por qué no germinan o pueden no germinar precozmente en frutos húmedos en la planta madre. Aunque en las semillas existen varios mecanismos de latencia, hay diversos datos que indican que el ABA desempeña un papel importante en este proceso: 1) correlación entre las concentraciones bajas de ABA y la germinación precoz en cultivos de embriones; 2) el ABA exógeno impide la germinación de los embriones inmaduros de varias especies cuando se cultivan *in vitro*; 3) cuanto más altos son los niveles de ABA endógenos, mayor es la sensibilidad al ABA, y 4) mutantes deficientes en ABA presentan una fase de latencia más corta o germinan, incluso, cuando se encuentran en el fruto. Además, la aplicación de un inhibidor de la biosíntesis del ABA (fluoridona) a semillas en desarrollo previene la latencia del embrión. Por tanto, el aumento de los niveles endógenos de ABA al final de la embriogénesis está claramente relacionado con el inicio de la maduración y con la inhibición de la germinación precoz (Fig. 22-8). El ABA también reprime la expresión de numerosos genes específicos de la germinación y puede originar o acelerar la formación de grupos especiales de proteínas de reserva de la semilla en cultivos de embriones. Este hecho indica que el incremento normal de los niveles de ABA al principio y durante la etapa media del desarrollo de la semilla controla la acumulación de dichas proteínas de reserva. El efecto osmótico es también un factor importante en la latencia y el depósito de reservas en la semilla, aunque no está directamente mediado por el aumento de ABA.

Otra función que se ha atribuido al ABA en la embriogénesis es la regulación de la síntesis de proteínas implicadas en la **tolerancia a la desecación**. En los estadios medios y avanzados del desarrollo de la semilla se inducen genes que codifican proteínas LEA. Esas proteínas contienen escasos residuos hidrófobos y reducen los daños que se producen en el citoplasma durante la desecación.

2.4.4. El ABA inhibe el desarrollo vegetativo

La respuesta más común de las células al ABA es la **inhibición del crecimiento**. La dormición o latencia de hojas



y yemas se ha relacionado con la acumulación de ABA; sin embargo, el efecto de la hormona parece estar directamente relacionado con la inhibición del desarrollo, pues no induce otras características relacionadas con la latencia de las yemas. Este efecto del ABA no es universal, ya que no se da en todas las especies, probablemente debido a que otros compuestos, especialmente las giberelinas, podrían actuar contrarrestando la acción del ABA en este proceso.

El ABA ejerce efectos diferentes sobre el crecimiento del tallo y la raíz. El déficit hídrico moderado incrementa la elongación de la raíz, mientras que cuando la sequía es intensa, la inhibe. La inhibición del crecimiento del tallo es consecuencia del efecto del ABA sobre la extensibilidad de la pared celular.

2.4.5. La abscisión puede estar mediatizada por el ABA

Como se explicó anteriormente, el etileno es responsable de la inducción de las enzimas implicadas en la degradación de la lámina media y la pared celular y, por consiguiente, en la abscisión. Sin embargo, parece que el ABA ejerce un papel estimulador a través de la inducción de la síntesis de etileno.

2.4.6. El ABA interviene en la interacción planta-patógeno

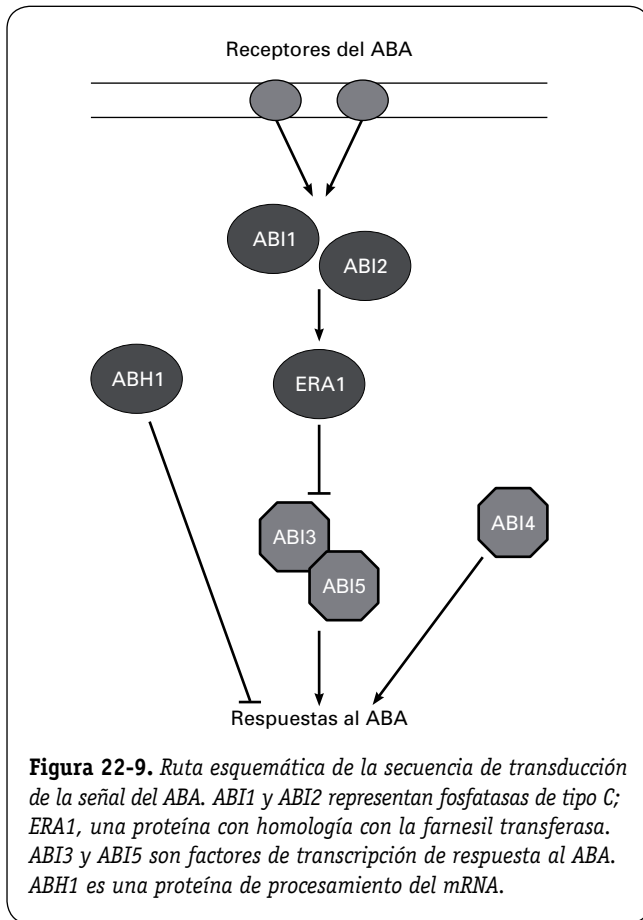
Con pocas excepciones, se considera que el ABA afecta negativamente a la resistencia de las plantas frente al ataque de los patógenos. Este efecto parece ser debido a la interferencia del ABA con la señalización de estreses bióticos que se

regulan por el ácido salicílico, el ácido jasmónico, el etileno, y a un efecto adicional del ABA compartiendo componentes de señalización del estrés. Sin embargo, el ABA también puede inducir respuestas que aumenten la tolerancia a los patógenos, siendo la deposición de callosa uno de los pocos ejemplos positivos a este respecto (Mauchn-Mani y Mauchn, *Current Op. Plant Biol.*, 8:409-411, 2005).

2.5. El ABA podría actuar a través de múltiples mecanismos de acción

Los diversos efectos fisiológicos mediados por el ABA indican que éste posee múltiples mecanismos de acción. La identificación de la proteína de unión a RNA, **FCA** (del inglés, *flowering time control locus A*) como un **receptor** del ABA ha puesto de manifiesto que algunas proteínas de unión a RNA podrían servir como receptores o ser intermediarios en la ruta completa de la señal de la hormona. La FCA es un receptor específico de las plantas que promueve la floración al prevenir la acumulación de un factor de transcripción FLC, que es un potente inhibidor de la transición floral. La FCA requiere una segunda proteína FY (del inglés, *flowering locus Y*), que se une a los dominios triptófano-triptófano de la FCA. Aunque la FCA se ha localizado fundamentalmente en el núcleo, no se puede descartar que ejerza alguna función en el citosol o en la membrana plasmática (Razem y cols., *Nature*, 439:290-294, 2006). Asimismo, se ha caracterizado un receptor del ABA, correspondiente a una subunidad Mg-quelatasa, denominado ABAR/CHLH implicado en la germinación de semillas, y en el crecimiento y el movimiento de los estomas. Dicha proteína es ubicua y se expresa tanto en los tejidos fotosintéticos como en los no fotosintéticos, lo que indica que debe ser capaz de percibir la señal del ABA en toda la planta (Shen y cols., *Nature*, 443:823-826, 2006).

El mecanismo de acción del ABA no se conoce con exactitud, aunque se ha propuesto un modelo complejo para la ruta de transducción de la señal que cubriría tanto las respuestas genómicas (lentas) al ABA como las no genómicas (rápidas). La mayoría de los elementos implicados en la transducción de la señal del ABA se han identificado en mutantes de *Arabidopsis*. Estos mutantes tienen alterada la sensibilidad al ABA durante la germinación de las semillas, y entre ellos hay tanto mutantes de reducida sensibilidad (*abi1*, *abi2*, *abi3*, *abi4*, *abi5*), como mutantes hipersensibles a la hormona (*era1*, *fry1*, *abh1*, *sda1*, *hyl1*). Diferentes estudios genéticos han permitido determinar el orden de acción de algunos de estos elementos y, al mismo tiempo, se han caracterizado los genes y las proteínas correspondientes. A pesar de que la cadena de señalización es todavía fragmentaria, se ha podido establecer un modelo en el que encajan muchas de las evidencias genéticas y moleculares (Fig. 22-9). En las primeras etapas de la señalización del ABA estarían implicadas diferentes fosfatasa tipo C (*ABI1* y *ABI2*); posteriormente se localiza una actividad farnesil transferasa (*ERA1*) que modularía la intensidad de la respuesta. Estas señales reprimen las etapas posteriores de la ruta, en las que



se ha comprobado que están involucrados diferentes factores de transcripción que interactúan entre sí, en el caso de ABI3 y ABI5, e indirectamente con ABI4. Por otro lado, también se ha comprobado que existe una proteína de procesamiento del mRNA (ABH1) que interviene en la represión de la señal, pero por una vía independiente de la mencionada anteriormente. Todos estos resultados muestran que los diversos efectos regulados por el ABA pueden estar controlados, al menos parcialmente, por diferentes interacciones entre las proteínas implicadas. Dado que los mutantes y las proteínas afectadas se han identificado básicamente en la germinación de las semillas, es evidente que deben existir otros elementos diferentes que intervengan en otros procesos fisiológicos en los que participa el ABA.

Los flujos de calcio intracelular constituyen un segundo mensajero en la transmisión de la señal del ABA en el caso del **cierre estomático**. En las células guarda se ha demostrado que el ABA incrementa la concentración de Ca^{2+} citoplasmático $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cit}}$. También se ha probado que la adición de inositol trifosfato (IP3) incrementa la $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cit}}$ y cierra los estomas. Asimismo, el ABA estimula cambios en la $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cit}}$ de otros tejidos, por ejemplo en las raíces y coleóptilos del maíz o en protoplastos de la capa de aleurona de la cebada. Por otra parte, se ha puesto de manifiesto que diversos mensajeros intracelulares derivados de los fosfolípidos, como las fosfolipasas C y D (PLC, PLD) están implicados en distintas

respuestas al ABA, como el cierre estomático y la germinación. El pH y el estado redox de las células son también cruciales en la regulación de la transducción de la señal del ABA. En los últimos años se han identificado numerosos reguladores de la transducción de la señal del ABA, como las proteínas G, las fosfatasa y las quinasas dependientes del calcio.

El análisis del transcriptoma en *A. thaliana* ha puesto de manifiesto que el ABA ejerce un notable efecto en la expresión génica, ya que afecta a reguladores transcripcionales como VIVIPAROUS1 (VP1)/ABI3 y a factores de transcripción tipo bZIP y APETALA2 (AP2). Por otra parte, el ABA puede controlar procesos postranscripcionales tales como la maduración del RNA y la estabilidad de transcritos y proteínas. Así, se ha demostrado que el ABA regula negativamente la expresión de proteínas ribosomales e induce al mismo tiempo genes implicados en la proteólisis.

3. OTROS REGULADORES DEL DESARROLLO

En este apartado se incluyen otros reguladores distintos de las hormonas «clásicas» (auxinas, giberelinas, citoquininas, ABA y etileno), pero que han adquirido una especial relevancia en los últimos años por sus efectos en el desarrollo de las plantas. Aunque su clasificación como hormonas puede ser cuestionada, este grupo de sustancias, heterogéneas en su estructura química, puede presentar algunas características comunes y ejercer efectos importantes y específicos en el crecimiento y el desarrollo de las plantas.

3.1. Las poliaminas parecen actuar como reguladores del desarrollo

Las poliaminas son moléculas policatiónicas presentes en la mayoría de los seres vivos, tanto del reino animal como del reino vegetal. Aunque su presencia en las plantas está documentada desde hace años, su naturaleza como reguladores del desarrollo todavía se cuestiona, sobre todo por su alta concentración endógena en la mayoría de los tejidos, muy superior a la del resto de los reguladores. Se ha sugerido que podrían actuar como segundos mensajeros, posiblemente transmitiendo la señal de otras hormonas, pero no existen datos concluyentes de esta acción. Sus efectos, sin embargo, afectan a numerosos aspectos del crecimiento, el desarrollo, la senescencia y las situaciones de estrés.

3.1.1. La biosíntesis de poliaminas se puede efectuar por dos rutas distintas

Las principales poliaminas libres en las plantas superiores son la diamina **putrescina**, la triamina **espermidina** y la tetraamina **espermina**. Las poliaminas pueden conjugarse con numerosos compuestos del metabolismo secundario y, en muchas ocasiones, su concentración puede exceder a la de poliaminas libres. También pueden unirse con ácidos nu-

cleicos, fosfolípidos y proteínas; una de las funciones que se les ha atribuido es la de estabilizar la estructura del DNA al interactuar con los restos de P. Su ruta de biosíntesis se representa en la Figura 22-10. La putrescina puede formarse directamente desde la ornitina, por la enzima ornitina descarboxilasa, o indirectamente a través de la arginina, por la arginina descarboxilasa. La preferencia de una u otra ruta para la síntesis de putrescina depende de la especie vegetal o del proceso de desarrollo. Así, en los tejidos en estado de desarrollo temprano y en los que predomina la división celular, la **ornitina descarboxilasa (ODC)** es la actividad preponderante, mientras que la actividad **arginina descarboxilasa (ADC)** es la mayoritaria en los procesos de elongación, en la senescencia y en situaciones de estrés. La disponibilidad de inhibidores específicos de cada ruta (diflurometilarginina, DFMA, para la arginina descarboxilasa, y diflurometilornitina, DFMO, para la ornitina descarboxilasa) puede ayudar a determinar la actividad implicada en cada proceso. La síntesis de espermidina y espermina se realiza a partir de la putrescina y la espermidina, respectivamente, mediante la transferencia de grupos aminopropilo desde la SAM, que es un intermediario metabólico que participa en otras rutas, como la de síntesis del etileno. La síntesis de SAM, sin embargo, no parece ser un paso limitante para la síntesis de poliaminas o en la interacción entre éstas y el etileno. Los genes que codifican la ODC y la ADC se han clonado y caracterizado en numerosas especies, y en la mayoría de los casos pertenecen a pequeñas familias multigénicas que, aunque pueden mostrar una considerable homología, son inducidos de forma específica en cada tejido o por los diferentes inductores. Además, la expresión de estos genes puede estar regulada por las propias poliaminas, como la ODC, que está bajo control negativo de las tres poliaminas mayoritarias. En algunos tejidos vegetales se han encontrado

otras poliaminas, como la cadaverina, pero su presencia y distribución son muy limitadas.

3.1.2. Las poliaminas participan en múltiples procesos fisiológicos

La acción de las poliaminas en las plantas es muy variada. Sus efectos fisiológicos se han estudiado con mayor profundidad, sobre todo en procesos de división y diferenciación celular, de senescencia, y de respuesta al estrés. La regulación de las concentraciones de poliaminas presenta una clara homeostasis y compensación celular, lo que ha dificultado que se conozca la implicación directa de cada poliamina en los diferentes procesos. Este mecanismo se ha observado incluso en plantas transgénicas en las que manipulando los niveles endógenos de una determinada poliamina se modifican las concentraciones de las otras. El uso de mutantes afectados en la síntesis o en la sensibilidad a las poliaminas, así como de plantas transgénicas, ha sido de gran ayuda para comprender muchos de los procesos en los que participan estos reguladores. En general, se puede afirmar que la putrescina y la cadaverina mimetizan la acción de las auxinas y las giberelinas, mientras que la espermina y la espermidina mimetizan la de las citoquininas. Al mismo tiempo, el metabolismo y la acción de las poliaminas se ven intensamente afectados por otros reguladores del desarrollo, y en general la aplicación de hormonas que estimulan el desarrollo (auxinas, citoquininas y giberelinas) incrementa el contenido de poliaminas.

3.1.2.1. Las poliaminas intervienen en la morfogénesis y la división celular

Las poliaminas están implicadas en numerosos procesos de diferenciación celular, y se ha sugerido que pueden ser marcadores bioquímicos esenciales en la morfogénesis. Se ha demostrado que la espermidina tiene una acción importante en la formación de flores, y que es crucial en determinadas etapas del desarrollo. Por otro lado, la putrescina es un buen marcador de la formación de raíces, pero se ha demostrado que niveles elevados de esta poliamina pueden ser letales en las células vegetales. No obstante, la mayoría de los estudios se han realizado en sistemas *in vitro*, y su implicación *in vivo* es todavía cuestionable. En general, se admite que las poliaminas no parecen estar implicadas en la iniciación morfogénica, sino que actuarían en etapas más avanzadas, de división y diferenciación celulares rápidas.

En otros procesos del desarrollo, como el crecimiento del fruto o la elongación del tallo, también se ha probado el papel estimulador de las poliaminas. Las correlaciones encontradas indican, de nuevo, que en los procesos en los que se induce una rápida división celular (incluso dependientes de otras hormonas) la síntesis de poliaminas se incrementa, especialmente de espermina y espermidina, que parecen ser esenciales para el desarrollo de tales procesos.

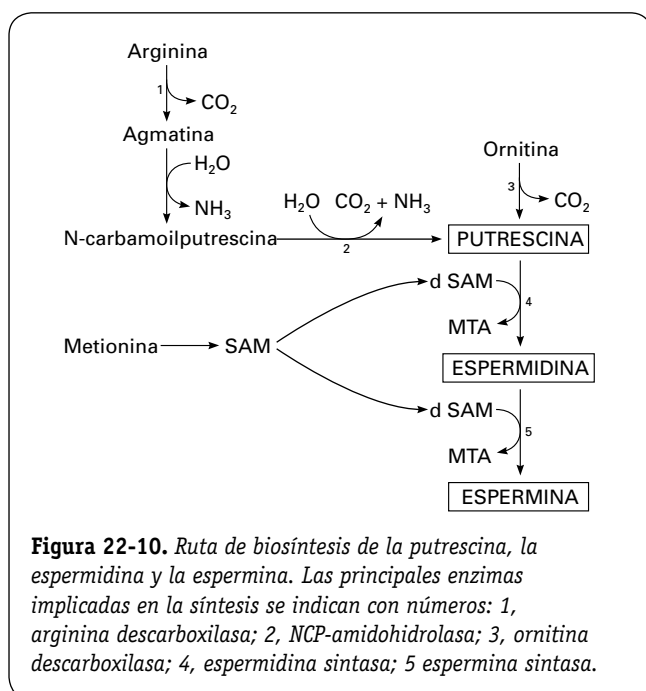


Figura 22-10. Ruta de biosíntesis de la putrescina, la espermidina y la espermina. Las principales enzimas implicadas en la síntesis se indican con números: 1, arginina descarboxilasa; 2, NCP-amidohidrolasa; 3, ornitina descarboxilasa; 4, espermidina sintasa; 5, espermina sintasa.

3.1.2.2. Las poliaminas también están implicadas en la senescencia y en las respuestas al estrés

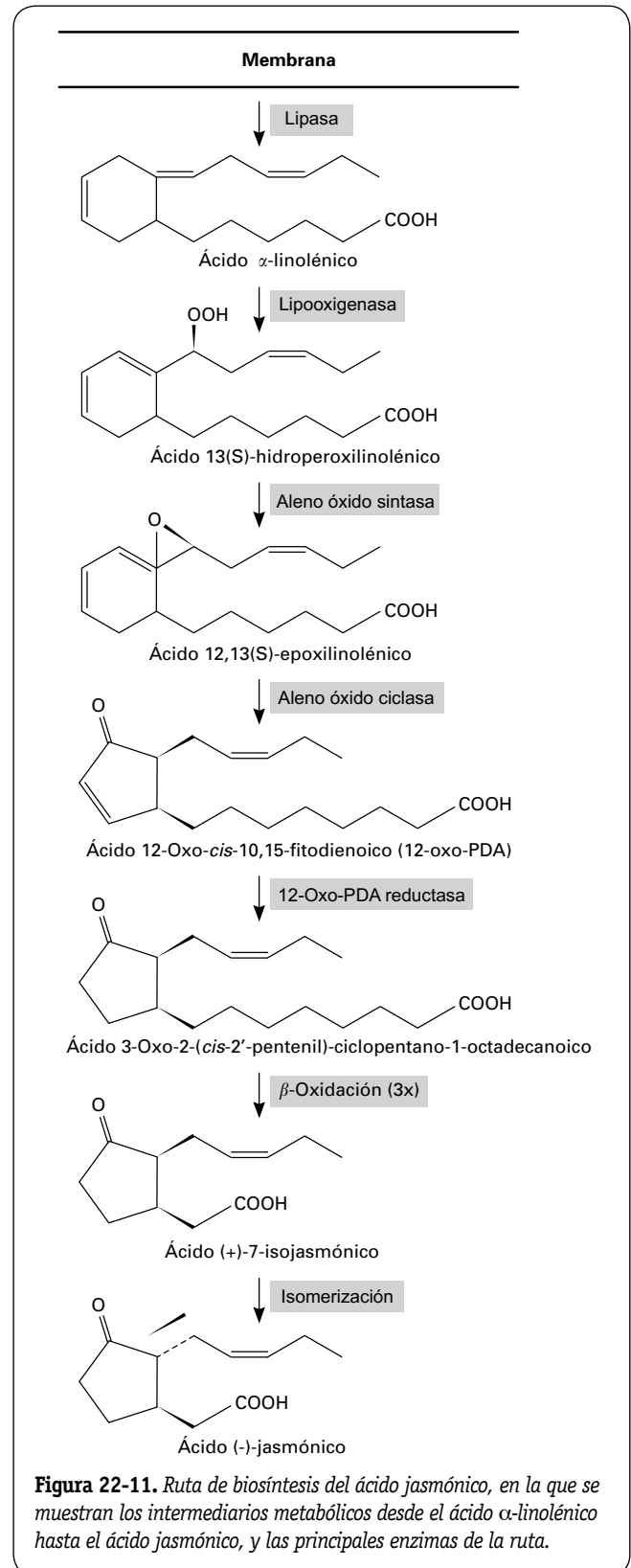
Las poliaminas parecen inhibir o retrasar la mayor parte de los procesos metabólicos asociados a la **senescencia** de los tejidos (degradación de clorofila, de ácidos nucleicos y proteólisis) en un gran número de especies. Durante la senescencia de las hojas, se han encontrado correlaciones que sugieren que las poliaminas están implicadas en la regulación de este proceso. En frutos de numerosas especies, de comportamiento tanto climatérico como no climatérico, se han obtenido pruebas de que las poliaminas retrasan la maduración. En frutos de plantas transgénicas de tomate en las que se incrementó la concentración de espermina y espermidina, aumentaron los niveles de diferentes componentes nutricionales y se prolongó la maduración y la vida comercial. Los frutos con mayores niveles de poliaminas fueron los que experimentaron mayor producción de etileno, lo que demuestra que la disponibilidad de precursores (SAM) no es limitante en la biosíntesis de poliaminas. Por otro lado, los tratamientos que prolongan la conservación o en los que se evitan las lesiones por frío o por heridas, aumentan las poliaminas de forma proporcional al número de cargas positivas. Estos resultados sugieren que el efecto antisenescente de estas moléculas puede estar relacionado con su naturaleza policatiónica y con su capacidad para unirse con otras macromoléculas y estabilizar las membranas celulares.

Los diferentes tipos de **estrés ambiental** (deficiencia nutricional, bajas y altas temperaturas, salinidad, luz ultravioleta) inducen un incremento del contenido de poliaminas. La putrescina y la actividad arginina descarboxilasa experimentan la mayor estimulación en estas condiciones, aunque en determinadas circunstancias también pueden incrementarse la espermina y la espermidina. Los mutantes alterados en la síntesis y la sensibilidad a las poliaminas, o las plantas transgénicas con niveles alterados de poliaminas están proporcionando pruebas de que las poliaminas, más que ser una consecuencia del estrés, participan en los mecanismos de protección desarrollados por las plantas frente a éste. La acción antisenescente de las poliaminas también se ha relacionado con la capacidad para secuestrar radicales libres. Así, las poliaminas pueden inducir la expresión de genes de enzimas antioxidantes y utilizar el peróxido de hidrógeno como molécula señalizadora del estrés. Por otro lado, sus efectos también se relacionan con su capacidad para unirse a proteínas y ácidos nucleicos, protegiéndolos de la degradación y ayudando a mantener su configuración estable durante la situación de estrés.

3.2. El ácido jasmónico participa en diferentes procesos del desarrollo y de respuesta de las plantas al estrés

El ácido jasmónico (AJ) y el jasmonato de metilo (MeJA) están ampliamente distribuidos en las plantas. Además, el AJ se ha identificado en hongos y musgos. Se sintetiza en

las membranas a partir del ácido linolénico, un ácido graso poliinsaturado C18, en reacciones catalizadas por enzimas con propiedades similares a las de las enzimas de tipo lipasas implicadas en el metabolismo de los ácidos grasos en los



mamíferos (Fig. 22-11). Enzimas claves en la ruta biosintética de este compuesto son la lipooxigenasa, la aleno óxido sintasa y la aleno óxido ciclaza, que dan lugar a la formación del ácido 12-oxo-*cis*-10,15-fitodienoico (12-oxo-PDA), un derivado de la ciclopentenona. A su vez, éste es reducido por la 12-oxo-reductasa originando la formación del ácido 3-oxo-2-(*cis*-2'-pentenil)ciclopentano-1-octanoico, que se convierte a (+)-7-isojasmónico a través de tres rondas de β -oxidación. Éste se convierte a (-)-AJ para dar lugar, finalmente, a la formación de MeJA. Aunque el ácido libre predomina en la mayoría de las especies vegetales, el metil éster es volátil, por lo que se ha propuesto que puede actuar como una señal gaseosa que facilitaría la comunicación entre las distintas partes de la planta.

Tanto el AJ como el MeJA pueden promover la senescencia y la floración, y actuar como **reguladores del crecimiento**. Se ha demostrado que las lesiones, el déficit hídrico y los inductores obtenidos de la pared celular de los hongos pueden originar la acumulación de AJ/MeJA en las plantas, lo que indica que el jasmonato tiene, además, un papel de defensa en las plantas. Se ha comprobado que estos compuestos pueden modular muchos aspectos del desarrollo de las plantas, como la maduración del fruto, la viabilidad del polen, el crecimiento de la raíz y la curvatura de los zarcillos y también la resistencia de las plantas al ataque de insectos y patógenos. El jasmonato activa genes implicados en la resistencia de las plantas frente a patógenos, insectos y genes que codifican proteínas de reserva. Sin embargo, reprime genes que codifican proteínas implicadas en la fotosíntesis. En respuesta a la herida **localizada**, se acumulan sistémicamente los transcritos que codifican genes para la síntesis de AJ y genes que responden al AJ. Dicha respuesta migra desde la herida, a través del floema, a otras partes de la planta. Se ha demostrado que la **sistemina**, un polipéptido de 18 aminoácidos, se mueve en el floema hasta las zonas más apicales de las plantas e induce la síntesis de AJ y la expresión de genes que responden a éste. Además de la sistemina, el ABA, el etileno

y la corriente eléctrica desempeñan un papel importante transmitiendo la señal de la herida a los jasmonatos. En las plantas del tomate se ha demostrado que el etileno y el jasmonato actúan conjuntamente regulando la expresión de los genes *pin* en respuesta a este estrés.

El análisis del transcriptoma de plantas de *Arabidopsis* tratadas con MeJA puso de manifiesto que el AJ altera específicamente la expresión de un gran número de genes. El AJ es capaz de activar genes implicados en su propia síntesis y genes implicados en rutas de transducción de señal de otras hormonas, como el etileno, las auxinas y el ácido salicílico. Estos resultados revelan la existencia de una interacción entre la ruta de señalización del JA y las de otras hormonas. El AJ activa, además, la expresión de genes que codifican proteínas de funciones muy diversas que se expresan en respuesta a heridas o patógenos, genes del metabolismo de aminoácidos, del metabolismo secundario, y genes relacionados con la transducción de señales.

3.3. Los brasinólidos y las oligosacarinas parecen modular las respuestas de crecimiento

Los **brasioesteroides** (BR) son un grupo de polihidroxiesteroides que se sintetizan en muy bajas cantidades. Dentro de este grupo se han identificado más de 60 compuestos. El brasinólido (Fig. 22-12) es el más activo y el primero que se aisló, en *Brasica napus* en 1979. El segundo esteroide identificado, en 1982, fue la **castasterona** (Fig. 22-12), y posteriormente se aislaron en distintas plantas otros esteroides relacionados con éstos que se denominaron colectivamente brasioesteroides (BRs). Se han aislado en semillas, frutos, tallos, hojas y brotes florales, y sus niveles son especialmente altos en el polen.

La aplicación exógena de BR estimula la **elongación y la división celular** en segmentos de tallos y en plántulas. Además de promover el crecimiento, también pueden actuar

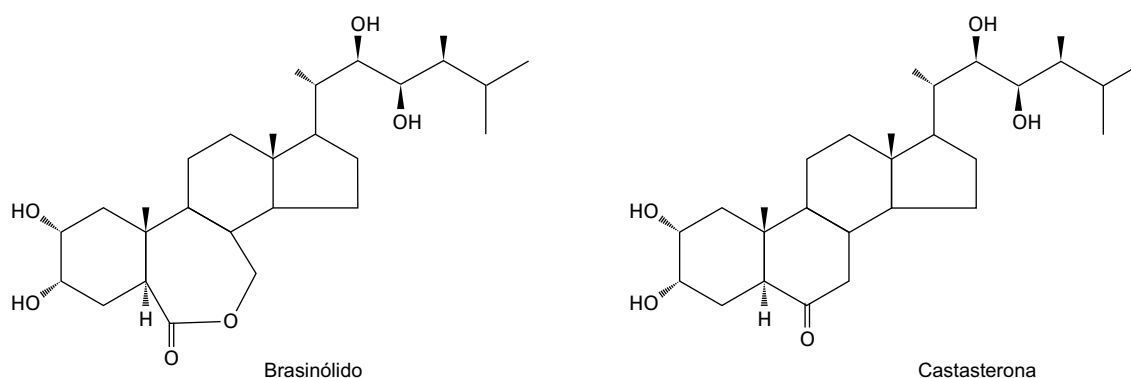


Figura 22-12. Estructura química del brasinólido y la castasterona.

como inhibidores del crecimiento radicular, estimular el gravitropismo, inducir la diferenciación del xilema, retrasar la abscisión de hojas y favorecer su enrollamiento, reorientar las microfibrillas de celulosa, estimular la xilogénesis y la producción de etileno, así como potenciar la resistencia al estrés biótico y abiótico.

La utilización de mutantes de *Arabidopsis*, deficientes o insensibles a los BR, ha permitido demostrar que estos compuestos son esenciales para algunos aspectos del crecimiento y el desarrollo de las plantas. Estos mutantes manifiestan alteraciones fenotípicas importantes, tales como esterilidad gamética masculina, enanismo intenso, reducción de la dominancia apical y la elongación del hipocótilo y, algunas veces, ausencia de fenotipo etiolado en la oscuridad. Por el momento se ignora si los BRs están implicados directa o indirectamente en la fotomorfogénesis.

Todos los esteroides de las plantas se sintetizan a partir del cicloartenol, derivado del escualeno vía 2,3-epoxiesqualeno. Entre los esteroides más comunes en las plantas se han identificado el sitosterol, el estigmasterol, el campesterol, el 24-epicampesterol y el colesterol. Todos ellos, a excepción del estigmasterol, parecen ser precursores del BR. Aunque

el sitosterol es el más abundante (50-80% del total), el campesterol es el utilizado preferentemente en la biosíntesis del BR.

Se han identificado distintos componentes de la ruta de transducción de la señal de los brasinoesteroides. Como en el caso del etileno, se ha demostrado que la ruta de transducción de los BRs se regula negativamente. En ausencia de BR, la proteína BIN2 es capaz de fosforilar otras proteínas (BES1 y BZR1), induciendo su desestabilización y degradación por el proteosoma (Fig. 22-13). En cambio, la unión de los BRs a los receptores extracelulares provoca la interacción entre éstos y la proteína BIN2, reprimiendo su acción. Esta inactivación hace que los complejos BES1/BZR1 no se fosforilen y puedan ser operativos y activar la expresión de genes que responden a los brasinoesteroides, o inhibir la expresión de sus propios genes, o ambas cosas.

El estudio de los genes regulados por BRs está permitiendo entender el modo de acción de estas moléculas. Así, se ha comprobado que ciertos genes que codifican enzimas relacionadas con la modificación de la pared celular, enzimas de la ruta de biosíntesis de BRs, factores de transcripción y proteínas implicadas en el metabolismo primario y secunda-

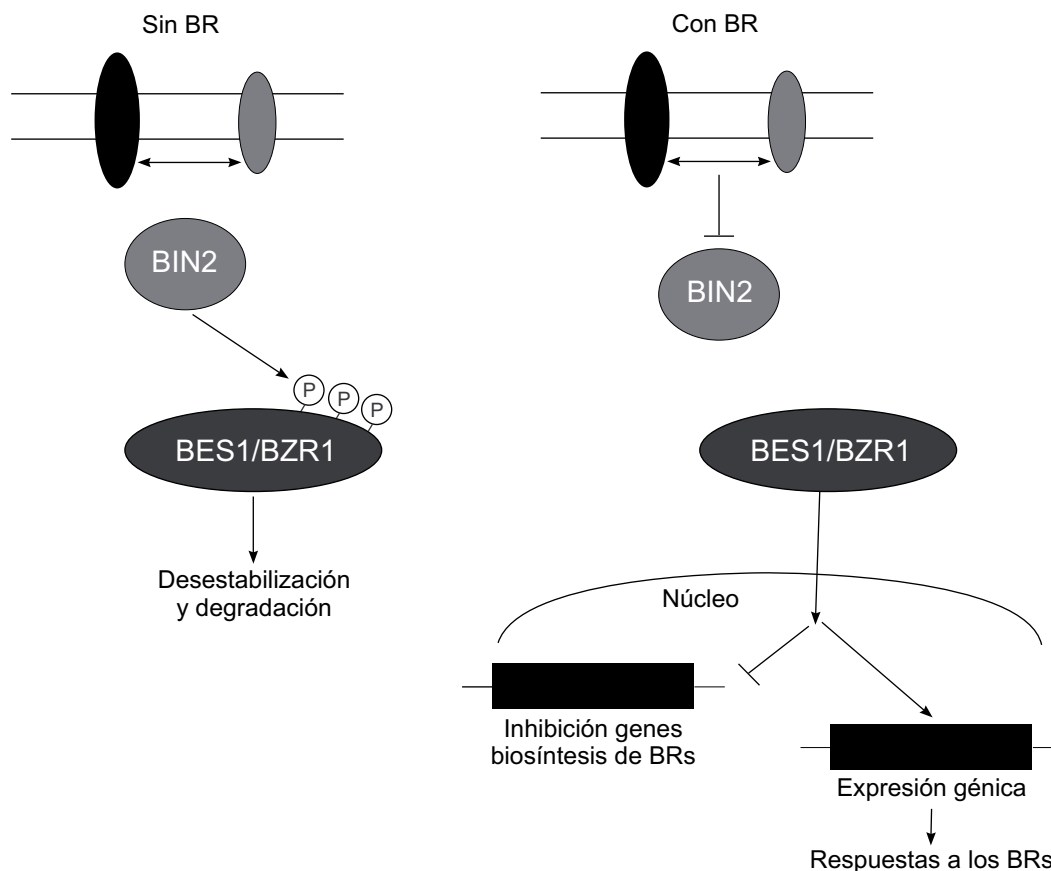


Figura 22-13. Ruta esquemática de la secuencia de transducción de la señal de los brasinólidos (BR). En el modelo se establece una regulación negativa de la cadena de señalización. Así, en ausencia de BR la proteína BIN2 fosforila el complejo BES1/BZR1, que se degrada, y se inhiben las etapas posteriores. La unión de los BR a los receptores inhibe la actividad de BIN2 y el complejo BES1/BZR1 puede activar la expresión génica regulada por los BR.

rio son regulados por BRs (Karlova y de Vriess, *Science*, 354, 36, 2006.).

Las **oligosacarinas** son carbohidratos complejos que pueden modular el crecimiento y el desarrollo de las plantas en bajas concentraciones e inducir respuestas de defensa frente a patógenos u otros tipos de estrés, como las heridas. Se dividen en oligosacarinas pécticas, derivadas de restos de pectina, y oligosacarinas derivadas del xiloglucano. Estas últimas actúan como sustrato de la enzima xiloglucano endotransglucosilasa (XET), que está implicada en la ruptura y la transferencia de unidades de xiloglucano. Dichos compuestos pueden antagonizar la acción de las auxinas en la estimulación del crecimiento de segmentos de tallos, el

enraizamiento y la embriogénesis somática. En cultivos *in vitro* de células de tabaco, pueden inducir la formación de flores, raíces o tallos, dependiendo de la concentración de otras hormonas. Aunque su modo de acción no se conoce con exactitud, existen pruebas de que pueden alterar la sensibilidad o el metabolismo de las auxinas. También pueden inducir distintas respuestas de defensa frente a los patógenos, que parecen estar mediadas, en parte, por los niveles o la sensibilidad al AJ. La mayor parte de los estudios se han realizado en sistemas *in vitro* o aplicando mezclas complejas de diferentes oligosacáridos, por lo que sus efectos específicos en sistemas intactos de la planta no están totalmente establecidos.

RESUMEN



- El etileno y el ácido abscísico (ABA) son dos reguladores del desarrollo cuyos efectos están asociados a procesos característicos de la inhibición del desarrollo, de las etapas finales de éste, o de las respuestas a situaciones ambientales adversas. Su acción, sin embargo, no debe considerarse como negativa para el desarrollo, puesto que sus efectos se relacionan con la adaptación de las condiciones del crecimiento a las diferentes alteraciones ambientales o del desarrollo.
- El etileno se sintetiza a partir de la metionina, mediante sólo dos enzimas y sus efectos controlan diferentes respuestas al estrés, la maduración de numerosos frutos y la senescencia de los tejidos vegetales.
- El ABA se origina a partir de las xantofilas y su acción tiene especial relevancia en los procesos naturales o de estrés que originan alteraciones hídricas en las plantas.
- Las poliaminas, el ácido jasmónico, los brasinólidos y las oligosacarinas constituyen un grupo heterogéneo de compuestos, cuya función como reguladores del desarrollo no está totalmente dilucidada, aunque tienen efectos fisiológicos importantes en el crecimiento y el desarrollo de las plantas.
- Las poliaminas son un grupo de moléculas policatiónicas implicadas en procesos de morfogénesis, división celular, senescencia y estrés. Su actividad parece deberse a su capacidad antioxidante y estabilizadora de las membranas celulares.
- El ácido jasmónico afecta a diferentes procesos fisiológicos y participa en la transmisión de señales inducidas por las heridas y los patógenos.
- La función de los brasinoesteroides y las oligosacarinas como reguladores es menos conocida, pero el aislamiento de mutantes y otros enfoques bioquímicos están ayudando a determinar su implicación en el control del desarrollo.

PROBLEMAS Y CUESTIONES



- 1 Mencione tres aspectos del desarrollo que estarían afectados en un posible mutante insensible al etileno.
- 2 ¿Podría formular una hipótesis sobre el posible significado fisiológico del hecho de que las enzimas de la síntesis de etileno estén codificadas por familias génicas?
- 3 ¿Como interpretaría el hecho de que, ante una determinada situación de estrés (p. ej., las bajas temperaturas o un ataque por patógenos), una planta tratada con inhibidores de la síntesis o de la acción del etileno sea menos resistente al estrés, o manifieste más acusadamente los síntomas de éste?
- 4 Mencione tres aspectos del desarrollo que estarían afectados en un posible mutante deficiente en la síntesis de ABA.
- 5 En una plántula en crecimiento sometida a una deficiencia hídrica, ¿cómo se verían afectados el crecimiento de la raíz y del tallo? Interprete el significado de estos efectos.
- 6 Establezca un modelo de regulación hormonal en el que se integren el ABA y el etileno para explicar



PROBLEMAS Y CUESTIONES (Cont.)

que la rehidratación de una planta después de un período de estrés hídrico ocasione la abscisión de las hojas. ¿Qué experimento realizaría para determinar que las señales hormonales se inducen en la raíz?

- 7 Si un determinado tratamiento (p. ej., la aplicación de ácido giberélico) inhibe la senescencia de las hojas, ¿cómo cree que se verían afectados los niveles de ABA, etileno y poliaminas?
- 8 Mencione dos características relacionadas con la estructura química de las poliaminas por las que puedan ejercer su función fisiológica.
- 9 Enumere tres procesos en los que esté claramente implicada la acción del ácido jasmónico. ¿Qué posible significado fisiológico tiene el hecho de que el ácido jasmónico esté implicado en la respuesta sistémica de las plantas?



RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1 Si la planta estuviera creciendo en una atmósfera normal: abscisión reducida, retraso de la senescencia de las hojas y hojas más grandes. En una atmósfera de etileno, se comprobaría la ausencia de la triple respuesta.
- 2 Para poder regular de forma diferencial y específica la síntesis de etileno frente a distintos estímulos y situaciones del desarrollo o de estrés.
- 3 Si la inhibición de la acción o la síntesis del etileno ocasiona una menor tolerancia al estrés, ello podría sugerir que la hormona está regulando las respuestas de defensa de la planta frente al estrés. Al inhibir aquellas, la resistencia de la planta debe ser menor.
- 4 Reducción del crecimiento de la planta, pérdida de turgencia, marchitamiento de las hojas y germinación precoz de las semillas.
- 5 En general, aumenta el crecimiento de la raíz y se reduce el crecimiento del tallo. Estos efectos pueden estar relacionados con la necesidad que tiene la raíz de buscar agua y con la protección de los meristemos aéreos y la reducción de la superficie de transpiración.
- 6 Durante la deshidratación de la planta, en la raíz (como primer sensor del estrés) se incrementaría el contenido de ABA y éste, a su vez, estimularía la síntesis de ACC. Dado que el flujo xilemático estaría reducido o bloqueado durante el estrés, estos compuestos se acumularían en la raíz. El riego posterior de las plantas establecería de nuevo el flujo hacia las hojas, y el ACC transportado se oxidaría a etileno en las zonas de abscisión de las hojas, lo que produciría su caída. Para demostrar que las señales hormonales se inducen en la raíz, las plantas se someterían primero a la carencia de agua, luego se cortarían el sistema radicular y se rehidrataría la planta directamente por el tallo; si no se produjera abscisión, quedaría demostrado que las señales se localizaban en la raíz. Este tipo de regulación se ha demostrado, de hecho, en los cítricos (véase la Fig. 29-7).
- 7 Se reduciría el ABA y la producción de etileno y aumentaría el contenido de poliaminas.
- 8 La presencia de grupos $-NH_2$, y su carácter policatiónico.
- 9 Infección por patógenos, heridas y senescencia de las hojas. En la respuesta sistémica también se inducen las señales en zonas diferentes a los lugares en los que se produjo la herida o la infección por el patógeno. Si el ácido jasmónico induce respuestas de defensa frente a estas situaciones, al hacerlo de forma sistémica puede estar confiriendo protección a otras zonas de la planta, o antes de que aparezca el estrés en dichas zonas.

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA



1. Creelman RA, Mullet JE. Oligosaccharins, brassinolides, and jasmonates: nontraditional regulators of plant growth, development and gene expression. *Plant Cell*, 1997; 9:1211.
2. Creelman RA, Mullet JE. Biosynthesis and action of jasmonates in plants. *Ann Rev Plant Physiol Plant Molec Biol*, 1997; 48:355.
3. Crozier A, Kamiya Y, Bishop G *et al.* Biosynthesis of hormones and elicitors molecules. En: Buchanan BB, Gruisen W, Jones RL (eds.). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Rockville (Maryland), Amer Soc Plant Phys, 2001; 17:851.
4. Go H, Ecker JR. The ethylene signalling pathway: new insights. *Current Opinion Plant Biol* 2004; 7:40.
5. Himmelbach A, Yang Y, Grill E. Relay and control of abscisic acid signalling. *Current Opinion Plant Biol*, 2003; 6:470.
6. Nambara E, Marion-Poll A. Abscisic acid biosynthesis and catabolism. *Ann Rev Plant Biol*, 2005; 56:165.
7. Rock CD, Zeevaart JA. Ácido abscísico. En: Azcón-Bieto J, Talón M (eds.). *Fisiología y Bioquímica Vegetal*. Madrid, McGraw-Hill/Interamericana, 1993; 15:327.
8. Tiburcio AM *et al.* Poliaminas. En: Azcón-Bieto J, Talón M (eds.). *Fisiología y Bioquímica Vegetal*. Madrid, McGraw-Hill/Interamericana, 1993, 17:357.
9. Vert G, Nemhauser JL, Geldner N *et al.* Molecular mechanism of steroid hormone signalling in plants. *Ann Rev Cell and Dev Biol*, 2005; 21:177.
10. Zacañas L. Etileno. En: Azcón-Bieto J, Talón M (eds.). *Fisiología y Bioquímica Vegetal*. Madrid, McGraw-Hill/Interamericana, 1993; 16:343.

Fotomorfogénesis: la luz como factor regulador del crecimiento

JORGE JOSÉ CASAL

1. La luz como fuente de información para las plantas. 2. El ambiente luminoso. 3. Fotorreceptores en las plantas. 4. Los fitocromos. 5. Los criptocromos. 6. Respuestas fotomorfogénicas. 7. Ruta de señalización en la fotomorfogénesis. 8. Posibles aplicaciones del conocimiento de la fotomorfogénesis a la producción vegetal.

1. LA LUZ COMO FUENTE DE INFORMACIÓN PARA LAS PLANTAS

La luz puede afectar al crecimiento y desarrollo de las plantas como fuente de energía mediante la fotosíntesis, como fuente de calor y como fuente de información. La cantidad de luz (**fotones**) que incide sobre las plantas por unidad de tiempo y de superficie (**irradiancia**), su **composición espectral**, la **dirección** en que incide y su duración diaria (**fotoperíodo**) son aspectos del ambiente luminoso que cambian en condiciones naturales y proporcionan información sobre una serie de condiciones (época del año, presencia de plantas vecinas, etc). Las plantas poseen **fotorreceptores** que les permiten utilizar dicha información. Estas moléculas cambian su estado en función del ambiente luminoso y, como consecuencia de ello, modulan distintos aspectos del crecimiento y el desarrollo. A modo de ejemplo, cuando una plántula crece por debajo de la superficie del suelo, no recibe luz. Al emerger, recibe los primeros fotones y, gracias a la acción de los fotorreceptores, la planta puede percibir el cambio en el ambiente luminoso y modificar su morfología en un sentido aparentemente ventajoso desde el punto de vista de su adaptación. En las plantas mutantes que son muy deficientes en uno de los fotorreceptores normalmente activos, la respuesta fotomorfogénica puede ser significativamente menor que la normal (Fig. 23-1). En sentido estricto, la **fotomorfogénesis** se define como los efectos de la información proporcionada por los cambios en la cantidad o la composición espectral de la luz. Los

efectos de la información suministrada por la dirección de la luz o por el fotoperíodo se denominan **fototrópicos** y **fotoperiódicos**, respectivamente, y serán tratados en profundidad en los capítulos siguientes.

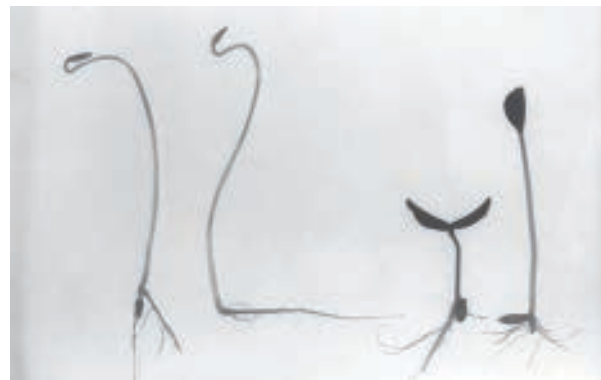


Figura 23-1. Cuando las plántulas son expuestas a la luz por primera vez, la acción de los fotorreceptores inicia el proceso de desetioliación. A la izquierda se observan dos plántulas de pepino (*Cucumis sativus*) cultivadas en oscuridad absoluta. A la derecha, dos plántulas cultivadas en ciclos normales de luz-oscuridad. En estas últimas es posible distinguir una planta de genotipo normal (izquierda) y otra mutante deficiente en fitocromo B (derecha). La ausencia del fitocromo B hace que los cambios debidos a la luz sean sólo parciales (nótese la altura de la plántula y la posición cerrada de los cotiledones).

2. EL AMBIENTE LUMINOSO

Las plantas, o sus órganos, están sometidas a condiciones variables en su ambiente luminoso. Una semilla, por ejemplo, puede estar enterrada o sobre la superficie del suelo, o sombreada o no por las plantas vecinas. La semilla enterrada se encuentra en completa oscuridad (en general, la luz sólo penetra hasta los primeros milímetros del suelo). La semilla dispuesta superficialmente recibe luz, pero la presencia de plantas vecinas reduce el flujo y altera la composición espectral de ésta. De hecho, los órganos verdes de las plantas vecinas absorben mucho más intensamente la luz azul o roja que la luz verde o roja lejana. Por tanto, la luz reflejada o transmitida por las plantas vecinas y recibida por la semilla dispuesta en un lugar sombreado es proporcionalmente más rica en rojo lejano que la luz solar.

Las plantas también interfieren mutuamente en su ambiente luminoso (Fig. 23-2). Cuando una planta tiene vecinos a su alrededor, recibe (al menos, algunos de sus órganos) luz proporcionalmente más rica en las longitudes de onda correspondientes al rojo lejano. Veremos que las plantas poseen fotorreceptores capaces de cuantificar no sólo el nivel de irradiancia, sino también la proporción entre luz roja y luz roja lejana. Es interesante hacer notar, por tanto, que para que cambie la relación rojo/rojo lejano no hace falta que las plantas vecinas se sombreen. La luz roja lejana reflejada es suficiente para alterar dicha relación en una magnitud biológicamente significativa.

3. FOTORRECEPTORES EN LAS PLANTAS

La absorción de cuantos de luz es un prerequisite en las reacciones fotoquímicas y, por consiguiente, en las reacciones fotobiológicas. El «cuerpo negro» es ideal, pues absorbe todas las longitudes de onda, mientras que los «absorbedores reales» absorben algunas longitudes de onda y son transparentes o reflejan otras. Esta absorción diferencial permite que se vean coloreados, y por eso reciben el nombre de **Cromóforos** («que portan color»). Los **fotorreceptores** son moléculas proteicas con capacidad para absorber luz gracias a que poseen uno o más cromóforos. En las plantas se han identificado varias familias de fotorreceptores. Los **fitocromos** son fotorreceptores de luz roja (600-700 nm) y roja lejana (700-800 nm) cuyo cromóforo es una tetrapirrol de cadena lineal. Los **criptocromos** son fotorreceptores de luz azul (400-500 nm) y ultravioleta A (320-400 nm) que tienen dos cromóforos, una flavina adenina dinucleótido y una pterina. Las **fototropinas** son otro grupo de fotorreceptores de luz azul y UV-A. Portan dos flavinas mononucleótidas como cromóforos y son muy importantes en el control de las respuestas fototrópicas (véase el Capítulo 24), la regulación del movimiento de las células oclusivas de los estomas por la luz azul (véase el Capítulo 3) y el movimiento de los cloroplastos con respecto a la dirección de incidencia de la luz. Sin embargo, su papel en la fotomorfogénesis es menor, en comparación con el de fitocromos y criptocromos, y por ello no será más detallado en este capítulo. Asimismo, estudios re-

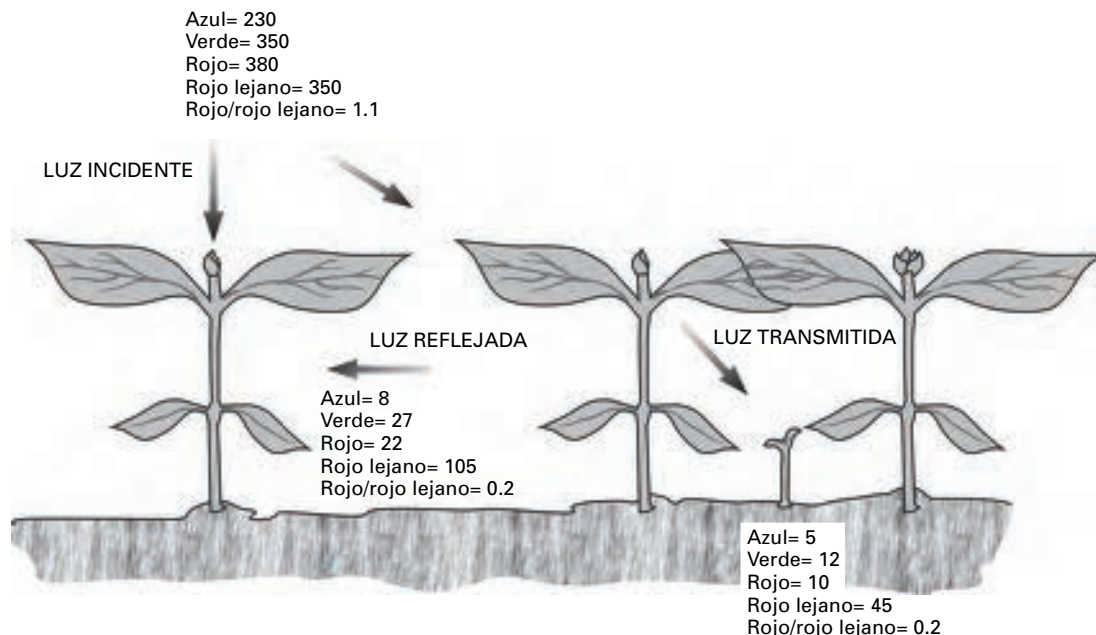


Figura 23-2. Las plantas interfieren en el ambiente luminoso de sus vecinas. La luz solar que incide sobre los cultivos se modifica por el contacto con las plantas, y una alta proporción es absorbida, lo que determina bajos flujos en los lugares sombreados. La absorción es selectiva, y una alta proporción de la luz roja lejana es reflejada o transmitida por el follaje. Como consecuencia de ello, la relación rojo/rojo lejano se modifica. En la figura, los flujos de luz de distintas bandas espectrales (azul, verde, rojo y rojo lejano) se expresan en $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$.

cientes sugieren que las proteínas llamadas ZTL, FKF1 y LKP2 forman una familia de fotorreceptores de luz azul que portan flavinas como cromóforos y regulan la degradación de proteínas importantes para los ritmos circadianos y el control foto-periódico de la floración. Finalmente, algunos experimentos fisiológicos sugieren la existencia de **fotorreceptores de ultravioleta B** (280-320 nm). Sin embargo, por el momento se desconoce la naturaleza de dichos fotorreceptores, si bien se han propuesto varios candidatos, entre ellos el DNA (que resulta afectado por el ultravioleta B), los residuos aromáticos de proteínas, las auxinas, etc. Pero parece más probable la participación de flavinas o pterinas reducidas asociadas a proteínas. Dado que existen varios fotorreceptores, si falta uno de ellos la deficiencia en la respuesta fotomorfogénica puede ser sólo parcial (Fig. 23-1).

4. LOS FITOCROMOS

Los fitocromos son **cromoproteínas**, es decir, moléculas que combinan una parte proteica (apoproteína) y un cromóforo. Los fitocromos son dímeros, y el peso molecular de sus monómeros oscila entre los 120 y 130 kDa. El monómero puede dividirse en dos grandes dominios estructurales y funcionales. El dominio aminoterminal, de aproximadamente 70 kDa, es la parte de la molécula que posee el cromóforo. El dominio carbonoterminal, de aproximadamente 55 kDa, contiene la región de dimerización. El cromóforo es la parte de la molécula que primero se modifica al recibir luz de la longitud de onda apropiada. La excitación del cromóforo altera la apoproteína y, por ende, su capacidad de acción fisiológica. A su vez, la apoproteína condiciona las características fotoquímicas del cromóforo. En el caso del fitocromo, el cromóforo es una bilina o tetrapirrol de cadena lineal (téngase en cuenta que las clorofilas involucran un tetrapirrol de cadena cerrada) que se sintetiza en los plástidos a partir del 5-aminolevulinato, que proviene de la vía C-5 a partir del glutamato. En las plantas que nunca han recibido luz, los fitocromos se encuentran en el citoplasma, pero la activación por la luz induce la migración de parte de esas moléculas al núcleo.

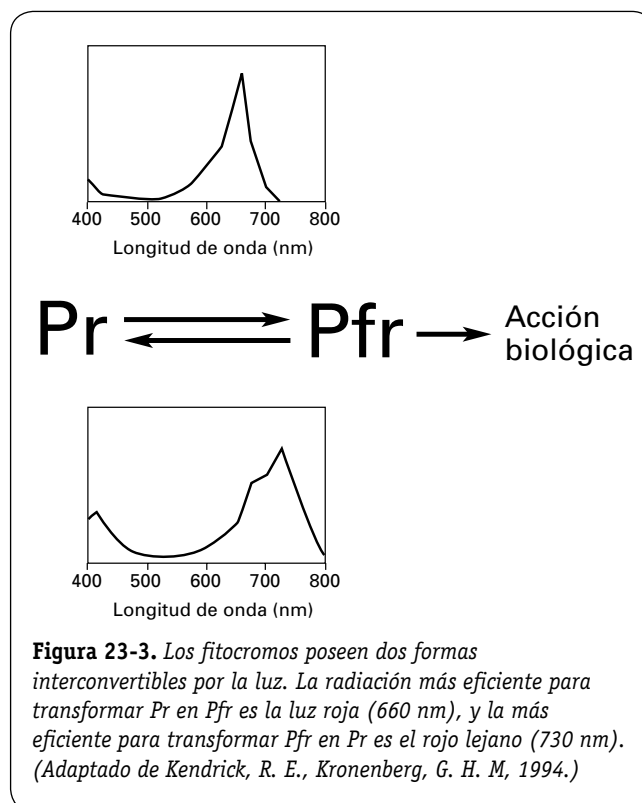
4.1. Los fitocromos son una familia de fotorreceptores

Las plantas poseen varios fitocromos distintos. Esta variabilidad tiene su origen en la existencia de una familia de genes codificadores de apoproteínas. En *Arabidopsis thaliana*, por ejemplo, hay cinco fitocromos, denominados fitocromos A, B, C, D y E. En el arroz sólo hay fitocromos A, B y C. Los fitocromos A de distintas especies (y esto afecta también a la comparación entre monocotiledóneas y dicotiledóneas) son más parecidos entre sí que los distintos fitocromos de una misma especie. El análisis del grado de homología entre los distintos fitocromos de *Arabidopsis thaliana* sugiere que, probablemente, a partir de un antecesor común se han separado el antecesor de los fitocromos A y C, por un lado, y

el de los fitocromos B, D y E, por otro. Luego, el fitocromo A se separó del C y, más tarde, el fitocromo E se separó del antecesor de los fitocromos B y D, que fueron los últimos en divergir, a juzgar por su mayor similitud.

4.2. Los fitocromos poseen dos formas, Pr y Pfr

Una característica distintiva de los fitocromos es que poseen dos **formas interfotoconvertibles**: la de Pr (*red*, rojo) y la de Pfr (*far red*, rojo lejano) (Fig. 23-3). Buena parte de los fenómenos mediados por los fitocromos pueden explicarse considerando el Pfr como la forma activa y el Pr como la forma inactiva de la molécula. Los fitocromos son siempre sintetizados como Pr. Esta forma tiene su máximo de absorción en el rojo (660 nm). Al absorber luz, las moléculas de Pr se transforman en Pfr. La forma Pfr tiene su máximo de absorción en el rojo lejano (730 nm). Al absorber rojo lejano, Pfr es transformado en Pr. Los espectros de absorción de Pr y Pfr muestran una cierta superposición. Por ese motivo, la luz roja no puede establecer un 100% de Pfr, ya que cuando la proporción de Pfr es alta, algunas de estas moléculas absorben luz roja y pasan a Pr. Del mismo modo, el rojo lejano establece una pequeña proporción de Pfr (que, como veremos, en algunos casos es biológicamente significativa). Las distintas longitudes de onda establecen diferentes proporciones de Pr y Pfr o, como suele expresarse, distintas proporciones de Pfr con respecto a la suma de Pr más Pfr. La



luz natural no es monocromática, sino que está compuesta por distintas bandas espectrales en una proporción que varía según las condiciones. La proporción de Pfr puede calcularse teniendo en cuenta la composición espectral de la luz (en particular, la relación rojo/rojo lejano) y las características ópticas del fitocromo (Fig. 23-4). Para una plántula que no ha emergido del suelo (es decir, que está sometida a oscuridad plena), la proporción de Pfr es cero. Para una planta que recibe luz solar que no es interferida por otras plantas cercanas, la proporción de Pfr es de alrededor del 70%. En cambio, para las plantas sombreadas por plantas vecinas, la proporción de Pfr es baja (menor del 70% e, incluso, del 10% en doseles o follajes muy densos). Hay dos maneras de establecer distintas proporciones de Pfr en un tejido que nunca antes recibió luz. Una es exponerlo a luz de distinta composición espectral (distintas longitudes de onda o distintas mezclas de luz roja y roja lejana), y otra es exponerlo a distintas cantidades de luz (en general, luz roja), de modo tal que varíe la proporción de moléculas de Pr que absorben luz y pueden pasar a Pfr. Las formas Pr y Pfr difieren en varios aspectos. El cambio de forma implica una isomerización del cromóforo debida a la rotación alrededor de un doble enlace que une dos moléculas de carbono. La porción proteica de la molécula presenta zonas más o menos expuestas en la forma Pr o Pfr.

4.3. El fitocromo A es inestable como Pfr

Los fitocromos son estables en su forma fisiológicamente inactiva (Pr), con una vida media de una semana. La estabi-

lidad del Pfr varía para los distintos fitocromos. El fitocromo A es inestable en la forma Pfr, y su vida media es de 1-2 horas, de tal modo que la acción biológica compite con el proceso de destrucción (Fig. 23-5). En ambientes ricos en luz roja lejana, la destrucción del fitocromo A no es tan marcada, ya que la proporción que se encuentra como Pfr es baja. El proceso de destrucción implica la unión covalente de moléculas de ubiquitina a las de fitocromo A. Este conjugado de proteína y ubiquitina sirve como intermediario en la ruptura de la proteína que se produce en un complejo proteolítico formado por múltiples subunidades (proteosoma 26S). Los restantes fitocromos son significativamente más estables, pues la destrucción en la forma de Pfr es lenta. Los fitocromos también pueden mostrar reversión de Pfr a Pr mediante un proceso que no requiere luz (**reversión oscura**). La reversión en oscuridad ha sido observada *in vivo* e *in vitro* para los fitocromos A y B, pero el fenómeno depende de la especie, e incluso de las líneas genéticas dentro de una misma especie. Es importante señalar que, a diferencia de la destrucción que implica desaparición del fitocromo, la reversión oscura no causa cambios en la cantidad total de fitocromo (Pr más Pfr) y, por tanto, no puede ser detectada cuantificando los fitocromos por métodos inmunológicos. Una tercera vía de control de los niveles de Pfr está regulada por la tasa de síntesis de Pr. Para el caso del fitocromo A, la síntesis es inhibida (en grado variable) por Pfr. Este retrocontrol no es tan manifiesto para los otros fitocromos. Cuando una plántula se cultiva en oscuridad, el fitocromo A es el más abundante (entre 10 y 100 veces más abundante que el resto). Cuando la plántula se expone a la luz, los niveles de fitocromo A descienden debido a su destrucción y a la inhibición de su síntesis. A pesar de esto, las plantas cultivadas bajo radiación natural poseen fitocromo A en cantidades biológicamente activas.

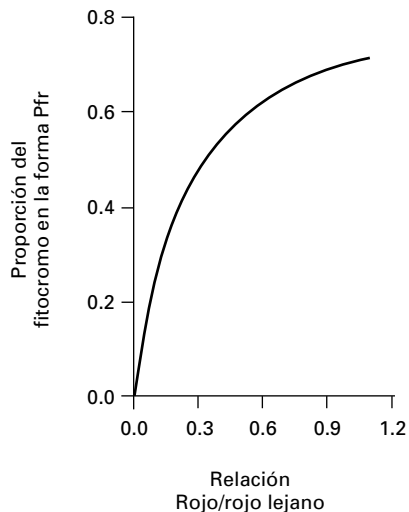


Figura 23-4. La proporción de fitocromo en forma de Pfr depende de la relación rojo/rojo lejano de la luz. Las proporciones de Pfr se han calculado utilizando los parámetros fotoquímicos del fitocromo publicados por Kelly, J. M., Lagarias: *Biochem*, 24: 6003-6010, 1985. (Adaptado de Smith, H., Holmes, G.: *Photochem Photobiol*, 25:547-550, 1977.)

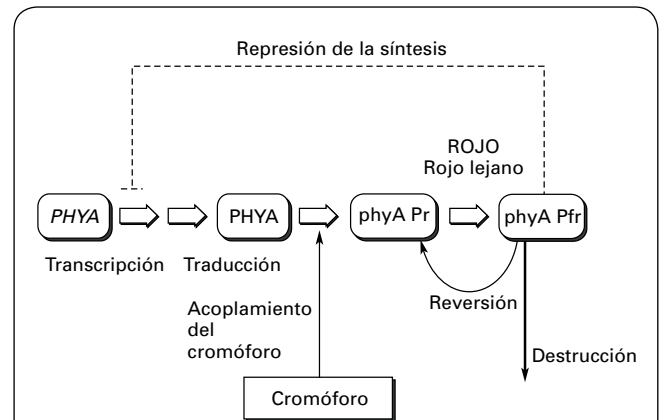


Figura 23-5. Regulación de los niveles de Pfr del fitocromo A. La expresión del gen del fitocromo A da lugar a la apoproteína que, al acoplarse al cromóforo, origina el pigmento en la forma Pr. La luz convierte la forma Pr en Pfr. Esta última se considera la forma activa, que puede destruirse con cierta rapidez (a diferencia del Pr) o bien revertir a Pr en una reacción que no requiere luz.

5. LOS CRIPTOCROMOS

Los criptocromos son fotorreceptores de luz azul que poseen similitud de secuencia con las fotoliasas microbianas (enzimas que reparan el DNA mediante una reacción que requiere luz). Sin embargo, a diferencia de las fotoliasas, los criptocromos poseen una extensión de la secuencia hacia el carbono terminal y no actúan como tales. Primero se descubrieron, en las plantas, los **criptocromos 1 y 2**. Luego se descubrieron los criptocromos presentes en los animales (incluidos los mamíferos) y, finalmente, los de las bacterias. Precisamente, al secuenciarse el genoma de la bacteria *Synechocystes* se encontró la secuencia del denominado criptocromo DASH. Después, gracias a esta información se descubrió en *Arabidopsis* un criptocromo DASH o **criptocromo 3**. El criptocromo 1 es una proteína soluble de 75 kDa que posee dos cromóforos: una flavina y una pterina. El criptocromo 2 también es soluble, pero, a diferencia del criptocromo 1, que se mantiene en niveles similares tanto con luz como en la oscuridad, muestra una marcada disminución de su nivel cuando las plantas son expuestas a luz azul. Esta observación podría indicar que existe un mecanismo de autorregulación negativa de sus propios niveles. Mientras que el criptocromo 2 se encuentra continuamente en el núcleo, el criptocromo 1 se encuentra en el núcleo en plántulas cultivadas en la oscuridad, pero aparentemente migra en parte al citosol cuando las plantas son expuestas a la luz. En cambio, el criptocromo 3 se localiza en la mitocondria y el cloroplasto. Las funciones de este último criptocromo son todavía poco conocidas.

6. RESPUESTAS FOTOMORFOGÉNICAS

La acción de los fotorreceptores afecta al crecimiento y desarrollo en distintos estados ontogénicos.

6.1. En muchas especies, la germinación de las semillas requiere Pfr

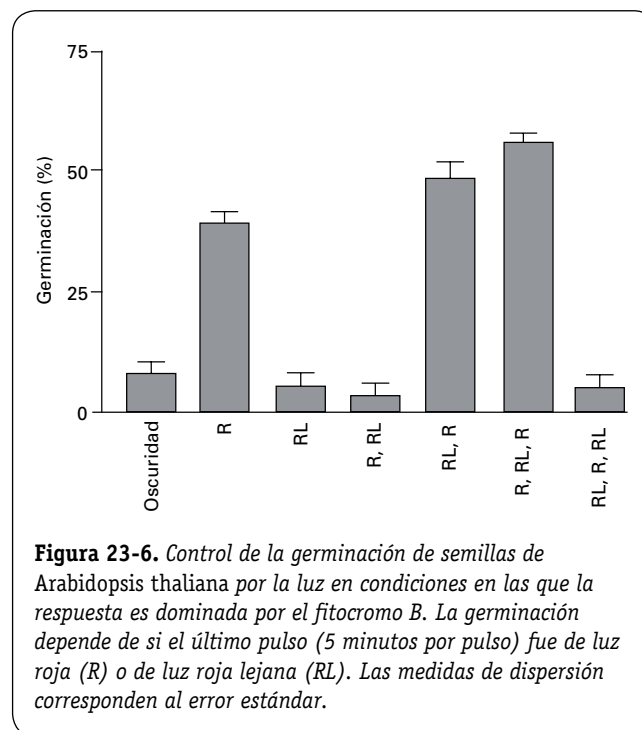
A menudo las semillas necesitan luz para germinar. En *Arabidopsis thaliana*, la forma Pfr, principalmente del fitocromo A y del fitocromo B, promueve la germinación. La importancia relativa de los fitocromos A y B varía según las condiciones. Las semillas secas de *Arabidopsis thaliana* poseen fitocromo B, pero dado que éste se sintetiza cuando las semillas están dentro de la silicua verde (un ambiente con baja relación rojo/rojo lejano) se encuentra predominantemente en la forma Pr. Al ser embebidas las semillas, el fitocromo B puede percibir la luz, pasar a su forma activa (Pfr) e inducir la germinación. El fitocromo A se sintetiza varias horas después del inicio de la imbibición, de modo que si la exposición a la luz se retrasa, la germinación puede ser inducida no sólo por el fitocromo B, sino también por el fitocromo A.

En la Figura 23-6 se observa el control de la germinación de semillas de *Arabidopsis thaliana* por pulsos de luz en condiciones en las que la respuesta está mediatizada

por el fitocromo B. En comparación con las semillas que permanecen en la oscuridad, un pulso de luz roja promueve la germinación, mientras que el rojo lejano no es eficaz. La respuesta inducida por la luz roja es reversible aplicando rojo lejano, pues depende (dentro de cierto lapso de tiempo) del último pulso recibido, y no de los anteriores. Este patrón de respuesta obedece a que la luz roja establece suficiente Pfr del fitocromo B para inducir la germinación, pero la luz roja lejana no. Hay muchos aspectos del crecimiento y el desarrollo (no sólo la germinación) que muestran respuestas reversibles aplicando rojo-rojo lejano. Estas respuestas permitieron descubrir los fitocromos; dadas sus relativamente escasas necesidades de luz (en comparación con la fotosíntesis) se las denominó «respuestas a bajos flujos».

Si el experimento descrito en el párrafo anterior se realizara en condiciones en que la germinación fuera dominada por el fitocromo A, el rojo lejano establecería suficiente Pfr de este fitocromo como para inducir la germinación y, por consiguiente, la reversibilidad inducida por rojo-rojo lejano no se observaría tan claramente. Este patrón bien distinto se debe a que las semillas (y otros órganos) pueden ser extremadamente sensibles al Pfr del fitocromo A, de modo que incluso la pequeña proporción de Pfr establecida por la luz roja lejana es suficiente para saturar el efecto. Una pequeña proporción de Pfr no sólo se puede establecer con luz roja lejana, sino también con cantidades muy pequeñas de luz roja que sólo **fototransforman unas pocas moléculas de fitocromo A de Pr a Pfr**. Por ese motivo, este segundo modo de respuesta se denomina «respuesta a muy bajos flujos».

La existencia de estos modos de respuesta con sensibilidad diferente permite el control de la germinación en condiciones ecológicas distintas. Así, el modo de respuesta a bajos flujos permite regular la germinación en función



del nivel de sombreado por otras plantas a las que las semillas están expuestas. Si las semillas están bajo un dosel vegetal denso, reciben una reducida proporción de luz roja en comparación con la proporción de luz roja lejana. Si el proceso está controlado por el fitocromo B, las semillas no germinan (pues el nivel de Pfr no será suficiente para inducir la germinación), y de ese modo se evita que las plántulas que se hubieran producido se encuentren en competencia desfavorable por la luz debido a la presencia de plantas de mayor porte que las sombrean. El dosel vegetal puede ser drásticamente reducido debido, por ejemplo, a la caída de árboles en los bosques o a la alimentación del ganado en los pastos. Como consecuencia de ello, la luz que llega a las semillas tendrá una proporción más alta de rojo que la de los lugares sombreados, se establecerá una alta proporción de Pfr de fitocromo B en las semillas y se producirá la germinación, que permitirá la generación de plántulas capaces de aprovechar los recursos ambientales vacantes. El modo de respuesta a muy bajos flujos, debido al fitocromo A, no es útil para regular la germinación en función de la competencia por sombreado, pero presenta otras ventajas. Cuando los campos son laboreados, las semillas de las malas hierbas que estaban enterradas pueden ser expuestas por brevísimos instantes a la luz mientras la tierra es removida, para luego quedar nuevamente enterradas. Esta corta exposición opera en el rango de las respuestas a muy bajos flujos de luz. De este modo, la remoción del suelo puede establecer suficiente Pfr del fitocromo A como para inducir la germinación. Este tipo de respuesta permite a las malas hierbas establecer sus plántulas cuando se ha eliminado la competencia con plantas de mayor porte gracias a la remoción del suelo. Cuando el suelo es arado por la noche, la proporción de semillas de malas hierbas que germinan es menor a la que se da tras las labores realizadas durante el período de luz. Las semi-

llas pueden pasar del modo de respuesta a bajos flujos al de respuesta a muy bajos flujos, y viceversa, dependiendo de las condiciones en que se encuentren (por ejemplo, en función del tiempo que permanecen enterradas). Es posible, pues, que en una población de semillas algunas respondan a muy bajos flujos y otras a bajos flujos. En este caso, si se representa el porcentaje de semillas germinadas en función del flujo de luz, la respuesta es bifásica (Fig. 23-7).

Los procesos que conducen a promover la germinación sólo se conocen parcialmente. En las semillas de la maleza *Datura ferox*, la forma Pfr incrementa la actividad de enzimas que degradan polisacáridos (mananos) de la pared celular en la porción micropilar del endospermo (la zona por donde emerge la radícula), lo que determina su ablandamiento y, además, aumenta la capacidad de crecimiento del embrión. La reducción de la resistencia opuesta por el endospermo y el mayor potencial de crecimiento del embrión permiten la germinación y la liberación de la radícula.

6.2. La desetiología se produce cuando una plántula u órgano pasa de crecer en oscuridad continua a crecer bajo luz

Este proceso define los cambios entre el patrón de crecimiento y desarrollo típico de las plantas cultivadas siempre en oscuridad (**escotomorfogénesis**) y el patrón característico de las plantas cultivadas con luz (**fotomorfogénesis**). La exposición a la luz desencadena una serie de cambios morfológicos y moleculares. En las dicotiledóneas, el tallo inhibe su crecimiento y los cotiledones se separan y expanden (Figs. 23-8 y 23-9). En las gramíneas el mesocótilo

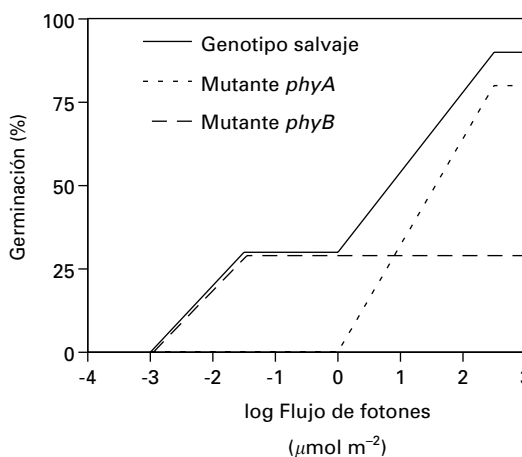


Figura 23-7. Respuesta de la germinación de semillas embebidas al flujo de un pulso de luz roja. En el genotipo salvaje la respuesta es bifásica. La primera fase corresponde a la respuesta a muy bajos flujos de luz, y la segunda a la respuesta a bajos flujos de luz. El mutante del fitocromo A pierde la primera fase y el mutante del fitocromo B pierde la segunda.

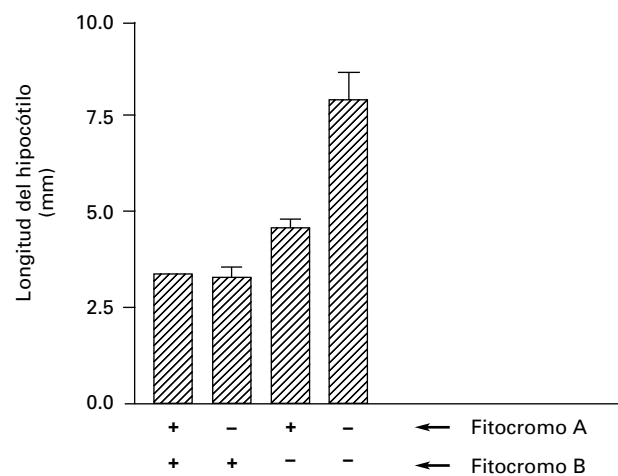


Figura 23-8. El fitocromo A y el fitocromo B inhiben el crecimiento del hipocótilo en plantas de *Arabidopsis thaliana* cultivadas a la luz. De izquierda a derecha, plantas de genotipo normal, mutantes de fitocromo A, mutantes de fitocromo B y mutantes dobles de fitocromo A y B. Las medidas de dispersión corresponden al error estándar.

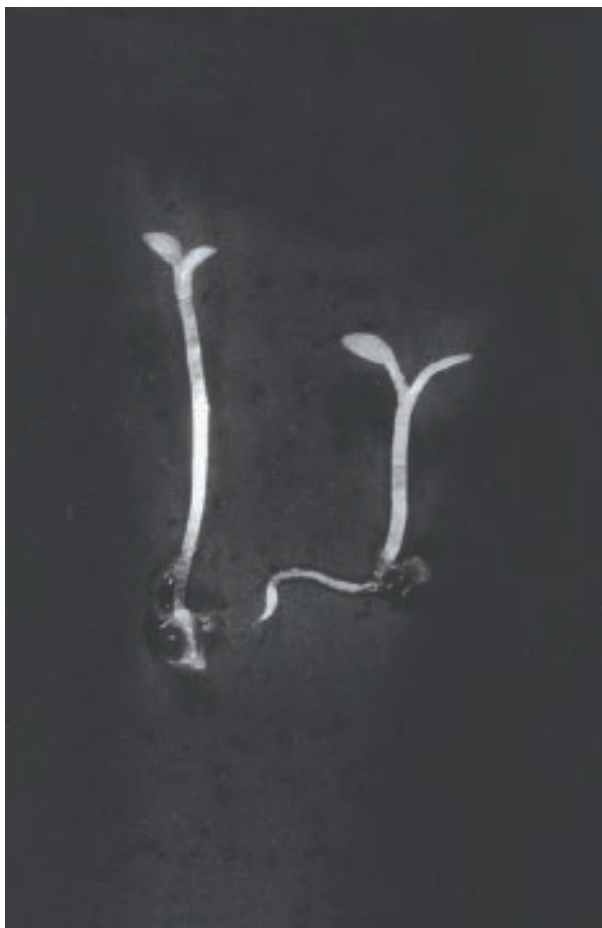


Figura 23-9. La luz azul percibida por los criptocromos inhibe el crecimiento del hipocótilo y promueve el desarrollo y la apertura de los cotiledones en plántulas de *Arabidopsis thaliana*. Plantas de genotipo normal (derecha) y mutantes sin criptocromo 1 (izquierda) se cultivaron bajo luz azul.

detiene su crecimiento. También se inicia la síntesis de clorofila, se organiza el aparato fotosintético y se sintetizan pigmentos como los antocianos. Estos cambios son el resultado tanto de la acción de los fitocromos (Fig. 23-8) como de la de los criptocromos (Fig. 23-9). Una gran cantidad de genes incrementa su expresión debido a una mayor tasa de transcripción y, en algunos casos, también debido a los cambios postranscripción. Los niveles de mRNA de la enzima rubisco, los de las proteínas que unen moléculas de clorofila *a* y *b* a las membranas tilacoides de los cloroplastos, los de la enzima nitrato reductasa, y otros, se ven marcadamente incrementados. Otros genes, entre ellos el propio gen que codifica la apoproteína del fitocromo A, reducen su expresión.

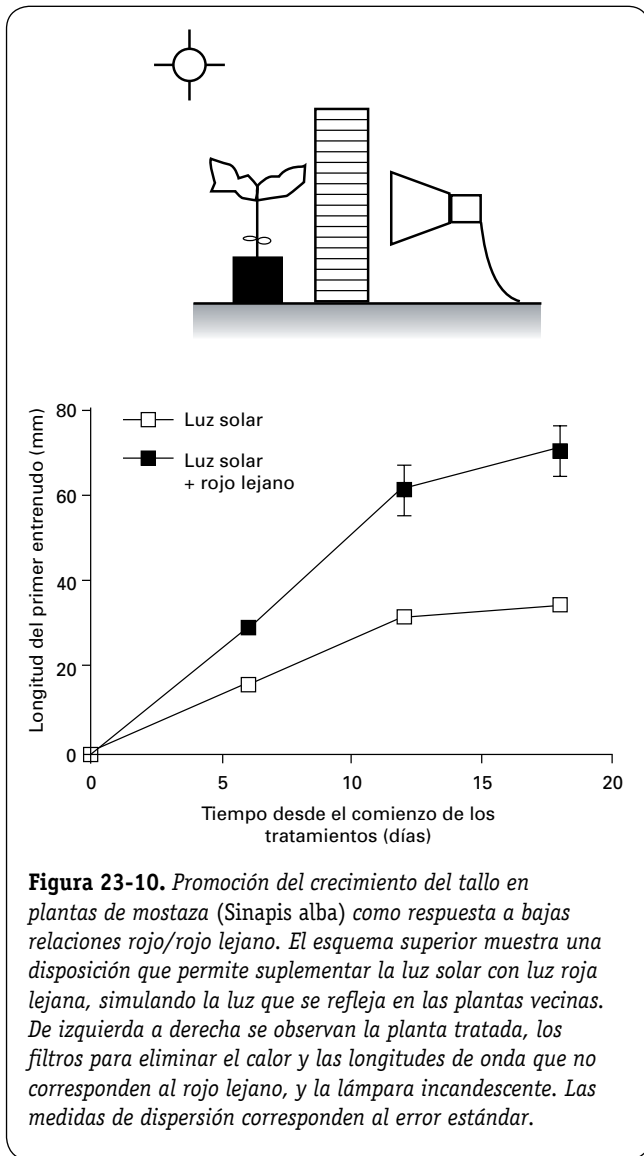
Los dos modos de respuesta de los fitocromos descritos en el apartado 6.1. no son exclusivos para el control de la germinación. Muchos aspectos de la desetiación pueden mostrar respuestas a muy bajos flujos y respuestas a bajos flujos como las que se describen en la Figura 23-7. Sin embargo, particularmente (pero no de modo exclusivo) para el caso de la desetiación, se puede distinguir un tercer modo

de respuesta, denominado respuesta a altas irradiancias. Este modo de respuesta resulta evidente cuando las plántulas cultivadas en oscuridad son transferidas a la luz roja lejana continua durante períodos prolongados, y es debido a la acción del fitocromo A. Si bien los modos de respuesta a muy bajos flujos y a bajos flujos pueden relacionarse con los niveles de Pfr establecidos por la luz, en el caso del modo de respuesta a alta irradiancia la relación no se ha establecido de modo inequívoco. En parte, la capacidad del rojo lejano de manifestar respuestas a alta irradiancia podría deberse a que la acción del fitocromo A se satura con las bajas proporciones de Pfr que establece el rojo lejano, y esas bajas proporciones no permiten elevadas tasas de destrucción (que es una reacción de primer orden, es decir, dependiente de la concentración de Pfr). Es probable, sin embargo, que el rojo lejano suministrado durante períodos prolongados ejerza algún efecto más específico. En condiciones naturales, el fitocromo A actuaría más bien como un sensor capaz de distinguir entre luz y oscuridad (aun cuando la luz sea escasa o de muy baja relación rojo/rojo lejano). Los mutantes carentes de fitocromo A son incapaces de desetiarse en ambientes muy ricos en rojo lejano, como los que se encuentran bajo doseles vegetales muy densos, y sus plántulas mueren tempranamente.

La desetiación puede inducirse con luz blanca pero también con luz azul, roja o roja lejana. Los principales fotorreceptores son el criptocromo 1, el fitocromo B y el fitocromo A, respectivamente. El dominio aminoterminal es el que determina la diferente especificidad fotosensora de los fitocromos A y B. Se han producido plantas transgénicas que sintetizan fitocromos con la porción aminoterminal del fitocromo A y la porción carbonoterminal correspondiente al fitocromo B. Estos fitocromos se comportan como fitocromos A (más activos bajo la luz roja lejana). En cambio, si el dominio aminoterminal corresponde al fitocromo B y el carbono terminal corresponde al fitocromo A, la molécula se comporta como un fitocromo B y favorece la desetiación en la luz roja.

6.3. La morfología de las plantas resulta afectada por el nivel de irradiancia y la relación rojo/rojo lejano, modificados por la presencia y la densidad de las plantas vecinas

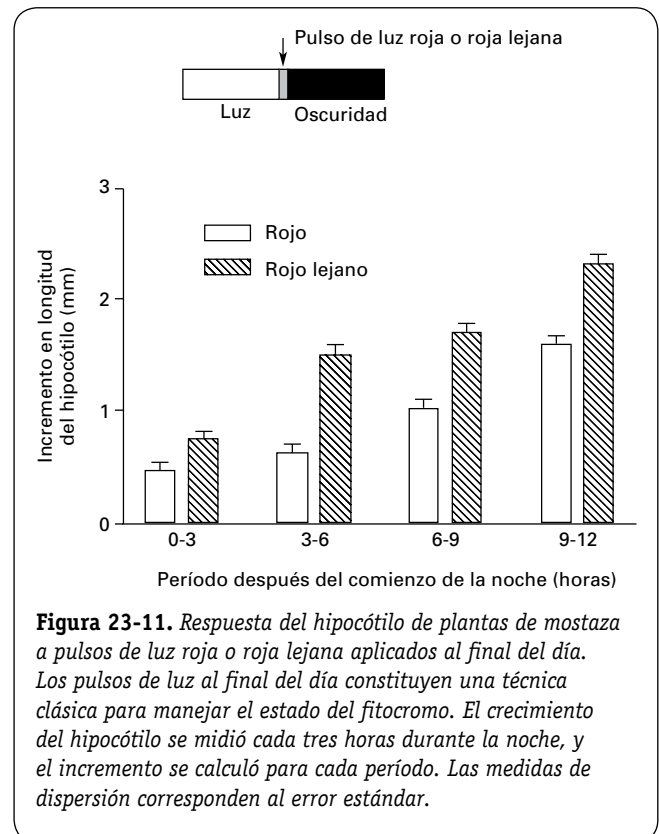
En respuesta a las bajas relaciones rojo/rojo lejano y las bajas irradiancias de luz azul, las especies dicotiledóneas suelen mostrar una notable promoción del crecimiento del tallo. Los efectos de proporciones reducidas de Pfr debidos a las bajas relaciones rojo/rojo lejano han sido estudiados en detalle en plantas de mostaza (*Sinapis alba* L) de un par de semanas de vida, en las que se está extendiendo activamente el primer entrenudo. Cuando la luz blanca utilizada para cultivar las plantas se enriquece con luz roja lejana, simulando la presencia de plantas vecinas, el crecimiento del tallo aumenta considerablemente (Fig. 23-10). La magnitud de este efecto depende de la reducción de la relación rojo/rojo lejano y, por



ende, de la proporción de Pfr (Fig. 23-4), provocada por el rojo lejano adicional. La respuesta tiene dos componentes dependientes de los órganos que reciben la señal. El rojo lejano adicional que llega al primer entrenudo provoca un efecto rápido, detectable con instrumental suficientemente sensible a partir de los 10 minutos de iniciada su aplicación. Después de algunas oscilaciones, a los 60 minutos la tasa de crecimiento se estabiliza en valores elevados que se mantienen mientras permanece el tratamiento con rojo lejano suplementario. Cuando dicho tratamiento se suspende, la tasa de extensión vuelve, en poco más de 15 minutos, a los valores bajos que se observaban antes de la estimulación. Por tanto, la promoción inducida en el entrenudo mismo se establece rápidamente, pero es poco persistente. Cuando la luz roja lejana suplementaria llega a las hojas, la promoción de la tasa de extensión del primer entrenudo es considerablemente más lenta y no se detecta en las dos primeras horas tras el inicio del tratamiento. Además, cuando se elimina el rojo lejano suplementario aplicado a las hojas, la tasa

de extensión del tallo no vuelve rápidamente a los valores previos a la estimulación sino que, después de la desaparición de la señal, permanece elevada durante aproximadamente 24 horas. En otras palabras, la promoción inducida en las hojas es persistente.

En el párrafo anterior se ha expuesto una de las formas de estudiar las respuestas a niveles bajos de Pfr. Otra técnica muy difundida consiste en aplicar pulsos de luz roja o rojo lejano al final del fotoperíodo. Si bien esta técnica no proporciona una buena simulación de los cambios naturales en el ambiente luminoso, es sencilla y brinda información sobre los procesos que pueden verse afectados por cambios en el estado del fitocromo. Consiste en cultivar las plantas bajo luz blanca con alta relación rojo/rojo lejano, como la luz solar (cuya relación es 1,1) o la luz suministrada por los tubos fluorescentes (cuya relación es mayor de 3), y exponer parte de las plantas a un pulso (5-10 minutos) de luz roja lejana inmediatamente después de finalizado el período con luz blanca (Fig. 23-11). El pulso de rojo lejano transforma en Pr la mayor parte de la forma Pfr presente al final del día. Como controles, algunas plantas no reciben el pulso, otras reciben un pulso de luz roja (que generalmente no tiene efecto pues, a lo sumo, eleva el nivel de Pfr más allá de la zona de respuesta) y otras son expuestas a rojo lejano seguido de rojo. Si el fitocromo media la respuesta, el segundo pulso debe anular el efecto del primero, dado que restablece el alto nivel de Pfr. En *Arabidopsis thaliana*, el fitocromo B



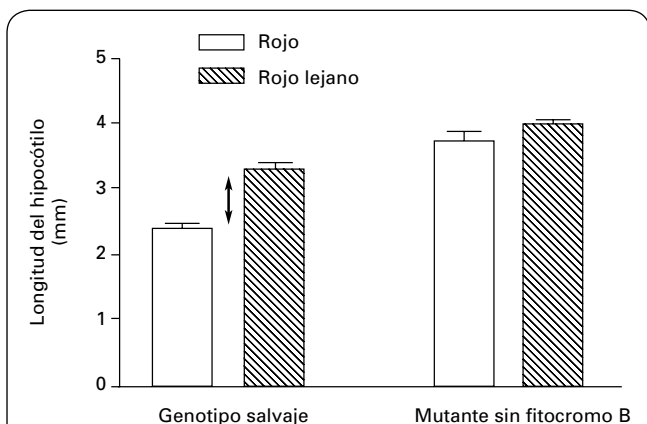


Figura 23-12. En *Arabidopsis thaliana* la respuesta del hipocótilo a pulsos de luz roja o roja lejana dados al final del día está mediada por el fitocromo B; por tanto, no se observa en mutantes sin ese fotorreceptor. Las medidas de dispersión corresponden al error estándar.

media las respuestas a pulsos de rojo lejano dados al final del día y, por tanto, dichos efectos no se observan en mutantes sin ese fotorreceptor (Fig. 23-12).

En las gramíneas, los bajos niveles de Pfr promueven el crecimiento en longitud de las vainas foliares. Tanto en las gramíneas como en las dicotiledóneas, es frecuente observar que la dominancia apical se refuerza, con la consecuente reducción en la producción de ramificaciones (Fig. 23-13). Las hojas o los vástagos pueden adoptar una posición más erecta. En algunos casos las plantas proyectan sus hojas horizontalmente hacia los espacios en los que la relación rojo/rojo lejano es más alta y reducen de ese modo la superposición con las hojas de las plantas vecinas. En conjunto, estos cambios favorecen la colocación de las hojas a mayor altura dentro del dosel vegetal y la menor producción de hojas a partir de ramificaciones basales, lo que disminuye las probabilidades de que el área foliar quede intensamente sombreada.

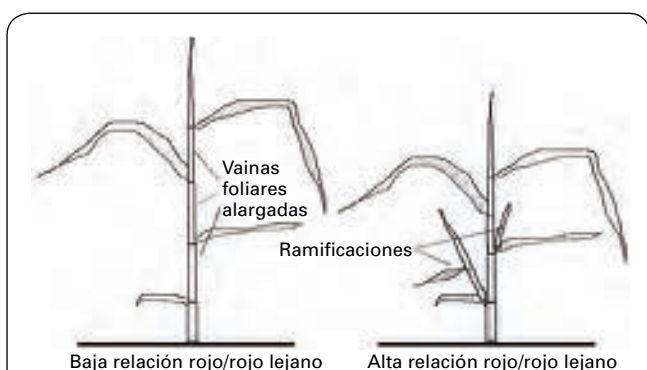


Figura 23-13. Las plantas de gramíneas (como trigo o raigrás) cultivadas con luz de baja relación rojo/rojo lejano tienen vainas foliares más alargadas y menos vástagos que las cultivadas con altas relaciones rojo/rojo lejano.

6.4. El ambiente luminoso regula el momento de la floración

En varias especies se ha observado que las bajas relaciones rojo/rojo lejano aceleran el momento en que se produce la transición entre la fase vegetativa y la fase reproductiva. Se considera que esta respuesta aumenta la probabilidad de que el desarrollo reproductivo avance antes de que la competencia por la luz con otras plantas haga que los recursos sean muy limitados. Otra señal importante es suministrada por el fotoperíodo, ya que algunas especies florecen o lo hacen más pronto cuando los días son largos, otras lo hacen cuando los días son cortos, y un tercer grupo no muestra respuestas al fotoperíodo (véase el Capítulo 25). La medición del fotoperíodo se basa en la coincidencia entre la luz y el ritmo circadiano. Los niveles de mRNA del gen *CONSTANS* están controlados por el reloj endógeno y siguen un ritmo circadiano que lleva a valores altos de expresión aproximadamente 12 horas después del comienzo del día. La proteína producida por el gen *CONSTANS* es inestable en la oscuridad, pero la luz percibida por el criptocromo 2 y el fitocromo A permite su estabilización. Por consiguiente, si el día es corto, cuando el nivel de mensajero de *CONSTANS* es alto la proteína no se acumula, porque no hay luz para estabilizarla. Además, durante la parte del día en que hay luz, el gen *CONSTANS* tiene niveles de mensajero muy bajos. En cambio, si el día es más largo, la luz llega hasta el momento en que los niveles de mensajero de *CONSTANS* son altos. Entonces, la proteína producida por el mensajero se estabiliza y se acumula. La proteína producida por el gen *CONSTANS* promueve la floración de las plantas que requieren días largos e inhibe la floración de las plantas que requieren días cortos. A diferencia del criptocromo 2 y el fitocromo A, en *Arabidopsis thaliana* el fitocromo B desestabiliza el producto del gen *CONSTANS* y, por ese motivo, las bajas relaciones rojo/rojo lejano que reducen la proporción de fitocromo B en su forma activa promueven la floración.

7. RUTA DE SEÑALIZACIÓN EN LA FOTOMORFOGÉNESIS

7.1. La fotomorfogénesis depende de la acción de los factores de transcripción

Las mutaciones de los genes de fotorreceptores que causan la pérdida de función de éstos hacen que las plantas reduzcan su capacidad para percibir la luz (Fig. 23-1). Los mutantes de fitocromo A, fitocromo B o criptocromo 1 son morfológicamente normales en la oscuridad, pero presentan graves defectos si son cultivados en luz roja lejana, roja o azul, respectivamente. En esas condiciones, las plantas de genotipo normal presentan hipocótilo corto, pero las mutantes lo mantienen alargado, igual o casi igual que en la oscuridad, porque no perciben bien la luz. Mediante la búsqueda de mutantes se han podido identificar algunos genes

cuyos productos actúan aguas debajo de los fotorreceptores y son necesarios para manifestar las respuestas a la luz. Un ejemplo es la proteína HY5. El mutante *hy5* presenta hipocótilo alargado con luz blanca, azul, roja o roja lejana, y de esta característica proviene su denominación (en inglés, *hypocotyl 5*).

En los eucariotas, los genes constan de dos regiones: una región codificante (cuya secuencia determina la secuencia de aminoácidos de la proteína) y una región promotora, o promotor, (que controla la expresión de la región codificante). Una estrategia frecuentemente utilizada para avanzar en el conocimiento de la expresión de genes por la acción de los fotorreceptores consiste en identificar las zonas del promotor del gen que son importantes para la regulación de la transcripción. Si la eliminación de una zona del promotor reduce su actividad, se infiere que en esa zona (**factor cis**) una proteína (**factor trans**) interactúa con el DNA incrementando la transcripción. Si la eliminación incrementa la actividad, se infiere que con esa zona del DNA interactúa un elemento represor. Para la fotomorfogénesis interesan particularmente aquellos elementos cuya acción activadora o represora depende de la luz. La proteína HY5 es, precisamente, un factor de transcripción que interacciona de modo específico con una secuencia particular de DNA (en inglés esta secuencia se denomina G-box) que es necesaria para el control de la expresión de los genes por la luz.

Cuando las plantas cultivadas en la oscuridad son transferidas a la luz, se produce un marcado reajuste del transcryptoma (conjunto de transcriptos). En particular, entre los genes que modifican su expresión más rápidamente se encuentra una alta proporción de factores de transcripción (por ejemplo, *HY5*, que pasa de niveles basales en la oscuridad a valores más elevados). En otras palabras, los fotorreceptores generan una cascada transcripcional en la que su acción modifica primero la expresión de algunos factores de transcripción, y éstos, a su vez, modifican la expresión de otros genes.

7.2. COP1 es un regulador negativo de la fotomorfogénesis que es, a su vez, regulado negativamente por la luz

También se ha obtenido una serie de mutantes en *Arabidopsis*, conocidos como *det* y *cop*, en los cuales las plántulas cultivadas en oscuridad completa presentan características típicas de las expuestas a la luz. En los mutantes *det* y *cop*, la fotomorfogénesis es constitutiva y no requiere luz para ser inducida. En la oscuridad, estas plantas muestran apertura de los cotiledones, inhibición del alargamiento del tallo, síntesis de antocianos y expresión de determinados genes que normalmente están controlados por la luz. A partir de estas observaciones se considera que en las plantas normales la fotomorfogénesis es reprimida en la oscuridad por los productos de los genes *DET* y *COP*, y que la luz elimina esta represión reduciendo la actividad de dichos productos. En los mutantes *det* y *cop*, la represión de la fotomorfogénesis no

está presente y, por tanto, las plántulas no exhiben el patrón típico de la escotomorfogénesis. El gen *COP1* codifica una proteína con función de E3 ligasa. Las E3 ligasa participan en el proceso de ubiquitinización que marca a ciertas proteínas para su posterior destrucción en el proteosoma 26S. Se han identificado factores de transcripción que pueden asociarse al producto del gen *COP1* (*COP1*) y, como consecuencia, son destruidos en el proteosoma 26S. Uno de estos factores de transcripción es *HY5*. De este modo, en la oscuridad, *COP1* se encuentra predominantemente en el núcleo y, como consecuencia de su actividad, los niveles de *HY5* se mantienen bajos, de modo que la desetiación (que requiere *HY5*) no se produce. La luz percibida por fitocromos y criptocromos causa la inactivación de *COP1*. Esta inactivación consiste, al menos en parte, en provocar la migración de *COP1* del núcleo al citoplasma. Al no estar *COP1* en el núcleo, los niveles de *HY5* crecen y, de esa manera, al eliminarse la represión impuesta por *COP1* la fotomorfogénesis progresa (Fig. 23-14). En el mutante *cop1*, los niveles de *HY5* son altos incluso en la oscuridad, y por ese motivo la plántula presenta características fotomorfogénicas a pesar de la ausencia de luz. El doble mutante entre *cop1* y *hy5* es similar al mutante *hy5*, pues, si bien carece de *COP1*, encargado de destruir a *HY5* en la oscuridad, tampoco tiene *HY5*.

7.3. Los criptocromos interactúan físicamente con COP1

La expresión del dominio carbonoterminal de los criptocromos aislados del dominio aminoterminal da como resultado plantas que muestran en la oscuridad rasgos típicos de las plantas expuestas a la luz (es decir, un fenotipo *cop*). Esta observación sugiere que, en la oscuridad, el dominio aminoterminal actuaría reprimiendo la capacidad de señalización del dominio carbonoterminal. La luz aliviaría esta represión, probablemente mediante una reacción redox en la que participa la flavina. *COP1* interactúa físicamente con el dominio carbonoterminal de los criptocromos. Esta interacción podría ser necesaria para la desactivación de *COP1* descrita en el párrafo 7.2. Además de la desactivación de *COP1*, los criptocromos también podrían actuar mediante cambios asociados a la membrana plasmática. La luz azul puede alterar la polaridad de las membranas, y los flujos de calcio parecen formar parte de la cadena de transducción de los criptocromos, al menos en algunas respuestas.

7.4. Los fitocromos interactúan físicamente con factores de transcripción

Utilizando dominios del fitocromo en el sistema del doble híbrido se han identificado varias moléculas que interactúan físicamente con los fitocromos. Algunas de estas moléculas son factores de transcripción, como *PIF3*. El *PIF3* es fosforilado por el fitocromo. Se ha observado, además, que preparaciones altamente purificadas de fitocromo son capaces de

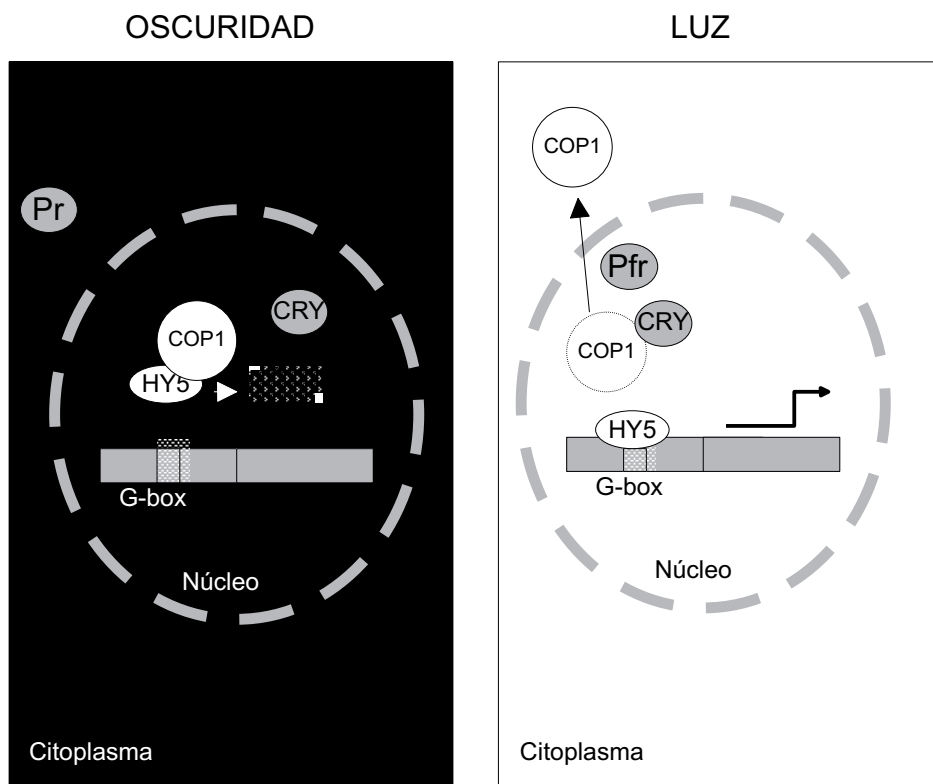


Figura 23-14. En las plántulas cultivadas en la oscuridad, COP1 causa la destrucción de factores de transcripción como HY5, que son necesarios para la expresión de los genes que causan la fotomorfogénesis. La luz, percibida por fitocromos y criptocromos (CRY), causa la salida de COP1 del núcleo. Esto permite que los niveles de HY5 aumenten y se produzca la fotomorfogénesis.

fosforilar el fitocromo mismo y otras proteínas endógenas. Tanto el fitocromo A como el B inducen la fosforilación de PIF3, la formación de agregados nucleares que contienen PIF3 y la degradación de PIF3. PIF3 reprime la fotomorfogénesis, de modo que la inducción de su destrucción por los fitocromos es otra de las vías por las que estos fotorreceptores favorecen la fotomorfogénesis. Hasta el momento no se han observado respuestas fotomorfogénicas de mutantes *pif3* cultivados en la oscuridad, sino una fotomorfogénesis exagerada cuando la plántula es expuesta a la luz. Por ese motivo, PIF3 podría considerarse un regulador de las señales de los fitocromos más que un intermediario directo entre los fitocromos y las respuestas fotomorfogénicas, pero por el momento no puede excluirse por completo un papel más preponderante.

7.5. La luz controla la extensión celular

El crecimiento se ve afectado por la acción de los fotorreceptores, tanto durante la germinación (aumenta la capacidad de crecimiento del embrión) como durante la desetiación (se inhibe el crecimiento de los ejes caulinareos mientras se promueve la expansión de las hojas), así como durante «el

sombreado» por la presencia de plantas vecinas (el crecimiento de los tallos en las dicotiledóneas y de las vainas foliares en las gramíneas aumenta con las bajas relaciones rojo/rojo lejano y las bajas irradiancias). El crecimiento de un tejido depende del crecimiento de sus células, como se explica en el Capítulo 18. Ello implica un aumento irreversible de su tamaño, a diferencia de los cambios reversibles que se producen, por ejemplo, en las células oclusivas cuando los estomas se abren. Para que exista crecimiento debe entrar agua en las células, generando turgencia, y la pared que las rodea se debe expandir de forma irreversible. Como consecuencia, el crecimiento suele expresarse como el producto de la extensibilidad de las paredes por la presión de turgencia, a partir de un umbral mínimo de turgencia. El crecimiento puede modificarse alterando la presión de turgencia o la velocidad con la que las paredes se «ablandan». Estudios realizados en varias especies sugieren que la luz (en particular la luz azul) reduce la extensibilidad de las paredes del tallo sin modificar la presión de turgencia ni el umbral de presión que debe superarse para que se produzca el crecimiento. Aún no se conocen los pasos bioquímicos involucrados en este efecto; sin embargo, se ha observado que la luz azul percibida por los criptocromos 1 y 2 activa un canal de aniones, causando la despolarización de la membrana. La luz azul po-

dría actuar incrementando el pH del apoplasto y reduciendo, de este modo, la actividad de las expansinas. Las expansinas son proteínas extracelulares que se consideran importantes para el «ablandamiento» de las paredes que permite incrementar su extensibilidad.

7.6. La fotomorfogénesis requiere la acción de las hormonas

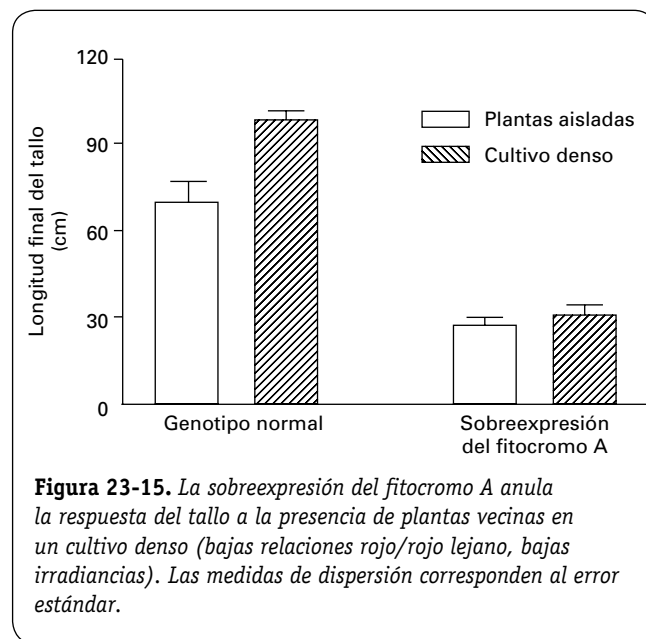
Muchos de los procesos controlados por el fitocromo también son modificados por la acción de las hormonas. Por ejemplo, tanto la luz roja lejana (utilizada para reducir el nivel de Pfr de las plantas cultivadas bajo luz blanca) como el ácido giberélico promueven el crecimiento del tallo. Con signos variables, esta asociación entre el ácido giberélico y las respuestas fotomorfogénicas también se observa para la germinación y para la floración, entre otros procesos. El análisis de plantas mutantes o transgénicas con niveles anormales de fitocromo muestra alteraciones en los niveles de giberelinas, o en la sensibilidad a ellas. Por ejemplo, los mutantes de sorgo y de *Brassica* deficientes en fitocromo B presentan niveles elevados de giberelinas. En consonancia con estas observaciones, las plantas de tabaco que sobreexpresan el fitocromo A contienen niveles bajos de giberelinas. Sin embargo, en mutantes de *Arabidopsis thaliana*, pepino o arveja deficientes en fitocromo B, los niveles de GA son cercanos a los normales, mientras que la capacidad de respuesta al ácido giberélico es sensiblemente mayor. Así, aunque los datos disponibles no son suficientes para establecer un esquema definitivo, parece evidente que al menos algunas respuestas mediadas por el fitocromo requieren la interacción entre las cadenas de transducción del fitocromo y de GA.

Otro ejemplo interesante es el de los brasinoesteroides. El mutante *det2* muestra algunos aspectos típicos de la fotomorfogénesis en la oscuridad (plantas adultas de reducida estatura, senescencia retrasada y respuestas fotoperiódicas alteradas). El gen *DET2* codifica una reductasa involucrada en los pasos iniciales de la síntesis de brasinólido (véase el Capítulo 22). Esta observación pone de manifiesto la participación de los brasinoesteroides en la fotomorfogénesis. Los niveles de auxinas en la epidermis de los tallos también pueden ser modificados por el fitocromo, y existen sistemas en los que se han detectado cambios en otras hormonas vegetales asociados a la acción del fitocromo.

8. POSIBLES APLICACIONES DEL CONOCIMIENTO SOBRE LA FOTOMORFOGÉNESIS A LA PRODUCCIÓN VEGETAL

El ajuste de las plantas al ambiente luminoso de los cultivos no ha sido optimizado desde el punto de vista pro-

ductivo. Por ejemplo, las bajas relaciones rojo/rojo lejano incrementan la dominancia apical, y algunas gramíneas forrajeras producen, en estas condiciones, menos ramificaciones de las que podrían sobrevivir con los recursos disponibles de agua, nutrientes y luz para fotosíntesis. Esto puede observarse en experimentos en los que la relación rojo/rojo lejano se incrementa sin alterar la disponibilidad de los recursos. En cultivos extensivos no es sencillo alterar el ambiente luminoso; sin embargo, es posible alterar el nivel de fotorreceptores, de modo que la planta responda al ambiente que la rodea como si el cultivo no fuera tan denso como en realidad es. Esta posibilidad ya ha comenzado a ser explorada. Algunos investigadores han propuesto que la estimulación del crecimiento del tallo que aparece como consecuencia de las bajas relaciones rojo/rojo lejano características de los cultivos con densidad comercial iría en detrimento de la translocación de los recursos hacia los órganos cosechados. La idea está siendo evaluada mediante la utilización de plantas que sobreexpresan fitocromo y, en consecuencia, no aumentan el crecimiento del tallo en respuesta a las plantas vecinas (Fig. 23-15). Se ha observado que plantas de patata que expresan fitocromo B de *Arabidopsis thaliana* tienen mayor rendimiento en los tubérculos si son cultivadas a densidades muy altas. Aunque no es posible predecir el beneficio que estas líneas de trabajo puedan brindar en el futuro, es claro que ofrecen una potencial vía de aplicación del conocimiento básico acumulado en el campo de la fotomorfogénesis.



RESUMEN



- Las plantas reciben información de su ambiente luminoso gracias a la acción de los fotorreceptores: los fitocromos (que perciben principalmente la luz roja y roja lejana), los criptocromos y las fototropinas (fotorreceptores de luz azul) y los fotorreceptores de ultravioleta B, aún no identificados.
- Los fitocromos son una familia de fotorreceptores codificados por genes divergentes, que poseen dos formas, Pr (forma en que son sintetizados) y Pfr. Se considera que Pfr es la forma activa que promueve la germinación de las semillas al ser expuestas a la luz, que mediatiza los cambios morfológicos y moleculares cuando las plántulas pasan de crecer en la oscuridad a crecer con luz, y que inhibe el crecimiento del tallo y la dominancia apical cuando no existen plantas vecinas cercanas. Los criptocromos cooperan con los fitocromos, al menos en algunas de estas respuestas.
- Los fitocromos y los criptocromos inhiben la acción de COP1, un represor de la fotomorfogénesis que participa de los procesos conducentes a la destrucción de los factores de transcripción que mediatizan dicho proceso.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi agradecimiento a la Universidad de Buenos Aires, el CONICET y la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica por la financiación de los proyectos de investigación de nuestro grupo. También agradezco a María Agustina Mazzella y Javier Botto que me hayan proporcionado algunos de los datos originales presentados en este capítulo, y a Marcelo Yanovsky sus sugerencias sobre el texto.

PROBLEMAS Y CUESTIONES



- 1 ¿Cómo afectaría al crecimiento y desarrollo de una planta la mutación del gen que codifica la apoproteína del fitocromo B?
- 2 Comente la siguiente afirmación: la exposición de las plantas a la luz roja lejana puede activar o desactivar los distintos miembros de la familia de los fitocromos.
- 3 ¿Por qué en las descripciones del ambiente luminoso en bosques o en cultivos se suelen encontrar valores de relación rojo/rojo lejano, pero no de la relación entre la luz azul y la luz verde?
- 4 Comente esta observación: las plantas de *Arabidopsis thaliana* deficientes en la síntesis del cromóforo de fitocromo son más altas que las normales cuando son desetioldadas, tanto con la luz roja como con la luz roja lejana.
- 5 Durante la desetioldación, los niveles de fitocromo A descienden de manera acusada debido a la destrucción del pigmento en su forma activa y a la represión parcial de su síntesis. ¿Qué ventajas podría representar este comportamiento?
- 6 Comente la siguiente afirmación: las plantas etioladas expuestas a la luz azul presentan aumentos en los niveles de mRNA de algunos genes. Esto demuestra que los criptocromos controlan la expresión de dichos genes.
- 7 Es frecuente observar que, cuando un campo es arado durante el día, la población de malezas y malas hierbas que aparece es más numerosa que cuando esta labor se realiza de noche. Proponga una explicación.
- 8 Suponga que se ha transformado genéticamente una mala hierba con el gen del fitocromo B asociado a un promotor fuerte de la transcripción para lograr la sobreexpresión del pigmento. ¿Cómo afectaría esta circunstancia al comportamiento de la mala hierba en el campo?



RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1 Los fitocromos son fotorreceptores que constan de un cromóforo y una porción proteica. Cuando el gen que codifica la apoproteína no es normal, ésta puede resultar gravemente afectada. Si éste es el caso, el fotorreceptor resultará no funcional, aunque haya disponibilidad de cromóforo. En ausencia de fitocromo B funcional, faltarán las acciones de la forma Pfr del fitocromo B, pues ésta es la forma activa del pigmento. En consecuencia (y dependiendo de la especie), podrán encontrarse fallos en la germinación de las semillas, desetiación deficiente, entrenudos muy alargados y pocas ramificaciones. La magnitud de estos efectos dependerá del grado de control de los diversos procesos por parte del fitocromo y de la medida en que otros miembros de la familia puedan reemplazarlo.
- 2 La afirmación es correcta. El rojo lejano es la longitud de onda más eficiente para transformar Pfr en Pr, es decir, para pasar el fitocromo a su forma inactiva. Sin embargo, dado que los espectros de absorción de Pr y Pfr se superponen parcialmente, el rojo lejano también es capaz de pasar una pequeña proporción de Pr a Pfr. En un tejido etiolado, un pulso de rojo lejano va a transformar algo de la forma Pr existente en Pfr. Esta pequeña proporción de Pfr es biológicamente significativa para el fitocromo A, pero no para el fitocromo B. En un tejido previamente expuesto a la luz blanca, el principal efecto del rojo lejano es convertir Pfr del fitocromo B en Pr.
- 3 Cualquier aspecto del ambiente luminoso es importante para la planta sólo en la medida en que pueda percibirlo. No hay fotomorfogénesis sin fotorreceptores. La relación rojo/rojo lejano puede ser percibida por el fitocromo. No se conoce ningún pigmento fotomorfogénico que mida la relación azul/verde.
- 4 Mientras que las plantas mutadas en los genes correspondientes a las apoproteínas de fitocromo A o B son más altas que las normales en la luz roja lejana o roja, respectivamente, las mutantes deficientes en la síntesis de cromóforo muestran una inhibición deficiente del crecimiento del hipocótilo en ambas situaciones. Esto se debe a que la falta de cromóforo afecta a todos los fitocromos (incluso al fitocromo A y al fitocromo B).
- 5 Una vez que la desetiación ha concluido, una alta sensibilidad a pequeñas caídas de la relación rojo/rojo lejano permitiría responder a la presencia de plantas vecinas antes de que éstas compitan seriamente por la luz. Esto es posible si el rojo lejano reflejado en las plantas vecinas alivia la inhibición del alargamiento del tallo mediante la retirada parcial de la forma activa del pigmento. Efectivamente, el rojo lejano reduce los niveles de fitocromo B en su forma activa, pero permite que el fitocromo A se mantenga activo. Si el nivel del fitocromo A fuera muy alto después de la desetiación, la luz roja lejana reflejada produciría una señal conflictiva: reducción de la inhibición del crecimiento del tallo por el fitocromo B y refuerzo de la inhibición provocada por el fitocromo A. Esta situación no permitiría una adecuada respuesta a la presencia de plantas vecinas. De hecho, la sobreexpresión del fitocromo A (que resulta en niveles muy superiores a los normales en plantas desetiadas) reduce las respuestas a la densidad del cultivo (Fig. 23-13). Por tanto, la caída de los niveles de fitocromo A durante la desetiación podría favorecer la percepción de señales asociadas a la presencia de plantas vecinas.
- 6 La afirmación no es correcta. Los efectos de la luz azul podrían deberse a la acción de algún criptocromo o a la acción del fitocromo, que también absorbe luz azul.
- 7 Cuando se ara, la tierra se desplaza, se remodela y se hace rotar. En este movimiento, algunas semillas son expuestas durante fracciones de segundo a la radiación solar, para luego volver a quedar enterradas. Si las semillas tienen la capacidad de producir «respuestas a muy bajos flujos», esas breves exposiciones son suficientes para estimular su germinación una vez enterradas (es decir, no expuestas a la desecación impuesta por los períodos prolongados de sol), y producir plántulas en un momento en el que muchas competidoras potenciales han sido eliminadas por la labor.
- 8 Las plantas reciben luz roja lejana reflejada por las plantas cercanas dentro del cultivo. La caída de la relación *rojo/rojo lejano* causa una disminución de la proporción del fitocromo que se encuentra en su forma activa (Pfr). Como consecuencia de ello se incrementa la tasa de extensión del tallo y las hojas quedan dispuestas a mayor altura dentro del dosel. Si una planta sobreexpresa fitocromo B, la menor proporción de Pfr como resultado de la reducción de la relación rojo/rojo lejano puede dejar aún una cantidad importante de moléculas de Pfr (porque el número total de moléculas es mayor). Por consiguiente, la planta podría no incrementar significativamente su altura y perder en la competencia por los recursos con sus vecinas.

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA



1. Casal JJ, Fankhauser C, Coupland G *et al.* Signalling for developmental plasticity. *Trends in Plant Science* 2004; 9:309-314.
2. Casal JJ, Yanovsky MJ. Regulation of gene expression by light. *International Journal of Developmental Biology* 2005; 49:501-511.
3. Chen M, Chory J, Fankhauser C. Light signal transduction in higher plants. *Annu Rev Genet* 2004; 38: 87-117.
4. Fankhauser C, Casal JJ. Phenotypic characterisation of a photomorphogenic mutant. *Plant Journal* 2004; 39: 747-760.
5. Schäfer E, Nagy F. *Photomorphogenesis in plants and bacteria*. Dordrecht, 2006.
6. Wada M, Shimazaki K, Iino M. *Light Sensing in Plants*. Tokyo, Springer-Verlag, 2005.

Movimientos de las plantas: tropismos y nastias

LUISA MOYSSET Y ESTHER SIMÓN



1. Introducción. 2. Tropismos. 3. Fototropismo. 4. Gravitropismo. 5. Nastias. 6. Nictinastias. 7. Movimientos rítmicos. 8. Seismonastias.

1. INTRODUCCIÓN

Muchos son los aspectos que diferencian a las plantas de los animales; uno de los más destacados es su aparente inmovilidad. Aun cuando existen algunos organismos vegetales de vida libre y otros que forman gametos o esporas con capacidad para desplazarse, la mayoría de las plantas están fijadas en el suelo, y no pueden escapar, como hacen los animales, cuando las condiciones ambientales son adversas. Sin embargo, sorprende comprobar cómo han desarrollado sofisticados sistemas de percepción y respuesta a los cambios ambientales. Estas respuestas suelen implicar un «movimiento». En su obra *Power of Movements in Plants* (1881), Darwin nos legó ya un detallado análisis de estos movimientos, a menudo imperceptibles para un observador superficial. Por otra parte, la «capacidad de moverse» permite a las plantas no sólo sobrevivir en condiciones adversas, sino también coordinar su desarrollo en el espacio y en el tiempo a fin de optimizar su relación con el medio (adquisición de nutrientes, defensa frente a los animales, frente a un exceso de radiación, etc.).

Muchos movimientos vegetales son **inducidos** por variados **estímulos ambientales**; entre ellos, uno fundamental es la luz, condicionante absoluto del normal desarrollo de la planta. Existen, sin embargo, movimientos **autónomos** que están bajo el control de señales internas, aun cuando pueden ser modificados por estímulos externos. Tal es el caso de los **movimientos rítmicos** y de la **circumnutación**, o movimiento elíptico que describen los ápices de tallos y zarcillos al crecer.

Las respuestas de movimiento pueden afectar a órganos de la planta (hojas, brotes, raíces, etc.) que, desplazándose, cambian su orientación en el espacio, o producirse a nivel

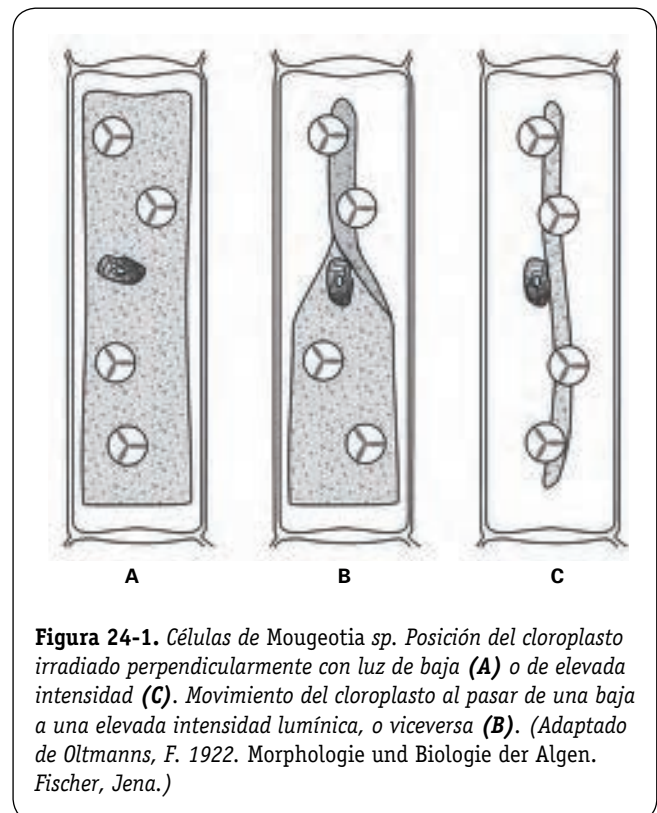


Figura 24-1. Células de *Mougeotia sp.* Posición del cloroplasto irradiado perpendicularmente con luz de baja (A) o de elevada intensidad (C). Movimiento del cloroplasto al pasar de una baja a una elevada intensidad lumínica, o viceversa (B). (Adaptado de Oltmanns, F. 1922. *Morphologie und Biologie der Algen*. Fischer, Jena.)

celular. Éste es el caso de las corrientes citoplasmáticas observadas, por ejemplo, en plasmodios de *Physarum* y de los cloroplastos de ciertas algas, como *Mougeotia*, cuya posición depende de la intensidad y la calidad de la luz (Fig. 24-1).

Atendiendo a su mecanismo fisiológico, tradicionalmente se distinguen dos tipos de movimientos: los que implican crecimiento del órgano y aquellos que se producen sin cambio alguno en el tamaño. Al primer grupo corresponden los tropismos y la circumnutación; al segundo, las nastias y fenómenos relacionados. En los primeros, la planta, fija en el suelo, responde con el crecimiento diferencial de un órgano, lo que origina la curvatura de éste y, en consecuencia, una mejor posición para afrontar el cambio ambiental. Un ejemplo bien conocido es el **fototropismo**, que produce la inclinación de las plantas hacia una fuente de luz unilateral con el fin de obtener un mejor aprovechamiento de la energía luminosa (Fig. 24-2). En el caso de las **nastias**, por el contrario, la causa primaria del movimiento es un cambio de turgencia celular que provoca una modificación de la posición del órgano en el espacio.

Algunos movimientos pueden ser consecuencia de cambios de turgencia, de crecimiento, o de ambos, como el enrollamiento de los zarcillos de las plantas trepadoras. Estos órganos cilíndricos, largos y delgados, derivados de tallos u hojas, contactan mediante circumnutación espontánea con un soporte rígido, o tutor, y se enrollan a su alrededor. Los zarcillos no estimulados se alargan a partir de la base, pero, tras ser estimulados mecánicamente, la elongación se pro-

duce en el ápice. En *Pisum*, el enrollamiento se inicia a los 2 minutos de la estimulación a causa de la flacidez (por pérdida de agua) de las células que contactan con el tutor y del aumento de turgencia de las células opuestas (fase tigmomástica). Dos horas más tarde se observa que la curvatura continúa por crecimiento diferencial (fase tigmotrópica).

Al considerar la fisiología del movimiento hay que tener presentes dos aspectos. En primer lugar, la planta posee **sensores** o **receptores** específicos capaces de **percibir el estímulo externo** y, en segundo lugar, se produce una **respuesta específica** como consecuencia de acontecimientos bioquímicos desencadenados por la percepción. Intervienen, pues, *gravirreceptores*, *fotorreceptores*, *termorreceptores* y otros, que perciben las señales gravitacionales, luminosas, térmicas, etcétera, y cada movimiento tiene su particular **sistema de respuesta**. El número de receptores estimulados al percibirse una señal es muy pequeño en comparación con la respuesta desencadenada. Ello implica la necesidad de una serie de reacciones intermediarias que enlazan percepción con respuesta, amplificando e integrando la señal o señales recibidas. Es lo que se conoce con el nombre de **transducción**. Las vías de transducción de distintas señales poseen componentes comunes (véase el Capítulo 18).

2. TROPISMOS

Los tropismos son movimientos de curvatura de los órganos vegetales inducidos por estímulos ambientales direccionales como la luz (**fototropismo**), la gravedad (**gravitropismo**), la temperatura (**termotropismo**), los gradientes de potencial hídrico (**hidrotropismo**), los compuestos químicos (**quimiotropismo**) o los estímulos mecánicos (**tigmotropismo**).

La dirección de estos movimientos depende de la dirección del estímulo. La respuesta es positiva o negativa según el órgano se aproxime o se aleje del estímulo y, en general, se debe a un crecimiento diferencial irreversible entre partes opuestas de un órgano pero, excepcionalmente, puede ser provocada por cambios de turgencia reversibles.

El fototropismo y el gravitropismo han sido los casos más estudiados. La investigación sobre el fototropismo, iniciada por Darwin (1881), dio lugar al descubrimiento de las auxinas (véase el Capítulo 19). Durante mucho tiempo, los avances en el campo de los tropismos han sido lentos, ya que la mayoría de los trabajos se basaban en la observación de la respuesta final. Recientemente, la obtención de mutantes con alteraciones en uno u otro movimiento ha permitido profundizar en el conocimiento de éstos, que, no obstante, continúan siendo objeto de intensa investigación.

Fototropismo y gravitropismo tienen en común el hecho de que son inducidos por estímulos direccionales, pero existe una diferencia muy destacable en cuanto al estímulo que los desencadena. La gravedad actúa de forma continua en el tiempo y es relativamente uniforme en intensidad y dirección. En cambio, la luz es variable en todos estos atributos y también en calidad. Ello determina que, después de la germinación, en tanto las plántulas permanecen en el

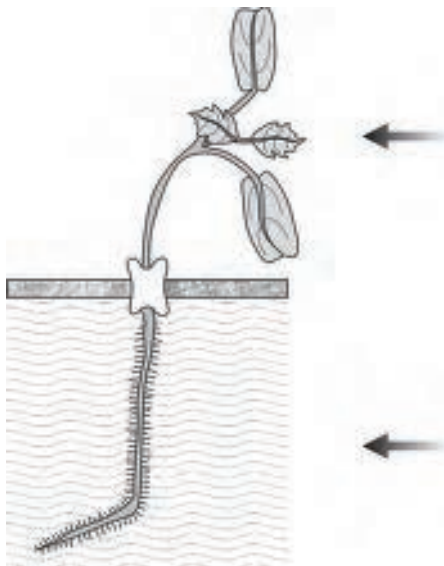


Figura 24-2. Respuesta fototrópica de una plántula de *Sinapis alba* inducida por una irradiación unilateral. El hipocótilo se curva hacia el estímulo (fototropismo positivo) y la raíz se aleja de él (fototropismo negativo). Los cotiledones y las hojas se orientan perpendicularmente a la dirección de la radiación (diafototropismo). (Adaptado de Boysen-Jensen, P. 1939. Die Elemente der Pflanzenphysiologie. Fischer, Jena.)

interior del suelo, la dirección del crecimiento esté bajo el control de la gravedad; sin embargo, una vez que las plántulas alcanzan la superficie del suelo y se transforman en autótrofas, la dirección del crecimiento del tallo, la raíz y los órganos laterales es el resultado de una continua interacción entre luz, gravedad y otros estímulos. El inicio de la curvatura fototrópica altera la posición del órgano y, por tanto, induce inevitablemente la respuesta gravitropica.

3. FOTOTROPISMO

El fototropismo es la curvatura de un órgano vegetal inducida por un gradiente externo de luz, el cual puede conseguirse a través de una irradiación unilateral o mediante irradiación bilateral, radial o vertical asimétrica. El fototropismo se manifiesta en plántulas, brotes y órganos reproductores, incluidos los esporóforos de musgos y los esporangióforos de hongos. En general, los tallos y los órganos aéreos muestran fototropismo positivo, mientras que las raíces y otros órganos subterráneos presentan fototropismo negativo (Fig. 24-2) o son insensibles a un gradiente de luz. Existen muchas excepciones a esta norma. Los zarcillos de muchas especies trepadoras son fototrópicamente negativos. Los pedúnculos de flores fertilizadas de *Cymbalaria muralis* presentan fototropismo negativo. Los tallos de *Hedera helix* muestran fototropismo negativo en la fase juvenil y positivo en la madurez.

El **significado adaptativo** del fototropismo es obvio; no obstante, experimentos realizados con mutantes no permiten concluir que esta respuesta sea esencial para la supervivencia de la especie, ya que sólo se manifiesta en ciertas condiciones; así, es muy importante en las plántulas. En las dicotiledóneas, el fototropismo positivo del eje del brote orienta los cotiledones y las hojas jóvenes perpendiculares a la radiación incidente, lo que optimiza la captación de la luz. En etapas posteriores de la ontogenia vegetal, la orientación de las hojas es el resultado de la interacción entre fototropismo, gravitropismo y epinastia.

3.1. Las plantas perciben la dirección de la radiación estableciendo un gradiente interno de luz

Este **gradiente interno de luz** puede conseguirse por dos mecanismos: refracción y atenuación. La **refracción de la luz** (*efecto lente*) es posible en las células transparentes, con un índice de refracción distinto al del medio, que sean lo suficientemente esféricas y grandes para actuar como una lente y enfocar un rayo de luz. La **atenuación de la luz** se produce a través de la *absorción* de la radiación (por el propio sistema fotorreceptor, por otros pigmentos, o por ambos medios) y de su *dispersión*. Estos dos mecanismos se dan en los esporangióforos de *Phycomyces* (Fig. 24-3), mientras que

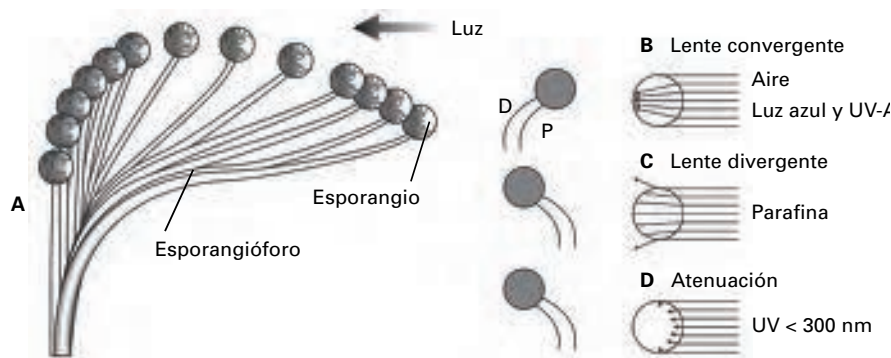


Figura 24-3. Fototropismo del esporangióforo de *Phycomyces* inducido por una irradiación unilateral de luz azul (A). El esporangióforo es una célula cilíndrica casi transparente con una vacuola central rica en ácido gálico y un esporangio esférico en su ápice. La zona de fotorrecepción y la de respuesta coinciden y abarcan los 0.5-3 mm justo por debajo del esporangio. La curvatura se produce por un mayor crecimiento en la zona iluminada y es inducida por la formación de un gradiente interno de luz creado por refracción (B y C) o atenuación (D). B, C y D corresponden a secciones transversales de la zona fotorreceptora. P, parte proximal. D, parte distal. El esporangióforo tiene un índice de refracción (n) interno de 1.36 y, cuando se encuentra en el aire ($n = 1$), se comporta como una lente convergente, la radiación unilateral converge en el lado distal, es decir, en el lado opuesto a la fuente lumínica, y el esporangióforo se curva hacia la luz (B). Cuando el esporangióforo se sumerge en parafina ($n = 1.47$) actúa como una lente divergente, el flujo fotónico es superior en el lado proximal que en el distal y el esporangióforo se curva alejándose de la luz (C). Si el esporangióforo se irradia con luz UV (D), radiación que es absorbida por el ácido gálico, el flujo fotónico del lado proximal es superior al del distal y, en consecuencia, el esporangióforo se aleja de la fuente de luz. (Adaptado de: A, Shropshire, 1974. «Progress in Photobiology». Schenk (ed.). Paper n.o 024. Deutsche Gesellschaft für Lichtforschung. Frankfurt A. M.; B y C, de Buder, J. 1918. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 36:104-105, Banbury, G. H. 1952. Journal of Experimental Botany 3:77-85; y D, de Delbrück, M. Shrospire, W. 1960. Plant Physiology, 35:194-204.)

en los órganos de los cormófitos sólo interviene el segundo. En los coleóptilos de *Avena*, la zona de máxima sensibilidad fototrópica se localiza en el ápice. En los hipocótilos, la percepción tiene lugar a lo largo de todo el órgano.

3.2. El fototropismo es una respuesta a la luz azul y ultravioleta A

Los espectros de acción del fototropismo de coleóptilos etiolados de *Avena* (Fig. 24-4), hipocótilos de dicotiledóneas y esporangióforos de *Phycomyces* son prácticamente idénticos. Se observa actividad en la región azul (475 nm, 450 nm y 420 nm) y en la ultravioleta A (UV-A), cerca de 370 nm. En ningún caso hay respuesta a las longitudes de onda superiores a 500 nm. Estas características indican que el fototropismo es una respuesta inducida por la luz azul y UV-A.

Durante muchos años ha sido muy debatida la naturaleza del fotorreceptor del fototropismo, puesto que carotenoides y flavinas absorben luz azul y UV-A (Fig. 24-4). Sin embargo, estudios moleculares recientes sobre el fototropismo de los hipocótilos en plantas mutantes de *Arabidopsis thaliana* han permitido el descubrimiento de las **fototropinas** (véase el Capítulo 23). Estos fotorreceptores, con un cromóforo tipo flavina, identificados también en otros sistemas, se consideran actualmente los fotorreceptores responsables del fototropismo. Las fototropinas también intervienen en otras respuestas fisiológicas, como el movimiento de los cloroplastos y la abertura estomática inducida por la luz azul (Kimura y Kagawa, *Current Opinion in Plant Biology*, 9:503-508, 2006).

De modo excepcional, el fototropismo del protonema y del esporófito de *Adiantum capillus-veneris* se induce por la irradiación con luz azul y roja. El fotorreceptor responsable es el fitocromo 3, una molécula de fototropina con un dominio fitocromo adicional (Kagawa, *J. Plant Res.* 116:77-82, 2003).

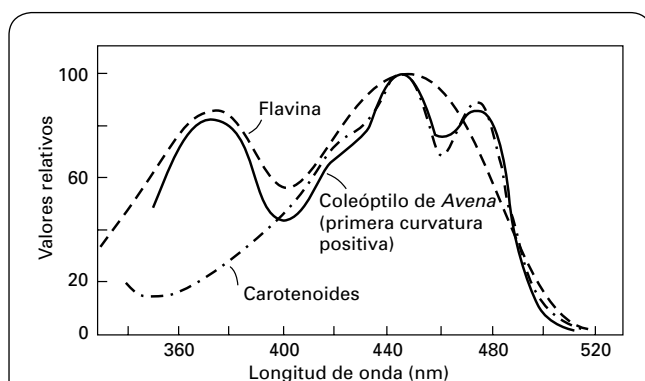


Figura 24-4. Espectro de acción del fototropismo de coleóptilos de *Avena* (línea continua) y espectros de absorción de carotenoides y flavinas (líneas discontinuas). (Adaptado de Shropshire, W., Withrow R. B. 1958. *Plant Physiology*, 33:360-365.)

3.3. El grado de curvatura depende de la dosis de radiación incidente

La magnitud y la dirección de la curvatura fototrópica dependen de la energía o el flujo fotónico total del estímulo, es decir, del producto de la tasa de flujo ($J \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$) por el tiempo (s) de irradiación. Por tanto, la dosis o energía ($J \cdot m^{-2}$) del estímulo puede variarse alterando la tasa de flujo fotónico o el tiempo de irradiación. Una misma dosis se consigue con altas tasas de flujo fotónico y breve tiempo de irradiación, o con bajas tasas de flujo fotónico e irradiación prolongada.

En la Figura 24-5 se muestran tres **curvas flujo-respuesta** del fototropismo de coleóptilos de *Avena* inducido por una irradiación unilateral de luz azul. Las tres curvas difieren en las tasas de flujo fotónico y en el tiempo de irradiación. Con la tasa de flujo fotónico más alta (curva C) se observa que, a partir de un flujo umbral ($0.001 J \cdot m^{-2}$), la curvatura del coleóptilo hacia la luz (**fototropismo positivo**) aumenta al incrementar el flujo total hasta alcanzar un valor máximo (30°) para flujos entre $0.1-1 J \cdot m^{-2}$. Luego, al aumentar el flujo, la magnitud de la curvatura disminuye (**rama descendente**) hasta que el coleóptilo llega a alejarse de la fuente de luz (**fototropismo negativo**). Con flujos fotónicos superiores, la curvatura aumenta de nuevo hacia la luz (**fototropismo positivo**). La rama ascendente es la **primera curvatura positiva**, la descendente hasta el mínimo subsiguiente la **primera curvatura negativa**, y el segundo aumento la **segunda curvatura positiva**.

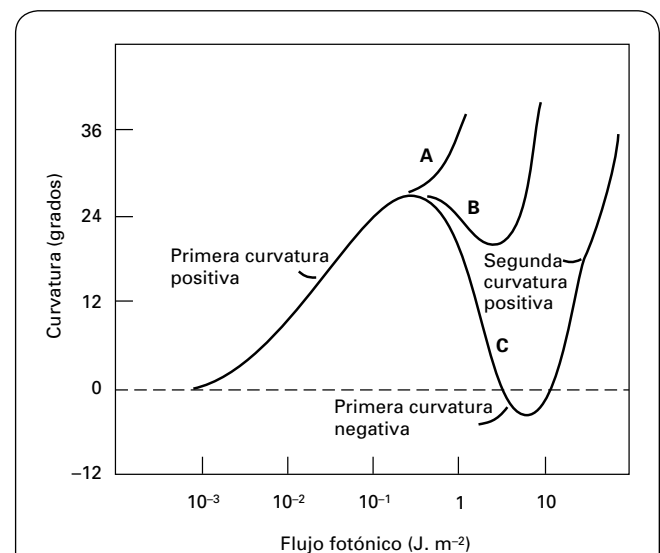


Figura 24-5. Curvas flujo-respuesta del fototropismo de coleóptilos de *Avena* inducido por una irradiación unilateral de luz azul (436 nm) de $3.84 \cdot 10^{-4}$ (A), $3.84 \cdot 10^{-3}$ (B) y $3.84 \cdot 10^{-2}$ (C) $J \cdot m^{-2}$. Los coleóptilos se preirradiaron durante 2 horas con luz roja. Las curvas A, B y C difieren según las tasas de flujo aplicadas. La dosis se obtuvo variando el tiempo de irradiación de 0.7 segundos a 37 minutos. (Adaptado de Zimmerman, B. K., Briggs, W. R. 1963. *Plant Physiology*, 38:248-253.)

Con tasas de flujo fotónico más bajas (curvas B y A) y aumentando la dosis por incremento del tiempo de irradiación, la segunda curvatura se inicia con flujos fotónicos más bajos y la primera negativa se reduce hasta llegar a desaparecer. En los órganos que no presentan la primera negativa, la primera y segunda positivas están separadas por una **zona indiferente** en la que no hay respuesta al estímulo fototrópico. La primera positiva sigue la ley de reciprocidad de Bunsen-Roscoe, es decir, la respuesta es proporcional a la dosis o flujo fotónico total del estímulo. En cambio, la segunda positiva no sigue esta ley, sino que depende más del tiempo de irradiación que de la tasa de flujo.

Es evidente que las curvas flujo-respuesta son muy complejas; varían según la especie, el estado de las plantas y las características del estímulo. No obstante, el principal factor que contribuye a esta complejidad es la **adaptación sensorial**, ya que la luz, además de inducir la respuesta fototrópica, tiene un **efecto tónico** o no direccional que altera la sensibilidad del órgano a un posterior estímulo fototrópico. Después de unos segundos de exposición a una irradiación saturante de luz azul, las plántulas son incapaces de responder al estímulo fototrópico durante un período que oscila entre 10 y 20 minutos. Por otra parte, una preirradiación con luz roja, vía **fitocromo**, disminuye la sensibilidad del órgano en el rango de la primera positiva y la incrementa en el de la segunda positiva.

Se desconoce el mecanismo de transducción de la señal luminosa, pero datos recientes indican la intervención del Ca^{2+} y la fosforilación de una proteína del plasmalema en sus etapas iniciales.

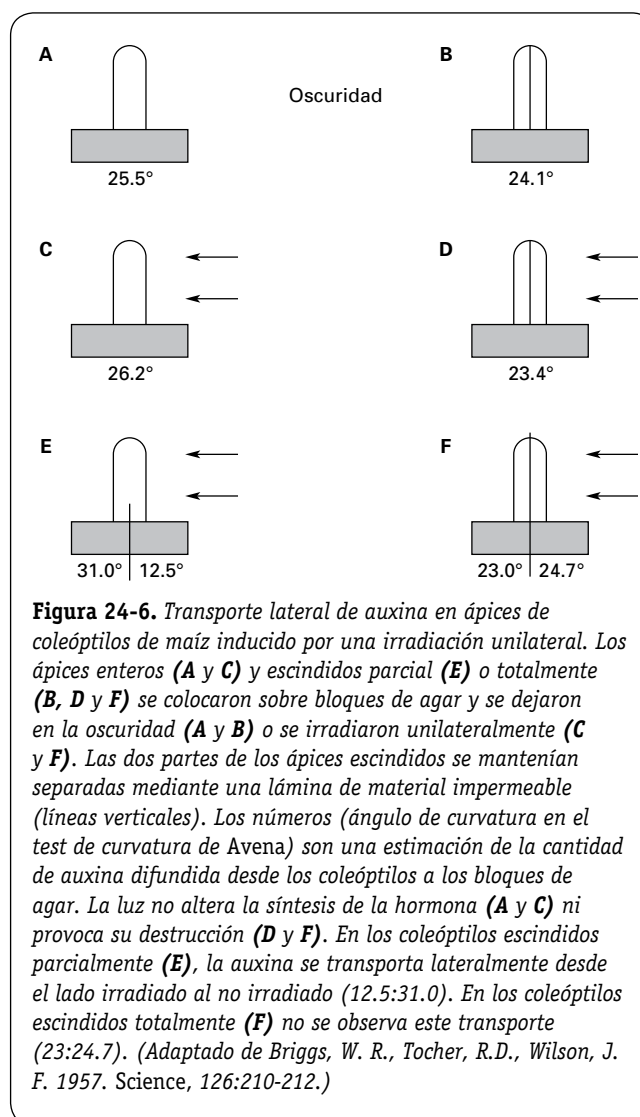
3.4. La curvatura fototrópica se debe a la formación de un gradiente hormonal

La **curvatura fototrópica** es consecuencia de un *cambio en la distribución espacial del crecimiento*. En general, se produce por una reducción de la tasa de elongación de las células del lado irradiado, mientras que la tasa de crecimiento de las células del lado no irradiado no varía o aumenta. El mismo grado de curvatura puede conseguirse mediante diferentes cambios en el patrón de elongación.

De las distintas hipótesis propuestas para explicar la formación de la curvatura, la más aceptada contempla la intervención de hormonas (hipótesis de Cholodny-Went). La **hipótesis de Cholodny-Went** se basa en trabajos independientes de Cholodny (1927) y Went (1928) realizados en coleóptilos. En éstos, la fotopercepción se da en el ápice, y la curvatura en la zona subapical. Esta hipótesis asume que una irradiación unilateral induce una distribución asimétrica del ácido indolacético (AIA) en el ápice de los coleóptilos, de manera que esta hormona se acumula más en el lado no irradiado que en el irradiado. Esta redistribución lateral de AIA se extiende desde el ápice hasta la zona subapical a causa del transporte polar de esta hormona. Puesto que el AIA estimula la elongación celular (véase el Capítulo 19), las células del lado no irradiado se alargan más rápidamente que

las del lado irradiado, y este crecimiento diferencial provoca la curvatura del coleóptilo hacia la luz.

El aspecto clave de esta teoría es el establecimiento de un gradiente asimétrico de AIA. Diversos experimentos realizados en coleóptilos (Fig. 24-6) indican que un estímulo fototrópico unilateral estimula el transporte lateral de AIA endógeno desde el lado irradiado hacia el no irradiado sin afectar a su síntesis ni a su degradación. Así pues, la hipótesis puede ser válida para explicar la primera curvatura positiva de los coleóptilos. No obstante, aun admitiéndola, quedan numerosas cuestiones por resolver. Se desconoce cómo la luz estimula el transporte lateral de AIA, cómo se mantiene la distribución asimétrica de esta hormona y si la magnitud de la asimetría es suficiente y se genera con la rapidez suficiente como para causar la curvatura fototrópica. No obstante, estudios genético-moleculares sugieren la posibilidad de que la fototropina 1 controle directamente la localización en la membrana plasmática de la proteína PIN 1 (pinoid 1), transportadora de AIA (Kimura y Kagawa, *Current Opinión in Plant Biology*, 9:503-508, 2006).



A pesar de que esta teoría es ampliamente aceptada, no puede descartarse la participación de otras hormonas (giberelinas) o compuestos inhibidores (xantoxina), o una inhibición directa de la elongación celular por la luz. Esta última posibilidad se ha observado en *Phycomyces*, cuya curvatura resulta de una estimulación directa del crecimiento por la luz sin intervención de auxinas (Fig. 24-3).

4. GRAVITROPISMO

El gravitropismo es un movimiento de curvatura de un órgano vegetal respecto a la dirección de una aceleración gravitacional \vec{g} ($\vec{g} = 9.81 \text{ m} \cdot \text{s}^{-2}$). La respuesta se debe también a un crecimiento diferencial entre partes opuestas del órgano y, por tanto, se presenta en órganos en crecimiento o en órganos maduros que recuperan la capacidad de crecer. Entre los primeros se incluyen los rizoides del alga *Chara foetida*, los brotes de plántulas recién formadas y las raíces primarias y adventicias. Entre los segundos destacan los brotes maduros de cereales, y la respuesta se produce en las bases de los entrenudos (pulvínulo internodal) o de la vaina foliar (nudo, pseudopulvínulo o pulvínulo), que conservan la potencialidad de crecer.

El fenómeno del gravitropismo se pone de manifiesto al colocar una plántula en posición horizontal (Fig. 24-7). Tras

un período de latencia, tanto el brote como la raíz empiezan a curvarse hasta quedar de nuevo en posición vertical (**ortogravitropismo**). El eje del brote muestra ortogravitropismo negativo y se orienta en sentido opuesto a la \vec{g} . La raíz presenta ortogravitropismo positivo orientándose en el mismo sentido que la \vec{g} . Los órganos secundarios o laterales se denominan **plagiotrópicos**, ya que forman un cierto ángulo respecto a \vec{g} . Un caso especial de plagiogravitropismo es el **diagravitropismo**, propio de órganos (rizomas) que crecen perpendiculares respecto a la \vec{g} . Algunos órganos son **agravitrópicos**, es decir, su dirección de crecimiento es independiente de la \vec{g} .

Esta capacidad de los órganos vegetales de orientarse respecto a la \vec{g} tiene un claro **significado ecofisiológico**. Tras la germinación, la supervivencia de la plántula depende de que el brote alcance la superficie del suelo para captar la luz e iniciar la fotosíntesis antes de agotar las reservas de la semilla. En cambio, la raíz debe penetrar en el interior del suelo para fijar la planta y asegurar el suministro de agua y nutrientes inorgánicos. En etapas posteriores, la orientación erecta de los brotes es importante como soporte mecánico para las ramas y las hojas, así como para la dispersión del polen y las semillas. El agravitropismo de las raíces terciarias posibilita la expansión del sistema radicular, y el diagravitropismo de los rizomas facilita la propagación vegetativa. Desde el punto de vista agrícola, la curvatura gravitropica de los brotes de cereales postrados por la acción del viento o la lluvia es esencial para que no se pierda la cosecha y para una adecuada recolección del grano.

El gravitropismo es un fenómeno umbral, es decir, se requiere un estímulo mínimo para desencadenar la respuesta. La **dosis de estímulo gravitatorio**, ya sea la gravedad (\vec{g}) o una fuerza centrífuga, es función de la dirección y la magnitud de la aceleración y del tiempo de presentación (tiempo mínimo que debe ser aplicado un estímulo para obtener respuesta). En los órganos ortogravitropicos, las respuestas se inducen con desviaciones de 0.5° - 10° respecto a la vertical, y aceleraciones que oscilan entre $10^{-3} \vec{g}$ y $10^{-2} \vec{g}$ en los coleóptilos, y $10^{-4} \vec{g}$ y $10^{-3} \vec{g}$ en las raíces. Los momentos de aparición oscilan entre segundos y minutos, y son muy sensibles a la temperatura. Las raíces son más sensibles que los brotes al estímulo gravitropico.

Cabe también señalar que la sensibilidad gravitropica de algunos talos, coleóptilos, ejes de brotes y raíces depende de la luz. Así, los brotes de las plántulas etioladas de *Zea mays* no son capaces de mantenerse erguidos pero, tras ser iluminados, presentan ortogravitropismo negativo. La luz también incrementa el ortogravitropismo negativo de los hipocótilos de *Sinapis alba* y *Sesamun indicum* y provoca el ortogravitropismo positivo de las raíces de *Convolvulus arvensis*. En todos los casos, la luz actúa a través de los **fitocromos**, posiblemente induciendo cambios en la concentración intracelular de calcio.

La gravedad es un estímulo ambiental muy difícil de investigar, ya que en la Tierra está presente de forma continua, es unidireccional, y presenta una intensidad constante. Sin embargo, actualmente existe la posibilidad de trabajar en

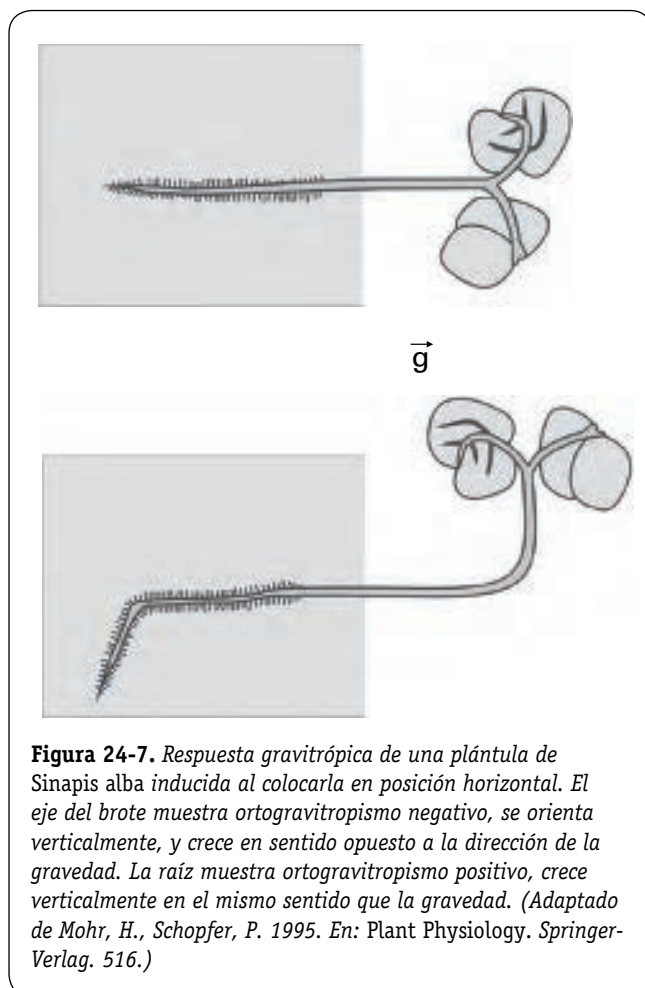


Figura 24-7. Respuesta gravitropica de una plántula de *Sinapis alba* inducida al colocarla en posición horizontal. El eje del brote muestra ortogravitropismo negativo, se orienta verticalmente, y crece en sentido opuesto a la dirección de la gravedad. La raíz muestra ortogravitropismo positivo, crece verticalmente en el mismo sentido que la gravedad. (Adaptado de Mohr, H., Schopfer, P. 1995. En: Plant Physiology. Springer-Verlag. 516.)

un satélite artificial en condiciones de microgravedad. Por otra parte, aunque el efecto de la \vec{g} no puede ser alterado en la Tierra, su acción unilateral puede contrarrestarse sometiendo un órgano vegetal ortogravitropico, colocado en posición horizontal, a una lenta rotación alrededor de su eje principal. De este modo, todos los lados del órgano reciben sucesiva y continuamente el mismo estímulo y, con la velocidad adecuada, el órgano crece recto. El instrumento que se utiliza para este fin se denomina clinostato.

La curvatura gravitropica comprende tres etapas: percepción, transducción y respuesta, que pueden producirse en la misma o en distintas partes del órgano. Así, en los coleóptilos, la percepción tiene lugar en el ápice, y la curvatura en la zona subapical. En las raíces, la percepción tiene lugar en la caliptra y la respuesta en la zona de elongación. Sin embargo, en los nudos de herbáceas la percepción y la respuesta se dan en las mismas células.

4.1. Las plantas poseen sistemas sensores a los estímulos gravitatorios

¿Cómo detectan las plantas los estímulos gravitatorios? Desde el punto de vista físico, la vía más efectiva y simple para detectar un estímulo gravitatorio es emplear el desplazamiento de un sensor. Los gravisensores de este tipo se conocen como **estatólitos**. Los estatólitos son orgánulos celulares suficientemente grandes como para desplazarse en el citoplasma en respuesta a una aceleración gravitacional, superando el movimiento browniano y las corrientes citoplasmáticas. Se han descrito dos tipos de estatólitos, uno en *Chara* y otro en las raíces de angiospermas. Alternativamente, se han propuesto sensores de tipo **no estatólito**, tales como la presión diferencial del contenido celular en lados opuestos de la célula o cambios en el potencial eléctrico del plasmalema (efecto geoeléctrico). Existen pruebas de la existencia de ambos tipos de sensores, pero existe una enorme controversia sobre su importancia, y se desconoce si ambos pueden actuar simultáneamente.

4.1.1. Los estatólitos del rizoide de *Chara foetida* son vesículas con cristales de sulfato de bario

El rizoide de *Chara* es una célula cilíndrica con crecimiento apical y ortogravitropismo positivo. Contiene estatólitos formados por vesículas procedentes del retículo endoplasmático, repletas de cristales de sulfato de bario, y agrupados en la zona subapical. En un rizoide vertical, los orgánulos celulares presentan una distribución simétrica radial y una polaridad longitudinal debido a la distribución de estatólitos, haces de microfilamentos, complejo de Golgi y vesículas derivadas, las cuales proporcionan el material para la formación de una nueva pared celular (Fig. 24-8 A). La respuesta gravitropica está asociada con la sedimentación de los estatólitos. Cuando los rizoides se dejan en posición horizontal

(Fig. 24-8 B y C), los estatólitos sedimentan y alcanzan el lado inferior en unos tres minutos. La sedimentación de los estatólitos inhibe el crecimiento de la pared inferior, ya que la barrera creada por los estatólitos sedimentados altera el desplazamiento de las vesículas de Golgi, evitando su acumulación en el lado inferior y favoreciéndola en el superior. De este modo se produce una mayor incorporación de material en la pared superior, lo que origina un crecimiento diferencial y la curvatura gravitropica.

4.1.2. Los amiloplastos son los estatólitos de las angiospermas

Las células que contienen amiloplastos se denominan estatócitos y se encuentran agrupadas en las zonas graviperceptoras: la columela de la caliptra radicular (Fig. 24-9) y las células de la vaina de los tejidos vasculares, que representan la endodermis, en los órganos aéreos.

Tanto en las raíces como en los brotes, la percepción de la gravedad se inicia con el desplazamiento de los amiloplastos hacia el lado basal de los estatócitos y, en consecuencia, varía la presión que éstos ejercen sobre el plasmalema, el tonoplasto o el retículo endoplasmático. Las dos primeras posibilidades parecen darse en los brotes y la tercera en las raíces. En la Figura 24-10 se observa que, en una raíz vertical, la presión de los amiloplastos sobre el retículo endoplasmático es idéntica en los estatócitos que ocupan posiciones simétricas respecto al eje longitudinal de la raíz. En cambio, en una raíz horizontal la presión de los amiloplastos sobre

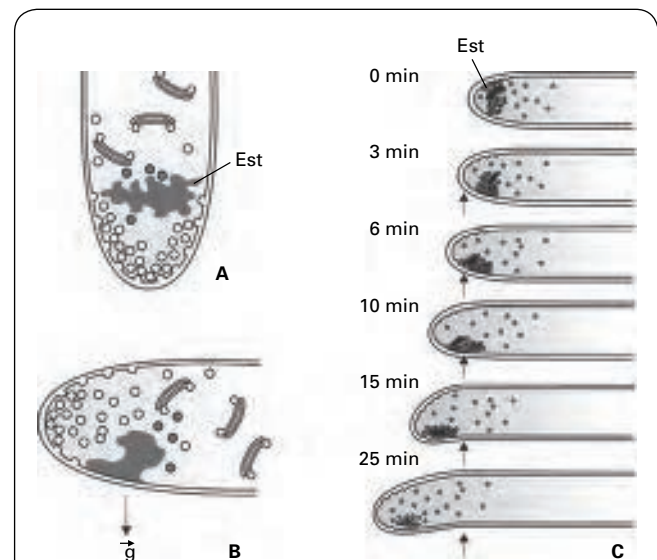
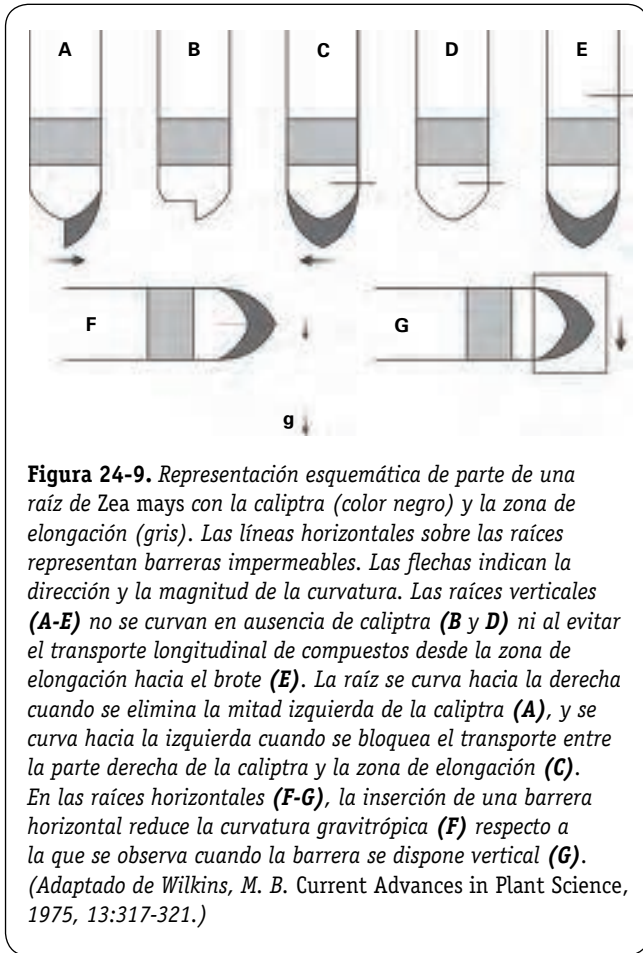


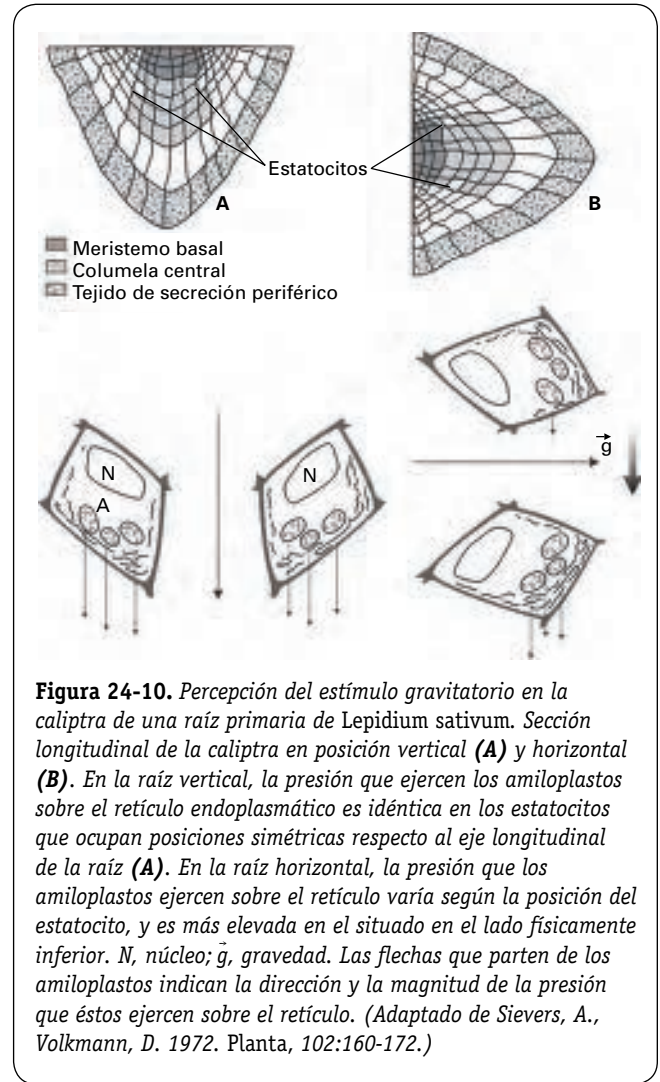
Figura 24-8. Respuesta gravitropica de un rizoide de *Chara foetida*. Se observa la posición de los estatólitos (Est) en un rizoide vertical (A) y horizontal (B y C). (Adaptado de Sievers, A. 1971. En: Gordon, S. A., Cohen, M. J. (eds.) Gravity and the organism. Univ. Chicago Press, Chicago, 51-63 y Sievers, A., Schroter, K. 1971. Planta, 96:339-353.)



el retículo varía según la posición de los estatocitos, siendo más elevada en los situados en la parte inferior de la raíz.

4.2. La curvatura gravitrópica se relaciona con asimetrías del Ca^{2+} y el ácido indolacético

Datos experimentales indican que el Ca^{2+} es necesario para que se produzca la curvatura gravitrópica en las raíces, y la adición de Ca^{2+} a la mitad de la caliptra ocasiona una curvatura hacia la zona rica en Ca^{2+} (Fig. 24-11). Dado que el retículo endoplasmático es un reservorio intracelular de Ca^{2+} , se ha propuesto la hipótesis de que los amiloplastos, al presionar sobre este orgánulo, provocan una salida de Ca^{2+} y un aumento local de su concentración citoplasmática. El Ca^{2+} , por sí mismo o a través de la calmodulina, actuaría sobre el sistema de transporte del AIA creando un gradiente de esta hormona. Así pues, el Ca^{2+} y el AIA tienen una distribución simétrica en la caliptra de una raíz vertical y asimétrica en una raíz horizontal, donde son más abundantes en la parte inferior (Fig. 24-12). Esta asimetría del AIA creada en la caliptra, posiblemente debida a una redistribución asimétrica de proteínas PIN transportadoras de salida del AIA (Blancaflor y Masson, *Plant Physiology* 133: 1677-1690, 2003)



se mantendría en la zona subapical de elongación gracias al transporte polar de esta hormona. El incremento del AIA hasta concentraciones supraóptimas en la parte inferior de la raíz horizontal inhibiría la elongación celular y provocaría su curvatura hacia abajo (ortogravitropismo positivo). Ésta es la base de la **hipótesis de Cholodny-Went**, que atribuye tanto la curvatura gravitrópica del brote como la de la raíz a una asimetría de las auxinas, si bien el aumento del AIA en la parte inferior del brote aumenta la elongación celular y el órgano se curva hacia arriba (ortogravitropismo negativo). En la raíz, más sensible, el acúmulo de auxina originaría la inhibición del crecimiento (Fig. 24-12).

Mediante la aplicación exógena de ^3H -AIA se ha demostrado que este modelo es válido en coleóptilos y en hipocótilos. Hay pruebas de que la distribución asimétrica del AIA va asociada a una asimetría paralela del Ca^{2+} , el H^+ y, también, de la expresión de genes regulados por auxinas (genes SAUR). Esta asimetría en la expresión génica coincide con el inicio de la curvatura del hipocótilo. Sin embargo, la hipótesis no siempre es válida para otros órganos y, aun siendo válida, sólo podría representar una parte del mecanismo global

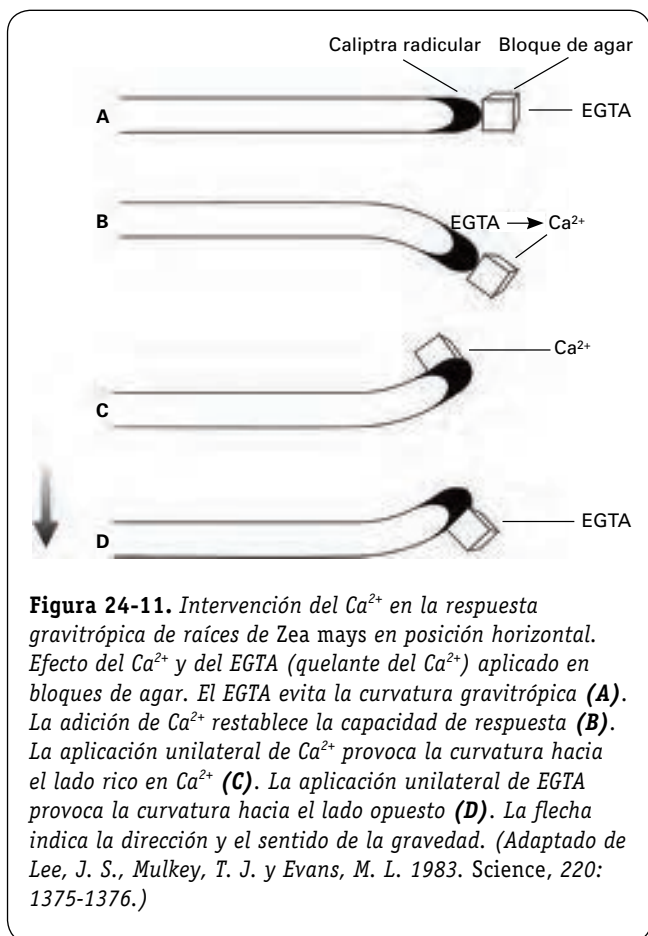


Figura 24-11. Intervención del Ca^{2+} en la respuesta gravitrópica de raíces de *Zea mays* en posición horizontal. Efecto del Ca^{2+} y del EGTA (quelante del Ca^{2+}) aplicado en bloques de agar. El EGTA evita la curvatura gravitrópica (A). La adición de Ca^{2+} restablece la capacidad de respuesta (B). La aplicación unilateral de Ca^{2+} provoca la curvatura hacia el lado rico en Ca^{2+} (C). La aplicación unilateral de EGTA provoca la curvatura hacia el lado opuesto (D). La flecha indica la dirección y el sentido de la gravedad. (Adaptado de Lee, J. S., Mulkey, T. J. y Evans, M. L. 1983. *Science*, 220: 1375-1376.)

en el que intervendrían otras hormonas (etileno y giberelinas en los nudos de herbáceas, ácido abscísico en las raíces), cambios en la sensibilidad a las hormonas y compuestos no hormonales como el Ca^{2+} . A pesar de la controversia existente, el fundamento de la teoría de Cholodny-Went está ampliamente aceptado.

5. NASTIAS

Con esta denominación se conoce una serie de movimientos de órganos inducidos por estímulos ambientales no direccionales y cuya dirección viene determinada por la propia anatomía del órgano. En este grupo diverso se incluyen las **nictinastias**, inducidas por transiciones luz-oscuridad; las **seimonastias**, en respuesta al tacto, las descargas eléctricas, etc.; las **termonastias**, si el estímulo es térmico; las **quimionastias**, en respuesta a productos químicos; las **gravinastias**, inducidas por la gravedad, etcétera. En general, las nastias se deben a un cambio reversible de la turgencia celular, aunque algunas resultan de un crecimiento diferencial entre lados opuestos del órgano. Si la parte adaxial crece más rápidamente que la abaxial, se trata de una **epinastia**, y si crece más rápidamente el lado abaxial, de una **hiponastia**. Tanto la epinastia como la hiponastia tienen un

componente autónomo. La curvatura de los pecíolos es un ejemplo de epinastia.

6. NICTINASTIAS

Desde las campañas de Alejandro Magno, hace más de 2300 años, el hombre, con su insaciable curiosidad, ha observado este tipo de movimiento. Las hojas de diversos árboles, en especial las de las leguminosas tropicales, están totalmente extendidas o abiertas durante el día, ofreciendo la máxima superficie de interceptación de la luz, y se pliegan o cierran sobre sí mismas durante la noche, minimizando la superficie expuesta. Un aspecto debatido pero no resuelto es la utilidad que estos movimientos, conocidos como «movimientos de sueño», puedan tener para la planta. Aun cuando existen distintas hipótesis, la explicación más plausible, apuntada por Darwin (1881), supone que el cierre foliar nocturno evita la pérdida de calor al disminuir la superficie de radiación. En condiciones climáticas de oscilación térmica diaria acentuada, durante la noche y a cielo abierto la temperatura ambiente puede ser muy baja, y la gran diferencia entre la temperatura de la hoja y la del aire ocasionaría un enfriamiento de la hoja capaz de dañar sus enzimas, especialmente adaptadas a las altas temperaturas en estas plantas de clima cálido. Sin embargo, esta interpretación carece, por el momento, de una base empírica concluyente.

Los movimientos nictinásticos han sido estudiados en diversas especies: *Albizzia julibrissim*, *A. lophantha*, *Samanea saman*, *Robinia pseudoacacia*, *Phaseolus coccineus* y otras. El movimiento difiere de una especie a otra según la dirección del cierre foliar. Así, *Albizzia* cierra sus folíolos hacia arriba enfrentándolos por su haz. Por el contrario, los folíolos de *Robinia* y *Samanea* se mueven en dirección opuesta y se aproximan por el envés (Fig. 24-13). La amplitud del movimiento de cada folíolo varía, desde 90° en *Albizzia* hasta 180° en *Robinia*. A pesar de estas diferencias, la fisiología del movimiento es común.

Las especies nictinásticas poseen en la base de sus hojas o folíolos un pequeño órgano, el **pulvínulo**, responsable del movimiento. Los pulvínulos se asemejan a un cilindro flexible que se mantiene recto y horizontal cuando los folíolos están abiertos (horizontales, posición diurna) y se curva adquiriendo una forma similar a una «U» cuando los folíolos se cierran (verticales, posición nocturna) (Fig. 24-14 A). Esta capacidad de curvatura de los pulvínulos se debe a su estructura particular, ya que están formados por un cilindro vascular central, rodeado por algunas capas de colénquima, y una zona cortical motora formada por células parenquimáticas de paredes delgadas, uni o multivacuoladas, susceptibles de cambiar de tamaño y forma (Fig. 24-14 B y C). Si los pulvínulos son grandes, como los de *Samanea* (4-7 mm de longitud; 2-3 mm de diámetro) o *Robinia* (2-3 mm de longitud; 0.5-1.5 mm de diámetro), la curvatura se aprecia a simple vista.

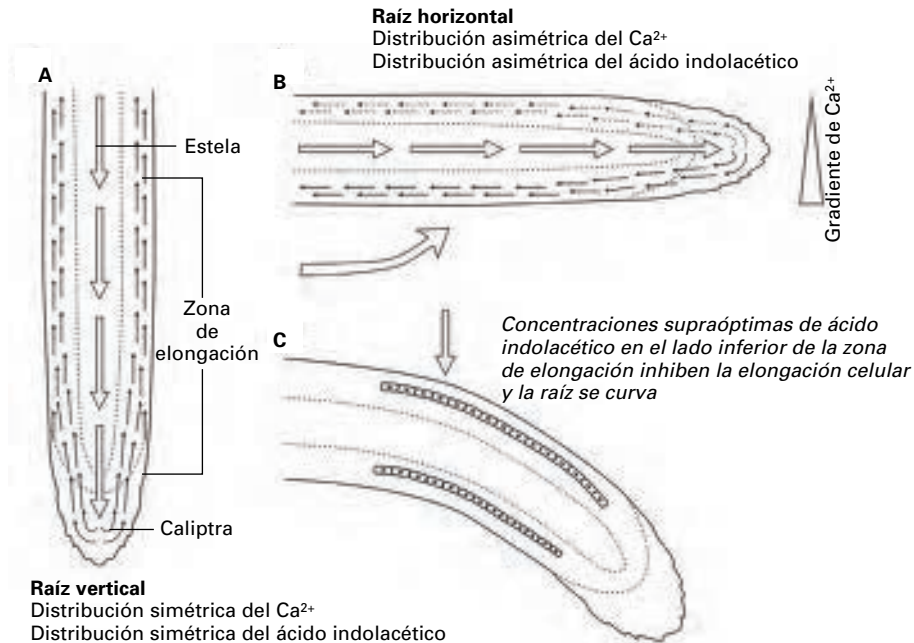


Figura 24-12. Papel del ácido indolacético en la respuesta gravitropica de las raíces. En las raíces el ácido indolacético procedente del brote se transporta a través del sistema vascular hasta la caliptra. En una raíz vertical (A), el Ca^{2+} y el ácido indolacético presentan una distribución simétrica en la caliptra y en la zona de elongación, y provocan un crecimiento vertical. En una raíz horizontal (B), el Ca^{2+} y el ácido indolacético se distribuyen asimétricamente en la caliptra y en la zona de elongación. La concentración supraóptima de ácido indolacético en la parte inferior de la zona de elongación inhibe la elongación celular y la raíz se curva hacia abajo (C, ortogravitropismo positivo). (Modelo propuesto por Evans, M. L., Moore, R. y Hasenstein, K. H. 1986. Scientific American, 255:112-119.)

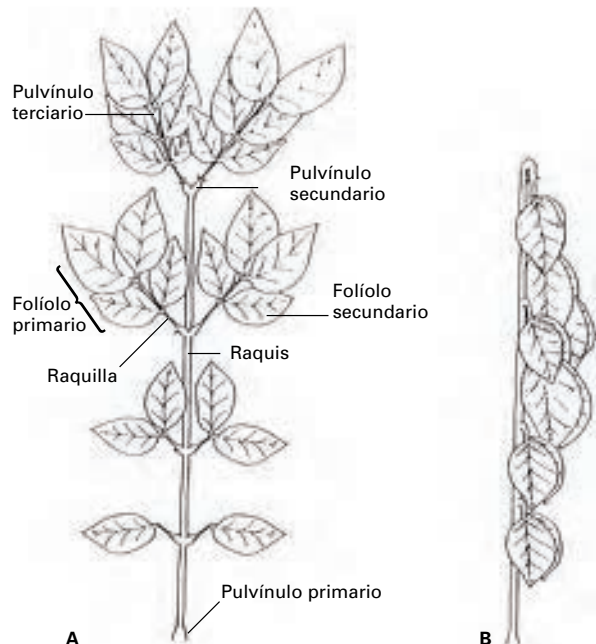


Figura 24-13. Hoja de *Samanea saman* en posición de apertura (A) en presencia de luz y en posición de cierre (B) en la oscuridad. (Adaptado de Satter, R. L., Geballe, G. T., Applewhite, P. B., Galston, A. W. 1974. The Journal of General Physiology, 64:413-430.)

6.1. El movimiento se debe a los cambios de turgencia de las células motoras pulvinulares

Una observación microscópica detallada pone de manifiesto que ciertas células de la corteza pulvinular cambian de forma y tamaño durante el movimiento foliar: son las **células motoras**. Se denominan **células motoras extensoras** aquellas que incrementan su tamaño gracias a un aumento de la turgencia durante la apertura (o extensión) foliar, mientras que las llamadas **células motoras flexoras**, situadas en la zona opuesta del pulvínulo, son las que aumentan de turgencia durante el cierre (o flexión) (Fig. 24-15). Durante el cierre nictinástico, es decir, en la transición de la luz a la oscuridad, se producen efectos opuestos en las dos mitades pulvinulares: flacidez en las células extensoras e incremento de turgencia en las células flexoras. Estos cambios de turgencia se deben a los flujos de agua dependientes de migraciones iónicas, principalmente de K^+ compensado con Cl^- , malato y otros aniones. El K^+ apoplástico entra en las células motoras debido a la hiperpolarización del plasmalema (incremento de carga negativa en la cara citoplasmática) por acción de una ATPasa que bombea H^+ al exterior. Así, en *Samanea* se han medido cambios de hasta 1 unidad de pH en el apoplasto de las zonas motoras durante el movimiento. Por el contrario, la pérdida de turgencia se relaciona con la inactivación de

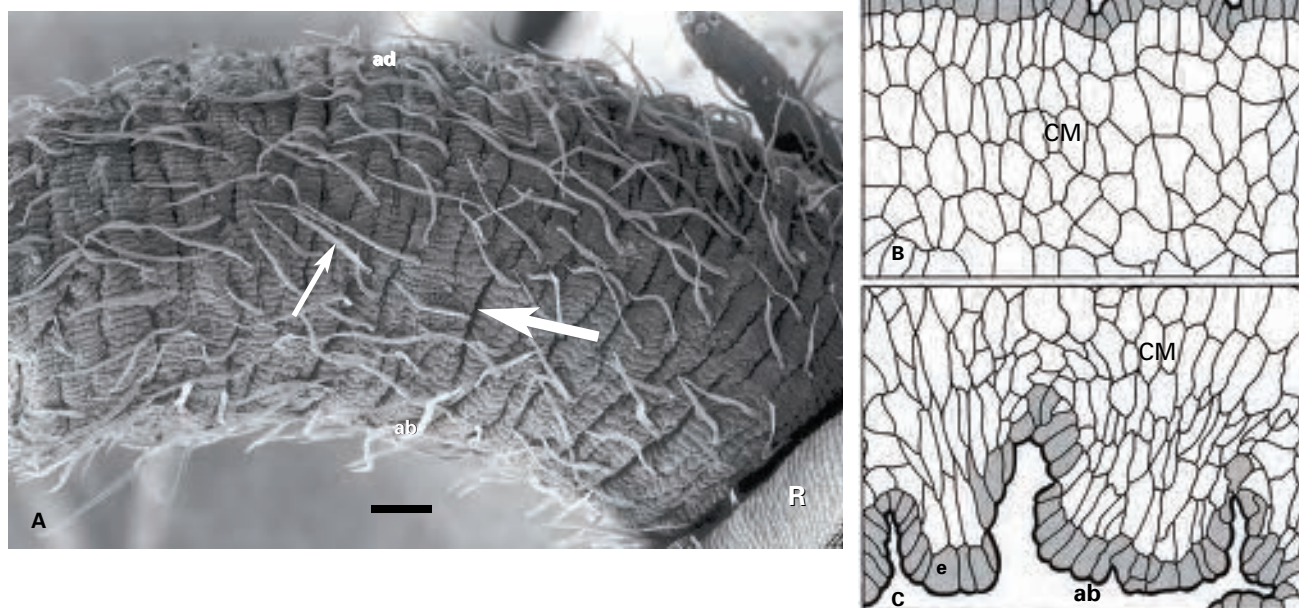


Figura 24-14. (A) Aspecto externo de un pulvínulo secundario de *Robinia pseudoacacia* en posición de cierre (oscuridad) con abundantes estrías transversales (flecha mayor) y tricomas (flecha menor). ab, zona abaxial; ad, zona adaxial; R, raquis. Barra = 100 μm . (Adaptado de Moysset, L., Simon, E. 1991. *American Journal Botany*, 78:1467-1486.) (B y C) Representación esquemática de una sección longitudinal de la zona cortical externa de un pulvínulo terciario de *Albizia* en posición de cierre. Las células adaxiales (B) están turgentes y las abaxiales (C) flácidas y comprimidas. e, epidermis; CM, corteza motora. (Adaptado de Satter, R. L., Sabnis, D. D., Galston, A. W. 1970. *American Journal Botany*, 57:374-381.)

la bomba de H^+ , que desencadenaría la despolarización del plasmalema, la apertura de los canales de K^+ y la salida de este ion al apoplasto.

6.2. La luz roja y la luz azul controlan el movimiento nictinástico

Estos movimientos iónicos, los cambios de turgencia subsiguientes y el movimiento foliar están controlados por dos sistemas fotorreceptores. Uno de ellos responde a la luz azul y el otro está formado por los fitocromos, que actúan a través de una respuesta de flujo bajo (véase el Capítulo 23). Una irradiación prolongada con luz azul estimula la apertura foliar. Por el contrario, una corta irradiación con luz roja antes de la transición luz-oscuridad potencia el cierre nictinástico, mientras que una irradiación con luz roja lejana lo inhibe. La respuesta del cierre nictinástico a estos tratamientos luminosos varía según el momento del fotoperíodo en que se provoque el cierre.

7. MOVIMIENTOS RÍTMICOS

Las plantas nictinásticas, que en la naturaleza tienen sus hojas o folíolos abiertos de día y cerrados de noche, mantienen esta alternancia de posiciones cuando son colocadas en condiciones de oscuridad constante. Entonces, continúan abriéndolas y cerrándolas con una periodicidad aproximada de 24 horas. Es un **movimiento rítmico circadiano** (de *circa*, cerca, y *dies*, día; aproximadamente cada 24 horas). Estos movimientos rítmicos dependen de un oscilador interno, el «reloj bio-

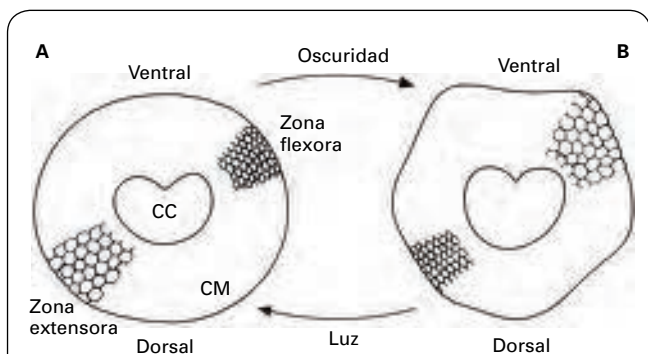


Figura 24-15. Representación esquemática de una sección transversal de un pulvínulo secundario de *Robinia pseudoacacia* en posición de apertura (A) y de cierre (B). La zona extensora está constituida por células turgentes en presencia de luz (A) y flácidas en la oscuridad (B). La zona flexora está formada por células flácidas en presencia de luz (A) y turgentes en la oscuridad (B). CC, cilindro vascular central. CM, corteza motora. El tamaño de los pulvínulos y las células es arbitrario.

lógico», que controla los cambios de turgencia responsables del movimiento foliar. Relojes similares regulan numerosos procesos fisiológicos en plantas y animales, y el estudio de los movimientos foliares ha sido fundamental para esclarecer el funcionamiento de estos «osciladores endógenos». Un análisis detallado del movimiento rítmico foliar permite observar que además de la ritmicidad circadiana típica, próxima a 24 horas, algunas especies presentan movimientos **ultradianos** de periodicidad más corta (12 h, por ejemplo).

7.1. El período y la fase definen el ritmo

El estudio del ritmo debe hacerse en condiciones ambientales absolutamente constantes, ya que las variaciones externas, especialmente de luz y temperatura, modifican el comportamiento del oscilador endógeno. La oscilación rítmica en condiciones constantes se denomina «oscilación libre» (*free-running*) y pone de manifiesto el «período» real, es decir, el tiempo que tarda en repetirse la misma posición, que en los ritmos circadianos es próximo a las 24 horas (oscila entre 21-28 h, por lo general). Este período se mantiene relativamente fijo con los cambios ambientales. Mucho más variable es la «amplitud» del ritmo, o margen de variación de la respuesta observada, que puede modificarse según las condiciones externas y no refleja, en realidad, el comportamiento del oscilador. Ciertas señales externas son capaces de modificar la «fase» del ritmo, es decir, el estado de la oscilación en un momento dado. Así, un pulso de luz o temperatura puede adelantar o retrasar la fase (Fig. 24-16), de modo similar a como adelantamos y retrasamos la hora de un reloj moviendo sus manecillas. Esta señal externa que cambia la fase es un «sincronizador» (*zeitgeber*). Con la aplicación repetitiva de señales sincronizadoras se puede «arrastrar» (*entrainment*) un ritmo a una periodicidad deseada (24 h exactas, por ejemplo).

7.2. La luz y la temperatura cambian la fase de los movimientos rítmicos

La aplicación de un pulso de luz a hojas o folíolos que oscilan libremente en oscuridad constante puede adelantar o retrasar la fase del ritmo, dependiendo de la magnitud del pulso y del momento de su aplicación. En algunas especies, como *R. pseudoacacia* o *S. saman*, el sistema es muy sensible y una irradiación de 5 ó 15 minutos de luz roja puede adelantar o retrasar la fase del ritmo hasta 10-12 horas. El efecto es revertido por la irradiación de luz roja lejana. Los fotorreceptores implicados son los fitocromos, a través de una respuesta fotorreversible de flujo bajo (Fig. 24-17). En dichas especies, la luz azul también desencadena cambios de fase, aunque se precisan irradiaciones prolongadas y la magnitud del cambio es menor. En otros casos, como el movimiento de los pétalos de *Kalanchoë*, el cambio de fase inducido por la luz blanca o roja requiere también irradiaciones prolongadas (2 h de irradiación, por ejemplo).

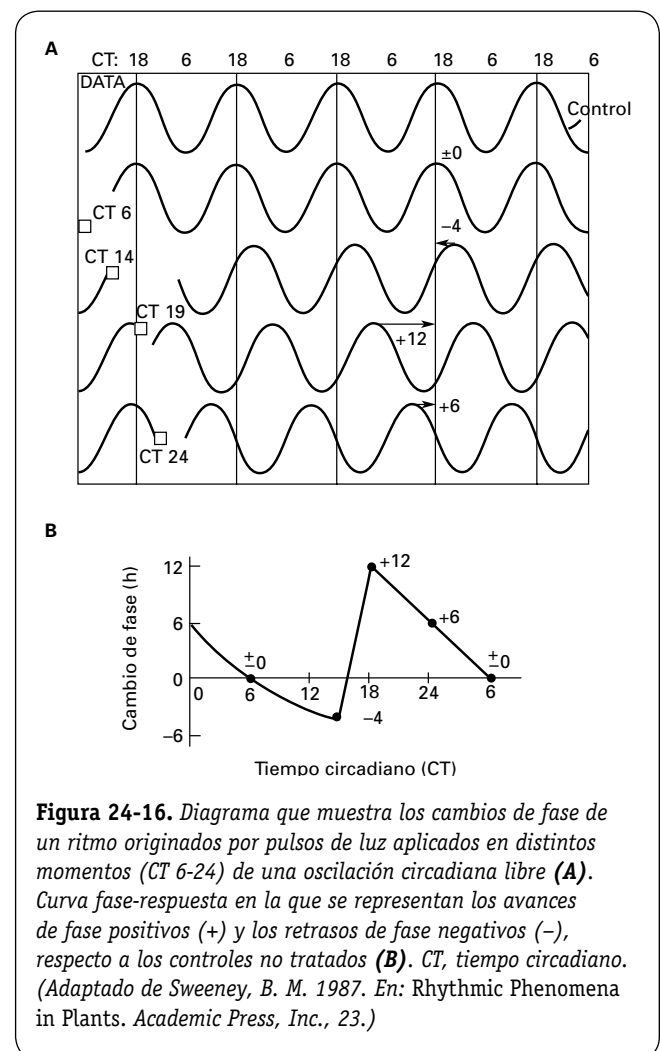
La acción de la luz, vía fitocromo, en los movimientos rítmicos y nictinásticos parece depender de la concentración

de Ca^{2+} intracelular. Así, aplicaciones exógenas de este ion o de un ionóforo específico de él producen el mismo efecto que la luz roja (Fig. 24-18), mientras que la eliminación del Ca^{2+} con quelantes o bloqueadores de canales del Ca^{2+} provoca la desaparición del ritmo y la inhibición del cierre nictinástico.

La fase del movimiento rítmico foliar también puede modificarse mediante pulsos de temperatura, aunque el efecto de la temperatura es inferior al de la luz.

8. SEISMONASTIAS

Algunas leguminosas nictinásticas, como *Mimosa pudica* o *Cassia fasciculata*, presentan también rápidos movimientos seismonásticos inducidos por estímulos mecánicos, químicos, eléctricos, cambios de temperatura, heridas o bruscos incrementos de la intensidad luminosa. En condiciones naturales, las ráfagas de viento, las gotas de agua o la acción de los animales o del hombre pueden desencadenar estos movimientos. En *M. pudica*, la respuesta seismonástica se caracteriza por un rápido descenso del pecíolo, mientras que los folíolos prima-



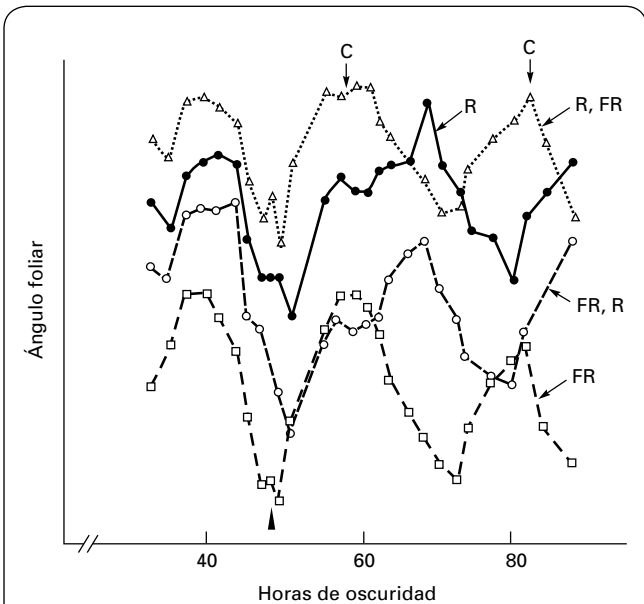


Figura 24-17. Cambio de fase del movimiento rítmico de las hojas de *Samanea saman* inducido por una irradiación con luz roja (R) y su reversión por luz roja lejana (FR). Los pulvínulos, tras 48 horas de oscuridad (▲), se irradiaron con R (5 min), FR (1.5 min), R, FR; y FR, R. Solamente R y FR, R varían la fase. El efecto de R es revertido por FR lo que indica que el cambio de fase depende del fitocromo. Las flechas sobre C (control) señalan el ángulo máximo de los folíolos control, no irradiados. (Adaptado de Simon, E., Satter, R. L., Galston, A. W. 1976. *Plant Physiology*, 58:421-425.)

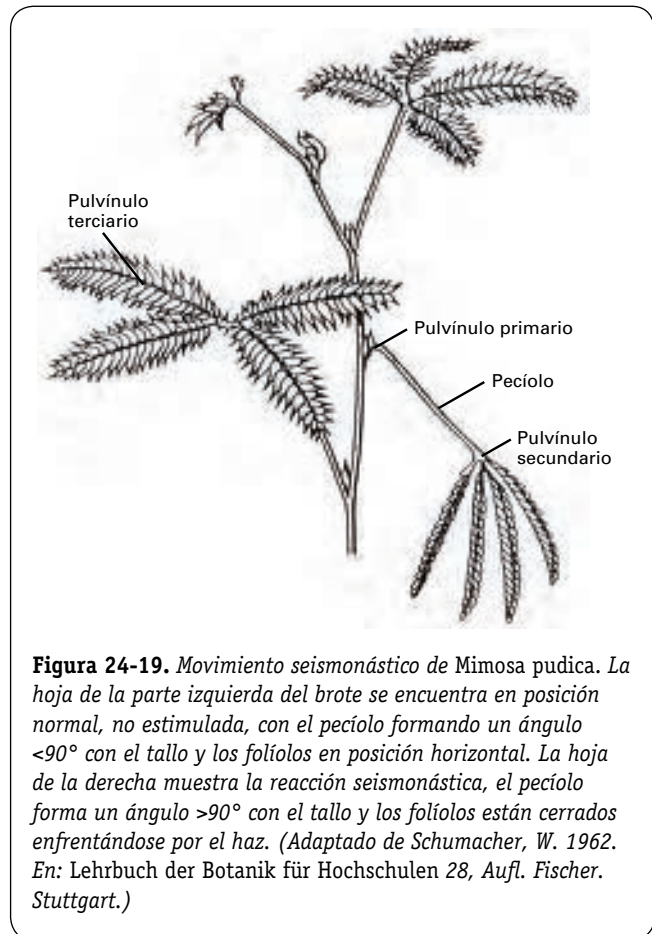


Figura 24-19. Movimiento seismonástico de *Mimosa pudica*. La hoja de la parte izquierda del brote se encuentra en posición normal, no estimulada, con el pecíolo formando un ángulo $<90^\circ$ con el tallo y los folíolos en posición horizontal. La hoja de la derecha muestra la reacción seismonástica, el pecíolo forma un ángulo $>90^\circ$ con el tallo y los folíolos están cerrados enfrentándose por el haz. (Adaptado de Schumacher, W. 1962. *En: Lehrbuch der Botanik für Hochschulen* 28, Aufl. Fischer. Stuttgart.)

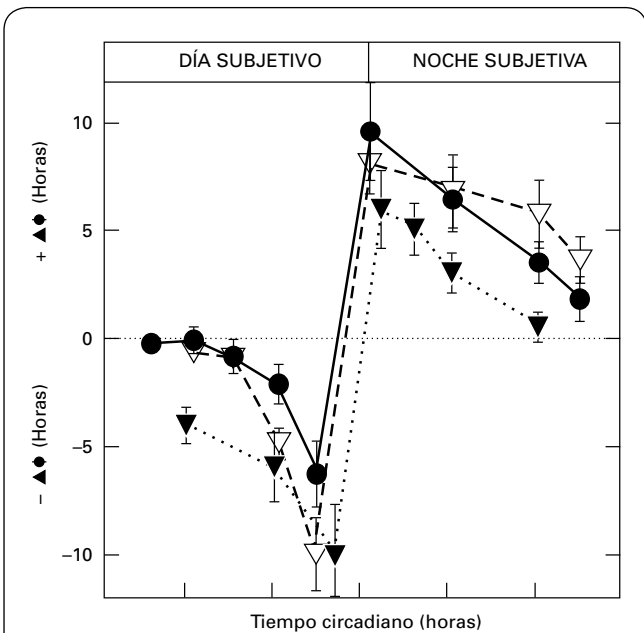


Figura 24-18. Comparación de las curvas fase-respuesta del movimiento rítmico foliar de *Robinia pseudoacacia* obtenidas al aplicar pulsos de 15 minutos de luz roja (●), 2 horas de A23187 (ionóforo de Ca^{2+}) $10 \mu\text{M}$ (▽) y CaCl_2 10mM (▼) a pulvínulos mantenidos en la oscuridad. (Adaptado de Gómez, L. y Simon E. 1995. *Photochem. Photobiol.* 61, 210-215.)

rios y secundarios se cierran y las hojas adoptan el aspecto de la Figura 24-19. Esta respuesta es muy rápida, se completa en 1-2 segundos, y la hoja vuelve a la posición inicial a los 8-15 minutos, a veces después de algunas oscilaciones (Fig. 24-20). El cambio de posición del pecíolo se debe a una rápida pérdida de turgencia de las células motoras abaxiales del pulvínulo primario. Durante la recuperación, estas células adquieren de nuevo su turgencia inicial.

En *Mimosa*, todas las partes de la hoja y del tallo son sensibles, si bien esta sensibilidad varía rítmicamente. Si la estimulación se repite cada pocos segundos, la planta se habitúa, quedando los folíolos abiertos. Este mecanismo adaptativo evita el cierre foliar por la lluvia y el viento. Si el estímulo es suficientemente intenso, se transmite a modo de onda en todas las direcciones desde la zona estimulada a las no estimuladas, mediante un **potencial de acción** que se propaga a velocidades de $2-4 \text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$, a través de células parenquimáticas excitables del floema y el protoxilema. No hay una teoría adecuada para explicar el mecanismo de percepción y transmisión del estímulo. Ya que la estimulación produce una rápida despolarización del plasmalema, se ha sugerido que el estímulo se transmite como **señal eléctrica**. Sin embargo, otros autores proponen la transmisión del estímulo a través de una **señal química**. Se han aislado de *Mimosa* y otras plantas ciertas sustancias llamadas **turgorinas**, derivados glicosilados del ácido gálico, que aplicadas a

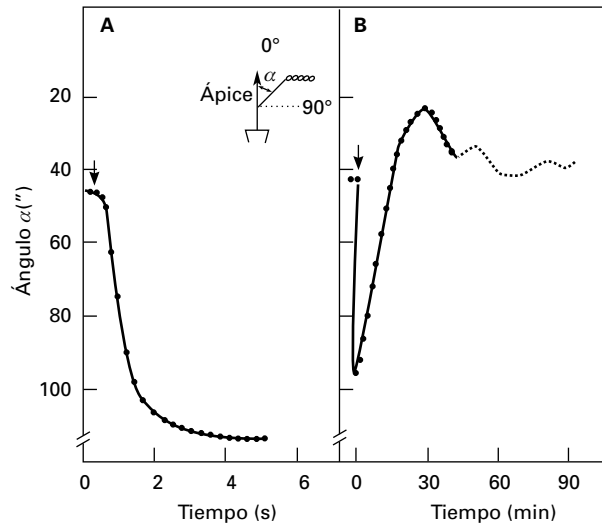


Figura 24-20. Respuesta seismonástica del pecíolo de *Mimosa pudica*. La respuesta se produce a nivel del pulvínulo primario. **(A)** Fase inicial de la respuesta. **(B)** Fase de recuperación. (↓), estimulación. (Adaptado de Roblin, G. 1976. *Nature*, 261:437-438.)

plantas sensibles actúan como un estímulo que se transmite en forma de potencial de acción al pulvínulo que responde. Así, las turgorinas actuarían de modo similar a un neurotransmisor, como la acetilcolina.

Movimientos seismonásticos similares se dan en **plantas «insectívoras»**, como *Dionea muscipula*, cuyas hojas bilobuladas se cierran pocos segundos después de que un insecto haya rozado los pelos sensibles de éstas.



RESUMEN

- Las plantas presentan movimientos a nivel celular (corrientes citoplasmáticas, de cloroplastos, etc.) y de órganos, que pueden ser autónomos o dependientes de los estímulos externos. Estos movimientos los utiliza la planta para optimizar su adaptación al ambiente.
- Algunos movimientos, los tropismos, implican un crecimiento diferencial de un órgano como respuesta a un estímulo direccional de luz (fototropismo), de gravedad (gravitropismo), etc. La respuesta puede ser positiva, en el mismo sentido que el estímulo, o negativa, en sentido contrario, y se debe al desarrollo de una asimetría hormonal, principalmente de auxinas.
- Si el estímulo no es direccional y la respuesta está condicionada por la estructura del órgano, se trata de una nastia. Así, las nictinastias son movimientos de cierre foliar que se producen al pasar las hojas de la luz a la oscuridad, y las seismonastias se deben a estímulos mecánicos o eléctricos. Ambas respuestas dependen de los cambios de turgencia de las células motoras pulvinulares originados por migraciones de K^+ , H^+ y aniones asociados. Los fitocromos, los fotorreceptores de la luz azul y UV-A y los osciladores endógenos controlan estos movimientos foliares.



PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1 Defina «fototropismo». ¿Cuál es el fotorreceptor implicado en la percepción del estímulo fototrópico? ¿Cómo detectan las plantas el estímulo fototrópico?
- 2 Respecto al gravitropismo de las raíces: a) ¿Cómo demostraría dónde tiene lugar la percepción del estímulo gravitatorio y dónde se produce la respuesta? b) Describa el papel de los amiloplastos en la percepción del estímulo gravitatorio. c) ¿Cómo demostraría la implicación del Ca^{2+} en la percepción del estímulo?
- 3 Explique el papel del ácido indolacético en las respuestas trópicas.

PROBLEMAS Y CUESTIONES (Cont.)



- 4 Las hojas y los folíolos de *Mimosa pudica* presentan movimiento rítmico, nictinástico y seismonástico. ¿Cómo se pondrían de manifiesto estos tres tipos de movimientos? Indique las diferencias y las similitudes entre ellos.
- 5 Defina los siguientes términos: ritmo circadiano, reloj biológico, período, fase y amplitud. ¿De qué forma los movimientos rítmicos de los folíolos de *Samanea saman* se sincronizan con las condiciones lumínicas de su hábitat?
- 6 En relación con el movimiento de los órganos, indique la secuencia de acontecimientos que se genera al colocar una raíz en posición horizontal.
- 7 Indique la relación que existe entre los siguientes términos: a) caliptra-gravitropismo, b) fototropismo-fototropina, c) cierre nictinástico-pulvínulo, d) movimientos rítmicos-oscilador biológico, e) tropismo-crecimiento, f) seismonastia-potencial de acción, y g) amiloplastos-ácido indolacético.
- 8 Describa la implicación de los fitocromos en el fototropismo y el gravitropismo.
- 9 Pares de folíolos de *Samanea saman* oscilan libremente entre las posiciones de abertura y cierre con un período de 24.5 h cuando se hallan en oscuridad continua. ¿Qué tratamiento o tratamientos aplicaría para obtener un movimiento rítmico con un período de 22 h?

RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES



- 1 El fototropismo es la curvatura de un órgano vegetal inducida por un gradiente externo de luz, el cual puede conseguirse a través de una irradiación unilateral o mediante irradiación bilateral, radial o vertical asimétrica. El fotorreceptor implicado es la fototropina. Las plantas detectan el estímulo fototrópico estableciendo un gradiente interno de luz, ya sea por atenuación o por refracción de la luz. El fotorreceptor percibe este gradiente.
- 2 a) La percepción del estímulo gravitatorio tiene lugar en la caliptra de la raíz. Ello se demuestra eliminando total o parcialmente la caliptra, con la consiguiente falta de respuesta gravitrópica. La respuesta de curvatura se produce en la zona de elongación de la raíz, o sea, en su zona subapical. Esto se demuestra colocando barreras que interrumpan la comunicación entre la zona de elongación y el resto de la raíz, como se muestra en el experimento descrito en la Figura 24-9.
- b) Los amiloplastos son los gravisensores o estatólitos de las angiospermas. Se hallan en los estatócitos de las zonas graviperceptoras. Perciben el cambio gravitacional, desplazándose en el citoplasma, con lo que modifican su presión sobre el retículo endoplasmático y otros orgánulos celulares. La Figura 24-10 ilustra adecuadamente este proceso.
- c) Aplicando bloques de agar con Ca^{2+} o con EGTA en distintas partes de la caliptra, tal como se describe en la Figura 24-11.
- 3 De acuerdo con la hipótesis de Cholodny-Went, tanto la curvatura gravitrópica del brote como la de la raíz se deben a una asimetría de auxinas. Esta asimetría de AIA creada en la caliptra se mantiene en la zona de elongación gracias al transporte polar de esta hormona. El aumento de AIA en la parte inferior del brote aumenta la elongación celular, y el órgano se curva hacia arriba (ortogravitropismo negativo). En la raíz, más sensible, el acúmulo de auxina origina inhibición del crecimiento y la curvatura hacia abajo (ortogravitropismo positivo). Del mismo modo, la irradiación unilateral de los coleóptilos induce una distribución asimétrica del ácido indolacético (AIA) en el ápice. Las células del lado no irradiado se alargan más rápidamente que las del lado irradiado, y este crecimiento diferencial provoca la curvatura fototrópica del coleóptilo hacia la luz.



RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES (Cont.)

- 4 El movimiento rítmico se pone de manifiesto colocando las hojas y folíolos de *Mimosa* en condiciones constantes de oscuridad durante más de 48 horas y registrando el movimiento foliar. Se observa que el movimiento de abertura y cierre foliar prosigue con periodicidad circadiana. El movimiento nictinástico se pone de manifiesto al pasar los folíolos de la luz a la oscuridad. Se observa que los folíolos se cierran. El cierre seismonástico se produce simplemente al tocar los folíolos. En los tres casos el movimiento se debe a cambios de turgencia de las células motoras pulvinulares, pero los estímulos desencadenantes son distintos: un oscilador endógeno en los movimientos rítmicos, una transición luz-oscuridad en los nictinásticos y un estímulo mecánico en los seismonásticos. En estos últimos, el tiempo de respuesta es de pocos segundos, recuperándose más tarde la posición inicial. En las nictinastias la respuesta aparece en 10-15 minutos.
- 5 Ritmo circadiano: manifestación de un proceso a lo largo del tiempo con una periodicidad de aproximadamente 24 horas. Reloj biológico: mecanismo endógeno de medida del tiempo que controla la expresión de un ritmo. Período: tiempo que tarda en repetirse la misma posición en un sistema oscilador; en los ritmos circadianos es próximo a las 24 h. Fase del ritmo: estado de la oscilación en un momento dado. Amplitud: margen de variación de la respuesta rítmica observada. Los movimientos rítmicos de los folíolos de *Samanea saman* se sincronizan con las condiciones lumínicas de su hábitat, adelantando o retrasando su fase en respuesta a la luz externa.
- 6 Al colocar una raíz en posición horizontal se produce la siguiente secuencia de acontecimientos: desplazamiento de los amiloplastos hacia el lado basal, presión diferencial de éstos sobre el retículo endoplasmático de los estatocitos, distribución asimétrica del Ca^{2+} , distribución asimétrica del AIA, y curvatura.
- 7 a) Caliptra: órgano de percepción del gravitropismo, b) fototropina: fotorreceptor del fototropismo; c) pulvínulo: órgano responsable del movimiento foliar; d) oscilador biológico: controlador endógeno de los movimientos rítmicos; e) tropismo: movimiento de crecimiento en respuesta a un estímulo; f) potencial de acción: cambio de potencial eléctrico que se produce con la estimulación seismonástica, y g) amiloplastos y ácido indolacético: sensores y efector, respectivamente, del gravitropismo.
- 8 Los fitocromos alteran la respuesta fototrópica. Una preirradiación con luz roja disminuye la sensibilidad a la luz azul en el rango de flujos fotónicos que desencadenan la primera positiva y la incrementa en el rango correspondiente a la segunda positiva. La sensibilidad gravitropica también depende de la luz. Los brotes de plántulas etioladas requieren una irradiación de luz roja para mantenerse erguidos. Las raíces de *Convolvulus arvensis* requieren una irradiación con luz roja para responder a la gravedad.
- 9 Un posible tratamiento consistiría en aplicar, de manera repetitiva cada 22 h, una irradiación con luz roja (5 min o más) a los folíolos mantenidos en la oscuridad. Otra posibilidad sería mantener los folíolos en ciclos repetitivos de 11 h de luz blanca y 11 h de oscuridad.



BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA

1. Blancaflor EB, Masson PH. Plant gravitropism. Unraveling the ups and downs of a complex process. *Plant Physiol* 2003; 133:1677-1690.
2. Darwin C. *The Power of Movements in Plants*. New York, Appleton D and Company, 1881. (Reeditado por Da Capa Press. Nueva York, 1966.)
3. Eapen D *et al.* Hydrotropism: root growth responses to water. *Trends in Plant Sciences* 2005; 10:44-50.
4. Haupt W, Feinleib ME. *Physiology of Movements*. En: *Encyclopedia of Plant Physiology*, New Series, Vol. 7. Berlin-Heidelberg, Springer-Verlag, 1979.
5. Lino M. Toward understanding the ecological functions of tropisms: interactions among and effects of light on tropisms. *Curr Opin Plant Biol* 2006; 9:89-93.
6. Kimura M, Kagawa T. Phototropin and light-signalling in phototropism. *Curr Opin Plant Biol*, 2006; 9: 503-508.
7. Robertson McClung C. Circadian rhythms in plants. *Ann Rev Plant Biol* 2001; 52:139-162.
8. Satter RL *et al.* The pulvinus: motor organ for leaf movement. *Current Topics in Plant Physiology*, Vol. 3, American Society of Plant Physiologist Publishers, 1990.
9. Wada M. Chloroplast movement. *Ann Rev Plant Biol* 2003; 54:455-468.
10. Yoshihara T, Lino M. Circumnutation of rice coleoptiles: its occurrence, regulation by phytochrome, and relationship with gravitropism. *Plant Cell Environ* 2005; 28: 134-146.

Floración y su control ambiental

MARTA ROLDÁN Y JOSÉ M. MARTÍNEZ ZAPATER



1. Floración y desarrollo de las plantas. 2. Floración y juvenilidad. 3. Regulación ambiental. 4. Fotoperiodismo. 5. Vernalización. 6. Desarrollo floral. 7. Floración en especies leñosas.

1. FLORACIÓN Y DESARROLLO DE LAS PLANTAS

Con el nombre de floración se designa la etapa del desarrollo con la que se inicia la fase reproductiva de la planta. El éxito reproductivo de una planta depende de que la floración tenga lugar en el momento más adecuado de su desarrollo y cuando las condiciones ambientales sean favorables. Además, dentro de una misma área geográfica la floración ha de producirse de manera sincronizada para todos los individuos de la misma especie, con el fin de que pueda producirse un intercambio génico entre ellos. La falta de movilidad de las plantas y sus particulares características de desarrollo han propiciado el establecimiento de mecanismos especializados de control del tiempo de floración que aseguren el éxito reproductivo y la permanencia de la especie. La fenomenología del proceso de floración se conoce con detalle en algunas especies; sin embargo, los mecanismos moleculares responsables de este proceso sólo han empezado a comprenderse en los últimos años.

Como se explicó en el Capítulo 18, una característica singular del desarrollo de las plantas es el origen postembrionario de la mayor parte de sus órganos. El proceso de embriogénesis, que culmina con la formación del embrión en la semilla, genera una plántula rudimentaria en la que un pequeño tallo, una raíz, unos cotiledones y, en algunos casos, un reducido número de primordios foliares son todos los órganos diferenciados. Esta plántula cuenta con dos meristemos o grupos de células indiferenciadas con actividad mitótica (apical y radicular) que serán responsables del desarrollo de todo el cuerpo de la planta. Tras la germinación

de la semilla, el **meristemo apical** inicia el desarrollo de la parte aérea de la planta (Fig. 25-1). Este desarrollo es consecuencia de la producción repetitiva de primordios de órganos y de células del tallo. Como consecuencia, se repiten estructuras similares que algunos autores han denominado **fitómeros**, por analogía con los metámeros o estructuras

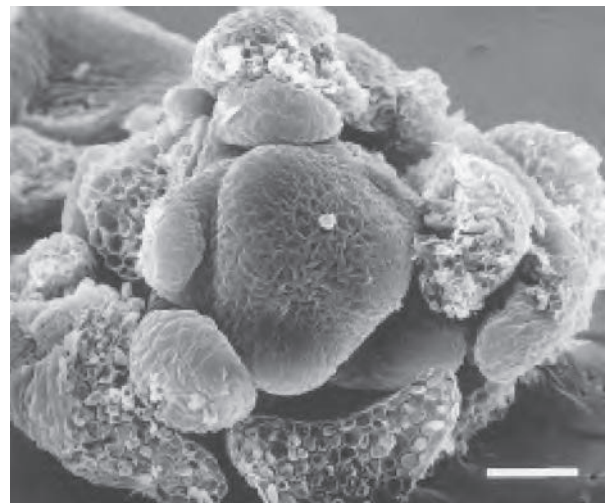


Figura 25-1. Imagen de microscopio electrónico de barrido de un meristemo apical vegetativo de *Arabidopsis thaliana*. Obsérvese la disposición espiral de los primordios que darán lugar a hojas con meristemos axilares. La barra equivale a 40 μm .

básicas que se repiten a lo largo del desarrollo embrionario animal. Durante el desarrollo vegetativo, estos fitómeros están compuestos por un segmento del tallo o **entrenudo** y un **nudo** en el que se inserta una hoja con un **meristemo axilar** (Fig. 25-2). Este meristemo axilar tiene capacidad para generar una rama lateral con la misma estructura fitomérica (Fig. 25-2). La floración puede considerarse como un cambio en este patrón básico de desarrollo que, como veremos, tiene lugar una vez la planta ha alcanzado un determinado tamaño y en respuesta a estímulos endógenos y ambientales. Como consecuencia de este cambio, la estructura del fitómero se altera. El desarrollo de la hoja se inhibe para dar lugar a una **bráctea** o desaparecer totalmente, y el meristemo axilar se transforma en un **meristemo floral** que se diferencia en una flor en lugar de en una rama lateral. Mientras que el meristemo apical y los meristemos axilares suelen presentar un patrón de **crecimiento indeterminado**, produciendo indefinidamente estructuras fitoméricas, el meristemo floral es de **crecimiento determinado** y se agota en el desarrollo de la flor.

En especies herbáceas anuales, la fase reproductiva, que termina con la producción de las semillas, representa el final del ciclo vital. Estas especies se denominan **monocárpicas** porque florecen una sola vez (véase el Capítulo 28). Dependiendo de la especie de que se trate, el meristemo apical agota su capacidad proliferativa en la diferenciación

de una flor terminal o continúa produciendo flores, organizadas en **inflorescencias**, hasta morir como consecuencia de la senescencia de toda la planta. En especies **policárpicas**, tanto herbáceas como leñosas, no todos los meristemos participan en la formación de flores y frutos, permaneciendo algunos de ellos protegidos y en estado quiescente, dentro de estructuras denominadas **yemas**, para asegurar el futuro crecimiento de la planta.

2. FLORACIÓN Y JUVENILIDAD

Muchas especies, tanto herbáceas como leñosas, pasan inicialmente por una fase de crecimiento en la que se construye el cuerpo de la planta y durante la cual no se inicia la floración, aunque se den las condiciones ambientales requeridas para ello. Esta fase de desarrollo vegetativo de la planta, denominada **fase juvenil** por contraposición a la **fase adulta de madurez** reproductiva, se reconoce por la presencia de caracteres distintivos denominados **caracteres juveniles**. Una exposición detallada de las diferencias entre los caracteres juveniles y adultos o maduros se desarrolla en el apartado 2 del Capítulo 28. Sin embargo, conviene adelantar aquí que, entre los caracteres juveniles, la **forma de las hojas** y su disposición a lo largo del tallo (**filotaxia**) son algunos de los más conspicuos (véase la Fig. 28-3). También pueden observarse características particulares en la morfología y la distribución de las células epidérmicas, en la fisiología (capacidad de enraizamiento y regeneración) e, incluso, en el metabolismo (producción de metabolitos característicos). La transición entre la fase juvenil y la fase adulta se produce suavemente, y los caracteres juveniles van desapareciendo de forma paulatina. Dado que las hojas producidas por el meristemo apical se mantienen en la planta durante un largo período, el cambio de la fase juvenil a la fase adulta queda representado de manera secuencial a lo largo del tallo.

La incapacidad para florecer durante la fase juvenil es consecuencia de la incompetencia o falta de capacidad de respuesta de los órganos que participan en la inducción de la floración (véase más adelante). Concretamente, las hojas juveniles suelen ser incapaces de responder al fotoperíodo o a otras condiciones ambientales inductivas. Además, el meristemo apical de la planta juvenil no es competente para responder al **estímulo floral** procedente de las hojas e iniciar el desarrollo reproductivo. Se desconoce cuáles son los mecanismos moleculares responsables de la transición de la fase juvenil a la fase adulta que conllevan la adquisición de la madurez para florecer. Los tratamientos que aceleran el tiempo de floración, como determinados fotoperíodos o tratamientos con giberelinas activas, suelen acelerar el cambio de fase y la adquisición de la competencia para florecer, lo que indica que existen elementos comunes en ambas respuestas. De hecho, en las especies herbáceas la duración de la fase juvenil y el tiempo de floración de la planta suelen estar relacionados. Así, variedades o genotipos de floración tardía tienen fases juveniles más largas, mientras que genotipos de floración temprana pierden antes los caracteres juveniles.

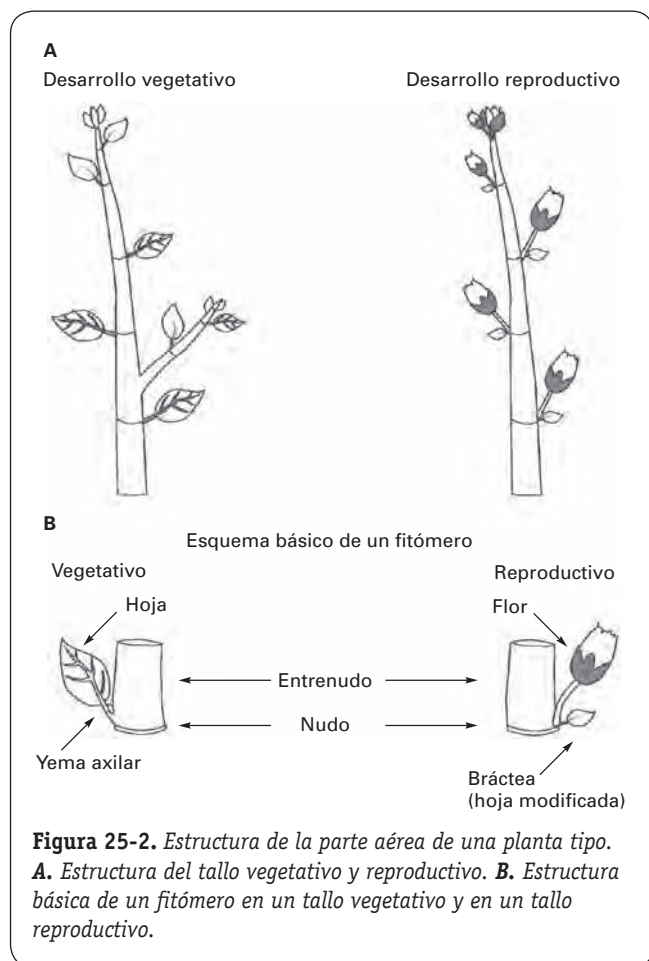




Figura 25-3. La hiperexpresión del gen *APETALA1* de *Arabidopsis* en *Citrange*, un híbrido (*Citrus sinensis* x *Poncirus trifoliata*) utilizado como portainjertos, reduce la duración de su fase juvenil. La planta transgénica (derecha) florece a los 13 meses de cultivo en el invernadero, mientras que una planta control de la misma edad (izquierda) muestra características de planta juvenil en desarrollo vegetativo. (Modificado a partir de Peña et al., 2001.)

Igualmente, en algunas especies leñosas de los géneros *Populus* (chopo) y *Citrus* (cítricos) se ha observado una relación entre el aumento en la expresión de genes que aceleran la inducción de la floración o promueven la iniciación de meristemas florales, tales como los genes homólogos a *FT* o *APETALA1* de *Arabidopsis* (véase más adelante), y la transición de la fase juvenil a la fase adulta del desarrollo de la planta. La hiperexpresión de estos genes en las plantas transgénicas reduce el tiempo de su fase juvenil de varios años a unos pocos meses y provoca la primera floración en su primer año de crecimiento (Fig. 25.3) (Peña y cols, *Nature Biotechnology* 19:263-267, 2001; Hsu y cols. *Plant Cell* 18:1846-1861, 2006).

3. REGULACIÓN AMBIENTAL

El descubrimiento de la dependencia ambiental de la floración es relativamente reciente, de principios del siglo xx. La

extremada adaptación que las especies vegetales muestran en relación con su hábitat no permitió observar diferencias en el tiempo de floración hasta que las plantas se cultivaron bajo condiciones ambientales controladas experimentalmente; sólo entonces comenzaron a descubrirse variaciones ambientales que las plantas eran capaces de distinguir y que, en muchos casos, requerían para iniciar la floración. Existen dos factores ambientales que varían de forma regular a lo largo del año: la duración relativa de los períodos de luz y oscuridad a lo largo del día, denominada **fotoperíodo**, y la **temperatura**. A partir del ecuador (donde estas variaciones no existen), y a medida que nos alejamos hacia los polos, las variaciones, tanto de fotoperíodo como de temperatura, son más patentes. La mayor parte de las especies vegetales ha desarrollado mecanismos para reconocer estas variaciones e identificar el momento propicio para florecer. Aunque puede hablarse de especies con requerimientos de fotoperíodo y especies con requerimientos de temperatura, esta distinción sólo es aplicable en muchos casos a efectos de clasificación, dado que los requerimientos ambientales de cada especie pueden ser complejos, siendo necesaria la conjunción de distintas condiciones ambientales. En principio, dependiendo del grado de necesidad de determinadas condiciones ambientales que presenta una especie, se habla de especies con **requerimientos absolutos** (o cualitativos), que no florecerán a menos que se den unas condiciones determinadas, y de especies con **requerimientos cuantitativos**, que pueden florecer en muy variadas condiciones ambientales, pero cuyo tiempo de floración se acelera o se retrasa dependiendo del ambiente (Fig. 25-4). Esta clasificación no deja de ser arbitraria, ya que, incluso en especies catalogadas como de requerimientos absolutos, pueden encontrarse situaciones particulares de crecimiento en las que se produzca la floración en ausencia de los requerimientos descritos. Finalmente, algunas especies parecen comportarse como **autónomas** o independientes de las condiciones ambientales, floreciendo una vez que alcanzan un determinado estado de desarrollo. Tampoco en este caso puede hablarse de especies absolutamente independientes de las condiciones ambientales, dado que éstas siguen afectando a su desarrollo de distintas maneras e, indirectamente, a su tiempo de floración.

4. FOTOPERIODISMO

4.1. El fotoperíodo es un factor determinante del tiempo de floración

La longitud del fotoperíodo regula muchos de los procesos que tienen lugar durante el ciclo vital de los seres vivos. En este capítulo utilizaremos el término fotoperiodismo de manera restrictiva para designar el fenómeno que presentan muchas especies vegetales en las que el régimen de fotoperíodo determina si la planta inicia su desarrollo reproductivo o, por el contrario, mantiene su desarrollo vegetativo. Otros aspectos del desarrollo vegetal que también se encuentran bajo control del fotoperíodo son la formación de

Fotoperíodo	TF (días)	Nº hojas
DL	25	9
DC	59	36



Figura 25-4. Efecto de la longitud del fotoperíodo en *Arabidopsis thaliana*, una planta con requerimientos cuantitativos de fotoperíodos largos. **A.** Tiempo de floración (TF) y número total de hojas producidas por plantas de la variedad Landsberg en condiciones de DL (16 horas de luz) y en condiciones de DC (10 horas de luz). **B.** Una planta cultivada en condiciones de DL (16 horas de luz) comienza a florecer a las 3 semanas. **C.** Una planta cultivada en condiciones de DC (10 horas de luz) comienza a florecer a las 8 semanas.

tubérculos o la dormición de yemas, a la que nos referiremos posteriormente.

Los primeros estudios sobre el papel del fotoperíodo en la inducción de la floración se deben a los trabajos de J. Turnois y de H. Klebs a principios del siglo xx. Prolongando la duración de la noche en el invernadero mediante el simple procedimiento de aislar las plantas de la luz, Turnois consiguió que florecieran en cualquier época del año plantas como el lúpulo y el cáñamo que, en condiciones naturales, florecen en otoño o en invierno. Turnois atribuyó esta inducción de la floración al efecto de la exposición a períodos cortos de iluminación diaria y propuso que el efecto inductor era el resultado del alargamiento de las noches y no, como cabría pensar, del acortamiento de los días. El abordaje experimental de Klebs fue algo diferente: prolongaba la duración del día en el invernadero mediante iluminación artificial, lo que hacía la noche más corta. En estas condiciones, florecían en cualquier época del año plantas que, en condiciones naturales, sólo florecen en primavera. Unos años después, todavía en el primer cuarto del siglo pasado, H. A. Allard y W. W. Garner acuñaban el término de fotoperiodismo. Estos científicos estaban interesados en la introducción, en el norte de Estados Unidos, de un mutante de tabaco *Maryland Mammoth* de gran porte. Como el clima en el norte de Estados Unidos es frío, iniciaron el cultivo tardíamente, cuando las temperaturas primaverales comienzan a ser más tolerables. El tabaco mutante se desarrolló sin problemas, produciendo grandes hojas que hacían prever el éxito de la nueva introducción. Sin embargo, al terminar el verano las plantas no habían florecido todavía, y los fríos días de otoño llegaron antes de que este mutante de tabaco iniciara la floración. Sin posi-

bilidad de producir semillas para las siguientes temporadas, esta nueva variedad no tuvo interés para los agricultores de la zona, aunque en el invernadero *Maryland Mammoth* florecía normalmente cuando la duración del día alcanzaba un mínimo de horas determinado.

Los experimentos con *Maryland Mammoth* demostraron el interés práctico del estudio del fotoperiodismo y promovieron una intensa actividad científica encaminada a descifrar las claves de este fenómeno. Los análisis del comportamiento de distintas especies en condiciones de fotoperíodo controlado mostraron la existencia de, al menos, tres grandes grupos de plantas, en función de su respuesta al fotoperíodo: **plantas de día largo** (PDL), que para florecer requieren días largos; **plantas de día corto** (PDC), que requieren días cortos; y **plantas insensibles o neutras** al fotoperíodo (PNF). Algunas especies representativas de cada uno de estos grupos se muestran en el Cuadro 25-1. Además de estos tres tipos básicos de respuesta al fotoperíodo, se conocen otras respuestas que presentan especies como el aloe (*Aloe bulbifera*), que requiere los días largos del verano seguidos de los días cortos del otoño para florecer; especies como *Poa pratensis* que, por el contrario, requiere días cortos seguidos de días largos; o especies que sólo florecen cuando los días son de longitud intermedia y que no florecerán en fotoperíodos ni excesivamente largos ni excesivamente cortos.

Es importante resaltar que cada especie con requerimientos fotoperiódicos muestra un fotoperíodo crítico característico. Se denomina **fotoperíodo crítico** a la longitud del día a partir de la cual se induce la floración en una determinada especie. En el caso de las PDL, la floración se induce cuando el fotoperíodo sobrepasa al fotoperíodo crítico, mientras que en las PDC la floración se inducirá cuando el fotoperíodo sea inferior al fotoperíodo crítico. Otra variable que hay que tener en cuenta es la intensidad del estímulo requerido para la inducción de la floración. Hay plantas en las que un solo fotoperíodo inductivo es suficiente para inducir la floración, aunque luego continúe su crecimiento en fotoperíodos no inductivos, mientras que otras requieren un número determinado de ciclos inductivos. Los modelos preferidos para el estudio de la fisiología de la floración han sido precisamente aquellas especies en las que la floración se induce con un solo ciclo inductivo, por la posibilidad que ofrecen de desencadenar todo el proceso con un único tratamiento (Cuadro 25-1).

4.2. Las plantas perciben la longitud del fotoperíodo mediante su comparación con el período de un ritmo circadiano endógeno

Si bien la interrupción del día por un corto período de oscuridad no tiene ningún efecto sobre la respuesta fotoperiódica, la interrupción de la noche con un corto período de iluminación, incluso de muy baja intensidad, hace la noche más corta para la respuesta fotoperiódica, tanto en PDC como en PDL. Este efecto de la interrupción nocturna en la respuesta fotoperiódica de PDL y PDC se aprovechó para identificar los

CUADRO 25-1. Plantas representativas de los principales tipos de respuestas al fotoperíodo en la inducción de la floración.

I Plantas de día corto, PDC

Allium cepa (cebolla)
Cannabis sativa (cáñamo)
Chrysanthemum morifolium^a (crisantemo) (existen variedades de DL)
Datura stramonium (estramonio)
Glycine max (soja)
Gossypium hirsutum (algodón)
Lemma paucicostata^b (lenteja de agua)
Oryza sativa^b (arroz)
Pharbitis nil^b (ipomea)
Perilla ocymoides^a
Saccharum officinarum (caña de azúcar)
Zea mays (maíz) (existen variedades NF)
Xanthium strumarium^a

II Plantas de día largo, PDL

Anethum graveolens^b (eneldo)
Antirrhinum majus (boca de dragón)
Arabidopsis thaliana
Avena sativa^a (avena)
Beta vulgaris (remolacha)
Brassica campestris (nabo)
Hordeum vulgare (cebada)
Hyoscyamus niger^a (beleño negro)
Lolium temuletum^a
Pisum sativum (guisante)
Raphanus sativus (rábano)
Sinapis alba^b (mostaza blanca)
Spinacia aleracea^{a, b} (espinaca)
Triticum aestivum (trigo candeal)

III Plantas insensibles o neutras al fotoperíodo, PNF

Cucumis sativus (pepino)
Helianthus annuus (girasol) (existen variedades de DC)
Lycopersicon esculentum (tomate)
Nicotiana tabacum (tabaco) (existen variedades de DC)
Phaseolus vulgaris (judía)

^a Especies que presentan un requerimiento absoluto.

^b Especies que florecen en respuesta a un único ciclo inductivo.

fotorreceptores implicados en la respuesta fotoperiódica. Mediante la interrupción de la noche con luz monocromática de distintas longitudes de onda se observó que la luz roja interfería en la respuesta fotoperiódica de PDL y PDC. Es más, si inmediatamente después de irradiar con luz roja (660 nm) se irradiaba con luz roja lejana (730 nm), el efecto de la luz roja revertía (Fig. 25-5). La dependencia de la luz roja y la reversibilidad de la respuesta mediante luz roja lejana demostraron la participación del **fitocromo** en el control de la respuesta fotoperiódica. Sin embargo, la diversidad de las respuestas fotoperiódicas observadas no puede explicarse exclusivamente mediante la actuación del fitocromo. De hecho, la respuesta a la interrupción de la noche con luz roja no es uniforme en todas las plantas analizadas. Mientras que en la mayor parte de las PDL la interrupción con luz roja acelera la floración, en algunas especies la luz roja tiene un efecto inhibitorio. Además, en otras especies, por ejemplo, muchas de las que pertenecen a la familia de las crucíferas (*Brassicaceae*), la luz azul tiene mayor efecto inductivo que la luz roja.

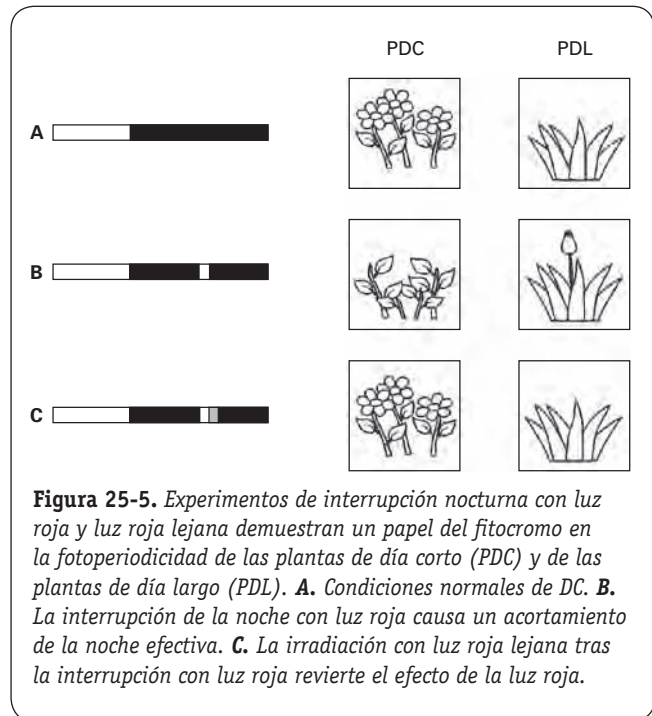


Figura 25-5. Experimentos de interrupción nocturna con luz roja y luz roja lejana demuestran un papel del fitocromo en la fotoperiodicidad de las plantas de día corto (PDC) y de las plantas de día largo (PDL). **A.** Condiciones normales de DC. **B.** La interrupción de la noche con luz roja causa un acortamiento de la noche efectiva. **C.** La irradiación con luz roja lejana tras la interrupción con luz roja revierte el efecto de la luz roja.

Los experimentos de interrupción nocturna en distintos momentos del período de oscuridad pusieron de manifiesto que el efecto del tratamiento varía dependiendo del momento de la noche en el que tenga lugar la interrupción, tanto en una PDC (*Kalanchoe blossfeldiana*) como en una PDL (*Fuchsia* cv. Lord Byron), según se representa en la Figura 25-6. Estos resultados indican que, en el caso de una PDC, un alto nivel de fitocromo activo al inicio del período de oscuridad induce la formación de flores, mientras que en la mitad del período de oscuridad, la inhibe. En la PDL ocurre al contrario: un alto nivel de fitocromo activo en la mitad del período de oscuridad estimula la formación de flores, mientras que al inicio o al final de la noche tiene el efecto de inhibir la floración. Esta variación en la respuesta ha sido interpretada como el resultado de cambios en la sensibilidad a estos tratamientos a lo largo de la noche, que podría estar regulada por ritmos endógenos o circadianos de la planta.

La existencia de ritmos endógenos con un período cercano a las 24 horas e independientes del fotoperíodo se ha observado en muchos procesos fisiológicos de la planta, tales como el movimiento de las hojas o la apertura de los estomas. Estos **ritmos circadianos** regulan también la expresión de un gran número de genes cuyos productos participan en funciones bioquímicas o fisiológicas de cadencia diaria, tales como la fotosíntesis. Los **ritmos circadianos** están generados por mecanismos endógenos de las células vegetales que requieren tres componentes básicos: un reloj u oscilador central que genera un ritmo de aproximadamente 24 horas, un sistema de sincronización que ajusta o «pone en hora» el ciclo del reloj con respecto a los ciclos diarios de luz y oscuridad para evitar desfases, y un sistema de transmisión de la señal generada por el reloj que regula los distintos pro-

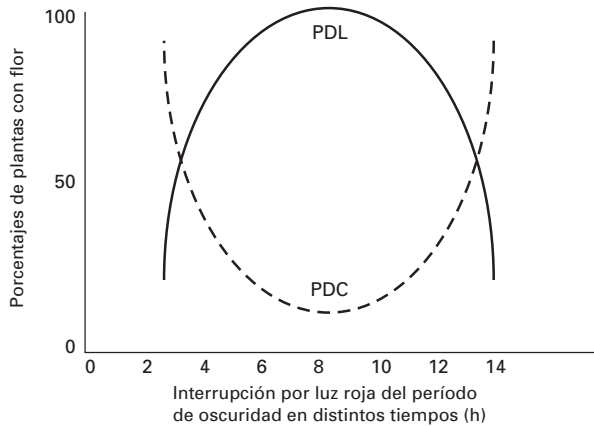


Figura 25-6. La interacción entre fotoperiodicidad y ritmos endógenos se pone de manifiesto por la variación en la sensibilidad a la luz roja a lo largo de la noche, en plantas tanto de día corto (PDC) como de día largo (PDL). Las plantas se irradiaron con luz roja durante unos minutos en distintos momentos desde el inicio del período nocturno y se cuantificó el efecto como el porcentaje de plantas que florecieron tras los distintos tratamientos. (Adaptado a partir de Mohr y Schopfer, 1995.)

cesos fisiológicos. En *Arabidopsis*, el oscilador central está generado por la función de, al menos, cuatro proteínas que regularían su expresión, de tal manera que unas funcionarían

como represores de la expresión génica de las otras, y éstas, a su vez, como activadores transcripcionales de las primeras (Alabadi y cols, *Science* 293:880-883, 2001). La sincronización de este oscilador endógeno con los ciclos diarios de luz y oscuridad está mediada por fotorreceptores de luz roja (fitocromos) y de luz azul (criptocromos) con distinta actividad dependiendo de la longitud de onda de la luz y de su intensidad. Finalmente, en *Arabidopsis*, dos tipos de observaciones indican el papel que el ritmo circadiano desempeña en la regulación fotoperiódica del tiempo de floración. En primer lugar, la mayor parte de los mutantes de *Arabidopsis* afectados en el ritmo circadiano muestran alteraciones en la respuesta fotoperiódica del tiempo de floración. En segundo lugar, la expresión de muchos genes que participan en la regulación fotoperiódica del tiempo de floración (véase más adelante) está regulada de forma circadiana (Ausín y cols, *Int. J. Dev. Biol.* 49:689-705, 2005).

¿Cómo utilizan las plantas este ritmo endógeno circadiano para medir la progresión anual en la longitud del fotoperíodo? Históricamente se han propuesto dos modelos básicos que se representan en la Figura 25-7. En 1936, Bünning propuso el modelo de coincidencia externa, según el cual un reloj interno generaría un ritmo circadiano con una fase sensible a la luz, de tal manera que la coincidencia de esta fase sensible con la parte diurna del fotoperíodo provocaría la aceleración de la floración en las PDL o su represión en las PDC. Alternativamente, en 1960 Pittendrigh propuso la existencia de un modelo de coincidencia interna según el

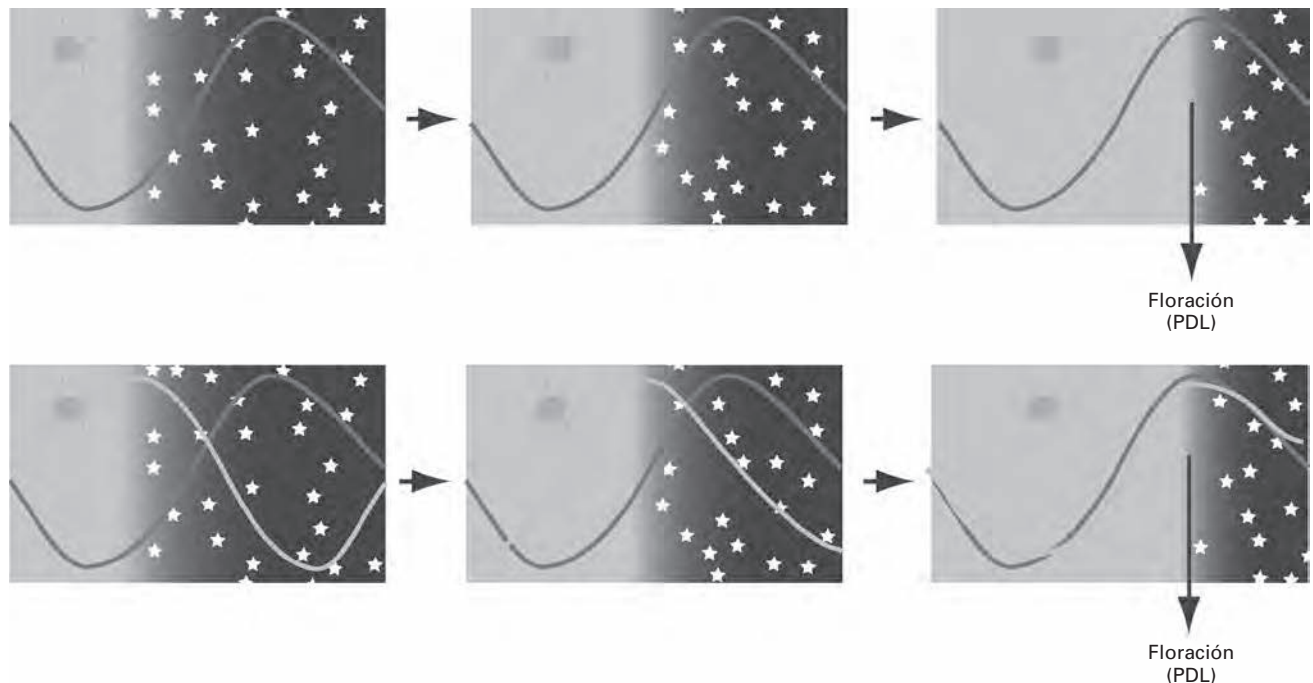


Figura 25-7. Modelos propuestos para explicar la medición de la longitud del fotoperíodo por las plantas. El panel superior ilustra el modelo de coincidencia externa, que propone la existencia de un reloj interno que crea un ritmo endógeno con una fase sensible a la luz. Cuando esta fase se solapa con el período de luz, se promueven las respuestas fotoperiódicas (en PDL) o se inhiben (en PDC). El panel inferior ilustra el modelo de coincidencia interna que propone que la luz ajusta dos relojes distintos con diferentes ritmos internos. Las respuestas fotoperiódicas se disparan cuando los dos ritmos coinciden. (Modificado a partir de Ausín et al., 2005).

cual podrían existir dos ritmos endógenos, cada uno de ellos puesto en hora de manera independiente por la luz y de tal manera que ambos ritmos coincidan cuando las condiciones de fotoperíodo son inductivas (Fig. 25-7).

El estudio de la regulación del tiempo de floración en *Arabidopsis*, una PDL, ha permitido identificar una serie de genes que son necesarios para promover la floración en condiciones inductivas de días largos, entre los que cabe señalar *GIGANTEA* (*GI*), *CONSTANTS* (*CO*) y *FT*. *CO* codifica un factor de regulación transcripcional, y *FT* una proteína con similitud a los inhibidores de quinasas RAF de mamíferos. La expresión de *GI* y *CO* está regulada de forma circadiana y ambos participan en una cascada de regulación transcripcional positiva en la que *GI* regula a *CO*, y éste, a su vez, regula la expresión de *FT*. Curiosamente, los elevados niveles de expresión de *CO* que se producen una vez cada 24 horas como consecuencia de su regulación circadiana sólo provocan un aumento en la expresión de *FT* y, por tanto, la inducción de la floración cuando coinciden plenamente con el período de luz. Este efecto se debe a que la luz estabiliza la proteína *CO* que en

condiciones de oscuridad es degradada rápidamente por el proteosoma (Valverde y cols, *Science* 303:1003-1006, 2004). El efecto de la luz sobre la estabilidad de *CO* está mediado por distintos fotorreceptores con efectos antagónicos, de tal manera que los criptocromos y el fitocromo A contribuyen a estabilizar *CO* en condiciones de luz azul o roja lejana, mientras que el fitocromo B promueve la degradación de *CO* en luz roja. Estos resultados explican los efectos de las interrupciones nocturnas en PDL y apoyan las predicciones del modelo de coincidencia externa, que sería el mecanismo utilizado por las plantas para medir la variación en la longitud del fotoperíodo a lo largo del año.

¿Funciona el mismo sistema en PDC? Hasta el momento todo parece indicar que puede ser así. Concretamente, en el arroz, dos de los genes identificados como responsables de la variación en la respuesta fotoperiódica de distintas variedades, *Hd1* (*Heading date 1*) y *Hd3a* (*Heading date 3a*), son homólogos de *CO* y de *FT*. *Hd1*, al igual que su homólogo *CO*, también presenta un ritmo circadiano en su expresión y participa en la regulación de *Hd3a*. Sin embargo, al con-

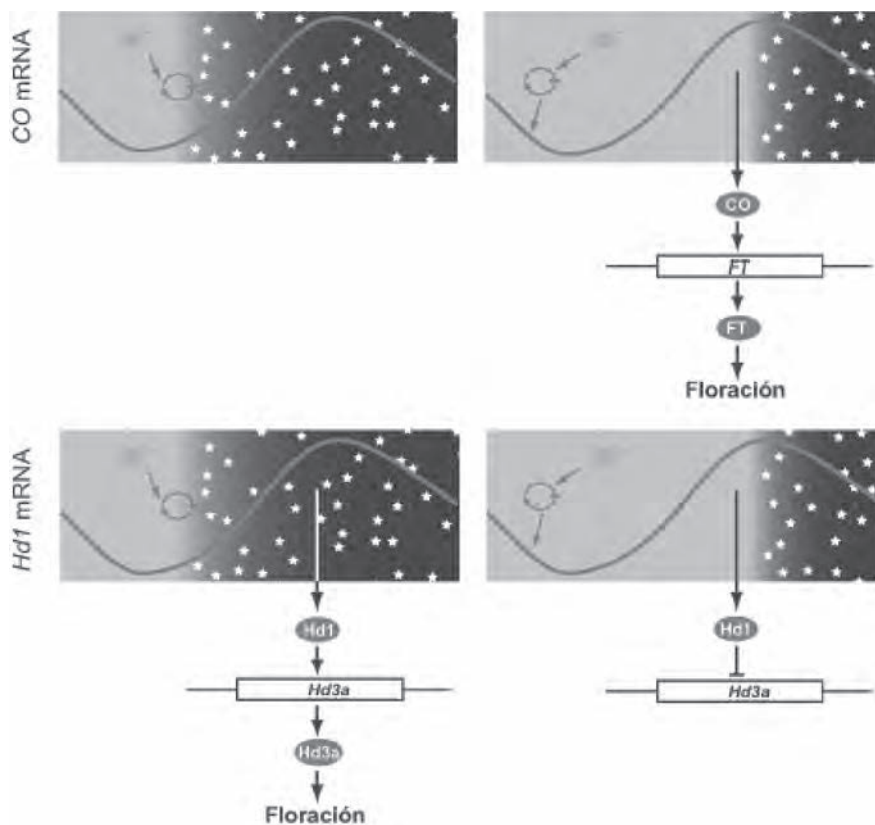


Figura 25-8. Inducción fotoperiódica de la floración en PDL y PDC. En *Arabidopsis* la expresión de *CO* está regulada por el ritmo circadiano y el mensajero presenta su pico máximo de acumulación a medianoche, cuando las plantas se cultivan en DC, y al final del día en DL. *Hd1*, el homólogo del arroz, se expresa de forma similar. En condiciones de DC los elevados niveles de expresión de *CO* a medianoche no activan la expresión de *FT* en *Arabidopsis*, mientras que los elevados niveles de *Hd1* en el arroz sí que activan la expresión del homólogo de *FT*, *Hd3a*, que acelera la floración. En *Arabidopsis* la coincidencia de los altos niveles de expresión de *CO* con el período de luz en DL activa la expresión de *FT* que, a su vez, acelera la floración. En el arroz, los altos niveles de *Hd1* durante el período de luz reprimen la expresión de *Hd3a* inhibiendo la floración. (Modificado a partir de Ausín et al., 2005.)

trario que *CO*, que promueve la expresión de *FT* en DL, *Hd1* reprime la expresión de *Hd3a* en DL y la promueve en DC, como se muestra en la Figura 25-8. Por tanto, las PDL, como *Arabidopsis*, y las PDC, como el arroz, utilizan los mismos elementos moleculares para percibir la longitud del fotoperíodo. La distinta reacción de estos dos tipos de plantas al mismo fotoperíodo parece estar relacionada con la función de *CO/Hd1* en la regulación positiva o negativa de *FT/Hd3a*.

En conclusión, la regulación fotoperiódica del tiempo de floración requiere tres componentes: un ritmo endógeno circadiano; una ruta de señalización dependiente del ritmo circadiano, de la que forman parte *GI*, *CO* y *FT*, con una fase de mayor sensibilidad a la luz y la propia luz, cuyo efecto está mediado por fotorreceptores. La luz interacciona con este sistema de regulación fotoperiódica al menos en dos momentos: 1) ajusta la hora del reloj circadiano cada día, y 2) contribuye a la estabilidad de la proteína *CO* responsable de la inducción de *FT* y de la aceleración de la floración.

4.3. Las hojas perciben la duración del fotoperíodo y generan una señal que se transmite al meristemo apical

El órgano de la planta que percibe el fotoperíodo se determinó mediante experimentos en los que distintas partes de una planta mantenida en condiciones de fotoperíodo no inductivas se sometieron a condiciones de fotoperíodo inductivas. Cuando el meristemo apical se mantenía en condiciones inductivas y el resto de la planta en condiciones no

inductivas, la planta no florecía. Sin embargo, **una sola hoja** expuesta a fotoperíodos inductivos era capaz de provocar la floración en el resto de la planta cultivada en condiciones no inductivas (Fig. 25-9). Estos experimentos mostraron que la capacidad de percibir el fotoperíodo se encuentra en las hojas y no en el meristemo apical, que es insensible a este estímulo ambiental. Si las hojas son los órganos que perciben los cambios en el fotoperíodo, y la respuesta o el cambio de patrón de desarrollo que conlleva la inducción de la floración tiene lugar en el meristemo apical, debe postularse la existencia de algún tipo de **señal o estímulo** que es transmitido desde las hojas hasta el meristemo apical.

La transmisión de un estímulo floral desde las hojas al meristemo apical pudo demostrarse gracias a las posibilidades de injertar que ofrecen las plantas. Así, una planta cultivada en condiciones de fotoperíodo inductivo podía inducir la floración de una planta injertada sobre ella, aunque esta misma planta injertada se mantuviera en condiciones de fotoperíodo no inductivo. Incluso una sola hoja aislada de una planta cultivada en condiciones de fotoperíodo inductivo es capaz de inducir la floración cuando se injerta en otra planta cultivada en condiciones no inductivas. Estas observaciones llevaron al científico ruso Mikhail Chailakhyan a proponer, en 1930, la hipótesis del control hormonal de la floración, acuñando el término de «**florigeno**» para denominar ese estímulo transmisible al que podía atribuirse una función de tipo hormonal. Los experimentos con injertos proporcionaron también una valiosa información sobre las características de este **estímulo floral transmisible**. En primer lugar, independientemente de que se produzca como

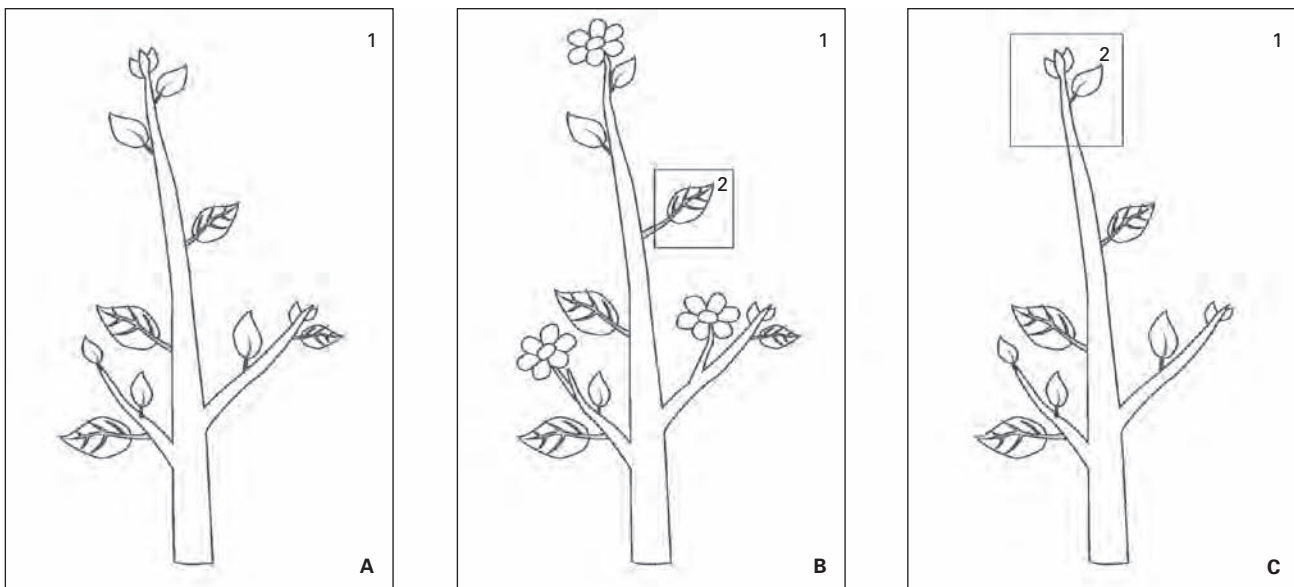


Figura 25-9. Papel de las hojas en la inducción fotoperiódica de la floración. **A.** Planta cultivada en condiciones de fotoperíodo no inductivas. **B.** Inducción de la floración por exposición de una sola hoja de la planta a condiciones de fotoperíodo inductivas (2). **C.** La exposición del meristemo apical a fotoperíodos inductivos (2) no tiene efecto en la aceleración de la floración si el resto de la planta se mantiene en condiciones no inductivas (1).

consecuencia de la exposición a fotoperíodos largos en las PDL o a fotoperíodos cortos en PDC, el estímulo parece ser de la misma naturaleza, dado que las plantas de día largo cultivadas en fotoperíodos largos provocan la floración de las plantas de día corto injertadas sobre ellas. En segundo lugar, la transmisión del estímulo se realiza a través del floema, dado que su movimiento se puede anular cuando se interceptan estos vasos. Sin embargo, a pesar de que durante décadas se han realizado numerosos intentos para aislar y caracterizar esta molécula, el florigeno ha permanecido más como un concepto fisiológico necesario que como una realidad química.

En *Arabidopsis*, la ruta de inducción de la floración dependiente del fotoperíodo en la que participan *CO* y *FT* funciona en las hojas, lo que concuerda con los resultados de los experimentos de injertos descritos anteriormente. Por tanto, esta ruta puede ser directamente responsable de la producción de un estímulo transmisible entre la hoja y el meristemo apical. Dado que *FT* o un homólogo de *FT* es la diana de *CO* tanto en las PDL como en las PDC, *FT* o un producto de su actividad molecular podría ser el estímulo transmisible. En *Arabidopsis*, la propia proteína *FT* se transporta por el floema desde la hoja hasta el meristemo apical, donde desencadena la inducción de la floración. La proteína *FT* parece regular positivamente su propia expresión, y su llegada al meristemo apical provoca la inmediata expresión del gen *FT* en las células meristemáticas (Corbesier L y cols. *FT* protein movement contributes to long-distance signaling in floral induction of *Arabidopsis*. *Science* 316:1030-1033, 2007). La proteína *FT* no funciona como activador transcripcional, pero podría participar en complejos con otras proteínas activadoras de la transcripción. La expresión de un homólogo de *FT* en el tomate, también conduce a la formación de un estímulo floral transmisible por injerto y que promueve la floración tanto en las PDL como en las PDC (Lifschitz y cols, *PNAS* 103:6398-6403, 2006). Por tanto, aunque pueden existir diferencias entre distintas especies y entre especies con diversos requerimientos de fotoperíodo, en los casos analizados hasta el momento la propia proteína *FT* o un producto de su actividad podrían ser la señal inductora de la floración.

Otra estrategia utilizada para tratar de identificar la naturaleza del estímulo transmisible es la identificación de sustancias que tengan un efecto inductor de la floración cuando se aplican en el meristemo apical de plantas cultivadas en condiciones no inductivas. De todos los reguladores hormonales conocidos, las **giberelinas** son las que tienen un papel más preponderante en la inducción de la floración en algunas PDL. La respuesta a las giberelinas en estas especies está relacionada además con el incremento en los niveles endógenos de estas hormonas que tiene lugar cuando las plantas se cultivan en condiciones de fotoperíodo inductivas (véase el Capítulo 20). En especies como *Arabidopsis* (PDL), en las que existen mutantes deficientes en la síntesis de giberelinas, se ha podido demostrar el papel inductor de la floración de estas hormonas en condiciones subóptimas de fotoperíodo. Así, mientras que las plantas silvestres de *Arabidopsis* pueden llegar a florecer en condiciones de DC

(véase la Fig. 25-4), los mutantes deficientes en la síntesis de giberelinas son incapaces de florecer en estas condiciones. Por otra parte, las mutaciones que provocan una deficiencia en la síntesis de giberelinas no tienen un gran efecto en la inducción de la floración por DL. Sin embargo, las giberelinas no parecen regular la expresión de *FT*, sino que participan en la activación transcripcional de uno de los genes que determinan la identidad del meristemo floral (*LEAFY* en *Arabidopsis*) del que hablaremos más adelante. Por tanto, aunque no se puede descartar su participación en la inducción de la floración de algunas especies, su papel en la respuesta fotoperiódica parece limitado.

Finalmente, los resultados de experimentos de defoliación que provocan la inducción de la floración en algunas especies y el efecto de determinadas combinaciones de donante-receptor en experimentos de injertos han llevado, en algunos casos, a predecir la existencia de inhibidores de la floración que podrían ser generados en las hojas en condiciones no inductivas y transmitirse al meristemo apical. En *Arabidopsis*, *TFL1* es un miembro de la misma familia génica que *FT* que funciona como represor de la floración como consecuencia de un cambio aminoacídico en la proteína. La hipótesis de que el mRNA de la proteína *TFL1* se transporte por el floema como una señal inhibidora de la floración es una posibilidad aún por demostrar. Como hemos visto, muchas de las observaciones fisiológicas clásicas en el estudio de la inducción fotoperiódica de la floración pueden analizarse ahora desde una perspectiva genética y molecular.

5. VERNALIZACIÓN

5.1. La exposición a temperaturas bajas (vernalización) acelera el tiempo de floración

Al igual que el fenómeno fotoperiódico, la aceleración del tiempo de floración como respuesta a las temperaturas bajas comenzó a describirse para distintas especies a principios del siglo pasado. Sin embargo, este efecto de la temperatura pasó prácticamente inadvertido hasta que fue observado en los cereales. En el trigo, el centeno o la cebada, se conocen variedades de ciclo largo (variedades de invierno) que deben sembrarse en invierno para que florezcan en primavera y fructifiquen en verano; y variedades de ciclo corto (variedades de primavera) que pueden sembrarse una vez pasados los rigores del invierno y fructifican también en verano. En general, las variedades de invierno suelen ser más productivas; sin embargo, en climas muy fríos las cosechas de variedades de invierno pueden perderse como consecuencia de temperaturas de congelación muy extremas. Gustav Gassner, en 1918, describió el efecto que tenía la exposición a temperaturas bajas durante el desarrollo vegetativo de variedades de invierno en la aceleración de su floración. Más tarde, en 1920, fue un investigador ruso, T. D. Lysenko, quien desarrolló tratamientos a temperaturas bajas de semillas germinadas de variedades de invierno, previos a su

siembra en primavera, y acuñó el término «**vernalización**» para describir el efecto de las temperaturas bajas. La palabra vernalización deriva del término latino *vernalis*, que significa primavera. En sentido estricto, este término describe el efecto de vernalización o «primaverización» de las temperaturas bajas, que transforma las variedades de invierno en variedades de primavera.

Una vez reconocido el fenómeno de la inducción de la floración por temperaturas bajas, el efecto de la vernalización se observó en muchas especies de climas templados que florecen en primavera (Cuadro 25-2). La floración de estas plantas requiere la exposición a las frías temperaturas invernales, bien en estado vegetativo o como semillas hidratadas o germinadas en el suelo. En función del requerimiento de temperaturas bajas para florecer, las plantas pueden clasificarse en plantas con **requerimientos absolutos o cualitativos**, que no florecerán a menos que sean expuestas a temperaturas bajas durante un determinado período de tiempo, y plantas con **requerimientos cuantitativos**, en las cuales la floración se acelerará en mayor medida cuanto mayor sea la exposición a temperaturas bajas. En general, las plantas con requerimientos de vernalización suelen combinar estos requerimientos con la respuesta al fotoperíodo, de manera que la vernalización de las plantas será más efectiva si va seguida por fotoperíodos inductivos.

Los factores determinantes del efecto de los tratamientos de vernalización son la temperatura, la duración del tratamiento y el estado de desarrollo de la planta. En general, temperaturas por debajo de 10 °C aceleran la floración cuando se aplican a plantas en estados iniciales de desarrollo vegetativo, siempre que no desciendan por debajo de la tem-

peratura de congelación de los fluidos extracelulares (alrededor de -4 °C). Cuanto menor es la temperatura de vernalización, mayor es el efecto del tratamiento. De la misma forma, cuanto mayor es la duración del tratamiento de vernalización (hasta un total de 2-3 meses), mayor es el efecto observado en la aceleración de la floración (Fig. 25-10). El estado de desarrollo de la planta también parece ser un factor determinante en la eficacia del tratamiento de vernalización. Así, la exposición a temperaturas bajas de especies herbáceas suele

CUADRO 25-2. Ejemplos de especies con requerimiento de vernalización.

I Plantas de día corto (PDC) que requieren vernalización o adelantan la floración en respuesta a un período de temperatura baja

Allium cepa (cebolla)
Chrysanthemum morifolium (crisantemo)

II Plantas de día largo (PDL) que requieren vernalización o adelantan la floración en respuesta a un período de temperatura baja

Arabidopsis thaliana
Avena sativa (avena, variedad de invierno)
Beta saccharifera (remolacha azucarera)
Bromus inermis
Hordeum vulgare (cebada)
Hyoscyamus niger (beleño negro)
Lolium temuletum
Triticum aestivum (trigo candeal)

III Plantas neutras al fotoperíodo (PNF) que requieren vernalización o adelantan la floración en respuesta a un período de temperatura baja

Daucus carota (zanahoria silvestre)
Lunaria annua

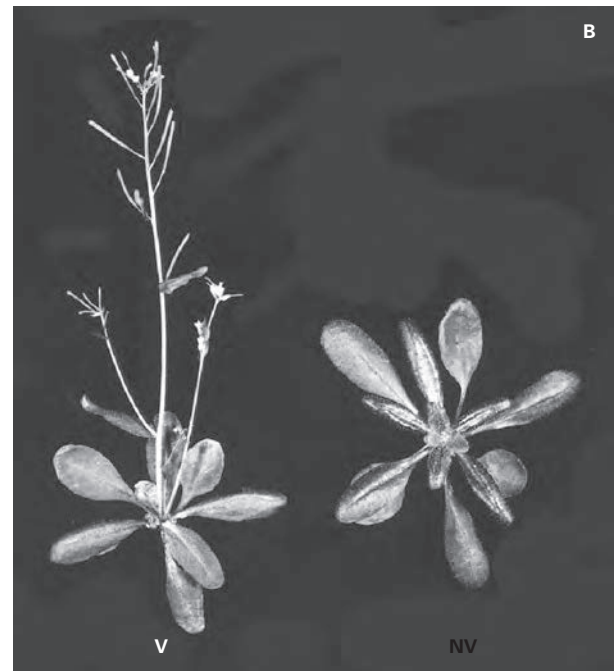
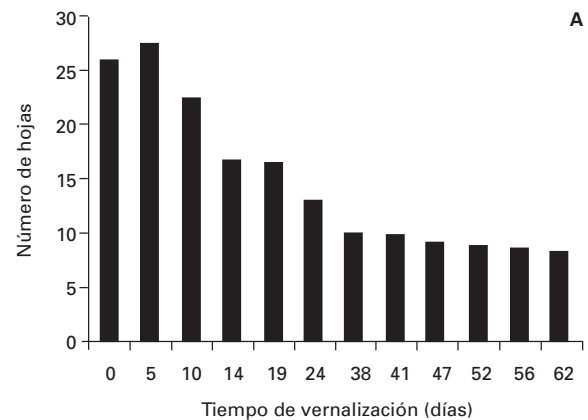


Figura 25-10. Vernalización en *Arabidopsis thaliana*. **A.** Efecto de la duración del tratamiento de vernalización en el número total de hojas producidas por plantas de la variedad Lund de *Arabidopsis thaliana*. Las semillas germinadas de estas plantas se expusieron a 4 °C durante distintos períodos y luego se cultivaron en condiciones de fotoperíodos largos (16 horas de luz). **B.** Aspecto de plantas de *Arabidopsis* con requerimiento de vernalización después de su cultivo en DL durante tres semanas. V: planta procedente de una plántula vernalizada durante 4 semanas; NV: planta procedente de una plántula no vernalizada.

ser más efectiva si se realiza en semillas hidratadas o en plántulas en los primeros estadios de desarrollo, excepto en el caso de especies bianuales que necesitan haber alcanzado un determinado desarrollo vegetativo. La vernalización de las semillas secas no tiene ningún efecto.

5.2. La inducción de la floración mediante temperaturas bajas requiere la exposición de los meristemas al tratamiento de vernalización

Con el fin de determinar cuál es el órgano de la planta que percibe el estímulo inductor en los tratamientos de vernalización, se realizaron experimentos en los que se enfriaban diferencialmente las hojas de la planta o el meristemo apical. Cuando en una planta que se mantiene a temperatura no inductiva se enfría el **meristemo apical**, ésta se comporta como si hubiera sido vernalizada e inicia la floración. Si, por el contrario, los órganos enfriados son las hojas y el meristemo apical se mantiene a temperatura normal, la planta no florece. Por tanto, es el meristemo apical el que debe ser expuesto directamente al estímulo ambiental para que tenga lugar la floración. Puesto que los meristemas de las plántulas vernalizadas no inician la floración inmediatamente, sino tras completar el desarrollo vegetativo de la planta, el efecto de la vernalización debe mantenerse durante sucesivas divisiones celulares. Experimentos realizados por Metzger en *Thlaspi arvense*, una especie con requerimiento absoluto de vernalización, añaden un factor adicional de complejidad al efecto de la vernalización. Metzger regeneró plantas de *Thlaspi arvense* a partir de hojas de plantas que habían sido vernalizadas y a partir de hojas de plantas no vernalizadas. Las plantas regeneradas a partir de hojas vernalizadas florecieron rápidamente, mientras que las plantas regeneradas a partir de hojas no vernalizadas no fueron capaces de florecer (Fig. 25-11). Estos resultados sugieren que la vernalización podría tener efecto en otros órganos de la planta, quizá en todas las células, provocando cambios que se mantienen a lo largo de sucesivas divisiones celulares. Sin embargo, puesto que el único órgano capaz de producir flores es el meristemo apical, el efecto de la vernalización sólo se observa cuando es éste el órgano vernalizado.

Por analogía con el efecto del fotoperíodo en la producción de un estímulo transmisible, se acuñó inicialmente el término «**vernalina**» para designar el estímulo transmisible que debería producirse como consecuencia de la vernalización. Anton Lang, en 1957, llegó a plantear la equivalencia entre vernalina y giberelinas al observar que los tratamientos con estas hormonas podían sustituir el requerimiento de vernalización de algunas especies como la zanahoria (*Daucus carota*). Sin embargo, la mayor parte de los experimentos de injertos realizados no han demostrado fehacientemente la existencia de una señal transmisible en el caso de la inducción por temperaturas bajas, dado que un meristemo inducido no induce la floración en otros meristemas de la planta o en otras plantas cuando es injertado.

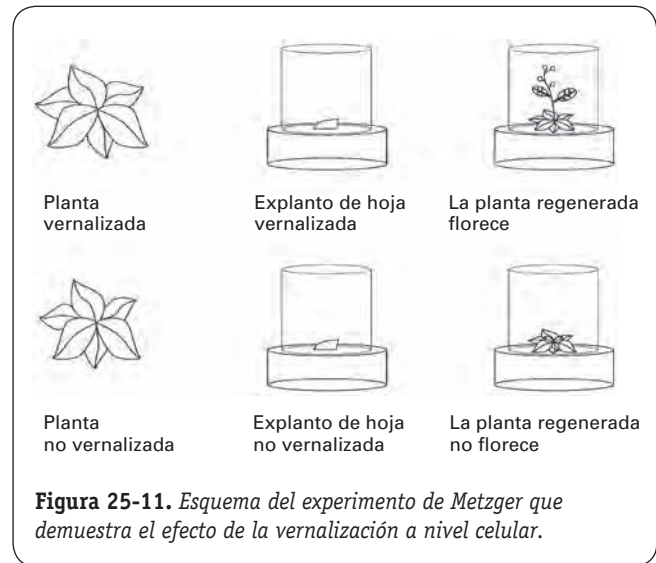


Figura 25-11. Esquema del experimento de Metzger que demuestra el efecto de la vernalización a nivel celular.

5.3. Bases moleculares de la variación genética para el requerimiento de vernalización

En muchas especies de regiones templadas pueden encontrarse individuos o variedades con distintos requerimientos de vernalización para florecer. En *Arabidopsis*, existe una gran variación para el requerimiento de vernalización y suelen distinguirse genotipos de ciclo corto o de verano, que florecen sin necesidad de haber sido expuestos a temperaturas bajas, y genotipos de ciclo largo o de invierno, que requieren vernalización para florecer tempranamente (Cuadro 25-3). En la mayor parte de las poblaciones naturales de *Arabidopsis* que requieren vernalización para florecer, este requerimiento viene determinado por la presencia de alelos dominantes en los loci, *FRIGIDA* (*FRI*) y *FLOWERING LOCUS C* (*FLC*), que actúan de manera sinérgica y que provocan un retraso en la floración que sólo puede ser corregido con un tratamiento de vernalización. *FLC* codifica un factor transcripcional de la familia MADS que funciona como represor de la floración al reprimir la expresión de *FT* y de otros genes promotores de la floración. El nivel de expresión de *FLC* está negativamente relacionado con el tiempo de floración de la planta. *FRIGIDA* codifica una proteína de función descono-

CUADRO 25-3. Efecto de un mes de tratamiento de vernalización en el tiempo de floración de distintas variedades de *Arabidopsis thaliana*.

Variedad	Tiempo de floración (días)	
	No vernalizadas	Vernalizadas
Columbia	22	22
Oystese	24	25
Lund	72	21
Stockholm	50	31

cida. Los alelos dominantes de *FRI* aumentan la expresión de *FLC* en los genotipos de invierno, mientras que muchos de los genotipos de verano son portadores de alelos de pérdida de función en *FRI*.

La vernalización de los genotipos de invierno supera el efecto de *FRI* y reprime la expresión de *FLC* de manera proporcional a la duración de la exposición a temperaturas bajas. El efecto de la vernalización en los niveles de expresión de *FLC* se mantiene tras la exposición a temperaturas bajas, durante el resto de la vida de la planta. En distintas especies de crucíferas, genes ortólogos de *FLC* también son responsables de generar el requerimiento de vernalización como consecuencia de su función represora de la floración. Asimismo, en estas especies el efecto de la vernalización se asocia a la reducción de la expresión de los ortólogos de *FLC*. Como se ha comentado anteriormente, en el trigo, la cebada y otros cereales de invierno se han seleccionado variedades de primavera que carecen del requerimiento de vernalización y que, por tanto, pueden sembrarse una vez entrada la primavera, dado que no necesitan los rigores del invierno para promover la floración. El requerimiento de vernalización en el trigo de invierno viene determinado fundamentalmente por la presencia de alelos recesivos en el *locus VRN1* y de alelos dominantes en el *locus VRN2*. Ninguno de estos genes está estrechamente relacionado con *FLC*. *VRN1* codifica un factor transcripcional, también de la familia *MADS*, más relacionado con *APETALA1* (véase más adelante) y, al contrario que *FLC*, funciona como inductor de la floración (Yan y cols, *Science* 303:1640-1644, 2004). *VRN2* codifica una proteína denominada *ZCCT1* que contiene dominios de dedos de cinc y *CCT* y para la que no existen genes homólogos en *Arabidopsis*. De manera análoga a *FLC*, *VRN2* funciona como represor de la floración y la vernalización reduce su nivel de expresión.

Por tanto, al contrario de la conservación observada para los mecanismos de regulación fotoperiódica del tiempo de floración entre monocotiledóneas y dicotiledóneas, el estudio de los mecanismos responsables del requerimiento de vernalización parece indicar que en distintos grupos botánicos se han reclutado distintos conjuntos de genes para esta función. Las crucíferas y las gramíneas han reclutado genes distintos, como *FLC* y *VRN2*, para funciones análogas, y genes homólogos, como *APETALA1* y *VRN1*, para funciones diferentes.

5.4. Mecanismo molecular de la vernalización

La reducción en la expresión de *FLC* como consecuencia de la exposición a temperaturas bajas podría explicarse mediante mecanismos de regulación transcripcional dependientes de los estímulos ambientales. Sin embargo, el efecto de la vernalización presenta la particularidad de que la reducción en la expresión de *FLC* se mantiene a lo largo de toda la vida de la planta cuando vuelve a condiciones de temperatura normal. Esta estabilidad mitótica es característica de los procesos de regulación epigenética que se producen como consecuencia de la modificación covalente del DNA y de las

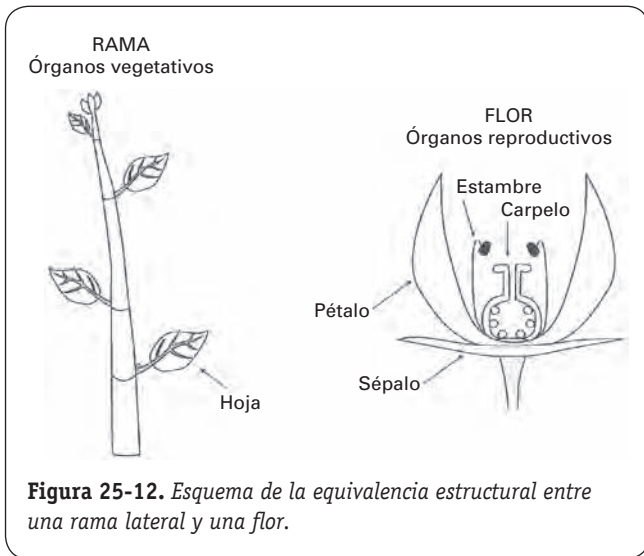
histonas que forman parte de la cromatina. El análisis de la composición de la cromatina en la región de *FLC* ha puesto de manifiesto que las histonas que forman parte de la cromatina de *FLC* se encuentran en distintos estados de modificación en plantas vernalizadas y no vernalizadas, que se relacionan con el silenciamiento o el alto nivel de expresión de *FLC*, respectivamente. La pléyade de mutaciones que, en *Arabidopsis* afectan a la expresión de *FLC* y alteran el tiempo de floración de plantas con o sin requerimientos de vernalización, ha permitido identificar un gran número de genes cuyos productos participan en complejos de modificación de la cromatina (He y Amasino, *Trends Plant Sci.* 10:30-35, 2005). Estos resultados ponen de manifiesto el papel que estos mecanismos de regulación epigenética pueden desempeñar no sólo en la regulación del tiempo de floración, sino también en otros procesos del desarrollo de las plantas.

6. DESARROLLO FLORAL

6.1. La llegada del estímulo floral a un meristemo apical competente provoca la iniciación de los meristemos florales

La llegada del estímulo floral producido en las hojas a un meristemo apical competente tiene consecuencias drásticas en el patrón de desarrollo del meristemo. Uno de los primeros efectos observables es el aumento de la **actividad mitótica**, especialmente en las zonas laterales del meristemo donde se generan los nuevos primordios. Además, el estímulo floral provoca un cambio en la identidad de los nuevos primordios que, en lugar de meristemos axilares y hojas, van a generar meristemos florales. Al contrario que los meristemos axilares, los meristemos florales no detienen su desarrollo como respuesta a la inhibición causada por el meristemo apical, sino que dan lugar a las flores.

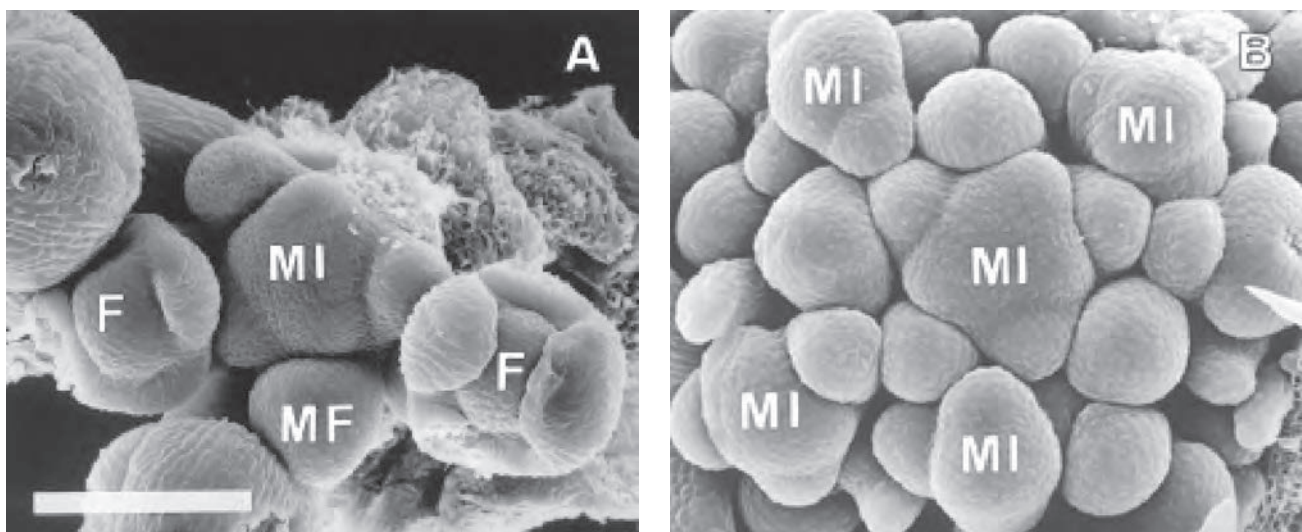
Muchos investigadores de la morfología vegetal han visto en el desarrollo de las flores a partir de meristemos florales la continuidad del mismo patrón básico de desarrollo observado en los meristemos vegetativos, aunque con distintos grados de modificación en la identidad de las estructuras generadas. Como consecuencia de esta comparación, una flor puede considerarse como una rama lateral, en la que las hojas se modifican en los distintos órganos florales, tal como se recoge en el esquema de la Figura 25-12. Tanto los meristemos vegetativos axilares como los meristemos florales presentan un patrón de desarrollo basado en la iniciación de los primordios. Sin embargo, existen diferencias notables en lo que respecta a la posición y a la identidad de esos primordios. El meristemo floral da lugar a primordios con **filotaxia verticilada**, sin que exista elongación del tallo entre los verticilos consecutivos. Siguiendo un desarrollo acrópeto, estos primordios se diferenciarán en sépalos, pétalos, estambres y carpelos para dar lugar a la estructura floral básica. Otra diferencia fundamental en la formación de la flor es que el desarrollo de su meristemo apical está **determinado**, es decir, todas las células constituyentes del meristemo se diferencian.



El aislamiento de mutantes que desarrollan ramas laterales en las posiciones en que deberían desarrollar flores (Fig. 25-13) ha permitido identificar en algunas especies más de media docena de genes que son necesarios para determinar la identidad del meristemo floral. Dos de ellos, denominados en *Arabidopsis* **APETALA1** (*AP1*) y **LEAFY** (*LFY*), han sido estudiados con mayor detalle, habiéndose demostrado, además, que la sobreexpresión de cualquiera de los dos en un meristemo es condición suficiente para que ese meristemo se diferencie en una flor. La sobreexpresión de *AP1* reduce o suprime la fase juvenil al tiempo que provoca la diferenciación de las flores, como vimos

anteriormente. Como cabría esperar, dado su papel regulador de la identidad de los meristemas axilares, ambos genes están regulados por las rutas de inducción de la floración (*LFY* integra señales de giberelinas y fotoperíodo y *AP1* está al menos regulado por *LFY* y por *FT*) y codifican factores reguladores de la transcripción. *LFY* contribuye a especificar la identidad del meristemo floral mediante la inducción de *AP1*. Además, *LFY* y *AP1* participan, junto a otros factores de regulación transcripcional, en la inducción de genes responsables de establecer la identidad de los órganos florales, como *APETALA 3* (*AP3*) o *AGAMOUS* (*AG*) (véase posteriormente), etc. (Busch y cols, *Science* 285:585-587, 1999; Wagner y cols, *Science* 285:582-584, 1999; Ng y Yanofsky, *Plant Cell* 13:739-753, 2001).

Todas las plantas superiores analizadas poseen genes homólogos a *LFY* y *AP1* con funciones similares. La inducción diferencial de estos genes en los meristemas axilares o en el meristemo apical está relacionada con la actividad de genes homólogos de *FT* como inductores de la floración u homólogos de *TFL1* como represores, y son responsables, en gran parte, de la estructura de la inflorescencia de cada especie (Fig. 25-14). En el caso más extremo, la producción de una única flor terminal, como el tulipán, sería consecuencia de la inducción de los genes de identidad del meristemo floral en el meristemo apical. Por el contrario, si *LFY*, *AP1* y otros genes nunca se expresan en el meristemo apical, sino sólo en los meristemas axilares, se desarrollará una inflorescencia en racimo, como ocurre en *Arabidopsis*. Entre estas dos formas extremas existe toda una gama de posibles inflorescencias, algunas de las cuales se representan en la Figura 25-14.



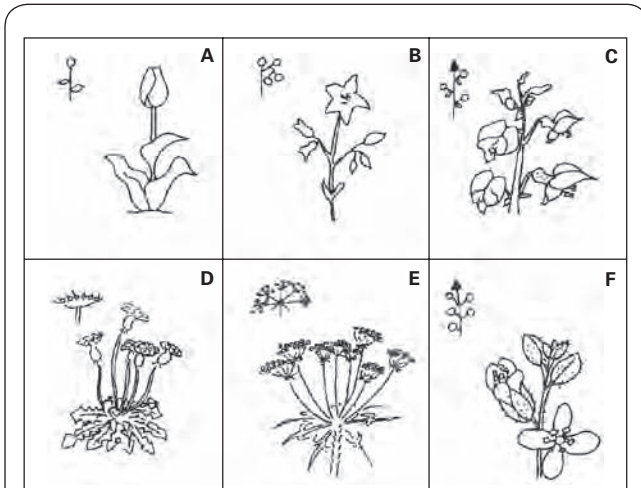


Figura 25-14. Ejemplos de tipos de inflorescencia. **A.** Flor terminal única (tulipán). **B.** Inflorescencia en drepanio (borraja). **C.** Inflorescencia indeterminada en racimo con presencia de brácteas (leguminosa). **D.** Inflorescencia en capítulo (diente de león). **E.** Inflorescencia en umbela compuesta (zanahoria). **F.** Inflorescencia indeterminada en racimo (crucífera).

6.2. El desarrollo de los órganos florales está regulado por genes homeóticos

Se conocen multitud de mutaciones que afectan a la morfología de la flor. Muchas de ellas han sido conservadas en jardines botánicos o han sido utilizadas para la mejora de variedades de especies ornamentales. Sin embargo, el análisis sistemático de estas mutaciones en una sola especie o en un número limitado de especies es reciente. Una de las conclusiones primordiales de este análisis sistemático es que gran parte de estas mutaciones provoca cambios en la **identidad de los órganos florales**. En otras palabras, unos órganos se desarrollan en el lugar en el que deberían desarrollarse otro tipo de órganos. En su conjunto, estas mutaciones de cambios de identidad se denominan **mutaciones homeóticas**, por analogía con las mutaciones caracterizadas en la mosca del vinagre *Drosophila melanogaster*. En *Arabidopsis* y en *Antirrhinum*, dos de las especies en que estas mutaciones se han analizado más profundamente, se ha observado que siempre afectan a los verticilos adyacentes. En consecuencia, pueden distinguirse tres clases de mutaciones, A, B y C, dependiendo de los verticilos alterados. Las mutaciones del grupo A provocan cambios de identidad en los verticilos 1 y 2 (cáliz y corola). En estos mutantes se diferencian órganos con características de hojas o de carpelos en lugar de los sépalos, y los pétalos están ausentes o se diferencian como estambres. Es decir, los verticilos que forman el perianto adquieren características vegetativas o se transforman en verticilos reproductivos. En *Arabidopsis*, dos de los genes afectados en estos mutantes se denominan **APETALA1** y **APETALA2**. Las mutaciones del grupo B causan cambios de identidad en los verticilos internos 2 y 3. En estos mutantes,

se diferencian sépalos en lugar de pétalos y carpelos en lugar de estambres. En *Arabidopsis* estas mutaciones afectan a dos genes denominados **APETALA3** y **PISTILLATA**. Finalmente, las mutaciones del grupo C afectan a los verticilos reproductivos (3 y 4) provocando cambios de identidad de estambres y carpelos, que se diferencian como pétalos y sépalos, respectivamente. En este caso, el gen afectado por estas mutaciones en *Arabidopsis* se denomina **AGAMOUS**. En resumen, la identidad de los órganos presentes en los cuatro verticilos de la flor es consecuencia de la interacción de tres funciones que se representan esquemáticamente en el modelo básico de la Figura 25-15, también conocido como **modelo ABC**. Según este modelo, las funciones A y C se necesitan, respectivamente, para determinar la identidad de los verticilos del perianto (1 y 2) y de los verticilos reproductivos (3 y 4). Ambas funciones serían excluyentes, y la ausencia de una de ellas en un mutante de tipo A o de tipo C provocaría que la otra función pasara a determinar la identidad de todos los verticilos de la flor. La existencia de la función B permitiría diferenciar la identidad de pétalos de la identidad de sépalos en el verticilo 2, así como la identidad de estambres de la identidad de carpelos en el verticilo 3. Los principios básicos de este modelo de control de la identidad de los órganos florales han sido corroborados mediante dos tipos de resultados experimentales. Por un lado, el modelo permite predecir el fenotipo de los dobles mutantes para las funciones A y B, B y C, o A y C, predicción que se ha confirmado al analizar los dobles mutantes. Por otro lado, todos los genes identificados mediante mutaciones homeóticas han sido clonados, y el estudio de su expresión a lo largo del desarrollo de la flor muestra patrones de expresión tisular que, en general, se corresponden con los predichos por el modelo ABC, tanto en las plantas silvestres como en las mutantes. Como cabría esperar de su función reguladora de la identidad, todos estos genes codifican proteínas con estructura de **factores de activación de la transcripción**. La mayor parte de estas proteínas presenta dominios de unión a DNA muy similares y pertenecen a la misma familia de factores, también identificada en levaduras y en células animales con diversas funciones. Esta familia de factores se ha denominado familia MADS, que es un acrónimo de los nombres de los distintos factores caracterizados en esas especies.

La secuenciación completa del genoma de *Arabidopsis* ha permitido identificar todos los miembros de la familia génica MADS y analizar la función biológica de algunas de las secuencias que, debido a su redundancia, no habían sido identificadas en el análisis de mutantes. Mediante la mutación sistemática de secuencias redundantes y la construcción de dobles y triples mutantes se han podido identificar los genes **SEPALLATA** (*SEP*) que se requieren para el desarrollo de los órganos florales en los verticilos 2, 3 y 4. La función de los genes *SEP* se ha denominado D, y su ausencia provoca el desarrollo de flores que contienen sépalos en los cuatro verticilos (Pelaz y cols, *Nature* 405:200-203, 2000). La necesidad de esta cuarta función para el desarrollo de la flor ha llevado a proponer el nombre de modelo ABCD para el modelo genético de control del desarrollo de la flor. La

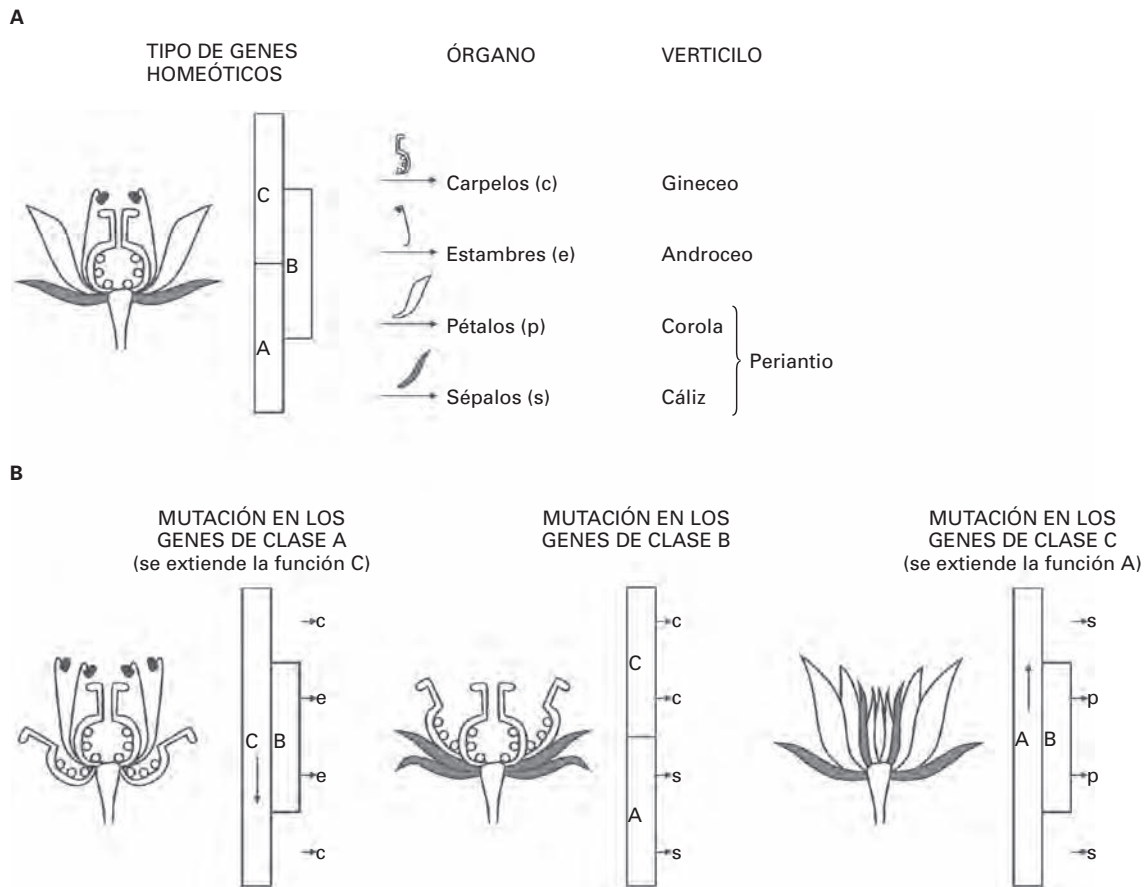


Figura 25-15. Modelo ABC de control genético de la identidad de los órganos florales. **A.** Clases de genes determinantes de la identidad de los órganos. **B.** Representación esquemática de los fenotipos de los mutantes en cada una de las clases de genes homeóticos.

familia de proteínas MADS se ha encontrado en todas las especies vegetales investigadas, participando siempre en la regulación de la identidad de los órganos florales, así como en otros procesos del desarrollo vegetativo y reproductivo de la planta.

7. FLORACIÓN EN ESPECIES LEÑOSAS

La dificultad que supone trabajar con especies leñosas hace que, en general, se conozca menos sobre sus procesos de desarrollo. Al tratarse de especies perennes, las leñosas han de soportar durante ciertas estaciones del año condiciones ambientales no aptas para su desarrollo. Por ello, han adaptado sus ciclos vegetativos y reproductivos a estas condiciones y pueden perder la hoja en otoño o cesar el desarrollo de sus meristemos durante las estaciones menos propicias.

En los árboles frutales, que por su interés han sido más estudiados, los meristemos florales que darán lugar a las flores de la siguiente primavera se inician a lo largo del verano, cuando el árbol se encuentra en su etapa de mayor crecimiento. Sin embargo, con el inicio del otoño, que conlleva el acortamiento del fotoperíodo y un descenso en la tempera-

tura, la actividad de estos meristemos florales se reduce progresivamente hasta que se paraliza por completo, quedando englobados en estructuras denominadas **yemas**, que se mantienen en estado de dormición hasta la siguiente primavera. Las condiciones ambientales que regulan la iniciación de los meristemos florales en las especies leñosas no se conocen con exactitud en muchos casos, dado que lo que determina el tiempo de floración no es tanto este proceso, sino la rotura de la dormición de las yemas, que tiene lugar en primavera, y la duración del proceso de desarrollo de las flores.

7.1. Los procesos de dormición e inducción del desarrollo de las yemas están regulados por factores ambientales y hormonales

Las yemas son estructuras terminales o axilares que se desarrollan en las ramas del árbol y que comprenden un número variable de primordios foliares en distintos estados de desarrollo y, en muchos casos, meristemos florales. Todas estas estructuras están rodeadas por escamas protectoras o catafilos, altamente impermeables al agua y a gases como el oxígeno y el anhídrido carbónico. La **entrada en dormición de las ye-**

mas es un proceso comparable en principio al de la dormición de las semillas. Las estructuras celulares se preparan para un período, que puede ser de larga duración, en el que la actividad metabólica se ve reducida a niveles mínimos. Esta baja actividad queda asegurada por el desarrollo de los catafilos.

Entre las señales ambientales que inducen la dormición de las yemas, el **fotoperíodo corto** es una de las más comunes en las especies de regiones templadas, aunque la **reducción de la temperatura** puede ser también una señal relevante. En especies leñosas de regiones tropicales o de climas secos, la dormición puede producirse como consecuencia de la **falta de agua**. El inicio de la dormición de las yemas se ha relacionado con un aumento en los niveles de ácido abscísico. Teniendo en cuenta el papel de esta hormona en la inhibición del crecimiento y en la respuesta a condiciones de deficiencia hídrica, no resulta extraño que también participe en los procesos de dormición de las yemas. El final de la dormición de las yemas se produce igualmente como respuesta a un estímulo ambiental, la elongación del fotoperíodo, y está regulada, como la germinación, por cambios en los niveles de giberelinas. En muchas especies de climas templados se observan interacciones entre la longitud del fotoperíodo y la temperatura en la regulación tanto de la entrada como de la salida de la dormición de las yemas. Así, por ejemplo, en especies

como el lilo (*Syringa vulgaris*), las yemas son incapaces de salir de la dormición en respuesta a fotoperíodos de día largo si no han sufrido previamente un período de frío, que podría ser equiparable a un tratamiento de vernalización.

El análisis molecular de la inducción de la floración en el chopo (*Populus* spp) ha identificado genes homólogos del *FT* de *Arabidopsis* como responsables de esta respuesta. Es especialmente interesante el hecho de que estos homólogos de *FT* también participen en el control de la dormición de las yemas. De esta manera, los altos niveles de expresión de los genes *FT* del chopo están asociados con la inducción de la floración, mientras que los niveles bajos provocarían la parada del crecimiento y la entrada en dormición de las yemas. Este mismo estudio también demuestra que la expresión de los homólogos del *FT* en el chopo está regulada por genes homólogos a *CO* cuya expresión, asimismo, está regulada de forma circadiana. Por tanto, el modelo de coincidencia externa que explica la regulación fotoperiódica del tiempo de floración en *Arabidopsis* y en el arroz funcionaría también en la inducción estacional de la floración en las plantas leñosas. Además, el mismo mecanismo de regulación podría ser responsable del control fotoperiódico de otros procesos de desarrollo, como la dormición de las yemas.



RESUMEN

- La ausencia de movilidad en las plantas y las características particulares de su desarrollo postembrionario hacen que la regulación del tiempo de floración sea de vital importancia para su éxito reproductivo. Después de una fase de crecimiento juvenil, durante la cual se forma el cuerpo vegetativo de la planta, la mayor parte de las especies depende de factores ambientales que varían de forma regular a lo largo del año, como el fotoperíodo y la temperatura, para iniciar su desarrollo reproductivo. Se asegura así que la floración tenga lugar cuando las condiciones ambientales sean más propicias.
- En las hojas, la longitud del fotoperíodo se mide mediante un mecanismo molecular que permite comparar la longitud de los ciclos de día y de noche a lo largo del año con un ritmo circadiano endógeno que regula la expresión génica. La coincidencia de la fase de luz externa con la de mayor expresión de genes como *CO* provoca la inducción o la represión de la floración. El efecto de la luz en esta fase de coincidencia depende de fotorreceptores como los fitocromos y los criptocromos. Como consecuencia de la inducción fotoperiódica, las hojas generan una señal, de la que forma parte la proteína *FT* y otras moléculas derivadas de su actividad, que se transmite al meristemo apical, donde se inicia el desarrollo floral. Los mecanismos de respuesta al fotoperíodo son similares, con independencia del requerimiento de fotoperíodo de la planta, y parecen estar conservados en las angiospermas.
- La respuesta a la vernalización tiene lugar a nivel celular y su efecto sólo es observable en el meristemo apical, único órgano de la planta con capacidad para desarrollar flores. En *Arabidopsis*, la vernalización provoca cambios en la composición de la cromatina de genes que codifican represores de la floración ocasionando su silenciamiento. Este silenciamiento es un mecanismo de regulación epigenética que se mantiene a lo largo de los ciclos sucesivos de mitosis necesarios para que la planta complete su desarrollo vegetativo y reproductivo. Distintas familias botánicas parecen utilizar diferentes represores de la floración para generar un requerimiento de vernalización.
- La inducción de la floración está controlada por una cascada de regulación transcripcional en la que distintos estímulos ambientales, fundamentalmente el fotoperíodo y la temperatura, regulan la expresión de genes como *FT*. Estos genes, denominados integradores porque integran señales de distintos estímulos ambientales, participan en la activación de los genes que determinan la identidad de los meristemos florales, tales como *AP1* y *LFY*, que a su vez promueven la expresión de genes que determinan la identidad de los órganos florales, como *AP3* y *AG*.
- Muchos de los genes que participan en los distintos niveles de regulación codifican factores de regulación transcripcional de la familia *MADS*, con efectos promotores o represores de la expresión génica. Esta familia ha adquirido un papel preponderante en la regulación del desarrollo reproductivo a lo largo de la evolución de las plantas superiores.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Israel Ausín, Concepción Gómez Mena, Leonor Ruiz García y Mark Wilkinson sus fotografías y microfotografías de *Arabidopsis*, y al resto del laboratorio, y al Dr. Roc Ros Palau, del Dpto. de Fisiología Vegetal de la Universidad de Valencia, su apoyo y sus comentarios.

PROBLEMAS Y CUESTIONES



- 1 ¿Qué función tienen los meristemas en el desarrollo de la planta?
- 2 ¿Puede el meristemo apical responder al estímulo floral durante la fase juvenil?
- 3 Diseñe un experimento que permita identificar cuáles son los factores ambientales que inducen la floración en una especie determinada.
- 4 Basándose en el modelo de coincidencia externa y en la información disponible sobre la regulación de la función de *CO* en *Arabidopsis*, explique por qué la interrupción de la noche con un pulso de luz blanca induce la floración en una PDL como *Arabidopsis* cultivada en fotoperíodo corto.
- 5 ¿Qué experimentos demuestran que el fitocromo está implicado en la respuesta fotoperiódica?
- 6 ¿Qué experimentos demuestran la interacción entre un ritmo circadiano y la respuesta fotoperiódica?
- 7 ¿Qué es la vernalización?
- 8 ¿Se perciben las temperaturas bajas en las hojas? ¿Qué órganos responden a la vernalización?
- 9 ¿Cómo se demostraría la existencia de variación genética para la inducción fotoperiódica en una especie?, ¿y para la inducción por temperaturas bajas?
- 10 ¿Cómo pueden aparecer plantas de ciclo corto o de verano en poblaciones naturales de *Arabidopsis* de plantas de ciclo largo?
- 11 ¿Qué puede ocurrir si se inactiva un gen como *APE-TALA1* o *LEAFY*, responsables de la identidad del meristemo floral?, ¿y si se induce en el meristemo apical?
- 12 Según el modelo ABCD, ¿cómo serían las flores de plantas dobles mutantes para las funciones A y B?, ¿y las de plantas mutantes para las funciones B y C?
- 13 Según el modelo ABCD, ¿cómo serían las flores transgénicas en las que *AGAMOUS* se expresase en todos los verticilos?
- 14 ¿Qué factores ambientales y hormonales actúan como señales para la entrada en dormición de las yemas?, ¿y para la salida de la dormición? ¿Participan estos factores en la regulación de otros procesos de desarrollo?

RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES



- 1 Son responsables de la formación de los órganos que forman el cuerpo de la planta en su desarrollo post-embriionario.
- 2 No (no tiene competencia para ello).
- 3 El tiempo de floración de una planta es consecuencia de su genotipo y de los factores ambientales. Para identificar éstos, hay que cultivar plantas con el mismo genotipo o esquejes de la misma planta en distintas condiciones. Concretamente, para conocer si la floración de una especie se induce en respuesta a un determinado fotoperíodo, deben cultivarse individuos del mismo genotipo en distintas condiciones de fotoperíodo y determinar cuáles tiene un efecto mayor en la aceleración de la floración. Tres fotoperíodos por ensayar serían día largo (16 horas de luz), día corto (8 horas de luz) y día intermedio (12 horas de luz). Para conocer si las temperaturas bajas inducen la floración de esta especie deben exponerse semillas germinadas o plántulas jóvenes de un mismo genotipo a distintos tratamientos de vernalización, y observar si alguno de ellos adelanta la floración de las plantas respecto a la de aquellas que no han sido vernalizadas.



RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES (Cont.)

- 4 La regulación circadiana de la expresión de *CO* provoca que, en condiciones de DC, su expresión sea máxima durante la noche. Debido a la ausencia de luz, la nueva proteína *CO* sintetizada durante la noche es inestable y se degrada rápidamente. Por tanto, si la noche es interrumpida con un pulso de luz blanca, la proteína presente en ese momento se estabiliza e induce la expresión de *FT* que, a su vez, provoca la inducción de la floración.
- 5 Los que demuestran que la interrupción de la noche por un pulso de luz monocromática roja (longitud de onda de 660 nm) afectan a la respuesta fotoperiódica de una planta y que este efecto puede revertirse si, tras el pulso de luz roja, se irradia con luz monocromática roja lejana (longitud de onda de 730 nm).
- 6 La evidencia de esta interacción se obtiene en la variación de la magnitud del efecto de la interrupción nocturna por un pulso de luz roja en función del momento de la noche en el que se realice la interrupción.
- 7 La inducción de la floración por un tratamiento de temperaturas bajas.
- 8 Sí. Los experimentos realizados por Metzger sugieren que las temperaturas bajas se perciben también en las hojas, en las que provocan cambios que se mantienen a lo largo de sucesivas divisiones celulares. Sin embargo, puesto que el único órgano capaz de producir flores es el meristemo apical, el efecto de la vernalización sólo puede observarse cuando se vernaliza el meristemo apical de la planta.
- 9 Por la identificación de individuos que presentan distintos tiempos de floración cuando se cultivan en las mismas condiciones ambientales, bien se trate de fotoperíodo o de temperatura.
- 10 Estas variantes aparecen frecuentemente como consecuencia de mutaciones espontáneas en los genes represores responsables de generar el requerimiento de vernalización. En *Arabidopsis*, muchas de las plantas de verano o de ciclo corto, entre ellas las líneas de laboratorio, son portadoras de mutaciones que anulan la función de *FRIGIDA* y *FLC*, o ambas.
- 11 Si se inactivan genes como *APETALA1* o *LEAFY*, responsables de la identidad del meristemo floral, los meristemas axilares mantendrán la identidad de meristemas vegetativos y se desarrollarán ramas laterales en las posiciones en que deberían desarrollarse flores. La inducción en el meristemo apical de genes de identidad de meristemo floral, como *APETALA1* o *LEAFY*, producirá una flor terminal.
- 12 En las flores del doble mutante para las funciones A y B, la función C se extenderá a todos los verticilos, y todos los órganos serán carpelos. Las flores de los dobles mutantes para las funciones B y C estarán formadas por cuatro verticilos de sépalos, dado que sólo contarán con la función A.
- 13 *AG* se expresa de manera natural en los verticilos 3 y 4. Su expresión ectópica en los verticilos 1 y 2 resultaría antagónica con la función A y provocaría el desarrollo de carpelos en lugar de sépalos, y estambres en lugar de pétalos. Por tanto, los cuatro verticilos de estas flores transgénicas se diferenciarían como carpelos-estambres-estambres-carpelos.
- 14 La entrada en dormición de las yemas se produce como consecuencia de la reducción del fotoperíodo (días cortos). La hormona responsable parece ser el ácido abscísico. La salida de la dormición de las yemas se produce como consecuencia del alargamiento del fotoperíodo (días largos) y, en algunos casos, de haber estado expuestas a temperaturas bajas. Las hormonas responsables podrían ser las giberelinas. Los mismos factores ambientales están también implicados en el control del tiempo de floración. Las mismas hormonas se han identificado por su participación a la hora de desencadenar y mantener la dormición de las semillas (ácido abscísico) y por inducir la germinación (giberelinas).

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA



1. Salisbury FB, Ross C. *Plant Physiology*, 4.^a ed. Wadsworth, Inc., California, 1992. Edición en español, grupo Editorial Iberoamericana, México, 1994.
2. Bernier G. *et al.* «Physiological signals that induce flowering». *Plant Cell*, 1993. 5:1147.
3. Hopkins WG. *Introduction to plant physiology*. John Wiley & Sons, 1995.
4. Meyerowitz EM. «Claves genéticas del desarrollo floral». *Invest Cien*, 1995. 220:24-31.
5. Buchanan B, Gruissem W, Jones RL. Biochemistry and molecular biology of plants. *American Society of Plant Physiologists*, 2000.
6. Ausin I, Alonso-Blanco C, Martínez-Zapater JM. Environmental regulation of flowering. *Int J Dev Biol*, 2005. 49:689-705.
7. Sung S, Amasino RM. Remembering winter: toward a molecular understanding of vernalization. *Annu Rev Plant Biol*, 2005. 56:491-508.
8. Krizek BA, Fletcher JC. Molecular mechanisms of flower development: an armchair guide. *Nat Rev Genet*, 2005. 6:688-698.
9. Parcy F. Flowering: a time for integration. *Int J Dev Biol*, 2005. 49:585-593.
10. Baurle I, Dean C. The timing of developmental transitions in plants. *Cell*, 2006. 125:655-664.

Crecimiento y maduración del fruto

MANUEL AGUSTÍ



1. Introducción. 2. La fructificación. 3. El desarrollo del fruto. 4. La maduración.

1. INTRODUCCIÓN

En un sentido amplio, los frutos son flores o partes de flor (con órganos auxiliares) o inflorescencias en estado de madurez que albergan las semillas hasta que maduran, protegiéndolas y facilitando su dispersión. En estados primitivos, la semilla aislada era el órgano principal de multiplicación de los espermatofitos. Con la evolución, las semillas se han asociado, en muchos casos, a otros órganos de la planta, constituyendo unidades complejas de diseminación: los frutos. Las gimnospermas se caracterizan por poseer primordios seminales «desnudos»; en las angiospermas, sin embargo, los primordios seminales siempre están encerrados dentro de un recipiente formado por las hojas carpelares, **el ovario**, del que no saldrán hasta alcanzar la madurez. Una vez formadas las semillas, dicho ovario (solo o junto con otras partes de la flor) se desarrolla y se transforma en fruto. Son los frutos de las angiospermas los que tienen mayor interés y, por tanto, los que se estudian en este capítulo.

Los frutos pueden ser simples, cuando son únicos (p. ej., melocotón), o compuestos, cuando están constituidos por la agrupación de varios de ellos (p. ej., mora). Cuando en su formación intervienen de modo decisivo órganos auxiliares, extracarpelares, reciben el nombre de **falsos frutos** (p. ej., manzana). Algunas especies son capaces de formar más de una clase de frutos sobre un mismo individuo (p. ej., algunas crucíferas); este fenómeno recibe el nombre de **heterocarpia**.

Por tanto, son los tejidos que rodean la semilla o semillas los que forman el fruto, y de su estructura depende la dispersión de éstas. Globalmente se denominan **pericarpo**, y en él se pueden distinguir tres capas, en general: **el epi-**

carpo (o exocarpo), el mesocarpo y el endocarpo. Los tres son idénticos desde el punto de vista ontogénico, pero se distinguen para facilitar la descripción anatómica de los frutos. La consistencia del epicarpo es el factor principal de la clasificación de los frutos, que se denominan frutos secos cuando aquél es duro, y carnosos cuando es blando. De él depende también el grado de atracción de los frutos, de modo que su color, brillo, textura, resistencia, etc., condicionan decisivamente la calidad comercial de éstos. En algunas especies, el endocarpo está lignificado, constituyendo una cavidad dura que envuelve la semilla y que recibe el nombre de hueso (Fig. 26-1).

La complejidad de estos tejidos y de su desarrollo dificulta el estudio de los frutos si se hace a través de la comparación entre tejidos teóricamente homólogos, es decir, procedentes de las mismas partes de la flor. Una prueba de ello es la diversidad de los frutos por lo que respecta a la parte comestible (Fig. 26-2). La mejor manera de superar estas dificultades es estudiar el comportamiento de los frutos, agrupándolos en función de pautas características del desarrollo; es decir, comparar tejidos análogos, por ejemplo, aquellos que presentan un desarrollo o un comportamiento fisiológico similares.

2. LA FRUCTIFICACIÓN

2.1. La polinización del óvulo promueve el desarrollo del ovario

La forma natural de transporte de los granos de polen en las especies monoicas o dioicas es mediante el viento. Este tipo

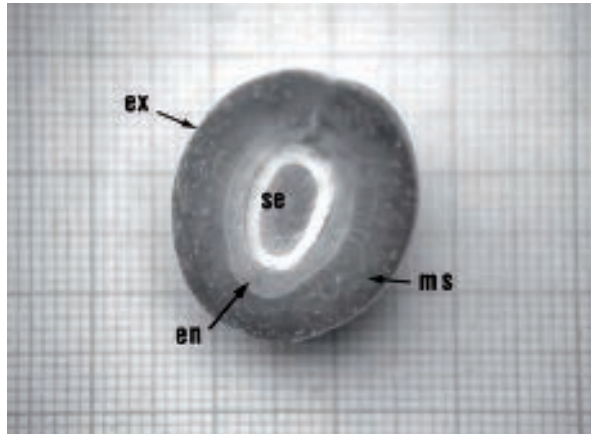


Figura 26-1. Sección de un fruto de melocotón. ex: exocarpo; ms: mesocarpo; en: endocarpo; se: semilla.

de transporte se denomina **anemofilia**. Pero la evolución ha hecho posible el desarrollo de otros tipos de distribución, sobre todo ligada a los animales; para ello, las flores tuvieron que desarrollar medios de reclamo, particularmente de naturaleza óptica y química, capaces de establecer relaciones directas y regulares entre animales polinizadores

y especies vegetales, lo que recibe el nombre de **zoofilia**. Especialmente relevante resulta el caso de las angiospermas, que han desarrollado diversidad de formas florales o de olores para, por una parte, atraer a los animales que necesitan su polen o néctar para alimentarse y, por otra, obligarlos a pasar por determinadas vías para asegurar el contacto del polen con el estigma. La viscosidad de los granos de polen facilita su adherencia tanto al estigma de la flor como al animal portador. Cuando son insectos, sobre todo coleópteros, los implicados en la polinización, el proceso se denomina entomofilia, y si son pájaros, ornitofilia. En algunos casos, limitados a especies típicas de los trópicos y de anthesis nocturna, se ha constatado la participación de murciélagos en la polinización (quiropterofilia).

En unas pocas especies, las gotas de agua de lluvia también pueden provocar la polinización, lo que se conoce como hidrofilia. Finalmente, con la aparición de flores hermafroditas se evitan muchas de las dificultades señaladas y se hace posible la cesión y la captación simultáneas de los granos de polen en una misma flor.

En las angiospermas, al depositarse el grano de polen en el estigma de los pistilos se inicia su germinación. La **exina** (capa externa del grano de polen) se abre, y la célula vegetativa del tubo polínico inicia la formación de éste alargando progresivamente la **intina** (capa interna). El **tubo polínico** crece a lo largo del estilo, a través de sus tejidos, de los

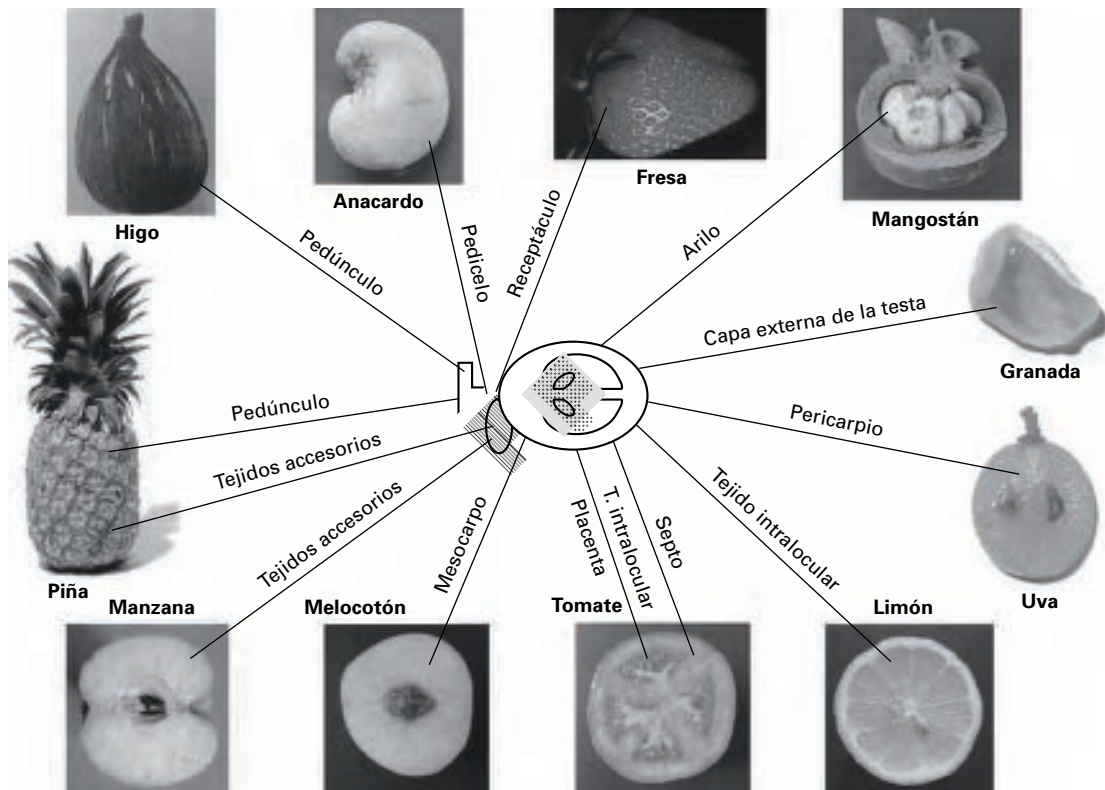


Figura 26-2. Esquema de las secciones de los frutos de 11 especies, que muestra la diversidad de los tejidos comestibles que pueden desarrollarse. (Adaptado de Monselise, 1986.)

que se nutre, hasta alcanzar el micropilo de los primordios seminales (Fig. 26-3). A continuación se abre y libera sus dos células espermáticas; una penetra hasta la ovocélula, fusionándose sus protoplastos (**plasmogamia**) y sus núcleos (**cariogamia**), y la otra se fusiona con el núcleo secundario del saco embrionario. Con ello se origina un cigoto diploide en la ovocélula y un núcleo endospermico triploide en el **saco embrionario**.

El cigoto así formado se divide transversalmente, originando varias células que constituyen el proembrión. De ellas, la célula o células orientadas hacia el interior del saco embrionario se dividen sucesivamente en cuadrantes hasta formar el **embrión**; las células restantes dan lugar al **suspensor**, que acerca aquél hacia el **endospermo secundario** o tejido nutritivo en formación. Este último acaba convirtiéndose en un tejido de reserva que será consumido por el embrión antes o después de su germinación. De los tegumentos del primordio en desarrollo se forma el **episperma** o **testa** que lo envuelve. Cuando dicho primordio seminal alcanza la madurez, recibe el nombre de semilla. La formación de la semilla se trata con detalle en el próximo capítulo.

La velocidad de crecimiento de los tubos polínicos es de gran importancia. En efecto, los óvulos maduros tienen un

período de vida limitado, y la fertilización que llevarán a cabo los gametos masculinos tiene que producirse a lo largo de este período para asegurar la fecundación. El **período de polinización efectiva** se calcula restando del número de días de longevidad del óvulo los días que el tubo polínico necesita para alcanzar el saco embrionario (Fig. 26-4). Su valor es variable según las especies y variedades; así, mientras que en el manzano la longevidad del óvulo es de 10-15 días, en el cerezo es de 4-5 días, y en los cítricos de entre 2 y 9 días; por otra parte, el tiempo de desarrollo de los tubos polínicos también varía de 1-3 días hasta 5-7 días, según las especies. Una polinización tardía puede impedir, por tanto, que los granos de polen alcancen el saco embrionario cuando éste todavía es fértil, impidiendo asimismo la fecundación del óvulo.

La polinización se ve afectada por las características ambientales, sobre todo por la temperatura y la humedad relativa. El efecto de la temperatura puede ser indirecto, al alterar la actividad de las abejas (principales polinizadoras de los árboles frutales), o directo, al afectar al crecimiento del tubo polínico. La eficacia de las abejas en el transporte del polen es máxima con una temperatura media de 20-22 °C, y prácticamente nula cuando es inferior a 12 °C. En los agrios,

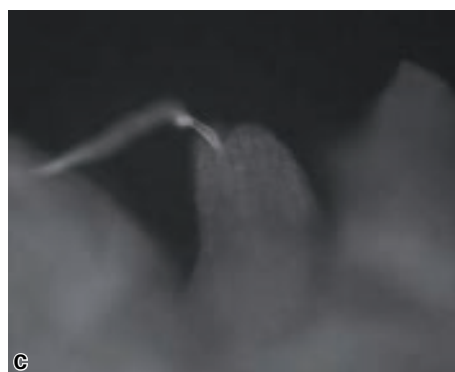
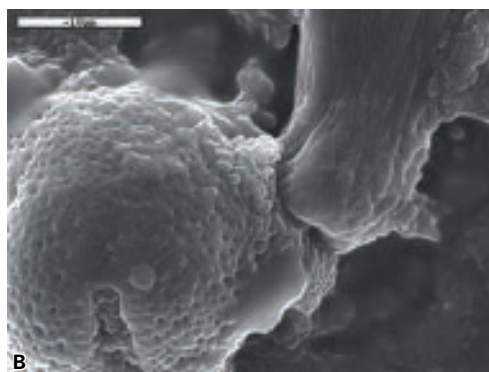
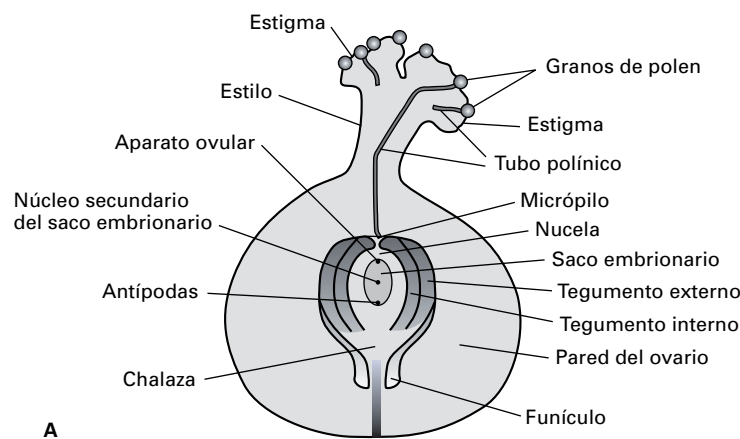
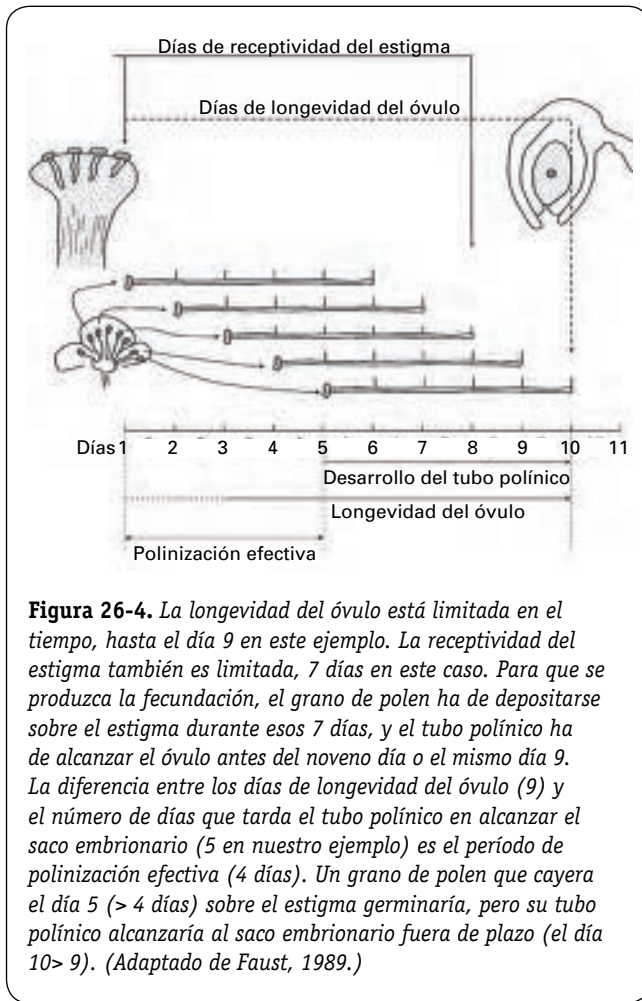


Figura 26.3. A. Corte longitudinal de un pistilo que muestra el desarrollo de un tubo polínico. (Adaptado de Strasburger, E.: Tratado de Botánica, Ed. Marín, Barcelona, 1985.) B. Grano de polen de mandarina en el que se aprecia un tubo polínico emergiendo. C. Tubo polínico alcanzando el micropilo de un óvulo de naranjo dulce. (Fotos B y C: C. Mesejo.)



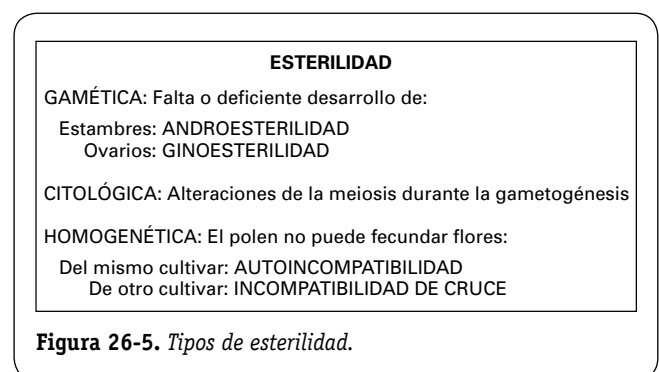
una vez depositado el grano de polen sobre el estigma, su germinación y crecimiento a lo largo del estilo se ven favorecidos por las temperaturas elevadas (25-30 °C), y reducidos o totalmente inhibidos cuando éstas son bajas (< 20 °C). En muchas variedades de peral, la velocidad de crecimiento del tubo polínico exige temperaturas medias diurnas superiores a 12 °C para ajustarse al período de polinización efectiva. Las temperaturas extremas también pueden dar lugar a la formación de polen estéril, como en el caso del tomate, en el que se han fijado los límites térmicos máximo y mínimo para una fecundación adecuada en 30-35 °C y 10-13 °C, respectivamente. En el pimiento, son las bajas temperaturas nocturnas (8-10 °C) las que reducen la viabilidad del polen. La humedad relativa muy escasa (< 50 %) se ha mostrado negativa para la fecundación del tomate, al reducir la retención del grano de polen por el estigma; asimismo, humedades relativas elevadas (> 90 %) pueden dificultar la dehiscencia de las anteras en el tomate, o reducir la fijación del polen en los estigmas de maracuyá. En esta última especie, la insolación también se muestra muy importante en la fecundación; estas flores se abren una sola vez durante, aproximadamente, 12 horas y para ello necesitan 12 horas de insolación, al menos; cuando llega la noche, se cierran, y si no han sido fecun-

dados, se marchitan y caen. En el tomate, una intensidad luminosa escasa reduce el porcentaje de granos germinados, así como el desarrollo del tubo polínico.

Indudablemente, la existencia de flores hermafroditas representa una gran ventaja para superar muchos de los factores negativos citados, ya que, aunque con excepciones, cabe esperar una lógica coordinación en el desarrollo de las diferentes partes de una misma flor ante las mismas condiciones ambientales. Pero, por otro lado, el hermafroditismo asegura, en gran medida, la **autogamia** (polinización directa) y, con ella, la consanguinidad. Por eso, las angiospermas han desarrollado variaciones florales tendentes a facilitar la **allogamia** (polinización cruzada), con el fin de asegurar la diversidad. Estilo y estigma desempeñan un papel importante en este sentido, impidiendo en muchos casos la germinación del polen del mismo individuo y hasta de la misma flor. Este fenómeno recibe el nombre de **esterilidad**.

La esterilidad puede verse inducida por factores climáticos, pero las causas que tienen verdadera importancia son las genéticas. Los tipos de esterilidad genética están resumidos en la Figura 26-5. Especial referencia merece la esterilidad citológica, ya que afecta a los cultivares triploides. Éstos, durante la meiosis, sufren modificaciones en la recombinación de los cromosomas homólogos, de manera que adquieren dotaciones de cromosomas superiores a las de variedades diploides, y con ello reducen la capacidad germinativa de su polen respecto al de estas últimas. En manzanos y perales, estas anomalías dan lugar a cigotos incapaces de desarrollarse, a pesar de que proceden de una fecundación aparentemente normal. En la práctica, este tipo de esterilidad no impide el desarrollo del fruto, pero sus semillas no tienen embrión y no pasan de ser meros rudimentos seminales.

La presencia de semillas no es imprescindible para el desarrollo del fruto. En las semillas en formación se ha demostrado una elevada capacidad de síntesis hormonal (giberelinas, citoquininas y auxinas), responsable del crecimiento de sus tejidos adyacentes (véase el Capítulo 27). Este fenómeno está sobradamente demostrado en drupáceas, pomáceas y cítricos. Experimentos comparativos entre variedades con y sin semillas sugieren que la síntesis hormonal tiene lugar en los óvulos fertilizados. Sin embargo, la aplicación a frutos con semillas de sustancias inhibidoras del desarrollo del tubo polínico reduce el número



de semillas por fruto, sin que ello afecte a la cosecha. A la vista de todo ello no se puede concluir que la regulación del crecimiento de los ovarios sea competencia exclusiva de las semillas en crecimiento.

2.2. La fecundación no es necesaria para la formación del fruto

El desarrollo de un ovario sin semillas recibe el nombre de **partenocarpia**. La esterilidad homogenética dificulta (cuando no impide) que los seres monoicos o hermafroditas se reproduzcan sexualmente sin la intervención de otro individuo. La **incompatibilidad genética** entre los granos de polen y el estigma receptor está ligada a un gen de autoesterilidad con múltiples alelos, de modo que solamente el grano de polen cuyo alelo de autoesterilidad no coincida con el alelo de los tejidos del estigma y el estilo penetrará hasta los primordios seminales; si coincide, diversas reacciones de inmunidad, como fallos en el mecanismo de reconocimiento proteico polen-estigma, síntesis en el estilo y estigma de inhibidores del desarrollo del tubo polínico, y otras, anulan o limitan este último, impidiendo la autogamia. En este caso se habla de **autoincompatibilidad**, fenómeno que se define como la imposibilidad de obtener descendientes mediante autofecundación. En otros casos, los estambres y los estigmas de una misma flor alcanzan la madurez para la polinización en épocas diferentes. Estos individuos son compatibles, aunque en esta circunstancia también se imposibilita la autofecundación; este fenómeno se conoce como **dicogamia**, y puede verse notablemente influido por las condiciones climáticas. Tanto la autoincompatibilidad como la dicogamia reducen marcadamente o anulan la polinización entre flores de un mismo individuo y especie o variedad, pero no la impiden entre individuos de diferentes especies o variedades. En algunos casos, el fenómeno se traduce en reducciones drásticas de la cosecha de frutos; para resolver este problema se recurre a la utilización de árboles de otras especies o variedades, estratégicamente distribuidos, cuyo polen no presenta incompatibilidad con el pistilo de las flores de la variedad en cultivo y que ejercen la función de polinizadores de éstas. En otros, se aprovecha la autocompatibilidad para obtener frutos sin semillas.

En aquellas variedades capaces de desarrollar frutos sin semillas, el estímulo de su crecimiento no puede ser atribuido a éstas. Tal hecho no invalida el papel atribuido a las semillas sobre el desarrollo de los frutos, pero es evidente que en aquellos en los que no ha habido fecundación esa función debe haber sido asumida por otros tejidos. Así, en los cítricos se ha sugerido que, en ausencia de semillas en desarrollo, son las paredes del ovario, que constituirán finalmente la corteza del fruto, las que asumen el papel promotor del crecimiento como sintetizadoras o receptoras de los factores reguladores de éste.

La capacidad partenocárpica varía según las especies, e incluso entre variedades de una misma especie. Es habitual en especies tropicales (plataneras, ananás), frecuente en

especies subtropicales (agrios) y de climas templados (vid, peral, manzano), y muy rara en otras, como las drupáceas (melocotonero, ciruelo, cerezo), en las que los frutos no fecundados caen o apenas se desarrollan.

Son muchos los factores que condicionan la partenocarpia, tanto de origen endógeno como de origen exógeno. Así, la polinización, la germinación del grano de polen y el desarrollo del tubo polínico, sin que en ningún caso se alcance la fecundación, constituyen estímulos suficientes para que se inicie el desarrollo del ovario en ausencia de semillas. Estos casos en los que se requiere algún tipo de estímulo se definen como **partenocarpia estimulada**. El desarrollo del ovario sin ningún estímulo externo se conoce como **partenocarpia autónoma**. En ambos tipos, el crecimiento de los tejidos es también consecuencia de la síntesis de hormonas, en este caso en los tejidos del ovario. El estudio de plantas mutantes de tomate deficientes en giberelinas demuestra que los caracteres más relevantes de dichas plantas, su escaso tamaño y el deficiente cuajado de frutos pueden revertirse a su comportamiento normal con la aplicación de una mezcla de GA₄ + GA₇. En diversas especies hortícolas es posible producir frutos partenocárpicos mediante la aplicación de auxinas. En los cítricos, cuyas variedades autoincompatibles suelen ser poco productivas, es posible aumentar la producción, esto es, aumentar el número de frutos que completan el desarrollo, con la aplicación de giberelinas o citoquininas; y en variedades de manzano y peral con dificultades de polinización, la utilización de giberelinas para inducir la producción de frutos partenocárpicos es, asimismo, práctica habitual. El papel de las hormonas vegetales como promotoras de la partenocarpia parece estar, por tanto, fuera de toda duda. Las condiciones ambientales, particularmente temperaturas elevadas (> 20 °C) y humedades relativas altas (> 85%), promueven, en algún caso, el desarrollo de los frutos partenocárpicos. Incluso los fotoperíodos cortos se han relacionado como factor inductor de la partenocarpia en el pepino.

3. EL DESARROLLO DEL FRUTO

Tras la fecundación o el estímulo partenocárpico del ovario, éste inicia su desarrollo hasta convertirse en fruto maduro. Esta transición tiene lugar en fases sucesivas, con características bien definidas, pero variables en duración según las condiciones ambientales, las especies y las variedades.

El crecimiento acumulado de un fruto sigue una curva sigmoide o, en algunos casos, doble sigmoide (Fig. 26-6). En ella se distinguen tres fases: un período inicial caracterizado por la división celular (**fase I**), seguido de un período de alargamiento celular (**fase II**), y un período final en el que el fruto cesa prácticamente en su crecimiento y madura (**fase III**). En algunos frutos, los que poseen el endocarpo duro (hueso), la transición de la fase I a la fase II se caracteriza por presentar un estado intermedio en el que el crecimiento del fruto se detiene, al mismo tiempo que se lignifica el endocarpo; esta fase sin crecimiento es la que da lugar a una curva doble sigmoide.

El crecimiento de un fruto se ve mayoritariamente influido, en la mayor parte de los casos, por el crecimiento de su parte comestible (véase la Fig. 26-2). Durante las 2-10 semanas siguientes a la antesis, según especies y variedades, el crecimiento de aquélla es consecuencia de la división celular y se intensifica con el tiempo, dando lugar a una curva exponencial. Tras alcanzar un máximo de actividad,

la mitosis cesa paulatinamente, al mismo tiempo que el alargamiento y el engrosamiento celular van adquiriendo importancia. Este nuevo período es de crecimiento lineal, y en él el fruto adquiere, por término medio, hasta el 80% de su tamaño final, para culminar con una ralentización progresiva del crecimiento, que cesa, y el fruto cambia de color y madura.

En los frutos de hueso, la fase de lignificación del endocarpo también se ha descrito como una prolongación de la fase I caracterizada por la reducción progresiva de la tasa mitótica y la diferenciación de las células del endocarpo, que aumentan extraordinariamente su contenido en lignina y otras sustancias cementantes.

Las diferentes partes de un fruto crecen de modo distinto. En los frutos de crecimiento sigmoide, los carpelos, la nucela y el embrión adquieren su tamaño casi definitivo durante la fase I del desarrollo del fruto. El desarrollo de la pulpa, o tejidos comestibles, determina mayoritariamente las fases II y III del desarrollo (Fig. 26-6 A y B).

Un desarrollo semejante presentan las diversas partes de los frutos con una curva doble sigmoide (Fig. 26-6 C). En ambos tipos de frutos, sin embargo, existen casos particulares notables. De entre los primeros merecen ser destacados los cítricos, cuya corteza adquiere un desarrollo peculiar: en la antesis de la flor, la corteza (pared del ovario) representa aproximadamente el 60% de la sección transversal del ovario; durante la fase I del desarrollo del fruto, la actividad mitótica del endocarpo promueve la formación de las vesículas (pulpa) que, paulatinamente, van llenando los lóculos, al mismo tiempo que la corteza crece intensamente en espesor hasta alcanzar, aproximadamente, el 85% de dicha sección a los 60-70 días de la antesis; a partir de entonces, su espesor va reduciéndose poco a poco como consecuencia de la presión que, desde el interior del fruto, ejerce la pulpa en crecimiento, llegando a su mínimo espesor cuando el fruto cambia de color; en algunas variedades se ha registrado un crecimiento posterior de la corteza, durante la maduración, (Fig. 26-6 B). De entre los segundos es relevante el caso del almendro, su fruto es una drupa seca y crece en dos fases, una inicial de rápido crecimiento, y una segunda de crecimiento muy reducido (Fig. 26-6 C). Es decir, la almendra posee dos períodos de desarrollo equivalentes a las fases de división celular y de lignificación del endocarpo de las drupáceas carnosas, y carece de la fase de crecimiento lineal, lo que resulta lógico, ya que su mesocarpo apenas aumenta de volumen; su desarrollo, por tanto, se asemeja al del endocarpo de las pomáceas.

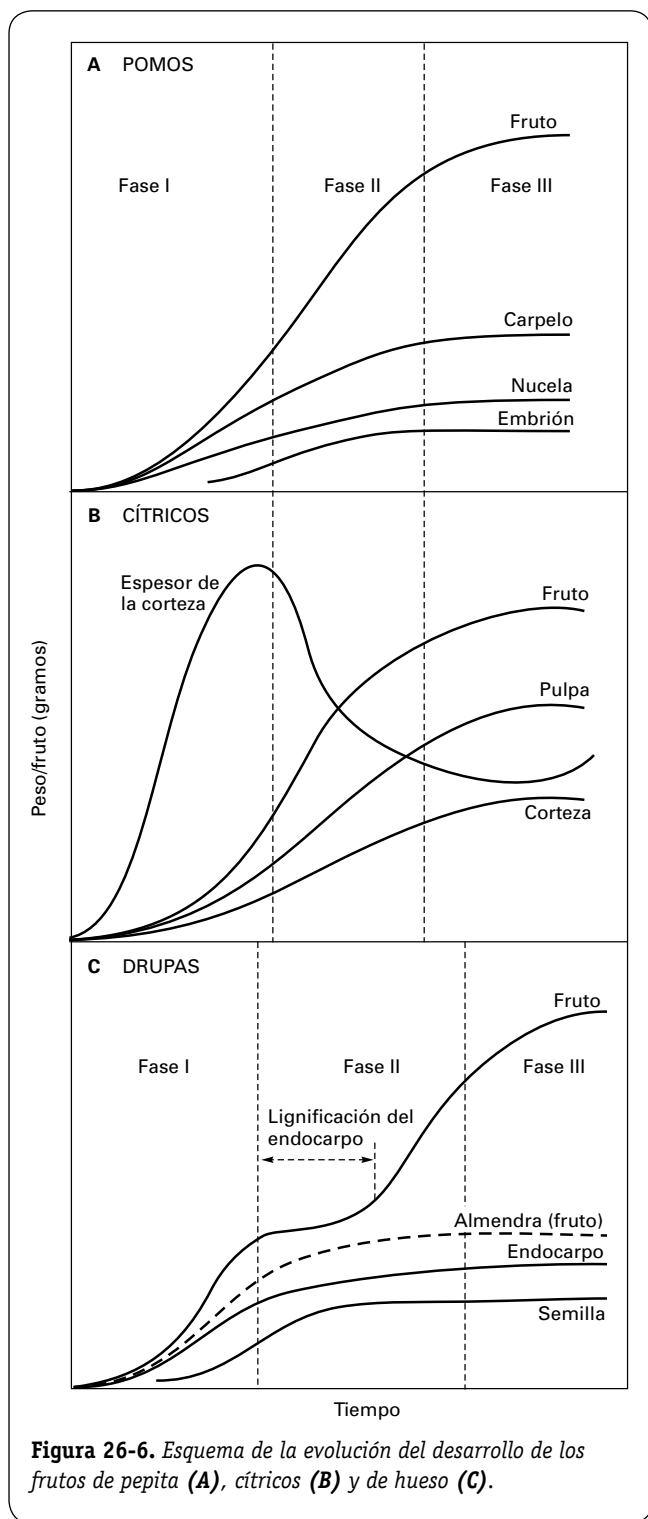


Figura 26-6. Esquema de la evolución del desarrollo de los frutos de pepita (A), cítricos (B) y de hueso (C).

3.1. El desarrollo inicial de los frutos depende del aporte nutricional

El proceso que marca la transición del ovario de la flor al fruto en desarrollo se denomina **cuajado**. Este paso supone la iniciación de un crecimiento rápido de los tejidos del ovario; si dicho crecimiento no se inicia, o cesa una vez iniciado, el ovario se desprende y, por tanto, no cuaja. El

desarrollo posterior del ovario es consecuencia de la división celular del pericarpio.

Para que el cuajado se produzca son necesarios tres requisitos: en primer lugar, la existencia de yemas florales maduras, bien formadas y nutridas; en segundo lugar, un régimen de temperaturas durante la antesis, e inmediatamente después, que asegure una buena polinización, el desarrollo del tubo polínico y la fecundación, o que sea compatible con la partenocarpia; y en tercer lugar, un aporte adecuado de fotoasimilados cuando el ovario inicie el desarrollo. Los frutos en los que alguno de estos factores no se cumple presentan un cuajado deficiente, lo que significa que a los pocos días de la antesis caerán. En aquellos en los que los tres requisitos se cumplen, se inicia el período activo de división celular o fase I del crecimiento del fruto, de duración variable según las especies, entre unos pocos días (pimiento y tomate) y varios meses (dátil, kiwi, uva, macadamia, cítricos).

La mitosis es un proceso que exige mucha energía. Durante la fase de crecimiento I o exponencial de los frutos, todos sus tejidos aumentan su número de células, y la acción conjunta de todos ellos es la que hace que el fruto exija energía. El aporte de carbohidratos a éste durante su desarrollo resulta, por tanto, crucial. Si la planta no es capaz de satisfacer dicha necesidad, el fruto pierde su ritmo de crecimiento y se desprende de ella. La **caída o abscisión de los frutos** se da, con diferente intensidad, en todas las especies cultivadas, pero no es uniforme en el tiempo. Así, se ha detectado un período de abscisión o caída comprendido entre la preantesis y la caída de pétalos, una segunda caída tras el cuajado de frutos que inician el desarrollo, y una tercera al final de la fase de división celular. En el hemisferio norte, en particular, la última oleada de caída se presenta en el mes de junio, razón por la cual se denomina «**caída de junio**», si bien, dado que las razones del proceso son fisiológicas, resulta más apropiado para definirla el término «**caída fisiológica de frutos**».

La abscisión se produce en zonas «predeterminadas» denominadas **capas de abscisión**, como se explicará en el Capítulo 28. En los frutos recién cuajados, la separación se produce en la zona de unión del brote al pedúnculo. Con el tiempo, la zona de abscisión se traslada al punto de unión del cáliz con el fruto. El proceso de abscisión implica cambios anatómicos y bioquímicos que culminan con la separación física entre el fruto y la planta. Se inicia por división y elongación de las células, seguidas de la desaparición de sus granos de almidón, el colapso de las paredes celulares, que se vuelven gelatinosas, y la disolución de las láminas medias. La hidrólisis de los componentes de estas últimas se debe a las enzimas celulasa y poligalacturonasa, cuya actividad se incrementa justo antes de la formación de la capa de abscisión.

En las plantas leñosas, la intensidad de la abscisión de frutos en desarrollo está ligada a los fenómenos de competencia entre ellos, principalmente por carbohidratos, como se ha dicho antes. Diferentes razones apoyan esta hipótesis: 1) la abscisión es tanto más intensa cuanto mayor es el número de frutos que han iniciado el desarrollo; 2) las hojas desempeñan un papel fundamental en el proceso del cua-

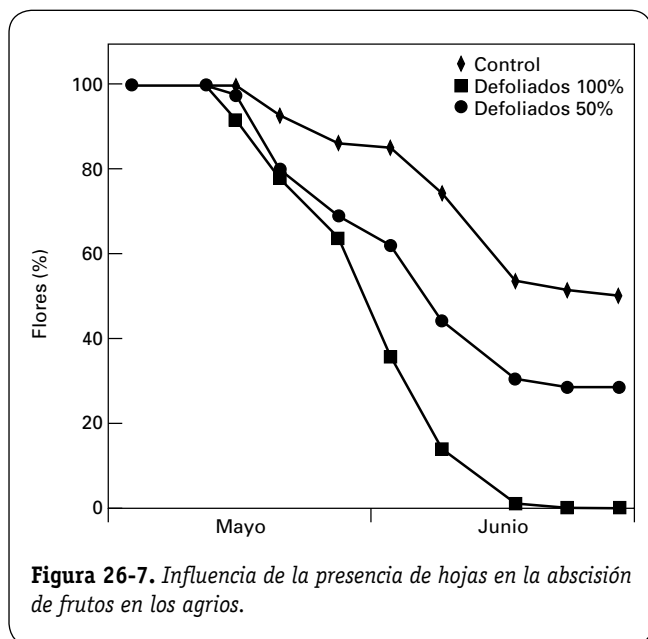
jado; y 3) la aplicación de técnicas capaces de aumentar la disponibilidad de carbohidratos reduce el número de frutos que caen.

La relación directa entre número de frutos caídos y número de frutos en desarrollo se ha comprobado en numerosas especies. En estos casos, a pesar de que las semillas confieren al fruto un poder sumidero capaz de reclamar metabolitos en cuantía suficiente para asegurar su desarrollo, si el número de frutos es muy elevado, la planta es incapaz de atender la demanda de carbohidratos de la mayor parte de ellos, que acaban por caer. En el manzano y el peral, la eliminación de una parte de las inflorescencias o de una parte de las flores de cada inflorescencia, esto es, la reducción de la competencia entre flores, incrementa el cuajado y, por tanto, la producción. A este respecto, desempeña un papel esencial la posición del fruto en la planta, es decir, su situación respecto de las hojas y, por tanto, el tipo de inflorescencia o rama en la que se encuentra.

El papel de las hojas en el proceso de cuajado es consecuencia de su capacidad para sintetizar y exportar metabolitos al fruto en desarrollo. Pero este papel no es uniforme en el tiempo. En efecto, mientras se desarrolla el brote, sus hojas actúan como sumidero, reclamando metabolitos de otras partes de la planta. Así, una brotación durante la caída fisiológica de los frutos puede intensificar ésta en los cítricos; del mismo modo, en el manzano y en el peral la supresión del brote situado en la base de inflorescencias procedentes de yemas mixtas reduce la abscisión de frutos. Pero a medida que maduran, las hojas se convierten en órganos de exportación, y ello coincide con la intensificación progresiva de la capacidad de sumidero del fruto, que acaba dominando sobre la de las hojas. Estas relaciones hojas-frutos se han puesto de manifiesto en muchas especies, como en los cítricos, en donde se han estudiado a través de experimentos de defoliación. La eliminación de las hojas al inicio de la fase I de división celular del fruto provoca la abscisión de los frutos en intensidad equivalente a la intensidad de la defoliación (Fig. 26-7). Como consecuencia de la defoliación, el contenido en sacarosa de los frutos se reduce notablemente, encontrándose una correlación positiva entre su concentración en el fruto y el crecimiento de éste, y negativa respecto a su abscisión. El aporte de este azúcar desde las hojas al fruto resulta crucial para el cuajado.

Los estudios sobre compartimentación y distribución de azúcares marcados con ^{14}C ratifican el transporte de estas sustancias desde las hojas a los frutos en desarrollo. En el manzano, se ha demostrado que para que un fruto alcance los 100 g precisa una superficie foliar de 200 cm². Al igual que en los cítricos, en esta especie la eliminación de las hojas próximas al fruto reduce, y hasta suprime, su cuajado.

Finalmente, la aplicación de inhibidores de la fotosíntesis provoca la abscisión de frutos en el melocotonero; en esta especie se ha demostrado una correspondencia casi estricta entre la exigencia de carbohidratos por parte del fruto en desarrollo y las secuencias temporales de la tasa fotosintética. Esta influencia de las hojas sobre el cuajado está regulada hormonalmente por el propio fruto, como ya se ha indicado (capacidad sumidero).



Las condiciones climáticas pueden afectar notablemente al proceso de cuajado. Se ha demostrado que las bajas temperaturas interfieren en el cuajado de plantas hortícolas, como las cucurbitáceas, las solanáceas, las piperáceas, las leguminosas, etc. Las temperaturas inferiores a 10 °C se han mostrado limitantes para el tomate, la berenjena y la judía verde. Por contra, en el pimiento son las altas temperaturas (> 30 °C) las que limitan la producción. En las pomáceas y drupáceas, temperaturas inferiores a 10-15 °C se han mostrado, también, limitantes, aunque en estas especies son muchas las excepciones. En los cítricos, las temperaturas muy elevadas (35 °C) durante la fase I del desarrollo pueden provocar una caída masiva de frutos, sobre todo si el estado hídrico del árbol no es el adecuado. La humedad relativa también altera el cuajado; en general, cuando es baja resulta perjudicial, sobre todo si va acompañada de una elevada temperatura. En el chirimoyo, sin embargo, un incremento de la HR prolonga el período de antesis de las flores, de modo que los estados prehembra (el más fértil) y macho de las flores llegan a solaparse de modo notable, facilitándose con ello el cuajado que, en condiciones de cultivo, se lleva a cabo manualmente. La radiación solar es otro factor determinante del cuajado. En experimentos realizados con manzanos, el sombreado total o parcial de los árboles después de la floración reduce el número de flores cuajadas y aumenta la abscisión de los frutos en desarrollo; este efecto, sin embargo, se compensa con la inyección de sorbitol (el azúcar de transporte en el manzano) en las ramas, lo que indica un déficit de carbohidratos derivado del sombreado.

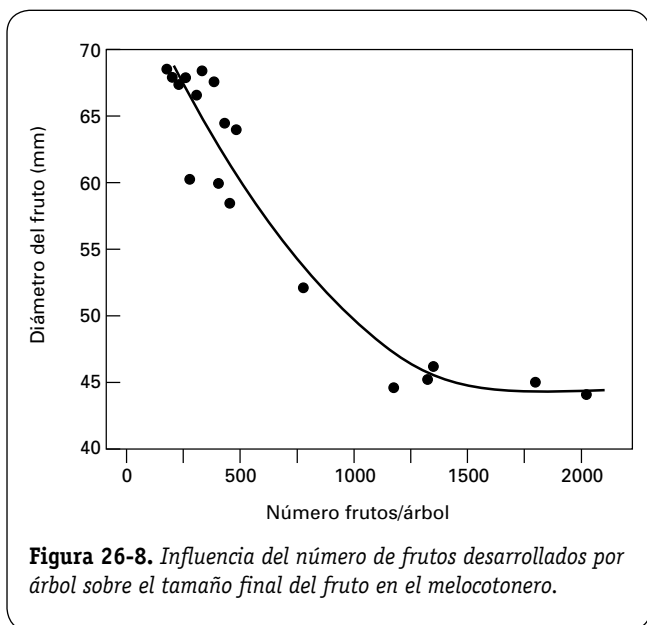
3.2. La expansión celular determina el tamaño final del fruto

Superada la fase de división celular, el fruto inicia un **crecimiento lineal**, caracterizado por el engrosamiento celular. En el manzano, este crecimiento celular se ve acompañado

de la degradación de pectina, lo que permite un cierto movimiento de las células que se encuentran unidas por pequeñas porciones de sus paredes. De este modo se forma una gran cantidad de espacios aéreos intercelulares y la densidad del fruto descende. Los frutos que más crecen son los que poseen espacios aéreos más amplios y reclaman, además, menores cantidades de carbohidratos desde el resto de la planta, en comparación con los frutos más densos. En peras y melocotones, el desarrollo de estos espacios intercelulares es muy inferior al de las manzanas, y su desarrollo es más lento. En los cítricos, el crecimiento durante esta fase no está ligado a la aparición de los espacios citados, sino a la expansión de las vesículas, que se llenan de agua, azúcares y ácidos. La acumulación de solutos, por un lado, aumentando el valor absoluto del potencial osmótico, y el reblandecimiento de las paredes celulares, por otro, reduciendo el potencial de pared, disminuyen el potencial hídrico celular, permitiendo la entrada de agua y el consiguiente aumento de volumen.

El crecimiento de los frutos durante esta fase no es uniforme; de hecho, solamente crecen durante la noche. En las manzanas, el diámetro del fruto durante el día sufre una depresión de unos 0.4 mm, por término medio, que se ve compensada con creces por el crecimiento nocturno, que es unas tres veces superior, es decir, de 1.2 mm aproximadamente. Este tipo de crecimiento es prácticamente general para todos los frutos, de modo que el crecimiento en apariencia lineal sigue una línea quebrada de pendiente global ascendente. Durante el día, la transpiración reduce el potencial hídrico del xilema, que alcanza sus valores más bajos, lo que afecta a ramas y frutos que aportan agua al torrente xilemático y, con ello, su expansión se reduce; cuando el potencial hídrico se recupera, (durante la tarde y la noche), el crecimiento se reanuda y los tallos y frutos recuperan su tamaño o aumentan de volumen.

En condiciones óptimas, las plantas tienden a producir un elevado número de frutos. Cuando ello ocurre, las plantas son incapaces de satisfacer a plenitud, simultáneamente, todos los procesos del desarrollo, esto es, un desarrollo adecuado de los frutos, la formación de un número suficiente de yemas de flor para el ciclo siguiente, un crecimiento radicular óptimo y una acumulación de reservas suficiente para soportar adecuadamente el estrés térmico invernal. Como consecuencia, todos ellos se ven alterados, aunque con diferente intensidad. En el caso de los frutos, su tamaño se reduce, fenómeno que ha sido registrado en manzanas, peras, melocotones (Fig. 26-8), cítricos, etc. Esta relación inversa entre el número de frutos y su tamaño se atribuye a la **competencia**, sobre todo por **carbohidratos**, existente entre los frutos. El desarrollo de los frutos es consecuencia de la acumulación de metabolitos, que puede estar limitada por la incapacidad del propio fruto para acumularlos o por la falta de disponibilidad en la planta. Esto último es especialmente acusado cuando el número de frutos es muy elevado, pero puede modificarse favorablemente si se reduce la competencia entre frutos en desarrollo mediante la eliminación, manual o química, de una parte de ellos (**aclareo**). En el melocotonero, la demanda de carbohidratos por el fruto ha



sido cuantificada a lo largo de todo su período de desarrollo, habiéndose determinado que durante la fase de expansión celular la capacidad fotosintética del árbol para proveer de sustratos al fruto puede llegar a ser un factor limitante de su desarrollo.

Las relaciones de competencia, sin embargo, son mucho más complejas y no sólo afectan a las relaciones mutuas entre frutos. Así, el crecimiento del fruto se lleva a cabo, generalmente, a expensas del crecimiento de la raíz. En el albaricoquero, en condiciones de secano, el C transportado a los frutos sólo representa el 2% del total fijado por las hojas como CO_2 , mientras que las raíces acumulan el 40%. En condiciones de riego, el fruto acumula el 12% del C fijado, mientras que a las raíces sólo llega al 10%. El tamaño del fruto es marcadamente superior en regadío que en secano.

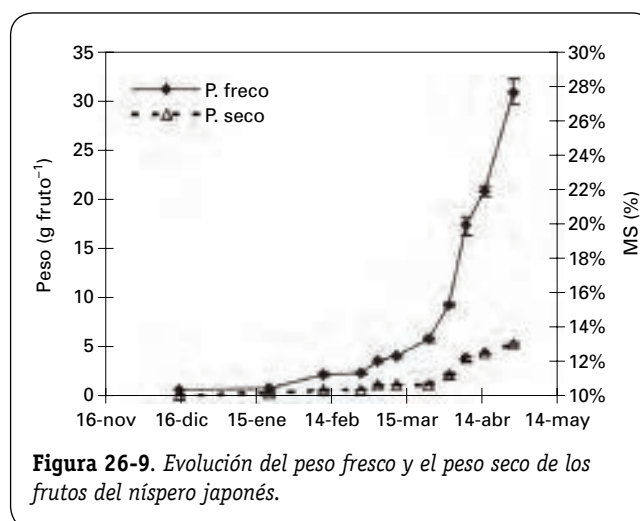
Por otra parte, la presencia de frutos reduce el desarrollo vegetativo en el manzano y el melocotonero. Con ello, la síntesis de fotoasimilados disminuye, lo que contribuye a agravar los fenómenos de competencia entre frutos en desarrollo. La disminución de una parte de éstos, que reduce la competencia entre ellos, restituye el desarrollo vegetativo, lo que también contribuye a su crecimiento. Se ha cuantificado el reparto de carbohidratos en árboles de manzano con frutos y sin ellos (Cuadro 26-1). La biomasa total producida fue mayor en los árboles con frutos, como corresponde a su presencia, pero lo importante es que esta biomasa acumulada exige un mayor rendimiento fotosintético, ya que en los árboles con fruto el área foliar es menor. En términos absolutos, los carbohidratos acumulados en la parte vegetativa fue similar en ambos tipos de árboles; pero, porcentualmente, los árboles sin frutos acumularon casi un 20% más de carbohidratos en sus brotes que los árboles con frutos. Resultados similares se alcanzan cuando se elimina una parte de los frutos, a pesar de que entonces los frutos crecen más que en los árboles en los que no se han eliminado. Resulta claro,

por tanto, que es el número de frutos, y no su tamaño, el que regula el reparto de carbohidratos.

Un aspecto de interés lo constituye la diferencia de tamaños entre frutos existentes en un mismo árbol, ya que ello permite el estudio comparativo de su *status* sin modificar el individuo que los sustenta. Estas diferencias pueden ser explicadas en función de la exposición del árbol a la luz, más que por el número medio de hojas por fruto. De acuerdo con ello, la actividad fotosintética demandada por el fruto sería responsable directa de su desarrollo. Y así es, ya que son los frutos que más pesan los que acumulan mayor cantidad de materia seca. Pero cuando los cálculos se hacen en términos porcentuales, se detecta una relación negativa entre el peso del fruto y su composición, de modo que los frutos más grandes son los que tienen un porcentaje más bajo de materia seca. Esto indica que a los frutos más grandes les llega, proporcionalmente, mayor cantidad de agua que de materia seca; es decir, que las variaciones en tamaño detectadas entre los frutos de un mismo árbol deben ser consecuencia de las relaciones hídricas que el árbol establece con cada fruto, más que de las variaciones fuente-sumidero existentes en el árbol. Esta dependencia de la absorción de agua que tiene el crecimiento del fruto queda ilustrada al comparar la evolución de sus pesos fresco y seco (Fig. 26-9).

El fruto es sumidero de materia seca, pero las variaciones en peso fresco son más rápidas que las de acumulación de materia seca, en cualquiera de las dos fases de su desarrollo. Al igual que en los manzanos (Cuadro 26-1), la mayor producción de carbohidratos en árboles de melocotonero sin aclarar, con frutos pequeños, respecto de los aclarados, con frutos más grandes, resalta la importancia de las relaciones hídricas como factor determinante del tamaño de los frutos. Por tanto, aunque un aporte limitado de fotosintatos pueda limitar también el desarrollo del fruto, el tamaño final de éste no depende sólo de su disponibilidad.

Los **factores genéticos**, como el tipo de brote en el que se encuentra el fruto, el número de flores producidas por la planta y el número de frutos en desarrollo, son algunos de



CUADRO 26-1. Reparto de carbohidratos en árboles de manzano con fruto y sin fruto. (Adaptado de Lenz, 1986, en Faust, 1989.)

Órgano	Reparto de carbohidratos (%)	
	Sin frutos	Con frutos
Hoja	26.8	10.0
Fruto	0.0	62.5
Madera	53.7	22.5
Raíces	19.5	5.0
Área foliar, m ²	4.90	3.42
Biomasa producida, kg	2.82	4.65

los factores endógenos señalados como determinantes del desarrollo y el tamaño final del fruto. Su influencia es comprensible a la vista de lo expuesto.

En manzanas, fresas y pimientos, las temperaturas bajas (en general, inferiores a 10 °C) reducen el tamaño del fruto; pero es en los plátanos donde se han hecho estudios más completos, habiéndose determinado en el cv. «Poyo» la necesidad de acumular 900 °C desde la floración para que el fruto alcance un diámetro de 35 mm. En los cítricos, las temperaturas elevadas aceleran el desarrollo del fruto y una adecuada humedad del suelo aumenta el tamaño, al mismo tiempo que provoca la dilución de los sólidos solubles (azúcares y ácidos) acumulados en el zumo de las vesículas. Las deficiencias minerales acarrear reducciones del tamaño del fruto en todas las especies, y su reposición hasta niveles considerados óptimos restituye, de nuevo, el tamaño del fruto. La salinidad se ha mostrado como un factor negativo en el tamaño de los frutos en cítricos, solanáceas y cucurbitáceas.

3.3. El crecimiento del fruto está regulado hormonalmente

La actividad hormonal se ha explicado a través de la acción que ejercen algunas sustancias (**hormonas**) sobre la expresión de la información genética, la actividad enzimática y la funcionalidad de las membranas. El resultado final es consecuencia de la interacción entre todas ellas, unas promoviendo procesos y otras inhibiéndolos, y se traduce en la regulación del desarrollo (**reguladores del desarrollo**). En el caso de los frutos, dicho resultado depende tanto de la biosíntesis de diversas hormonas por el propio fruto, como del transporte hacia él o de la exportación a otras partes de la planta, y de su inactivación a través de la conjugación con otros compuestos o de su catabolismo. En la mayor parte de los casos, las hormonas se sintetizan en las semillas y ejercen su acción a través del desarrollo de éstas. La excepción más notable son los frutos partenocárpicos, cuyo desarrollo también está regulado hormonalmente.

Los trabajos pioneros de Luckwill, en los años cuarenta, demostraron la presencia de auxinas en las semillas de las

manzanas durante su desarrollo inicial. Aunque estas hormonas no fueran relacionadas con el cuajado, sí lo fueron con la abscisión de frutos, previniéndola. En los años cincuenta, Abbott consiguió demostrar que la eliminación de las semillas promovía la abscisión del fruto, y que aquéllas podían ser sustituidas en su acción por la adición de auxinas sintéticas, como el ácido naftalenacético (véase el Capítulo 19). Se había relacionado la persistencia y el crecimiento del fruto con la presencia de las semillas, y demostrado la acción de éstas por la presencia de sustancias reguladoras del desarrollo sintetizadas en ellas.

La mayor parte de las hormonas relacionadas con el cuajado se encuentran en las semillas. De hecho, en guisantes, peras y mandarinas, cuando mediante **emasculación se impide** la formación de semillas, el contenido en giberelinas de los frutos es menor que en aquellos que han desarrollado semillas normalmente. Sin embargo, los frutos partenocárpicos que se desarrollan de forma natural contienen niveles de giberelinas mayores o similares a los de los frutos con semillas, lo que explica su tendencia a cuajar en ausencia de polinización o fertilización. Este comportamiento ha sido demostrado en peras, manzanas, cítricos, arándanos, uvas, higos, fresas, etc. En estas especies son, por tanto, las giberelinas las que controlan la partenocarpia y el desarrollo inicial del fruto. Ello queda ratificado, al menos, por tres observaciones: 1) la aplicación de inhibidores de la biosíntesis de giberelinas inhibe, a su vez, la partenocarpia; 2) el número de frutos partenocárpicos es prácticamente nulo en mutantes de *Arabidopsis* y tomate incapaces de sintetizar giberelinas; en ellos, la aplicación de giberelinas exógenas antes de la polinización provoca la partenocarpia; 3) la aplicación exógena de ácido giberélico a variedades autoincompatibles de mandarina o a plantaciones de manzanos o perales con dificultades de polinización aumenta notablemente la cosecha compuesta por frutos mayoritariamente **aspermos** (sin semillas). En otras especies, la partenocarpia se ha asociado a las auxinas, y la aplicación exógena de éstas promueve el desarrollo de frutos partenocárpicos. Tal es el caso del plátano, el pimiento, la berenjena, etcétera. Finalmente, en algunas especies, como el tomate, el arándano, el higo o la fresa, la partenocarpia puede ser inducida por giberelinas y auxinas, indistintamente. La acción de las citoquininas como inductoras de la partenocarpia ha sido menos estudiada. Algunos autores señalan que su presencia en el fruto es consecuencia de su transporte desde las raíces, más que de su síntesis en las semillas en desarrollo. A pesar de ello, han podido ser aisladas de semillas de kiwi y de limón y, al menos en la sandía, se han mostrado eficaces en la formación de frutos partenocárpicos.

El ABA es un regulador del desarrollo implicado en la abscisión a través de la inducción de la síntesis de etileno (véanse los Capítulos 22 y 28). Como quiera que su presencia es general en todos los frutos, con y sin semillas, su acción se entiende en interacción con los promotores (auxinas, giberelinas y citoquininas), de modo que es el equilibrio entre estos grupos de reguladores del desarrollo el que determina el cuajado y el desarrollo del fruto, o su abscisión. Una vez

cuajada la flor, esto es, desprendida de sus tejidos anejos e iniciado el crecimiento del ovario, la capacidad de sumidero del fruto, promovida por su contenido endógeno en promotores del desarrollo, y la capacidad de la planta para nutrirlo, limitada por la competencia entre órganos en desarrollo, determinan el número final de frutos que alcanzará la maduración a través de su abscisión. La evolución de los contenidos del fruto en promotores e inhibidores, paralelamente a la evolución de la abscisión, se ha estudiado en diversos frutos, y ayuda a comprender el papel de cada uno de ellos en el desarrollo de la masa de frutos y, sobre todo, a comprender su acción conjunta.

Los frutos de la mandarina Satsuma, una especie con esterilidad gamética pero con un elevado grado de partenocarpia natural y, por tanto, de cuajado, presentan un máximo en su concentración de auxinas totales a los 5-10 días después de la antesis, seguido a los 25-30 días de un descenso rápido y una pequeña recuperación antes del declive final (Fig. 26-10). Una evolución similar se ha observado en el tomate, con dos máximos localizados a los 7 y 30 días después de la antesis. El papel de las auxinas como sustancias implicadas en la abscisión tiene aquí su reflejo en la caída fisiológica de los frutos; ésta se inicia 10 días después del máximo pico en la concentración de auxinas y alcanza su máxima intensidad 15-20 días después, cuando su concentración ya es muy baja. La evolución del contenido en ABA presenta dos máximos, uno a los 5-7 días de la antesis y otro a los 30-35 días (Fig. 26-10). Estos incrementos asociados al drástico descenso de la concentración de auxinas totales, anteceden a la abscisión de frutos y parecen ser la señal que la inicia. En variedades de mandarinas con semillas, en las que la caída fisiológica de frutos es inferior a la de las partenocárpicas, la evolución de la concentración de auxinas es similar a la descrita, pero los niveles de ABA son menores a lo largo de toda la fase I de crecimiento del fruto. Se han observado también correlaciones de causa-efecto entre concentraciones de ABA y abscisión en peras, melocotones y algodón.

En la mayor parte de los frutos la fase de expansión celular parece estar regida por las auxinas, si bien con excepciones notables, como es el caso de la uva, en la que sólo están ligadas a la fase de división celular, y son las giberelinas las que controlan la expansión. En el melocotón se han detectado dos picos en la concentración de ácido indolacético (AIA) que preceden a las fases de división y expansión celular, respectivamente, separados por un descenso de sus niveles coincidente con la fase en la que se detiene el crecimiento del fruto mientras lignifica el endocarpo. El plátano, el arándano, el dátil y el higo, entre otros frutos, siguen un comportamiento similar. En el olivo, los niveles de auxinas son considerablemente más bajos que en los frutos citados.

En el tomate se ha estudiado la evolución de la concentración de AIA en sus tejidos en comparación con la de su tasa de crecimiento (Fig. 26-11). En el pericarpo, la concentración es muy baja en todo el período de desarrollo; en cambio, en la placenta y en los tejidos gelatinosos locales que contienen las semillas, la concentración de AIA aumenta

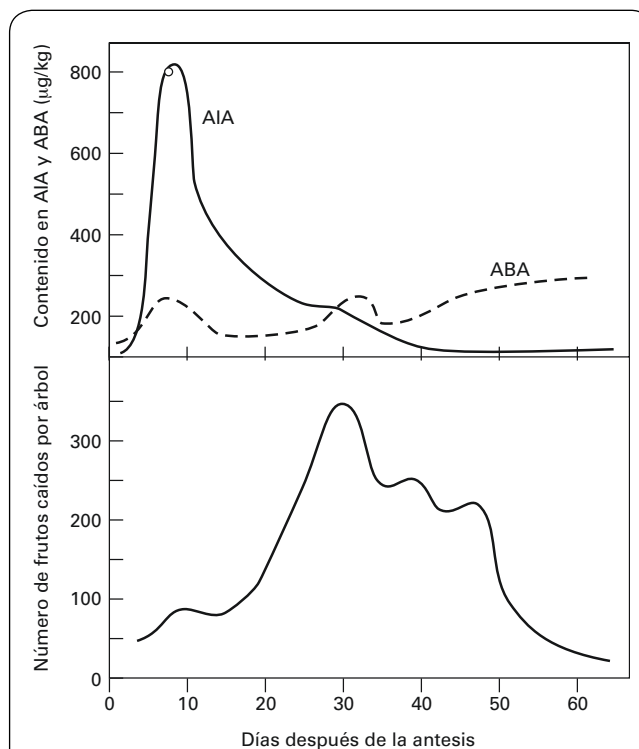


Figura 26-10. Evolución del contenido en ácido indolacético (AIA) y ácido abscísico (ABA) en ovarios de mandarina Satsuma y su relación con la abscisión de frutos. (Adaptado de Takahashi y cols, *Plant & Cell Physiol*, 16:1101-1111, 1975.)

gradualmente hasta alcanzar un máximo aproximadamente a mitad del desarrollo del fruto, y desciende bruscamente a continuación, permaneciendo muy baja hasta la maduración. Pero la tasa diaria de crecimiento del fruto no está acompañada con estas variaciones, ya que alcanza sus máxi-

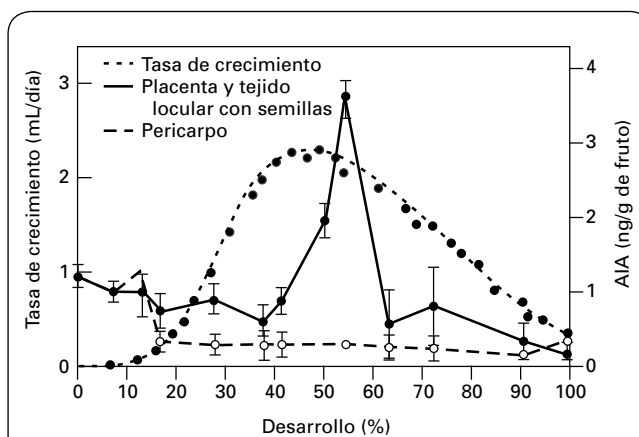


Figura 26-11. Evolución de la tasa de crecimiento en volumen del fruto del tomate y de los contenidos en ácido indolacético (AIA) en el pericarpo, en la placenta y en el tejido locular. (Adaptado de Varga, A. y Bruinsma J., en: *Monselise*, 1986.)

mos valores unos 10 días antes de que alcance su máximo la concentración de AIA, de modo que cuando éste tiene lugar la tasa de crecimiento diaria del fruto ya está disminuyendo. Ello indica que el AIA no tiene un efecto directo sobre su desarrollo. Su acción debe estar restringida a las semillas e implicada en el crecimiento del embrión, sobre el que crea un potente efecto sumidero del que se aprovecha el pericarpo para crecer. Una prueba de ello es la relación existente entre el número de semillas por fruto y su crecimiento, más rápido y con un resultado mayor en su tamaño final cuanto mayor es el número de aquéllas. Esta relación positiva entre el número de semillas por fruto y su tamaño final también se ha demostrado en kiwi, uva, cítricos, manzana, pera, níspero, etcétera. A pesar de ello, es decir, aunque se trate de un efecto indirecto, la acción de las auxinas sobre la expansión celular se ha aprovechado para acelerar el desarrollo del fruto o para aumentar su tamaño final, con el fin de anticipar la recolección o mejorar su calidad, respectivamente. En cítricos, piña, melocotón, ciruelas, cerezas, albaricoques y otros, la aplicación de auxinas de síntesis al inicio de la fase de expansión celular promueve el desarrollo del fruto, logrando los resultados señalados (véase el Capítulo 19). En todos los casos, su acción se ha explicado a través de un incremento del contenido en materia seca del fruto, es decir, de su capacidad de sumidero; y en todo caso, ratifica su acción de control sobre la fase de engrosamiento celular.

El papel de las giberelinas, las citoquininas y el ácido abscísico en esta fase del desarrollo del fruto es menos relevante. No obstante, el nivel de giberelinas se ha relacionado con la expansión celular en el melocotón, la ciruela y la fresa; y la concentración de citoquininas aumenta hasta la maduración en aceitunas y tomates. En general, los contenidos de ABA son muy bajos durante la fase de expansión celular de la mayor parte de los frutos.

4. LA MADURACIÓN

La maduración se define como el conjunto de cambios externos, de sabor y de textura que un fruto experimenta cuando completa su crecimiento. Esta fase de su desarrollo incluye procesos como la coloración del pericarpo, el descenso en el contenido de almidón, el incremento de la concentración de azúcares, la reducción de la concentración de ácidos y la pérdida de firmeza, junto a otros cambios físicos y químicos. Superada esta fase, el fruto pierde turgencia, aumenta su sensibilidad a las condiciones del medio, pierde el control metabólico e inicia su **senescencia**. Ésta puede ser pospuesta tanto antes como después de la recolección; pero el fruto, como todo órgano vivo, es mortal, aunque sus semillas, si las posee, sobreviven y perpetúan la especie. Ésta es la misión última de los frutos.

El proceso de la maduración varía según los frutos. Así, pomos, drupas y bayas, por ejemplo, modifican profundamente las características de su pericarpo, mientras que en núculas, folículos y algunas legumbres y drupas, son el endocarpo o las semillas los que cambian. Pero, a efectos del

proceso de maduración, es posible agruparlos en dos grandes grupos según su comportamiento fisiológico. Unos acumulan almidón durante su crecimiento y, en la maduración, lo hidrolizan a monosacáridos, glucosa y fructosa sobre todo; como ello exige una gran cantidad de energía, en estos frutos la maduración se caracteriza por un aumento de la respiración. Otros acumulan directamente monosacáridos durante su crecimiento y, por tanto, durante la maduración no experimentan incrementos significativos de su tasa respiratoria. Los del primer grupo se denominan **frutos climatéricos**, y entre ellos se encuentran el melocotón, el tomate, el kiwi, el albaricoque, la manzana, la pera, el plátano y el melón. Los del segundo grupo son **frutos no climatéricos** y pertenecen a él, entre otros, los cítricos, la aceituna, la cereza y la calabaza.

El **incremento respiratorio** de los frutos climatéricos fue estudiado por primera vez por Kidd y West, en los años veinte del pasado siglo. Estos investigadores observaron que en las manzanas, tras su recolección, el desprendimiento de CO₂ aumentaba notablemente y, a continuación, se producían todos los cambios característicos de la maduración. Un proceso similar tenía lugar si los frutos permanecían en el árbol, pero era más lento. El incremento de la respiración se denomina **climaterio**, término que da nombre a los frutos que lo experimentan.

Durante la maduración de los frutos climatéricos se produce la acumulación masiva, entre el 30 y el 50%, de azúcares (glucosa, fructosa y, en menor cuantía, sacarosa). Estos azúcares representan, finalmente, entre el 1.5 y el 5% del peso total del fruto. Reciben el nombre genérico de **sólidos solubles** y su concentración varía entre el 7-10% del kiwi y el 18-20% de los higos. En la práctica, se determinan por refractometría y se expresan en °Brix. En contraposición, la **concentración de ácidos** acumulados durante el desarrollo desciende con el avance de la maduración. Ello es consecuencia de su dilución, provocada por la acumulación de agua, y de su metabolismo (respiración). Los ácidos más frecuentes de los frutos climatéricos son el ácido málico (manzana, pera, tomate, piña) y el ácido cítrico (tomate, kiwi). La razón entre el contenido en sólidos solubles y la concentración de ácidos libres recibe el nombre de **índice de madurez**, y habitualmente se utiliza como **parámetro de referencia** de la maduración. Otras sustancias que se acumulan en los frutos y sufren cambios durante la maduración varían según la especie. La acumulación de taninos en el mesocarpo confiere astringencia y reduce, por tanto, la calidad del fruto, como ocurre en los caquis.

El **cambio de color** es asimismo un proceso característico de la maduración de la mayor parte de los frutos. La degradación de unos pigmentos y la síntesis y acumulación de otros es, sin embargo, cuantitativa y cualitativamente variable. Así, en melocotones, albaricoques y ciruelas la pérdida de clorofilas se ve acompañada de la síntesis de β-carotenoides; en el tomate, junto a estos cambios se produce la acumulación de licopeno, pigmento rojo responsable de su color.

En los frutos no climatéricos, los cambios que se producen son similares a los indicados para los climatéricos, pero

en general más lentos. Un ejemplo característico de este tipo de frutos son los cítricos; en ellos, la separación entre la corteza (exocarpo y mesocarpo) y la pulpa, no conectadas vascularmente entre sí, contribuye a que la maduración de ambos tejidos esté regulada por mecanismos diferentes, aunque en la mayor parte de los casos coincidentes en el tiempo (en algunas variedades precoces, sin embargo, el índice de madurez óptimo para el consumo se alcanza cuando el fruto todavía es verde). La hipótesis sobre la coloración de estos frutos está basada en el transporte de carbohidratos, nitrógeno y hormonas al fruto, regulado por las condiciones climáticas. Mientras la temperatura permite el desarrollo de las raíces, las hormonas sintetizadas en ellas (giberelinas y citoquininas) y el nitrógeno absorbido son transportados al fruto y previenen su cambio de color; a ello contribuye su desarrollo competitivo con la brotación, que exige compartir el reparto de fotoasimilados. Cuando en otoño las temperaturas bajan, el desarrollo radicular cesa y, por tanto, se detienen la síntesis hormonal y la absorción de nitrógeno y su transporte hasta el fruto; además, el único sumidero en esas condiciones es el fruto, ya que el desarrollo vegetativo también cesa, y los fotoasimilados son transportados mayoritariamente al fruto, todo lo cual promueve la conversión de los cloroplastos en cromoplastos (y, por consiguiente, la pérdida de color verde de la corteza del fruto), la síntesis de carotenoides y, finalmente, su coloración característica. Pero si el fruto permanece en el árbol hasta la primavera siguiente, esto es, hasta que vuelva a elevarse la temperatura y, por tanto, a entrar en actividad el sistema radicular, el ciclo se reiniciará, los cromoplastos revertirán a cloroplastos y el fruto, por tanto, reverdecerá. La temperatura por debajo de la cual las clorofilas se degradan se ha establecido en 18 °C, aproximadamente; los carotenoides tienen un margen térmico de síntesis de 15 °C < t^a < 35 °C. Las bajas temperaturas, por otra parte, dificultan la respiración de los ácidos orgánicos (sobre todo del ácido cítrico), de modo que retrasan la pérdida de acidez del zumo y, en consecuencia, su maduración interna.

En los frutales de pepita y de hueso, un mecanismo como el descrito es difícil de asumir, puesto que los frutos maduran en primavera o en verano, cuando las temperaturas son más altas. En estas especies, sin embargo, el desarrollo radicular también cesa en el momento en que el fruto comienza a cambiar de color. Aunque no se conoce con precisión el mecanismo, la dependencia de la maduración del fruto respecto al cese del desarrollo radicular parece general para las especies de clima templado.

En la uva, el pericarpo contiene taninos cuya concentración aumenta durante el desarrollo; con las altas temperaturas del verano éstos se oxidan y confieren el color rojo a los frutos. En la aceituna, son los antocianos los que le confieren el color negro; la síntesis de estos pigmentos se retrasa con el aumento del número de frutos por árbol, retardando de este modo su maduración y recolección. En este último fruto, la acumulación de aceite en el mesocarpo, que es lo que le otorga valor, se produce exponencialmente durante el verano, con la síntesis de ácido linoleico y, sobre todo,

de ácido oleico; a continuación cesa paulatinamente hasta anularse a finales del otoño.

El papel de las giberelinas en la coloración de los frutos se utiliza en agronomía para retardar su cambio de color, sobre todo en los cítricos. Ello se logra con la aplicación de ácido giberélico en fechas anteriores al cambio de color. Los frutos tratados no modifican su maduración interna, lo que ratifica que ésta y la coloración de la corteza en estos frutos son procesos independientes.

Pero la diferencia más notable entre la maduración de los frutos no climatéricos y climatéricos radica en el **reblandecimiento de los tejidos** y su evolución. Los constituyentes más importantes de las paredes celulares son celulosa, hemicelulosa, proteínas y sustancias pécticas. Los compuestos pécticos insolubles de la lámina media son responsables de la cementación entre células y, por tanto, confieren consistencia al tejido. El reblandecimiento progresivo de los frutos durante la maduración es consecuencia de la solubilización gradual de estas pectinas, lo que reduce la cohesión del tejido. La enzima pectinmetilesterasa facilita la pérdida de los radicales metilo de las pectinas y, a continuación, la poligalacturonasa hidroliza los polímeros de ácido poligalacturónico. Esta última enzima no se encuentra en el fruto hasta la maduración, y cuando ésta se inicia es sintetizada *de novo*. Por ello se sugirió que su aparición constituiría el punto de partida de la maduración de los frutos climatéricos, al inducir el resto de componentes del proceso. Es cierto que en mutantes de tomate incapaces de madurar la actividad poligalacturonasa es inexistente, pero el hecho de que en presencia de etileno maduren indica que el origen del proceso de la maduración no es tal enzima, sino el etileno. Estudios llevados a cabo para determinar la producción de etileno y de CO₂ y la actividad poligalacturonasa de los frutos de tomate revelaron que el desprendimiento de CO₂ sólo se produce cuando la producción de etileno supera un valor umbral, variable según la especie o variedad, y que la actividad poligalacturonasa comienza después de iniciarse la síntesis de etileno. Sin embargo, aunque este comportamiento es el más frecuente, en algunos frutos como el aguacate, la chirimoya y el mango, el incremento de la respiración precede a la síntesis de etileno.

4.1. El etileno es la hormona de la maduración

Las excepciones citadas al orden de aparición de los eventos de la maduración indican que todavía existen serias dudas sobre si el **etileno** es el iniciador del proceso o si simplemente lo acelera (véase el Capítulo 22, apartado 1.6); pero no hay ninguna duda de su relación con la maduración. Así, si el etileno que desprenden los frutos climatéricos almacenados se elimina, éstos maduran más lentamente. La aplicación de 1-metilciclopropeno (1-MCP), un inhibidor de la síntesis de etileno, impide la maduración de muchos frutos climatéricos, incluso cuando el proceso ya está avanzado. Por otro lado, la aplicación de etileno exógeno promueve la maduración de frutos climatéricos, aunque la concentración

que se precisa debe incrementarse cuanto más joven sea el fruto. En algunos frutos no climatéricos, como los cítricos, su aplicación exógena, tanto antes como después de la recolección, promueve la degradación de clorofilas y provoca el cambio de color (desverdización); otros, como la fresa, son insensibles al etileno exógeno o a sus antagonistas, pero maduran tras la aplicación de auxinas, sustancias que promueven la síntesis de etileno.

Por tanto, todos los frutos, climatéricos y no climatéricos, responden a la presencia endógena o a la aplicación exógena de etileno. Se puede afirmar, por tanto, que este gas es la **hormona de la maduración**. Pero un aspecto relevante diferencia a ambos tipos de frutos en relación con el metabolismo del etileno. En 1985, Liu y cols. demostraron que la aplicación de etileno a frutos verdes de tomate inducía la síntesis de ACC-oxidasa, es decir, la síntesis de etileno puede ser promovida por el propio etileno. Este proceso **autocatalítico** es privativo de los frutos climatéricos y el responsable del formidable aumento en la producción de etileno que tiene lugar en estos frutos durante su maduración (Fig. 26-12).

La maduración de los frutos se ha asociado a la acumulación de proteínas específicas. Ello implica cambios en la expresión génica y en el espectro de proteínas sintetizadas. Los estudios llevados a cabo en frutos de tomate, melocotonero y aguacate con diferentes grados de maduración han identificado tres clases de mRNA: la primera clase se mantiene constante durante la maduración, la segunda aumenta y la tercera disminuye. Algunos de los RNA que aumentan durante la maduración del tomate codifican enzimas conocidas. Una de ellas es la poligalacturonasa, cuyo mensajero, ausente en los frutos verdes, comienza a detectarse cuando se inicia la síntesis de etileno y aumenta sensiblemente a los 3-4 días de iniciada la producción masiva de éste. Sin embargo, la aplicación de etileno a frutos verdes de tomate no provoca la acumulación de la enzima, lo que indica que la activación del gen responsable de su síntesis requiere la pre-

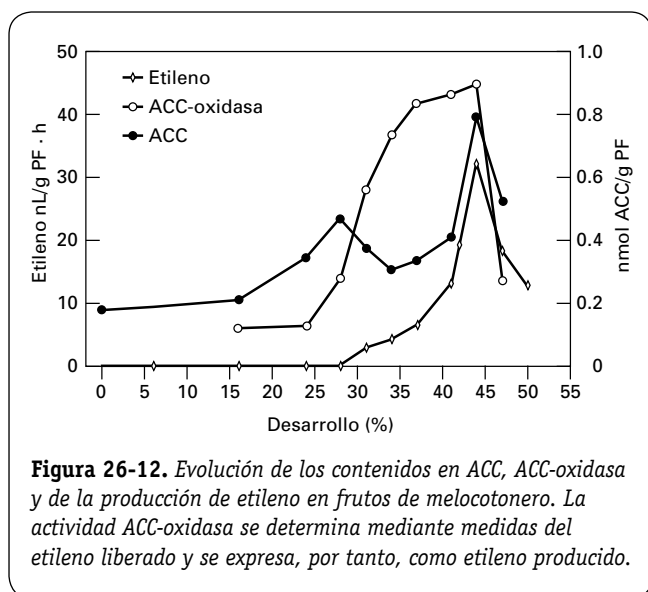
sencia de etileno y de otro u otros factores, evidentemente ausentes en los frutos verdes.

En los frutos climatéricos, muchos de los genes estimulados por el etileno muestran su expresión cuando tiene lugar el proceso autocatalítico de la producción de este gas y el incremento de la respiración. Por tanto, esta última generalmente coincide con la síntesis de proteínas. A la vista de ello, parece lógico que la energía suministrada por la respiración sea utilizada también para la síntesis de las proteínas que catalizan las reacciones de la maduración. Pero eso no es así exactamente, ya que la respiración y la síntesis proteica pueden verse estimuladas por la presencia de etileno en concentraciones insuficientes para provocar la maduración o, incluso, en mutantes incapaces de madurar. Por otra parte, los frutos no climatéricos, en los que el etileno no induce proteínas específicas de la maduración, también muestran un incremento de la tasa respiratoria como respuesta a la aplicación exógena de etileno.

A pesar de las evidencias señaladas, en la regulación de la maduración intervienen otras hormonas, y se ha sugerido que aquélla es el resultado de la interacción de promotores e inhibidores. Así, los frutos recolectados verdes no maduran con normalidad, incluso si se tratan con etileno; evidentemente necesitan estar conectados a la planta para completar su maduración. Los frutos que han completado su desarrollo maduran más lentamente si permanecen en el árbol; es decir, la presencia de inhibidores retarda el proceso. Los experimentos con manzanos han demostrado que el **rayado de ramas** o la defoliación no modifican la maduración; pero cuando se efectúan a la vez, la promueven, es decir, sólo cuando se aísla mediante el rayado la rama que contiene los frutos, y se eliminan las hojas, se consigue la maduración. Las hojas, por tanto, contienen inhibidores de la maduración que transportan hasta el fruto vía floema.

La concentración de ABA aumenta en los frutos al final de su período de crecimiento o durante la maduración de los frutos tanto climatéricos como no climatéricos, y su aplicación exógena la promueve. Además, el contenido de ABA aumenta en los tejidos osmóticamente estresados por salinidad, que maduran antes. Se ha sugerido, incluso, que el ABA es la hormona promotora de la maduración de los frutos no climatéricos, pero actualmente no hay datos que respalden esta hipótesis.

El papel de las auxinas es más complejo y se entiende con dificultad. En efecto, en las fresas, la eliminación de los aquenios (fuentes de auxinas) reduce el crecimiento de la infrutescencia, pero anticipa su maduración; en cambio, en el peral, la aplicación de AIA inhibe la maduración. En la maduración de las peras, el AIA endógeno debería ser, pues, inactivado endógenamente como prerequisite de la maduración; el aumento de su concentración al final del crecimiento del fruto dispara la síntesis de etileno y éste inhibe posteriormente la de AIA, que desciende para permitir la maduración. Las giberelinas y las citoquininas apenas participan en la maduración de los frutos, salvo para retrasar su reblandecimiento y la degradación de las clorofilas. De su equilibrio con el etileno, sin embargo, puede que dependa la evolución del color.



4.2. Existen plantas transgénicas con frutos de maduración controlada

Actualmente es posible modificar la activación o la represión de algunos genes involucrados en la maduración de los frutos. La caracterización y la clonación molecular de los genes que codifican las enzimas de la síntesis de etileno permiten modificarlos y reintroducirlos en las plantas con fines agronómicos. Los avances más espectaculares se han logrado con el tomate, en el que es posible controlar la síntesis de etileno, pectinmetilesterasas y celulasas. Asimismo, las enzimas capaces de degradar el ACC pueden sobreexpresarse y, en estas condiciones, los frutos de las plantas transgénicas retrasan su maduración. De este modo se demuestra, también, que el etileno es la hormona de la maduración y que la modulación de su síntesis mediante técnicas de ingeniería genética puede dar lugar a frutos de comportamiento predecible.

Con estas técnicas se han logrado ya algunos avances extraordinarios en la maduración de los frutos. Algunos frutos

tropicales poseen elevadas cantidades de proteínas con un alto poder edulcorante y bajo contenido calórico; la transferencia de los genes que las codifican ha permitido la obtención de tomates recombinantes, muy dulces, y sin los problemas que puede tener, para algunas personas, la presencia de monosacáridos.

Mediante la **técnica antisentido** se ha conseguido, en el tomate, bloquear la síntesis de ACC-sintasa, con lo que no se sintetiza etileno y no se produce la maduración, pero con una ventaja adicional, si se someten a una atmósfera de etileno, inician su maduración que completan con normalidad. Estos tomates podrán recolectarse, conservarse y transportarse hasta los lugares de venta sin peligro de que se estropeen; unos días antes de su comercialización, se tratan con etileno, maduran y se ponen a la venta. Del mismo modo, se consiguen tomates con mínima actividad poligalacturonasa o pectinmetilesterasa, según el gen que se bloquee; el resultado son frutos más resistentes a la recolección, la manipulación y el transporte, que se pueden mantener más tiempo hasta su consumo sin pérdida de calidad y, en el segundo caso, con un mejor rendimiento (mayor viscosidad) en la industria de los zumos.

RESUMEN



- Los frutos contienen las semillas, las protegen y favorecen su dispersión. Éstas, a su vez, regulan el desarrollo del ovario. Algunos frutos, sin embargo, carecen de semillas. El cuajado y el desarrollo de estos frutos recibe el nombre de partenocarpia.
- El desarrollo de los frutos sigue una curva en tres fases: en la primera, el crecimiento es consecuencia de la división celular y, en la segunda, de la expansión celular; en la tercera, el crecimiento cesa y el fruto madura. En algunos frutos, entre las fases primera y segunda aparece un período sin crecimiento en el que el fruto lignifica su endocarpo. Durante las dos primeras fases, la competencia por los fotoasimilados determina la producción. En la primera, los frutos que no pueden ser nutridos caen. En la segunda, los frutos no caen, pero aquellos que no pueden ser bien nutridos acaban siendo más pequeños. Las hormonas sintetizadas en las semillas o en las paredes de los ovarios regulan el reparto de fotoasimilados y, por tanto, el desarrollo de los frutos.
- Algunos frutos acumulan almidón durante su desarrollo y, en la maduración, lo hidrolizan y presentan un aumento de la respiración. Otros frutos acumulan directamente monosacáridos, y en ellos no se detecta un incremento de la respiración. Los primeros son frutos climatéricos, y los segundos frutos no climatéricos. En ambos, el etileno es la hormona que controla el proceso, aunque con características específicas para cada uno de ellos.
- La manipulación de la expresión de los genes involucrados en la maduración permite la obtención de frutos de comportamiento predecible.

PROBLEMAS Y CUESTIONES



- 1 a) ¿Qué es un falso fruto? b) ¿Cuál es su diferencia básica con un fruto verdadero?
- 2 Señale alguna razón que explique la lignificación que sufre el endocarpo de las drupáceas.
- 3 Indique al menos tres diferencias entre fruto partenocárpico y no partenocárpico.
- 4 ¿Cuál será la respuesta de la fructificación de especies o variedades con un elevado grado de partenocarpia a la aplicación de ácido giberélico durante la caída de los pétalos?
- 5 El rayado de ramas es una práctica de cultivo que consiste en interrumpir temporalmente el transporte floemático mediante un corte. ¿Con qué fines piensa que se practica? ¿Por qué?



PROBLEMAS Y CUESTIONES (Cont.)

- 6) ¿Cómo afectará el riego con aguas salinas al desarrollo de los frutos? ¿Por qué?
- 7) Indique la secuencia de eventos relativa al metabolismo del etileno durante la maduración de los frutos climatéricos.
- 8) ¿Por qué la dosificación correcta del riego y las prácticas de «poda» y también de «aclareo» de frutos pueden incrementar el tamaño de éstos?
- 9) ¿Por qué en los trópicos las naranjas y los limones presentan colores entreverados de tonalidades amarillo-verdosas, y no los colores característicos, naranja y amarillo, de los frutos maduros?



RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1) a) Aquel que se desarrolla a partir de tejidos extracarpeles, como los pétalos. b) En el verdadero, es el desarrollo del pericarpo (exo-, meso- y endocarpo) el que da lugar al fruto.
- 2) La diáspora (dispersión de semillas) implica a los animales superiores. Éstos las ingieren y las transportan, depositándolas finalmente cuando defecan. Algunos de ellos, como los ruminantes y las aves, poseen digestiones muy agresivas, y muchas plantas lignifican el endocarpo de los frutos para proteger a las semillas de la acción de los ácidos digestivos.
- 3) Partenocárpico.
No partenocárpico.
Se desarrollan sin semillas.
No pueden desarrollarse sin semillas.
Generalmente no son fecundados.
Siempre se fecundan.
No poseen semillas.
Poseen semillas.
Suelen presentar un cuajado menor.
Presentan un cuajado elevado.
Importan las hormonas o las sintetizan en las paredes de los ovarios.
Las hormonas se producen en las semillas.
- 4) Probablemente ninguna. El elevado grado de partenocarpia se relaciona con un alto contenido hormonal. En estas circunstancias, el suplemento adicional de giberelinas a frutos con sus requerimientos hormonales cubiertos no debería alterar la pauta de desarrollo.
- 5) a) Con el fin de mejorar el desarrollo del fruto, aumentando el número de los que cuajan y su tamaño. b) Porque crea un desequilibrio temporal en la distribución de carbohidratos a favor de la copa respecto de la raíz, incrementando así la disponibilidad de carbohidratos en las cercanías del fruto.
- 6) a) Reduciendo su tamaño y aumentando su índice de madurez. b) La salinidad reduce la diferencia de potencial hídrico entre la solución acuosa del medio y la raíz, disminuyendo por tanto la absorción de agua y su transporte por la planta. Al reducir el volumen de agua, el fruto crecerá menos y aumentará la concentración de los compuestos disueltos en el medio, entre ellos los azúcares. La salinidad también parece incrementar directamente la síntesis de monosacáridos y disacáridos, los cuales pueden ser utilizados en estos casos como compuestos osmoprotectores. El incremento de la concentración de azúcares eleva, pues, el índice de madurez.
- 7) La siguiente secuencia de eventos justifica la producción autocatalítica de etileno durante la maduración de los frutos climatéricos:
- Síntesis de ACC-sintasa.
Aumento de ACC.
Síntesis de ACC-oxidasa.
Producción de etileno.
Estímulo de la síntesis de ACC-oxidasa.
Producción masiva de etileno.
Consumo masivo de ACC.
Reducción del contenido de ACC.
Reducción de la producción de etileno.
Descenso de la actividad ACC-oxidasa.

RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES (Cont.)



8 Riego: el agua es el componente físico principal determinante de la expansión celular. El efecto más importante de un estrés hídrico, incluso suave, es la reducción del crecimiento por disminución de la tasa de expansión celular. La presión de turgencia de las células en crecimiento, de hecho, proporciona la fuerza motriz de la expansión celular. Aclareo de frutos: la eliminación parcial de frutos reduce la competencia entre los que permanecen, y propicia una mayor captación, simplemente a causa del incremento en la disponibilidad de recursos minerales e hídricos, así como de fotoasimilados y compuestos hormonales, lo cual se traduce en un crecimiento mayor. Poda: independientemente de otras consideraciones en rela-

ción con la práctica de la poda (regeneración de madera vieja por nueva, mayor incidencia y distribución uniforme de la luz, evitación de sombreados interiores, mayor calidad de la irradiancia, selección de sectores vegetativos, etc.), en el aspecto que nos ocupa, la exclusión de frutos en mayor proporción que follaje ofrecería los mismos resultados que el aclareo de frutos.

9 En los trópicos, las condiciones climáticas nunca son las adecuadas para que el fruto mantenga su acidez e índice de madurez, y cambie de color. Las temperaturas relativamente elevadas y constantes, por ejemplo, no propician la sustitución de las clorofilas y el depósito de carotenos y otros pigmentos.

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA



1. Agustí M, Almela V. *Aplicación de fitorreguladores en citricultura*. AEDOS Ed. SA., Barcelona, 1991.
2. Agustí M. *Fruticultura*. Editorial Mundiprensa, Madrid, España, 2004.
3. Baldini E. *Arboricultura general*. MundiPrensa, Madrid, 1992.
4. Brady CJ. *Fruit ripening*. *Ann Rev Plant Physiol*, 1987, 38: 155-178.
5. Faust M. *Physiology of temperate zone fruit trees*. John Wiley & Sons, Nueva York, 1989.
6. Monselise SP. *Handbook of fruit set and development*. CRC Press, Boca Ratón, 1986.
7. Ramón D. *Els gens que mengem*. Edicions Bromera, Alzira, 1997.
8. Schaffer B, Andersen PC. *Handbook of environmental physiology of fruit crops*. Volume I and II. CRC Press, Boca Ratón, 1994.
9. Tucker GA, Grierson D. *Fruit ripening*. En: *The biochemistry of plants*. Davies (ed.). Volume 12. Academic Press, Londres, 1987; 265-318.

Desarrollo y germinación de las semillas

ÁNGEL J. MATILLA



1. El desarrollo de la semilla. 2. La dormición de las semillas. 3. La germinación de las semillas.

1. EL DESARROLLO DE LA SEMILLA

1.1. La aparición de la semilla constituyó un avance evolutivo trascendental

Las transformaciones progresivas que tienen lugar en el ovario para producir un fruto maduro implican una interacción muy compleja de cambios bioquímicos, moleculares y estructurales coordinados temporal y espacialmente por las fitohormonas y por el programa de desarrollo. Uno de los productos de esta compleja «cascada» de procesos es la semilla, que constituye el órgano de dispersión y perpetuación de las angiospermas y representa la **culminación de la evolución reproductiva de las plantas**. En el curso de la evolución, la semilla fue asociándose progresivamente a una serie de órganos florales para constituir finalmente una unidad de dispersión sumamente compleja que denominamos fruto. En términos evolutivos, el fruto implica una coordinación íntima entre el desarrollo de sus semillas y el ovario. La semilla se forma mediante una **embriogénesis zigótica** que comprende los cambios morfológicos, estructurales y de expresión génica que tienen lugar desde la formación del cigoto hasta el final del desarrollo y la maduración del embrión. Éste podrá germinar cuando las condiciones endógenas y medioambientales sean las apropiadas. De la embriogénesis dependerá el éxito de la germinación y, por tanto, el desarrollo del nuevo individuo. Además de ser el período en el que se forma la semilla, la embriogénesis también constituye la fase de preparación para la germinación.

1.2. En el desarrollo de la semilla, a la fase inicial de histodiferenciación le siguen las de expansión, maduración y desecación

La formación de la semilla implica la interacción de diversos procesos relacionados con el programa de desarrollo. La **doble fecundación**, después de la interacción entre los gametos masculino (grano de polen) y femenino (saco embrionario), es una característica de las plantas con flores (Fig. 18-1). Tras la fecundación, y una vez que ha crecido de forma unidireccional, el cigoto se divide transversalmente de forma asimétrica, originándose una célula pequeña (*célula apical*) que no aumenta de tamaño y que, tras sucesivas divisiones, dará origen al **embrión**; y otra célula alargada (*célula basal*) que originará el **suspensor** (véase la Fig. 18-2), una estructura que actúa como un conducto transportador de nutrientes desde el tejido materno hacia el embrión, sin descartar la síntesis de otros compuestos producidos por el propio suspensor (p. ej., GAs). Al comenzar la desecación de la semilla el suspensor degenera, y desaparece la conexión con la planta madre. La función del suspensor la adoptan entonces los tejidos de reserva (**endospermo y cotiledones**) (Fig. 27-1). Los embriones obtenidos mediante una embriogénesis somática no poseen suspensor. La *célula basal* está próxima al micropilo, y la *apical* a la chalaza, lo que conferirá una polaridad incipiente al cigoto. El **establecimiento de la polaridad** está muy regulado por el programa de desarrollo y es de importancia capital en la embriogénesis de las plantas. Sin embargo, en las coníferas, que son las gimnospermas

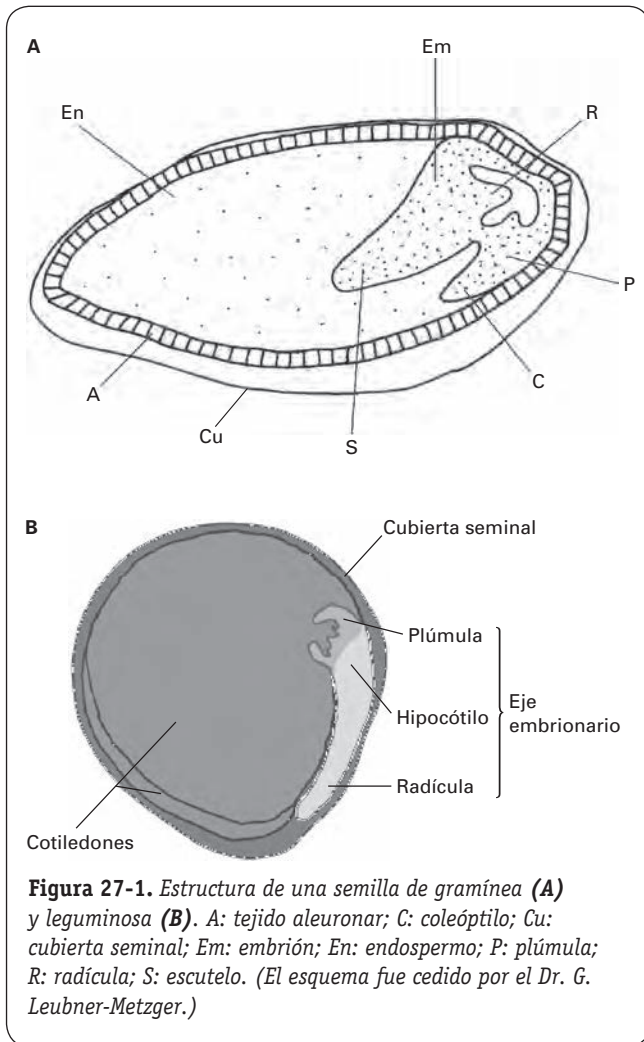


Figura 27-1. Estructura de una semilla de gramínea (A) y leguminosa (B). A: tejido aleuronar; C: coleóptilo; Cu: cubierta seminal; Em: embrión; En: endospermo; P: plúmula; R: radícula; S: escutelo. (El esquema fue cedido por el Dr. G. Leubner-Metzger.)

más estudiadas, el núcleo del huevo fertilizado se divide en dos y luego en cuatro, estando embebida esta tétrada en un citoplasma muy denso, probablemente como consecuencia del gran tamaño del citoplasma y de la imposibilidad de lograr una segmentación de éste mediante la formación de una pared celular.

Para estudiar mejor el desarrollo de la semilla se ha dividido en varias fases: histodiferenciación, expansión, maduración y desecación. La duración del desarrollo depende del tipo de semilla. Así, en *A. thaliana* (crucifera) oscila entre 25 y 26 días; en *Z. mays* (gramínea) la duración es de entre 40 y 50 días, y en *Prunus domestica* (rosácea) dura 95-100 días (Fig. 27-2). La mayor parte de los conocimientos sobre la regulación del crecimiento y la organización de los tejidos del embrión, la diferenciación celular y la transducción de señales hormonales provienen del estudio de las semillas de *A. thaliana*. Actualmente existen datos suficientes para concluir que los mecanismos reguladores fundamentales de esta crucifera modelo son similares a los que operan en las semillas de las leguminosas, entre las que figuran muchas semillas de interés agrícola.

1.2.1. Fase de histodiferenciación

Esta fase, que algunos investigadores denominan también **período embriogénico temprano o inicial**, se caracteriza por una alta tasa de divisiones nucleares y por la formación concomitante de paredes celulares (PC). Todo ello trae consigo un aumento notable del número de células en el embrión. Debido al reducido tamaño de la semilla en esta fase, es muy complicado aislar las diferentes partes de que consta y proceder a la cuantificación hormonal. Sin embargo, los datos de que se dispone en la actualidad indican que las **auxinas** y las **citoquininas** son las fitohormonas predominantes (Fig. 27-3). Ello parece ajustarse a los procesos de mitosis que imperan y al papel cada vez más evidente de ambas hormonas en el ciclo celular. Recientemente se ha constatado la implicación del AIA en la simetría bilateral de los embriones. Citoquininas y auxinas parece que preceden secuencialmente a las **GAs**, las cuales están probablemente implicadas en los procesos de alargamiento celular de los tejidos de reserva y el embrión. La actividad mitótica del endospermo tiene lugar antes que la del embrión.

Sin embargo, no está clara la procedencia de las fitohormonas involucradas en la regulación de las fases iniciales de la embriogénesis; es posible que sean importadas de la raíz (p. ej., tomate), o bien que las produzcan las propias semillas (quizá el suspensor). Algunos embriones en estado globular son capaces de sintetizar sus propias hormonas. El suspensor, por otra parte, está muy relacionado con la biosíntesis de citoquininas y GAs detectadas en el endospermo en este período, hasta el punto de que, en cultivos *in vitro*, el suspensor puede ser suplido por GAs exógenas. Recientemente se ha demostrado que las células epidérmicas son capaces de integrar las señalizaciones del ABA y los azúcares y la actividad del gen FUS3, el cual es necesario exclusivamente en la epidermis para modular la división celular. Finalmente, la **espermidina** y la **espermina** en su forma «libre» (poliaminas relacionadas con el ciclo mitótico) también experimentan un incremento al inicio del desarrollo de algunas semillas.

En las semillas de leguminosas, el crecimiento inicial del embrión está sometido a un control por parte de los tejidos maternos, y el número de células de los cotiledones está relacionado con el tamaño de la semilla. Éste y otros hechos demuestran que el control de la división celular es clave en la fase inicial del desarrollo seminal. Así, en las semillas de *A. thaliana*, los **azúcares** procedentes del tejido materno (cubierta seminal) inducen **ciclinas** de tipo D2 y D3, y probablemente coordinen el proceso de división celular durante estas etapas iniciales. No obstante, el mecanismo de control del tamaño de la semilla es muy complejo y está lejos de conocerse en profundidad. En las semillas de *Vicia faba*, la cubierta seminal tiene un papel notable en este proceso, hasta el punto de que las **cubiertas seminales** con desarrollo incipiente funcionan como un sumidero transitorio, acumulando almidón y proteínas antes de que el embrión comience a almacenar sustancias. Las mutaciones que imposibilitan esta función en la cubierta seminal (p. ej., **mutación rb**) impiden

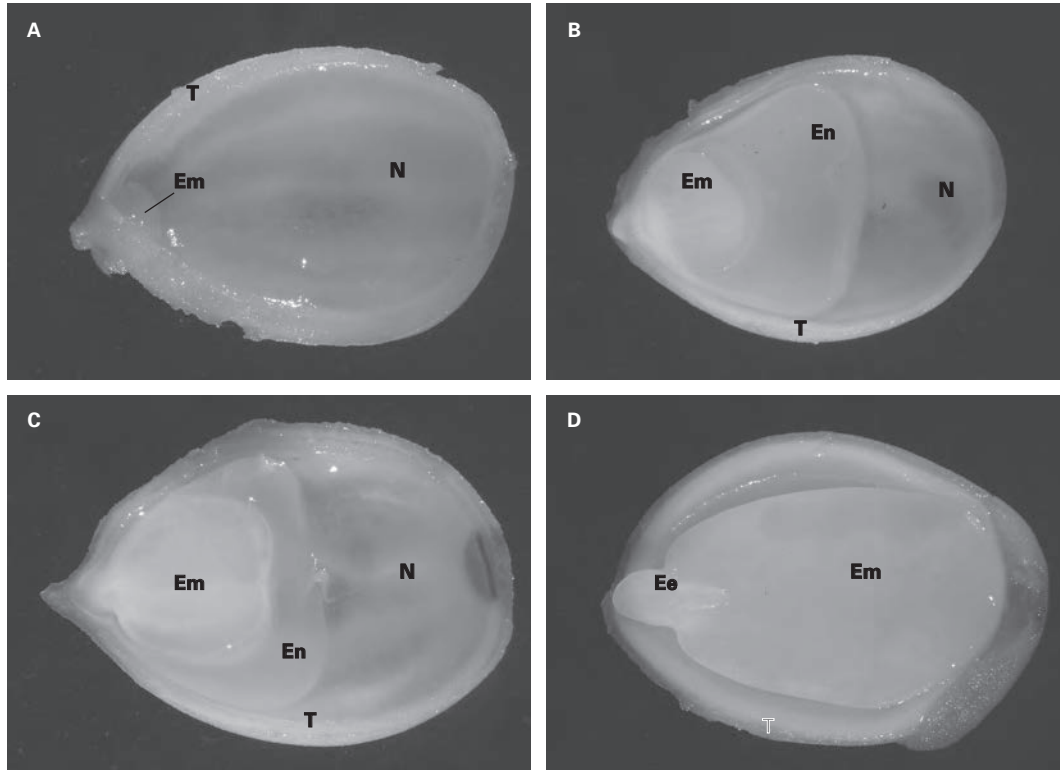


Figura 27-2. Diferentes etapas del desarrollo de la semilla de *Prunus domestica* (mirabel; Rosácea). (A) 21 DDP; (B) 35 DDP; (C) 42 DDP; (D) 56 DDP. T: tegumento; N: nucela; Em: embrión; En: endospermo; Ee: eje embrionario; DDP: días después de la polinización. (Fotos cedidas por N. López-Franco del Grupo de AJ. Matilla.)

el crecimiento del embrión. Así, en las semillas transgénicas de *Vicia narbonensis*, en las que la actividad ADP-glucosa pirofosforilasa está restringida al embrión, el crecimiento de la cubierta seminal y el contenido de almidón no se reduce y, consecuentemente, el tamaño final de la semilla no se

altera. El **ABA materno** sintetizado en la cubierta seminal de *A. thaliana* y *Nicotiana tabacum* se transporta al embrión, promueve su crecimiento y evita su aborto. Sin embargo, en las leguminosas no se ha probado que este ABA esté relacionado con la diferenciación del embrión. Por otra parte, no

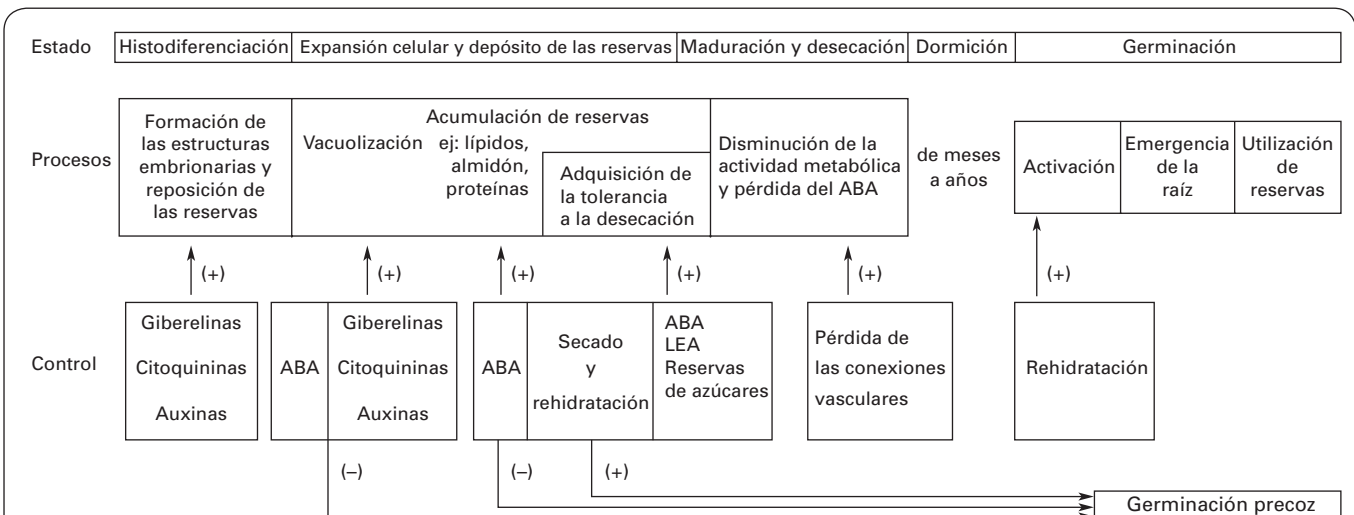


Figura 27-3. Procesos que tienen lugar durante el desarrollo y la germinación de semillas ortodoxas. (Adaptado de Farrant et al., Proceeding of the Fourth International Workshop of Seeds: basic and applied aspects of seed biology. Vol. 3, 715, 1993.)

está descartado que el ABA materno regule la importación de asimilados al embrión.

Generalmente, la **invertasa ácida** (IA) está relacionada con las fases iniciales del desarrollo, mientras que la **sacarina sintetasa** lo está con la de maduración. De hecho, las modificaciones en los niveles de la IA en ciertas fases del desarrollo pueden alterar la histodiferenciación. La IA de la pared celular es activa en los órganos en crecimiento, facilitando la descarga de asimilados debido a la promoción del gradiente de sacarosa. Es lo que sucede en la cubierta seminal de *V. faba* cuando hay una preponderancia de la actividad mitótica. El alto contenido en azúcares resultante de la descarga promueve el crecimiento del embrión por división celular. La **mutación miniatura 1** (*mn1*) reduce la IA e impide el desarrollo del endospermo mediante una disminución del número de células. El ABA induce la síntesis de inhibidores de la IA y, por consiguiente, puede iniciar la histodiferenciación, porque la división celular finaliza por ausencia de hexosas. En resumen, la cubierta seminal en fase de histodiferenciación determina, «*vía IA*», la concentración

y la composición de azúcares en la vacuola del endospermo y afecta al desarrollo del embrión (Cuadro 27-1).

1.2.2. La expansión celular predomina en el período embriogénico medio

1.2.2.1. La fase de expansión se caracteriza por una síntesis elevada de auxinas

En esta fase, el crecimiento por división celular desaparece y es sustituido por un crecimiento debido, preferentemente, a la elongación celular. Sin embargo, en la mayoría de las semillas de cereales cultivados, el endospermo (constituido al final de esta fase por células vivas o alternativamente vivas y muertas) sigue creciendo por mitosis, por elongación, o por ambos mecanismos, y llega a alcanzar un gran tamaño. En este período existe un **contenido elevado de auxinas** en sus formas «libre» y «conjugada» (Fig. 27-3). El AIA se sintetiza en los tejidos de la propia semilla; no es impor-

CUADRO 27-1. Sustancias de reserva y su lugar de acumulación en semillas de plantas con interés agronómico.

	Proteínas	Aceites ¹	Hidratos de carbono ²	Órgano de almacén
Cereales				
Cebada	12	3	76	endospermo
Maíz	10	5	80	endospermo
Avena	13	8	66	endospermo
Centeno	13	2	76	endospermo
Trigo	12	2	75	endospermo
Leguminosas				
Haba	23	1	56	cotiledones
Guisante	25	6	52	cotiledones
Cacahuete	31	48	12	cotiledones
Soja	37	17	26	cotiledones
Otras				
Ricino	18	64	nd	endospermo
Palmera	9	49	28	endospermo
Colza	21	48	19	endospermo
Pino	35	48	6	megagametofito

Los números expresan el porcentaje de sustancias de reserva (nd = no detectado).

¹ En los cereales, los lípidos son almacenados en el escutelo (tejido embrionario).

² En las semillas, el almidón es el principal hidrato de carbono.

tado de los tejidos maternos. Asimismo, **las GAs «libres» y «conjugadas» también aumentan**, las citoquininas tienden a desaparecer y no se detecta todavía ABA. Conviene señalar que, si bien las GAs son importantes en este período, sobre todo en las gramíneas, no se detecta la expresión del gen correspondiente a la α -amilasa en las capas aleuronares. En la mayoría de las dicotiledóneas, se utiliza el material de reserva del endospermo y, consecuentemente, éste queda reducido a una delgada capa de células al final de esta fase.

1.2.2.2. Durante la fase de expansión se acumulan las sustancias de reserva de las semillas

La embriogénesis provoca la aparición de tejidos muy bien organizados para desempeñar funciones muy concretas en la semilla. Entre otras, podemos citar la síntesis coordinada y la acumulación, en su caso, de proteínas, lípidos e hidratos de carbono en diferentes períodos de la embriogénesis y en diversos órganos de la semilla (cotiledones y endospermo) (Cuadro 27-1). El crecimiento del cotiledón comprende dos fases de desarrollo celular (Figs. 27-4 y 27-5); en la primera, el crecimiento se produce fundamentalmente por mitosis (aumento del número de células); en la segunda, predomina la expansión celular (aumento de volumen). Sin embargo, el patrón de desarrollo del endospermo consta de: a) divisiones nucleares periféricas muy rápidas en la célula madre del endospermo (localizada en la región media del saco embrionario) en ausencia de síntesis de pared celular; b) vacuolización próxima a estos núcleos; c) aparición de células individualizadas (cerca de 100 000 en la cebada) una

vez producida la síntesis de la pared celular; d) expansión celular para que se depositen en la región central del endospermo las sustancias de reserva (almidón y proteínas, fundamentalmente), y e) formación y diferenciación de las **capas aleuronares** (uno de los pocos ejemplos de tejido digestivo encontrado en el reino vegetal), proceso que se inicia en una hendidura que posee la célula madre del endospermo en su zona basal y que termina cuando las capas aleuronares rodean totalmente al endospermo.

Las gimnospermas acumulan fundamentalmente lípidos y proteínas, que almacenan en las diferentes partes del megagametofito (haploide) y del embrión (diploide) en desarrollo. En *Pseudotsuga menziesii* y en *Picea glauca* los lípidos constituyen entre el 50 y el 30% del peso seco del megagametofito y del embrión, respectivamente, mientras que las proteínas representan un 12 y un 10%, respectivamente. Sin embargo, en *Pinus tadea* los lípidos constituyen el 36% del megagametofito y el 51% del embrión. Es importante resaltar el caso de la gimnosperma primitiva *Ginkgo biloba*, cuyos productos de reserva se detectan antes de que exista el embrión; en esta semilla, el almidón es la reserva más abundante y la primera en aparecer (cuando los arquegonios son todavía jóvenes). En general, la distribución de las sustancias de reserva en el megagametofito maduro es la siguiente: lípidos en la zona superficial, lipoproteínas en la zona media, y almidón en las zonas media y profunda. Las proteínas de reserva, la fitina y los depósitos minerales se acumulan en plastos especiales en forma de **crystaloides** (agregados proteicos insolubles). En *Pinus pinaster*, las gluteninas, globulinas y albúminas constituyen el 70, 26 y 4%, respectivamente, de las proteínas de los crystaloides. En

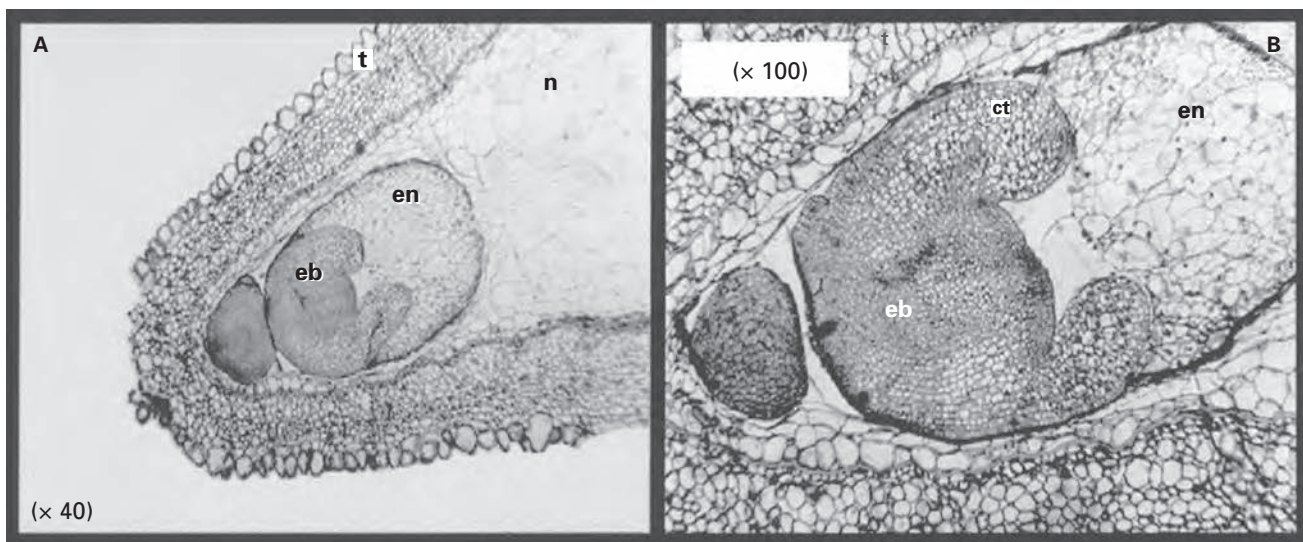
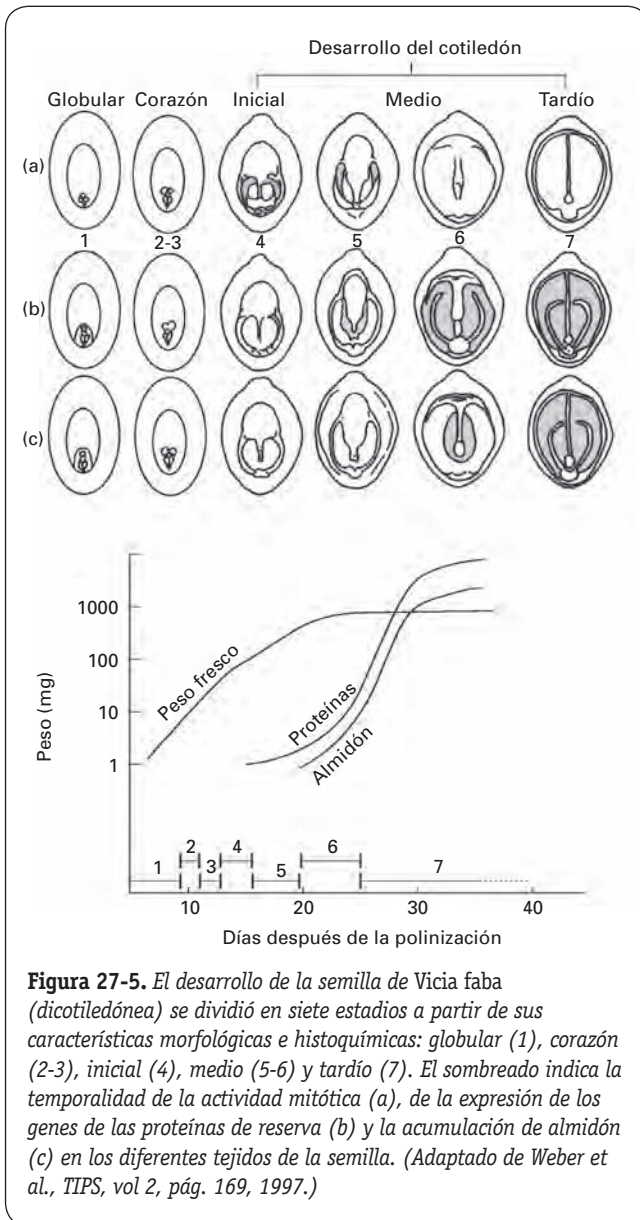


Figura 27.4. Fase inicial de crecimiento de los cotiledones de la semilla inmadura de melocotón (*Prunus persica*). **A.** Vista general de la región apical o micropilar de la semilla inmadura en la que se observa la envuelta externa o tegumento (*t*) y la nucela (*n*). Embebido en la nucela se encuentra el saco embrionario, que contiene el embrión en desarrollo (*eb*) y el endospermo (*en*) ya celularizado. **B.** Detalle de la figura A en el que se observa el inicio del crecimiento de los cotiledones (*ct*) a partir de dos grupos de células localizados en la porción basal o chalazal del embrión en desarrollo. (Fotos cedidas por el Dr. J. A. Arnau.)



G. biloba ya aparecen las leguminas y las vicilinas como proteínas de reserva.

Las semillas de angiospermas acumulan las sustancias de reserva en **cuerpos proteicos** (vacuolas especiales o vesículas originadas del RE), **cuerpos lipídicos** (oleosomas o esferosomas) y amiloplastos (Fig. 27-6). Existen algunas semillas que acumulan hemicelulosas en las paredes celulares del endospermo y las utilizan como material de reserva. Las proteínas de las semillas se han clasificado en tres grupos, de acuerdo con su función fisiológica: 1) **enzimas**, en su mayor parte implicadas en la movilización de reservas (p. ej., cisteína endopeptidasa y proteinasa A y B); 2) **proteínas de reserva** (proteínas diferentes a las que existen en las partes vegetativas de la planta que habitualmente son utilizadas para alimentar a la plántula antes de que se convierta en un organismo autótrofo; en algunos casos sirven como protectores celulares durante la fase de desecación de la semilla

y constituyen una parte de la dieta de algunos animales, entre ellos el hombre) y 3) **proteínas estructurales**. Desde el punto de vista bioquímico, las proteínas de reserva se clasifican en **globulinas** (características de las leguminosas y de algunos cereales como el arroz y la avena), **prolaminas y gluteninas** (abundantes en los cereales), **albúminas y vicilinas**. En la actualidad, las gluteninas se consideran un subgrupo de las prolaminas. Este complejo conjunto de proteínas se forma en los tejidos de reserva durante la embriogénesis zigótica y tiene una relación «fuente-sumidero» con los órganos de crecimiento de la semilla durante la germinación. Entre las proteínas de reserva suelen incluirse las **lectinas** (fitohemaglutinina, ricina-D, abrina, concanavalina-A o aglutinina, etc.), ciertos inhibidores y algunas proteínas de carácter tóxico. Sin embargo, se excluyen aquellas proteínas asociadas directa o indirectamente con la maduración, el estrés y la dormición de las semillas (como, por ejemplo, las proteínas LEA). Normalmente, el nombre de las proteínas de reserva se deriva del latín (zeína de *Zea*, hordeína de *Hordeum*, heliantina de *Helianthus* o napina de *B. napus*, etc.).

La mayor parte de las proteínas de reserva poseen una estructura muy compleja. Son oligómeros con subunidades polimórficas de más de un polipéptido y codificadas por familias multigénicas. Debido a su abundancia en las semillas, sus genes fueron de los primeros en ser estudiados en las plantas, y los de las dicotiledóneas y cereales de interés agronómico han sido clonados, y caracterizadas sus secuencias *cis*. Las alteraciones que tienen lugar desde que se sintetiza la molécula proteica precursora hasta que se acumula como material de reserva son muy complejas y afectan a varios compartimientos celulares (Fig. 27-7). Sus precursores están en el interior del retículo endoplasmático (RE) rugoso, y desde aquí son transportados mediante vesículas de la cara *trans* del AG. En algunos casos, no está implicado el AG. Estas proteínas poseen un péptido de señalización vacuolar; en un mismo cuerpo proteico pueden coexistir diferentes tipos de estas proteínas. Pueden ser glicosiladas en el RE y el AG y procesadas posteriormente en la vacuola mediante una **proteólisis limitada**, a fin de que la degradación no se generalice a lo largo de toda la molécula proteica.

Las proteínas de reserva de las semillas de dicotiledóneas han sido muy estudiadas (Fig. 27-7). Las leguminas son hexámeros constituidos por seis subunidades casi idénticas. Las proteínas no maduras de cada monómero son introducidas en el RE, donde se forma un puente S-S que une las dos cadenas polipeptídicas que forman cada subunidad. Después se agrupan tres monómeros (trímero) para ser transportados a la vacuola de almacenamiento, donde continúa el proceso de maduración, y finalmente se constituye el **hexámero**. Las vicilinas (como β -conglicina y faseolina) son **trímeros** constituidos por dos tipos diferentes de subunidades, las cuales no pueden unirse entre sí mediante puentes S-S, ya que no poseen cisteína. En el RE adquieren la configuración trimérica y, posteriormente, son transportadas a la vacuola de almacenamiento, donde sufren la correspondiente fragmentación. Las albúminas (globulinas y albúminas, como por

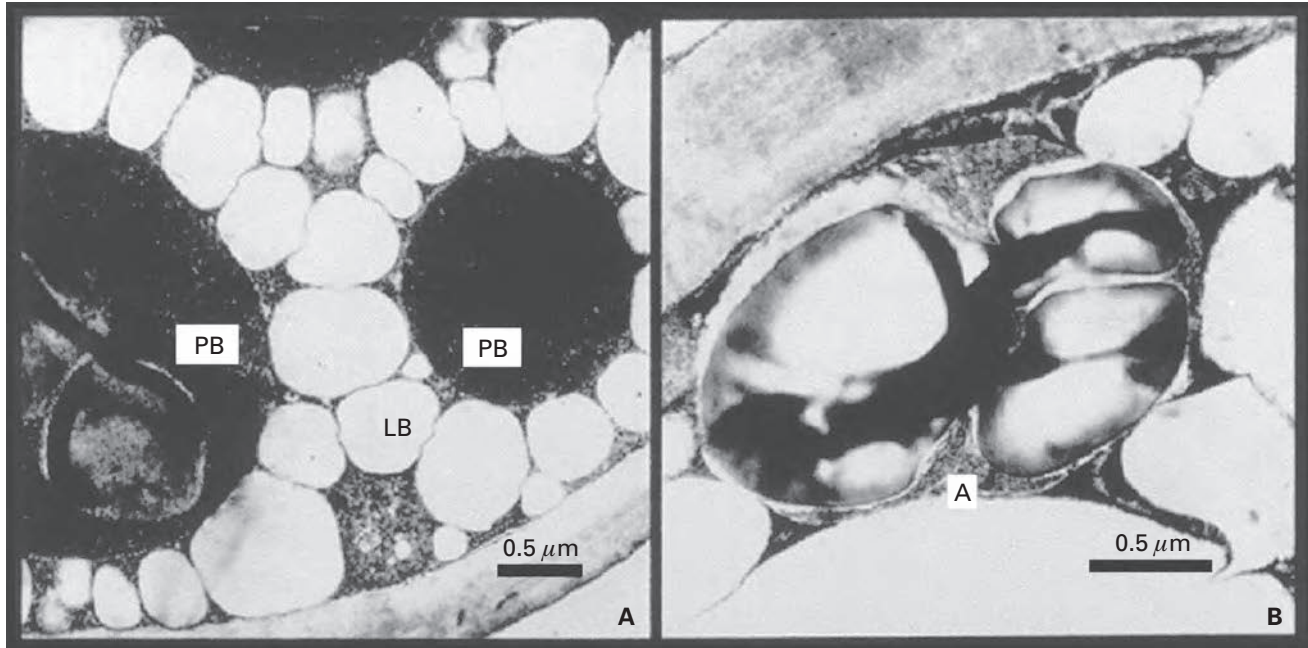


Figura 27-6. Imagen con microscopio electrónico de transmisión de las estructuras en las que se almacenan las reservas en la semilla seca o quiescente del limón (*Citrus limon*). **A.** Cuerpos proteicos (PB) y lipídicos (LB). **B.** Almidón almacenado en un amiloplasto (A).

ejemplo la napina y el inhibidor de α -amilasa de las semillas de cereales) son **monómeros** que adquieren los puentes S-S en el RE y cuya maduración termina en la vacuola. Por lo que respecta a las proteínas de reserva de las semillas de cereales, se conocen en detalle las prolaminas (p. ej., zeína y gluteninas), que son procesadas en el AG o en el RE. Mediante vesículas del AG se transportan a una vacuola de almacenamiento ya existente; en ocasiones, el propio RE puede generar vesículas que contienen prolaminas y, una vez fusionadas varias de estas vesículas, forman en el citoplasma una nueva vacuola de almacenamiento.

El mecanismo de la expresión génica de algunas proteínas de reserva se ha estudiado extensamente en las leguminosas, hasta el punto de que actualmente constituye un modelo biológico de regulación génica. Las secuencias reguladoras para la expresión de estas proteínas en las semillas se localizaron en las regiones promotoras de sus genes. Las globulinas (7S y 11S) son las proteínas de reserva mayoritarias y poseen secuencias muy conservadas en su promotor («caja de vicilina» y «caja de legumina»), concretamente, la **secuencia CATGCATG**, perteneciente a la «caja de leguminas», encontrada en la mayoría de las semillas. Esta secuencia es esencial para la expresión específica de estas proteínas de reserva. En la actualidad se investiga sobre la mejora de la calidad de las proteínas de reserva en las semillas de leguminosas mediante la transformación de estas plantas. La utilización de las semillas de leguminosas para el consumo humano es muy importante; pero como sus proteínas son deficitarias en metionina, se intenta conseguir, mediante técnicas de biotecnología, semillas con proteínas ricas en este aminoácido para que la alimentación sea más equilibrada.

Los **hidratos de carbono** de la semilla proceden de la actividad fotosintética que tiene lugar después de la antesis, y mayoritariamente son importados «vía floema» desde las hojas mediante un típico proceso de «descarga» de **fotoasimilados**. Sin embargo, no hay conexiones vasculares entre la parte vegetativa de una planta y los órganos de reserva de las semillas; si acaso, acceden a la parte externa de la semilla (cubierta seminal). Por consiguiente, los fotoasimilados deben ser «descargados» en el apoplasto, que está inmediatamente en contacto con la cubierta seminal, y posteriormente enviados al órgano de reserva. Las **células de transferencia** existentes en la periferia de los cotiledones y el endospermo tienen una pared celular muy rica en invaginaciones, y un plasmalema muy amplio en superficie, contribuyendo ambas propiedades a facilitar la entrada de compuestos. En la mayor parte de las dicotiledóneas, la sacarosa es «descargada» sin hidrólisis previa. Sin embargo, en algunas gramíneas, antes de la «descarga» se produce la hidrólisis de la sacarosa (glucosa + fructosa) catalizada por una IA dependiente de Ca^{2+} . Una vez efectuada la «descarga» de ambos azúcares, tiene lugar nuevamente la síntesis de sacarosa y la posterior utilización de éste y otros azúcares por los tejidos de reserva para producir sustancias de reserva más complejas. No se descarta que en algunas leguminosas y gramíneas exista una ruta simplástica previa a la entrada en el apoplasto. Cuando la deshidratación de la semilla (parte final de la embriogénesis) llega a un punto concreto, la concentración de almidón y proteínas es tal que paraliza su propia síntesis.

En las semillas de dicotiledóneas, el almidón inicia su aparición 10-15 días después de la antesis (Fig. 27-5). Existe

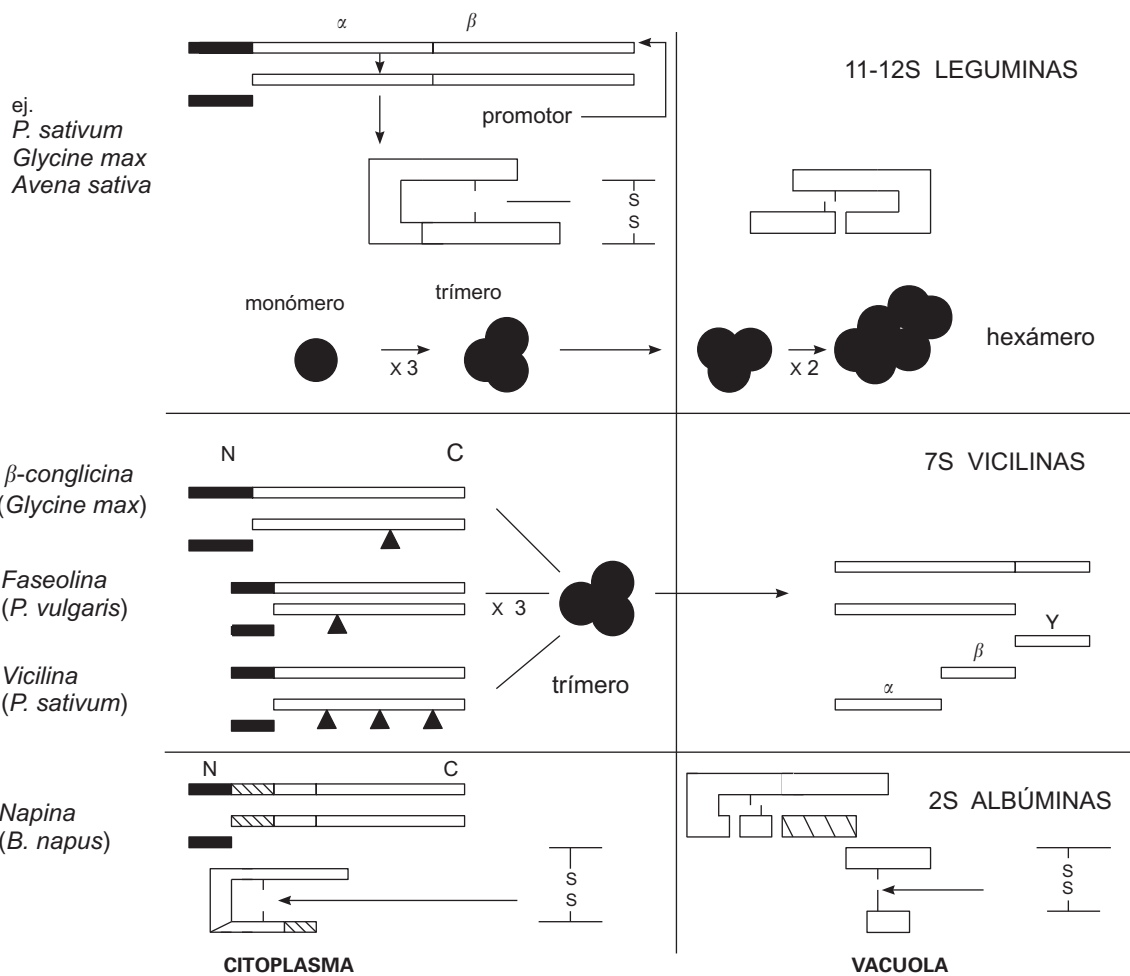


Figura 27-7. Procesamiento y ensamblaje de leguminas 11-12S, vicilinas 7S y albúminas 2S en semillas de dicotiledóneas. Péptido señal (—), lugares de glicosilación (▲) y propéptidos (||||). La escisión vacuolar de las proteínas de reserva tiene lugar a nivel de un enlace peptídico (aspártico-glicina) en el extremo C-terminal de la proteína inmadura. (Adaptado de Müntz, 1996, J. Exp. Bot. 47, 605 y Müntz, 1998, Plant Mol Biol. 38, 77.)

un grano de almidón por cada cloroplasto. Pasados 25-30 días de postantesis, el grano de almidón alcanza un tamaño suficiente como para inhibir la actividad fotosintética del sistema lamelar y transformar el plasto en un amiloplasto (Fig. 27-6). La actividad fotosintética durante la embriogénesis de las dicotiledóneas se realiza en los tejidos de vaina, estípulas y folíolos.

En las leguminosas, es de destacar la síntesis de lípidos, la cual se inicia pasados 20-25 días de postantesis; los ácidos grasos se almacenan en cuerpos lipídicos (**elaioplastos**) y están directamente relacionados con los glioxisomas. En las semillas, los lípidos de reserva son almacenados en los **cuerpos lipídicos**, cuya membrana es una monocapa lipídica con la cabeza polar dirigida hacia el citoplasma y con un diámetro de entre 0.6-2.0 μm . En las semillas ortodoxas, los cuerpos lipídicos contienen en su membrana **oleosina**, una proteína poco frecuente que posee una parte central de su secuencia (70-80 Aa) altamente hidrofóbica. Su misión no se conoce, pero no aparecen en los oleosomas de las

semillas recalcitrantes (que no se desecan en la madurez). Además de los componentes de almacén antes mencionados, las semillas pueden acumular elementos minerales esenciales (magnesio, potasio, calcio, hierro, cobre y manganeso). Alguno de estos minerales puede aparecer en forma de sal; es el caso del **ácido fítico** (*mioinositol hexafosfato*), un importante almacén de fosfato.

1.2.3. En el período tardío tiene lugar la preparación para la maduración y la desecación en presencia de niveles elevados de ABA

El período embriogénico tardío está relacionado con la preparación para la maduración de la semilla. Al inicio de la maduración tiene lugar, entre otros procesos importantes, la estimulación de la expresión de un inhibidor de una quinasa dependiente de la ciclina que provoca la paralización del ci-

clo celular. Durante este período se detecta la presencia de **niveles elevados de ABA-libre** (Fig. 27-3), un descenso en el peso fresco de la semilla debido a una notable pérdida de agua, la tolerancia a la desecación, y la ausencia de alteraciones en el peso seco. Generalmente, con esta fase se completa el programa de desarrollo de la semilla. El ABA es el responsable de que, en la planta madre, la semilla no pase directamente de la embriogénesis a la germinación y, por consiguiente, de que adquiera y mantenga la **dormición primaria**. Además, el ABA también es el responsable de la morfogénesis del embrión y de la tolerancia a la desecación por su implicación en la **síntesis de proteínas LEA** y otras proteínas relacionadas con el estrés. Experimentos con embriones aislados han demostrado que algunos efectos inducidos por el ABA (p. ej., la activación de genes relativos al estrés) pueden conseguirse en presencia de molaridades altas. No obstante, la señalización inducida por la molaridad elevada no es similar a la del ABA. Una vez que el ABA-libre ha ejercido su acción hormonal, se produce un aumento en el nivel de sus «conjugados» (uniones covalentes a azúcares, azúcares-alcohol o aminoácidos) y de algunos de sus metabolitos, como el ácido faseico y el dihidrofaseico, hecho éste muy contrastado en las leguminosas (véase el Capítulo 22). En el período de maduración no se detectan citoquininas, AIA ni GAs en sus formas «libres»; sí aparecen, en cambio, sus formas «conjugadas», que en algún caso pueden convertirse en formas «libres» en el proceso de germinación mediante la hidrólisis de los correspondientes «conjugados». Por otra parte, a medida que esta fase embriogénica avanza, las capas más externas de la semilla (como la cubierta seminal) se endurecen a causa de un enriquecimiento en sustancias céreas, cutina o lignina. Asimismo, las etapas finales del desarrollo seminal se caracterizan por la inhibición de un gran número de procesos metabólicos, entre ellos la actividad respiratoria, la cual adquiere niveles apenas detectables con el fin de mantener a una serie de orgánulos de la semilla (p. ej., mitocondrias), y a la propia semilla, en un estado metabólico «basal» que algunos autores denominan **quiescente**. A diferencia de la semilla durmiente, la semilla quiescente puede germinar si se dan las condiciones óptimas para ello.

En las semillas de dicotiledóneas existen cinco estadios bien diferenciados dentro del período embriogénico tardío: 1) **maduración** (máximo contenido en ABA, máximo tamaño del embrión y máxima acumulación de mRNA de proteínas de reserva); 2) **postabscisión** (máxima concentración de ABA en monocotiledóneas, oscurecimiento de los tegumentos del óvulo ocasionado por la degradación de las clorofilas y la biosíntesis de carotenoides no fotosintéticos, desconexión del tejido vascular e incremento del mRNA de las proteínas específicas de este período); 3) **predesecación** (finalización de la transcripción); 4) **desecación** (pérdida rápida de agua), y 5) **formación de un embrión susceptible** de germinar. En las semillas ortodoxas, la desecación está relacionada con la tolerancia a las condiciones medioambientales adversas y, por consiguiente, sirve de «llave» entre el desarrollo y la germinación (Fig. 27-3). Con el inicio de la desecación concluye la acumulación de sustancias de reserva y se im-

pide que éstas sean utilizadas. Sin embargo, en las semillas recalcitrantes, como las de *A. marina*, la utilización de las reservas se inicia antes de que la semilla se disperse. Por último, y tomado en su conjunto el período tardío de la embriogénesis, la desecación desencadena un enorme proceso estresante en la semilla y, por consiguiente, aparecen niveles tóxicos de radicales de O₂, altas concentraciones de sal y cristales en la célula, y un peligro subyacente para los sistemas membranosos y para las macromoléculas delicadas (DNA y RNA, entre otras). En el control de este ambiente estresante están implicadas las proteínas LEA, como se verá en el apartado 2, dedicado a la dormición primaria.

En la transición hacia la maduración de una semilla en desarrollo tiene una especial relevancia la interacción entre azúcares y ABA. Se sabe que los niveles de ABA están regulados espacial y temporalmente durante el desarrollo de las semillas; sin embargo, la señal que desencadena su síntesis es todavía desconocida. Se cree que puede ser una señal de estrés, nutricional, o de ambos tipos (p. ej., el nivel de azúcares), pero no existen datos experimentales directos que lo confirmen. Sí está confirmado, en cambio, que la señalización del ABA no debe estar alterada para que la señalización de azúcares sea correcta. Corroborando lo anterior, el ABA aumenta la capacidad de respuesta a la señalización de los azúcares. Es posible que la sacarosa incremente la sensibilidad al ABA o sus niveles endógenos.

1.3. Durante la embriogénesis el metabolismo de los ácidos nucleicos y la expresión génica son muy intensos

Durante los primeros estadios de la embriogénesis, el programa de desarrollo se orienta a la producción de nuevas células; sin embargo, existen muy pocos estudios sobre la variación del DNA durante las primeras divisiones mitóticas. El DNA puede seguir replicándose al tiempo que ciertos órganos de la semilla acumulan sustancias de reserva y no se detecta en ellos actividad mitótica. En muchas semillas, entre ellas las de leguminosas, durante la embriogénesis tiene lugar el **proceso de poliploidía** (así, durante el desarrollo de los cotiledones de *Pisum sativum* aparecen células 32, 64 y 128 C). La función exacta de este proceso no se conoce, pero sí se ha demostrado que es necesaria una señalización hormonal (p. ej., citoquininas) para que se lleve a cabo en tejidos ya diferenciados. **Esta poliploidía no parece estar relacionada con una amplificación génica**, ya que no se ha encontrado un incremento de proteínas de reserva concomitante con el aumento de DNA. Es más, la gran mayoría de los genes relacionados con las proteínas de reserva son copias simples, o tienen 4-5 copias por genoma haploide. La forma en que se utiliza el número extra de copias de DNA es uno de los muchos aspectos desconocidos de la embriogénesis. No se descarta que tengan una función de reserva nucleotídica para llevar a cabo la división celular durante la germinación.

El **metabolismo del RNA** es otro de los aspectos importantes de la embriogénesis zigótica. Durante la fase inicial

de la embriogénesis no sólo se sintetiza RNA, sino que también se degrada una parte de él y, por tanto, se producen nucleótidos y ribosa, que se integran en las rutas metabólicas celulares. Los niveles de RNA (mRNA y tRNA) se incrementan notablemente a lo largo del desarrollo de la semilla y, sobre todo, durante la fase de expansión celular, en la que la síntesis de proteínas de reserva es muy alta. Es probable que esta traducción tan elevada se efectúe utilizando un material génico sintetizado en períodos anteriores. La síntesis de proteínas de reserva parece estar controlada a nivel transcripcional, ya que su intensidad depende del nivel y de la estabilidad de los transcritos presentes. No obstante, también se ha observado que algunas proteínas de reserva están reguladas a nivel traduccional. Por último, mientras que durante la maduración de la semilla el contenido en RNA permanece constante, la actividad transcripcional es casi indetectable.

Como se indicó anteriormente, durante el desarrollo de la semilla (excepción hecha de la fase de desecación) se sintetiza una gran cantidad de proteínas. Algunos de los componentes que intervienen en la proteínosíntesis se degradan, mientras que otros permanecen y se conservan hasta el momento de la rehidratación de la semilla previa a la germinación. Así, tRNA, factores de iniciación y elongación, ribosomas, aminoácidos o aminoacil-tRNA sintetasas, entre otros, se encuentran almacenados y protegidos en la semilla seca para realizar una parte de la síntesis proteica durante los primeros momentos del proceso germinativo. Sin embargo, el papel del mRNA no degradado durante la maduración y la desecación, y almacenado en la semilla seca, dista mucho de ser conocido, si bien se ha demostrado que, al inicio de la germinación, algunas proteínas se sintetizan utilizando estos transcritos almacenados. Es muy posible que la transcripción sea necesaria para la reanudación de la síntesis proteica al principio de la imbibición de las semillas. Esta población de «mRNA almacenado» puede dividirse en dos grupos: **mRNA no esencial** para el proceso germinativo y que, en su mayor parte, se degrada como cualquier otra sustancia de reserva; y **mRNA disponible** para ser traducido en proteínas que son importantes para el comienzo o la terminación del proceso germinativo. En el maíz y otros cereales, las capas de aleurona del endospermo permanecen viables después de que la semilla se haya secado; por esta razón, es lógico pensar también en un proceso de maduración de estas células que van a desempeñar un papel clave en la degradación del endospermo durante la germinación.

La embriogénesis zigótica implica la expresión temporal y espacial de unos 20 000 genes. Por lo que respecta a la semilla, alguno de estos genes se transcriben con baja o alta intensidad en tejidos muy concretos de ella. Otros pueden transcribirse en el período final de la embriogénesis y durante los primeros instantes de la germinación. Se calcula que hay unos 4000 genes directamente relacionados con el desarrollo de la semilla. Por ahora, los conocimientos sobre la expresión y la regulación génicas durante los primeros momentos de la embriogénesis contienen muchas lagunas. El empleo de mutantes de *A. thaliana*, maíz, algodón y

P. vulgaris, entre otras especies, está ayudando a identificar genes que regulan aspectos muy concretos de la embriogénesis zigótica, cuya expresión génica puede depender, entre otros factores, de la metilación del DNA, la posición de las células en el embrión, el nivel de fitohormonas, la regulación de la fosforilación (p. ej., PEP-carboxilasa) y la «cascada» del programa de desarrollo.

Los datos existentes sobre la expresión génica durante la embriogénesis de las angiospermas han permitido agrupar los genes en: a) constitutivamente expresados, cuyos productos están presentes en todos los estadios embriogénicos; b) expresados de manera abundante en la fase temprana; c) genes relacionados en su mayoría con las proteínas de reserva, que prevalecen durante la fase de expansión del cotiledón (período medio) y cuya expresión disminuye intensamente al final de este período, y d) genes que se expresan con preferencia en el período final de la embriogénesis, y cuyos productos génicos son almacenados en los períodos de maduración y desecación de la semilla y se degradan a lo largo del período de imbibición y germinación de ésta (en su mayoría son genes relacionados con las proteínas LEA).

La expresión génica de las proteínas de reserva está controlada por el programa de desarrollo genético y ambiental, y su regulación se produce básicamente a nivel transcripcional. En las angiospermas, tal como se indicó en el apartado 1.2.2.2, los genes pertenecientes a estas proteínas se expresan con gran intensidad durante la fase de expansión celular. Sin embargo, en las gimnospermas se ha detectado la máxima expresión cuando la mitosis es más intensa y todavía no se han formado las regiones meristemáticas del embrión. Así pues, parece existir una regulación temporal de estas proteínas entre los dos grupos de plantas. Otros genes bien caracterizados en semillas de angiospermas son los de las proteínas LEA. Los mRNA ya se detectan en el período medio, y su máxima actividad transcripcional tiene lugar en la fase de desecación. Algunos mRNA se almacenan en las semillas secas y son rápidamente degradados en la fase de imbibición de la germinación. Contrariamente a lo que sucede con las proteínas de reserva, la temporalidad en la expresión de las proteínas LEA durante la embriogénesis de las gimnospermas y las angiospermas parece similar; por consiguiente, los mecanismos celulares que operan en ambos grupos de plantas durante el estrés embriogénico pueden ser comparables.

2. LA DORMICIÓN DE LAS SEMILLAS

La mayoría de las plantas producen semillas incapaces de germinar antes de su dispersión. Se dice que estas semillas están durmientes. Algunas semillas, las menos, mantienen esta incapacidad incluso después de la dispersión; en cambio, otras pueden germinar en la planta madre. Este fenómeno se conoce como **viviparismo**, y en él está implicada la inhibición de la síntesis de ABA (niveles 25-50% menores) o la falta de sensibilidad a éste durante la fase media-final de la embriogénesis zigótica. **La dormición** puede definirse

como el bloqueo que tiene lugar en una semilla viable que le impide completar la germinación en condiciones favorables. Pese a la complejidad de la descripción de la dormición de semillas, los científicos Carol Baskin y Jerry Baskin (2004) han propuesto una descripción más sofisticada y experimentalmente probada: «una semilla durmiente carece de la capacidad para germinar en un período de tiempo concreto aunque se someta a una combinación de factores físicos medioambientales que en otras circunstancias favorecen su germinación». La dormición se divide en **primaria** o **secundaria**, según que la capacidad germinativa de una semilla esté bloqueada antes o después de su dispersión, respectivamente. **El ABA** está implicado en la aparición de la dormición primaria en semillas ortodoxas, la cual se produce durante la maduración de los órganos de dispersión en la planta madre. Sea cual fuere el tipo de dormición que adquiera una semilla, debe ser eliminada mediante el mecanismo adecuado para que pueda efectuarse la germinación. En el laboratorio, la dormición primaria se puede eliminar mediante un tratamiento de frío (**estratificación**), luz, GAs, etileno, sustancias presentes en el humo del tabaco (p. ej., butenolida) y óxido nítrico, entre otros. Durante el proceso de estratificación de semillas de algunas especies se produce un descenso en la forma fisiológicamente activa del ABA (ABA-libre), con el consiguiente incremento de la capacidad germinativa. A diferencia de la dormición primaria, la dormición secundaria suele estar relacionada con los ciclos anuales de dormición en los bancos de semillas del suelo. Su eliminación suele producirse cuando las condiciones medioambientales en el suelo son las adecuadas para germinar.

La dormición depende tanto de las características fisiológicas como de las características morfológicas de la semilla. Por ello, se ha propuesto una clasificación que incluye cinco tipos de dormición: **fisiológica** (DF), **morfológica** (DM), **morfofisiológica** (DMF), **física** (Df) y **combinatoria** (DF + Df). La DF es la más abundante en todo tipo de semillas y puede, a su vez, dividirse en *no profunda* y *profunda*, según que el tratamiento con GAs sea o no efectivo, respectivamente, para eliminarla (p. ej., *A. thaliana* y *Acer platanoides*). La DM se debe a un defecto en el crecimiento del embrión, el cual permanece durmiente hasta que su desarrollo ha finalizado con éxito (p. ej., *Acer graveolens*). Si la dormición se debe a una anomalía en el desarrollo del embrión y a la intervención de un componente fisiológico, se denomina DMF; para eliminarla se necesita calor y estratificación en frío, aunque en algún caso puede ser efectivo solamente un tratamiento de GAs (como ocurre en *Fraxinus excelsior*). La Df se debe a la impermeabilidad al agua de las células del tejido en empalizada de la cubierta seminal, responsable del control del movimiento del agua de imbibición; las cubiertas seminales duras comprimen el embrión, que no suele ser durmiente, y le impiden germinar (así sucede en las Fabáceas *Melilotus* y *Trigonella*). Para provocar la germinación en semillas con Df es preciso proceder a la escarificación (rotura o ablandamiento) física o química, o ambas, de la cubierta. La DF + Df aparece en semillas con cubiertas duras y va acompañada de una dormición fisiológica del embrión (p. ej., en *Geranium*

y *Trifolium*). Finalmente, y aunque no existen demasiadas pruebas experimentales, el tamaño del embrión parece ser determinante en la evolución de la dormición de las semillas en la escala biológica.

2.1. En la regulación de la dormición primaria está implicado el ABA

Aunque se sabe poco sobre la regulación y el control molecular de los cinco tipos de dormición descritos anteriormente, existen muchos datos acerca de la **DF no profunda** (DFNP). Su estudio ha avanzado considerablemente en los últimos años, y se ha demostrado que la dormición del embrión y de los tejidos circundantes (endospermo, pericarpo y cubierta seminal, entre otros) está implicada en ella, y que la interacción entre el grado de dormición de ambas partes de la semilla determina la intensidad de la DFNP. Así, la resistencia mecánica que oponen el embrión y los tejidos envolventes cuando están durmientes parece ser una de las causas principales de la DFNP en las semillas modelo, como la de *A. thaliana*.

Existen numerosas pruebas de que **el ABA es un regulador positivo** no sólo de la inducción de la DFNP, sino también de su mantenimiento. Algunos hechos lo confirman:

- Una deficiencia en ABA durante las etapas finales de la embriogénesis zigótica provoca la ausencia de dormición primaria en la semilla madura, mientras que la sobreexpresión de genes de la biosíntesis de ABA induce el efecto contrario y el retraso en la germinación. Cruces recíprocos de plantas mutadas deficientes en ABA con plantas salvajes han permitido demostrar que la dormición primaria solamente se induce cuando la semilla en desarrollo sintetiza ABA en el endospermo y en el embrión. **El ABA materno no desempeña ningún papel en este tipo de dormición.** Por otra parte, el ABA exógeno provoca una respuesta temporal y espacial que es diferente a la del ABA endógeno, que la provoca permanentemente.
- El ABA localizado en las cubiertas seminales y en los tejidos que forman las vainas no contribuye a la dormición primaria. La dependencia de ABA en la dormición primaria quedó demostrada con plantas mutantes que tienen inhibida su biosíntesis (p. ej., la **mutación *sit*** de tomate produce semillas vivíparas con cubiertas seminales muy finas) o tienen escasa sensibilidad al ABA (p. ej., la **mutación *vp1*** del maíz) o bien mediante tratamientos con **fluridona**, un inhibidor de la síntesis de ABA.
- Se detectaron niveles altos de ABA durante el período inicial (imbibición) de la germinación de semillas con DFNP, disminuyendo con la desaparición de la dormición. La síntesis al inicio de la imbibición se interpreta como un mecanismo para mantener la dormición.
- **La DFNP parece depender del balance ABA/GAs;** es decir, la DFNP neta se caracteriza por un aumento en

la biosíntesis de ABA y una degradación de GAs, y la eliminación de este tipo de dormición es concomitante con la inhibición de la biosíntesis de ABA. Sin embargo, no siempre existe una correlación entre la concentración de ABA endógeno y el porcentaje de germinación, sobre todo en semillas secas viables que han sido almacenadas durante períodos más o menos largos. Tal vez el aumento de sensibilidad a las GAs durante el almacenaje sea la razón de estas respuestas.

- El ABA induce la dormición durante la maduración de la semilla, mientras que las GAs ejercen un papel relacionado con la eliminación del estado durmiente y promotor de la germinación; resultados recientes apuntan a que la **relación ABA:GAs es alta durante la DFNP**, mientras que para desencadenar la germinación se necesita que esa relación sea baja.

Además de lo expuesto anteriormente es necesario tener presente la **sensibilidad al ABA y GAs** de los tejidos implicados en la DFNP, la interconexión entre estas dos rutas de señalización, así como su regulación por el programa de desarrollo. La sensibilidad al ABA se modifica a lo largo del desarrollo de la semilla. La transición desde el estado de DFNP a la germinación va acompañada de un descenso en la sensibilidad al ABA concomitante con un aumento en la sensibilidad a las GAs. Asimismo, el estado durmiente se caracteriza por la transcripción de un buen número de genes, en especial de los que poseen en sus promotores **secuencias ABRE** (*abscisic responsive element*) y los correspondientes a los factores de transcripción que se unen a ABRE. Estos factores de transcripción son probablemente reguladores de la dormición de semillas. Por otra parte, durante la fase de imbibición de semillas con DFNP tiene lugar la inducción de varios genes que responden a GAs, fitohormonas que se sintetizan en el embrión con la intervención de la luz. El frío (estratificación), otro agente que hace desaparecer la DFNP, y la luz provocan la biosíntesis de GAs mediante la activación de la **GA 3-oxidasa**. Recientemente se ha demostrado que ambos factores ambientales (frío y luz) actúan mediante la interacción de los **factores de transcripción SPT** (*spatula*) y **PIL5** (*phytochrome-interacting-factor-like5*). En condiciones de oscuridad, SPT y PIL5 son represores activos de la germinación, mientras que en presencia de luz y frío su actividad represiva es baja.

2.2. Las proteínas LEA y los azúcares desempeñan un papel importante en la tolerancia a la desecación de las semillas

La etapa final del desarrollo de una semilla ortodoxa va acompañada de una pérdida considerable de agua. Sin embargo, las estructuras celulares de la semilla no se deterioran, debido a que adquieren tolerancia a la desecación, hasta el punto de que, una vez rehidratada la semilla, tiene lugar la reactivación de la actividad celular y el inicio de las actividades metabólicas implicadas en el desencadenamiento del proceso germinativo. Una de las respuestas inducidas por

el ABA en relación con la dormición primaria es la biosíntesis de **proteínas LEA** (*late embryogenic abundant*), las cuales contribuyen a la adquisición de la **tolerancia a la desecación** de las semillas. Las proteínas LEA son proteínas hidrófilas, ricas en aminoácidos no cargados e hidroxilados y con dominios muy conservados. **No son proteínas de reserva**. Se han caracterizado muchos genes LEA; en la actualidad, estos genes se clasifican en: grupo I (p. ej., *Em, p8B6 y D19*); grupo II, formado por los genes LEA propiamente dichos (*Rab 16, Rab 21 y D11*, entre otros); y grupo III (*B19, D132*, etc.). Las proteínas LEA se unen a las membranas y a las proteínas celulares para preservarlas del estrés que provoca la pérdida de agua, y también pueden ser inducidas por heridas o por la sequía, tanto en semillas como en otros órganos de la planta. No es sorprendente, pues, que aún no se haya dilucidado si es el ABA o la sequedad lo que induce la síntesis de estas proteínas. Las semillas de *Avicennia marina* (recalcitrantes) son sensibles a la desecación, no producen ABA en el período embriogénico tardío, y no se desecan en la planta madre, permaneciendo metabólicamente activas durante toda la embriogénesis, sin que exista una separación perceptible entre embriogénesis y germinación. **La falta de proteínas LEA en estas semillas** puede deberse a la ausencia de genes LEA o a la pérdida de competencia para transcribirlos, si los tuviera. Todo lo dicho parece apuntar a que, en las semillas ortodoxas, la señal inducida por el ABA o la deshidratación se traduce en un buen número de familias proteicas, siendo una de ellas las LEA. Los mRNA de LEA se acumulan en las semillas secas maduras y se degradan rápidamente con el proceso de imbibición previo a la germinación. Todavía no se ha demostrado si la señal provocada por el ABA dentro de la «cascada» que ocasiona la estimulación de la transcripción de los genes LEA es la misma que tiene lugar en la desecación. Sin embargo, las proteínas LEA no parece que estén implicadas en la regulación de la dormición primaria. La función fisiológica de las proteínas LEA es estabilizar y proteger a otras proteínas y también, muy posiblemente, a las membranas, para defender a la semilla durante el período de desecación, así como a los complejos celulares durante el proceso de rehidratación, como se explicará más adelante.

La adquisición de la tolerancia a la desecación en semillas ortodoxas, además de estar relacionada con el ABA, también lo está con la presencia de azúcares no reductores, con sistemas que secuestran radicales libres y con el grado de vacuolización. Es probable que durante el período de desecación ciertos azúcares (p. ej., sacarosa, rafinosa, verbascosa y estaquiosa, entre otros) reemplacen al agua sobre las superficies macromoleculares, facilitando la estabilización de las membranas. En semillas de *A. marina* se produce una notable disminución de la sacarosa durante la desecación. Las semillas ortodoxas acumulan, en el período de desecación, reservas muy complejas en las vacuolas; **el grado de vacuolización disminuye** ostensiblemente para facilitar un mayor grado de estabilidad celular. Estas reservas complejas no parecen estar relacionadas con la tolerancia a la desecación. Sin embargo, las semillas de *A. marina* acumulan preferentemente reservas solubles, y sus células permanecen

muy vacuoladas, lo que podría contribuir al alto grado de sensibilidad a la desecación. Ahora bien, la tolerancia a la desecación no depende de un solo mecanismo de protección, sino que es una respuesta multifactorial y sinérgica en la que cada componente es igualmente esencial. En definitiva, la tolerancia a la desecación es una de las propiedades más importantes de las semillas, porque es necesaria para que se complete el ciclo biológico de la planta y porque capacita a la semilla para sobrevivir durante el almacenamiento o el estrés ambiental, asegurando de este modo su diseminación.

2.3. La dormición secundaria se induce por ausencia de señales medioambientales necesarias para la germinación

La dormición secundaria está vinculada fundamentalmente a las condiciones medioambientales, y se induce una vez que la semilla que la adquiere ha sido diseminada y la dormición primaria ha disminuido. En condiciones naturales, la dormición secundaria es inherente a muchas semillas integrantes del **banco de semillas del suelo** (conjunto de semillas de distintas especies que se encuentran en el suelo con diferentes grados de enterramiento y caracteres fisiológicos). Los cambios periódicos (anual o bianual) en la dormición secundaria pueden explicar la germinación estacional de las especies leñosas, entre otras. La dormición secundaria se induce cuando una semilla no durmiente no recibe la señal o las señales externas necesarias para germinar. Si estos parámetros alcanzan unos valores óptimos para una semilla, tiene lugar el proceso germinativo. En términos fisiológicos, las semillas con dormición primaria y secundaria son diferentes, principalmente porque responden de forma distinta a un mismo factor estimulante de la germinación. **La temperatura** y, posiblemente, **el potencial hídrico** (ψ) del suelo son los factores que más determinan el carácter cíclico anual de la dormición secundaria. Paralelamente, otros estimulantes de la germinación, como la **luz** y el **NO₃**, colaboran en la eliminación de la dormición secundaria. Se ha postulado que las membranas biológicas podrían ser las «dianas» de la percepción de la temperatura. Por consiguiente, se supone que las alteraciones en sus propiedades están implicadas en la regulación de esta dormición (Fig. 27-8).

A diferencia de lo que sucede con la dormición primaria, los datos que existen en la actualidad sobre la dormición secundaria son básicamente descriptivos. Por tanto, sólo se puede especular sobre los posibles mecanismos que la provocan. Para facilitar el estudio de dichos mecanismos es necesario disponer de un sistema biológico en el que la reversión de la dormición secundaria y la inducción de la germinación estén separados. Pero este sistema todavía no se ha encontrado.

2.4. La pérdida de la dormición en las semillas

Aunque se conocen muchos aspectos relacionados con el inicio de la dormición primaria, la señal de su terminación no se

conoce con detalle; no obstante, es lógico pensar que pueda estar **relacionada con la señal que la produjo (ABA)**, es decir, con la pérdida de sensibilidad a esta hormona. La degradación del ABA-libre se registra durante el almacenamiento de las semillas secas. Esta desaparición a veces se acelera con las altas temperaturas. Asimismo, las bajas temperaturas aceleran la salida del ABA al medio circundante en semillas totalmente hidratadas. Recientemente se ha demostrado que irradiaciones con luz roja o tratamientos con GA₃ consiguen eliminar la dormición, probablemente porque inducen la conjugación del ABA. Sea como fuere, la pérdida de la dormición primaria en las semillas parece estar relacionada con un **incremento en la sensibilidad a las GAs**. Hasta ahora no se ha comprobado que una proteína concreta esté relacionada con la inducción de la germinación en las semillas dormidas. Tampoco se ha demostrado ninguna relación con la respiración. Algunos datos apuntan a que las membranas pueden estar implicadas, pero no se sabe cuál es su mecanismo de participación.

Muchas semillas maduras almacenadas en seco y a temperatura ambiente durante varios meses (*after-ripening*) pierden la dormición primaria. Algunas de las alteraciones producidas durante el *after-ripening* que pueden inducir esta pérdida son: la ampliación del rango de temperatura para germinar, el descenso de la sensibilidad al ABA y de la concentración endógena de éste, el aumento de la sensibilidad a las GAs, la disminución de requerimientos de luz para germinar en aquellas semillas que no germinan en oscuridad, el incremento de la sensibilidad a la luz en semillas que no germinan con luz, la pérdida de requerimiento de NO₃ y el aumento de la velocidad de germinación. Sin embargo, aunque el mecanismo molecular del *after-ripening* se desconoce, se han propuesto como mecanismos implicados en la pérdida de la dormición primaria, entre otros, los siguientes: antioxidantes, reacciones no-enzimáticas que eliminan los inhibidores de la germinación, especies reactivas al O₂, alteración de las membranas o degradación de las proteínas «vía proteosoma».

La cubierta seminal y el endospermo desempeñan un papel muy importante en la desaparición de la DFNP. La rotura de la cubierta seminal y el «ablandamiento» del endospermo son procesos separados en el tiempo que se producen durante la germinación de varias especies (p. ej., *Nicotiana* y *Petunia*). La cubierta seminal puede provocar la DFNP en semillas debido a un impedimento en el crecimiento del embrión. Para que esta semilla deje de ser durmiente, el embrión deberá crear un potencial osmótico endógeno que genere fuerza suficiente como para atravesar la cubierta o, alternativamente, que disminuya la resistencia que opone la cubierta seminal mediante la acción de enzimas generadas por el tejido de reserva o por la propia radícula. Como se indicó anteriormente, la cubierta seminal es un tejido materno y, por consiguiente, **el fenotipo de la DFNP se hereda de la madre.** El requerimiento de GAs para la germinación de semillas de *A. thaliana* viene determinado por las características de la cubierta seminal, la capacidad de crecimiento del embrión y el contenido de ABA del propio embrión.

Por otra parte, el endospermo puede actuar como una barrera mecánica para la germinación de ciertas semillas. Es un

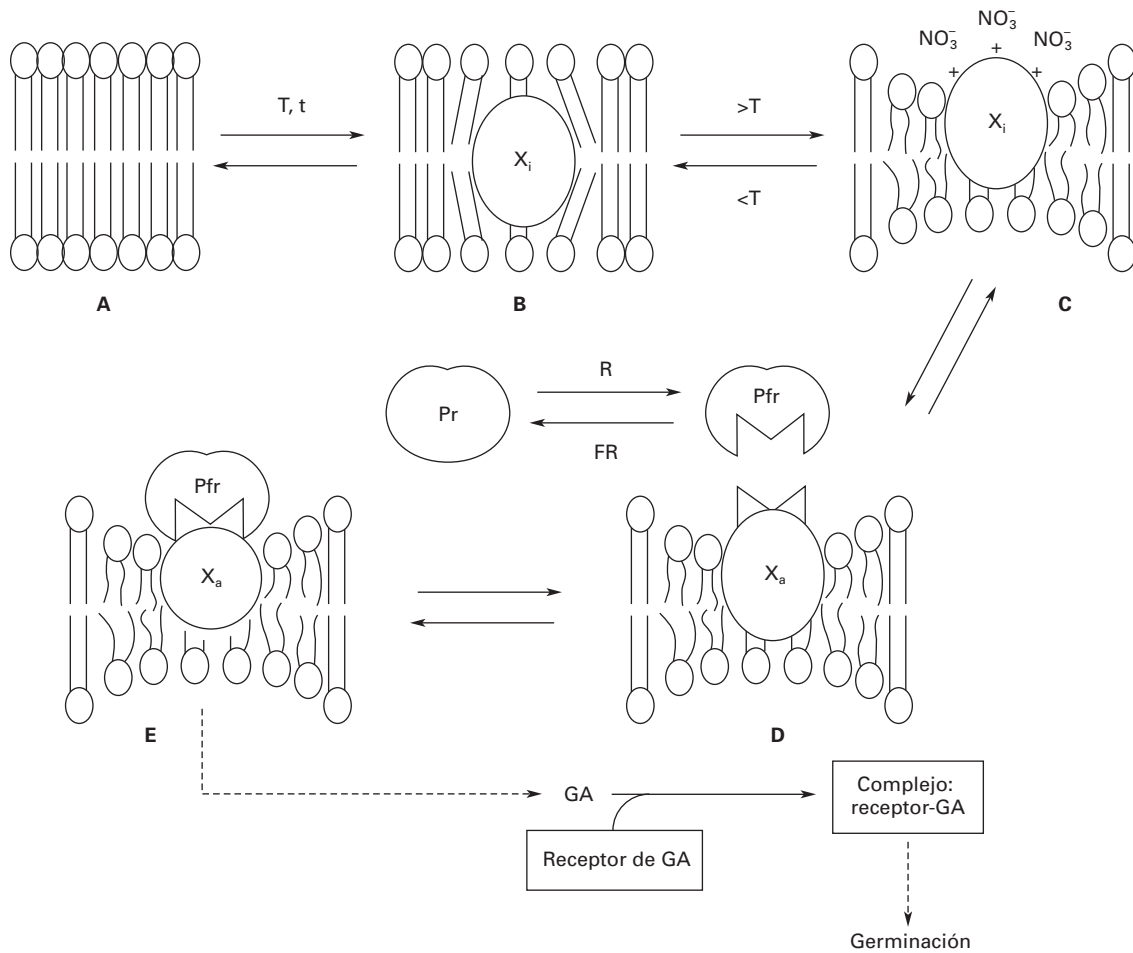


Figura 27-8. Modelo para aliviar e inducir la dormición y estimular la germinación en semillas que requieren luz. En la semilla durmiente no existe el receptor (X) del fitocromo (**A**). En respuesta a la temperatura (T) y al tiempo (t), se sintetiza un precursor (X_i) activo que alivia la dormición (**B**). Bajo condiciones óptimas de temperatura se provoca un movimiento de X_i debido a un cambio en la fluidez de la membrana (**C**), pudiendo ahora X_i ser accesible a diversos cofactores como el NO_3^- (**D**) y transformarse en receptor del fitocromo activado (X_a). Esta forma activada se puede unir a Pfr (**E**) e iniciar la cadena de transducción de la señal, la síntesis de GA y, finalmente, la germinación. R: luz roja; FR: luz roja lejana. (Adaptado de Hilshorst, 1998.)

requisito imprescindible para la germinación que se vence esta barrera mediante la disminución de la resistencia de la zona micropilar del endospermo (Fig. 27-9). **Este «ablandamiento» lo promueven las GAs y lo inhibe el ABA.** Sin embargo, actualmente no está claro si el «ablandamiento» es específico de las semillas con DFNP o si es la pauta general de la germinación. Existen semillas de gimnospermas en las que el «ablandamiento» está perfectamente separado en semillas con DF de las carentes de ella. Resultados recientes en semillas de *Fraxinus excelsior* parecen demostrar que este «ablandamiento» micropilar es un proceso exclusivo de las semillas con DFNP y que es bifásico: **la primera fase es insensible al ABA y la segunda lo inhibe.** Tomando en su conjunto los datos existentes hasta la fecha, podemos decir que el control de la germinación por la cubierta seminal y el endospermo se efectúa mediante la intervención de varias enzimas relacionadas con la hidrólisis de componentes es-

tructurales de la pared celular (p. ej., endo- β -1,4-mananasas y endo- β -1,3-glucanasas). Las β -1,3-glucanasas regulan el movimiento simplástico de ciertos compuestos (p. ej., GAs) mediante un **control de la deposición de la calosa** (β -1,3-glucano) en la luz del plasmodesmo. Así, **la dormición se relaciona con la acumulación de calosa**, mientras que las GAs provocan su degradación «vía β -1,3-glucanasas», la pérdida de la dormición y la posterior germinación de la semilla. La inducción por ABA de la inhibición de la expresión de la β -1,3-glucanasa en la zona micropilar del endospermo es un hecho constatado en las semillas de solanáceas (p. ej., *N. tabacum*) y cucurbitáceas (p. ej., *Cucumis melo*). Experimentos recientes en semillas de tomate hacen suponer que la β -1,3-glucanasa facilita el «ablandamiento» del endospermo mediante la rotura de la adhesión intercelular y provocando su separación. Todos los datos existentes se han obtenido mayoritariamente de semillas endospermicas. No

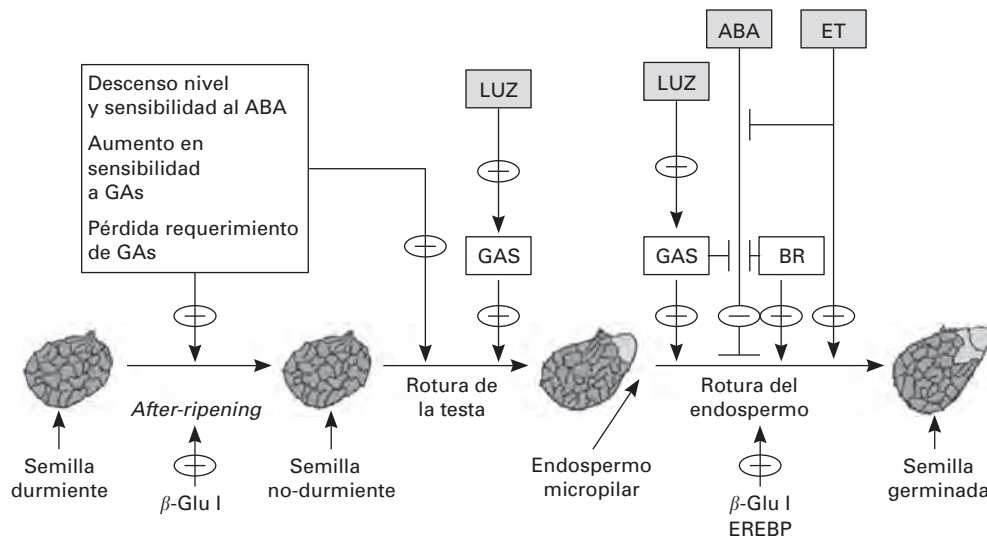


Figura 27-9. Interacciones hormonales durante la regulación de la rotura de la dormición de semillas de *N. tabacum*. Según el esquema, el proceso germinativo consta de dos pasos: rotura de la testa seguida por la rotura del endospermo. La pérdida de la dormición y la promoción de la germinación tiene lugar durante el after-ripening (almacenamiento a temperatura ambiente varios meses) o, alternativamente, mediante una interacción luz-GAs durante la imbibición. El ABA inhibe la degradación del endospermo, pero no la de la testa. GAs, etileno (ET) y brasinoesteroides (BR) promueven (+) la rotura del endospermo y contrarrestan los efectos inhibitorios (-) del ABA. Los genes de la familia β -1,3-glucanasa (β -Glu I), inhibidos por el ABA, son inducidos transcripcionalmente en el endospermo micropilar coincidente con la zona por la que va a producirse la salida de la radícula. La luz, las GAs y el ET promueven esta actividad transcripcional y la rotura del endospermo; mientras que el ABA, osmóticos y la oscuridad la inhiben. (Cortesía del Dr. G. Leubner-Metzger.)

obstante, el «ablandamiento» de la estrecha capa celular que constituye el endospermo en las Brassicáceas (semillas sin apenas endospermo y con cotiledones desarrollados) se ha demostrado recientemente, lo que confirma que ese endospermo tan incipiente también participa en el proceso de dormición. Sin embargo, parece que el **ABA solamente inhibe el «ablandamiento» del endospermo, y no el de la cubierta seminal.**

3. LA GERMINACIÓN DE LAS SEMILLAS

La germinación es el proceso que se inicia con la toma de agua por la semilla seca (**imbibición**) y termina cuando una parte de ésta (eje embrionario en dicotiledóneas o radícula en monocotiledóneas y gimnospermas) atraviesa las estructuras envolventes que la rodean (**emergencia**). En el caso de las semillas endospermicas (como las de las gramíneas), la resistencia que oponen estas estructuras (testa y endospermo) al embrión es tan grande que para que se produzca la emergencia es necesaria la degradación enzimática de varias zonas de dichas estructuras.

3.1. El agua de imbibición reactiva inmediatamente la actividad metabólica

La **toma de agua** por una semilla madura es trifásica: toma rápida inicial, fase de meseta (ψ entre 1 a 1.5 MPa) y nuevo

incremento en la absorción de agua, que se corresponde con el período de elongación del embrión o de la radícula. La duración de cada fase dependerá de las características de la semilla (tamaño, contenido de sustratos hidratables, permeabilidad de la cubierta seminal, toma de O_2 , etc.) y de las condiciones externas en las que se produce la imbibición (temperatura, composición del sustrato del suelo, contenido de humedad). Por razones no aclaradas todavía, las semillas que están en estado de dormición sólo atraviesan las dos primeras fases. Una semilla seca (5-10% de contenido en agua) tiene un ψ muy negativo (aproximadamente, 100 MPa), por lo que tiende a imbibirse muy deprisa (fase inicial), independientemente de que la semilla esté durmiente o sea viable. Esta fase tan rápida de absorción de agua provoca alteraciones temporales en la permeabilidad diferencial de las membranas de la semilla y, por consiguiente, una pérdida al medio circundante de solutos y diferentes metabolitos de bajo peso molecular (azúcares, ácidos orgánicos, iones, aminoácidos, péptidos, etc.). La pérdida de los inhibidores de la germinación (p. ej., los fenoles) y el ABA también tiene lugar en esta fase de hidratación. Estas pérdidas pasivas de compuestos son un reflejo de la transformación de los componentes fosfolipídicos de las membranas desde una fase de gel (adquirida en la última etapa de la embriogénesis) a una fase de cristal-líquido hidratado provocada por el agua de imbibición. Esa transición puede ser retrasada o inhibida por la presencia de azúcares (sacarosa, oligosacáridos de la serie rafinosa y estaquiosa) o proteínas (como, por ejemplo, proteínas LEA). El hecho demuestra que, durante el proceso

embriogénico de la semilla, los azúcares y las proteínas LEA implicados en la preservación de las membranas durante la masiva pérdida de agua se sintetizan antes de que se inicie la desecación. Concluida la fase inicial de imbibición, las membranas recobran su configuración más estable y se reduce la pérdida de solutos; sin embargo, no se conoce el mecanismo por el cual las membranas son reparadas una vez finalizada esta toma de agua tan brusca.

A los pocos instantes de iniciarse la imbibición de la semilla viable, su **actividad metabólica** se reanuda. Se asume que las estructuras y las enzimas necesarias para tal fin deben estar presentes en la semilla seca; por consiguiente, han permanecido protegidas a lo largo de la desecación de ésta. Uno de los aspectos más importantes del metabolismo al inicio de la imbibición es la producción de ATP y la actividad respiratoria, la cual se detecta en pocos minutos. En esta fase algunas semillas producen etanol, a causa del déficit de O_2 ocasionado por la falta de acceso de éste desde el exterior, debido a la impermeabilidad de la cubierta seminal al O_2 . Esta deficiencia interna de O_2 puede provocar más síntesis que utilización de piruvato. Asimismo, en esta fase de imbibición tiene gran importancia el ciclo de las pentosas-fosfato y la glicólisis. Las mitocondrias de las semillas secas están muy poco diferenciadas debido al proceso de desecación, pero contienen suficientes enzimas del ciclo de Krebs, así como oxidasas terminales, para producir ATP. Las semillas que almacenan almidón en sus cotiledones son capaces de reparar y activar las mitocondrias existentes en la semilla seca. En cambio, las semillas que almacenan lípidos producen nuevas mitocondrias. Así pues, durante los primeros instantes de la imbibición la respiración de la semilla es fundamentalmente anaerobia, y se transforma en aerobia a medida que la radícula o el eje embrionario atraviesan los tejidos envolventes y la cubierta seminal. Algunas semillas son capaces de germinar en ambientes encharcados con escasez de O_2 (p. ej., la del arroz). En estas semillas la actividad de la alcohol deshidrogenasa y de la lactato deshidrogenasa es muy intensa, **enzimas implicadas en la fermentación del piruvato** producido durante la glicólisis del etanol o el lactato, respectivamente. El crecimiento de la plántula en condiciones anaeróbicas se lleva a cabo mediante el aporte de O_2 desde la parte aérea a través de tejidos especiales (como el **aerénquima**).

La síntesis de DNA, preferentemente mitocondrial, tiene lugar durante el período de imbibición. También se han descrito procesos de reparación del DNA dañado a consecuencia de la desecación y la rehidratación de la semilla. Por otra parte, todos los componentes (excepto los polisomas, necesarios para la iniciación de la síntesis de proteínas que se produce al iniciarse la toma de agua) están presentes en la semilla seca viable. A los pocos minutos de comenzar la imbibición, empieza la desaparición de los ribosomas libres, porque éstos se integran en el complejo ternario de iniciación de la síntesis proteica. Ello significa que la **proteínosíntesis** inicial se efectúa sobre los ribosomas «almacenados» en la semilla seca. Pasado un tiempo, la síntesis de nuevos ribosomas se reanuda. Por otra parte, la formación de po-

lisomas en los primeros instantes de la imbibición no es inhibida por los inhibidores de la transcripción. Quiere ello decir que existe una población de mRNA «almacenados» en la semilla seca (p. ej., mRNA de actina, tubulina y calmodulina) capacitados para formar polisomas. Estos mRNA, en forma de ribonucleoproteínas en el citoplasma o protegidos en el núcleo, permanecen en la semilla seca desde la última fase de la embriogénesis. Algunos mRNA «almacenados» y no protegidos (como los LEA y los *heat shock proteins*) son rápidamente degradados al inicio de la imbibición. Otros sirven para codificar proteínas cuya función en el proceso germinativo, si la tienen, todavía está por ser dilucidada. Sea como fuere, en el proceso de imbibición la transcripción del mRNA se produce bastante rápidamente. Resumiendo, podemos dividir en dos grupos los genes expresados en el período de imbibición de las semillas viables: 1) los que codifican enzimas y otras proteínas necesarias para la actividad metabólica celular básica (p. ej., respiración, síntesis de ácidos nucleicos y proteínas, síntesis de membranas) y que están incluidas como proteínas de *housekeeping*, y 2) los que pueden estar implicados en procesos específicos de la germinación. Finalmente, la hidratación de la semilla provoca la hidrólisis de algunas formas «conjugadas» de fitohormonas y su transformación en «libres». Con éstas y con las de nueva síntesis se inicia la acción hormonal del programa de desarrollo que conduce a la germinación de la semilla.

3.2. Con la emergencia radicular finaliza la germinación y se inicia el crecimiento de la plántula

Se conoce como **emergencia radicular** el proceso por el cual la radícula o el eje embrionario atraviesan los tejidos envolventes y pasan de un metabolismo preferentemente anaerobio a otro típicamente aerobio. La emergencia marca el fin de la germinación y el comienzo del crecimiento de la plántula. Este proceso lo conduce básicamente la elongación celular, y puede estar acompañado de actividad mitótica. A excepción de los embriones inmaduros, la división celular no parece relacionada con la emergencia ni es necesaria para que se produzca. Al igual que el crecimiento por elongación en otros tejidos, el crecimiento radicular (proceso que provoca la emergencia) deberá estar desencadenado por un **«ablandamiento» de la pared celular** y la acción posterior de la **presión de turgencia** de las células localizadas en la región subapical (zona de elongación). La señal que induce el inicio de la elongación y el mecanismo íntimo de ésta no se conoce; sin embargo, existen tres posibilidades: 1) acumulación de solutos osmóticos para provocar el incremento de la presión de turgencia; 2) aumento en la extensibilidad de las paredes celulares, previo al inicio de la elongación, y 3) acción conjunta de los procesos de elongación de la radícula y relajación de los tejidos que la rodean (hidrólisis de los componentes polisacáridos de la pared celular). En cuanto a la primera posibilidad, todavía no hay pruebas generalizables de la existencia de una variación en el potencial

osmótico de la zona subapical durante la germinación. En relación con el incremento en la extensibilidad de la pared celular, y en función de lo que se conoce sobre la bioquímica de su extensión, pueden estar implicados el xiloglucano (y, por ende, la actividad xiloglucano endotransglucosilasa, XET), así como las expansinas (que rompen los puentes hidrógeno que unen ciertos polímeros de la pared). Sin embargo, hasta ahora no se ha encontrado ninguna de estas dos proteínas en las semillas en germinación. Además, ambas están estimuladas por el AIA, fitohormona que no está implicada en la promoción de la germinación. Por último, la tercera posibilidad está directamente relacionada con aquellas semillas que tienen la radícula comprimida por los tejidos que la rodean (endospermo, perispermo o megagametofito de las gimnospermas). Existen varias enzimas relacionadas con esta relajación: **endo- β -mananasa**, **β -manosidasa**, **celulasa** y **$\beta_{1,3}$ -glucanasa**. La emergencia radicular es inhibida por el ABA y otros compuestos (como los ácidos cumárico y *trans*-cinámico, entre otros compuestos fenólicos). Aunque el mecanismo inhibitorio del ABA es desconocido, se barajan dos posibilidades: 1) que dificulte el «ablandamiento» de la pared celular de la radícula, y 2) que altere el gradiente de ψ entre el medio y la propia semilla.

3.3. En la degradación de las sustancias de reserva están implicadas amilasas, peptidasas, lipasas, fitasas y fosfatasa

Tal como se describió en el apartado 1.2, durante el desarrollo de las semillas tiene lugar el almacenamiento de una serie de materiales de reserva en los cotiledones y el endospermo. Estas sustancias tienen la misión de alimentar a la plántula hasta que ésta adquiera competencia fotosintética y se convierta en un organismo autótrofo. Para que las sustancias de reserva puedan entrar a formar parte de este metabolismo heterotrófico de la plántula es necesaria una **hidrólisis previa** de las mismas; de este modo dichas sus-

tancias podrán ser conducidas desde los órganos de reserva a estos órganos en crecimiento activo, a través de las rutas celulares correspondientes.

La mayor parte de los trabajos sobre movilización de las sustancias de reserva se han llevado a cabo en monocotiledóneas, y en particular en gramíneas. En estas semillas, el proceso está controlado por el embrión, ya que su ausencia impide la degradación del endospermo. Sin embargo, en ausencia del embrión podemos inducir la hidrólisis añadiendo GA_3 al medio, lo que demuestra que las GAs sintetizadas en el escutelo de ese órgano son las encargadas de inducir y controlar hormonalmente la hidrólisis (véase el Capítulo 20). No es necesaria la síntesis *de novo* de las GAs a partir del *ent*-kaureno. La actividad hidrolítica comienza en el **escutelo** (origen embrionario), el cual está rodeado por células aleuronares como el endospermo, y continúa después en el propio endospermo. Las «**células diana**» de las GAs son las células aleuronares (origen endospermico) a las que accede esta fitohormona procedente del embrión. En las células de los tejidos aleuronares existen los llamados **granos de aleurona** (cuerpos proteicos que contienen fitato cálcico y magnésico), gotas de lípidos y poco almidón. Tanto el escutelo como las células aleuronares pueden sintetizar enzimas hidrolíticas para degradar el almidón, pero su contribución a esta degradación no se conoce. Es posible que el escutelo realice su función al inicio del proceso germinativo. Las GAs inducen la síntesis y la posterior secreción hacia el endospermo de la α -amilasa para iniciar la degradación del almidón; esta acción es inhibida por el ABA. Además de la α -amilasa, las GAs están implicadas en la síntesis de otras enzimas hidrolíticas (Cuadro 27-2). Se puede decir que todos **los genes activados por las GAs son susceptibles de ser inhibidos por el ABA**. Por el contrario, genes inhibidos por las GAs (p. ej., la alcohol deshidrogenasa o el inhibidor de la α -amilasa) son activados por el ABA. La α -amilasa (1 Ca^{+2} /molécula) constituye aproximadamente el 70% de las proteínas aleuronares, y su mRNA el 15% de los «mensajeros» presentes. Esta enzima es sintetizada *de novo* en su

CUADRO 27-2. Algunas enzimas inducidas por GAs en células aleuronales.

Función	Enzima	Síntesis	Secretada
Hidrólisis de almidón	α -amilasas	<i>de novo</i>	sí
	β -amilasas	–	–
	α -glucosidasas	<i>de novo</i>	sí
Hidrólisis de lípidos	malato sintetasa	–	no
	isocitrato liasa	–	no
Hidrólisis de proteínas	carboxipeptidasas	–	sí
	cisteína proteinasas	<i>de novo</i>	sí
Hidrólisis de ácidos nucleicos	RNasas	<i>de novo</i>	sí
Degradación de la pared celular	arabinasas	<i>de novo</i>	sí
	xilanasas	–	sí
Metabolismo del fósforo	(1-3, 1,4)- β -glucanasa	<i>de novo</i>	sí
	fosfatasa	–	sí

totalidad, y su mecanismo de secreción está muy conservado en la escala evolutiva. Las GAs están implicadas en el mantenimiento de la maquinaria de secreción enzimática de las células aleuronares mediante una elevación de los niveles de Ca^{2+} «libre» intracelular, que es necesario para el proceso de exocitosis. Este proceso también es impedido por el ABA mediante un mecanismo desconocido. Por otra parte, la mayoría de las enzimas que hidrolizan el almidón y las proteínas en el endospermo de los cereales tienen un pH ácido. El pH del endospermo también es ácido durante la imbibición de la semilla, debido a la alta concentración de **ácido málico**; sin embargo, aunque el contenido de ácido málico desciende con la germinación, el pH se mantiene ácido porque las GAs provocan la entrada de ácido fosfórico y cítrico desde las capas aleuronares.

En algunas semillas, la movilización de las **reservas de fosfato** tiene gran trascendencia, ya que la fitina o el fitato son una fuente importante no sólo de fosfato, sino también de macronutrientes. La **fitasa**, abundante en las células aleuronares de semillas secas en cantidad suficiente como para hidrolizar la totalidad de reserva de fitina o fitato, produce cationes, fosfato y *mioinositol*, un precursor de algunos componentes estructurales de la pared celular primaria. En algunas gramíneas, la fitina, localizada fundamentalmente en las capas de aleurona, almacena más del 50% del fósforo total de la semilla. Este sustrato es hidrolizado de forma paralela al crecimiento del embrión, al que es transportado el fosfato producido. No se ha demostrado la presencia de fitina en el embrión. En las semillas de leguminosas se produce un patrón de comportamiento similar al de las semillas de cereales, aunque en aquéllas la **actividad fosfatasa** colabora con la fitasa (que es muy escasa en la semilla seca) para producir fosfato a partir de compuestos fosforilados. Tanto en las monocotiledóneas como en las dicotiledóneas, es muy probable que el embrión y el eje embrionario desencadenen la hidrólisis de las reservas fosforiladas.

En cuanto a las proteínas de reserva, en las semillas de monocotiledóneas también se inicia la **proteólisis** por las células aleuronares. Estas células pueden liberar enzimas proteolíticas (endo y exopeptidasas) al endospermo, alguna de las cuales es inducida por las GAs (Cuadro 27-2); sin embargo, otras son enzimas sintetizadas en la embriogénesis y almacenadas en la semilla seca de forma que no se produzca la degradación de las proteínas solubles, sus más que probables sustratos. Estas enzimas no son inducidas por las GAs. En semillas no endospermicas, las enzimas que degradan las reservas son producidas por las células en las que se localizan las reservas (p. ej., los cotiledones). La actividad enzimática de las **endopeptidasas y las exopeptidasas** (carboxi y aminopeptidasas, preferentemente) aumenta a medida que progresa la imbibición. En algunos casos, todavía se incrementan una vez finalizada la germinación; sin embargo, no está claro por qué la actividad de alguna de estas enzimas disminuye a las pocas horas de iniciarse la imbibición, cuando todavía existe una gran concentración de proteínas de reserva en los cotiledones. Tal vez los aminoácidos producidos provoquen un *feedback* (retroalimentación) negativo,

lo que explicaría ese comportamiento. Este *feedback* negativo sobre el control de la expresión de genes pertenecientes a enzimas hidrolíticas se ha demostrado en la sacarosa y la glucosa (Fig. 27-10). Existe actividad proteolítica generada por la síntesis *de novo* y la activación de proteasas almacenadas en semillas secas. En algunos casos, la movilización de las sustancias de reserva es controlada por el eje embrionario, de manera similar a lo que ocurre en las gramíneas, pero existen semillas en las que el cotiledón es un órgano autónomo en el control de su degradación. Tal es el caso de los cotiledones ricos en almidón, el cual se degrada por la α -amilasa controlada por el propio órgano de reserva.

Respecto a la **degradación de las sustancias de reserva** lipídicas (que se almacenan en forma de gotas en el interior de los orgánulos próximos a los glioxisomas), durante la germinación de las semillas de angiospermas se producen ácidos grasos y glicerol a partir de triacilgliceroles (Fig. 27-10). Los ácidos grasos se transportan al glioxisoma para ser hidrolizados, mediante β -oxidación, a acetyl-CoA, el cual ingresa en el ciclo del glioxilato (la malato sintetasa y la isocitrato liasa son las enzimas más importantes implicadas en la transformación del glioxilato) y, posteriormente, se producen azúcares en el citoplasma. De forma similar se degradan los lípidos de reserva en las gimnospermas, en donde también se han detectado lipasas y glioxisomas. El control de la degradación de los lípidos de reserva por el eje embrionario o por el embrión no se ha demostrado.

3.4. GAs, ABA y etileno tienen un papel activo en la regulación hormonal de la germinación

Las GAs desempeñan un papel muy importante en la germinación de las semillas de cereales mediante la inducción de la síntesis de α -amilasa y su posterior secreción desde las capas aleuronares al endospermo (véase el apartado 3.3). Este proceso es inhibido por el ABA (véase el Capítulo 22). El balance entre GAs y ABA, así como la sensibilidad a ambas fitohormonas, son dos aspectos que hemos de tener muy presentes al estudiar el control de la germinación. Algunas pruebas experimentales provienen del empleo de mutantes. Así, 1) las mutaciones *sitiens*, *aba* y *rdo* (que tienen disminuida la síntesis de ABA en las semillas) necesitan niveles de GAs más bajos para germinar que las semillas «salvajes»; 2) las mutaciones *ga1* o *gib1* (con síntesis de GAs disminuida en la semilla) necesitan estas fitohormonas para germinar; 3) las semillas con mutaciones que las insensibilizan el ABA necesitan niveles altos de éste y apenas necesitan GAs para germinar; y 4) las mutaciones insensibles a GAs (como las *gay* y *spy* en *Arabidopsis*) precisan niveles de ABA menores que las semillas «salvajes» para que la germinación se inhiba. No obstante, estos experimentos solamente se han llevado a cabo con semillas de tomate y *Arabidopsis*. Las GAs también pueden controlar la germinación induciendo la síntesis de enzimas que hidrolizan los galactomananos (β -endomananasas), componentes estructurales de la pared celular de

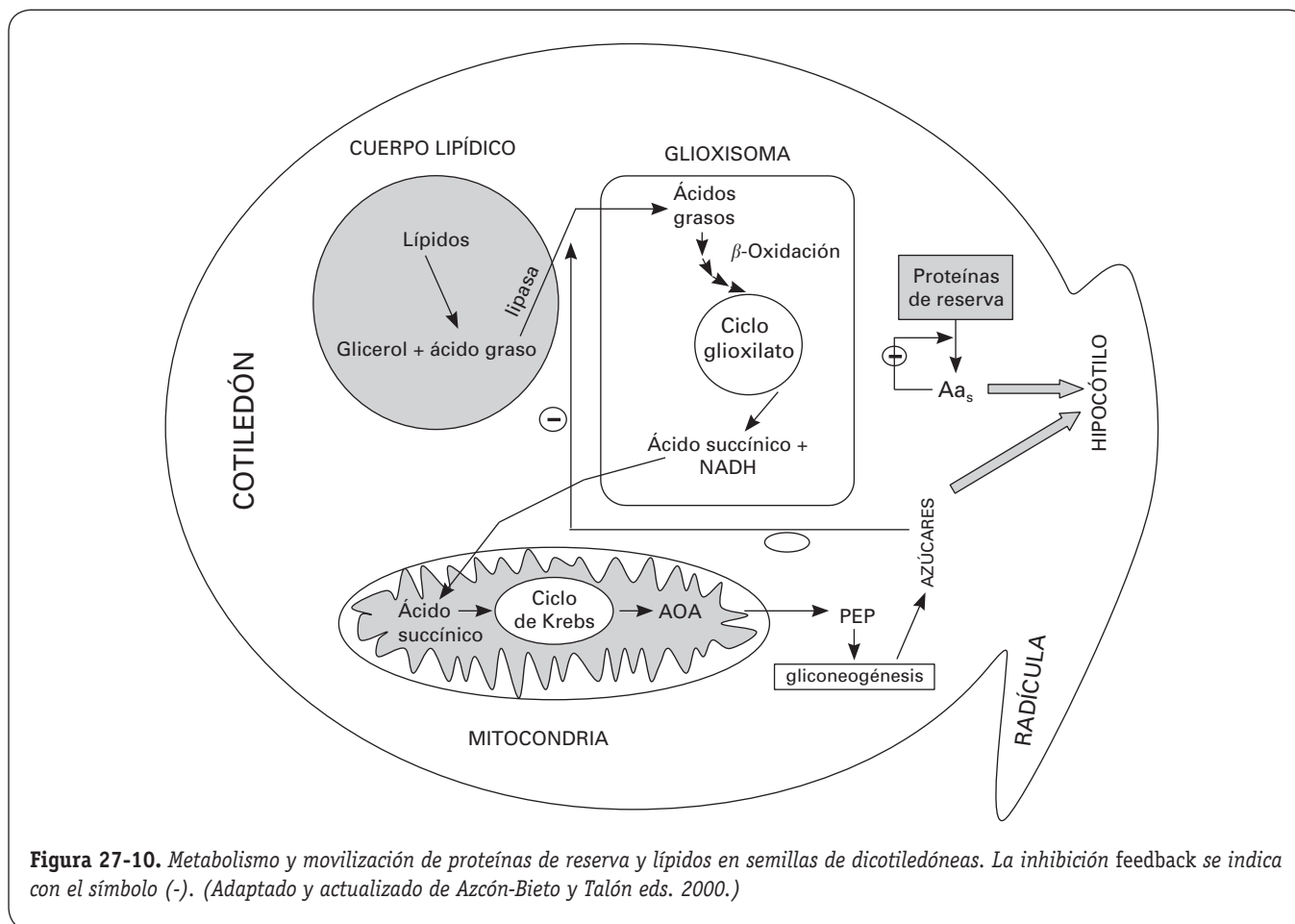


Figura 27-10. Metabolismo y movilización de proteínas de reserva y lípidos en semillas de dicotiledóneas. La inhibición feedback se indica con el símbolo (-). (Adaptado y actualizado de Azcón-Bieto y Talón eds. 2000.)

los tejidos envolventes del embrión (zona del endospermo que rodea el extremo de la radícula). En las semillas de tomates deficientes en GAs, solamente se induce el aumento de esta enzima después de un aporte exógeno de GAs; esta inducción se inhibe con ABA. Estudios recientes han demostrado que una isoforma de β -endo-mananasa inducida por GAs no es inhibida por el ABA, mientras que otros miembros de esta familia de enzimas se expresan en el endospermo en fases posteriores a la emergencia radicular. Todo ello apunta nuevamente a un control muy estricto de la acción hormonal por parte del programa de desarrollo de la especie en cuestión.

En la última década se han estudiado en profundidad las implicaciones del etileno en el proceso germinativo de las semillas (Matilla, *Seed Science Research*, 10:111-126, 2000).

En muchas de ellas, el etileno estimuló la germinación, tanto en semillas durmientes como en no durmientes. En cambio, en otras semillas el etileno no tuvo efectos sobre la emergencia radicular o fue un inhibidor. También se ha observado la capacidad del etileno para revertir la inhibición de la germinación provocada por el ABA y ciertos tipos de estrés (como el osmótico y el térmico). La retirada del etileno de la atmósfera que rodea a alguna semilla inmersa en un medio apto para germinar provoca la inhibición de la emergencia radicular, lo que parece indicar que este gas es un estimulador endógeno de la germinación. En las semillas

de *Cicer arietinum* (leguminosa) y *Brassica rapa* (crucífera) se ha demostrado que la producción de etileno y la expresión y actividad de la ACC-oxidasa están reguladas espacial y temporalmente durante el desarrollo y la germinación (Fig. 27-11). Sin embargo, algunos autores siguen opinando que el etileno es una consecuencia del proceso germinativo, más que una condición necesaria para que éste tenga lugar. Pese a que los conocimientos sobre el papel del etileno durante el desarrollo y la germinación de semillas son todavía muy fragmentarios, la existencia de mutantes ha permitido empezar a comprenderlo. La mutación *etr1-1* insensibiliza las semillas de *Arabidopsis* respecto al etileno e incrementa su sensibilidad al ABA, mientras que la mutación *ein2* produce semillas con gran sensibilidad al ABA y muy poca al ET. Consecuentemente, las rutas de señalización del etileno y el ABA parecen muy relacionadas. Los resultados con éstas y otras mutaciones indican que la dormición de semillas en *Arabidopsis* está regulada negativamente por el etileno endógeno, hecho éste que se suponía, pero que no pudo ser demostrado hasta que se obtuvieron los mutantes adecuados. En definitiva, el etileno contrarresta el efecto del ABA mediante una disminución de la sensibilidad de la semilla al ABA endógeno. Los escasos datos existentes hasta la fecha indican que el etileno, por sí solo, no es capaz de regular positivamente la germinación de semillas, y que en algún

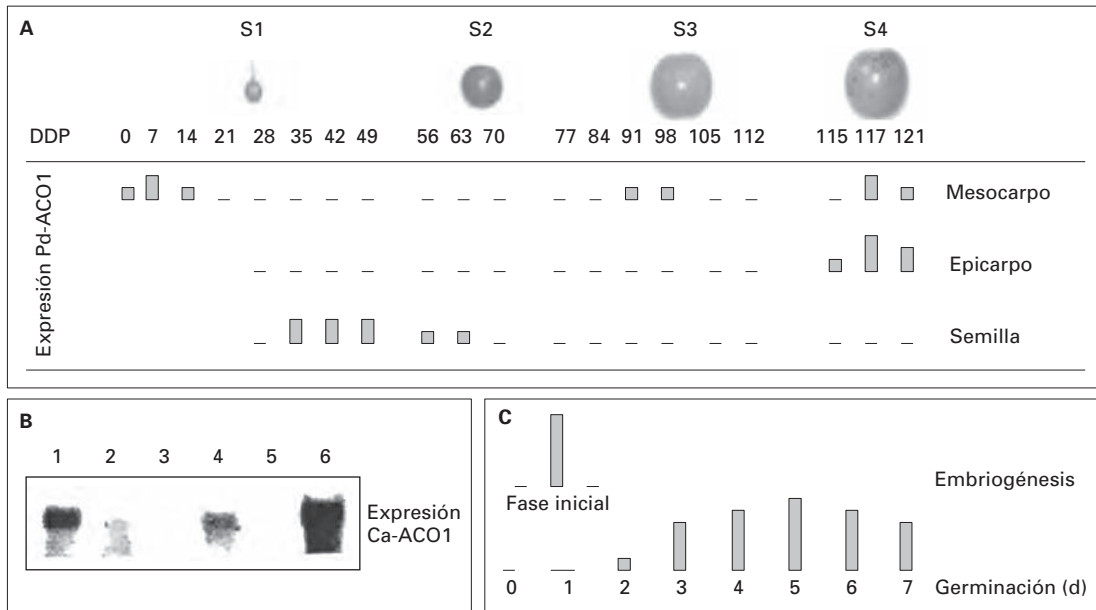


Figura 27-11. Expresión génica de la ACC-oxidasa (ACO1) durante la embriogénesis y la germinación de semillas de *Prunus domestica* (mirabel; rosácea) (A), *Cicer arietinum* (leguminosa) (B) y *Brassica rapa* (crucífera) (C). El panel A refleja el estudio comparativo durante la embriogénesis de la expresión Pd-ACO1 entre las semillas y otros órganos del fruto. El panel B indica la expresión de Ca-ACO1 durante la embriogénesis (1,2), la desecación (3,4) y la germinación (5,6) de semillas de garbanzo (los números impares corresponden al cotiledón, y los pares al eje embrionario). En el panel C se indica la expresión de BrACO1 durante la embriogénesis y la germinación de semillas de nabiza. DDP: días después de la polinización. (Adaptado de Aust. J. Plant Physiol. (1998), 25, 765; Physiol. Plant (2004), 121, 132; Plant Sci (2007), 171, 74.)

momento del proceso inductor parece necesaria una interacción entre las rutas de señalización del ABA y el etileno. Recientemente se han conocido una serie de datos que sugieren que la señalización del etileno regula el metabolismo de otras fitohormonas o está muy relacionada con dicho metabolismo. Así, las variaciones en los niveles hormonales

durante la germinación de semillas de *Arabidopsis* obtenidas del mutante *etr1-2* (dominante insensible al etileno con un alto nivel de dormición) sugieren que estas semillas requieren niveles mayores de GAs que las semillas «salvajes» para promover la emergencia radicular en ausencia de señalización de etileno.



RESUMEN

- La semilla es el órgano que permite la dispersión, propagación y perpetuación de las plantas espermatofitas. Se admite que aproximadamente el 97% de las plantas que pueblan la superficie terrestre son espermatofitas.
- La estructura de la semilla y su fisiología están adaptadas para actuar como una unidad de dispersión. La semilla posee reservas que alimentarán a la nueva plántula hasta que ésta pueda establecerse como un organismo fotosintéticamente competente, autótrofo.
- La aparición de la semilla en el ciclo vital de las plantas superiores constituyó un proceso de adaptación único, ya que mediante ella se asegura que la planta madre sobreviva en la generación siguiente, aún en condiciones ambientales adversas. En la semilla se reflejan, por tanto, todos los procesos adaptativos de la planta progenitora.
- Una vez que la semilla se ha formado mediante la embriogénesis, paraliza su desarrollo durante un período de tiempo, acumula sustancias nutritivas en los órganos de reserva y, finalmente, se deseca, dispersa y, cuando las condiciones del medio son favorables para germinar, inicia la regeneración de la planta madre.
- En este estado de desecación, la semilla puede adquirir diferentes formas de dormición, un proceso de enorme importancia en la supervivencia. Durante este período de dormición, la semilla mantiene su viabilidad a costa de una actividad metabólica basal.

RESUMEN (Cont.)



- El ABA es el factor hormonal inductor de la dormición. Sin embargo, las características genéticas de la semilla, el programa de desarrollo y una serie de factores medioambientales inducen el grado y la intensidad de la dormición.
- Hasta ahora no se ha logrado aislar y caracterizar a nivel fisiológico y molecular ningún gen que tenga una relación directa con la dormición. Las GAs, las temperaturas bajas o la absorción de luz roja «*vía fitocromo*» son algunos de los factores implicados, individual o conjuntamente, en la pérdida de la dormición primaria. Es posible que la interacción de la señalización del ABA y las GAs sea un mecanismo importante en la ruptura de la dormición.
- Las etapas que tienen lugar en la germinación de una semilla implican una regulación temporal y espacial del crecimiento y desarrollo de las células y de los tejidos que la forman. Durante la germinación se reactiva la proteínosíntesis y otros procesos metabólicos, las membranas vuelven a adquirir su permeabilidad diferencial y el DNA es reparado para reanudar sus funciones génicas.
- La emergencia de la radícula es una consecuencia de la elongación, y no de la mitosis, y se lleva a cabo porque los tejidos que la rodean sufren un proceso de «ablandamiento» provocado por el desmantelamiento de la estructura de la pared celular.
- Los niveles, la sensibilidad tisular y la señalización de varias fitohormonas cambian drásticamente durante estos procesos secuenciales, de lo que se deduce que están relacionadas con ellos. Dos de ellas, GAs y ABA, y probablemente el etileno, tienen funciones clave en el inicio y el mantenimiento de la germinación. Sin embargo, el mecanismo por el que las fitohormonas controlan la germinación está lejos de conocerse con detalle.
- En este capítulo se ofrece una visión fisiológica y molecular de las características y el funcionamiento de la semilla, así como de los acontecimientos que tienen lugar durante su desarrollo y de las alteraciones que necesita para adquirir el estado de dormición y para prepararse y completar la germinación.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Ministerio de Educación y Cultura [DGICYT (CGL20004-01996)] y a la Xunta de Galicia (PGIDITO-4RAG203010PR) su subvención a la Investigación. Asimismo, quiero expresar mi agradecimiento a todos los integrantes del Grupo de Investigación que dirijo por su colaboración en la confección de varias de las figuras que aparecen en este capítulo.

PROBLEMAS Y CUESTIONES



- 1 ¿Cómo puede inhibir la cubierta seminal el proceso germinativo?
- 2 ¿Puede realizar la imbibición una semilla no viable?
- 3 ¿Cuáles son los principales efectos del agua de imbibición en la germinación de una semilla?
- 4 Diferencias entre quiescencia y dormición.
- 5 ¿Cuál es la función de las proteínas LEA en el proceso de desecación de la semilla?
- 6 ¿Hay alguna semilla que se comporte de manera vivípara en la planta madre?
- 7 ¿En qué consiste la estratificación de una semilla?
- 8 ¿Por qué en especies salvajes las semillas no maduran todas al mismo tiempo?
- 9 ¿Cuál es la ruta de «descarga» de fotoasimilados en una semilla?
- 10 ¿Cómo demostraría que el ABA y el etileno contribuyen al proceso de germinación de las semillas?
- 11 ¿Qué es un banco de semillas?



RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1 Limitando la absorción de agua y el intercambio de gases entre el embrión y el medio que rodea la semilla; puede también impedir la pérdida de compuestos inhibidores de la germinación (p. ej., ABA); si la cubierta seminal es dura, impide la emergencia a modo de barrera física.
- 2 El proceso de imbibición es físico y, por consiguiente, va a depender de la conductancia hidráulica entre la semilla en cuestión y el medio. Evidentemente, esta imbibición no provocará nunca procesos relacionados con la germinación.
- 3 Reactivar el metabolismo que estaba a un nivel basal en la semilla seca, provocar el crecimiento por elongación celular y desencadenar la emergencia radicular.
- 4 A diferencia de una semilla durmiente, la semilla quiescente puede germinar si se dan las condiciones óptimas para ello.
- 5 Proteger y estabilizar proteínas enzimáticas y estructurales, otras macromoléculas, y sistemas de membrana durante la desecación de la semilla. Así, todo este material biológico permanece preservado y dispuesto para reactivarse una vez que se inicie el proceso de imbibición.
- 6 Sí; las producidas por plantas mutantes deficitarias en ABA. También, ciertas semillas recalcitrantes que no poseen período de desecación durante su embriogénesis y, por tanto, no tienen un mecanismo de separación entre el período de formación de la semilla y su germinación.
- 7 Una semilla sometida a regímenes de frío, bien en el medio natural o en el laboratorio, durante períodos más o menos largos, se dice que está estratificada. Este tratamiento puede, en algunos casos, romper la dormición. A veces, el frío puede ser simulado con tratamientos de GAs.
- 8 Para que la perpetuación de la especie esté asegurada. La aparición de un cambio brusco en un parámetro ambiental esencial para la germinación haría peligrar la especie que dispersó todas sus semillas maduras al unísono.
- 9 No hay conexiones vasculares entre los tejidos vegetativos de una planta y los órganos de reserva de sus semillas. Quizá las haya con las cubiertas seminales. Por tanto, los fotoasimilados deben ser «descargados» en el apoplasto de la semilla sin que se produzca una hidrólisis previa. No obstante, algunas semillas eligen las «vías» convencionales existentes en las relaciones «fuente-sumidero».
- 10 Mediante el empleo de mutantes de la síntesis o señalización de estas fitohormonas.
- 11 El conjunto de semillas de diferentes especies y variedades enterradas en mayor o menor grado en un determinado suelo.



BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA

1. Azcón-Bieto J, Talón M. *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. Madrid, McGraw-Hill/Interamericana, 2000.
2. Bewley JD. Breaking down the walls: a role for endo- β -mannanase in release from seed dormancy. *Trends in Plant Science*, 1997; 2:464-469.
3. Bewley JD. Seed germination and dormancy. *Plant Cell*, 1997; 9:1055-1066.
4. Davies PJ. *Plant Hormones. Biosynthesis, Signal Transduction, Action*. Kluwer Academic Publishers, 2004.
5. Hilshorst HWM. The regulation of secondary dormancy. The membrane hypothesis revisited. *Seed Science Research*, 1998; 8:77-90.
6. Hilshorst HWM. A critical update on seed dormancy I. Primary dormancy. *Seed Science Research*, 1995; 5: 61-74.
7. Kigel J, Galili G. *Seed Development and Germination*. New York, Marcel Dekker, 1995.
8. Marion-Poll A. ABA and seed development. *Trends in Plant Scienc*, 1997; 2:447-448.
9. Matilla AJ. Ethylene in seed formation and germination. *Seed Science Research*, 2000; 10:111-126.
10. Misra S. Conifer zygotic embryogenesis, somatic embryogenesis, and seed germination: biochemical and molecular advances. *Seed Science Researc*, 1994; 4:357-384.
11. Nambara E, Marion-Poll A. Abscisic acid biosíntesis and catabolism. *Annual Review Plant Biology*, 2005; 56: 165-185.
12. Yamaguchi S, Nambara E. Seed development and germination. En: Hedden P, Thomas SG (eds). *Annual Plant Reviews*. Blackwell Publishing, 2006; 24:310-338.

Senescencia y abscisión

MIGUEL ÁNGEL QUESADA Y VICTORIANO VALPUESTA



1. Ontogenia vegetal. 2. Juvenilidad y madurez. 3. Senescencia de la planta. 4. Senescencia foliar. 5. Senescencia de flores y frutos. 6. Senescencia programada. 7. Abscisión: un tipo de separación celular muy localizada.

1. ONTOGENIA VEGETAL

El ciclo de vida de los vegetales se suele segmentar en una serie de episodios que facilitan la descripción del desarrollo de estos organismos. Por desarrollo entendemos el conjunto de procesos que contribuyen a la progresiva elaboración del cuerpo de una planta, gracias a la cual ésta realiza todas las funciones que hacen posible su existencia y reproducción. La ontogenia se puede definir como el segmento de desarrollo comprendido entre dos puntos equivalentes de un ciclo vital.

La ontogenia de las plantas superiores es muy diferente a la de los animales, ya que gran parte del desarrollo de las plantas es postembrionario, lo que está relacionado con su hábito fijo de vida autótrofa. Debido a su falta de motilidad, las plantas reaccionan ante las variaciones de un medio cambiante desarrollando nuevas estructuras funcionales, más acordes con esos nuevos ambientes a los que tienen que enfrentarse permaneciendo en la misma ubicación (véase el Capítulo 18), por ejemplo, si dos hojas de una misma planta se desarrollan en ambientes con diferente grado de iluminación, su tamaño, morfología, anatomía y composición pigmentaria y proteica serán distintos, y gracias a ello podrán responder de la mejor forma posible a la radiación que cada una recibe. Por tanto, las plantas se encuentran en un proceso de desarrollo permanente que les permite aclimatarse al ambiente en el que viven; en este sentido, presentan un fenotipo mucho más plástico que los animales. Pero la ontogenia de los organismos vegetales puede ser muy sencilla o bastante compleja. Un ejemplo del primer caso es el de algunas algas unicelulares, cuyas poblaciones

pueden mantenerse durante muchos ciclos por la multiplicación vegetativa de sus células mediante mitosis. En cambio, en el ciclo vital de muchos vegetales tiene lugar el fenómeno de la **alternancia de generaciones**, que puede tener más o menos variantes (véase el Capítulo 18).

La alternancia de generaciones, en su formulación más sencilla, se da cuando el ciclo de vida de una planta está constituido por dos generaciones con formas de reproducción distintas: el **esporofito**, que dará lugar a esporas, y el **gametofito**, a partir del cual se formarán los gametos. En principio, ambas generaciones están formadas por individuos independientes que son morfológicamente distintos. En el caso de los helechos, es frecuente que se cumplan todas las características mencionadas (Fig. 28-1). En estas plantas, las generaciones son independientes; el esporofito tiene la estructura de un cormo y algunas de sus células, por un proceso en el que interviene la meiosis, dan lugar a esporas; a partir de éstas se desarrolla el gametofito, que, en cambio, posee estructura de talo y dará lugar a los gametos. Por último, los gametos, por un proceso de fecundación, darán lugar a un cigoto, del que se desarrollará de nuevo un esporofito, cerrándose de esta manera el ciclo.

El ejemplo anterior podría dar a entender que la alternancia morfológica de generaciones está ligada a una alternancia de fases nucleares, con un número n de cromosomas para el gametofito y $2n$ para el esporofito, pero no siempre es así. Tampoco es ley general que ambas generaciones estén siempre constituidas por individuos independientes, porque, en muchos casos, la vida de una generación está íntimamente unida a la de la otra. Así, en los briofitos (musgos), el esporofito vegeta sobre el gametofito y, por el contrario,

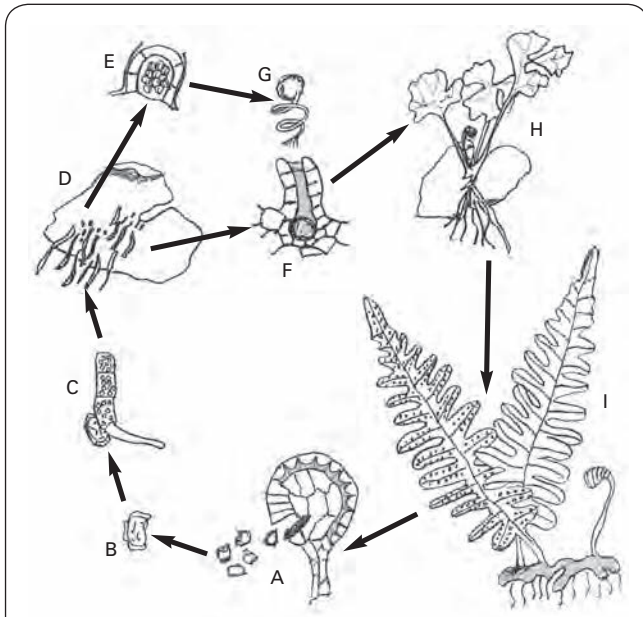


Figura 28-1. Alternancia de generaciones en helechos. En el esquema se pueden observar los estados más representativos de la ontogenia de este tipo de plantas. La dehiscencia de los esporangios (A) libera las esporas (B) que, al germinar, producen un protonema (C), que rápidamente se convertirá en un delicado y efímero prótalo con forma de corazón (D). Sobre la cara inferior de este prótalo se originan los anteridios (E) y los arquegonios (F). Un espermatozoide flagelado (G) nada desde el anteridio hasta el arquegonio y fecunda la ovocélula que, al crecer, dará lugar al esporofito (H e I), que es el helecho que solemos encontrar en el campo. Sobre las hojas de este esporofito se forman los esporangios, que suelen reunirse en grupos denominados soros, representados en la figura como puntos sobre las hojas (I).

en las plantas con semillas, conocidas como espermatofitas, los gametofitos están muy reducidos e incluidos en el esporofito. En este último caso, el gametofito femenino coincide con el contenido del saco embrionario maduro, y el gametofito masculino lo forman el grano de polen y su tubo polínico, como se detalla en el Capítulo 18.

Desde el punto de vista fisiológico, durante la ontogenia de una planta espermatofita, en la que la fase esporofítica es la dominante (Fig. 28-2), pueden distinguirse las siguientes etapas: embriogénesis, formación de semillas, germinación de semillas, desarrollo vegetativo, desarrollo reproductivo, senescencia y muerte de la planta. No obstante, a veces el desarrollo de la planta se divide simplemente en las fases o estados conocidos como **juvenil, maduro o adulto y senescente**. Este último estado es el que se estudiará en el presente capítulo, si bien antes de abordarlo nos detendremos en los dos primeros.

El hecho de que en las plantas, al igual que en los animales, exista heteromorfismo entre los estados juvenil y adulto, o sexualmente maduro, está documentado desde el siglo pasado. A continuación vamos a describir ambos estados señalando las diferencias entre ellos y comentando

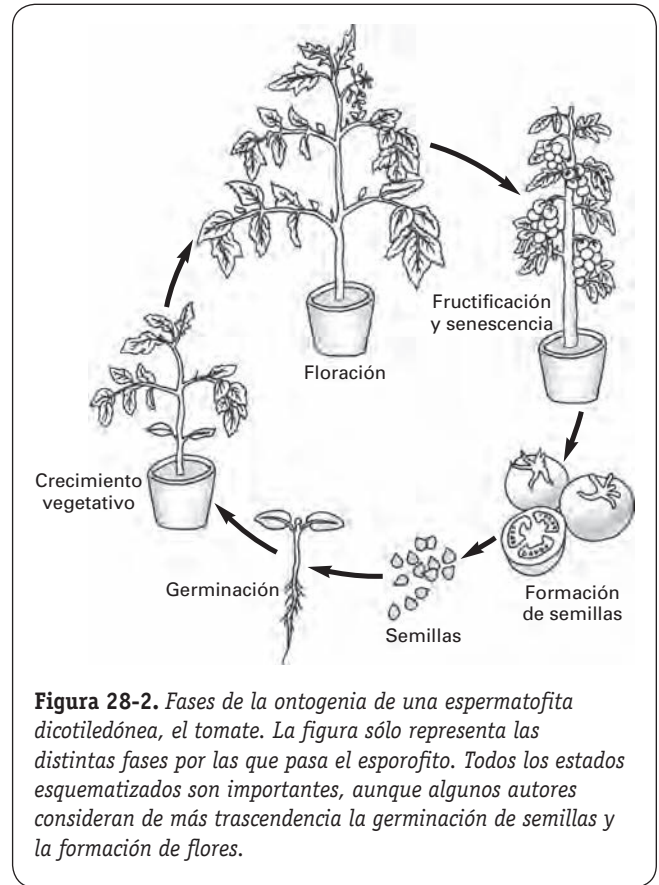


Figura 28-2. Fases de la ontogenia de una espermatofita dicotiledónea, el tomate. La figura sólo representa las distintas fases por las que pasa el esporofito. Todos los estados esquematizados son importantes, aunque algunos autores consideran de más trascendencia la germinación de semillas y la formación de flores.

brevemente algunos de los aspectos moleculares y ambientales que regulan la transición de uno a otro (para más información, véase el Capítulo 25).

2. JUVENILIDAD Y MADUREZ

2.1. La fase juvenil se caracteriza por la ausencia de crecimiento reproductivo, mientras que en la fase adulta la planta sí es capaz de florecer

La fase juvenil del desarrollo de las plantas superiores se caracteriza por la preponderancia de los procesos que tienen que ver con el crecimiento vegetativo. La fase juvenil sería el período de crecimiento y desarrollo vegetal comprendido entre la germinación y el momento en el que la planta es capaz de iniciar los procesos de tipo reproductivo. Durante esta fase no se dan dichos procesos, aunque se apliquen todas las condiciones de inducción necesarias para que se produzcan. En el Capítulo 25 ya se explicó que las plantas sólo son sensibles a las condiciones de inducción de floración una vez que han alcanzado una determinada edad o un tamaño mínimo.

El término juvenilidad designa la condición de la planta que se encuentra en estado juvenil. La duración del período juvenil es muy variable: desde unos pocos días o semanas, en las plantas herbáceas, hasta varios años en las plantas le-

ñosas (véase el Cuadro 28-1). La larga duración de esta fase en las especies leñosas es una de las razones por las que ha merecido una atención preferente, pues para la explotación agrícola es importante que la duración del período juvenil no reproductivo sea lo más corta posible.

La **fase adulta o madura** es el período en el que la planta es capaz de florecer si se dan las condiciones para ello. La madurez de una planta no viene determinada por el hecho de que haya florecido, sino porque haya florecido al recibir el estímulo adecuado. Es posible que una planta florezca anormalmente en estado juvenil como respuesta a determinados tratamientos químicos. Pero si esta capacidad de floración no se mantiene una vez desaparecido el tratamiento artificial (p. ej., en el siguiente ciclo de floración), la planta no habrá alcanzado la fase madura. Por tanto, la capacidad para florecer es una condición necesaria, pero no suficiente, para que se produzca el cambio hacia el estado adulto. Sólo si esa capacidad se mantiene sin la ayuda de ningún estímulo artificial, se puede decir que ha habido transición del estado juvenil al adulto. Esta transición se denomina **cambio de fase**. Como se explica en el Capítulo 18, el crecimiento y el desarrollo de las plantas dependen de la actividad de sus meristemos; por tanto, es evidente que el cambio de fase debe descansar en cambios en estas estructuras, así como en los componentes ambientales que interaccionen con ellas. El cambio más drástico es la transición de meristemo vegetativo a reproductivo; no obstante, también se han descrito cambios a nivel vegetativo relacionados con la transición desde el estado juvenil al adulto en la formación de las hojas, y cambios en los meristemos reproductivos relacionados con la transición desde la fase de producción de inflorescencias a la de flores.

Tanto el estado juvenil como el adulto son bastante estables. Esto quiere decir que, si se propaga un árbol vegetativamente y los esquejes provienen de una rama adulta, las copias obtenidas tendrán las características adultas. Análogo-

amente, si la planta se propaga a partir de material juvenil, los clones obtenidos serán juveniles. Lo natural es que el cambio de fase se produzca desde el estado juvenil hacia el adulto pero, excepcionalmente, se ha descrito una reversión parcial desde el estado adulto al juvenil inducida por determinados tratamientos químicos o ciertas prácticas de cultivo. Este proceso de readquisición de algunas características juveniles, como, por ejemplo, tener un crecimiento vegetativo vigoroso, recibe el nombre de **rejuvenecimiento**.

2.2. Los estados juvenil y adulto tienen otras características distintivas

Además de la capacidad o incapacidad para florecer, entre los estados juvenil y adulto existen diferencias que también es importante conocer, y que se recogen en el Cuadro 28-2. No todas las características aparecen en todos los casos pero, como se puede observar en ese cuadro, existen diferencias en la arquitectura de la planta, en su fisiología y en aspectos morfológicos muy evidentes, como la forma de las hojas (Fig. 28-3). Dos ejemplos reveladores del comportamiento diferencial en el ámbito fisiológico son el **carácter perenne o caduco de las hojas**, por un lado, y la **capacidad de enraizamiento de los esquejes**, por otro. Esta última característica también ha atraído el interés de los investigadores, ya que la propagación de árboles, que tiene una considerable importancia económica, es mucho más difícil cuando se utiliza material adulto con escasa o nula capacidad de enraizamiento que cuando se parte de material juvenil. Sin embargo, es el material adulto el que con frecuencia presenta las características de interés que determinan la necesidad de su propagación.

Como se ha indicado, no todas las características que diferencian el material juvenil del adulto aparecen en todas las especies. Además, en algunos casos pueden aparecer simultáneamente, en una misma planta, las características del estado adulto y del juvenil. Por ejemplo, las hojas de las ramas inferiores de un árbol pueden quedar retenidas durante el invierno, mientras que las de las ramas superiores caen. Esto ocurre porque las características más juveniles se mantienen en la base del árbol, mientras que las adultas se manifiestan en las ramas de la parte superior, existiendo una zona con características intermedias entre ambas partes. En estos árboles, se puede decir que existe un gradiente de madurez desde la base a la parte superior. Este hecho se relaciona con el tiempo de actividad de los meristemos, pues, en general, los meristemos de la parte superior llevan más tiempo activos y han acumulado mayor número de divisiones celulares que los que se encuentran latentes o en estado adormecido en la parte inferior de la planta.

2.3. Las hormonas regulan el cambio de fase

No existe todavía un modelo que ofrezca una visión global del papel que desempeñan los distintos reguladores del crecimiento en la estabilidad de las fases juvenil y adulta y en la transición de la primera a la segunda. Se admite que, de todos estos regu-

CUADRO 28-1. Duración de la fase juvenil de distintas especies de plantas.

Especie	Duración de la fase juvenil
<i>Pharbitis nil</i>	0
<i>Perilla crespilla</i>	1-2 meses
<i>Bryophyllum daigremontianum</i>	1-2 años
<i>Malus pumila</i>	6-8 años
<i>Citrus sinensis</i>	6-7 años
<i>Pinus sylvestris</i>	5-10 años
<i>Larix decidua</i>	10-15 años
<i>Fraxinus excelsia</i>	15-20 años
<i>Acer pseudoplatanus</i>	15-20 años
<i>Picea abies</i>	20-25 años
<i>Quercus robur</i>	25-30 años
<i>Fagus sylvatica</i>	30-40 años

(Adaptado de Metzger, 1995.)

CUADRO 28-2. Características diferenciales entre los estados juvenil y adulto de diversas especies de plantas.

Características	Fase juvenil	Fase adulta
Tipo de crecimiento	Plagiotrópico (<i>Hedera, Ficus, Metrosideros</i>)	Ortotrópico
Forma de la hoja	Palmada 3, 5 lóbulos (<i>Hedera</i>) Acicular (<i>Cupressus</i>)	Entera ovalada En forma de escama
Filotaxia	Opuesta (<i>Eucalyptus</i>) Alterna (<i>Hedera</i>)	Alterna Espiral
Pigmentación foliar debida a antocianinas	Sí (<i>Carya, Hedera, Acer</i>)	No
Presencia de espinas	Sí (<i>Robinia, Malus, Citrus</i>)	No
Ramas	Forman ángulos obtusos	Forman ángulos agudos
Caída de hojas otoñal	No ocurre (<i>Fagus, Quercus</i>)	Sí ocurre
Capacidad para enraizar de esquejes y estaquillas	Muy alta	Muy baja
Capacidad de organogénesis <i>in vitro</i>	Alta	Baja
Meristemo apical	Cúpula meristemática pequeña	Cúpula grande

(Adaptado de Bonga, J. M. 1982. «Vegetative propagation in relation to juvenility, and rejuvenation». En: *Tissue Culture in Forestry*. Bonga, J. M., Durzan, D. J. (eds.). Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, 387-412; y Metzger, 1995.)

ladores, el que tiene un papel más relevante es el grupo de las **giberelinas**. Sin embargo, incluso en este caso, la participación de este grupo de fitohormonas depende de la especie vegetal. En las gimnospermas, los tratamientos de material juvenil con giberelinas exógenas normalmente inducen una floración precoz, que no se puede considerar como un cambio de fase, porque esta capacidad desaparece en los años siguientes a menos que se repita el tratamiento hormonal. El efecto de las giberelinas en las gimnospermas se explica porque su presencia es necesaria para la formación y el desarrollo de las flores, pero tal hecho sólo es uno de los eslabones implicados en el cambio de fase. En cambio, en las angiospermas leñosas, la aplicación exógena de giberelinas a material adulto induce la recuperación de algunas características juveniles en el material tratado (Fig. 28-4). En este grupo de plantas parece que el elevado nivel de giberelinas endógenas sería uno de los factores implicados en el mantenimiento del estado juvenil. También el ácido abscísico parece desempeñar algún papel en el mantenimiento de la fase adulta en este grupo de plantas, evitando el proceso de rejuvenecimiento (Fig. 28-4). Se puede concluir, pues, que los mecanismos fisiológicos y bioquímicos que explican el mantenimiento del estado juvenil y el subsiguiente cambio de fase difieren entre las especies vegetales.

2.4. Un estado juvenil prolongado es una ventaja para la planta

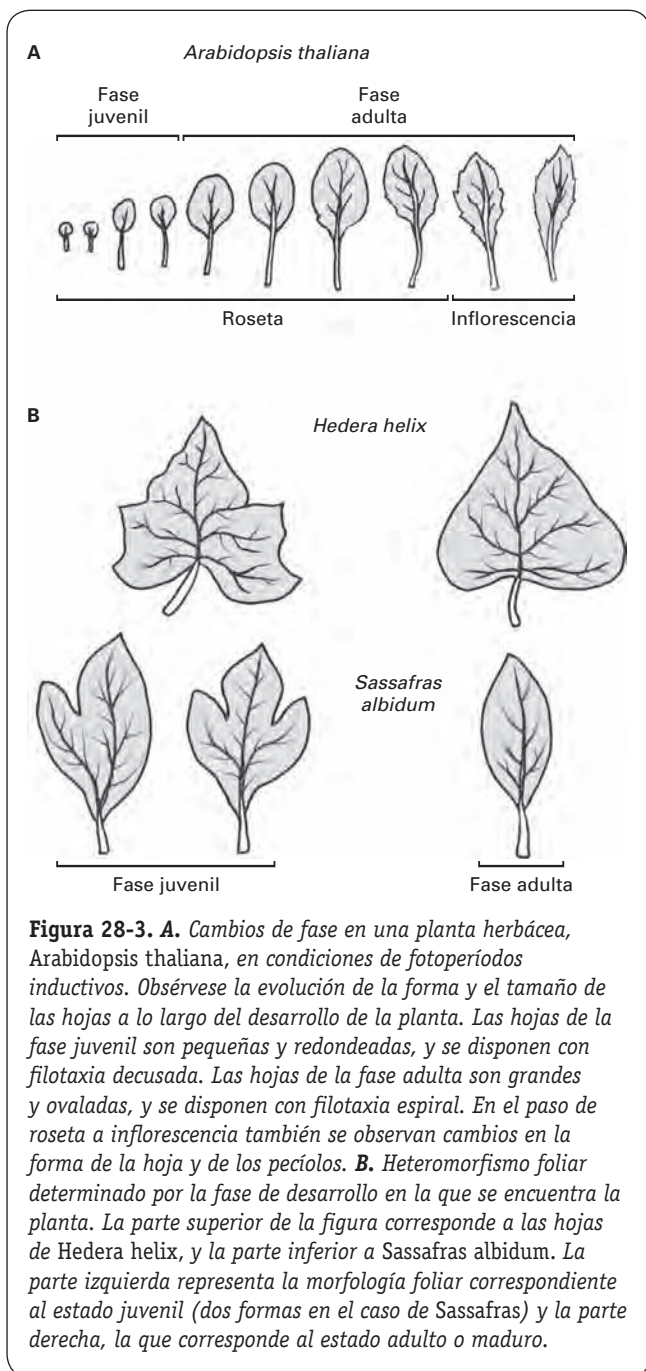
La existencia de un período juvenil puede ser una ventaja interesante para las plantas, porque permite que los productos

de la actividad fotosintética sean dirigidos hacia órganos y tejidos en crecimiento, en vez de ser destinados al desarrollo de las complejas estructuras reproductivas. Alcanzar muy pronto la fase reproductiva supondría invertir gran cantidad de la energía asimilada en esta fase del desarrollo, y ello iría en detrimento del desarrollo vegetativo de la planta, es decir, de su crecimiento y de su capacidad para almacenar sustancias de reserva. Así, una planta que tenga un período juvenil prolongado puede alcanzar un tamaño mínimo antes de dirigir sus recursos al esfuerzo reproductivo, y este hecho le permite ser competitiva en el entorno en el que se desarrolla su ciclo vital.

3. SENESCENCIA DE LA PLANTA

3.1. La senescencia se produce en todas las plantas y a lo largo de todos los estados de desarrollo

Al describir el desarrollo de las plantas como una serie de fases que van desde la germinación hasta la senescencia se tiende a identificar la senescencia con un estado terminal. Pero esta idea es errónea, porque la senescencia no es el resultado de un proceso de degeneración, sino un proceso de desarrollo encaminado a conseguir el desmantelamiento y reciclaje ordenado de una parte de las estructuras y las moléculas que ya no resultan útiles para la planta en un momento dado. En ocasiones, al final de este proceso se produce la muerte del individuo, y los materiales reciclados

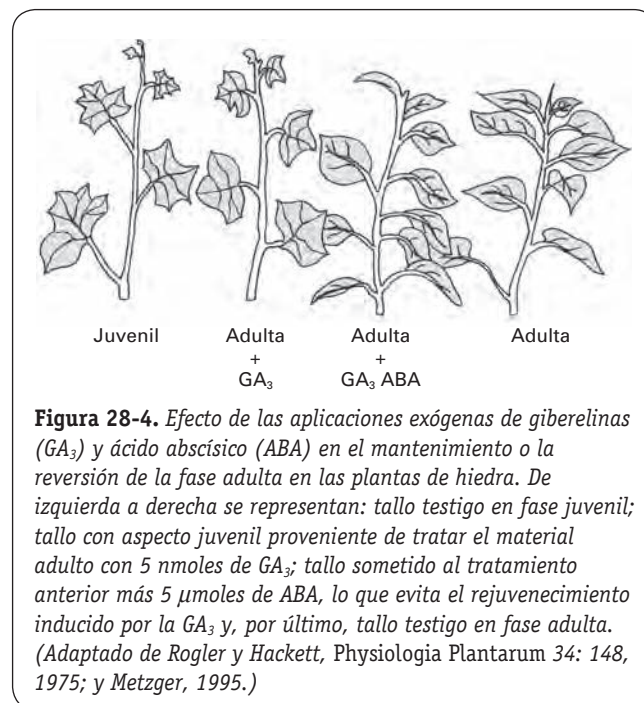


se almacenan en la semilla para ser usados en la siguiente generación de plantas. Esto ocurre con las herbáceas anuales, que mueren tras completar un único ciclo reproductivo; este tipo de senescencia recibe el nombre de **monocárpica**. Sin embargo, la planta no siempre muere tras la formación de semillas y frutos. En las plantas de ciclo plurianual, la formación de flores y frutos no conduce al envejecimiento y muerte de toda la planta, aunque algunas de sus estructuras y órganos, como las hojas, las flores y los frutos, tienen un período de vida limitado y atraviesan un proceso de senescencia. Este tipo de senescencia se denomina **policárpica**. Cuando se examinan los procesos de senescencia que tienen

lugar en las diversas especies vegetales se observa que dichos procesos se producen en todas las partes de la planta y en todos los estados del desarrollo. El Cuadro 28-3 muestra distintos procesos de senescencia que tienen lugar durante el ciclo vital de una planta.

3.2. Las plantas presentan síndromes de senescencia

La senescencia de los tejidos fotosintéticos ha sido la más estudiada. En ella se han observado cambios celulares complejos cuyas características se repiten y constituyen lo que puede denominarse síndrome de senescencia foliar. Dichos cambios, con algunas diferencias, pueden también observarse durante la senescencia de otros órganos y tejidos. Los estudios realizados en cotiledones de plántulas de *Vigna unguiculata* han permitido identificar, en el mismo tejido y de forma simultánea, células en diferentes etapas de senescencia. En general, los primeros cambios que aparecen en las hojas son la degradación de los cuerpos proteicos y una transición del retículo endoplasmático, que se torna tubular y vesiculado. El proceso sigue con la clarificación del citoplasma, siendo el cloroplasto el orgánulo que desaparece primero y el núcleo el último que se dismantela. En los estados finales, la membrana del tonoplasto se fragmenta y, por último, se pierde la compartimentación celular. Una observación de interés es que en este proceso la pérdida de compartimentación se produce muy tardíamente. En términos metabólicos, los procesos anabólicos dejan de ser dominantes en favor de los catabólicos, y los nutrientes liberados por estos últimos son almacenados en estructuras de reserva o dirigidos hacia zonas en crecimiento activo como yemas, hojas, frutos y semillas en desarrollo.



3.3. La senescencia es un proceso controlado

Dado que la senescencia es parte del programa de desarrollo de una planta, o de alguna parte de ella, se infiere que está programada genéticamente. Como otros procesos programados, la senescencia, especialmente en su inicio, está sujeta a la regulación por factores tanto endógenos como ambientales.

Entre los factores endógenos se encuentran la edad, el desarrollo reproductivo y los niveles de diversos reguladores de crecimiento. Así, para un tejido como la hoja, en ausencia de factores externos, es su propia edad la que tiene una influencia importante en el inicio de la senescencia. En general, un descenso de la fotosíntesis en este órgano provoca el inicio de la senescencia. Siendo esto cierto, no lo es menos que la vida media de un determinado tejido puede variar mucho entre las diversas especies y es consecuencia de la gran diversidad génica encontrada en el mundo vegetal. Existen otras situaciones en las que es el estado reproductivo de una planta el que determina el inicio de la senescencia de las partes vegetativas en primer lugar y, posteriormente, el de las propias estructuras reproductivas. Es el caso de muchas especies anuales, en las que el número de hojas que entran en senescencia aumenta durante la floración y el desarrollo de las semillas. Este proceso es el resultado de un control correlativo entre órganos y ha sido bien estudiado en algunas especies, como la soja, donde la retirada de las flores o la restricción del crecimiento del fruto retrasa la senescencia de las hojas. Por último, y en relación con el tercer elemento de control endógeno, se ha comprobado que las cinco hormonas «clásicas» están involucradas en alguna u otra situación de senescencia. En general, se puede decir que mientras las auxinas, las citoquininas y las giberelinas inhiben la senescencia, el ácido abscísico y el etileno la promueven. Una exposición más detallada de estos aspectos se recoge en los Capítulos 19 a 22. Además, el ácido jasmónico, el salicílico y los bra-

sinoesteroides también suelen actuar como promotores de la senescencia, mientras que las poliaminas actúan en sentido contrario. La importancia especial del ácido salicílico en el proceso de senescencia se ha puesto de manifiesto mediante una estrategia experimental bastante frecuente en los estudios biológicos, que consiste en utilizar plantas mutantes que presentan un defecto genético y, consiguientemente, una alteración metabólica. En efecto, estudiando plantas que presentan un defecto en la ruta metabólica que conduce a la síntesis del ácido salicílico se ha comprobado que existe un retraso significativo en la senescencia natural de sus hojas, algo que no ocurre en la senescencia foliar cuando es inducida por un tratamiento prolongado de oscuridad. Otro factor endógeno que hay que tener en cuenta es el nivel de azúcares. Existen pruebas experimentales de que la acumulación de azúcares en las hojas es uno de los factores activadores del programa de senescencia en este órgano, aunque en principio pudiera esperarse lo contrario.

En lo que se refiere a las señales ambientales, actúan como inductores diferentes tipos de estrés, tales como las altas temperaturas, la sequía, el estrés oxidativo, la deficiencia de nutrientes, la infección por patógenos, el daño mecánico y el exceso de sombra (véase el Capítulo 29). Las plantas, al no poder moverse, tienen que responder a un entorno adverso de una forma diferente a como lo hacen los animales. Una de estas respuestas consiste en deshacerse de estructuras y órganos no esenciales, recuperando parte de los nutrientes presentes en ellos para dirigirlos hacia órganos esenciales para ellas, como los órganos reproductivos. En otros casos, como ocurre en las hojas infectadas por patógenos, la muerte y la caída de éstas previene la infección en el resto de la planta, la cual puede continuar su desarrollo normal. Un caso extremo de estrés se da cuando la planta crece en completa oscuridad. La inducción de la senescencia foliar por este método ha sido aprovechada por los investigadores para estudiar la senescencia de este tejido. No

CUADRO 28-3. Procesos de senescencia en diferentes etapas del programa de desarrollo de una planta.

Estado de desarrollo	Proceso de senescencia
Plántula	Senescencia de cotiledones Senescencia en la diferenciación de traqueidas y tubos cribosos Senescencia de los pelos radiculares y las células del ápice radicular
Vegetativo	Senescencia en la diferenciación y el recambio celulares Senescencia foliar, secuencial o sincrónica Senescencia en el desarrollo de espinas y púas Senescencia en el proceso de abscisión
Floración	Senescencia y abscisión de partes florales Continuación de muchos procesos de senescencia de tejidos vegetativos
Fructificación	Senescencia de toda la planta (monocárpica) Senescencia de tallos aéreos Senescencia y dehiscencia de frutos secos Senescencia y abscisión de frutos carnosos

obstante, esta senescencia artificial presenta diferencias con respecto a la senescencia natural del mismo tejido.

4. SENESCENCIA FOLIAR

4.1. Los estudios sobre la senescencia de las hojas sugieren que es un proceso de reciclaje

Aunque la caída de las hojas en otoño o el color amarillo de los campos de cereales evocan el final de una estación o la muerte de la planta, estos procesos no son acontecimientos finales, sino etapas esenciales de su vida. Las hojas de las plantas perennes y anuales deben senescer de una forma secuencial, ordenada y compleja para, finalmente, morir.

Desde el punto de vista funcional, la senescencia foliar no es sólo un proceso degenerativo, sino también un **proceso de reciclaje** en el que los nutrientes son transportados desde las células que envejecen hasta las hojas jóvenes, las semillas en desarrollo y los tejidos de reserva. En muchas especies, esta secuencia de acontecimientos se constata al observar que los tejidos situados en torno al sistema vascular, necesario para el transporte de nutrientes, son los últimos en envejecer.

Estructuralmente, el patrón de senescencia celular está bien caracterizado. Por ejemplo, la pérdida de integridad del cloroplasto se produce relativamente pronto, en tanto que la pérdida de funcionalidad del núcleo es un acontecimiento relativamente tardío. Esta pauta concuerda con los cambios metabólicos que se producen de forma escalonada durante la senescencia de las hojas. Es bien sabido que una porción importante del nitrógeno de una célula se encuentra en el cloroplasto; por tanto, es de esperar que durante la senescencia foliar estos orgánulos se dismantelen, en tanto que otros constituyentes celulares, como el núcleo y las mitocondrias, permanecerán viables para llevar a cabo el proceso de reciclaje. Los numerosos estudios fisiológicos, bioquímicos y moleculares sobre la senescencia foliar, la mejor estudiada, han mostrado que, durante este proceso, se producen cambios coordinados en el metabolismo y la expresión de genes en paralelo a los cambios estructurales.

4.2. Durante la senescencia, la asimilación de carbono se sustituye por el catabolismo de la clorofila y de diversas macromoléculas

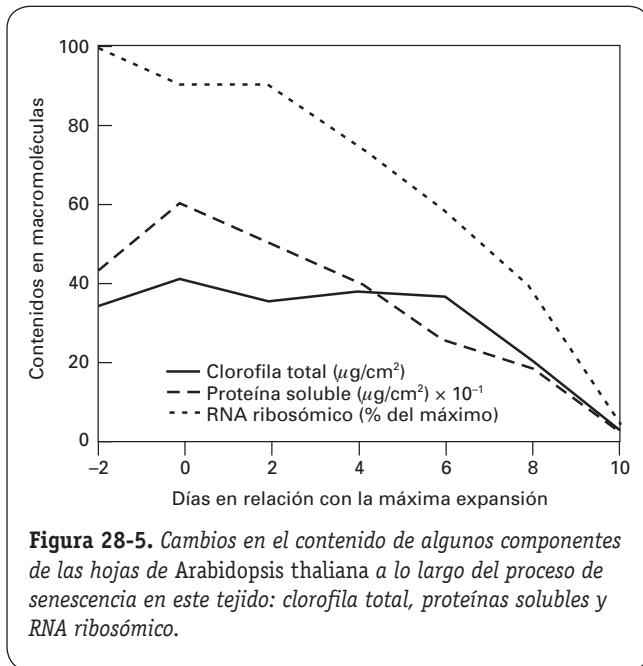
Desde el punto de vista metabólico, la ruptura del cloroplasto, que contiene el 70% de las proteínas de la hoja, significa que la asimilación del carbono en la fotosíntesis es sustituida por el catabolismo de la clorofila y de macromoléculas tales como proteínas, lípidos de membrana y RNA. La Figura 28-5 recoge algunos de estos cambios en hojas senescentes de *Arabidopsis thaliana*.

El **catabolismo de la clorofila** empieza cuando esta molécula aún está unida a las proteínas de la membrana en el cloroplasto, y se inicia por la acción de la enzima clorofilasa, que separa la cadena de fitol. Posteriormente, el Mg^{2+} de la clorofila se separa debido a la acción de una quelatasa de Mg^{2+} , y el anillo tetrapirrólico se abre por la acción de una dioxigenasa específica (feofórbida a oxigenasa), que es la enzima clave de esta ruta metabólica. Los productos intermedios que aparecen durante el catabolismo de la clorofila se degradan en la vacuola. A su vez, la destrucción de las clorofilas hace visibles los pigmentos carotenoides, que son los responsables del color amarillo de las hojas senescentes. Dependiendo de las especies, estos pigmentos carotenoides son degradados o pueden seguir incrementándose durante la senescencia foliar. Durante la senescencia también existe, en ocasiones, una acumulación de otros pigmentos, que son los responsables de los vivos colores rojo, púrpura y amarillo de las hojas otoñales. Dichos pigmentos pertenecen a los grupos compuestos denominados antocianinas, betacianinas y flavonoides. Su aumento se debe a una activación de su biosíntesis.

Aunque la pérdida de la clorofila es cualitativamente importante, pues priva al tejido de su capacidad fotosintética, existen otros procesos metabólicos que son cuantitativamente significativos en la senescencia foliar. El más importante de ellos es la **degradación de proteínas**, porque permite el transporte de los aminoácidos liberados a otras partes de la planta. En el tejido foliar senescente se han identificado de forma específica numerosas proteasas que participan en la proteólisis que tiene lugar durante la senescencia de este tejido. Algunas de ellas tienen en común el hecho de pertenecer al tipo cisteína-proteasas, que presentan el aminoácido cisteína como residuo esencial en su centro activo. Pero, sorprendentemente, no se han identificado de forma inequívoca las enzimas proteolíticas que participan en el dismantelamiento del aparato fotosintético.

Otras macromoléculas que constituyen una fuente importante de carbono, nitrógeno y fósforo son los ácidos nucleicos; entre ellos es especialmente importante, por su abundancia, el RNA ribosómico. Mientras que el nivel de DNA en una célula senescente permanece relativamente constante en las primeras etapas, la cantidad de RNA ribosómico desciende de forma continua (Fig. 28-5). Simultáneamente, se ha detectado un incremento de la **actividad ribonucleasa** (RNasa) a medida que la senescencia de las hojas avanza. Las bases púricas y pirimidínicas constituyentes del RNA se degradan después en los peroxisomas, en los que se ha observado un aumento de la actividad de enzimas degradativas tales como la uricasa y la xantina oxidasa.

Las membranas celulares son otra importante reserva de macromoléculas, en este caso lipídicas, que también pueden movilizarse desde la hoja senescente. Conviene recordar que la actividad respiratoria de estas células es elevada y debe mantenerse hasta el final, lo que indica que la hidrólisis de los componentes de membrana debe ser muy selectiva. Así, se ha observado que la actividad de las vías conocidas como betaoxidación y vía del glioxi-



lato aumentan durante este período. La vía del glioxilato es una variante metabólica que permite la síntesis de azúcares a partir de lípidos. Así pues, la degradación de los lípidos en las células senescentes va acompañada de la síntesis de azúcares que son transportados a otras partes de la planta en crecimiento. Esta transición metabólica se ha estudiado en detalle durante la senescencia de los cotiledones de pepino. En los orgánulos subcelulares hay una transición desde peroxisomas, que participan en el proceso conocido como fotorrespiración, a glioxisomas, que convierten los lípidos en azúcares.

La degradación de las macromoléculas durante la senescencia foliar va seguida del **transporte de los productos de hidrólisis** hacia las partes en desarrollo. El nitrógeno proteico y el de los ácidos nucleicos se incorpora a los aminoácidos de transporte, en especial a los que tienen un grupo amido, como la asparagina y la glutamina, y se moviliza de esta forma a través del floema. Es probable, además, que durante la senescencia se produzca amonio como consecuencia de la desaminación de los aminoácidos y del catabolismo de los ácidos nucleicos. Este compuesto, tóxico para el metabolismo celular, debe ser reasimilado en forma de glutamina. Ésta es la razón por la que la enzima que cataliza esta reacción, la glutamina sintetasa citosólica, aumenta de forma drástica en las últimas etapas de la senescencia de la hoja.

La transición de peroxisoma a glioxisoma, anteriormente expuesta, altera tanto la producción de especies reactivas de oxígeno en el tejido senescente, como la producción de enzimas antioxidantes. El resultado es un cambio en el **estado redox** dentro de la célula, algo que se observa también durante la senescencia. En su fase final, el exceso de especies reactivas de oxígeno contribuye a la muerte celular que se produce en este momento.

4.3. Se han identificado diversos genes responsables del inicio y el desarrollo de la senescencia

La senescencia foliar, al ser un proceso activo que se lleva a cabo de forma controlada, aparece como consecuencia de la expresión encadenada de una serie de genes. Dado que el RNA total desciende y muchos genes dejan de expresarse, el inicio y el desarrollo de los procesos de senescencia dependen de la transcripción *de novo* de los genes nucleares.

Las herramientas disponibles en la actualidad para analizar la expresión simultánea de miles de genes en un momento dado de la vida de una planta han permitido identificar cientos de genes, más de 800, cuya expresión a nivel transcripcional aumenta durante la senescencia natural de las hojas de la planta modelo *Arabidopsis thaliana*. La variedad de funciones de estos genes da una idea clara de las actividades metabólicas que cambian cuando la hoja senesce de forma natural. En el Cuadro 28-4 se muestra un resumen de los genes que cambian su expresión durante la senescencia; llama la atención el elevado número de genes incluidos en la categoría de **genes reguladores**, algo sin duda relacionado con el hecho de que la senescencia de las plantas no es simplemente un proceso terminal, sino un acontecimiento previsto en la vida de la planta, y que está programado durante su desarrollo. Los cambios que tienen lugar en los genes que codifican proteínas que participan en la degradación de macromoléculas como la clorofila, las proteínas, los ácidos nucleicos y los lípidos, son también importantes. Otras categorías de genes ponen de manifiesto la importancia de otros procesos que tienen lugar durante la senescencia foliar; son los genes cuya expresión tiene como resultado la producción de proteínas que participan en el metabolismo de los azúcares, el transporte, la defensa de la planta, y la síntesis de metabolitos secundarios. Finalmente, cabe resaltar que existen muchos genes con funciones desconocidas, lo que indica que todavía queda mucho por desvelar en relación con el inicio, el desarrollo y el control del proceso de senescencia natural de las plantas, o de parte de ellas.

Ahora bien, tan importante es identificar los genes que se expresan en las hojas a medida que avanza la senescencia como conocer su pauta de expresión temporal. Se han identificado diez clases de genes en función de su expresión temporal durante el desarrollo de la hoja, de las cuales ocho están relacionadas con la senescencia de este tejido (Fig. 28-6). La observación de los variados patrones de expresión indica que los productos de los genes desempeñan funciones diferentes en el desarrollo del proceso. Por una parte, algunos genes se expresan en una estrecha ventana al inicio del proceso, y pueden desempeñar una función reguladora; por otra parte, existen genes que se expresan al final del proceso, y que serían los responsables del desmantelamiento celular que tiene lugar. Es de destacar, no obstante, que el proceso está muy coordinado, y que en dicha coordinación participa una serie de señales metabólicas entre las que se encuentran los niveles de citoquinina, el etileno, las señales

CUADRO 28-4. Grupos de genes cuya expresión aumenta durante la senescencia natural de la hoja

Categoría	Funciones	Número
Regulación	Factores de transcripción Quinasas/fosfatasa Acción hormonal Control por ubiquitina	209
Degradación y movilización de macromoléculas	Clorofila Proteínas Ácidos nucleicos Lípidos	101
Transporte	Azúcares, péptidos, aminoácidos, iones	74
Metabolismo de azúcares	Síntesis y degradación	63
Respuesta al estrés	Defensa Antioxidantes	39
Metabolismo secundario	Alcaloides Flavonoides	38
Función desconocida		242

provenientes de los órganos en crecimiento y los niveles de metabolitos resultantes del proceso de fotosíntesis.

5. SENESCENCIA DE FLORES Y FRUTOS

5.1. Senescencia de las flores: un destino inevitable

El desarrollo de los verticilos florales tiene su culminación en el momento de la antesis. A partir de esta fase comienza una clara divergencia en el destino de los diferentes vertici-

los. Tras la antesis y la polinización se inicia la senescencia tanto de los estambres como de la corola, en tanto que el carpelo polinizado inicia su desarrollo hasta llegar al fruto. El envejecimiento de la corola, los pétalos y los sépalos es el proceso más estudiado de la **senescencia floral**, hasta el punto de que a menudo, y de forma imprecisa, se denomina senescencia floral a la senescencia de pétalos y sépalos.

Al igual que ocurre durante la senescencia de las hojas, el inicio y el desarrollo de la senescencia en las flores depende, en muchos casos, de la hormona etileno. Estas flores se clasifican como **climatéricas**, por contraposición a las de las especies en las que el etileno no participa en dicho proceso,

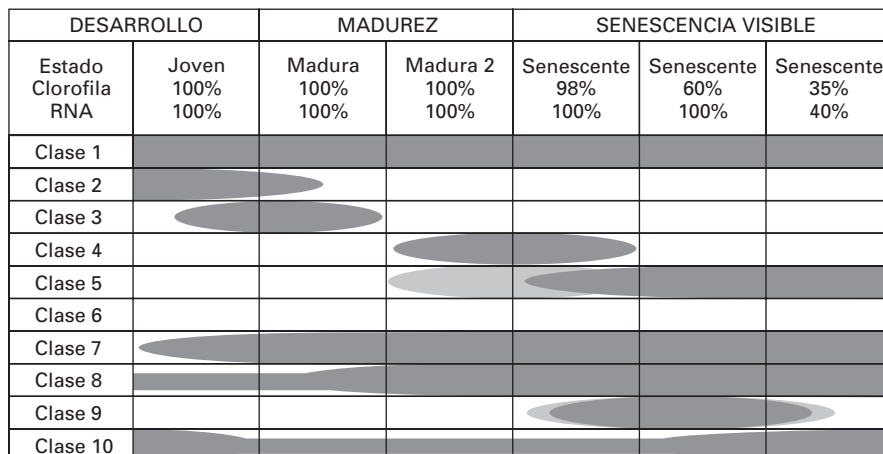


Figura 28-6. Diagrama resumen de los cambios de expresión de diferentes genes a lo largo del proceso de desarrollo y senescencia de la hoja. Los genes se agrupan en 10 clases en función del patrón de expresión temporal. (Adaptado de Buchanan-Wollaston, 1997.)

que son las **no climatéricas**. Entre las primeras se encuentran especies bien estudiadas, como el clavel y la rosa, y entre las segundas, el ciclamen y la azucena de un día.

En algunos casos los tejidos de corola, pétalos y sépalos son fisiológicamente diferentes a los de las hojas, pues nunca alcanzan la madurez fotosintética y se mantienen como tejidos que necesitan el aporte de nutrientes. Sin embargo, los procesos metabólicos que se desencadenan durante su senescencia son muy semejantes a los descritos en las hojas. Durante su senescencia se produce una disminución brusca de los niveles de proteínas y RNA, así como un incremento en la actividad de enzimas hidrolíticas tales como proteasas y RNasas. Los productos de hidrólisis son transportados al ovario en crecimiento y a la semilla, así como a otros tejidos en crecimiento activo. De esta forma se aprovechan los compuestos resultantes de la degeneración y la senescencia floral. Las membranas también resultan afectadas durante la senescencia de los tejidos florales, igual que ocurría en las hojas. La degradación de las membranas es asimismo secuencial, y termina con la hidrólisis de sus lípidos y proteínas. Por último, el desvanecimiento del color es un fenómeno común en muchas flores durante el envejecimiento. Ello es consecuencia de la activación de las rutas catabólicas de los principales pigmentos, como los carotenoides y los flavonoides.

La senescencia floral es también la etapa final del programa de desarrollo de este órgano. En consecuencia, exige la síntesis selectiva de determinadas proteínas que van a permitir que el proceso tenga lugar. Diversos estudios han identificado esas proteínas y los genes que las codifican. A excepción de aquellos genes que codifican proteínas relacionadas de forma específica con la degradación de los pigmentos, los genes identificados no son esencialmente diferentes de los indicados anteriormente para las hojas.

5.2. La senescencia del fruto es necesaria para la dispersión de las semillas

Durante la maduración de los frutos tienen lugar otros procesos fisiológicos en los que se dan situaciones metabólicas similares a las que se han descrito en la senescencia foliar. El desarrollo del embrión en muchas angiospermas es paralelo al desarrollo del ovario, el cual se convierte en un órgano especializado, el fruto, que proporciona a la semilla un entorno adecuado para su maduración y dispersión. El desarrollo de este órgano se describe con detalle en el Capítulo 26. La maduración del fruto se inicia una vez completada la maduración de la semilla, y tiene algunos aspectos en común con la senescencia foliar; se diferencia, sin embargo, en un hecho importante, y es que los compuestos resultantes de la **hidrólisis de macromoléculas** no se exportan a otras partes de la planta, sino que se convierten y acumulan en forma de azúcares y ácidos para dar al fruto un sabor atractivo. La fruta que madura en la planta, si no se consume, inicia un período final de senescencia denominado sobremaduración. Los cambios que aparecen son similares a los que determi-

nan la pérdida de calidad de los frutos de interés comercial después de su recolección, durante lo que se conoce como **vida poscosecha**. El fruto recolectado es un tejido vivo que durante este período está sujeto a cambios continuos.

Muchos de los cambios observados durante la senescencia de los frutos, bien en la planta o después de su recolección, son una prolongación de los que se observan durante su desarrollo y maduración. Entre esos cambios están la pérdida de clorofila, la producción de carotenoides, la acumulación de antocianos y los cambios en compuestos de naturaleza fenólica. Algunos de ellos son deseables desde el punto de vista del consumo humano, porque mejoran las cualidades nutricionales y hacen más atractiva la apariencia del fruto, pero otros no lo son. Los cambios en los carbohidratos incluyen, entre otros, la conversión del almidón en azúcares y el subsiguiente consumo de éstos en el proceso de respiración de los frutos, que puede llegar a ser muy activo. En general, el grado de deterioro final de un fruto recolectado es proporcional a su actividad respiratoria.

Durante la maduración del fruto se produce un cambio importante que culmina a lo largo de su senescencia y que afecta a las paredes celulares, se trata de la degradación de los componentes de éstas. Dicho cambio es la causa del reblandecimiento general, o **pérdida de firmeza**, que se observa en los frutos maduros y muy maduros. El cambio se debe a la acción hidrolítica de un grupo de enzimas cuya presencia en este órgano se incrementa a medida que avanza su maduración, continuando en algunos casos su actividad durante el período de senescencia del fruto. Estas enzimas varían según la especie; entre ellas se encuentran la endopoligalacturonasa y la pectato liasa, que hidrolizan las pectinas de la lámina media. La primera es importante en frutos como el tomate y el aguacate, en tanto que la pectato liasa lo es en el plátano y la fresa. Otra enzima hidrolítica de las pectinas, la pectina metil esterasa, es también importante en otros frutos durante la maduración y la senescencia. Esta enzima, al desesterificar las pectinas, las prepara para ser hidrolizadas por la endopoligalacturonasa o la pectato liasa. En otros frutos, la hidrólisis de celulosa y hemicelulosas, por acción de las enzimas celulasas, explica la pérdida de firmeza que se inicia durante la maduración y que culmina en la senescencia.

Como en el caso de las hojas, la presencia de determinadas enzimas en los frutos senescentes es consecuencia directa de la expresión de los genes correspondientes. Así pues, la introducción en una especie de un gen en antisen-tido puede silenciar el gen endógeno correspondiente y detener, o retrasar, el proceso de senescencia en este órgano. Tal es el caso de los tomates transgénicos transformados con el gen de la endopoligalacturonasa en antisen-tido, cuyos frutos muestran una vida media posrecolección significativamente más prolongada que los frutos de las plantas sin transformar genéticamente (véase el Capítulo 26).

Por último, hay que indicar que los procesos de senescencia que se dan en los frutos separados de la planta, bien por abscisión natural o porque son recolectados, pueden ser una consecuencia de la propia separación de la planta. En

este proceso se genera una herida que hace que los riesgos inmediatos de pérdida de agua y de ataque por patógenos se incrementen. Como se ha indicado anteriormente, ambas situaciones ambientales figuran entre los factores que inician e incrementan la senescencia de un determinado tejido u órgano, que en este caso es el fruto.

Al igual que las flores, los frutos se dividen en **climatéricos** y **no climatéricos**, según que la hormona etileno esté involucrada o no, respectivamente, en el inicio y el desarrollo del proceso de senescencia (véase también el Capítulo 26).

6. SENESCENCIA PROGRAMADA

6.1. La muerte celular programada es una forma de senescencia

Los organismos pluricelulares, en determinados momentos de su desarrollo o como respuesta a agentes externos, pueden deshacerse de parte de su estructura mediante un programa de **suicidio celular**. Este programa, denominado **muerte celular programada**, está regulado por el propio organismo y tiene como resultado final la muerte de una célula o de un grupo de células. La muerte celular programada es un proceso fisiológico dirigido a la eliminación selectiva de células específicas. En los animales, en los que se estudió primero, aparece en aquellas células que han desarrollado una función temporal y cuya existencia deja de ser necesaria

para el organismo. En las plantas, se sabe que el proceso es también necesario para el crecimiento y la supervivencia del organismo. La Figura 28-7 muestra los lugares en los que se ha descrito muerte celular programada en las plantas. En general, se puede afirmar que este proceso tiene lugar o como parte del programa de desarrollo de una planta para deshacerse de células que tuvieron una función temporal y no son necesarias, o bien como resultado de la respuesta de la planta a algún estrés ambiental.

6.2. La posibilidad de la muerte celular programada supone una ventaja para la planta

La muerte celular en las plantas explica, entre otras cosas, la gran plasticidad metabólica que estos organismos muestran durante su desarrollo. En casi todas las fases de su ciclo vital, desde la germinación hasta el desarrollo reproductivo, hay momentos de muerte celular que contribuyen al programa de desarrollo de la planta, como se muestra en la Figura 28-7.

Entre los casos de muerte celular programada en plantas cabe destacar el de las células de la **aleurona**, que dejan de ser necesarias una vez que, durante la germinación de las semillas, se han liberado las hidrolasas que participan en la digestión del endospermo. Cuando estas células que forman la capa de aleurona de la semillas han cumplido su misión

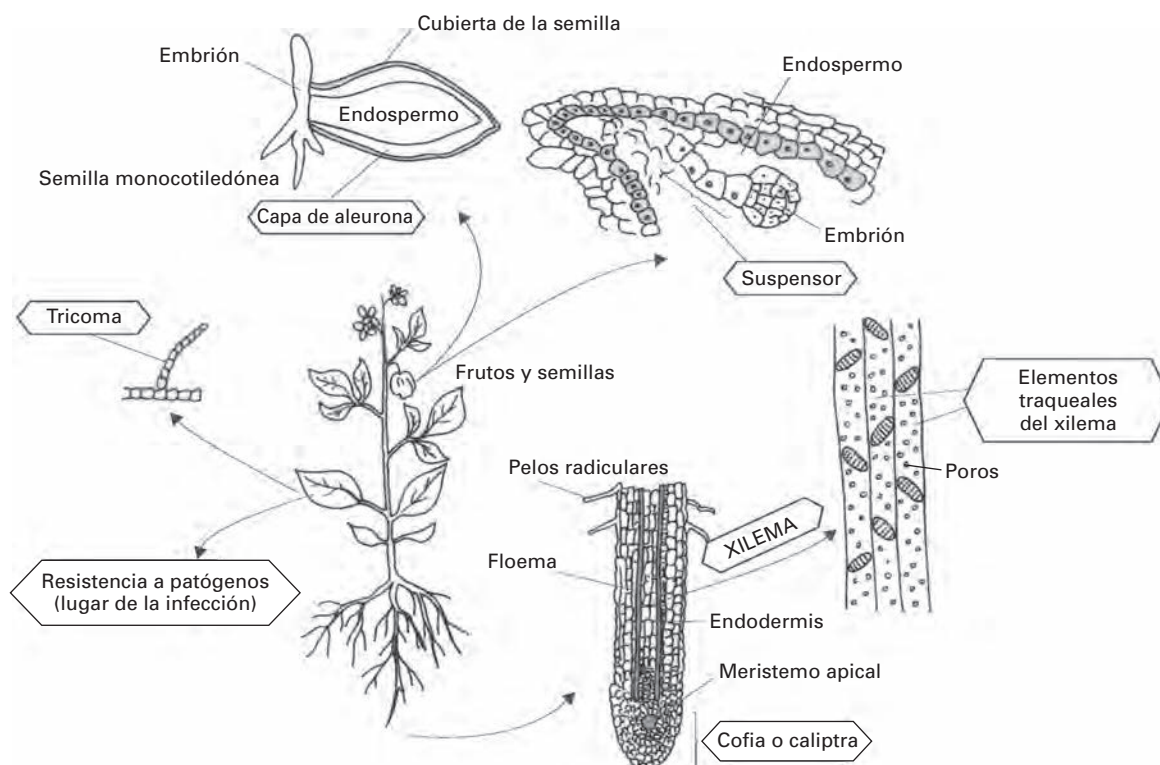


Figura 28-7. Lugares y órganos (encuadrados) de una planta vascular en los que la muerte celular programada tiene lugar.

en el proceso de germinación, inician un proceso de muerte celular de forma muy selectiva en relación con las células que las rodean. Otro tipo de células que presentan muerte celular programada está constituido por aquellas que ejercen una acción protectora del meristemo apical de la raíz que, una vez finalizada su misión protectora, mueren en unos días. Este proceso no se debe al desgaste sufrido por crecer en un medio sólido, como se ha comprobado al estudiar las raíces de plantas en cultivo hidropónico, cuyas células, aun sin que exista daño externo, también cumplen su programa y mueren al cabo de unos días.

En algunos casos, las células que mueren permanecen en la planta, donde desempeñan una función específica diferente. El sistema de transporte de agua en las plantas vasculares, por ejemplo, tiene lugar a través de las células del xilema conocidas como **elementos traqueales**. Estos elementos se originan a partir de células procambiales que pierden el núcleo y los contenidos celulares, hasta morir. Los elementos traqueales representan el estado final de un proceso de diferenciación al que se ha llegado mediante la muerte programada de un grupo muy específico de células, que permanecen en el organismo, en el que ejercen una acción pasiva en el transporte de agua. Otro caso conocido es el de algunas hojas de forma lobulada; esta forma es consecuencia de la pérdida de un grupo de células cuya desaparición determina la forma final de la hoja. Las células que desaparecen lo hacen tras un programa de muerte selectiva que acaba esculpiendo la hoja.

6.3. También el entorno provoca la muerte celular

En otros casos, el programa de muerte celular se desencadena como respuesta de la planta a una agresión ambiental. Tal es el caso de la respuesta de las células de la raíz y del tallo a las condiciones de falta de oxígeno (**hipoxia**) a la que se enfrentan como resultado de una inmersión continuada en agua. Sin embargo, es en la respuesta de defensa de algunas plantas al ataque por un patógeno, conocida como **respuesta de hipersensibilidad**, donde mejor se ha estudiado el fenómeno de la muerte celular programada en las plantas. La respuesta de hipersensibilidad de una planta es un proceso activo de defensa por parte de ésta que finaliza con la muerte selectiva de la célula, o grupo de células, en el lugar de la infección. De esta forma, la planta impide muy eficazmente la invasión del resto de la misma por el patógeno. Aunque no se conoce con exactitud cómo se produce la muerte celular final, sí se conoce la secuencia de acontecimientos que a nivel celular siguen al reconocimiento del patógeno (véase el Capítulo 29). Estos acontecimientos consisten en cambios en los flujos de iones, entrada de Ca^{2+} en el citosol, producción de especies reactivas de oxígeno y de óxido nítrico, y activación de la cadena de señales a partir de una proteína quinasa del tipo de las activadas por mitógenos (MAPK).

La muerte celular programada es un proceso de suicidio celular que implica la condensación, la contracción y el des-

mantelamiento celulares. Algunas etapas de este camino, que emprende un grupo siempre específico de células, se conocen relativamente bien (p. ej., los cambios en la morfología celular y la fragmentación del DNA en la región internucleosómica). También se sabe que tanto el agua oxigenada como el ion Ca^{2+} activan el proceso. Sin embargo, aún no se han identificado muchos de los genes que intervienen y controlan el proceso, ni siquiera las señales que lo inician en las plantas. La información de que disponemos, aunque fragmentada, augura significativos avances durante los próximos años en el conocimiento de este importante proceso.

7. ABCISIÓN: UN TIPO DE SEPARACIÓN CELULAR MUY LOCALIZADA

Durante el desarrollo de las plantas, éstas se desprenden de órganos como los frutos, las hojas, las estructuras florales y las pequeñas ramas. Para designar esta separación de órganos se utiliza el término **abscisión**. El proceso de abscisión es el resultado de una secuencia de acontecimientos bioquímicos y celulares coordinados que dan lugar a la **separación entre las células** de una zona muy localizada, que se denomina zona de abscisión. Los procesos que implican **separación celular**, es decir, la disolución de las sustancias que mantienen unidas entre sí a las células vegetales, son muy importantes en el crecimiento y el desarrollo de las plantas, aunque pasen inadvertidos. Como ejemplos de acontecimientos de desarrollo en los que los procesos de separación desempeñan un papel relevante pueden citarse la dehiscencia de vainas de frutos, la separación de semillas del tejido materno, el reblandecimiento de frutos carnosos, el crecimiento del tubo polínico, la emergencia de raíces laterales, la formación de aerénquima en las raíces, la formación de espacios aéreos en las hojas durante su expansión o la formación del poro del estoma, entre otros. Estos procesos de separación pueden afectar, de manera más o menos general, a un tejido, como ocurre en la maduración de algunos frutos, o estar muy localizados en el espacio, afectando en ocasiones sólo a una capa de células, como ocurre con la abscisión y la dehiscencia, en las que la separación celular tiene lugar en sitios muy localizados (las zonas de abscisión y dehiscencia, respectivamente). En ambos casos, las células de estas zonas están preprogramadas para ello con bastante antelación al propio desarrollo de la separación, y morfológicamente suelen diferenciarse de las células adyacentes que no se van a separar.

En muchos casos, la abscisión se relaciona directamente con la senescencia, ya que constituye el mecanismo mediante el cual la planta se desliga de los órganos senescentes o deteriorados. Por ejemplo, la senescencia de las hojas y la maduración de los frutos suelen preceder a la separación de ambos órganos. Sin embargo, en ocasiones la planta prescinde de ciertos órganos mediante un programa de desarrollo independiente, como ocurre con la caída de muchas estructuras florales o de frutos que caen sin madurar. A veces, la abscisión se induce y completa a causa de las señales ambientales de estrés. Cabe destacar entre ellas el estrés

hídrico, la polución por ozono y algunos tipos de estrés invasivo, como las heridas y el ataque por patógenos.

7.1. La abscisión se produce en un grupo de células predeterminadas que se suelen diferenciar morfológicamente

La abscisión se produce en la estructura que une el órgano que va a caer con la planta; ejemplos bastante estudiados de ello son el **pedúnculo de los frutos** y el **pecíolo de las hojas**. El proceso se desarrolla preferentemente en una o más capas celulares localizadas más cerca de la inserción al cuerpo de la planta que del órgano que va a desprenderse. En muchos casos es posible distinguir estas zonas diferenciadas mediante cortes histológicos longitudinales, en los que se pueden observar entre 5 y 50 capas o estratos de células morfológicamente distintas de sus vecinas y que forman un cilindro que, a su vez, rodea al cilindro vascular (Fig. 28-8). Esta zona, que se puede diferenciar muy tempranamente en el desarrollo de pedúnculos y pecíolos, se denomina **zona de abscisión**. Generalmente, la zona de abscisión está formada por células parenquimáticas entre cuyas características se pueden citar su forma isodiamétrica, la presencia de un protoplasma más denso que el de las células vecinas y la existencia de depósitos de almidón, plasmodesmos abundantes y ramificados, y paredes celulares no lignificadas. También es característica de esta zona la ausencia de esclereidas y de fibras en torno al cilindro vascular. El mecanismo sobre el que descansa el proceso de abscisión es la **disolución de las paredes** que cementan la unión entre los distintos estra-

tos celulares que constituyen la zona de abscisión. Aunque la zona de abscisión se diferencia pronto, su función última, que es propiciar la separación del órgano, queda en suspenso hasta que una secuencia de desarrollo o una señal ambiental detonante ponga en marcha el proceso. La disolución de las paredes sólo afecta a alguna de las filas o capas de células que constituyen la zona de abscisión; el número de estratos celulares afectados oscila entre uno y cinco, lo que permite definir una nueva región dentro de la zona de abscisión, que se denomina zona de separación. Una vez en marcha el proceso de abscisión, el mecanismo de separación se ve favorecido por el hecho de que las células de una de las capas celulares de la zona de separación empiezan a crecer, y la lámina media entre esta capa y la adyacente se disuelve, lo que determina la aparición de un plano de fractura. La capa de células que crece es la más próxima al cuerpo de la planta (**zona proximal**), mientras que la capa adyacente es la más próxima al órgano que va a caer. El crecimiento y la suberización de las células de la capa proximal, junto con el efecto de factores ambientales como el viento, es lo que acaba provocando la ruptura y la separación del órgano (Fig. 28-8). La herida se sella posteriormente tanto por depósitos de suberina y lignina como por sustancias gomosas que obliteran los vasos que quedan al descubierto.

En ocasiones, mediante determinados tratamientos como las decapitaciones de tallos, los tratamientos hormonales, o ambos, se ha podido inducir la formación de **zonas de abscisión secundarias o adventicias** en sitios en los que normalmente no estarían presentes; gracias a ello se ha podido entender mejor el papel del control hormonal en la diferenciación de estas estructuras.

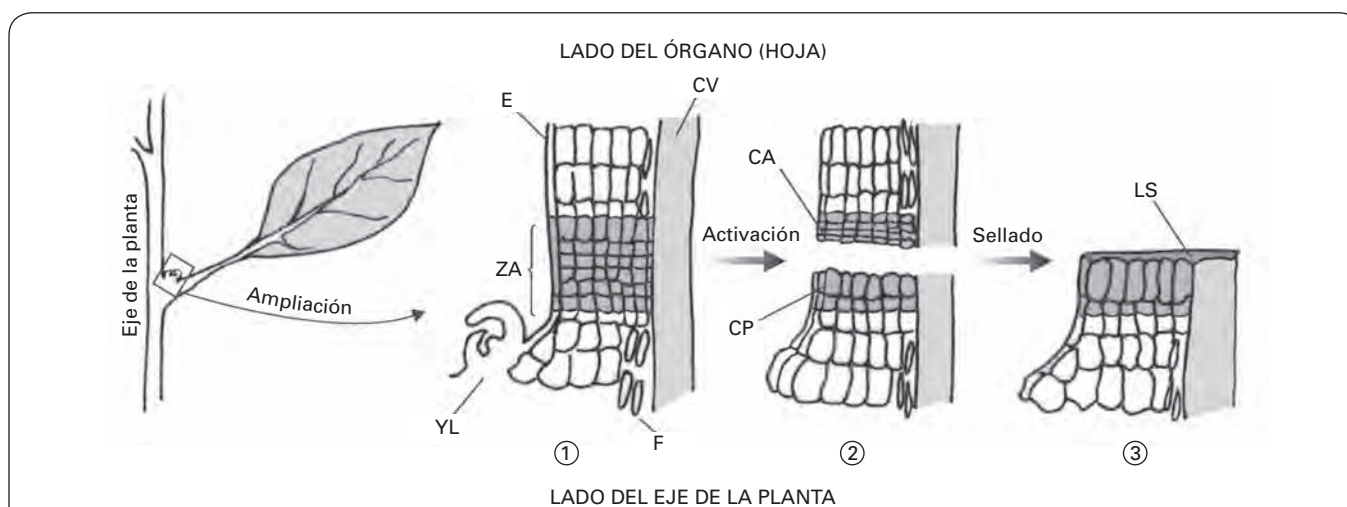


Figura 28-8. Representación esquemática del proceso de abscisión. Los esquemas 1, 2 y 3 representan cortes longitudinales de la zona del pecíolo indicada. Sólo se dibuja la parte que queda a la izquierda del cilindro vascular (CV), la parte derecha es simétrica. La zona sombreada se corresponde con la zona de abscisión (ZA) formada por células de pequeño tamaño y citoplasma denso, a diferencia del resto de las células de mayor tamaño y con fondo blanco, que son vacuoladas. Es patente la ausencia de esclereidas y fibras (F) entre la zona de abscisión y el cilindro vascular. Una vez que se activa el proceso (paso de 1 a 2), se puede observar el crecimiento de las células de la capa proximal (CP) que, junto con la disolución de las paredes, acaba provocando la separación de esta capa de la correspondiente adyacente (CA). Las células de CP continúan creciendo y el proceso concluye con el sellado de la herida (esquema 3) mediante lignosuberización (LS) y excreción de sustancias gomosas. E: epidermis; YL: yema lateral.

7.2. La degradación de los componentes hemicelulósicos y pécticos de la pared celular posibilita la separación entre células en la zona de abscisión

La observación de que, como parte importante del proceso de abscisión, se producía la disolución de la lámina media, constituida esencialmente por pectinas, hizo que desde los años sesenta del siglo pasado muchos investigadores se centraran en el estudio de las enzimas relacionadas con la degradación de este polímero de la pared celular. Así, se ha relacionado la disminución de la actividad pectina metil esterasa en la zona de abscisión, con el proceso de abscisión. La actuación de esta enzima provocaría una disminución de las formas insolubles de pectinas en favor de las solubles. Otros estudios enzimáticos y de biología molecular han encontrado relaciones espaciales y temporales entre la expresión de diversas **poligalacturonasas** y el proceso de abscisión.

Las pectinas no son la única diana de la actuación enzimática; existen también pruebas de la participación de **celulasas** (β -1,4 glucanasas) en el proceso de degradación de la pared celular en la zona de abscisión. En diversos sistemas experimentales se ha demostrado la presencia del mRNA específico de estas glucanasas en las células adyacentes al plano de fractura, y la de su producto proteico en el propio plano. La diana de la actuación de estas enzimas es, principalmente, el componente hemicelulósico de la pared celular y, posiblemente, zonas no cristalinas de la celulosa.

Todas estas enzimas son fundamentales en muchos de los procesos de separación celular antes citados, aunque suele tratarse de isoformas distintas con una expresión bastante específica (p. ej., sólo de zonas de abscisión y dehiscencia). Algunos datos recientes apuntan también a la posible actuación de las expansinas, si bien la evidencia experimental es en este caso menor. De cualquier forma, hoy se admite que la actuación de las enzimas involucradas en la degradación de la pared celular es el acontecimiento bioquímico que subyace al proceso de separación entre células en la zona de abscisión.

7.3. La abscisión está controlada hormonalmente; el balance entre el ácido indol-3-acético y el etileno en la zona de abscisión de las hojas es determinante

Son muchos los factores que pueden incidir simultáneamente sobre un órgano para inducir o no su abscisión. A nivel hormonal, los sistemas experimentales utilizados sugieren que las auxinas (en concreto el ácido indol-3-acético, AIA) y el etileno desempeñan un papel fundamental a la hora de dar una respuesta adecuada integrando las señales endógenas y ambientales a las que está sometida la planta. En términos generales, se puede decir que la auxina frena el proceso de abscisión y que el etileno lo acelera. A ello habría que añadir el papel que desempeña la sensibilidad del tejido a estas

hormonas y a otras señales, en principio determinada por la cantidad y la afinidad de los receptores presentes y por la red de traducción de señales que posean las células de la zona de abscisión.

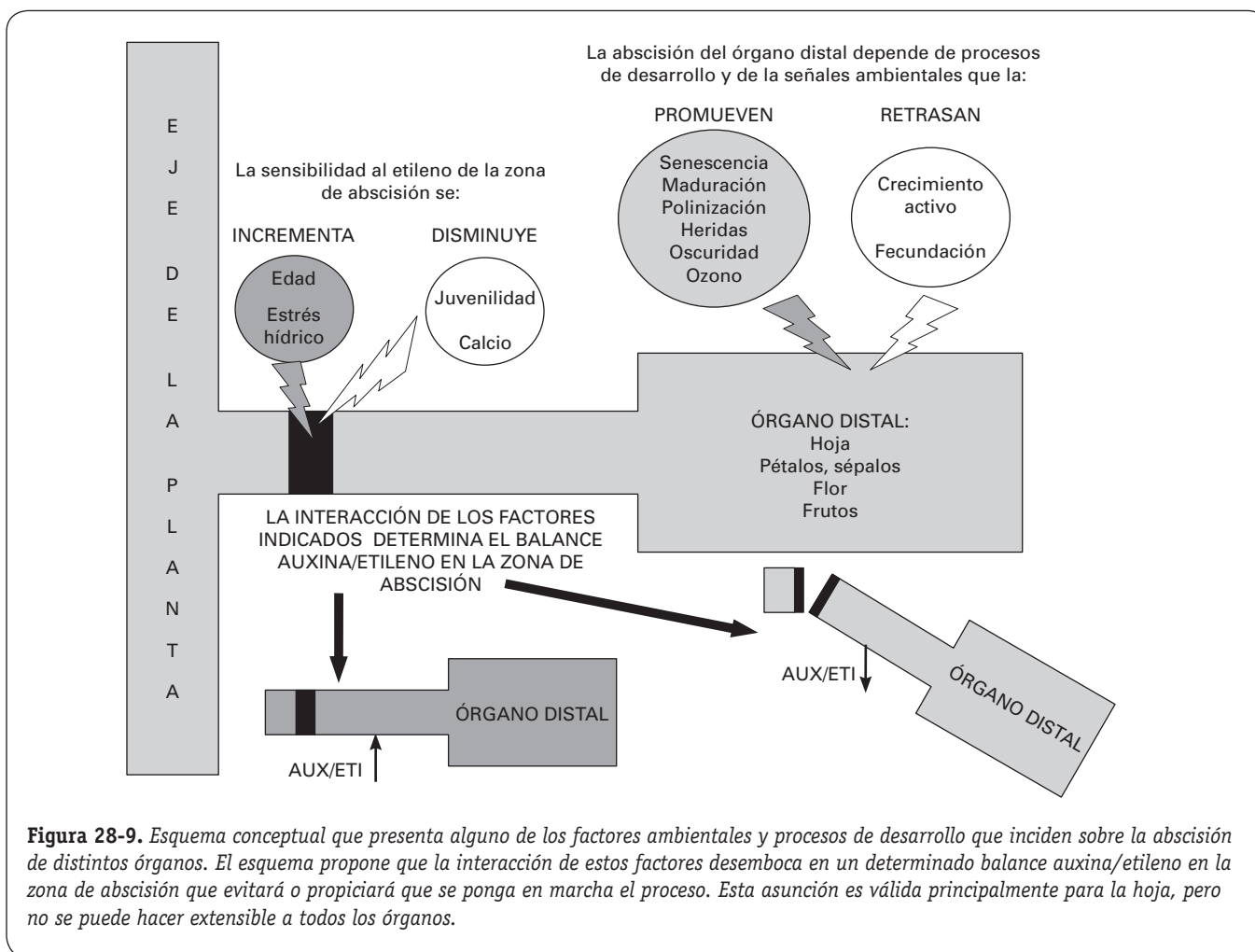
Para la abscisión foliar, se admite la hipótesis de que el flujo de auxina entre el órgano y el eje de la planta es determinante, ya que hace posible que en la zona de abscisión se mantengan unos niveles adecuados de auxina que impedirán la separación del órgano. Se consideran niveles adecuados aquellos que mantienen a las células de la zona de abscisión en **estado de insensibilidad (no respuesta) al etileno**. En el momento en que ese trasiego de auxina se modifica por alguna causa, haciendo que los niveles sean menores en la zona de abscisión, las células se vuelven sensibles al etileno y se inicia el proceso de separación. El etileno actúa entonces induciendo la expresión de genes que codifican las diferentes enzimas hidrolíticas mencionadas en el apartado anterior, y ello a su vez provoca la disolución de las paredes celulares de la zona de separación y la formación del plano de fractura ya descrito. El etileno no sólo actúa induciendo el proceso, sino que en fases posteriores, cuando la zona de abscisión ya es sensible a su presencia, acelera la separación. Los efectores positivos del proceso de abscisión serían aquellos que, por una parte, suponen un incremento de la síntesis de etileno y, por otra, un descenso de los niveles de auxina en la hoja. Por ejemplo, unas tasas bajas de crecimiento debidas a algún tipo de estrés abiótico, infecciones por patógenos, heridas u otros factores, se traducirán en una menor cantidad de auxina transportada desde el limbo foliar al eje de la planta, un incremento de la sensibilidad al etileno en las células de la zona de abscisión, y el aumento de los propios niveles de etileno. Todo ello desencadenará los acontecimientos que terminan con la separación de la hoja de la planta (Fig. 28-9).

En este modelo, que es el más general, el etileno desempeña un papel fundamental. Sin embargo, existen casos en los que este papel no es tan evidente, como el de la abscisión de órganos florales en *Arabidopsis*. En los mutantes de esta planta insensibles al etileno se observa que el proceso de abscisión transcurre igual que en las plantas silvestres, con la única diferencia de que el proceso se retrasa en los mutantes. Es decir, en esta especie el etileno no es tan determinante como en el modelo de abscisión foliar antes comentado.

Curiosamente, otra hormona vegetal que debe su nombre precisamente a su actuación en este proceso, el **ácido abscísico** (ABA), no tiene un papel preponderante en el control de la abscisión. En los modelos en los que se ha demostrado que interviene como inductor de la abscisión, se postula que el ABA actúa estimulando la acción del etileno, directa o indirectamente, al modificar el gradiente de auxinas.

7.4. La abscisión tiene un significado fisiológico

La abscisión es uno de los procesos que tienen lugar en la planta para ajustar su estructura a los cambios que se



producen tanto en su propio desarrollo como en el medio. Junto con la senescencia secuencial de tejidos y órganos, la abscisión forma parte de los procesos mediante los cuales la planta renueva las estructuras en las que se basa su funcionamiento como organismo. En los registros fósiles aparecen pronto pruebas de abscisión, lo que es fácil de entender si consideramos que la dispersión de

semillas y otros propágulos descansa en este mecanismo. Con la abscisión se elimina la demanda respiratoria de estructuras que no sean necesarias para la planta y, además, disminuye el área de exposición y, en consecuencia, el efecto pernicioso que sobre todo el organismo ejercen distintos tipos de estrés como la sequía, la salinidad, la carga de nieve o el ataque por patógenos.

RESUMEN



- El ciclo vital de una planta transcurre como una secuencia de fases de desarrollo que constituyen su ontogenia. Cada una de ellas contribuye de forma importante al mantenimiento y la propagación de la especie.
- Para que estas fases del desarrollo se sucedan con garantías de éxito, las plantas mantienen durante una etapa de su vida un estado juvenil caracterizado por el crecimiento vegetativo, el desarrollo de sus estructuras y la acumulación de reservas. Durante este período no suele darse el comportamiento reproductivo. Una vez superado ese estado, la planta es capaz de afrontar las demandas energéticas y estructurales que implica el desarrollo reproductivo; se dice entonces que la planta ha alcanzado el estado adulto o maduro.
- Al final del ciclo vital de la planta, o de algún tejido u órgano de ésta, se inicia un proceso denominado senescencia, que tiene lugar de forma programada, secuencial y con garantías de que los productos del desmantelamiento serán apro-



RESUMEN (Cont.)

vechados por otro órgano o tejido en desarrollo. Cuando el ciclo de una planta se cierra, las reservas van a las semillas, que servirán de germen de la siguiente generación.

- Los acontecimientos bioquímicos y fisiológicos que se observan en la senescencia de hojas, flores y frutos responden a esta pauta. Dichos acontecimientos se inician por señales hormonales o externas que inducen el cambio en la expresión de un determinado número de genes; a continuación, se desencadena una serie de procesos metabólicos, fundamentalmente hidrolíticos y de transporte, y como resultado final se produce una alteración en la vida de las células y los tejidos afectados, o del organismo en su totalidad, que envejece y muere.
- En ciertas situaciones muy concretas, la planta se deshace de un grupo de células que no le son útiles porque ya cumplieron su misión; este fenómeno se conoce como muerte celular programada.
- En muchos casos, la senescencia va seguida de un proceso de abscisión del órgano senescente.
- La abscisión es un proceso de separación celular localizado en unas pocas capas de células de la estructura que une el órgano al eje de la planta. En el caso de los pecíolos de las hojas, estas capas de células se diferencian pronto en el desarrollo. A nivel bioquímico, la separación se debe a la actuación de enzimas hidrolíticas de la pared celular que tienen como diana a los componentes péctico y hemicelulósico. El control hormonal de la abscisión en la hoja forma parte de un sistema en el que es determinante el balance de auxina-etileno en la zona de abscisión.
- La abscisión se pondría en marcha al disminuir este balance y hacerse la zona de abscisión sensible al etileno, que induciría la expresión de los genes cuyos productos actuarán sobre la pared celular.



PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1 ¿Qué se entiende por un ciclo de vida con alternancia de generaciones?
- 2 Al propagar vegetativamente estaquillas de naranjo se han utilizado, como fuente de material, árboles tanto en estado juvenil como en estado adulto ¿Cómo se distinguirían los clones procedentes de uno u otro material?
- 3 Los acontecimientos que se producen durante la senescencia, ¿son siempre resultado de la expresión de un cierto número de genes?
- 4 El tiosulfato de plata se ha utilizado comercialmente para prolongar la calidad de las flores cortadas. Sin embargo, este compuesto no es eficaz en todas las especies. Proponga una explicación plausible para este hecho.
- 5 La muerte celular programada, como su nombre indica, debe estar programada. Explique por qué se desencadena este proceso como respuesta a factores externos.
- 6 ¿Desempeña el etileno un papel importante en la diferenciación de la zona de abscisión?
- 7 ¿Cuál es el papel de las auxinas en el modelo de abscisión foliar?
- 8 ¿Qué tienen en común, y en qué se diferencian, la abscisión, la dehiscencia de algunas estructuras vegetales y el procesamiento que sufre la pared celular de muchos frutos carnosos durante la maduración?



RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1 En su forma más sencilla, se dice que una planta presenta un ciclo de vida con alternancia de generaciones cuando, durante el ciclo, existen dos generaciones con formas de reproducción distintas: una generación produce esporas que, al germinar, dan lugar al gametofito (2ª generación) a partir del cual se forman ambos gametos que, tras la fecundación, producen un nuevo esporofito.
- 2 Tanto el estado juvenil como el estado maduro o adulto son bastante estables y se suelen mantener al propagar vegetativamente el material. Por tanto, los

RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES (Cont.)



clones procedentes de material juvenil presentarán las características típicas de este material, tales como la presencia de espinas, y además tardarán mucho más en florecer y fructificar.

- 3 Sí, pues aunque ciertas condiciones ambientales de estrés (como las altas temperaturas, la sequía o el ataque por patógenos) pueden inducir la senescencia de toda o una parte de la planta, los cambios que se producen son el resultado de la acción de enzimas cuyas concentraciones se alteran debido a cambios en la expresión de genes. La diferencia entre la senescencia natural y la inducida radica en el tiempo y la forma de activación de los procesos de senescencia, no en los cambios que tienen lugar.
- 4 Si es eficaz, su acción debe centrarse en la inhibición de algún proceso de control o desarrollo de la senescencia de estos tejidos separados de la planta. Concretamente, se sabe con certeza que actúa como inhibidor de la acción de la hormona etileno (véase el Capítulo 22). Esto podría explicar por qué no es eficaz en las flores no climatéricas.
- 5 Porque la necesidad de deshacerse de una parte de la planta, o de un grupo de células que ya no son útiles, puede aparecer como resultado de su exposición a un medio externo desfavorable. Así se explica que, en respuesta a un ataque por patógenos, la planta provoque la muerte del grupo de células en torno al lugar de la infección, lo que impedirá la extensión de ésta.
- 6 La zona de abscisión se diferencia muy temprano en el pecíolo y, en principio, el etileno no interviene en este

proceso. El etileno actúa en la fase en la que la zona de abscisión, ya diferenciada, se vuelve sensible a esta hormona y pone en marcha la hidrólisis de las paredes celulares al inducir enzimas hidrolíticas específicas.

- 7 La regulación de la sensibilidad de la zona de abscisión al etileno. Existe un gradiente de ácido indol-3-acético entre el limbo foliar y el tallo. Dicho gradiente propicia un transporte de esta auxina desde la hoja al tallo. Cuando este trasiego se modifica, por ejemplo al disminuir la síntesis de auxinas en una hoja cuando envejece, la zona de abscisión se vuelve sensible al etileno y el proceso de abscisión se pone en marcha.
- 8 Tienen en común que, en los tres casos, a nivel celular se produce un desmantelamiento de la pared celular gracias a la actuación de enzimas con actividades similares. En especial, se degrada el componente péctico, lo que provoca que las células del tejido se separen unas de otras. Los factores endógenos y exógenos que regulan los tres procesos difieren, como es lógico, en los tres casos.

Además de la coincidencia antes mencionada, la abscisión y la dehiscencia coinciden en que este fenómeno de «disolución» de las paredes celulares se da en unas capas de células muy localizadas en el tejido, mientras que en el caso de los frutos este fenómeno está disperso por todo el tejido. La diferencia entre la abscisión y la dehiscencia es que, en el primer proceso, el objetivo es desprenderse de un órgano, mientras que en el segundo es la liberación al medio de alguna estructura de dispersión previamente almacenada, como granos de polen o semillas.

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA



1. Buchanan-Wollaston V, Page T, Harrison *et al.* Comparative transcriptome analysis reveals significant differences in gene expression and signalling pathways between developmental and dark/starvation-induced senescence in *Arabidopsis*. *The Plant Journal* 2005; 42: 567-585.
2. Chuck G, Hake S. Regulation of developmental transitions. *Current Opinion in Plant Biology* 2005; 8:67-70.
3. Dangl JL, Dietrich RA, Thomas H. Senescence and programmed cell death. En: Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL (eds.). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Rockville, American Society of Plant Physiologists, 2000; 1044-1100.
4. Gan, Amasino RM. Making sense of senescence. *Plant Physiol* 1997; 113:313-319.
5. Lewis, MW, Leslie ME, Liljegren SJ. Plant separation: 50 ways to leave your mother. *Current Opinion in Plant Biology*, 2006; 9:59-65.
6. Metzger JD. Hormones and reproductive development. En: Davies PJ (ed.). *Plant Hormones. Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 1995; 617-648.

**BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA (Cont.)**

7. Nooden LD. The phenomenon of senescence and aging. Whole plant senescence. En: Nooden LD, Leopold AC (eds.). *Senescence and Aging in Plants*. San Diego, Academic Press, 1988; 1-50:391-439.
8. Pennell RI, Lamb C. Programmed cell death in plants. *The Plant Cell*, 1997; 9:1157-1168.
9. Reid MS. Ethylene in plant growth, development and senescence. En: Davies PJ (ed.). *Plant Hormones. Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 1995; 486-508.
10. Roberts JA, Whitelaw CA. González-Carranza, ZH *et al.* Cell separation in plants. Models, mechanisms and manipulation. *Annals of Botany*, 2000; 86: 223-235.
11. Roberts JA, Elliot KA, González-Carranza ZH. Abscission, dehiscence, and other cell separation processes. *Annual Review of Plant Biology*, 2002; 53: 131-158.
12. Taylor JE, Whitelaw CA. Signals in abscission. *New Phytologist*, 2001; 151:323-339.
13. Valpuesta V *et al.* Senescencia y abscisión. En: Azcón-Bieto J, Talón M (eds.). *Fisiología y Bioquímica Vegetal*. Madrid, McGraw-Hill/Interamericana, 1993; 479-492.

Fisiología de las plantas y el estrés

FRANCISCO R. TADEO, AURELIO GÓMEZ-CADENAS



1. Introducción. 2. Estrés biótico. 3. Estrés abiótico. 4. Respuestas generales frente al estrés.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. El medio ambiente puede imponer condiciones desfavorables para el crecimiento y el desarrollo vegetal

Las plantas son organismos incapaces de moverse de un lugar a otro en busca del ambiente más adecuado para su crecimiento, y por ello no pueden escapar de las situaciones de **estrés medioambiental**. El concepto de estrés implica la presencia de un factor externo a la planta, provocado por un medio ambiente cambiante, que ejerce una influencia negativa sobre su desarrollo óptimo. La inmovilidad, de hecho, es la causa última de que las plantas hayan adquirido y perfeccionado, a lo largo de miles de años de evolución, mecanismos de autodefensa que les permiten vivir en ambientes muy diversos. Tanto es así, que las plantas han conseguido extenderse y colonizar prácticamente todos los ambientes existentes en la Tierra, independientemente de la altitud y la latitud en que se encuentren.

1.2. Las respuestas, las adaptaciones y las acomodaciones al estrés tienen distinto significado fisiológico

El término **respuesta** posee un significado amplio, que incluye los de adaptación y acomodación; se entiende por respuesta cualquier alteración estructural o funcional que se produce en las plantas como consecuencia de un estrés. En cambio, los

términos **adaptación** y **acomodación** tienen un significado más restringido, pues hacen referencia a aquellas modificaciones heredables y, por tanto, incluidas en la información genética, que aumentan la probabilidad de que una planta sobreviva y se reproduzca en un ambiente dado. La diferencia entre ambos conceptos radica en que mientras la adaptación es una modificación duradera, que se manifiesta continuamente en la fisiología de la planta, la acomodación es una modificación transitoria y, por consiguiente, reversible. El concepto de acomodación siempre está incluido dentro del de adaptación, y se define como la expresión fenotípica transitoria de uno o varios fenómenos de adaptación. Un ejemplo que puede aclarar las diferencias entre adaptación y acomodación es la presencia del aerénquima en las raíces. El aerénquima es un tejido especializado que permite la difusión del oxígeno desde la parte aérea de la planta hasta las raíces. El desarrollo del aerénquima es una adaptación de las plantas hidrófitas (las plantas acuáticas que viven sumergidas o con sus hojas flotando en el agua) que está presente permanentemente, incluso cuando las condiciones de inundación desaparecen. Sin embargo, las plantas mesófitas sólo desarrollan el aerénquima cuando están sometidas a condiciones de encharcamiento.

El término acomodación suele utilizarse también con frecuencia para referirse a tratamientos suaves de estrés que permiten que una planta, a continuación, resista unas condiciones más desfavorables de ese mismo estrés. Aquí, el término acomodación resulta equivalente a otros utilizados en el mismo sentido, como **aclimatación** o **endurecimiento** (*hardening*). El concepto de **resistencia** o **tolerancia** al estrés hace referencia a la capacidad de una planta para sobreponerse a unas condiciones ambientales desfavorables.

1.3. Las condiciones medioambientales pueden ser estresantes para una especie y no para otras

El concepto de estrés es en sí mismo relativo, ya que una determinada situación medioambiental puede resultar estresante para una especie y no para otras. Por ejemplo, la carencia de agua debida a la sequía es uno de los componentes naturales del ambiente de las plantas xerófitas, plantas que toleran la falta de agua. A lo largo de la evolución, estas plantas han desarrollado una serie de adaptaciones que no sólo les han permitido colonizar ambientes áridos, sino que hace que éstos sean los más adecuados para ellas. La presencia de humedad elevada, por tanto, puede llegar a ser incluso perjudicial para estas especies y convertirse en una situación de estrés.

1.4. La respuesta de las plantas al estrés puede dividirse en cuatro fases

Las plantas presentan un estado fisiológico característico y óptimo para las condiciones medioambientales particulares a las que están expuestas (Fig. 29-1). En cuanto se presenta el estrés, las plantas reaccionan ralentizando o deteniendo sus funciones fisiológicas básicas y reduciendo su vigor. Esta reacción o **fase de alarma** es concomitante con la activación de los mecanismos de que dispone para hacer frente al estrés. Las plantas que no poseen mecanismos adecuados de defensa o de respuesta frente al estrés experimentan daños irreversibles y mueren. El desenlace es el mismo cuando la

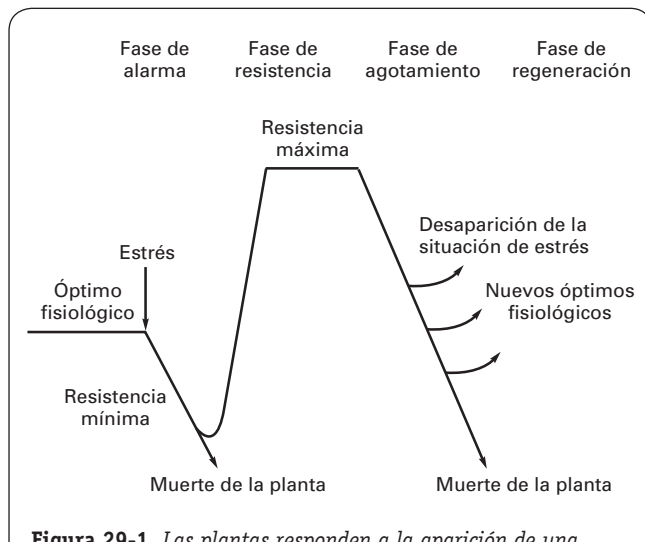


Figura 29-1. Las plantas responden a la aparición de una situación de estrés según un modelo secuencial que comprende cuatro fases. Una vez aparece el estrés, se disparan los mecanismos de adaptación necesarios para hacerle frente. En función de la intensidad y la duración de la situación adversa, así como del momento en que desaparece, la planta alcanza un nuevo óptimo fisiológico particular.

situación de estrés es muy intensa y supera la capacidad de respuesta de la planta. La activación de los mecanismos defensivos o de respuesta conduce a la acomodación del metabolismo celular a las nuevas condiciones, a la activación de los procesos de reparación de la maquinaria celular dañada y a la expresión de las adaptaciones morfológicas adecuadas. En esta **fase de resistencia**, los cambios que se producen permiten a la planta alcanzar un nuevo estado fisiológico óptimo para las actuales condiciones, estado que se corresponde con el grado máximo de resistencia que puede alcanzar. Si la situación de estrés se mantiene durante un tiempo excesivo, la capacidad de resistencia se agota y la planta ralentiza o detiene nuevamente sus funciones. Esta **fase de agotamiento** de la resistencia culmina con la muerte de la planta si la situación de estrés no desaparece a tiempo. Pero cuando el estrés desaparece, las funciones fisiológicas de la planta pueden regenerarse y ésta puede alcanzar un nuevo estado fisiológico óptimo para las condiciones presentes. Esta última **fase** se denomina **de regeneración**. Los ciclos estrés/respuesta pueden considerarse acontecimientos rutinarios a lo largo de la vida de las plantas.

1.5. La naturaleza del factor medioambiental adverso permite distinguir entre estrés biótico y abiótico

Las plantas, a lo largo de su ciclo vital, están expuestas a un gran número de condiciones o factores estresantes, que pueden agruparse en bióticos y abióticos (Cuadro 29-1). El **estrés biótico** es el causado por la acción de los seres vivos, como los pequeños o grandes animales, otras plantas, y los denominados agentes patógenos (bacterias, hongos, virus y viroides). El **estrés abiótico**, dependiendo de la naturaleza del agente causal, puede dividirse en físico y químico. Entre los físicos (en realidad, físico-químicos), se encuentran el déficit hídrico, la salinidad (en su componente osmótico), las temperaturas extremas (calor, frío, congelación), la excesiva o insuficiente irradiación, la anaerobiosis producida por encharcamiento o inundación, el estrés mecánico producido por el viento o la excesiva compactación del suelo, y el inducido por heridas o lesiones. El estrés químico está causado por la salinidad (en su componente iónico o tóxico), por la carencia de elementos minerales y por los contaminantes ambientales, como el dióxido de azufre (SO_2), los óxidos de nitrógeno (NO_x), los compuestos clorofluorocarbonados (CFC), el ozono (O_3) y los metales.

1.6. Las situaciones de estrés no suelen sobvenir de manera aislada, sino de forma simultánea

En general, en un ambiente dado suelen aparecer diferentes situaciones de estrés al mismo tiempo. Por ejemplo, en los desiertos, la escasez de precipitaciones ocasiona estrés hídrico

CUADRO 29-1. Condiciones o factores estresantes que pueden afectar al crecimiento y el desarrollo de las plantas.

I. Factores bióticos	
<ul style="list-style-type: none"> • Grandes y pequeños animales • Otras plantas • Insectos • Bacterias, hongos, virus y viroides patógenos • Nematodos 	
II. Factores abióticos	
<ul style="list-style-type: none"> • Sequía (estrés hídrico) • Exceso de sales en el suelo (estrés salino) • Calor, frío y congelación (estrés por temperaturas extremas) • Encharcamiento e inundación (estrés por anaerobiosis) • SO₂, NO_x, CFC • O₃ • Herbicidas • Metales 	} (estrés por contaminantes medioambientales)
<ul style="list-style-type: none"> • Deficiencia en elementos minerales (estrés nutricional) • Viento, suelo compacto, etc. (estrés mecánico) • Lesiones o heridas 	

por sequía, y esta condición adversa va acompañada también de elevadas temperaturas. En las costas bajas bañadas por mares que se adentran en la desembocadura de los ríos, los suelos suelen ser salinos y, además, están sometidos a anaerobiosis por los cambios en el nivel del agua. El estrés hídrico, que está asociado a largos períodos de sequía, también puede darse cuando la transpiración es excesiva debido a las altas temperaturas. La transpiración, en cambio, se reduce cuando la absorción de agua se ve limitada por la presencia de NaCl, bajas temperaturas, aireación deficiente, etcétera.

1.7. La señal de estrés sigue un camino complejo hasta que se manifiestan las respuestas en las plantas

La manifestación de las respuestas de las plantas frente a unas condiciones ambientales adversas implica la puesta en marcha de una secuencia compleja de acciones:

- percepción por la planta del estímulo estresante;
- procesamiento de la señal de estrés percibida, que implica tanto su amplificación como su integración en la ruta o rutas de transmisión de la información, y
- regulación de la expresión génica.

El estímulo externo de peligro debe transformarse en una señal interna, de naturaleza física o química (Fig. 29-2). A continuación, esta señal debe transmitirse a través de **cascadas o rutas de transmisión de la señal estresante** hasta el núcleo de las células, donde se producen los cambios en la expresión génica necesarios para hacer frente al estrés.

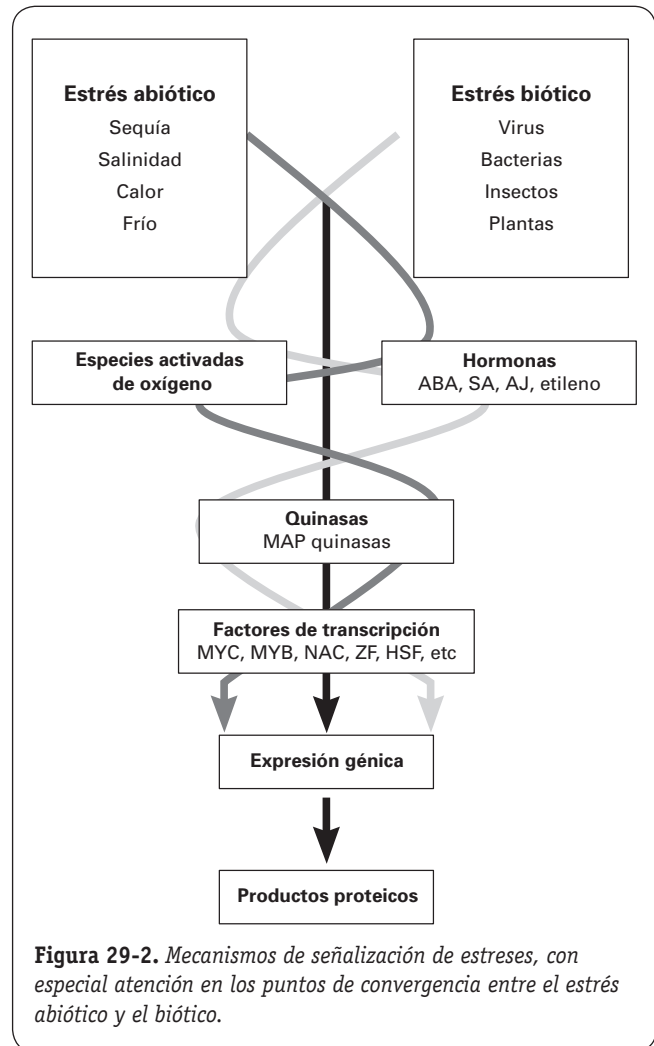


Figura 29-2. Mecanismos de señalización de estreses, con especial atención en los puntos de convergencia entre el estrés abiótico y el biótico.

La percepción del estrés por la planta continúa siendo el aspecto menos conocido de esta secuencia de acciones. Los cambios en la turgencia celular podrían intervenir en el sistema sensor del estrés osmótico, mientras que los **elicitors**, entre los que se encuentran las proteínas de transferencia de lípidos y los cerebrósidos secretados por algunas especies de hongos, activan la detección por las plantas de los organismos patógenos.

Las condiciones adversas inducen cambios transitorios en los niveles de determinados iones (calcio; Ca²⁺) y moléculas (lípidos, especies reactivas del oxígeno [ROS; *reactive oxygen species*], antioxidantes, óxido nítrico), que advierten a la célula de que ha sido detectada una señal de estrés. Las hormonas realizan una importante función en las rutas de transmisión intracelular de la señal de estrés. El ácido abscísico participa activamente en la señalización de muchas de las respuestas al estrés abiótico, en tanto que otras fitohormonas, como el etileno y los ácidos salicílico y jasmónico, están implicados en la transmisión de la señal de infección por patógenos. La señal generada por estas hormonas es transportada a menudo a menudo a través de episodios de fosforilación y desfosforilación. Las MAP-quinasas (*mitogen-activated pro-*

tein kinases) son esenciales en estos procesos de activación proteica.

La regulación de la expresión génica en el núcleo y los orgánulos implica tanto la activación como la represión de la transcripción de ciertos genes, cuyos productos proteicos son apropiados o no, respectivamente, para la supervivencia de la planta en las nuevas condiciones. El control de la transcripción se ejerce mediante los denominados factores de transcripción; recientemente se han encontrado numerosas familias de estos factores implicadas en las respuestas al estrés. Algunos factores transmiten múltiples estímulos de estrés (frío, sequía, infección, etc.), mientras que otros son específicos de una condición adversa. Además, la inducción de algunos de estos factores de transcripción depende de la señalización hormonal, mientras que la inducción de otros es totalmente independiente de estas señales. La expresión génica puede estar modulada en el citoplasma tanto a nivel de postranscripción (por la capacidad de procesamiento y la estabilidad de los transcritos de mRNA; por la eficacia de la traducción; por la tasa de recambio de las proteínas producidas) como de postraducción (por modificación, mediante fosforilación o proteólisis parcial, de la actividad de las proteínas producidas). Así, recientemente se ha descubierto que ciertos tipos de estrés (osmótico, nutricional, oxidativo) son capaces de inducir o bloquear la síntesis de algunos mRNAs no codificantes de pequeño tamaño, los microRNAs (miRNAs) y los pequeños mRNAs interferentes (siRNAs; *short interfering RNAs*), que actúan como silenciadores postranscripcionales, al marcar mRNAs concretos para que sean eliminados por la maquinaria degradativa celular, o bien como represores traduccionales, acciones que facilitan la tolerancia. Por último, los distintos tipos de estrés parecen inducir también una relajación en las señales epigenéticas que controlan el grado de metilación del DNA y de las histonas, lo que provoca la expresión de secuencias que normalmente están silenciadas, como, por ejemplo, los transposones. La expresión de estas secuencias conduce, a su vez, a una nueva respuesta de silenciamiento génico a medida que la célula intenta alcanzar un nuevo balance regulador adecuado para sobrevivir a las condiciones estresantes.

1.8. Las plantas presentan respuestas comunes frente a condiciones diferentes de estrés

En general, las respuestas o adaptaciones específicas a un determinado factor ambiental constituyen un pequeño porcentaje frente al gran número de respuestas comunes. Así, casi todas las condiciones de estrés modifican el patrón de crecimiento de la planta, estimulan la senescencia y la abscisión de los órganos deteriorados, y alteran el funcionamiento de las rutas más eficaces de producción de energía metabólica. Estas observaciones sugieren que los estímulos deben activar rutas de transmisión de la señal idénticas, similares o convergentes hacia un mismo abanico de respuestas defensivas.

2. ESTRÉS BIÓTICO

2.1. Las plantas pueden ser atacadas por multitud de patógenos

Los principales organismos que originan condiciones desfavorables para el crecimiento de las plantas son bacterias, virus, hongos, invertebrados, e incluso otras plantas. Cada tipo de patógeno ha desarrollado una forma particular de romper las defensas intrínsecas de los vegetales. Algunos utilizan los estomas u otros órganos de comunicación natural entre la planta y el medio, mientras que otros utilizan presión mecánica o segregan enzimas específicas para romper los tejidos de la planta. Sin embargo, la mayor parte de los patógenos invaden tejidos enfermos o previamente dañados.

Una vez en el interior de la planta, los patógenos utilizan distintas estrategias para alimentarse de ella. La **necrotrofia** entraña la muerte de las células infectadas y la colonización de la zona por el patógeno e implica la utilización de enzimas que degradan la pared celular vegetal, la utilización de toxinas, o de ambas. Es una estrategia de ataque común entre las bacterias y algunos hongos y produce la putrefacción de los tejidos. La **biotrofia** utiliza una táctica distinta. Las células vegetales son mantenidas con vida mientras producen alimentos para el patógeno, que en general requiere una importante especialización, pues existe una íntima relación entre la célula vegetal y el microorganismo. Algunos virus, hongos y nematodos endoparásitos son capaces de establecer esta relación con determinados huéspedes vegetales. Por último, la **hemibiotrofia** implica un ciclo inicial de biotrofia combinado con una fase final necrotrofica.

Los insectos también pueden alimentarse de las plantas. En general, hay dos categorías de insectos herbívoros: masticadores y chupadores. Además de los daños directos que los insectos provocan sobre los vegetales, los chupadores son capaces de transmitir virus depositándolos directamente sobre el tejido vascular, lo que permite su rápida distribución por la planta. Los masticadores raramente transmiten virus, pero dejan el tejido vegetal dañado y expuesto a ataques de hongos y bacterias necrótrofos.

2.2. Las plantas se defienden de los patógenos de formas diversas

Para poder activar las defensas de forma rápida y en el lugar concreto de la infección, las plantas han tenido que desarrollar un sistema complejo de vigilancia. Además de una serie de barreras estructurales o químicas, el reconocimiento de un patógeno incompatible (aquellos que fracasarán en su intento de infección) dispara una serie de respuestas que se conocen en su conjunto como **respuesta hipersensible** (HR; *hypersensitive response*). En la denominada hipótesis «gen a gen» (Fig. 29-3), el reconocimiento del patógeno por la planta se debe a la interacción, directa o indirecta, del producto de un gen de resistencia de la planta (gen R) con

el producto del correspondiente gen de avirulencia del patógeno (gen *Avr*). Este reconocimiento conlleva la activación de diferentes rutas metabólicas (enzimas que fortalecen la pared celular; síntesis de especies reactivas de oxígeno [ROS], de fitoalexinas y de proteínas defensivas) y el suicidio selectivo de algunas células en las que se acumulan todos estos compuestos de actividad antipatogénica impidiendo, de esta manera, el posible ataque posterior de especies necrotóficas. El ataque de algunos insectos herbívoros activa la síntesis de otro grupo de pequeñas proteínas también con una finalidad defensiva. Estos péptidos, inhibidores de las proteinasas del tracto digestivo del herbívoro, reducen la disponibilidad de aminoácidos esenciales y pueden, así, bloquear el crecimiento de los insectos o incluso llegar a matarlos. En paralelo a esta respuesta rápida y local, las plantas son capaces de activar una respuesta preventiva en los tejidos alejados de la infección. Esta respuesta, denominada de **resistencia sistémica adquirida** (SAR; *systemic acquired resistance*), tardará unas horas en completarse e inducirá un conjunto de genes que incrementarán la resistencia vegetal a posteriores infecciones de diversos patógenos. La respuesta SAR dependerá de la entidad del organismo atacante. Por ejemplo, muchos virus, hongos y bacterias activan una respuesta SAR en la que la formación por el patógeno de una zona necrótica en la zona de la invasión activa, por una parte, la acumulación local de **ácido salicílico** (SA; *salicylic acid*) pero, además, se origina una señal que viajará por el floema y que promoverá la misma acumulación de SA en tejidos muy alejados de la infección. En el caso del ataque por insectos, la difusión por distintos

tejidos del gas metiljasmonato (MeJa) y de otra señal llamada **sistemina** provoca la acumulación de inhibidores de las proteinasas y otras respuestas sistémicas en los tejidos alejados del punto de infección.

Los elementos que participan en la activación y la señalización de estas respuestas, HR y SAR, no son totalmente conocidos, y la interrelación entre hormonas y otros componentes de la cadena señalizadora son todavía fuente de discusión. Como se ha indicado, el ácido jasmónico, el SA y sus derivados son moléculas esenciales en la señalización de las respuestas sistémicas, pero también se ha demostrado su participación en respuestas de HR. Junto a estas fitohormonas, se sabe que el ácido benzoico, el etileno y el ácido abscísico también ejercen un papel señalizador. Más aún, distintos estudios indican que el óxido nítrico y la propia acumulación de ROS son señales para la rápida activación de un amplio repertorio de respuestas defensivas después de un ataque por patógenos.

3. ESTRÉS ABIÓTICO

3.1. El estrés hídrico es, probablemente, la condición desfavorable más común

De todos los recursos que la planta necesita para crecer y desarrollarse, el agua es el más importante y limitado (véase el Capítulo 2). El agua es el componente mayoritario de las plantas, puesto que llega a suponer hasta

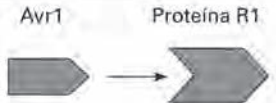
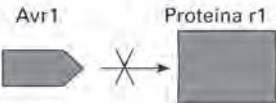
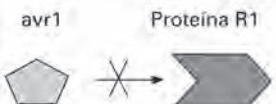
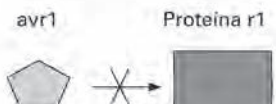
Genotipo del patógeno	Genotipo de la planta huésped	
	R1	r1
Avr1	 <p>Planta y patógeno son INCOMPATIBLES NO APARECE ENFERMEDAD</p>	 <p>Planta y patógeno son COMPATIBLES SÍ APARECE ENFERMEDAD</p>
avr1	 <p>Planta y patógeno son COMPATIBLES SÍ APARECE ENFERMEDAD</p>	 <p>Planta y patógeno son COMPATIBLES SÍ APARECE ENFERMEDAD</p>

Figura 29-3. Hipótesis gen a gen. Para que se produzca resistencia (incompatibilidad), se han de encontrar pares de genes dominantes complementarios, uno en la planta y otro en el patógeno. Cualquier alteración en el gen de resistencia vegetal (p. ej., R muta a r) o en el gen de virulencia del patógeno (p. ej., Avr muta a avr) conlleva la aparición de la enfermedad (compatibilidad).

el 90% del peso fresco en las especies herbáceas, y más del 50% en las leñosas. Las plantas están continuamente absorbiendo agua por la raíz y perdiéndola por las hojas. La planta solamente absorbe agua si su potencial hídrico tiene un valor mayor que el del suelo (cuando sea más negativo). Cuando el potencial hídrico interno se iguala con el externo, ya no se absorbe agua y la planta se deshidrata. El estrés hídrico está asociado a los ambientes con baja pluviometría o con una distribución irregular de las lluvias. Además, las plantas pueden experimentar períodos transitorios de estrés hídrico durante el mediodía. El número de adaptaciones de las plantas al estrés hídrico es muy elevado aunque, en cuanto a las respuestas específicas, cabe señalar únicamente la enorme capacidad de algunas plantas, como la planta de la resurrección *Crateostigma plantagineum*, para secarse casi completamente y reactivar después sus procesos vitales cuando dispone de agua. Otras respuestas se traducen en modificaciones morfoanatómicas características de las plantas xerófitas, las tolerantes a la sequía.

3.2. El estrés salino presenta dos componentes: el factor osmótico y el factor iónico

Los suelos salinos estaban restringidos, en principio, a ambientes costeros y márgenes de desiertos con una elevada tasa de evaporación de agua. Sin embargo, el uso indiscriminado de fertilizantes químicos y la sobreexplotación de los acuíferos han provocado que, en la actualidad, la tercera parte de la superficie cultivable de la Tierra esté afectada por la salinidad. El efecto negativo que el estrés salino tiene sobre el crecimiento y el desarrollo vegetal se debe a dos factores: el osmótico y el iónico. El **factor osmótico** deriva de la dificultad que entraña para las plantas compensar los valores tan negativos que puede alcanzar el potencial hídrico del suelo salino. Los espacios capilares del suelo contienen agua con solutos disueltos y, por tanto, su potencial hídrico es negativo, con valores que se sitúan entre -1 y -5 bares. En estas condiciones, las plantas pueden absorber el agua fácilmente, ya que las células de la raíz consiguen alcanzar potenciales inferiores (véase el Capítulo 2). Cuando la concentración de solutos en el agua de los suelos salinos se incrementa, el potencial hídrico se reduce, y las plantas experimentan dificultades para absorber agua. El **factor iónico** de la salinidad radica en la toxicidad iónica. Los iones que más problemas inducen son el cloruro (Cl^-) y el sodio (Na^+), aunque otros como el nitrato (NO_3^-), el sulfato (SO_4^{2-}) o el amonio (NH_4^+) también son tóxicos. Su acumulación en las hojas reduce la tasa fotosintética, induce la pérdida de pigmentos y provoca la senescencia y la abscisión. Las plantas halófitas (plantas adaptadas a la salinidad) toleran la salinidad regulando la homeostasis iónica tisular y celular.

3.3. El estrés por temperaturas extremas puede deberse al calor, al frío o a la congelación

La temperatura condiciona la velocidad de las reacciones químicas catalizadas enzimáticamente, modifica la estructura y la actividad de las macromoléculas, y determina el estado físico del agua. Las especies se ven expuestas, generalmente, a fluctuaciones estacionales de la temperatura, baja en los meses invernales y elevada en el verano. Así, las plantas pueden estar sometidas a situaciones de estrés por temperaturas extremas debidas al calor, al frío y a la congelación. La mayoría de las plantas ralentiza su crecimiento a temperaturas superiores a 40 °C. Solamente las plantas xerófitas son capaces de sobrevivir cuando la temperatura asciende a más de 50 °C. El estrés por frío aparece entre 15 y 0 °C, y por debajo de los 0 °C suele producirse estrés por congelación. Una vez se han producido los primeros cristales de hielo, si la temperatura extrema se mantiene, los cristales aumentan de tamaño y, en consecuencia, se incrementa la concentración de solutos en el líquido extracelular y se produce la deshidratación irreversible del citoplasma y la muerte celular. El estrés, tanto por calor como por frío, provoca la pérdida de semipermeabilidad, ya que modifica la microviscosidad o fluidez de las membranas. Además, el estrés por temperaturas extremas tiene otros efectos, tales como la reducción de la tasa de crecimiento, la inhibición de la fotosíntesis y de la respiración, así como la activación de la senescencia y la abscisión.

A medida que la planta envejece, su capacidad de resistencia al estrés suele aumentar. En general, los órganos subterráneos de las plantas (las raíces, los bulbos y los rizomas) son más sensibles a la temperatura que los aéreos (los tallos y las hojas). Sin embargo, los órganos reproductivos son también muy sensibles. Los órganos o los tejidos deshidratados que han finalizado su desarrollo, como las semillas quiescentes o los granos de polen, pueden soportar temperaturas superiores a 70 °C o inferiores a 5 °C, aunque cuando se hidratan recuperan su sensibilidad a la temperatura. El efecto del estrés por frío se agudiza en condiciones de baja humedad relativa, ya que las temperaturas bajas reducen la capacidad de las raíces para absorber agua y bloquean la función de los estomas.

3.3.1. El grado de saturación de los lípidos de las membranas contribuye a la adaptación de las plantas al calor y al frío

La actividad de las proteínas integrales de membrana, que regulan el transporte de iones y solutos o la generación de energía metabólica, depende de que la matriz lipídica mantenga su microviscosidad o fluidez óptima (véase el Capítulo 1). Los componentes predominantes de la matriz lipídica de las membranas son los glicerolípidos (glicolípidos y fosfolípidos),

que son metil-ésteres que tienen unidos dos ácidos grasos de cadena larga en los dos primeros átomos de carbono de la molécula de glicerol. Los ácidos grasos que suelen estar unidos al primer átomo de carbono son saturados (sin dobles enlaces), mientras que en el segundo átomo se unen ácidos grasos insaturados (con dobles enlaces). La composición en ácidos grasos de los glicerolípidos determina la temperatura a la cual se produce la transición entre las dos fases en las que pueden encontrarse los lípidos: la de cristal líquido (poco viscosa o muy fluida) y la de gel (muy viscosa o poco fluida). El calor reduce la microviscosidad de las membranas, mientras que el frío la aumenta. La adaptación de las plantas al calor consiste en incrementar el porcentaje de ácidos grasos saturados en los glicerolípidos, con lo cual aumenta la temperatura a la que se produce la transición de fase. Por el contrario, la adaptación de las plantas al frío se basa en el aumento del porcentaje de ácidos grasos insaturados, que tiene el efecto contrario. Estas adaptaciones están basadas en la regulación tanto de la expresión génica como de la actividad de diferentes enzimas que controlan bien el grado de saturación de los ácidos grasos (las desaturasas) o bien su ensamblaje y recambio (las lipasas y las aciltransferasas). La contribución del grado de saturación de los lípidos de membrana a la adaptación de las plantas a las temperaturas extremas parece ser clara. Los mutantes *fad* y *fab* de *A. thaliana*, que presentan, respectivamente, deficiencia en la desaturación de ácidos grasos y membranas con ácidos grasos más saturados, muestran mayor tolerancia a las altas temperaturas y más sensibilidad al frío.

3.3.2. La capacidad de superenfriamiento permite a las plantas tolerar la congelación

Las plantas anuales evitan la congelación acelerando su ciclo vital, de forma que, cuando el estrés sobreviene, ya han formado las semillas. Otras plantas toleran la congelación mediante la capacidad, denominada **superenfriamiento**, de impedir la formación o propagación de cristales de hielo incluso a temperaturas inferiores al punto de congelación de los tejidos, que se sitúa entre -2 y -5 °C. El fenómeno de superenfriamiento se ha observado tanto en plantas monocotiledóneas como en dicotiledóneas, y parece estar relacionado con la acumulación de **proteínas anticongelantes** (AFP; *anti-freeze proteins*). Las AFP interactúan con los cristales de hielo, adhiriéndose a su superficie para impedir la unión de nuevas moléculas de agua. Las AFP también inhiben la recristalización del agua tras la descongelación. En algunas monocotiledóneas, las AFP son similares a las proteínas relacionadas con la patogénesis (PR) de tipo glucanasas, quitinasas y taumatinas, y desempeñan una doble función: evitar la propagación de los cristales de hielo y proteger los tejidos del ataque de los patógenos. El estrés por congelación también induce la expresión de otros genes, denominados *cor* (*cold-regulated genes*). Algunas proteínas COR presentan homología con los polipéptidos LEA (*late embryogenesis*

abundant). Su función crioprotectora podría derivar de su capacidad para estabilizar la estructura de otras proteínas, impidiendo su inactivación por congelación.

3.4. El estrés por anaerobiosis puede deberse a condiciones de hipoxia o de anoxia

En condiciones normales, las raíces obtienen directamente del suelo el oxígeno que necesitan para la respiración mitocondrial. El entorno radicular está así en contacto con el oxígeno del suelo a una presión parcial equivalente a la atmosférica (0.21 atmósferas). Sin embargo, cuando el suelo se satura de agua, el intercambio de gases con la atmósfera queda restringido a su porción más superficial. En principio, el agua estancada contiene disuelto el oxígeno que antes ocupaba los poros del suelo, pero cuando la temperatura es superior a 20 °C, las raíces y la flora microbiana aeróbica lo consumen en apenas 24 horas. Por tanto, las plantas soportan, primero, condiciones de **hipoxia** (el oxígeno del suelo es inferior al óptimo) y después, condiciones de **anoxia** (carencia de oxígeno). La falta de oxígeno bloquea la actividad del ciclo de los ácidos tricarbónicos y de la respiración, con lo que la producción de ATP y la regeneración de NAD⁺ y NADP⁺ se detienen (véase el Capítulo 14), y el estado energético de las células se reduce. La falta de ATP inhibe el transporte activo de H⁺ hacia la vacuola, ya que la actividad ATPasa del tonoplasto se bloquea, y el citoplasma se acidifica irreversiblemente, deteniéndose el metabolismo de la raíz. Además, el agotamiento del oxígeno disuelto en el agua propicia que los microorganismos anaerobios utilicen otros aceptores de electrones alternativos, como el nitrato, el SO₄²⁻ o el Fe³⁺, que, al reducirse, producen iones tóxicos para la raíz. Como consecuencia de estos cambios, la absorción de agua y sales por la raíz y su transporte hacia el tallo se detienen. Por tanto, la deficiencia en oxígeno del suelo afecta directamente a la raíz e, indirectamente, al tallo. El resultado final es la paralización del crecimiento, el marchitamiento y la epinastia de las hojas que da lugar a senescencia y abscisión, cierre de estomas, y bloqueo de la fotosíntesis y la respiración.

Sin embargo, en diversas zonas del planeta hay ecosistemas en los que, pese a que el sustrato permanece inundado de forma continua durante casi todo el año, existe vida vegetal. Una serie de adaptaciones permiten a diferentes especies tolerar esta situación ambiental. Las tres más características son: 1) el desarrollo de lenticelas que son hipertrofias de la base del tallo por donde se toma oxígeno atmosférico y se transporta hacia la raíz, y que además constituyen un mecanismo para expulsar catabolitos tóxicos producidos por la falta de oxígeno; 2) la formación de aerénquima, o espacios intercelulares amplios que se forman en los tejidos radiculares y del tallo en diferentes especies como respuesta frente a la inundación y que permiten que los tejidos radiculares se aireen mejor; y 3) la inducción de la regeneración radicular, que contribuye a aumentar la absorción de agua y la captación de oxígeno.

3.5. El estrés por luz se produce cuando la intensidad luminosa aumenta por encima del punto de saturación de luz

Las plantas experimentan estrés por luz cuando las clorofilas de las antenas de los fotosistemas, presentes en las membranas tilacoides de los cloroplastos, absorben más energía luminosa de la que puede ser utilizada para la fotosíntesis. Esta situación se produce cuando la intensidad luminosa aumenta, es decir, la **densidad del flujo de fotones** (PFD, *photon flux density*), hasta valores próximos o superiores al punto de saturación de luz. El punto de saturación de luz refleja la PFD con la cual la planta alcanza la mayor eficacia fotosintética. El punto de saturación es característico para cada especie vegetal y, cuando se supera, indica que otros factores, como la actividad de la enzima ribulosa-difosfato carboxilasa (rubisco) o el metabolismo de las triosas fosfato, son los que limitan la fotosíntesis. El estrés por luz se observa, por ejemplo, cuando se traslada una planta en condiciones sombreadas a plena luz solar. Sin embargo, también puede producirse cuando, permaneciendo constante la PFD, la fotosíntesis disminuye debido a situaciones adversas, como sequía, salinidad, temperaturas extremas o deficiencia mineral.

El estrés por luz conduce, en primer lugar, a la **fotoinhibición** de la fotosíntesis, es decir, a la reducción en la eficacia fotosintética y al bloqueo del transporte electrónico y la fotofosforilación. La fotoinhibición proviene de las lesiones oxidativas causadas al aparato fotosintético por la generación de especies reactivas del oxígeno (ROS, véase el apartado 4.1.) en el fotosistema I (PSI) y, sobre todo, en el fotosistema II (PSII). Las ROS producen la desnaturalización de las subunidades grande y pequeña de la rubisco y de las proteínas que componen las antenas y los centros de reacción de los fotosistemas. En el caso del PSII, las ROS inducen la desnaturalización de la proteína D1 del centro de reacción y de las proteínas LHCI (*light-harvesting complex proteins*) del complejo captador de luz de la antena del fotosistema. La pérdida de funcionalidad de las LHCI propicia la liberación de las clorofilas ligadas a estas proteínas y su destrucción por las clorofilasas. Esta destrucción de los pigmentos fotosintéticos se denomina **fotooxidación**.

Los organismos fotosintéticos han desarrollado diferentes mecanismos para contrarrestar las consecuencias negativas del exceso de energía absorbido por las clorofilas. Por ejemplo, la fotooxidación puede reducirse por la expresión rápida de los genes *elip* (*early light induced proteins*) que codifican proteínas que ligan transitoriamente, mientras dura el estrés o se reparan las proteínas LHCI, los pigmentos liberados. Las plantas pueden protegerse del estrés por luz mediante otras adaptaciones morfológicas, como los movimientos rápidos de los cloroplastos, y también mediante adaptaciones bioquímicas, activando el ciclo de las xantofilas.

3.6. El estrés por contaminantes ambientales deriva de las actividades humanas

La actividad industrial o agrícola produce y libera a la atmósfera y al suelo agentes contaminantes denominados **xenobióticos**, como dióxido de azufre (SO_2), óxidos de nitrógeno (NO_x), compuestos clorofluorocarbonados (CFC), herbicidas y metales. La combustión de hidrocarburos de origen fósil producida por los motores de los automóviles y aviones, así como por los sistemas de calefacción, libera a la atmósfera distintos gases, entre los que destacan SO_2 y NO_x . Su disolución en las gotas de agua de lluvia reduce el pH a valores extremadamente ácidos (entre 1.5 y 3.5). Cuando esta «**lluvia ácida**» se deposita en las plantas, las células sufren acidificación y daño.

Los CFC, liberados al utilizar aerosoles o durante el funcionamiento de sistemas de refrigeración como neveras o aparatos de aire acondicionado, junto con el SO_2 y los NO_x , modifican los niveles atmosféricos de **ozono** (O_3) y crean, paradójicamente, dos tipos de problemas diferentes. Por una parte, la radiación solar favorece la reacción entre estos gases y el O_3 localizado en la estratosfera (la capa de la atmósfera situada entre 10 y 50 km de altitud). Estas reacciones reducen el nivel de O_3 y, como consecuencia, la cantidad de radiación que llega al suelo aumenta, especialmente la UV-B (290-320 nm). El exceso de radiación UV provoca, fundamentalmente, mutaciones irreversibles en el material genético. Las plantas responden, en este caso, activando la ruta de síntesis de los compuestos fenilpropanoides (véase el apartado 4.6). Por otro lado, estas mismas reacciones también provocan la acumulación de ozono en la troposfera (cerca del suelo). Una vez que ha penetrado en las hojas a través de los estomas, el O_3 ocupa los espacios intercelulares y reacciona tanto con los grupos fenólicos, las olefinas y las proteínas de la pared celular, como con los lípidos insaturados y las proteínas de la membrana plasmática, generando ROS (véase el apartado 4.1). Si la concentración de O_3 es elevada, las numerosas reacciones de oxidación que se desencadenan inducen la pérdida de semipermeabilidad de la membrana plasmática y provocan el colapso y la muerte celulares.

Muchos **metales**, como el Mn, el Fe, el Zn o el Cu, son esenciales para el desarrollo normal de las plantas, ya que son componentes estructurales y catalíticos de proteínas y enzimas. Sin embargo, la actividad humana libera, sobre todo al suelo, grandes cantidades de metales. El exceso de aquéllos, y de otros como el Al, Cd, Hg, Ni o Pb, resulta tóxico para las plantas. La fitotoxicidad se manifiesta particularmente en los suelos ácidos y afecta al crecimiento y a la formación de las raíces laterales y secundarias. Además, la acumulación de Cd o Pb supone un peligro adicional al integrarse en la cadena trófica. Las adaptaciones específicas de las plantas al estrés por metales se basan en mecanismos que reducen su entrada en la planta o que, una vez absorbidos, permiten su almacenamiento en lugares que no son perjudiciales para las células (Fig. 29-4). La absorción de metales puede disminuir gracias a la unión a ácidos orgánicos liberados al suelo por los ápices radiculares o localizados en las paredes celulares,

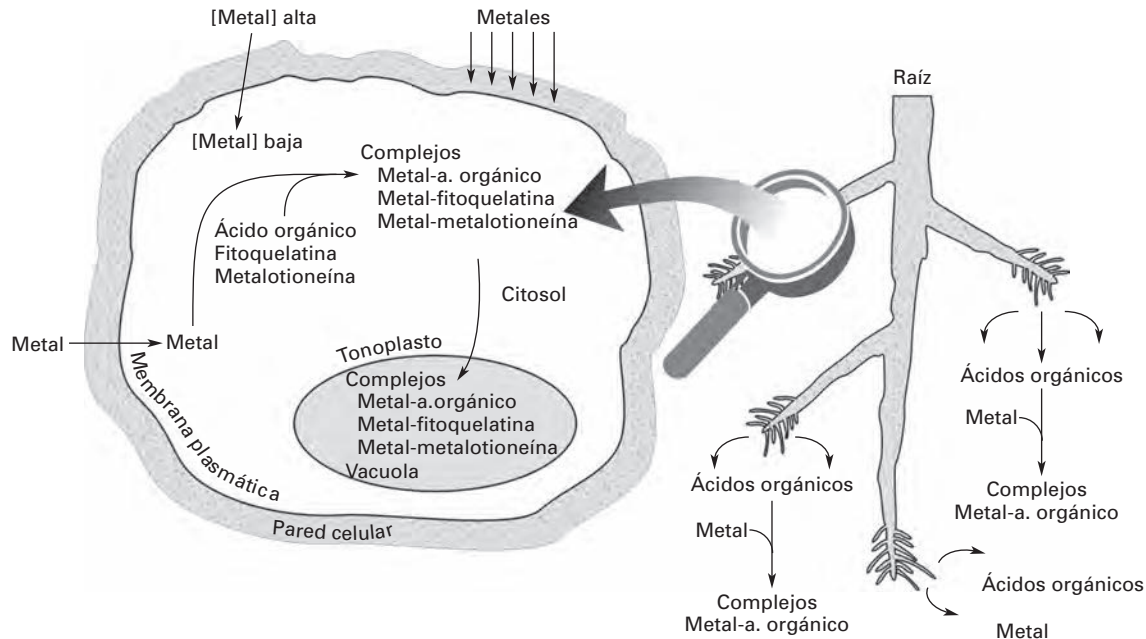


Figura 29-4. Los mecanismos de tolerancia a los metales se basan en limitar su entrada en la planta mediante la formación de complejos con ácidos orgánicos liberados al suelo por los ápices radiculares. Una vez dentro, también pueden fijarse a la pared celular, o restringir su transporte a través de la membrana plasmática. Ya dentro de la célula, los metales se unen a péptidos específicos (fitoquelatinas y metalotioneínas) o a los mismos ácidos orgánicos. Los complejos formados se almacenan después en la vacuola, donde no son perjudiciales.

así como por la restricción de su transporte a través de la membrana plasmática. La naturaleza de los ácidos orgánicos quelantes de metales es característica de cada especie. Así, en el trigo es el malato, mientras que en el maíz y en la judía es el citrato. Una vez que los metales han entrado en la célula, pueden ser eliminados del citoplasma por unión a los mismos ácidos, que también están presentes en la pared, o a diferentes péptidos ricos en el aminoácido cisteína, denominados **fitoquelatinas** (PCs; *phytochelatins*) y **metalotioneínas** (MTs; *metallothioneins*). Posteriormente, los metales unidos a estos compuestos son almacenados en la vacuola. Las PCs son una familia de péptidos de bajo peso molecular sintetizados enzimáticamente, mientras que las MTs son polipéptidos sintetizados por una familia multigénica. Ambos tipos de péptidos unen los metales mediante la formación de enlaces tiol con los residuos de cisteína de su molécula.

4. RESPUESTAS GENERALES FRENTE AL ESTRÉS

4.1. La señal de estrés se amplifica rápidamente siguiendo las oscilaciones en los niveles intracelulares de diferentes iones y moléculas

La percepción del estrés, ya sea biótico o abiótico, provoca un incremento rápido y transitorio de la **concentración intracelular de Ca^{2+} libre**. Esta oscilación en el nivel de Ca^{2+} intracelular parece estar ligada a la actividad tanto de

canales como de bombas y de transportadores de este ion. La actividad de los canales de Ca^{2+} que son estimulados por el inositol-1,4,5-trifosfato y la de la bomba de Ca^{2+} CAX1 se han relacionado con la respuesta frente a la salinidad, mientras que la actividad de los canales de Ca^{2+} que son estimulados por cADPR (*cyclic ADP-ribose*) se ha relacionado con el ataque de los patógenos. La percepción inicial de la señal del Ca^{2+} ligada al estrés se produce a través de su unión a diferentes sensores de Ca^{2+} , como las proteína quinasa dependientes de Ca^{2+} (CDPKs; *calcium-dependent protein kinases*) y las proteínas capaces de ligar Ca^{2+} (*Ca^{2+} binding proteins*). La proteína *OscDPK7* se ha relacionado con la tolerancia a la sequía, a la salinidad y al frío en el arroz, y las proteínas *NtCDPK2/3* han sido relacionadas con el desarrollo de la respuesta hipersensible en el tabaco. La regulación de la homeostasis iónica en condiciones de estrés salino por medio de la ruta SOS (*salt-overlay-sensitive*) está ligada a la oscilación en el nivel de Ca^{2+} intracelular y a la posterior activación de la expresión o de la actividad de SOS3 (una proteína con tres secuencias *EF-hand* que unen Ca^{2+}) (Fig. 29-5). SOS3 activa a la proteína SOS2 (una serina/treonina proteína quinasa), que fosforila a la proteína SOS1 (un intercambiador de Na^+ por protones H^+ localizado en el plasmalema). El complejo SOS3-SOS2 quinasa controla, además, la actividad de otro antiportador Na^+/H^+ del tonoplasto, la proteína ANX, y de la proteína HKT1, un transportador de Na^+ del plasmalema. De esta manera, la ruta SOS activada por Ca^{2+} intenta restablecer la homeostasis iónica en las células expuestas al NaCl.

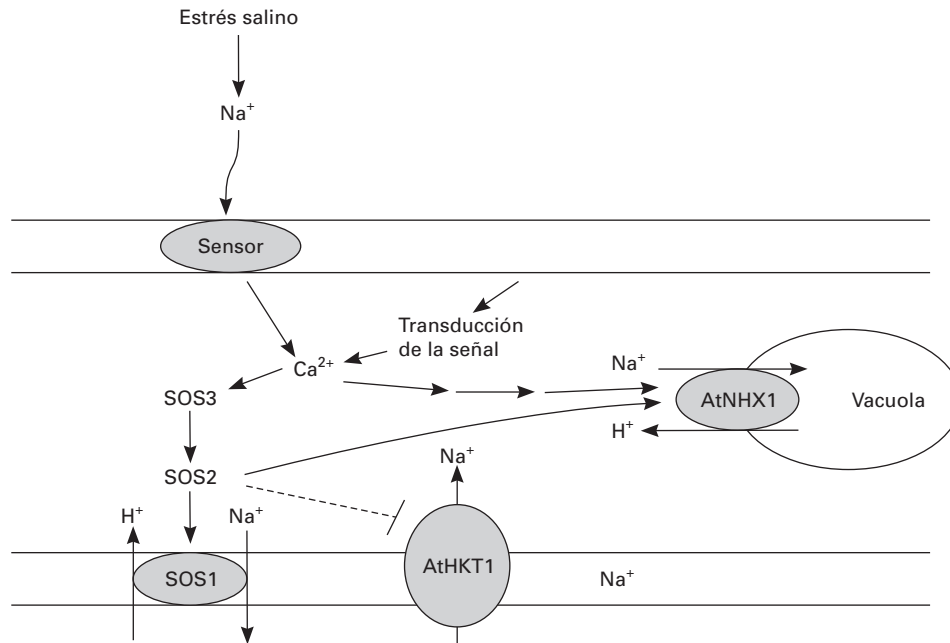


Figura 29-5. Mediante la ruta SOS, las plantas regulan la expresión de transportadores iónicos en la crucifera *Arabidopsis thaliana* a fin de mantener bajas concentraciones citoplasmáticas de Na^+ en condiciones de estrés salino.

Varias clases de **lípidos** (glicerolípidos, esfingolípidos, ácidos grasos, oxilipinas y esteroides) participan en la señalización frente al ataque de patógenos y en la mediación de la tolerancia a la sequía, a la salinidad y a las bajas temperaturas. La actividad de las fosfolipasas, las quininas y las fosfatasa de lípidos regula la producción espacial y temporal de estos lípidos señalizadores como respuesta frente a los distintos tipos de estrés. El ácido fosfatídico (PA; *phosphatidic acid*) es una potente molécula señalizadora del estrés en las plantas. La síntesis de PA se produce a partir de los fosfolípidos del plasmalema por acción de las fosfolipasas D, y también a partir del diacilglicerol (DAG; *diacylglycerol*), gracias a la actividad DAG-quinasa. La expresión de los genes que codifican estas enzimas aumenta en condiciones de estrés, y su actividad enzimática parece estar mediada por las proteínas G y por las oscilaciones en el nivel intracelular de Ca^{2+} .

Las células vegetales producen continuamente diferentes especies de oxígeno (anión superóxido, O_2^- ; peróxido de hidrógeno, H_2O_2 ; radical hidroxilo, OH^\cdot ; oxígeno en estado de singlete, $^1\text{O}_2$) como subproductos de varias rutas metabólicas localizadas en diferentes compartimentos celulares (el cloroplasto, la mitocondria y los microcuerpos). Estas **especies reactivas del oxígeno** (ROS; *reactive oxygen species*) forman peróxidos en contacto con los ácidos grasos poliinsaturados de los glicerolípidos de las membranas, modifican los aminoácidos que componen las proteínas y bloquean el metabolismo celular. El nivel de acumulación de ROS en las células está limitado por la síntesis de antioxidantes no enzimáticos (como el glutatión, el ascorbato y el α -tocoferol); y por la síntesis de enzimas antioxidantes (como la superóxido dismutasa, la ascorbato peroxidasa, la glutatión reductasa, la deshidroascorbato reductasa, la monodeshidroascorbato

reductasa y la catalasa). El glutatión, el ascorbato y el α -tocoferol actúan como antioxidantes o como sustratos en las reacciones de detoxificación. En el estroma del cloroplasto, en la matriz mitocondrial y en el citosol se localiza un ciclo de regeneración de antioxidantes denominado **ciclo de Halliwell-Asada**, en el cual el ascorbato y el glutatión se oxidan y se vuelven a reducir utilizando el NAD(P)H como último donador de electrones (Fig. 29-6 A). El ascorbato también actúa como reductor en la regeneración de α -tocoferol en las membranas (Fig. 29-6 B) y en el ciclo de las xantofilas del cloroplasto. El glutatión induce la expresión de genes defensivos y es también precursor de las fitoquelatinas. La catalasa se encarga de eliminar el H_2O_2 generado en los microcuerpos por las oxidasas implicadas en la β -oxidación de los ácidos grasos y en el ciclo del glioxilato.

Por otra parte, tal como se indica en el apartado 2.2, las células vegetales estimulan la producción de ROS en el apoplasto en cuanto reconocen la presencia de agentes patógenos. La respuesta está mediada por NADPH-oxidasas del plasmalema y por peroxidasas de la pared celular, y se conoce como «explosión oxidativa» (*oxidative burst*).

4.2. Las fitohormonas participan activamente en la transmisión de la señal de estrés

Las fitohormonas forman parte de los mecanismos de transmisión interna de la señal de estrés, ya que cumplen los siguientes requisitos:

- Como respuesta al estrés, las plantas acumulan una o varias hormonas de forma rápida, y los niveles de

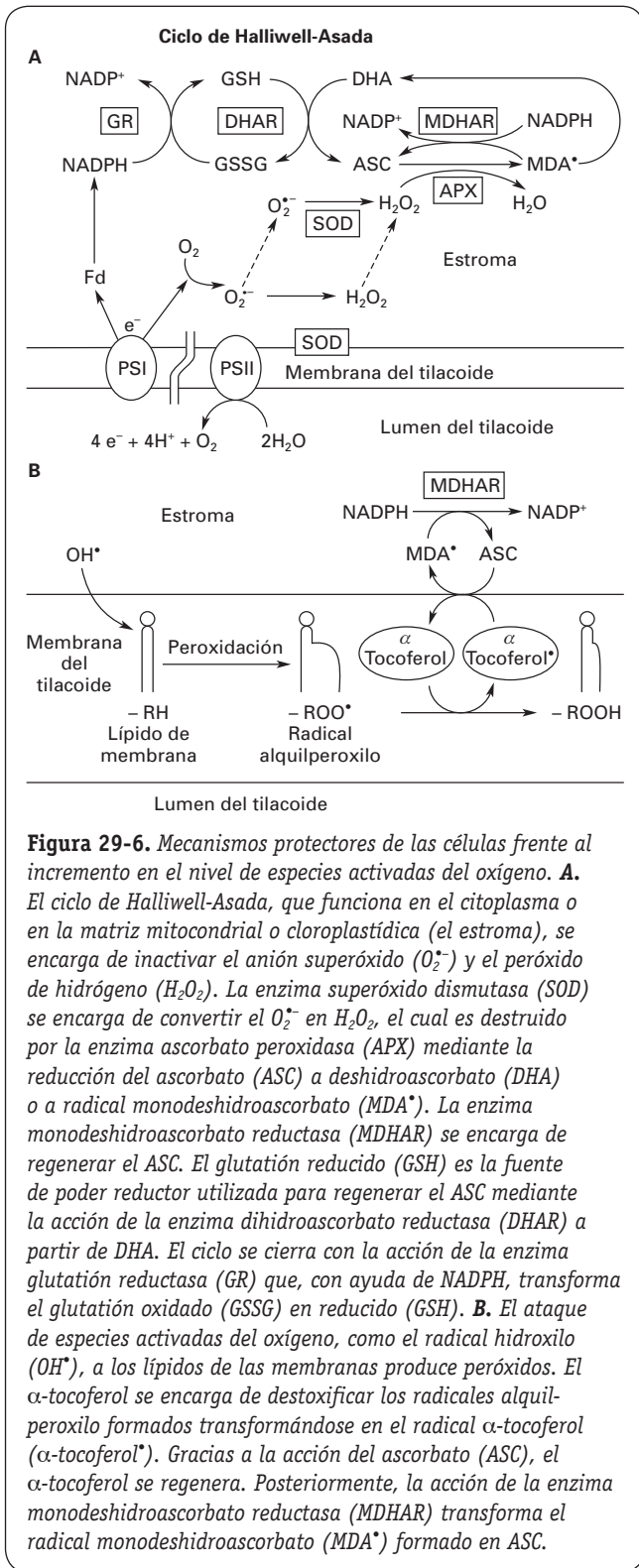


Figura 29-6. Mecanismos protectores de las células frente al incremento en el nivel de especies activadas del oxígeno. **A.** El ciclo de Halliwell-Asada, que funciona en el citoplasma o en la matriz mitocondrial o cloroplastídica (el estroma), se encarga de inactivar el anión superóxido ($O_2^{\cdot -}$) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2). La enzima superóxido dismutasa (SOD) se encarga de convertir el $O_2^{\cdot -}$ en H_2O_2 , el cual es destruido por la enzima ascorbato peroxidasa (APX) mediante la reducción del ascorbato (ASC) a deshidroascorbato (DHA) o a radical monodeshidroascorbato (MDA^{\cdot}). La enzima monodeshidroascorbato reductasa (MDHAR) se encarga de regenerar el ASC. El glutatión reducido (GSH) es la fuente de poder reductor utilizada para regenerar el ASC mediante la acción de la enzima dihidroascorbato reductasa (DHAR) a partir de DHA. El ciclo se cierra con la acción de la enzima glutatión reductasa (GR) que, con ayuda de NADPH, transforma el glutatión oxidado (GSSG) en reducido (GSH). **B.** El ataque de especies activadas del oxígeno, como el radical hidroxilo (OH^{\cdot}), a los lípidos de las membranas produce peróxidos. El α -tocoferol se encarga de detoxificar los radicales alquilperóxido formados transformándose en el radical α -tocoferol (α -tocoferol[•]). Gracias a la acción del ascorbato (ASC), el α -tocoferol se regenera. Posteriormente, la acción de la enzima monodeshidroascorbato reductasa (MDHAR) transforma el radical monodeshidroascorbato (MDA^{\cdot}) formado en ASC.

c) Las hormonas inducen la expresión de genes que codifican proteínas implicadas, al parecer, en las respuestas y adaptaciones a las condiciones estresantes, o en su recuperación cuando han desaparecido estas condiciones adversas.

Entre las fitohormonas implicadas en la respuesta frente a las condiciones de estrés ambiental se encuentran el ácido abscísico (ABA), el etileno y el ácido jasmónico (AJ, *jasmonic acid*) (véase el Capítulo 22). Las giberelinas (GAs), que están muy implicadas en el crecimiento vegetal, también parecen estar relacionadas con las respuestas al estrés. La salinidad induce la expresión del gen *DDF1* (*dwarf and delayed-flowering-1*), un factor de transcripción de la familia AP2 que está muy relacionado filogenéticamente con los genes *DREB1/CBF*, que también son inducidos por otros tipos de estrés, como la sequía y el frío (véase el apartado 4.4.1). La proteína DDF1 controla los niveles de GAs activas al reprimir las etapas biosintéticas catalizadas por las GA20-oxidasas (GA20ox) y, además, participa en la expresión del gen *RD29A*, inducible por el estrés. Por otra parte, el estrés por frío reprime la expresión de dos *GA20ox* y de *GAI*, y activa la expresión de una *GA2-oxidasa* y de *RGL3* (*RGALike protein 3*), genes que participan en la biosíntesis y en la transducción de la señal de GAs (véase el Capítulo 20). Otras fitohormonas, como las auxinas, las citoquininas o las poliaminas, también se han relacionado con el estrés, aunque con menor frecuencia.

Las plantas reaccionan ante un gran número de situaciones desfavorables (déficit hídrico, salinidad, encharcamiento, calor, frío, carencia de minerales, producción de lesiones y ataque de patógenos, entre otras) incrementando el contenido de ABA. En la actualidad, se sabe que las enzimas codificadas por los genes *NCED* (*9-cis-epoxycarotenoid dioxygenases*) son claves en la biosíntesis de ABA en condiciones de estrés. Igualmente, parece demostrado que la expresión de otros dos genes, *AAO3* y *AtABA3*, implicados igualmente en el metabolismo del ABA, se activan como respuesta frente al estrés osmótico.

La existencia de circunstancias adversas para la raíz induce respuestas características en la parte aérea, tales como la ralentización del crecimiento de las hojas, el cierre estomático, la epinastia y la senescencia. Este hecho parece indicar que existe un mecanismo por el que la raíz percibe, primero, los cambios que se producen en el suelo y, después, advierte de ellos a la parte aérea para que se desencadenen las respuestas adecuadas. En este sentido, el ABA puede considerarse como una señal sensora que transmite estímulos, como la falta de agua desde la raíz hacia las hojas. Así, en condiciones de estrés hídrico moderado, las raíces producen ABA, que puede ser transportado a la parte aérea a través del xilema, para provocar, entre otros efectos, el cierre estomático. El ABA induce, además, otras respuestas adaptativas: reducción del crecimiento caulinar, ajuste osmótico, aumento en la conductividad de las raíces y cambios en la expresión génica, como se explica en el Capítulo 22. El ABA también participa en la transmisión de las señales de

éstas descienden cuando las condiciones adversas desaparecen.

b) La aplicación exógena de hormonas en condiciones no estresantes incrementa la tolerancia de las plantas cuando se les imponen condiciones desfavorables.

estrés en cooperación con otras hormonas, como el etileno y el ácido jasmónico.

Muchos tipos de estrés, tanto bióticos como abióticos, inducen la estimulación de la biosíntesis de **etileno**. El ataque de patógenos, la deficiencia en hierro, las heridas o lesiones, el viento, la excesiva compactación del suelo, el déficit hídrico, la salinidad, el calor, el frío, la hipoxia, el O_3 , el SO_2 y la acumulación de metales en el suelo inducen la expresión de genes que codifican enzimas de la ruta biosintética del etileno (véase el Capítulo 22). Estas enzimas están codificadas por familias multigénicas, en las que la expresión de cada gen está regulada independientemente y, en algunos casos, por las condiciones de estrés. Por ejemplo, la sequía, la salinidad y el ataque de insectos inducen la expresión diferencial de genes que codifican la S-adenosilmetionina sintasa, mientras que el estrés producido por lesiones o heridas y por inundación induce la expresión de genes de ACC sintasa y oxidasa. La inducción de algunas de estas respuestas depende de la acción coordinada del etileno y otra u otras fitohormonas. Por ejemplo, la imposición de estrés hídrico intenso al mandarino Cleopatra reduce los potenciales hídrico y osmótico, interrumpe el flujo xilemático entre la raíz y el tallo, e incrementa el contenido de ABA y de el ACC en la raíz (Fig. 29-7). La rehidratación de las plantas reactiva el flujo xilemático, que transporta el ABA y el ACC acumulados en la raíz hacia la parte aérea de la planta y revierte los niveles de los potenciales a sus valores normales. En las hojas, el ACC se convierte en etileno e induce como respuesta la abscisión

de las hojas. En condiciones de hipoxia, el ACC también es transportado por el xilema desde la raíz a las hojas, donde induce epinastia. Por tanto, el etileno puede considerarse también como una señal que transmite estímulos ambientales desde la raíz a las hojas.

Varios tipos de estrés, como el producido por la radiación UV, por lesiones o heridas, por el ataque de patógenos y por la carencia de agua, estimulan la síntesis de **ácido jasmónico** (AJ, *jasmonic acid*; véase el Capítulo 22). Entre las respuestas adaptativas que dispara el AJ se encuentran la represión de genes nucleares y del cloroplasto implicados en la fotosíntesis, y la expresión de genes que codifican proteínas con actividad antifúngica (como las tioninas), proteínas relacionadas con la patogénesis (como la osmotina), proteínas inhibitoras de la actividad proteasa, glicoproteínas de la pared celular ricas en prolina e hidroxiprolina, y enzimas de la ruta de síntesis de flavonoides (como la corismato mutasa y la fenilalanina amonio liasa). Los insectos fitófagos producen distintas enzimas de tipo proteasa con el fin de degradar las proteínas nativas de la planta huésped. Como respuesta, las plantas inducen la expresión de genes que codifican proteínas inhibitoras de la actividad de esas enzimas, denominadas inhibidores de proteasas (PI; *protease inhibitors*). Los elicitores de naturaleza polisacárida derivados de la degradación de la pared celular participan en la inducción local de la expresión de estos genes *pi*, mientras que el péptido sistémico, el ABA y otras señales de naturaleza física (hidráulica y eléctrica) dispersan la señal por el órgano afectado y por la propia planta (Fig. 29-8). El ABA estimula la síntesis de AJ, mientras que el etileno participa en el proceso de inducción génica dependiente del AJ.

4.3. El recambio de proteínas y su grado de fosforilación participan en la regulación de la respuesta al estrés

Una gran variedad de condiciones adversas incrementa la proteólisis intracelular. Este efecto está mediatizado, en parte, por el incremento de la actividad de un grupo particular de enzimas denominadas **proteasas**. Las proteasas se sintetizan en el citoplasma como preproteínas que contienen un péptido de tránsito que les permite penetrar en los diferentes compartimientos celulares: vacuola, cloroplasto o mitocondria. Las proteasas participan en la activación de proteínas relacionadas con la adaptación al estrés, así como en la degradación de proteínas desnaturalizadas. En último término, la actividad de estas enzimas proporciona aminoácidos libres para la síntesis de nuevas proteínas. La **ruta principal de degradación proteolítica** presente en las células vegetales es la denominada **ubiquitina/proteosoma 26S** (Fig. 29-9). La proteína de 76 aminoácidos ubiquitina es utilizada en esta ruta catalítica como una molécula de señalización, reutilizable, que marca o etiqueta selectivamente las proteínas que deben degradarse. Las proteínas que deben ser eliminadas unen covalentemente varias unidades de ubiquitina mediante una secuencia de reacciones catali-

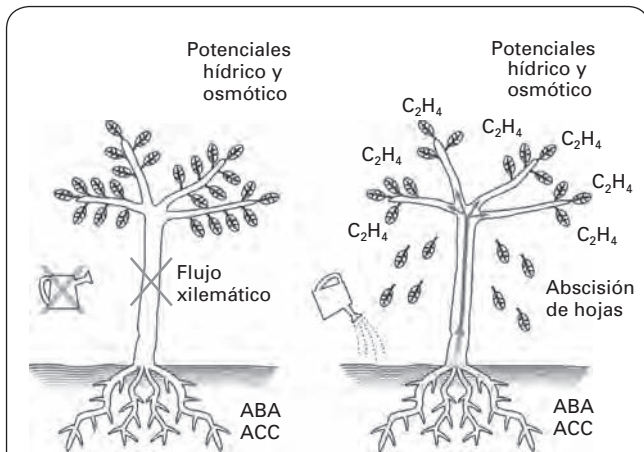


Figura 29-7. La aplicación de condiciones de estrés hídrico grave a las plantas leñosas, como el mandarino Cleopatra, bloquea el flujo xilemático e induce el descenso en el nivel de los potenciales hídrico y osmótico en las hojas y la acumulación de ácido abscísico (ABA) y del precursor inmediato del etileno, el ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), en las raíces. Cuando se alivian esas condiciones estresantes por el riego, los niveles de ambos potenciales en las hojas se restablecen, y tanto el ABA como el ACC acumulados en las raíces viajan hasta la parte aérea de la planta al restituirse el flujo xilemático. El ACC se transforma en etileno en las hojas, el cual induce su abscisión.

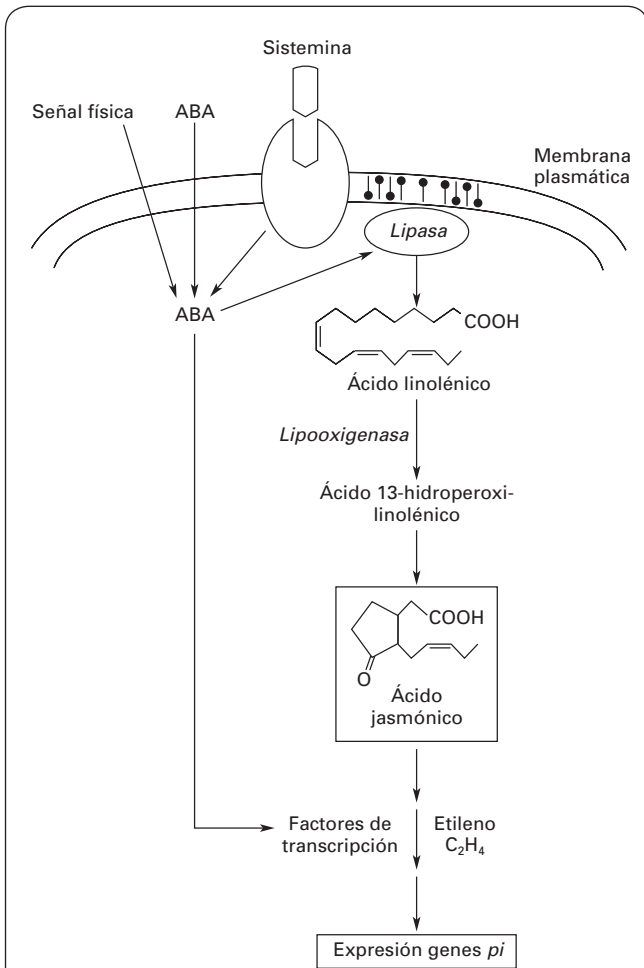


Figura 29-8. La inducción de la expresión de los genes que codifican los inhibidores de proteasas (genes *pi*) comienza con la acumulación de ácido abscísico (ABA) en la célula, procedente de otras zonas de la hoja atacadas por los insectos o estimulado por señales físicas o por la unión de la sistemina a un receptor del plasmalema. El ABA estimula entonces la actividad de una lipasa que libera ácido linolénico de los glicerolípidos del plasmalema, el cual se transforma en ácido jasmónico a través de la ruta de los ácidos octadecanoicos, por la acción secuencial de varias enzimas. El ataque de los insectos induce la expresión de un gen que codifica la lipooxigenasa, la primera enzima de la ruta. El ácido jasmónico, actuando en coordinación con el ABA y el etileno, induce la expresión de los genes *pi* y la acumulación de los inhibidores de proteasas.

zada por tres clases de enzimas (E1s: enzimas que activan a la ubiquitina; E2s: enzimas que conjugan la ubiquitina; E3s: enzimas que ligan la ubiquitina). En los genomas vegetales secuenciados, estas enzimas están codificadas por familias multigénicas; ello implica que, sobre todo en el caso de las E3s, debe existir especificidad en cuanto a la proteína que unen y etiquetan. A continuación, las proteínas poliubiquitinizadas son degradadas por el proteosoma 26S (un complejo proteolítico dependiente de ATP, compuesto por 31 subunidades), liberándose los aminoácidos fruto de la reacción proteolítica y las ubiquitininas que tenían unidas

por la acción de las enzimas desubiquitinizadoras. Gracias a este ciclo, la ruta ubiquitina/proteosoma 26S es capaz de eliminar las proteínas desnaturalizadas y una gran parte de las proteínas reguladoras de vida media corta en los diferentes compartimientos celulares en los que actúa (citoplasma, núcleo, membrana y RE) influyendo, de esta forma, tanto en los procesos de desarrollo normal de las plantas como en su adaptación a las condiciones estresantes. El gran número de componentes de esta ruta catabólica identificados hasta ahora en las especies vegetales secuenciadas (~1400 genes en *A. thaliana*, >5% del proteoma) sugiere que, junto a la transcripción y a la fosforilación de proteínas, es uno de los principales puntos reguladores de las funciones celulares vegetales. Además, la necesidad de sobrevivir en un medio ambiente cambiante probablemente ha determinado que las plantas adopten medidas adicionales de control de la proteo-

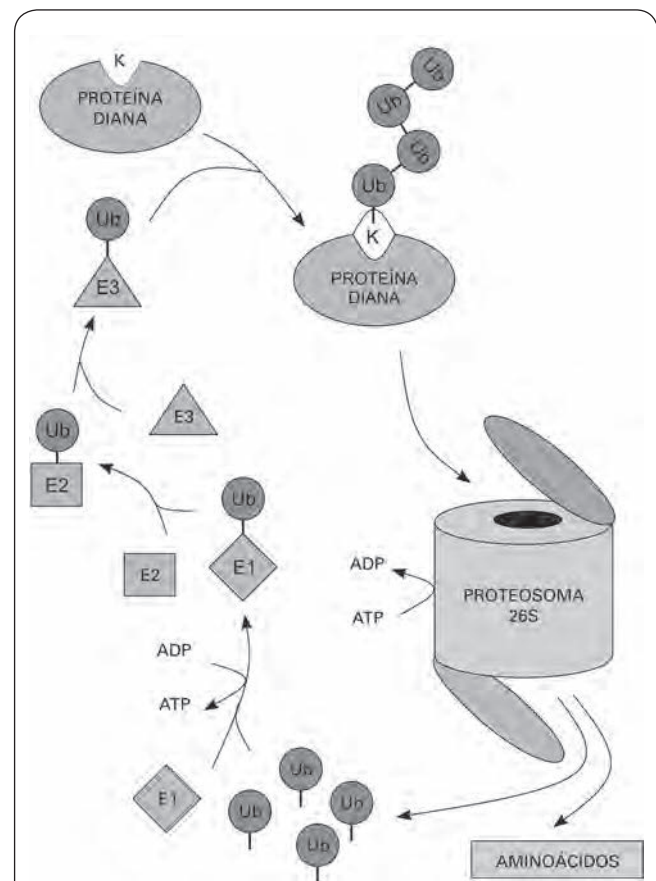


Figura 29.9. Esquema de la ruta proteolítica ubiquitina/proteosoma 26S. La ruta comienza con la activación de la ubiquitina (Ub) por las enzimas E1, un proceso dependiente de ATP. A este paso inicial sigue la transferencia de la Ub a una enzima E2 y, finalmente, la unión de la Ub a una lisina (K) de la proteína diana gracias a la actividad de una enzima E3. La proteína diana queda etiquetada para su degradación, que se produce en el proteosoma 26S con hidrólisis también de ATP. Al acabar el proceso se liberan los aminoácidos y la Ub para ser utilizados nuevamente por la célula.

lisis, con el fin de regular el metabolismo celular de manera muy eficaz y sobrevivir así a las condiciones de estrés. Las familias F-box y RING/U-box (*real interesting new gene*) de proteínas E3 son las más representadas en los vegetales. En *A. thaliana* se ha estimado que existen más de 1300 proteínas E3 funcionalmente no redundantes, que pueden participar en el marcaje de casi 2600 proteínas. Ello implicaría que una gran parte de las proteínas diana podría tener sus propias cascadas de ubiquitinización y que, por tanto, podrían reconocer señales únicas de degradación.

Los diferentes tipos de estrés regulan la producción de etileno tanto a nivel transcripcional, induciendo la expresión diferencial de genes que codifican ACC-sintasas (ACSs) y ACC-oxidasas (ACOs), como postranscripcional, regulando el recambio de las ACSs a través de la actividad de la proteína ET01 (*ethylene overproducer 1*). La proteína ET01 contiene en su secuencia dominios de interacción proteína-proteína del tipo BTB (*broad-complex, tram-track, bric-à-brac*), que son capaces de unir las E3 ubiquitina ligasas a sus sustratos proteicos diana a fin de que sean etiquetados para su degradación por la ruta ubiquitina/proteosoma 26S. **La fosforilación/desfosforilación** de las ACSs puede implicar cambios en su estructura que permitan su asociación con ET01 y estimulen su degradación proteolítica. La fosforilación de las ACSs por diferentes quinasas, CDPK (proteína quinasa dependiente de Ca^{2+}) y MPK6 (MAP-quinasa), estabiliza las proteínas, bloqueando su degradación cuando la planta detecta condiciones de estrés. La «sensación» de frío en las plantas está regulada negativamente por la proteína RING-E3, denominada HOS1. El gen *hos1* se expresa de manera ubicua en todos los tejidos vegetales, y la proteína HOS1 se localiza en el citoplasma a temperaturas no estresantes, donde degrada el factor de transcripción ICE1 (*inducer of CBF expression 1*), relacionado con la tolerancia al frío (véase el apartado 4.4.1.). La exposición a las bajas temperaturas induce el transporte de HOS1 del citoplasma al núcleo, lo que permite que aumenten los niveles de ICE1 y la expresión de los genes asociados a la tolerancia al frío. El tratamiento de las plantas con elicitores induce la expresión de una proteína E2 (OsUBC5b) y de una proteína RING-E3 (EL5) en el arroz, así como de una subunidad CP del proteosoma 26S en el tabaco. En *Arabidopsis thaliana*, la invasión por patógenos reduce drásticamente la vida media de la proteína de resistencia RPM1, un posible receptor específico de patógenos. En la cebada, la proteína RAR1, necesaria para la defensa mediada por las proteínas R, interactúa con la proteína SGT1, que activa un complejo SCF-E3. La pérdida de función de SGT1 atenúa la respuesta defensiva de las plantas frente a un amplio rango de patógenos, e implica a esta proteína en una reacción convergente dirigida por varias proteínas R. La proteína SGT1 facilita, posiblemente, el ensamblaje específico de SCF-E3s, necesario en muchas respuestas defensivas mediadas por las proteínas R. La proteína NPR1 parece ser el nexo de unión entre las rutas de transducción de señales bióticas dependientes de SA y de AJ. NPR1 es una proteína con dominios BTB/BOZ y *ankyrin* que median en las interacciones proteína-proteína. La activación de NPR1 por el SA es nece-

saria para el bloqueo de las señales de AJ, pero cuando se localiza no en el núcleo sino en el citoplasma. El SA podría modular, mediante la acción de NPR1, la abundancia de un represor a través de la actividad de la proteína F-box **CO11**. La proteína NPR1, además, bloquea la inducción de la F-box SON1, que participa en la degradación de los activadores de resistencia sistémica.

También la sequía, la salinidad, el frío, el calor y la presencia de metales inducen la síntesis de **proteínas** denominadas **de choque térmico** (HSP; *heat shock proteins*). Estas proteínas se han identificado en animales, microorganismos y plantas, en donde participan activamente en la respuesta celular al calor. Las HSP se dividen en cinco clases muy conservadas: HSP100, HSP90, HSP70, HSP60 y HSP de bajo peso molecular (smHSP; *small HSP*). Las smHSP actúan como chaperonas al unirse a proteínas desnaturalizadas para prevenir su asociación irreversible a otras proteínas y la acumulación de agregados insolubles, o bien promueven su correcto plegamiento una vez desaparecido el estrés. Las smHSP están codificadas por una familia nuclear multigénica cuya expresión está regulada, a su vez, por las situaciones de estrés. Las proteínas codificadas por los diferentes genes también están «marcadas», de forma que pueden actuar en diferentes compartimientos celulares. Su nivel en los tejidos sometidos a estrés puede llegar a ser hasta 200 veces superior al basal; algunas smHSP se acumulan hasta representar el 1% del total de proteínas.

4.4. La interacción entre rutas de transducción de señales es la base de las respuestas comunes de las plantas a varias situaciones de estrés

Tal como se indica en el apartado 1.6, las situaciones ambientales adversas a menudo aparecen agrupadas. Además, se sabe que algunas de las respuestas al estrés son generales, con independencia del factor externo que provoque el estímulo en la planta (véase el apartado 1.8). La modulación de respuestas comunes y específicas reside, con frecuencia, en la interconexión entre rutas señalizadoras de estrés.

4.4.1. La conexión entre ciertos tipos de estrés abióticos tiene lugar mediante rutas de señalización independientes de ABA

Los distintos tipos de estrés inducen la expresión de un conjunto de genes cuyos productos proteicos participan no sólo en la tolerancia al estrés, sino también en la regulación de la expresión génica y en la transducción de la señal estresante. El efecto de la falta de agua sobre el crecimiento se debe a un descenso en la eficacia fotosintética, a la deshidratación, y al menor acceso a los nutrientes. El exceso de sales en el medio y las bajas temperaturas imponen también estas trabas osmóticas al crecimiento, aunque en el caso de la salinidad, también actúa la toxicidad iónica y, en el del frío,

se añade su efecto sobre el metabolismo. En los tres tipos de estrés se observan cambios rápidos y transitorios en el contenido intracelular de Ca^{2+} y en el balance ROS/antioxidantes. La sequía y la salinidad incrementan sensiblemente el contenido en ABA de los órganos estresados gracias a la activación de diferentes genes de su ruta biosintética, como una 9-*cis*-epoxicarotenoide dioxigenasa (NCED; 9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase). Pese a que el frío provoca un aumento moderado en el nivel de ABA, ninguno de los genes de los que se sabe que participan en su metabolismo parece estar regulado por este tipo de estrés. Ello sugiere que el ABA no debería ser una señal importante en la ruta de transducción de la señal de frío; sin embargo, la aplicación de ABA a órganos no estresados induce tanto la expresión de genes asociados a la deshidratación como la de otros genes asociados al estrés por bajas temperaturas. Entre la percepción inicial de sequía, salinidad o frío y la expresión de genes relacionados con la tolerancia a estos tipos de estrés

existen rutas de transducción de la señal de estrés comunes (Ca^{2+} y ROS/antioxidantes) y otras rutas dependientes e independientes del ABA. La sequía, la salinidad y el frío interactúan a través de rutas independientes del ABA que están conectadas entre algunos de sus módulos (Fig. 29-10).

La sequía, la salinidad y el frío inducen la expresión de alrededor de 300 genes en la crucifera *Arabidopsis thaliana*. Más de la mitad de estos genes están inducidos por la sequía y la salinidad, lo que indica que estos tipos de estrés interactúan entre sí para desencadenar respuestas de tolerancia. Sólo una décima parte de estos genes inducidos por estrés osmótico están inducidos también por el frío. Una parte de los genes se expresa rápida y transitoriamente, y codifica proteínas de naturaleza reguladora, mientras que el resto se expresa de manera lenta y gradual en condiciones de estrés. Sólo una parte de estos últimos genes es inducida por el ABA. En los promotores de los genes que se inducen por ABA (p. ej., *RD29B*) existe una secuencia conservada, el ele-

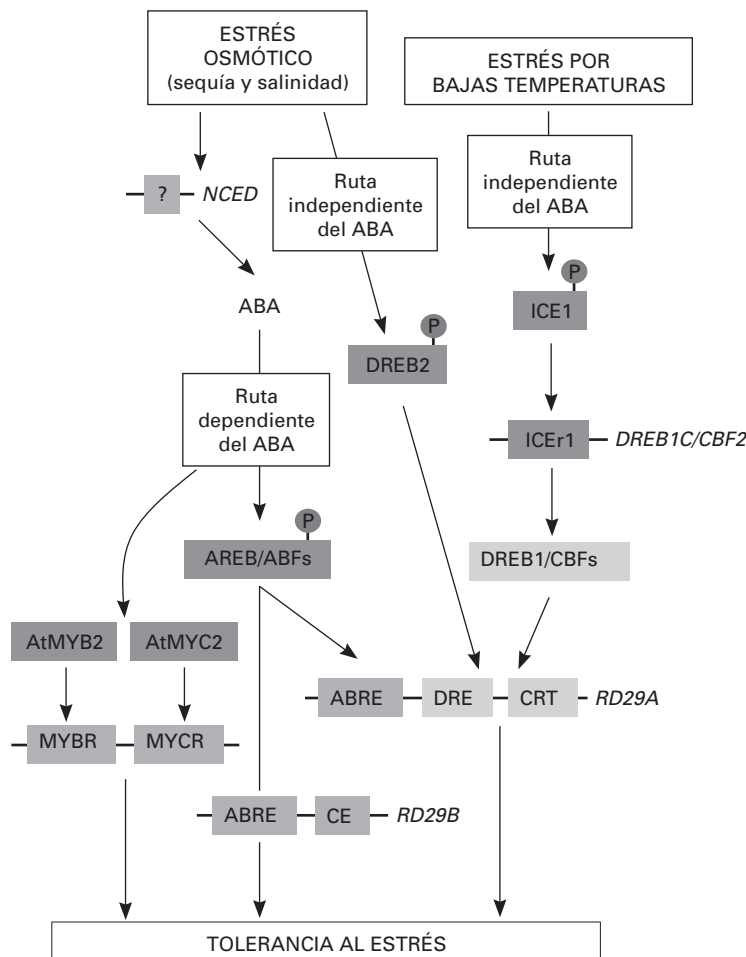


Figura 29-10. Representación esquemática simplificada de las redes de regulación transcripcional implicadas en las respuestas de *Arabidopsis thaliana* a la falta de agua, el exceso de sales en el medio y las bajas temperaturas. Los factores de transcripción que participan en la transmisión de la señal de estrés pueden estar activados por fosforilación o no requerir la activación, e interactúan con los elementos cis presentes en los promotores de los genes que son inducidos por el estrés.

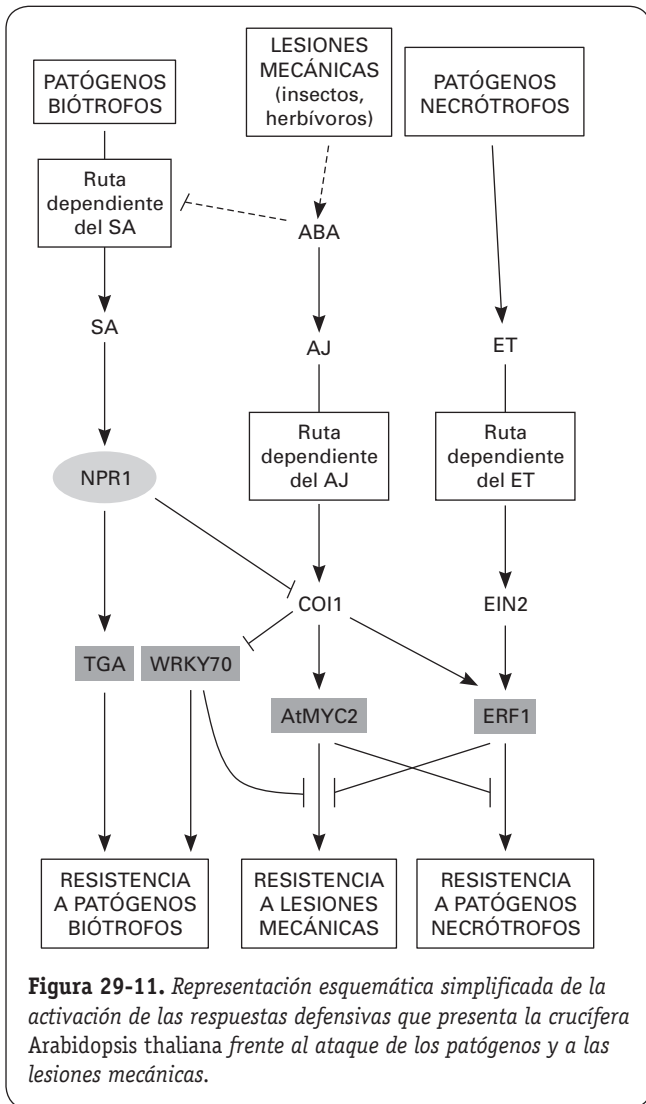
mento ABRE (*ABA-response element*), al que se unen miembros de la familia de factores de transcripción del tipo bZIP (*basic leucine-zipper*) denominados AREB/ABF (*ABRE-binding proteins/ABRE-binding factors*). La fosforilación de las proteínas AREB/ABF por una quinasa que se activa por el ABA es necesaria para su actividad reguladora de la transcripción. En los promotores de otros genes inducidos también por el ABA (p. ej., *RD22*) existen otros elementos en *cis* diferentes a los ABRE, los sitios de reconocimiento MYC y MYB. Algunos factores de transcripción de las familias MYC (como AtMYC2) y MYB (AtMYB2) activan de manera conjunta la expresión de estos genes. El factor de transcripción AtMYC2 participa también en la regulación por AJ de la expresión de genes de defensa frente a los patógenos (véase el apartado 4.4.2). Algunos genes que responden al ABA, a la falta de agua y a las bajas temperaturas se inducen también en plantas mutantes deficientes o insensibles al ABA (*aba* y *abi*) cuando son expuestas a ambos tipos de estrés. En el promotor de estos genes inducidos por la deshidratación y el frío (p. ej., *RD29A*) existe, además del elemento ABRE, una secuencia conservada, denominada DRE (*dehydration-responsive element*), que pertenece a una ruta de respuesta independiente del ABA. Los promotores de otros genes también inducidos por deshidratación y frío contienen elementos muy similares, los CRT (*C-repeat*) y los LTRE (*low temperature-responsive element*). Las proteínas CBF/DREB1 y DREB2 (*C-repeat binding factor/DRE binding protein 1/2*) se unen a los elementos DRE/CRT y activan su transcripción. Los genes *CBF/DREB1* son inducidos por el frío, pero no por el estrés osmótico, al contrario que los genes *DREB2*, que solamente son inducidos por la sequía y la salinidad. Las proteínas DREB2 requieren una modificación postranscripcional (fosforilación) para actuar como inductoras de la tolerancia a la sequía. El promotor del gen *DREB1C/CBF2* contiene una secuencia (el elemento ICEr1) que es reconocida por una proteína de la familia bHLH (*basic helix-loop-helix*) de tipo MYC, la proteína ICE1 (*inducer of CBF expression 1*). La fosforilación de la proteína ICE1 es necesaria para su actividad reguladora de la expresión de los genes *CBF/DREB1*. Por tanto, el elemento DRE/CRT integra las señales de sequía y salinidad (proteínas DREB2) y de bajas temperaturas (proteínas CBF/DREB1), participando en la regulación de los genes necesarios para la tolerancia a estos tipos de estrés.

4.4.2. Existen señales cruzadas en la activación de defensas frente a diferentes tipos de patógenos

Las plantas son dianas del ataque de una amplia variedad de patógenos microbianos y de insectos herbívoros. Como respuesta a ese ataque, las plantas expresan numerosos mecanismos defensivos (véase el apartado 2). Los mecanismos moleculares que subyacen en la activación de las respuestas defensivas parecen ser bastante complejos. La producción de ciertas moléculas o efectores de la virulencia por parte del patógeno conduce a su reconocimiento

por las plantas mediante la actuación de los correspondientes genes *R* de resistencia. La resistencia mediada por los genes *R* está acompañada por una rápida producción de ROS y por la activación de una ruta de señalización dependiente del ácido salicílico (SA; *salicylic acid*). La producción de ROS también es necesaria para que se active otro componente de la respuesta, la muerte celular hipersensible, mediante la cual se limita el acceso a los nutrientes del agente patógeno. La ruta dependiente de SA conduce a la expresión de proteínas (como las relacionadas con la patogénesis, PRs) que contribuyen a la resistencia. Otras respuestas defensivas están controladas por mecanismos dependientes del etileno (ET), de los jasmonatos (AJ), o de ambos. Estas respuestas tienen puntos de solapamiento con las respuestas a las lesiones mecánicas, controladas también por estas fitohormonas. Las rutas de señalización dependientes de SA, ET y AJ interactúan eficazmente en el control del ataque de los patógenos. La resistencia mediada por los genes *R* y la señalización por SA, junto a la respuesta hipersensible, privan a los patógenos biótrofos de la fuente de alimento que necesitan, mientras que las respuestas dependientes de ET y AJ son las que desencadenan la defensa frente a los patógenos necrótrofos.

Así pues, el ataque de los patógenos biótrofos incrementa los niveles de SA, activándose la expresión de los genes *PR*. Los productos proteicos de los genes *PAD4* y *EDS1* (proteínas similares a las triacil-glicerol-lipasas) y de los genes *SID2* (una isocorismato sintasa) y *EDS5* (un transportador de la familia MATE) son necesarios para activar la producción de SA. El producto del gen *NPR1* (*nonexpressor of PR genes 1*; también conocido como *NIM1*, *noninducible immunity 1*, o *SAI1*, *SA insensitive 1*), actúa en la ruta de señalización del SA (Fig. 29-11). El gen *NPR1* codifica una proteína con dominios de interacción proteína-proteína del tipo BTB/BOZ y *ankyrin*. Cuando los niveles de SA son bajos, las proteínas NPR1 se localizan en el citoplasma de las células formando oligómeros, pero cuando los niveles de SA aumentan, los oligómeros se disocian en monómeros que acceden al núcleo e interaccionan con factores de transcripción del tipo bZIP (TGA2/5/6), activándose así la expresión de los genes *PR*. La actividad de un factor de transcripción de la familia WRKY (*WRKY70*) también es necesaria para la expresión de los genes *PR*. La defensa de la planta frente a los patógenos necrótrofos comienza con el incremento en la síntesis de AJ y finaliza con la expresión de genes defensivos (Fig. 29-11). Para que el AJ transmita la señal de estrés es necesario que funcione la proteína COI1 (*coronatine-insensitive 1*), una proteína del tipo F-box capaz de formar un complejo con otras proteínas, que presenta actividad E3 ubiquitina ligasa. COI1 participa, por tanto, en la ruta de proteólisis intracelular. Otras respuestas defensivas dependientes del AJ exigen la actividad de una proteína MAP-quinasa (MPK4) para ser activadas. Los factores de transcripción *ERF1* y *AtMYC2* (*JAI1/JIN1*) se inducen por efecto del AJ. La expresión de *ERF1* necesita, además, que las proteínas COI1 (AJ) y EIN2 (ET)



sean activas. Por otra parte, los genes inducidos por *ERF1* son reprimidos por *AtMYC2*, y viceversa, los genes inducidos por *AtMYC2* son reprimidos por *ERF1*. La interacción entre las rutas de señalización por SA y por AJ/ET es negativa, lo que significa que se reprimen mutuamente. En la represión por SA de la expresión génica inducida por AJ participan tanto la proteína *WRKY70* como la proteína *NPR1*, pero sólo cuando se localiza en el citoplasma, no en el núcleo. De esta manera, las plantas son capaces de activar y reprimir diferentes rutas de transducción y desencadenar la respuesta defensiva más eficaz frente al tipo de patógeno que intenta invadirlas.

Los episodios previos de exposición a algún estrés abiótico (como la sequía y la salinidad) influyen sobre la resistencia de las plantas al ataque de patógenos. Tanto el ABA como el estrés hídrico inducen la expresión de genes regulados también por el ataque de insectos herbívoros y patógenos, como el factor de transcripción *AtMYC2* (*JAI1/JIN1*); las plantas deficientes en ABA son menos resistentes al ataque de las larvas de insectos y expresan genes dependientes de SA. El ABA podría participar en la activación de la

resistencia a herbívoros que depende de AJ y en la represión de la resistencia a patógenos dependiente de SA.

4.5. Las condiciones de estrés que reducen el potencial hídrico de los tejidos inducen la síntesis de compuestos osmoprotectores

La sequía, la salinidad, las temperaturas extremas y el encharcamiento provocan la reducción del potencial hídrico de los tejidos. Las plantas responden a este cambio sintetizando una amplia gama de compuestos, denominados **osmoprotectores**, que actúan bien como osmolitos, facilitando la retención de agua por el citoplasma y, por tanto, reajustando el potencial hídrico intracelular, o bien como verdaderos compuestos protectores que estabilizan la estructura de las membranas y de las macromoléculas. Los osmoprotectores son, pues, solutos compatibles con el funcionamiento celular en condiciones de estrés osmótico. Entre los osmoprotectores encontramos compuestos con átomos de nitrógeno en su molécula, como la prolina y los compuestos de amonio cuaternario; compuestos con grupos hidroxilo, como los polialcoholes y los azúcares; y las proteínas LEA, abundantes en semillas en fase de desecación (véase el Capítulo 27).

Los **compuestos de amonio cuaternario** presentan un átomo de nitrógeno completamente sustituido por grupos metilo ($-\text{CH}_3$), lo que crea una carga positiva permanente en esa porción de la molécula. Muchas especies acumulan estos compuestos en concentraciones elevadas, del orden de $5 \text{ kmol} \cdot \text{g}^{-1}$ de peso fresco, cuando experimentan estrés osmótico. Los compuestos más importantes de este grupo son la glicina betaína, la prolina betaína y la β -alanina betaína. El nivel de glicina betaína, generalmente aumenta en las plantas a medida que el nivel de sal se incrementa. Como el primer paso de la síntesis de glicina betaína requiere oxígeno, el compuesto mayoritario que se sintetiza en condiciones de encharcamiento es la β -alanina betaína.

En condiciones de desecación grave, los **azúcares** protegen a las células al propiciar que su contenido interno cristalice o vitrifique, transformándose en un gel con la viscosidad de un sólido. De esta forma se dificulta la posibilidad de que la célula se colapse, aunque la difusión de las moléculas queda restringida al nivel mínimo necesario para que se produzcan las reacciones químicas básicas. Los azúcares también mejoran las funciones de las membranas en condiciones de estrés osmótico y estabilizan la estructura de las proteínas gracias a la formación de puentes de hidrógeno entre sus grupos hidroxilo y los residuos polares de las proteínas. Cuando los tejidos pierden agua, suelen acumular sacarosa en detrimento de otros azúcares.

Las proteínas LEA actúan fijando moléculas de agua y ayudando a retener el nivel mínimo necesario de agua para el funcionamiento celular. Además, intervienen en el mantenimiento de la estructura de otras proteínas formando puentes salinos con aminoácidos muy cargados.

4.6. Los metabolitos secundarios protegen activamente a las plantas de las situaciones de estrés

Las plantas contienen una gran variedad de compuestos químicos, diferentes de los intermediarios y de los productos finales del metabolismo primario, que se denominan metabolitos secundarios (véase el Capítulo 17). En principio, el término «secundario» implica que su función en la fisiología de la planta no es muy importante, aunque en realidad muchos de ellos forman parte de mecanismos vitales de protección inducidos por el ataque de patógenos, el exceso de O_3 y de radiación UV, las heridas de diversa procedencia, el frío o la falta de nutrientes minerales (Fig. 29-12). Estas situaciones inducen la expresión de genes que codifican varias enzimas de la ruta biosintética de **compuestos fenilpropanoides**, como la fenilalanina-amonio liasa (PAL, *phenylalanine ammonia-lyase*), la *p*-cumarato Co A ligasa, la chalcona sintasa, la chalcona isomerasa o la cinamil alcohol deshidrogenasa. Los fenilpropanoides de estructura más sencilla son las cu-

marinas, los psoralenos y los ácidos salicílico (SA), cinámico, *p*-cumárico, cafeico, ferúlico y sinápico. Estos ácidos suelen estar conjugados a carbohidratos de la pared celular, formando β -glicósidos del SA o ésteres de los ácidos ferúlico o cinámico, o a ácidos orgánicos, formando el ácido clorogénico o ésteres del ácido sinápico (véase el Capítulo 17). A partir del ácido *p*-cumárico se forman otros fenilpropanoides de estructura más compleja, como las antocianinas, los flavonoides, los pterocarpanos, los estilbenos y las auronas. Las antocianinas protegen al aparato fotosintético de la excesiva radiación UV, y también se relacionan con el estrés por frío y por deficiencia de fosfatos. El resto de los fenilpropanoides de estructura compleja, junto a las cumarinas y los psoralenos, presentan actividad antimicrobiana, y se han clasificado como fitoalexinas. Excepto el SA, el resto de los ácidos fenólicos de estructura simple son precursores de la lignina y la suberina, compuestos que se depositan en las paredes de las células que rodean la zona de infección para incrementar su rigidez y resistencia. De esta forma se mantienen aislados los patógenos y se dificulta la expansión de la infección.

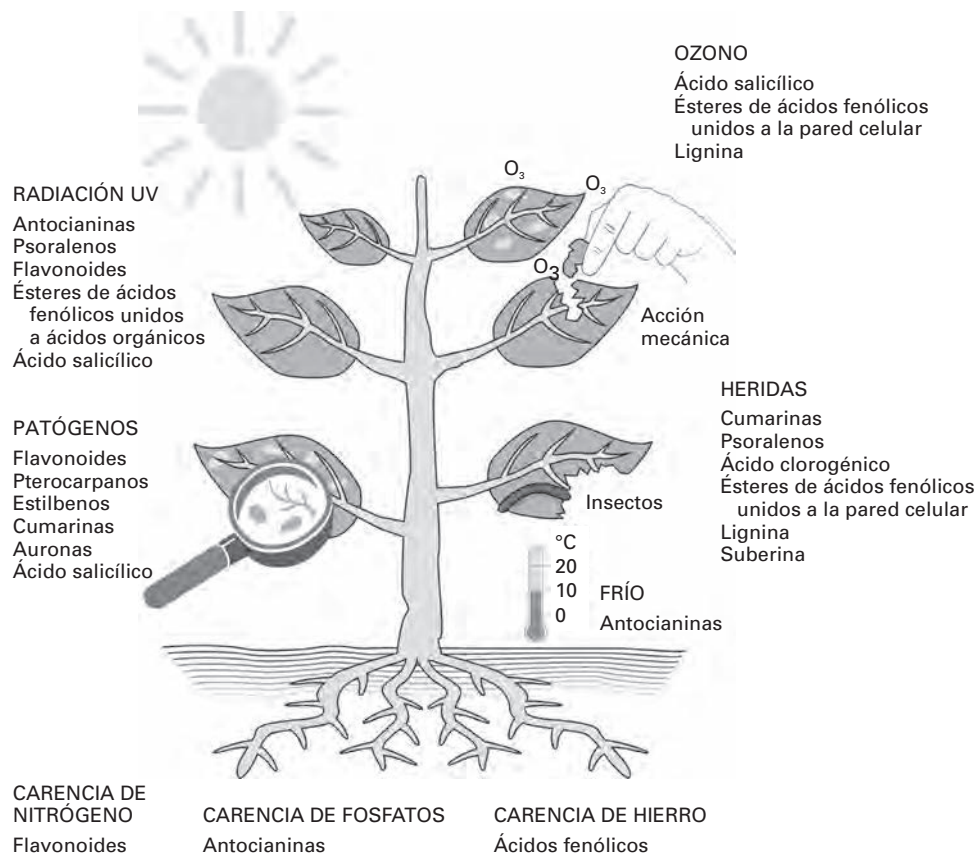


Figura 29-12. El contenido intracelular de diferentes metabolitos secundarios pertenecientes al grupo de los fenilpropanoides aumenta en las hojas o en la raíz como consecuencia del ataque de los patógenos, por las heridas producidas por acciones mecánicas (propiciadas por el viento, los animales herbívoros, el hombre, etc.) o por los insectos, por el exceso de ozono o de radiación UV, por el frío o por la deficiencia en elementos minerales (nitrógeno, fosfatos o hierro).

RESUMEN



- La variación en las condiciones medioambientales puede llegar a imponer serias restricciones para el crecimiento y el desarrollo vegetal y, por tanto, conducir a situaciones de estrés. Las condiciones adversas pueden deberse a la acción de los seres vivos o a variaciones en la disponibilidad y la calidad del agua, en la temperatura, en la cantidad de luz que reciben, en el nivel de oxígeno del suelo, etc., es decir, a cambios físicos o químicos. Los distintos tipos de estrés han ejercido una gran presión selectiva sobre las plantas a lo largo de la evolución, lo que ha provocado la aparición, mediante mecanismos de selección natural, de adaptaciones a ellos.
- Las estrategias de adaptación que utilizan las plantas para sobrevivir en el medio ambiente cambiante permiten tolerar el estrés y están basadas en la inducción de cambios anatómicos, estructurales y bioquímicos. Algunas de las adaptaciones que presentan las plantas son específicas para un tipo particular de estrés, aunque la mayoría puede considerarse común a muchos de ellos.
- Gracias a la combinación de análisis moleculares, genómicos y genéticos comenzamos a vislumbrar los complejos sistemas de señalización que regulan las respuestas de las plantas frente al estrés. Estos sistemas de señalización presentan rutas iniciales comunes que divergen hacia rutas de señalización específicas, las cuales, además, pueden interactuar en el ámbito de algunos de sus componentes permitiendo la activación de las respuestas más adecuadas para hacer frente a las condiciones estresantes.
- Las fitohormonas son los factores transmisores de la señal de estrés mejor caracterizados, aunque otros componentes de las rutas de señalización, como la degradación específica de ciertas proteínas, la fosforilación/desfosforilación de proteínas o los microRNAs, parece que también desempeñan funciones cruciales en la tolerancia de las plantas al estrés.
- La identificación y la caracterización de nuevos factores de transmisión y de nuevos genes que se activen en respuesta al estrés nos permitirá entender mejor cómo interactúan las plantas con su medio ambiente y, al mismo tiempo, diseñar estrategias de intervención para mejorar su capacidad a la hora de soportar el estrés.

PROBLEMAS Y CUESTIONES



- 1 Las plantas pueden acomodarse o adaptarse al estrés cuando ponen en marcha diferentes mecanismos, basados en alteraciones en la expresión génica, que les permiten adecuar su fisiología a las nuevas condiciones ambientales. Sin embargo, la acomodación y la adaptación son conceptos diferentes. ¿En qué radica su diferencia?
- 2 Indique cuál es la secuencia de acciones que se produce entre la aparición del estrés y la manifestación de las respuestas en la planta.
- 3 Las plantas experimentan problemas de estrés hídrico cuando el potencial hídrico del suelo, debido a la falta de agua, se hace mucho más negativo que el de la planta. ¿Por qué la salinidad también puede producir estrés hídrico si, en realidad, la planta dispone de abundante agua en el suelo?
- 4 El estrés por temperaturas extremas induce la deshidratación celular y, por tanto, el estrés hídrico. Señale las causas que provocan este efecto.
- 5 ¿De qué forma solucionan las plantas la falta de oxígeno cuando se produce estrés por inundación?
- 6 ¿El estrés por luz solamente se produce cuando la densidad del flujo de fotones aumenta por encima del punto de saturación de luz?
- 7 Las lipasas son enzimas que liberan ácidos grasos de los glicerolípidos de las membranas celulares. ¿Qué condiciones de estrés inducen su actividad?
- 8 ¿Qué adaptación del crecimiento de las plantas hidrófitas les permite escapar del estrés por inundación? Póngala en relación con el resto de las respuestas del crecimiento frente a otras situaciones ambientales que provocan estrés.
- 9 ¿Por qué es importante la proteólisis para la resistencia de las plantas al estrés?
- 10 Una de las respuestas generales de las plantas al estrés es el incremento de la producción de etileno en sus tejidos. ¿Este efecto siempre está basado en los mismos cambios en su ruta biosintética?
- 11 ¿Cuáles son las funciones de los compuestos osmoprotectores?
- 12 ¿A qué nivel y cómo se produce la interacción entre el estrés hídrico, la salinidad y el frío?



PROBLEMAS Y CUESTIONES (Cont.)

- 13 ¿De qué manera está implicado el ácido abscísico en la respuesta defensiva de las plantas frente al estrés de tipo biótico?
- 14 ¿Cómo se activa la respuesta de las plantas frente a los patógenos biotrófos?



RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1 Una adaptación es una modificación duradera, que se manifiesta continuamente en la fisiología de la planta aunque desaparezcan las condiciones de estrés, mientras que una acomodación es una modificación transitoria, que desaparece cuando lo hace el estrés.
- 2 En primer lugar, la planta debe percibir o «sentir» el estrés y generar una señal intracelular de naturaleza física o química. A continuación, esa señal se amplifica y se integra en las rutas o cascadas de transmisión, que llegan hasta el núcleo y provocan las modificaciones en la expresión génica necesarias para que se produzcan las respuestas apropiadas.
- 3 Aunque exista agua suficiente en el suelo, ésta es poco accesible para la planta, debido a que las sales disueltas en ella hacen que el suelo la retenga muy fuertemente y se reduzca considerablemente el potencial hídrico del suelo. En algunas plantas, sin embargo, el efecto del estrés hídrico es menor, porque la propia incorporación de sales a la planta o la síntesis de osmolitos compatibles son tan eficaces que reducen el potencial interno, limitando la deshidratación, en una adaptación conocida como reajuste osmótico.
- 4 La causa principal de la deshidratación es que las temperaturas extremas inducen la pérdida de semipermeabilidad del plasmalema. El calor y el frío modifican la microviscosidad o la fluidez de la matriz lipídica de las membranas, mientras que la formación de hielo en el apoplasto establece un gradiente de potencial entre el interior y el exterior de la célula que extrae agua del citoplasma. El crecimiento excesivo de los cristales de hielo puede llegar incluso a romper el plasmalema y a acelerar la deshidratación.
- 5 De dos formas diferentes: 1) induciendo la formación de raíces adventicias en la porción basal del tallo, que crecen hacia zonas superficiales del agua bien aireadas; 2) induciendo la formación lisogénica de una red de canales, el aerénquima, desde las hojas hasta los ápices radiculares.
- 6 No, puesto que todas las condiciones de estrés que reducen la fotosíntesis pueden producirlo.
- 7 La actividad de estas enzimas está ligada a las adaptaciones de las plantas al calor y al frío, pero también está relacionada con la síntesis de una fitohormona, el ácido jasmónico. Por tanto, las condiciones de estrés que estimulan su síntesis, como el exceso de radiación UV, las heridas, el ataque de patógenos y la sequía, también inducen su actividad.
- 8 La falta de oxígeno estimula el crecimiento por elongación de las células del tallo de las plantas hidrófitas. Esta adaptación constituye una respuesta particular, ya que la mayoría de las situaciones de estrés ralentizan el crecimiento vegetativo de la parte aérea de la planta.
- 9 La actividad de las proteasas es importante en la adaptación de las plantas al estrés, puesto que degradan las proteínas desnaturalizadas y, por tanto, liberan aminoácidos para la síntesis de nuevas proteínas sin provocar un gasto energético excesivo para la planta. Además, las proteasas pueden activar otras proteínas que participen en las respuestas adaptativas.
- 10 No. La sequía, la salinidad y el ataque de los insectos inducen la expresión de genes que codifican la enzima S-adenosilmetionina sintasa; en cambio, otros tipos de estrés, como las heridas o la anoxia, inducen la expresión de genes que codifican otras enzimas, como la ACC-sintasa y oxidasa.
- 11 Los osmoprotectores actúan de dos formas diferentes: 1) como osmolitos, facilitando la retención de agua en el citoplasma; y 2) estabilizando la estructura de las membranas y de las moléculas.
- 12 La interacción entre el estrés hídrico, la salinidad y el frío es independiente del ácido abscísico y se produce en los elementos DRE/CTR que presentan algunos genes inducidos por el estrés. Las proteínas CBF/DREB1 y DREB2 se unen a los elementos DRE/CTR y activan la transcripción.
- 13 Existen varios ejemplos de genes que son inducidos por el ácido abscísico y por el estrés hídrico y que también están regulados por el ataque de insectos

RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES (Cont.)



herbívoros y patógenos (uno de ellos es el factor de transcripción *AtMYC2*). Además, el hecho de que las plantas deficientes en ácido abscísico sean menos resistentes al ataque de las larvas de insectos y expresen genes dependientes del ácido salicílico sugiere que el ácido abscísico podría participar tanto en la activación de la resistencia a herbívoros que depende del ácido jasmónico, como en la represión de la resistencia a patógenos, dependiente del ácido salicílico.

- 14 El ataque de agentes patógenos biótrofos incrementa los niveles de ácido salicílico en los tejidos vegetales. Los productos proteicos de varios genes (*PAD4*, *EDS1*, *SID2* y

EDS5) parece que son necesarios para estimular la síntesis del ácido salicílico. El gen *NPR1*, que codifica una proteína con dominios de interacción proteína-proteína del tipo BTB/BOZ y ankyrin, es un importante integrador de la señal del ácido salicílico. Cuando los niveles de ácido salicílico son bajos, las proteínas NPR1 se localizan en el citoplasma de las células formando oligómeros, pero cuando los niveles de SA aumentan, los oligómeros se disocian en monómeros que acceden al núcleo e interaccionan con factores de transcripción TGA. Estos factores de transcripción, junto con el factor de transcripción WRKY70, participan en la activación de la expresión de los genes de defensa, como los *PR*.

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA



1. Taiz L, Zieger E. *Plant Physiology*. New York, Sinauer Associates, Inc Publishers, 2006.
2. Lüttge *et al.* *Botánica*. Madrid, McGraw-Hill/Interamericana, 1993.
3. Tudela D, Tadeo FR. Respuestas y adaptaciones de las plantas al estrés. En: Azcón-Bieto J, Talón M (eds.). *Fisiología y Bioquímica Vegetal*. Madrid, McGraw-Hill/Interamericana, 1993; 27:537-553.
4. McKersie BD, Leshem YY. *Stress and Stress Coping in Cultivated Plants*. Dordrecht, Kluwer Academic Publisher, 1994.
5. Lichtenthaler HK. Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants. *J Plant Physiol*, 1996; 148:4-14.
6. Tadeo FR. Fisiología de las plantas y el estrés. En: Azcón-Bieto J, Talón M. (eds.). *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. Madrid, McGraw-Hill/Interamericana, 2000; 30:481-498.
7. Bartels D, Sunkar R. Drought and salt tolerance in plants. *Crit Rev Plant Sci*; 2005; 24:23-58.
8. Madlung A, Comai L. The effect of stress on genome regulation and structure. *Ann Bot* 2004; 94:481-495.
9. Chinnusamy V, Schumaker K, Zhu JK. Molecular genetic perspectives on cross-talk and specificity in abiotic stress signalling in plants. *J Exp Bot* 2004; 55:225-236.
10. Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. *Annu Rev Plant Biol* 2006; 57:781-803.
11. Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu Rev Plant Biol* 2004; 55:373-399.
12. Maggio A, Zhu JK, Hasegawa PM *et al.* Osmogenetics: Aristotle to *Arabidopsis*. *The Plant Cell* 2006; 18:1542-1557.
13. Glazebrook J. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. *Annu Rev Phytopathol* 2005; 43:205-227.
14. Broekaert WF, Delauré SL, De Bolle MFC *et al.* The role of ethylene in host-pathogen interactions. *Annu Rev Phytopathol* 2006; 44:6.1-6.24.
15. Bostock RM. Signal crosstalk and induced resistance: straddling the line between cost and benefit. *Annu Rev Phytopathol* 2005; 43:545-580.
16. Buchanan BB, Gruissem W, Jones RJ. *Biochemistry and molecular biology of plants*. Rockville (Maryland), American Society of Plant Physiologists, 2000.
17. Zhu JK. Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Curr Op Plant Biol* 2003; 6:441-445.
18. Fujita M, Fujita Y, Noutoshi Y *et al.* Crosstalk between abiotic and biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signalling networks. *Curr Op Plant Biol* 2006; 9:436-442.

Biotecnología vegetal: transformación genética de plantas

LEANDRO PEÑA



1. La biotecnología vegetal como resultado de la unión de las técnicas de ingeniería genética y el cultivo de tejidos vegetales *in vitro*. 2. El ciclo vital de *Agrobacterium tumefaciens*. 3. Transformación genética de plantas mediada por *Agrobacterium*. 4. Métodos de transformación genética directa. 5. Nuevos vectores binarios para transformar plantas con *Agrobacterium*. 6. Genes foráneos que se utilizan para transformar plantas. 7. La mejora de las plantas mediante transformación genética. 8. Estabilidad de la integración y la expresión de los genes foráneos en las plantas. 9. Plantas transgénicas libres de marcadores y transgenes sin posibilidad de dispersión por polen.

1. LA BIOTECNOLOGÍA VEGETAL COMO RESULTADO DE LA UNIÓN DE LAS TÉCNICAS DE INGENIERÍA GENÉTICA Y EL CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES *IN VITRO*

1.1. La biotecnología consiste en la utilización de organismos vivos con fines industriales

Se conoce como **biotecnología** el conjunto de técnicas que utilizan organismos vivos o partes de ellos para obtener productos o modificarlos, para mejorar las plantas o los animales, o para desarrollar microorganismos con fines bien determinados. Se trata de una definición muy amplia que podría aplicarse a numerosos procedimientos, desde la elaboración de cerveza por los babilonios 6000 años antes de Cristo, hasta la fabricación de nuevas medicinas, la terapia génica o la producción de plantas y animales transgénicos gracias al desarrollo de la ingeniería genética en los últimos decenios. La **ingeniería genética** comprende un conjunto de técnicas que permiten manipular el DNA, es decir, aislar genes, descifrarlos, modificarlos y devolverlos a una célula viva del mismo tipo o distinto del original.

El descubrimiento de la estructura del DNA por Watson y Crick en 1953 y, a partir de ahí, el desarrollo de la ingeniería genética en los años setenta, dan origen a lo que hoy conocemos como nueva o moderna biotecnología. En los últimos años, la nueva biotecnología ha adquirido actualidad

e importancia, ya que ha revolucionado un gran número de sectores de producción, entre ellos los de la salud humana y animal, la agricultura y la alimentación, los suministros industriales, la energía y el medio ambiente.

1.2. Las plantas se pueden cultivar en tubos de ensayo

Tanto las plantas enteras como partes de ellas (explantes) se pueden cultivar *in vitro*, en medios de cultivo, en condiciones asépticas y en ambientes controlados. Los medios de cultivo básicamente consisten en sales minerales esenciales, una fuente de carbono, vitaminas y reguladores del crecimiento. Además, pueden ser líquidos o geles, obtenidos mediante la adición de agar. Las condiciones ambientales que se controlan son la intensidad luminosa, el fotoperíodo y la temperatura.

Ya a principios del siglo xx se acuñó el término **totipotencia** para designar la capacidad de las células vegetales de regenerar plantas enteras a partir de una o muy pocas células en cultivos *in vitro*. Sin embargo, es importante señalar que no todas las células vegetales son totipotentes. A pesar de que esta propiedad de las células vegetales se conoce desde antiguo, siguen sin conocerse las bases moleculares de la totipotencia, es decir, por qué unas células son totipotentes y otras no. Con todo, la totipotencia de las células vegetales ha sido esencial para el desarrollo de la biotecnología vegetal.

Otra característica de las células vegetales es que se pueden cultivar aisladas individualmente en medios apropiados. Además, se puede retirar su pared celular mediante tratamientos enzimáticos, denominándose en este caso **protoplastos**. Pueden vivir sin pared durante varios días, hasta que sintetizan una nueva y comienzan a dividirse en el medio de cultivo. Tanto las células vegetales aisladas como los protoplastos mantienen su totipotencia.

La posibilidad de aislar y cultivar protoplastos ha dado origen a la biotecnología de **hibridación somática**, que permite la obtención de híbridos entre plantas sexualmente incompatibles. Los híbridos somáticos derivan de la fusión directa de protoplastos de dos especies diferentes. A partir de las células híbridas se pueden regenerar plantas enteras que tendrán la dotación genética de ambos parentales. Utilizando esta tecnología se ha conseguido otorgar resistencia frente a ciertos virus en la patata o frente a hongos en la colza. Los protoplastos también han sido muy útiles para el desarrollo de la biotecnología de transformación genética de las plantas. De hecho, las primeras plantas transgénicas se obtuvieron a partir de protoplastos.

1.3. Una planta es transgénica cuando se introduce DNA foráneo en el genoma de sus células

En la última década, la biotecnología de **transformación genética** se ha convertido en una de las herramientas más prometedoras no sólo para la mejora genética de las plantas, sino también para investigar los mecanismos que controlan su desarrollo y sus respuestas a factores de estrés biótico y abiótico. Una planta transformada genéticamente, o planta transgénica, es aquella en la que se ha introducido un fragmento de DNA foráneo en el genoma de sus células. Este DNA se expresa y confiere a la planta un carácter o unos caracteres nuevos que antes no poseía. El desarrollo de esta tecnología ha sido posible gracias, por un lado, a los avances de la ingeniería genética y, por otro, a la utilización de las metodologías de cultivo *in vitro* de tejidos vegetales.

2. EL CICLO VITAL DE *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS*

El conocimiento del mecanismo de infección de las plantas por *A. tumefaciens* ha sido esencial en la obtención de plantas transgénicas.

2.1. *Agrobacterium tumefaciens* produce tumores en las plantas

A. tumefaciens es una bacteria del suelo, gramnegativa, que infecta a las plantas en lugares en los que existen heridas y produce la enfermedad de las **agallas de la corona**. Afecta a una amplia gama de especies vegetales, fundamentalmente di-

cotiledóneas. La corona de una planta es la zona de transición entre la raíz y el tallo. Las agallas son protuberancias tumorales que se producen en las zonas de infección (Fig. 30-1).

Esta bacteria se identificó en 1907 como responsable de la enfermedad, y en 1947 se determinó que las protuberancias que producía estaban formadas por conglomerados de células indiferenciadas que se dividían activamente. Treinta años más tarde se empezaron a comprender los mecanismos moleculares que utiliza la bacteria para producir los tumores.

2.2. *Agrobacterium tumefaciens* transfiere genes a las células vegetales

El material genético de *Agrobacterium* se encuentra localizado en su cromosoma y en varios plásmidos. Un **plásmido** es una molécula de DNA circular, no ligada al cromosoma bacteriano. Uno de esos plásmidos es el responsable de la inducción de tumores, y por eso recibe el nombre de **plásmido Ti** (del inglés, *tumor-inducing*). Durante el proceso de infección, *Agrobacterium* transfiere una porción bien definida de ese plásmido, llamada **T-DNA** (DNA de transferencia), al genoma de las células vegetales. La integración y la expresión de ciertos genes del T-DNA (oncogenes) hace que las células transformadas se dividan y proliferen sin control, y

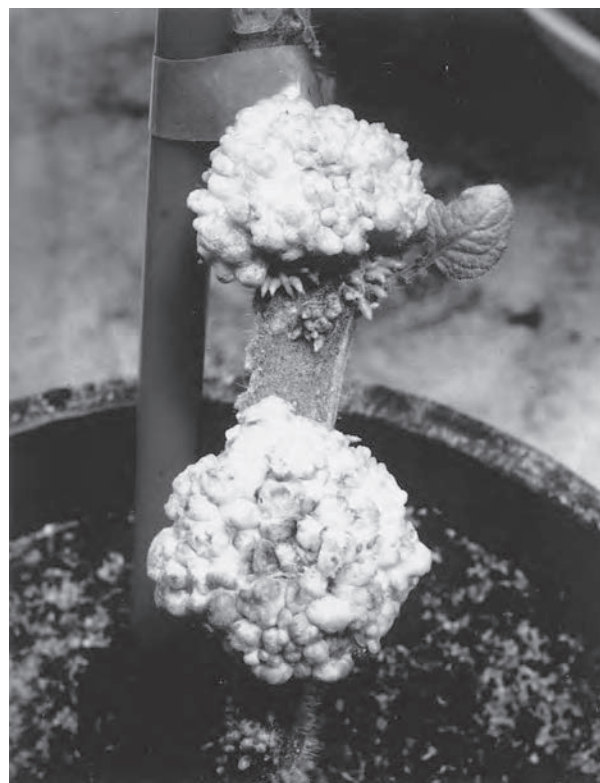


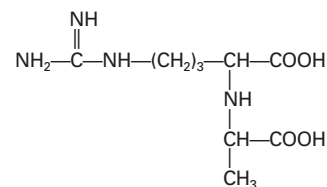
Figura 30-1. Tumores producidos por *Agrobacterium tumefaciens* en una planta de tomate.

se formen los tumores. Estos oncogenes codifican la síntesis de fitohormonas. Entre ellos han sido bien estudiados los genes *iaaM* e *iaaH*, que codifican las enzimas implicadas en la síntesis de la auxina ácido indol-3-acético a partir de triptófano, y el gen *ipt*, que codifica la enzima isopenteniltransferasa, implicada en la síntesis del precursor de citoquinina isopenteniladenina a partir de isopentenilpirofosfato y AMP (véanse los Capítulos 19 y 21).

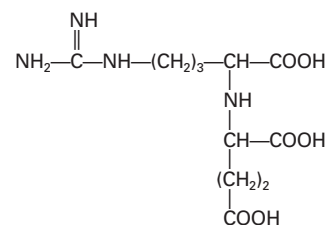
Además, el T-DNA contiene otros genes que codifican en la planta la síntesis de metabolitos denominados **opinas**, que nunca se producen en las células de las plantas no infectadas. Las opinas son aminoácidos particulares con esqueletos carbonados, que únicamente son aprovechados por la bacteria como fuente vital de carbono y nitrógeno. Las cepas de *Agrobacterium* se clasifican en distintos grupos en función del tipo de opina que producen. Con mucho, los más numerosos son los grupos octopina y nopalina (Fig. 30-2).

De este modo, *Agrobacterium* actúa como un parásito molecular de las células vegetales infectadas, haciéndolas tumorales y convirtiéndolas en fábricas de opinas. Éstas se vierten al suelo circundante y sirven de alimento a las agrobacterias que se encuentran en él (Fig. 30-3).

Los genes de procariotas y eucariotas presentan diferencias importantes. Básicamente, en los eucariotas: 1) el DNA se encuentra unido a proteínas; 2) sus genes están interrumpidos por secuencias que no se expresan y que se pierden al transcribirse el DNA en mRNA (intrones); 3) los genes tienen señales promotoras particulares de la transcripción de DNA a mRNA y los mecanismos de regulación de



Nopalina



Octopina

Figura 30-2. Estructura de los aminoácidos octopina y nopalina.

la expresión de los genes son complejos. En los procariotas, 1) el DNA se encuentra desnudo; 2) los genes no tienen intrones; 3) los genes tienen sus propias señales promotoras de la transcripción, y 4) los mecanismos para la activación y la desactivación de genes son mucho más simples. Las señales promotoras de la transcripción, o **promotores**, son

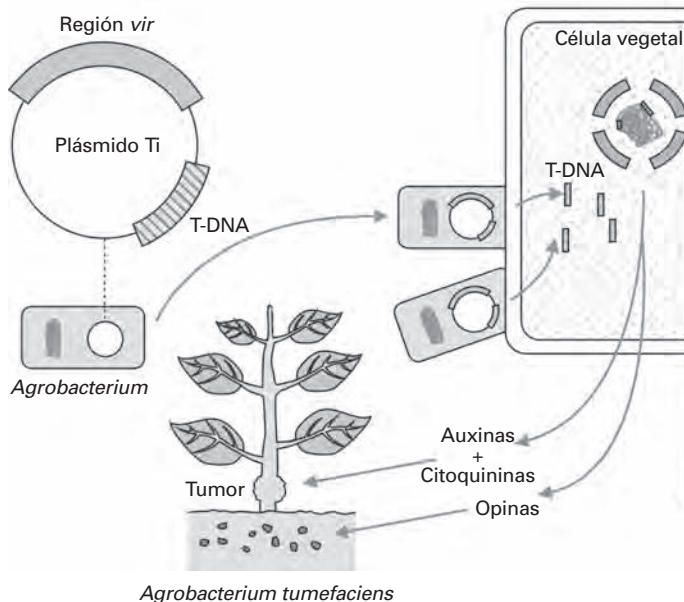


Figura 30-3. *Agrobacterium tumefaciens* transfiere e integra un segmento definido de su plásmido Ti, que se denomina T-DNA, en el genoma de las células vegetales. La expresión de los genes del T-DNA implica la producción de fitohormonas y de opinas. Las fitohormonas son las responsables de la producción de los tumores. Las opinas son la fuente vital de carbono y nitrógeno de la bacteria.

regiones de DNA que preceden a la región codificadora del gen (la que se transcribe y traduce) y que actúan como un interruptor que regula la transcripción del gen.

En este sentido, *Agrobacterium* presenta tres importantes características. La primera es que, además de ser capaz de transferir un fragmento de DNA a las células vegetales, es capaz de integrarlo en el genoma de éstas. La segunda es que los genes de ese DNA, aun procediendo de una bacteria, son reconocidos por la célula vegetal y se expresan. La tercera es que es la única bacteria que posee los genes codificadores de las enzimas necesarias para metabolizar las opinas. Estos genes también se encuentran en el plásmido Ti.

2.3. *Agrobacterium* necesita tanto del plásmido Ti como del cromosoma para infectar a las células vegetales

Los componentes genéticos de *Agrobacterium* necesarios para la infección y transferencia de DNA a las células vegetales son tres: el T-DNA y la región de virulencia, o **región vir**, ambos incluidos en el plásmido Ti, y los **genes de virulencia chv**, localizados en el cromosoma.

El T-DNA posee un tamaño aproximado de 200 kilobases y se encuentra delimitado por sendas repeticiones directas e imperfectas de 25 pares de bases, conocidas como bordes derecho e izquierdo del T-DNA. La región *vir* se encuentra fuera del T-DNA y está formada por un conjunto de **operones**, es decir, genes cuyos productos regulan la expresión de otros genes, llamados *virA*, *virB*, *virD*, *virG*, *virC*, *virE* y *virF*.

El **proceso de infección** se produce de la siguiente manera (Fig. 30-4):

1. Reconocimiento *Agrobacterium*-célula vegetal. Depende de los genes cromosómicos de virulencia *chv*, que están implicados tanto en el movimiento quimiotáctico bacteriano como en la unión de la bacteria a receptores específicos de la célula vegetal.
2. El gen *virA* se expresa de forma constitutiva en la bacteria y codifica una proteína asociada a la membrana interna de *Agrobacterium*. Las células vegetales liberan compuestos fenólicos, fundamentalmente acetosiringona, en los lugares donde existen heridas. En estas condiciones de inducción apropiadas, la proteína VirA activa el gen *virG*.
3. La unión de la proteína VirG a ciertas regiones de los demás genes *vir* induce la activación de estos genes.
4. Las proteínas VirD1 y VirD2 actúan de forma conjunta como una endonucleasa, realizando cortes específicos en el borde derecho del T-DNA y dando lugar a la liberación de una cadena simple de T-DNA. Al extremo 5' de dicha cadena permanece unida VirD2. Posteriormente, también se une VirE2. Ambas proteínas, al unirse a la cadena de T-DNA, forman el llamado complejo T y actúan protegiendo el DNA de la acción de nucleasas durante el proceso de transferencia a la célula vegetal. Las nucleasas son enzimas que degradan los ácidos nucleicos.
5. El transporte intercelular del complejo T se produce a través de un canal entre *Agrobacterium* y la célula vegetal formado por proteínas codificadas por los genes *virB*.

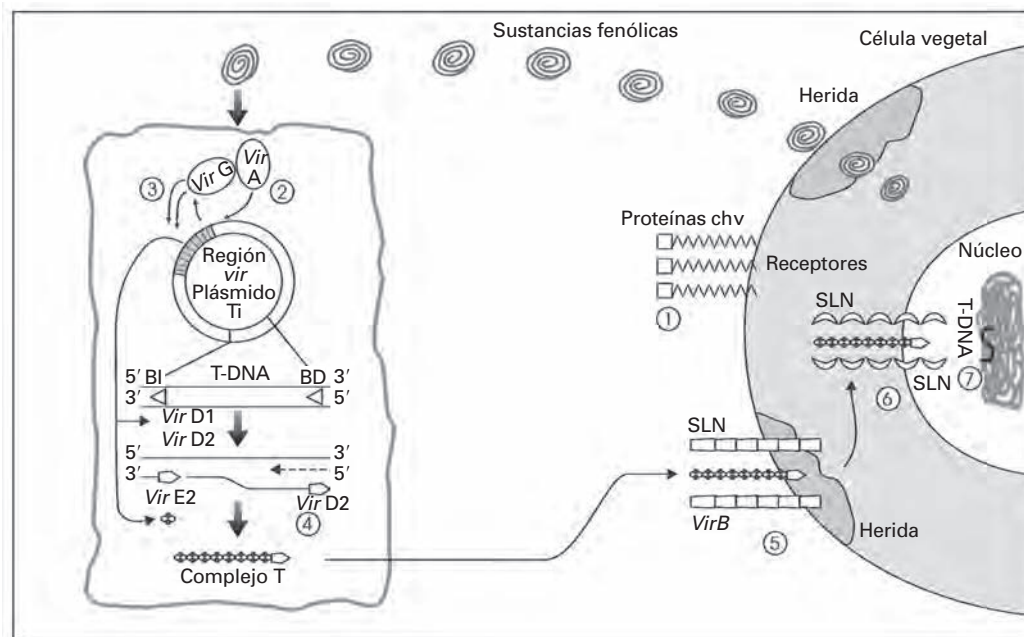


Figura 30-4. Reconocimiento *Agrobacterium*-célula vegetal, activación de la región *vir* y procesamiento, transferencia e integración del T-DNA en el genoma de la célula vegetal. BD: borde derecho, BI: borde izquierdo. (Adaptado de Sheng y Citovsky, 1996, *Plant Cell* 8:1699-1710.)

- La entrada del complejo T al núcleo de la célula vegetal requiere el reconocimiento de señales específicas de localización nuclear (SLN) presentes en las proteínas VirD2 y VirE2, unidas a la cadena de T-DNA, lo que permitirá el paso del complejo T a través de los poros nucleares.
- El complejo T se desensambla por la acción de virF de las proteínas nucleares del huésped, o de ambos. Se produce la integración del T-DNA en el genoma de la célula vegetal.

Existen diversas teorías que sostienen que la integración del T-DNA es previa a la síntesis de la segunda cadena por la maquinaria de reparación celular, y teorías que defienden que la conversión en doble cadena del T-DNA se produce antes de su integración. Ambas teorías coinciden, sin embargo, en que la integración comienza por el borde izquierdo del T-DNA, siendo supervisada por VirE2, y en que VirD2 es responsable de la ligación del borde derecho al DNA de la célula vegetal.

3. TRANSFORMACIÓN GENÉTICA DE PLANTAS MEDIADA POR *AGROBACTERIUM*

3.1. Los genes de T-DNA de *Agrobacterium* se pueden sustituir por genes foráneos

En 1983, tres grupos de investigadores (dirigidos por Van Montagu y Schell en Bélgica, y por Chilton e investigadores de la empresa Monsanto en Estados Unidos), trabajando independientemente, fueron capaces de desarmar el plásmido Ti de *Agrobacterium*, sustituyendo los genes del T-DNA por un gen de resistencia al antibiótico kanamicina. Entonces infectaron protoplastos de tabaco con estas agrobacterias modificadas y los cultivaron *in vitro* en medios que contenían kanamicina y los nutrientes necesarios para regenerar plantas enteras. Sólo las células que tenían integrado el gen de resistencia a la kanamicina y que lo expresaban, es decir, las células transformadas, eran capaces de vivir y dividirse en ese medio de cultivo. A partir de algunas de ellas se regeneraron **plantas transgénicas enteras**. Gracias a diversos experimentos se demostró que los genes foráneos (o transgenes diversos) se podían transferir, integrar y expresar en plantas utilizando *Agrobacterium* como vehículo.

En definitiva, empleando técnicas de ingeniería genética se puede conseguir un plásmido Ti no oncogénico, eliminando los genes del T-DNA y sustituyéndolos por genes foráneos. Sin embargo, el gran tamaño del plásmido Ti hace difícil su manipulación. Por eso, ha habido que sintetizar vectores de transformación de mucho menor tamaño, que sólo conservan las regiones esenciales del plásmido Ti para la transformación. Se denomina **vector de transformación** al plásmido o plásmidos que tienen la información necesaria para poder replicarse y transferir, integrar y hacer posible la expresión de un segmento de DNA foráneo en el genoma de las células vegetales.

En los vectores de transformación genética mediada por *Agrobacterium*, esa información se presenta en las siguientes regiones:

- Un origen de replicación funcional en *Escherichia coli*, que permite a la bacteria multiplicar el plásmido en el que se ha introducido el DNA foráneo, para hacer posible su aislamiento a gran escala. Se dice que el DNA foráneo se ha clonado en *E. coli*. Esta bacteria y sus plásmidos son herramientas de uso habitual en ingeniería genética.
- Un origen de replicación en *Agrobacterium*, que le permite multiplicarse en esta bacteria.
- Genes de resistencia a antibióticos con expresión en bacterias, que permiten seleccionar *E. coli* y *Agrobacterium* que contengan los plásmidos vectores.
- Una región *vir*, esencial para la transferencia e integración del T-DNA en el genoma de la célula vegetal.
- Un T-DNA desarmado que sólo conserva los bordes derecho e izquierdo.

En función de lo anterior, existen dos tipos de vectores de *Agrobacterium*:

- Vectores cointegrados** (Fig. 30-5). Por una parte, se dispone de un plásmido de *E. coli* en el que se ha clonado previamente el gen foráneo. Por otra, se tiene un plásmido Ti desarmado en el que se deben introducir secuencias de DNA del plásmido de *E. coli* entre los bordes del T-DNA. Cuando el plásmido de *E. coli* se transfiere a *Agrobacterium*, el DNA foráneo se integra entre los bordes del T-DNA de *Agrobacterium* mediante recombinación homóloga. El resultado es un único plásmido en el que se encuentran la región *vir* y el T-DNA con el DNA foráneo. En este caso se dice que la región *vir* actúa en «cis» respecto al T-DNA, ya que ambos están en un mismo plásmido.
- Vectores binarios** (Fig. 30-6). Aprovechan el hecho de que la región *vir* puede actuar en «trans» respecto al T-DNA, es decir, reconocerlo aunque se encuentre en un plásmido diferente. En este caso, el plásmido Ti desarmado sólo tiene la región *vir*. Los bordes del T-DNA se encuentran en un segundo plásmido que tiene, además, un origen de replicación funcional en *E. coli* y en *Agrobacterium*. Este segundo plásmido es mucho más pequeño que el plásmido Ti y, por tanto, mucho más fácil de manipular

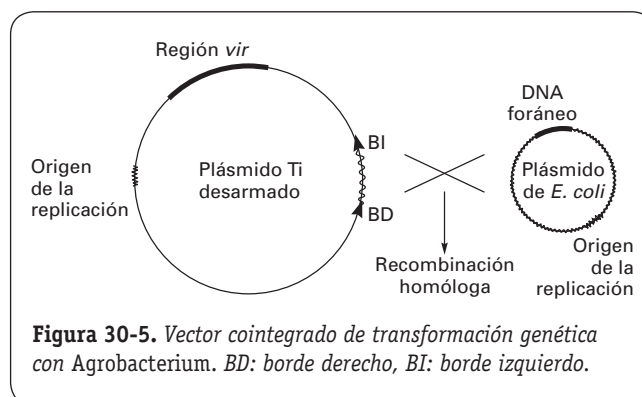
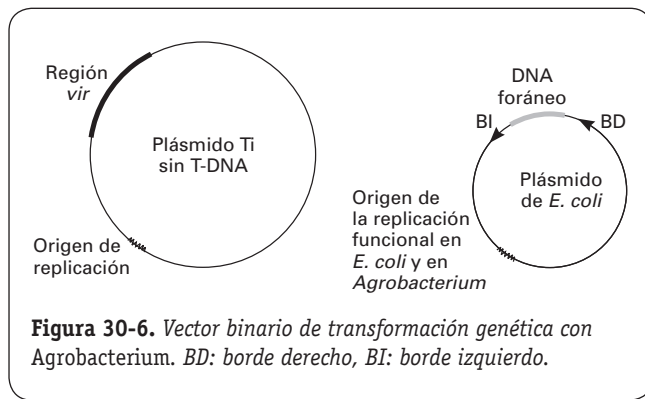


Figura 30-5. Vector cointegrado de transformación genética con *Agrobacterium*. BD: borde derecho, BI: borde izquierdo.



para introducir los genes foráneos entre los bordes del T-DNA. Es importante que entre ambos bordes haya lugares para poder cortar el DNA con enzimas apropiadas (enzimas de restricción) y ligar (con otras enzimas que se denominan ligasas) el DNA foráneo que se quiere introducir en la planta.

Hoy en día prácticamente sólo se utilizan vectores binarios para transformar plantas con *Agrobacterium*, ya que su construcción requiere menos manipulación de los plásmidos. Recientemente se han diseñado nuevos tipos de vectores binarios que permiten ampliar las posibilidades de utilización de *Agrobacterium* para transformar plantas. Hablaremos de ellos más adelante.

Para que el transgén se exprese en las células vegetales debe poseer secuencias reguladoras **promotoras** y **terminadoras** de la transcripción. Los promotores determinan la cantidad de mRNA que se va a producir a partir de la región codificadora del gen. Pero no sólo eso, también determinan cuándo (en qué momento del desarrollo de la planta o en respuesta a qué estímulo externo) y dónde (en qué tejidos u órganos de la planta) se expresará el gen foráneo. Los terminadores portan la señal que indica dónde termina la transcripción del gen. Las técnicas de ingeniería genética permiten combinar estos elementos a partir de diferentes genes. Por ejemplo, si la región codificadora del gen foráneo estuviese clonada bajo el promotor y el terminador del gen de la subunidad pequeña de la rubisco, su expresión estaría regulada por la presencia o ausencia de luz. La región codificadora del gen foráneo clonada bajo secuencias de DNA con funciones promotoras y terminadoras procedentes de otro gen o de otros genes se denomina **módulo de expresión** o, también, **gen quimérico**. Los promotores más utilizados hasta ahora transcriben la región codificadora del gen en gran cantidad y son constitutivos, es decir, el gen se expresa en prácticamente todos los tejidos de la planta. Con mucho, los más comunes en los módulos de expresión son el **promotor 35S**, procedente del virus del mosaico de la coliflor, y el **promotor NOS**, del gen de la nopalina sintasa de *Agrobacterium*.

A partir del mRNA transcrito, y como resultado de su traducción, se produce la proteína. Del mismo modo que

podemos regular la transcripción del gen mediante la utilización de uno u otro promotor, podemos hacer que la proteína se acumule en el lugar apropiado de la célula vegetal. Los llamados **péptidos de tránsito**, cuyas secuencias de DNA precursoras se pueden incluir en el módulo de expresión, transportan la proteína de interés a determinado orgánulo de las células, como el cloroplasto o la vacuola. También hay módulos de expresión que contienen, entre el promotor y la región codificadora del gen, las llamadas **secuencias líder**, procedentes de RNA de virus de plantas, que incrementan la eficacia de la traducción.

3.2. Los genes marcadores permiten reconocer y seleccionar las células transformadas

Hemos visto que el primer gen foráneo que se introdujo en células vegetales fue el gen de resistencia al antibiótico kanamicina. Esto permitió seleccionar las células transformadas y regenerar, a partir de ellas, plantas enteras en medios de cultivo que contuvieran este antibiótico.

Agrobacterium no es capaz de infectar todas las células de un cultivo. En realidad, sólo suelen transformarse unas pocas. Es necesario, por tanto, disponer de métodos que permitan identificar las células transgénicas. Esto se consigue mediante la utilización de **genes marcadores** que confieren a la célula transgénica una característica nueva que la distingue de las no transformadas. Estos genes marcadores se introducen entre los bordes del T-DNA de *Agrobacterium*, en su correspondiente módulo de expresión, generalmente junto a otro gen quimérico que se quiere sobreexpresar en las células vegetales. Podemos distinguir dos tipos de genes marcadores: genes de selección y genes informadores o delatores.

Marcadores de selección. Permiten a la célula transformada vivir en presencia de un agente selectivo, que suele ser un antibiótico o un herbicida. Dicho agente, añadido al medio de cultivo, mata o impide la división de las células no transformadas. Un buen agente de selección es aquel que puede utilizarse en una dosis lo suficientemente alta como para impedir la viabilidad de las células no transformadas, y lo suficientemente baja como para no dañar las células transgénicas e inhibir la regeneración.

El gen marcador de selección más utilizado hoy en día es también el primero que se utilizó para transformar plantas. El gen de la **neomicina fosfotransferasa** (*nptII*), procedente del transposón Tn5, confiere resistencia a antibióticos aminoglicósidos, como la kanamicina. La enzima desactiva la sustancia antibiótica mediante fosforilación.

Marcadores informadores o delatores. Confieren a la célula transformada una característica física nueva que la hace distinguible de las no transformadas. Generalmente, los genes marcadores informadores codifican enzimas, de manera que cuando el sustrato apropiado se añade al medio con las células vegetales, se produce una reacción en las células transformadas que permite identificarlas fácilmente.

Probablemente el más utilizado ha sido el gen de la **β -glucuronidasa** (*uidA*), aislado de *E. coli*. Esta enzima hi-

droliza β -glucurónidos en presencia del sustrato apropiado. Cuando el sustrato es el ácido 5-bromo-4-cloro-3-indoxil- β -D-glucurónido (X-Gluc), se forma un producto que tiñe las células transformadas de color azul. Cuando el sustrato es el 4-metil-umbeliferil β -D-glucurónido (MUG), se forma un producto fluorescente, la metilumbeliferona (MU), cuantificable por fluorimetría.

Recientemente se ha desarrollado un nuevo marcador informador que no necesita de la adición de un sustrato para identificar las células transgénicas. El gen de la **fluorescencia verde** (*gfp*), procedente de la medusa *Aequorea victoria*, codifica una proteína que genera un cromóforo en presencia de oxígeno, el cual emite fluorescencia verde cuando se excita con luz azul o con luz ultravioleta. De este modo, simplemente exponiendo las células vegetales del cultivo a luz azul o a luz ultravioleta, podemos identificar las que son transgénicas, ya que emitirán fluorescencia verde.

Los genes marcadores informadores se utilizan para el estudio de promotores. Un gen informador bajo el control de una región promotora en estudio nos dirá, una vez integrado en una planta transgénica, en qué cantidad, en qué momento y en qué tejidos lo transcribe el promotor. También se utilizan cuando se quiere establecer un procedimiento de transformación genética de una planta determinada, ya que permiten discriminar rápida y fácilmente qué tratamientos de la bacteria y de las células vegetales en cultivo consiguen transformar o incrementar la frecuencia de transformación de las células.

3.3. *Agrobacterium* también transforma células de explantes

Un avance fundamental en el desarrollo de la tecnología transgénica se produjo en 1985, cuando Horsch y cols. pu-

blicaron el procedimiento de **transformación de discos de hoja** con *Agrobacterium*. Con ello consiguieron regenerar eficazmente plantas transgénicas enteras a partir de explantes previamente cultivados con la bacteria. Durante los dos años anteriores se había utilizado el método de cocultivo de protoplastos con *Agrobacterium* para transferir genes foráneos a las células vegetales. Esta metodología resultó interesante, ya que permitió obtener las primeras plantas transgénicas. De todos modos, resultaba muy complicado regenerar plantas enteras a partir de protoplastos transformados genéticamente.

El procedimiento utilizado por Horsch y cols. es básicamente el siguiente (Fig. 30-7):

1. Se parte de un tipo de explante que es un disco de hoja.
2. Se inocula con *Agrobacterium* desarmada que contenga un vector de transformación. Entre los bordes del T-DNA se encuentra un módulo de expresión con el gen de resistencia a la kanamicina. La inoculación se realiza sumergiendo los explantes en el cultivo bacteriano.
3. Tras unos minutos, se sacan los explantes, se secan sobre papel de filtro y se transfieren a un medio de cultivo de tejidos vegetales durante dos días. Esta fase se denomina cocultivo (cultivo de los explantes con la bacteria).
4. Posteriormente, se pasan los explantes a un medio de regeneración de brotes. A este medio se le han añadido las hormonas adecuadas para inducir la formación de dichos brotes. Dichas hormonas son una auxina (ácido naftalenacético) y una citoquinina (benciladenina), con un balance hormonal favorable a la segunda. Se le ha añadido también un antibiótico, la cefotaxima, para controlar el crecimiento de *Agrobacterium*, y un antibiótico de selección, la kanamicina, que permite

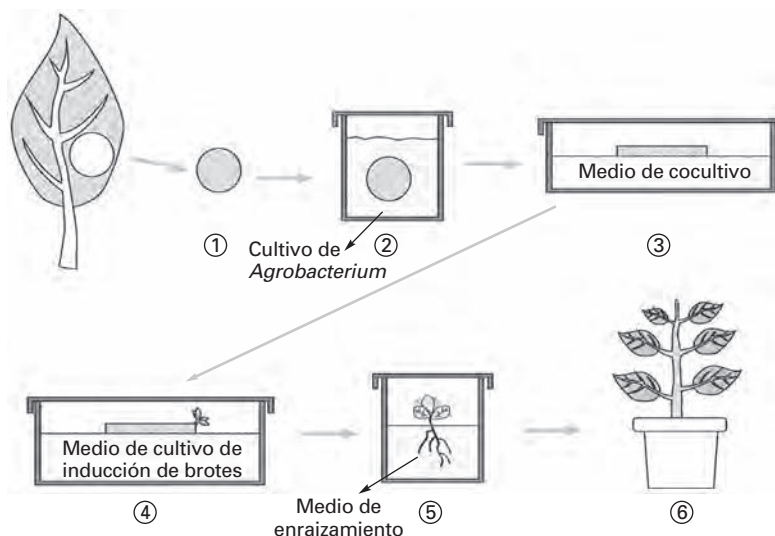


Figura 30-7. Procedimiento de transformación de discos de hoja con *Agrobacterium*.

regenerar plántulas enteras sólo a partir de las células transformadas.

5. Las plántulas regeneradas se escinden de los explantes y se transfieren a otro medio de cultivo con el fin de inducir el enraizamiento. Para ello se añade al medio únicamente la auxina ácido naftalenacético. También es necesaria la presencia en el medio de los antibióticos cefotaxima y kanamicina.
6. Cuando las plantas desarrollan raíces, se cultivan en macetas.

Estos investigadores demostraron que todas las células de las plantas regeneradas eran transgénicas, y que los transgenes se transmitían a la progenie con un patrón mendeliano. Aunque este procedimiento se utilizó originalmente para transformar plantas de tabaco, tomate y petunia, posteriormente ha servido para transformar una amplia gama de especies vegetales.

Su principal inconveniente es que se ha observado en muchas especies, y asociada a diferentes tipos de explantes, la regeneración de plantas no transgénicas junto a las que sí lo son. Estas plantas capaces de regenerarse en un medio de cultivo que contiene un agente de selección, pese a no ser resistentes a dicho agente, reciben la denominación de «**escapes**». Los escapes se producen por la ineficacia del agente de selección o porque las células transgénicas detoxifican su entorno y protegen a las células no transgénicas que se encuentran alrededor del agente de selección.

3.4. Los procedimientos de regeneración y transformación son diferentes para cada especie

Es importante tener en cuenta que los procedimientos de transformación, regeneración y selección de cada especie vegetal, e incluso de cada variedad, generalmente son específicos, de manera que el hecho de poder transformar una planta no garantiza que se puedan transformar especies muy próximas siguiendo el mismo procedimiento. En definitiva, antes de pensar en introducir genes de interés en plantas, es necesario establecer las condiciones concretas de transformación de la especie o la variedad que se quiere transformar.

La transformación de las células vegetales de una determinada especie por *Agrobacterium* depende, en primer lugar, de la relación **patógeno-huésped** que se establezca entre ambas. La gama de huéspedes de *Agrobacterium* es muy extensa, aunque en su mayor parte consiste en plantas dicotiledóneas. Tanto los genes de la región *vir*, y algunos genes incluidos en el T-DNA, como los genes cromosómicos de virulencia *chv* están implicados en la determinación de la gama de huéspedes específica de cada cepa bacteriana, y afectan a la capacidad de *Agrobacterium* para transformar las células vegetales. Por otra parte, el hecho de que diferentes especies, e incluso variedades de una misma especie, muestren distinta respuesta frente a una misma

cepa de *Agrobacterium* implica que en la interacción también están involucrados factores genéticos de la planta. Recientemente se ha descubierto que determinadas proteínas de la célula huésped interaccionan con proteínas vir en el núcleo y que dicha interacción es importante para la integración del T-DNA.

La regeneración de plantas transgénicas está determinada por el genotipo, el tipo de explante (y su edad) y las condiciones de cultivo *in vitro*. Estos factores influyen sobre las células vegetales del explante y consiguen que algunas resulten aptas para la transformación, otras para la regeneración, y muy pocas para la transformación y la regeneración. Sólo a partir de estas últimas será posible regenerar plantas transgénicas enteras (Fig. 30-8). La aptitud de las células para la transformación se puede conseguir mediante la aplicación de tratamientos hormonales, que entrañan la desdiferenciación de las células necesaria para que se produzca su transformación. Por otra parte, la adición al medio de cultivo de sustancias activadoras de la región de virulencia de *Agrobacterium*, como la **acetosiringona**, permite también incrementar la frecuencia de transformación. La aptitud de las células transgénicas para la regeneración se puede conseguir mediante la utilización de material vegetal de partida en buen estado ontológico y fisiológico, y usando medios o condiciones de cultivo apropiados, que permitan a algunas células transformadas exhibir su totipotencia.

La regeneración de plantas a partir de las células del explante transformadas tiene lugar mediante dos posibles vías alternativas: **directa e indirecta**. En el primer caso, la regeneración se produce a partir de las células desdiferenciadas preexistentes sin pasar por una fase de callo (regeneración directa). En el segundo caso, la regeneración se produce en dos fases: una primera fase de formación de callo (masa

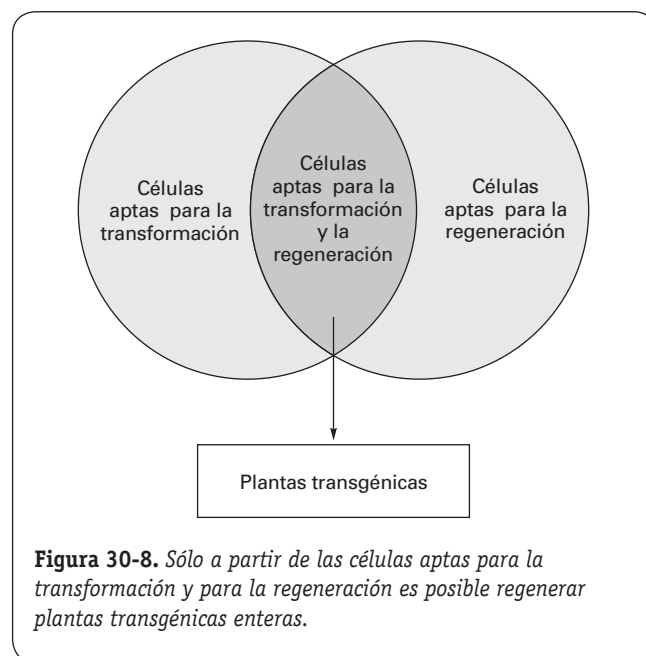


Figura 30-8. Sólo a partir de las células aptas para la transformación y para la regeneración es posible regenerar plantas transgénicas enteras.

desorganizada de células), y una segunda fase, en la que existe una reorganización que da lugar a estructuras organizadas, bien sea a través de organogénesis o a través de embriogénesis somática.

La organogénesis conduce a la formación de brotes o raíces (Fig. 30-9). La embriogénesis somática conduce a la formación de embriones somáticos (Fig. 30-10), que posteriormente germinan para originar plantas enteras. En general, la organogénesis es promovida por un balance auxina/citoquinina en el medio de cultivo favorable a la segunda, mientras que la embriogénesis somática únicamente requiere la presencia de auxina en el medio de cultivo.

La regeneración de plantas enteras a partir de protoplastos y de células individuales generalmente se produce a través de una primera fase de formación de callo y una segunda fase de embriogénesis somática (Fig. 30-11).

3.5. Otras bacterias también transforman las células vegetales

Hasta ahora, al hablar de *Agrobacterium* nos referíamos siempre a *Agrobacterium tumefaciens*; pero dentro del género *Agrobacterium* existe otra bacteria que dispone de mecanismos similares de infección, denominada *Agrobacterium rhizogenes*. Esta bacteria produce, en las plantas que infecta, la enfermedad de **raíces en cabellera**. *A. rhizogenes* posee un plásmido inductor de la formación de raíces, llamado Ri (del inglés, *root-inducing*), que transfiere un fragmento de DNA, llamado T-DNA, a las células vegetales que infecta. En este T-DNA se encuentran los genes que, una vez integrados y expresados en la planta huésped, dan lugar a la formación de gran cantidad de raíces. *A. rhizoge-*



Figura 30-9. Organogénesis a partir de explantes (segmentos internodales) de naranjo.

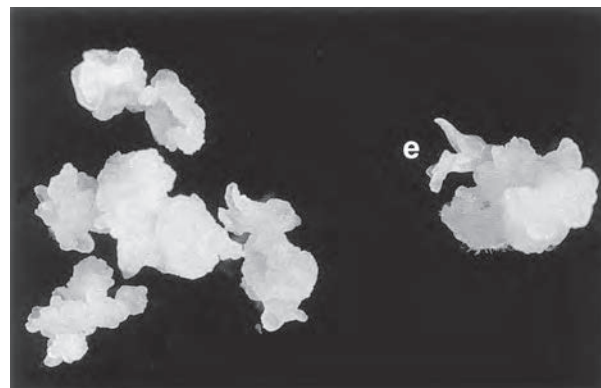


Figura 30-10. Embriogénesis somática a partir de callo de nogal. La letra "e" señala la presencia de un embrión en el callo.

nes se ha utilizado también como vehículo para la transformación genética de plantas. En este caso se utiliza como vector la bacteria con su plásmido Ri intacto, sin desarmar. Además, se le introduce otro plásmido en el que se encuentran los genes quiméricos entre bordes de T-DNA. Este sistema vector cuenta, por tanto, con dos T-DNA. La región *vir* del plásmido Ri actúa en «cis» y en «trans», es decir, reconoce, procesa y transfiere a las células vegetales tanto el T-DNA que se encuentra en el mismo plásmido Ri como el T-DNA del otro plásmido. La integración del T-DNA del plásmido Ri en las células vegetales provoca la formación de raíces en los explantes. A partir de las raíces se pueden regenerar plantas enteras, que también tendrán integrado en todas sus células el T-DNA con los genes quiméricos. Este sistema presenta dos inconvenientes que limitan sus aplicaciones. La primera es que su gama de huéspedes es mucho más reducida que la de *A. tumefaciens*. La segunda es que la expresión de los genes del T-DNA del plásmido Ri en las células vegetales confiere fenotipos aberrantes en la parte aérea de muchas plantas.

Recientemente se ha demostrado que bacterias de los géneros *Rhizobium*, *Sinorhizobium* y *Mesorhizobium* son capaces de transformar células vegetales, y de hecho son eficaces vectores de transformación genética de plantas cuando se les transfiere un plásmido Ti desarmado y el correspondiente plásmido binario.

4. MÉTODOS DE TRANSFORMACIÓN GENÉTICA DIRECTA

Estos métodos permiten transferir e integrar el DNA foráneo en el genoma de las células vegetales por **métodos físicos**. El gen o los genes quiméricos se encuentran en un plásmido vector cuyo único requerimiento es tener un origen de replicación en *E. coli*. Estos métodos han constituido una alternativa eficaz a *Agrobacterium* para transformar gramíneas. En la actualidad se han desarrollado

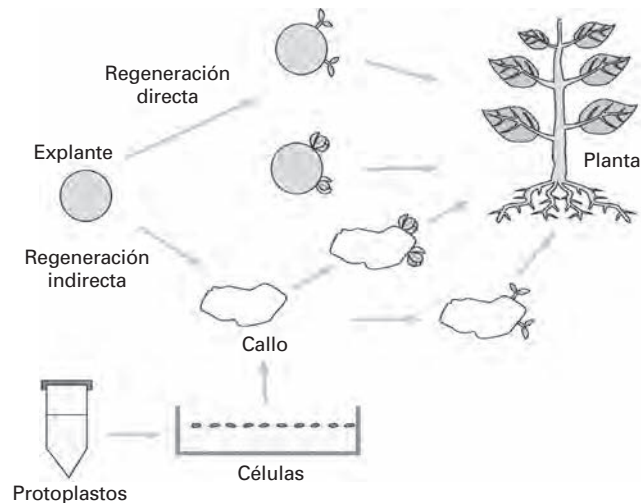


Figura 30-11. Regeneración de plantas enteras a partir de células de un explante y de células individuales o de protoplastos.

procedimientos para transformar estas plantas también con *A. tumefaciens*.

Los métodos físicos de transformación suelen ser muy útiles para realizar experimentos de expresión transitoria. Ésta es la expresión del DNA foráneo que no se integra en el genoma de la célula vegetal, pero que se expresa durante unos días antes de ser degradado por el ataque de las nucleasas. Este tipo de experimentos permite realizar investigaciones sobre mapeo de promotores, por ejemplo, sin necesidad de regenerar plantas transgénicas.

4.1. Los protoplastos se transforman por estimulación química o eléctrica

Se ha introducido DNA foráneo en protoplastos utilizando dos métodos de transformación directa:

1. El plásmido vector atraviesa la membrana celular de los protoplastos gracias a la adición al medio de cultivo de compuestos químicos que actúan como puente molecular entre el DNA y la membrana y estimulan procesos de endocitosis. El compuesto más utilizado es el **polietilenglicol**, generalmente combinado con sales de calcio que precipitan el DNA.
2. La **electroporación** consiste en someter a los protoplastos a pulsos de alto voltaje de corriente continua que producen la formación transitoria de poros en la membrana celular, por los que entra el DNA foráneo. La electroporación también se ha utilizado para transformar células de explantes.

Estos métodos presentan el inconveniente de que es muy difícil regenerar plantas enteras a partir de protoplastos transgénicos.

4.2. Las células vegetales se transforman al dispararles microproyectiles a alta velocidad

Cuando, en 1987, Klein y cols. publicaron el método de transformación de células vegetales mediante **disparo de microproyectiles a alta velocidad**, se hizo posible la transformación eficaz de gramíneas como el trigo, el maíz, el arroz, la avena, la cebada, el centeno, el sorgo, etc. Esta técnica consiste en el disparo de partículas de oro o tungsteno, de aproximadamente $1\ \mu\text{m}$ de tamaño y que tienen aglomerado el DNA foráneo, sobre células, tejidos u órganos vegetales. Los disparos se producen mediante presión de helio o mediante descarga eléctrica de alto voltaje. Los proyectiles alcanzan velocidades de varios cientos de metros por segundo, que les permiten atravesar la pared celular y las membranas, lo que hace posible integrar el DNA que transportan en el genoma de las células vegetales (Fig. 30-12).

4.3. Otros métodos de transformación directa han resultado poco eficaces

Entre los métodos de transformación directa que han permitido transformar células vegetales e incluso, en algunos casos, regenerar plantas enteras, aunque por lo general con muy escasa eficacia, se encuentran la microinyección, la electroforesis y la abrasión con fibras de carburo de silicio. La microinyección consiste en introducir el plásmido vector en la célula con un microcapilar, utilizando un micromanipulador. En la electroforesis, el plásmido vector se encuentra en el cátodo de una cubeta electroforética, una solución iónica en el ánodo y, en el centro, el tejido vegetal (embriones somáticos) conectado a ambas solu-

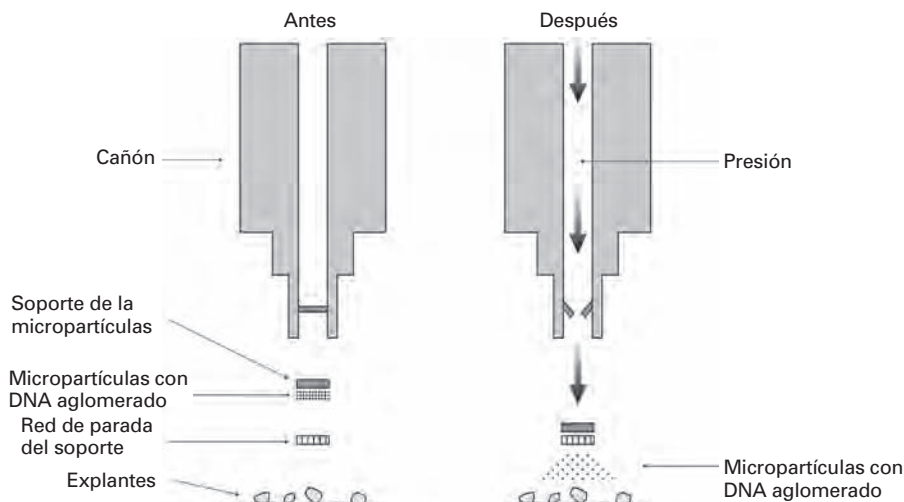


Figura 30-12. Transformación de células vegetales mediante disparo de microproyectiles a alta velocidad. Los microproyectiles son partículas de oro o tungsteno que tienen aglomerado el DNA foráneo y que se disponen sobre un soporte. Cuando se dispara el cañón, los proyectiles y su soporte se aceleran, el soporte queda retenido en una red metálica, los proyectiles siguen viajando a alta velocidad y penetran en el tejido vegetal, integrándose en el genoma de las células.

ciones mediante tubos de plástico de pequeño diámetro. La corriente eléctrica hace que el DNA migre hacia el ánodo pasando por el tejido vegetal, donde se integra en algunas células. En el método de abrasión, las fibras de carburo de silicio se mezclan con las células, se agitan, y se producen pequeñas roturas en las células, por donde entra el DNA.

4.4. *Agrobacterium* es capaz de transformar directamente óvulos inmaduros de las inflorescencias de *Arabidopsis*

Para transformar *Arabidopsis thaliana*, planta modelo en experimentos de genética y biología molecular, se ha conseguido soslayar por completo la fase de regeneración y el cultivo de tejidos, ya que se obtienen plantas transgénicas mediante **infiltración** de inflorescencias de plantas enteras adultas con *Agrobacterium*. Parece ser que, en este caso, *Agrobacterium* es capaz de transformar directamente el óvulo inmaduro de las inflorescencias. Sin embargo, cuando se ha intentado trasladar este sistema a otras plantas, los resultados han sido, en general, negativos.

5. NUEVOS VECTORES BINARIOS PARA TRANSFORMAR PLANTAS CON *AGROBACTERIUM*

En los últimos años, el desarrollo de los llamados vectores **superbinarios**, mediante la introducción de copias adicionales de determinados genes *vir* (fundamentalmente *virG*, *virB*,

virD y *virE*) en cualquiera de los dos plásmidos de un vector binario, fuera del T-DNA, ha permitido incrementar considerablemente su tamaño, y sus frecuencias de transferencia e integración en las células vegetales, e incluso la gama de huéspedes de *Agrobacterium*. Gracias a ello se han podido transformar eficazmente con *Agrobacterium* gramíneas como el arroz o el maíz, y otras especies que no se habían podido transformar con ningún otro método, como la tapioca, así como introducir en las plantas de tabaco y tomate fragmentos de DNA foráneo de 150 kilobases.

6. GENES FORÁNEOS QUE SE UTILIZAN PARA TRANSFORMAR PLANTAS

Los genes que se introducen en las plantas mediante transformación genética pueden ser genes o secuencias de DNA cuya función, tipo de expresión o regulación en la planta deseamos conocer; genes o secuencias de DNA que permiten la localización y el aislamiento de otros genes de plantas (mutagénesis de inserción); genes marcadores de selección o informadores de la presencia de células transgénicas; o genes o secuencias de DNA que confieran a la planta un carácter o caracteres de interés agronómico.

Para aplicar la tecnología de transformación genética al estudio de la fisiología, la bioquímica y la biología del desarrollo de las plantas, o a su mejora genética, es esencial conocer los mecanismos moleculares que regulan la expresión de los genes y poder identificar y aislar aquellos que desempeñan un papel relevante en los procesos biológicos de interés. La técnica de **mutagénesis de inserción** o mutagénesis mediada por el T-DNA de *A. tumefaciens*,

aplicada básicamente a *Arabidopsis thaliana* y al arroz, consiste en la inserción de secuencias de T-DNA conocidas en posiciones aleatorias del genoma de la planta. Cuando estas secuencias se insertan en un gen, provocan la pérdida de su actividad, ocasionando generalmente un fenotipo mutante. Dado que la secuencia introducida como T-DNA se conoce, se puede utilizar como sonda para rescatar la región de DNA en la que se ha producido la inserción y aislar así el gen correspondiente. Esta técnica (y otras con la misma finalidad), junto con la caracterización del genoma de *Arabidopsis thaliana*, está permitiendo disponer de genes determinantes de importantes fenotipos en las plantas y profundizar en el conocimiento de los mecanismos de expresión génica, de control del crecimiento de las plantas y su desarrollo, de respuesta a factores de estrés biótico y abiótico, y de las rutas de biosíntesis de almidón, lípidos, proteínas de reserva, etc. Esta información permite, a su vez, aislar genes homólogos en otras plantas.

En poco tiempo, el desarrollo de la tecnología de transformación genética ha sido enorme, sobre todo debido a su potencial, ya que permite:

1. Introducir única y exclusivamente genes foráneos concretos, que proporcionan uno o varios caracteres nuevos y específicos, sin modificar el resto del genoma de la planta.
2. Utilizar DNA de cualquier organismo para realizar las construcciones genéticas que se introducen en las plantas, desde genes de la propia planta o de otra, hasta genes procedentes de otros organismos como bacterias, virus, hongos o insectos.

7. LA MEJORA DE LAS PLANTAS MEDIANTE TRANSFORMACIÓN GENÉTICA

En poco más de veinte años, desde que se obtuvieron las primeras plantas transgénicas hasta la actualidad, han sido muchos los genes que se han introducido en variedades de interés agronómico con el objetivo de mejorarlas. En líneas generales, en las plantas transgénicas que encontramos ya en campos y mercados, se ha conseguido obtener resistencia y mayor tolerancia a plagas y enfermedades, resistencia y mayor tolerancia a herbicidas, mejora de la calidad nutritiva (retraso en el reblandecimiento del fruto y alteración en el contenido de ácidos grasos) y androesterilidad.

7.1. Se han utilizado genes en «antisentido» para retrasar el reblandecimiento del fruto

Uno de los primeros productos transgénicos vegetales que se comercializaron en el mundo fue, en EE.UU., en 1994, el tomate «de larga vida» (Fig. 30-13). Una vez cosechados los

tomates, la enzima poligalacturonasa degrada las pectinas, que son componentes esenciales de muchas frutas. Esto conlleva directamente el reblandecimiento del fruto y deterioros en su aroma y sabor. Estas **plantas transgénicas de tomate** se han transformado con la región codificadora del gen de la enzima poligalacturonasa, pero insertado al revés en el módulo de expresión, es decir, en **«antisentido» (reverso complementario)**, de manera que, en la doble cadena de DNA, la guanina se sustituye por citosina y la citosina por guanina; la adenina se sustituye por timina, y la timina por adenina. Este gen dispuesto en «antisentido» transcribe un mRNA con secuencia complementaria al mRNA transcrito por el gen de la poligalacturonasa propio de las células vegetales, que bloquea parcialmente la síntesis de dicha enzima mediante un mecanismo de interferencia de RNA (Fig. 30-14). Como consecuencia de ello se produce un retraso en la degradación de las pectinas y, por tanto, se consigue un tomate que tarda mucho más tiempo en reblandecerse. Utilizando esta misma estrategia de transformación con genes en «antisentido» se ha conseguido bloquear parcialmente la síntesis de etileno en plantas de tomate y melón, lo que inhibe la maduración de los frutos (véase el Capítulo 26). El proceso de maduración se restaura mediante un tratamiento con etileno exógeno.

La interferencia de RNA es un fenómeno de degradación específica de RNA altamente conservado en eucariotas y que también se ha denominado silenciamiento génico post-transcripcional en plantas. Es un mecanismo de regulación génica que interviene tanto en los procesos de desarrollo como en la respuesta de la célula frente al estrés. Actualmente sabemos que es necesaria la formación de una molécula de RNA de doble cadena (dsRNA) para que se induzca la interferencia de RNA. Esta molécula se produciría a partir de mRNA con cierta autocomplementariedad o a partir de transgenes en disposición de tándem invertido o de



Figura 30-13. Tomates transgénicos «de larga vida» a la izquierda, junto a otros tipos de tomates a la venta en un supermercado norteamericano.

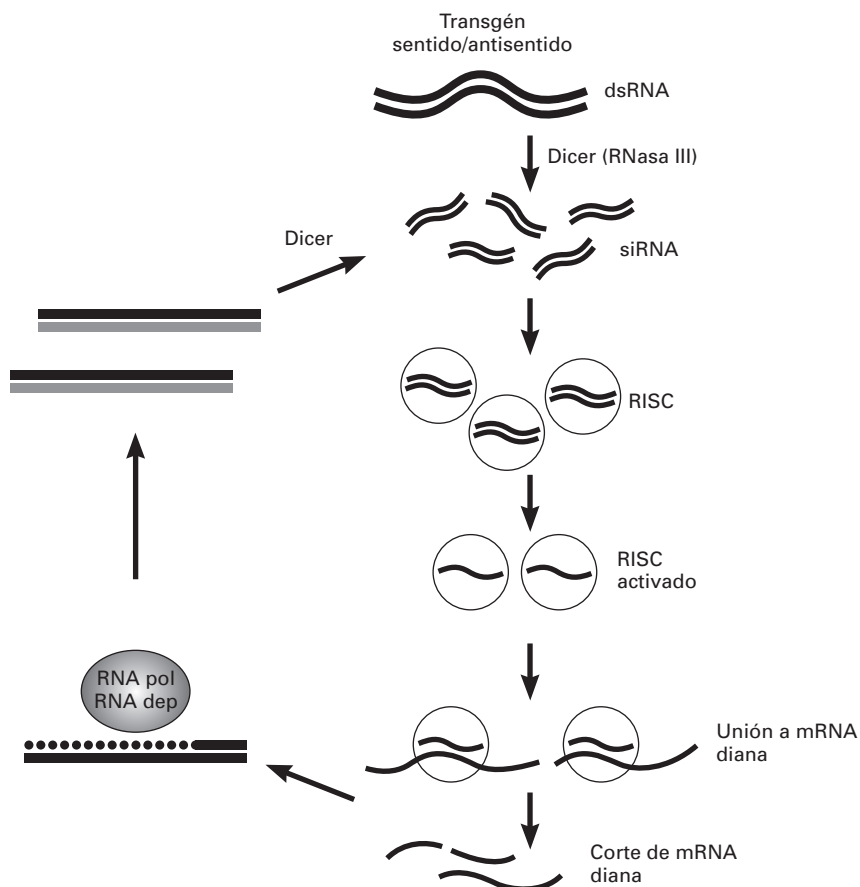


Figura 30-14. Representación esquemática del proceso de interferencia de RNA inducido por la expresión de transgenes.

transcritos «aberrantes» (no traducibles, antisentido, etc.) reconocibles por una RNA polimerasa RNA dependiente de la célula. Los dsRNA serían reconocidos y procesados por una enzima de tipo RNasa III, o ribonucleasa específica de dsRNA, llamada Dicer. La enzima Dicer digiere el dsRNA en fragmentos de 21-25 nucleótidos denominados RNA pequeños interferentes, que son reconocidos por un complejo proteico llamado RISC (complejo de silenciamiento inducido por RNA). RISC separa las dos hebras del RNA pequeño interferente y guía una de ellas hacia uno o varios mRNA altamente complementarios en dicha secuencia. Estos mRNA diana son entonces digeridos por una ribonucleasa de RISC llamada Slicer en el centro de la zona complementaria de ambos RNA, y posteriormente son degradados por exonucleasas. Alternativamente, los RNA pequeños interferentes actúan como cebadores, y el mRNA como molde para que una RNA polimerasa RNA dependiente genere nuevas moléculas de dsRNA mensajero «aberrante» reconocibles por Dicer. Por tanto, a efectos de una planta transgénica, la sobreexpresión de transgenes tanto en antisentido como en sentido puede conducir al silenciamiento de los propios transgenes o de un gen endógeno homólogo mediante interferencia de RNA.

7.2. Plantas transgénicas con genes de origen bacteriano inactivan o degradan herbicidas

En Europa, se encuentran en el mercado variedades de soja transgénica con mayor tolerancia al herbicida glifosato. Se ha introducido en las plantas un gen (*aroA*, de origen bacteriano) que codifica una proteína que es una versión insensible de la proteína de la planta que es blanco de la acción del herbicida. Del éxito de esta estrategia da la medida el hecho de que, en 2004, de las 86 millones de hectáreas de soja sembradas en el mundo, el 56% correspondió a variedades transgénicas resistentes al glifosato.

Por otra parte, se ha incorporado a distintos cultivos (como la colza, la soja, el maíz o la remolacha) resistencia al herbicida fosfinotricina. En este caso, el gen foráneo (también de origen bacteriano) codifica una proteína que degrada el herbicida.

7.3. Los genes *cry* de *Bacillus thuringiensis* hacen a las plantas resistentes a las plagas

La bacteria *Bacillus thuringiensis* produce, en condiciones naturales, una toxina insecticida, y por ello viene siendo

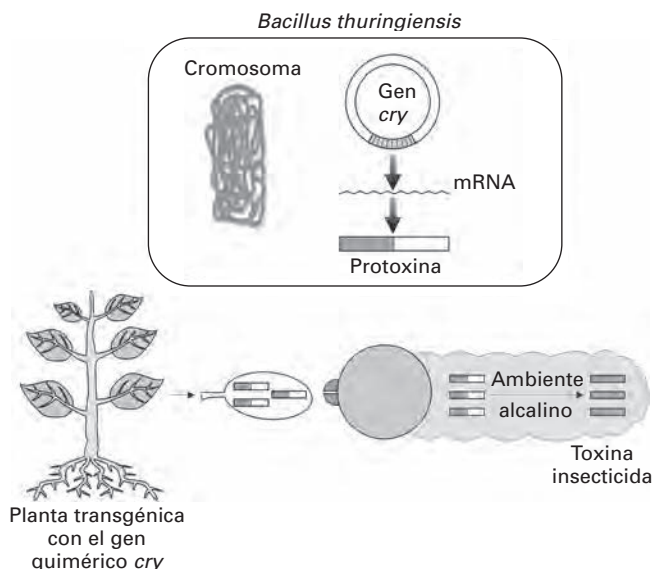


Figura 30-15. Los genes *cry* de *Bacillus thuringiensis* expresados en plantas las hacen resistentes a las plagas.

utilizada desde hace decenios por los agricultores ecológicos como alternativa a los plaguicidas. Las técnicas de ingeniería genética han permitido clonar los genes responsables de la producción de esas toxinas, y con ellos se han transformado plantas. Los **genes *cry*** de *B. thuringiensis* codifican una protoxina que es ingerida por el insecto cuando está comiendo de la planta transgénica. En el ambiente altamente alcalino del intestino del insecto, la protoxina se procesa proteolíticamente, originándose la toxina activa, que actúa como insecticida a varios niveles y mata al insecto (Fig. 30-15).

La primera siembra de plantas transgénicas con fines comerciales que se ha realizado en España ha sido la de maíz transgénico con un gen *cry* de *B. thuringiensis*, para hacer frente al taladro europeo (*Ostrinia nubilalis*), llevada a cabo en 1998 por la empresa Novartis. Otra empresa, Monsanto, está realizando en nuestro país ensayos de campo de algodón transgénico con genes *cry* para hacer frente a sus plagas más importantes. En 2004 se han sembrado más de 15 millones de hectáreas de cultivos Bt en todo el mundo.

7.4. La expresión de la proteína de la cápsida de un virus en plantas transgénicas confiere resistencia a dicho virus

A mediados de los años ochenta, poco después de que se obtuviesen las primeras plantas transgénicas, investigadores de la Universidad de St. Louis y de la empresa Monsanto descubrieron que, si transformaban plantas con el **gen de la proteína de la cápsida** (o de cubierta) de un virus, las plantas resultaban resistentes a las infecciones por dicho virus. Más tarde demostraron que la sobreexpresión

de esta proteína en las plantas transgénicas impedía la desencapsidación y, por tanto, la replicación de los virus entrantes en las células.

Desde principios de los años noventa se cultiva en China tabaco transgénico resistente a varias virosis utilizando esta estrategia. En Estados Unidos, investigadores de la Universidad de Cornell han desarrollado plantas transgénicas de calabacín y de papaya resistentes a distintos virus, que ya se comercializan. En ambos casos, la resistencia se produce por un mecanismo de interferencia de RNA que afecta tanto al transcrito del transgén como al RNA viral entrante.

7.5. Se han conseguido androesterilidad y partenocarpia en plantas transgénicas gracias a la utilización de promotores específicos de tejido

Hasta ahora, en los ejemplos mencionados nos hemos referido a genes de interés sin preocuparnos del promotor bajo el que se encontraban en el módulo de expresión. En todos estos casos, las estrategias de mejora implicaban la utilización de promotores que confiriesen alta expresión a la región codificadora del gen quimérico. Esto se consigue con promotores como los constitutivos 35S y NOS. Ahora nos vamos a referir a estrategias de mejora en las que el promotor resulta esencial, al dirigir la expresión del gen quimérico a determinados tejidos de la planta.

Las plantas androestériles son de gran utilidad en la producción de semillas híbridas para explotar los efectos de la heterosis (o vigor híbrido). En algunos cultivos, como el maíz, es posible eliminar las anteras con el fin de prevenir la autofe-

cundación. En otros, esto resulta mucho más difícil. De ahí la importancia de que se puedan obtener plantas transgénicas androestériles de determinados cultivos. Para ello se ha utilizado un módulo de expresión con un promotor específico de antera procedente de tabaco. La región codificadora corresponde a una enzima que degrada el RNA (llamada por ello ribonucleasa) y ocasiona la muerte celular. La transformación de plantas con este módulo de expresión da como resultado plantas perfectamente normales, pero con polen no funcional. Ya se ha logrado una **colza transgénica androestéril** siguiendo esta estrategia.

Las plantas partenocárpicas son capaces de producir frutos sin necesidad de que haya fertilización. Estos frutos no presentan semillas, lo cual facilita su aceptación por el consumidor. En las plantas partenocárpicas se produce un incremento en la síntesis de auxinas en los óvulos durante las fases tempranas del desarrollo de flores y frutos (véase el Capítulo 26). Basándose en ello, investigadores italianos han construido un módulo de expresión con un **promotor específico de óvulos**, procedente de la planta *Antirrhinum majus*, y la región codificadora del gen *iaaM*, procedente de la bacteria *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi*, que codifica una enzima implicada en la síntesis de la auxina ácido indol-3-acético (un homólogo de este gen también se encuentra en el T-DNA de *A. tumefaciens*; véase el apartado 2.1). Con este gen quimérico se ha transformado la berenjena, que en condiciones naturales no es una planta partenocárpica. Su expresión en los óvulos ha dado lugar a la producción de plantas con frutos sin semillas, en ausencia de polinización. Este mismo sistema se ha transferido con éxito al tomate y a la vid.

8. ESTABILIDAD DE LA INTEGRACIÓN Y LA EXPRESIÓN DE LOS GENES FORÁNEOS EN LAS PLANTAS

La integración de los genes foráneos en las células vegetales se produce en lugares al azar, aunque preferentemente en zonas ricas en pares adenina-timina. Esto hace que el nivel de expresión de los transgenes varíe de una planta transgénica a otra, y entre una planta transgénica y su progenie, ya que se ve directamente afectado por el contexto genómico en el que se integran. Este fenómeno se denomina **efecto posición**. El número de copias de los transgenes que se integran es también aleatorio. Además, se han descrito reorganizaciones del DNA foráneo en la célula vegetal, tanto antes de integrarse en el DNA genómico como en el momento de la integración. Ello conduce a la introducción de copias múltiples unidas en todas las direcciones posibles, copias truncadas, copias múltiples con copias truncadas e, incluso, copias múltiples con segmentos de DNA de la planta entre ellas.

Tanto el efecto posición como la integración de un alto número de copias y las reorganizaciones del DNA foráneo parecen estar implicados en el llamado **silenciamiento génico**, que consiste en la inactivación de la expresión del transgén (transcripcional), o en la degradación del mRNA en el citoplasma (postranscripcional). También se ha descrito este fenómeno en plantas transgénicas sometidas a

situaciones de estrés, tales como altas temperaturas. El silenciamiento génico postranscripcional se produce a través de un mecanismo de interferencia de RNA. Para evitar el silenciamiento se han diseñado vectores de transformación en los que los módulos de expresión se encuentran entre secuencias de unión a la matriz nuclear. Estas secuencias reguladoras facilitan la apertura de la cromatina, consiguiéndose que la expresión de los genes sea más estable, alta y uniforme.

Se ha observado que, cuando se introduce un transgén en una planta que ya posee ese mismo gen como parte de su genoma, ambos se silencian. Este fenómeno se conoce como **cosupresión**, y es un tipo de silenciamiento génico postranscripcional; es decir, el mRNA de ambos genes se degrada en el citoplasma. El descubrimiento reciente del funcionamiento del silenciamiento a través de interferencia de RNA ha hecho que se pueda utilizar de forma más o menos controlada para bloquear la expresión génica en las plantas (Fig. 30-15). Para ello se suele utilizar como transgén quimérico un fragmento de secuencia homóloga al gen que se pretende silenciar en sentido, y el mismo fragmento en antisentido, separados ambos por un intrón, de manera que el transcrito formaría una horquilla de dsRNA que desencadenaría el proceso de interferencia de RNA y con ello la degradación eficaz del mRNA que se desea silenciar. Esta estrategia funciona, en general, mucho mejor que la sobreexpresión de transgenes en sentido o en antisentido cuando el objetivo es inactivar la expresión de genes de la planta.

9. PLANTAS TRANSGÉNICAS LIBRES DE MARCADORES Y TRANSGENES SIN POSIBILIDAD DE DISPERSIÓN POR POLEN

El desarrollo y la comercialización de las primeras variedades transgénicas ha creado una gran polémica en la opinión pública. Se ha dicho que la tecnología transgénica presenta problemas, como la necesidad de introducir en las plantas genes de resistencia a los antibióticos como marcadores, o la posibilidad de dispersión no controlada de los transgenes por el polen a plantas silvestres. Aunque la magnitud real de estos inconvenientes se encuentra en discusión, ya hay laboratorios que han desarrollado vectores y marcadores que permiten obtener plantas transgénicas sin necesidad de utilizar genes de resistencia a los antibióticos, o que los eliminan una vez han cumplido su función; o modificaciones para hacer plantas androestériles; o para integrar los transgenes en el genoma cloroplástico en lugar de en el genoma nuclear, evitando con ello la dispersión a través del polen en aquellas especies en las que el genoma cloroplástico se hereda por vía materna.

La tecnología transgénica sigue un avance exponencial, y prueba de ello son su utilización cada vez mayor en experimentos de biología vegetal y los miles de ensayos de campo que se realizan actualmente en todo el mundo para probar estrategias nuevas de mejora de las plantas (Fig. 30-16).

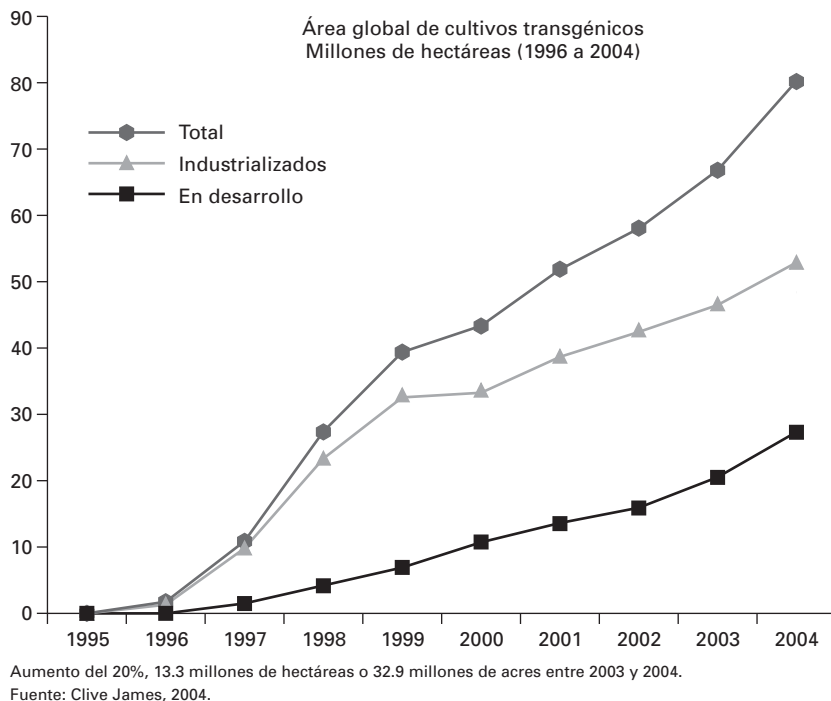


Figura 30-16. Área global de cultivos transgénicos en millones de hectáreas. (Datos de James, International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications.)



RESUMEN

- La biotecnología de transformación genética se basa en la aplicación de las técnicas de ingeniería genética y de cultivo de tejidos vegetales *in vitro* para la mejora de las plantas y para investigar los mecanismos que controlan su desarrollo y sus respuestas a factores de estrés biótico y abiótico.
- Las plantas transgénicas son plantas en las que se ha introducido un fragmento de DNA foráneo en el genoma de sus células. Este DNA se expresa y confiere a las plantas unas características nuevas, que antes no poseían.
- Hay dos tipos de métodos de transformación de las plantas. Unos utilizan la bacteria *Agrobacterium* como vehículo que transporta el DNA foráneo y lo integra en el genoma de la célula vegetal. Otros se basan en la integración del DNA foráneo en el genoma de la célula vegetal por métodos físicos.
- Esta tecnología permite introducir genes quiméricos en las plantas sin alterar el resto de su genoma. Además, los genes quiméricos pueden proceder de la misma planta que se quiere modificar o de otra, o incluso de cualquier otro organismo vivo. Su enorme potencial está dando origen a una nueva manera de abordar la mejora genética de las plantas.



PROBLEMAS Y CUESTIONES

- 1 ¿Qué es una planta transgénica?
- 2 ¿En qué consiste la totipotencia de las células vegetales?
- 3 ¿Cuáles son los tres componentes genéticos de *Agrobacterium* necesarios para la infección y la transferencia e integración de DNA en las células vegetales?

PROBLEMAS Y CUESTIONES (Cont.)



- 4 ¿Qué diferencia a los vectores cointegrados de los binarios que se utilizan para transformar plantas con *Agrobacterium*?
- 5 ¿Qué es un módulo de expresión o gen quimérico?
- 6 Uno de los promotores más utilizados en los módulos de expresión para transformar plantas es el promotor NOS del gen de la octopina sintasa (*nos*) de *Agrobacterium*, ya que transcribe la región codificadora a altos niveles. ¿Cómo es posible que el promotor del gen de un procarionta funcione y confiera alta expresión a genes en células eucariotas?
- 7 ¿Qué es un gen marcador?
- 8 ¿Son las células vegetales totipotentes necesariamente aptas para la regeneración?
- 9 ¿Qué diferencia a los vectores superbinarios de los binarios?

RESPUESTAS A LOS PROBLEMAS Y CUESTIONES



- 1 Es una planta en la que se ha introducido un fragmento de DNA foráneo en el genoma de sus células. Este DNA se expresa y confiere a la planta unas características nuevas, que antes no poseía.
- 2 En la capacidad de regenerar plantas enteras a partir de una o muy pocas células.
- 3 El T-DNA y la región de virulencia o región *vir*, ambos incluidos en el plásmido Ti, y los genes de virulencia *chv*, localizados en el cromosoma.
- 4 En los vectores cointegrados, la región *vir* y el T-DNA se encuentran en un mismo plásmido; en cambio, en los vectores binarios, la región *vir* y el T-DNA se encuentran en dos plásmidos diferentes. En este caso se dice que la región *vir* actúa en «trans» respecto al T-DNA.
- 5 Se denomina módulo de expresión o gen quimérico a la región codificadora del gen foráneo clonada bajo secuencias promotoras y terminadoras procedentes de otro gen o de otros genes.
- 6 Porque el gen *nos* es un gen del T-DNA de *Agrobacterium*. Los genes del T-DNA de *Agrobacterium* funcionan como genes eucariotas y, además, se expresan a altos niveles en las células vegetales, tanto para producir fitohormonas como para producir opinas. El gen *nos* es responsable de la producción de la opina octopina.
- 7 Es un gen que, expresado en una célula transgénica, le confiere una característica nueva que permite distinguirla rápida y fácilmente de las células no transgénicas.
- 8 No. Las células totipotentes son potencialmente aptas para la regeneración, pero la aptitud para la regeneración no es un estado permanente de las células vegetales totipotentes. Sólo en las condiciones adecuadas las células totipotentes resultan aptas para regenerar plantas enteras.
- 9 Los vectores superbinarios son vectores binarios en los que se han introducido, en cualquiera de los dos plásmidos, pero fuera del T-DNA, copias adicionales de determinados genes *vir*. Esto les permite transformar gramíneas (plantas que normalmente no transforma *Agrobacterium*), incrementar la frecuencia de transformación en determinadas plantas difíciles de transformar e, incluso, introducir en el genoma de las plantas fragmentos de DNA foráneo enormes, de hasta 150 kilobases.

**BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA**

1. García Olmedo F. *La tercera revolución verde. Plantas con luz propia*. Madrid, Debate, 1998.
2. Kung SD, Wu R (eds.). *Transgenic Plants*, Vol. 1. *Engineering and Utilization*. Academic Press, 1993.
3. Kung SD, Wu R (eds.). *Transgenic Plants*, Vol. 2. *Present Status and Social and Economic Impacts*. Academic Press, 1993.
4. Peña L (ed.). *Transgenic Plants. Methods and Protocols. Methods in Molecular Biology*. Humana Press, 2005.
5. Christou P, Klee H (eds.). *Handbook of Plant Biotechnology*. Vol. 1. Wiley, 2004.
6. Christou P, Klee H (eds.). *Handbook of Plant Biotechnology*. Vol. 2. Wiley, 2004.
7. Curtis IS. (ed.). *Transgenic crops of the world*. Kluwer Academic Publishers, 2004.
8. Potrykus I, Spangenberg (eds.). *Gene transfer to plants*. Springer, 1995.
9. Gallun E, Breiman A (eds.). *Transgenic Plants*. Imperial College Press, 1997.
10. Redenbaugh K et al. *Safety assessment of genetically engineered fruits and vegetables. A case study of the Flavr Savr tomato*. CRC Press, 1992.
11. Dixon RA, Gonzales RA. (eds.). *Plant Cell Culture. A practical approach*. 2.^a ed. Oxford, IRL Press, 1994.

Glosario

aba. Mutante de *Arabidopsis thaliana* afectado en la biosíntesis del ABA que provoca deficiencia en esta hormona.

Abaxial. Relativo al envés o cara inferior de una hoja.

abi. Mutante de *Arabidopsis thaliana* insensible a la acción del ABA.

Abiótico. En el contexto del estrés de los vegetales, relativo a las condiciones desfavorables para el crecimiento vegetal causadas por los factores ambientales.

ABP-1. Posible receptor de auxina. La proteína posee un motivo KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu) que lo localizaría en el retículo endoplasmático. Una fracción pequeña estaría también localizada en la membrana plasmática (del inglés, *auxin binding protein-1*).

Abscisión. Proceso de desarrollo mediante el cual de las plantas se desprenden órganos tales como los frutos, las hojas, las estructuras florales y las pequeñas ramas.

Ácido abscísico. Hormona vegetal que inhibe el crecimiento, promueve la dormición y participa en las respuestas de la planta frente al estrés ambiental.

Ácido salicilhidroxámico (SHAM). Compuesto químico inhibidor de la oxidasa alternativa.

Aclareo. En fruticultura, práctica de cultivo que consiste en eliminar, por medios manuales o químicos, parte de los frutos en desarrollo para reducir la competencia que se establece entre ellos por los nutrientes, y mejorar así el tamaño final de los que quedan.

Aclimatación (endurecimiento, hardening). Incremento de la tolerancia al estrés asociado a la exposición previa de las plantas a condiciones estresantes.

Acomodación (al estrés). Modificación heredable, aunque transitoria, que aumenta la probabilidad de que una planta sobreviva y se reproduzca en un ambiente particular.

Acrópeto. Transporte polarizado desde la base hacia el ápice o cima de un órgano.

Actinorriza. Planta angiosperma no leguminosa que es capaz de fijar el nitrógeno atmosférico estableciendo la simbiosis con *Frankia*.

Acuaporina(s). Proteína de membrana que actúa como un canal para el agua y que facilita el transporte de estas moléculas a favor del gradiente de potencial hídrico.

Las acuaporinas son una familia multigénica de proteínas integrales de membrana, ubicuas en los organismos vivos. Su nombre deriva de la primera función que se conoció, consistente en la facilitación del transporte de agua a través de las membranas celulares. Actualmente se sabe que algunas de ellas también pueden transportar otras sustancias, como urea, CO₂, etc. Las principales familias de estos canales de agua son las PIPs (del inglés, *plasma membrane intrinsic proteins*), que mayoritariamente se localizan en la membrana plasmática, y las TIPs (del inglés, *tonoplast intrinsic proteins*), que se ubican en la membrana vacuolar.

Adaptación (al estrés). Modificación heredable y duradera que aumenta la probabilidad de que una planta sobreviva y se reproduzca en un ambiente particular.

Adaxial. Relativo al haz o cara superior de una hoja.

Adenosina 5'-fosfosulfato (APS). Forma activada del sulfato (SO₄²⁻) formada por la reacción entre sulfato y ATP. Constituye el primer producto de la vía de reducción del sulfato para la síntesis de cisteína.

Adsorción. Unión de iones o moléculas a una superficie (p. ej., a una partícula de suelo o de la raíz).

Aerénquima. Tejido parenquimático que presenta grandes espacios intercelulares aeríferos. Es frecuente en muchas plantas acuáticas.

Agalla de corona. Tumor resultante de la infección del tallo por la bacteria edáfica *Agrobacterium tumefaciens*.

Agente complejante. Uno de los componentes de un **complejo**, en el que hay un átomo donador de electrones, como N, O o S.

Agente quelante. Uno de los componentes de un quelato en el que hay dos o más átomos donadores de electrones (bases de Lewis).

Agrobacterium rhizogenes. Bacteria que en las plantas produce la enfermedad tumoral de las raíces en cabellera. Al igual que en la enfermedad de las agallas de la corona, causada por *Agrobacterium tumefaciens*, este fenómeno se origina por la movilización del T-DNA del plásmido Ri bacteriano. El proceso se ha utilizado para insertar genes foráneos en células de plantas, aunque en menor medida que el sistema de transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens*.

Agrobacterium tumefaciens. Bacteria que origina la enfermedad de las agallas de la corona en las plantas. La bacteria infecta células en heridas de la planta e incorpora un segmento del DNA (T-DNA) de su plásmido Ti en el genoma de las células huésped. La expresión de los genes del T-DNA hace que las células se multipliquen de forma incontrolada y den lugar a la formación de tumores en los que, además, se sintetizan opinas específicas que sólo el patógeno puede metabolizar.

ahk2-ahk3-ahk4. Triple mutante de los genes que codifican los receptores de citoquininas *AHK2*, *AHK3* y *AHK4* de *Arabidopsis*. El mutante presenta un fenotipo enano, con una drástica disminución del desarrollo de los meristemos apicales del tallo y la raíz.

AHKs, receptores-. (del inglés, *Arabidopsis histidine kinase*). Nombre genérico de los receptores de citoquininas de *Arabidopsis*. Por el momento se han identificado tres: *AHK2*, *AHK3* y *AHK4/CR1/WOL*. Todos son sensores histidina quinasa híbridos, con un dominio extracelular de unión a las citoquininas, 2-3 segmentos transmembrana, un dominio histidina quinasa y un dominio receptor. Son codificados por los genes *AHK2*, *AHK3* y *AHK4*.

AHPs, genes-. (del inglés, *Arabidopsis histidine phosphotransfer protein*). Genes que codifican histidina fosfotransferasas de *Arabidopsis* (AHPs), componentes de la ruta de señalización de las citoquininas (propagan la señal desde el receptor al núcleo).

Albura. Leño más reciente de un árbol, con conductos xilemáticos abiertos que aún funcionan en el transporte de agua.

Alcaloide. Compuesto orgánico de origen principalmente vegetal, que contiene nitrógeno y es fisiológicamente activo en los vertebrados. Muchos de estos compuestos (como la atropina, la morfina o la quinina) son muy utilizados en medicina.

Almidón. Polisacárido de reserva predominante en las plantas. Se acumula en los cloroplastos y los amiloplastos, y está compuesto por unidades de glucosa agrupadas en largas cadenas de amilosa (fracción no ramificada) y amilopectina (fracción ramificada).

Alogamia. Polinización o unión de dos gametos de sexo diferente producidos por individuos distintos de una misma estirpe. También se denomina polinización cruzada.

Alternancia de generaciones. Ciclo vital en el que alternan una generación haploide y otra diploide. En las plantas, la generación diploide, denominada esporofito, procede del cigoto y produce esporas por meiosis; la generación haploide se denomina gametofito, se origina de las esporas y produce, por mitosis, los gametos.

Amidas. Compuestos nitrogenados (glutamina, asparragina, etc.) producidos por la asimilación del amonio procedente de la fijación y que son transportados por el xilema desde los nódulos a la parte aérea, generalmente en las leguminosas de origen templado.

Anatomía Kranz. Anatomía foliar característica de las plantas C₄, basada en la disposición especial de los dos tipos de células fotosintéticas, conocidas como células del mesófilo y células de la vaina, que permite maximizar el contacto entre estos dos tipos celulares y limitar el escape de CO₂ desde las células de la vaina.

Anfiestomática. Con estomas en el haz y en el envés de la hoja.

Anfipatía. Cualidad de una molécula de presentar una región hidrófoba y otra hidrófila.

Angiosperma. Grupo monofilético de espermatofitas (plantas que producen semillas) cuya característica distintiva es la producción de flores periantadas. Familiarmente se conocen como «plantas con flor». El nombre de angiospermas proviene de dos étimos griegos: *αγγειον* (*angion*: vaso, ánfora) y *σπέρμα* (*sperma*: semilla), de modo que el término significa literalmente «semillas envasadas», en referencia a que sus óvulos (y posteriormente sus semillas) están encerrados por la hoja fértil portadora de los óvulos o «carpelo». De esta forma el grano de polen, para fecundar al óvulo, debe entrar en contacto con una superficie del carpelo preparada para ello (el «estigma»).

Anhidrasa carbónica. Metaloenzima que cataliza la interconversión entre CO₂ y HCO₃⁻. En las plantas existen diferentes isoformas de esta enzima, como la cloroplástica, la periplásmica y la citosólica. Sus funciones consisten en facilitar la disolución del CO₂ en el medio líquido celular (el HCO₃⁻ es más soluble), suministrar HCO₃⁻ a la fosfoenolpiruvato carboxilasa en la fotosíntesis C₄, así como suministrar CO₂ a la rubisco por deshidratación del HCO₃⁻ en la fotosíntesis C₃.

Anisohídrica. Que no mantiene un estado hídrico constante.

Anoxia. Carencia total de oxígeno. Contrasta con hipoxia.

Antealimentación. Respuesta en la cual la velocidad de un proceso resulta afectada antes de que se haya presentado ningún efecto negativo de éste; por ejemplo, la disminución en la conductancia estomática antes que se vea afectado el potencial hídrico foliar.

Antena fotosintética. Macrocomplejo proteínico incluido en la membrana fotosintética que contiene una gran cantidad de biomoléculas pigmentos (clorofilas y carotenoides) capaces de absorber los fotones de luz. Los pigmentos de la antena están ordenados y dispuestos en proximidad para acoplarse excitónicamente, de modo

que se puedan transmitir unos a otros los paquetes o «cuantos» de energía de excitación (excitones) obtenidos por la absorción de energía fotónica luminosa (fotones).

Antiauxina. Compuesto que presenta analogía estructural con las auxinas, pero que no provoca sus efectos fisiológicos. Las antiauxinas se utilizan como inhibidores de la acción auxínica.

Anticitoquininas. Compuestos que inhiben reversiblemente la actividad de las citoquininas.

Antioxidantes. Compuestos capaces de reaccionar con las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, convirtiéndolas en formas no tóxicas, o bien controlando su concentración para evitar el daño oxidativo en las células.

Antípodas. Trío de células situadas en el extremo opuesto a la célula huevo en el saco embrionario de las angiospermas (gametofito femenino o megagametofito).

Antiporte. Tipo de transporte que se produce cuando un transportador cataliza el movimiento de un soluto a través de una membrana en dirección contraria a la que se desplaza el ion motriz.

Apomixis. Producción asexual (sin fecundación) de semillas.

Apoplasto. Espacio externo a la membrana plasmática en el que se encuentra la pared celular y que puede presentar continuidad en el seno del tejido.

Apoptosis. Muerte celular programada que muestra características morfológicas y bioquímicas peculiares, como la fragmentación del DNA entre los nucleosomas.

APS reductasa. Enzima que reduce el APS (forma activa del sulfato) a sulfito (SO_3^{2-}) utilizando glutatión reducido (GDH) como donador de electrones. Interviene en la vía de asimilación reductiva del sulfato.

ARF. Factores *trans* de respuesta a la auxina (del inglés, *auxin response factor*). Actúan como factores de transcripción. Poseen un dominio de unión a DNA (N-terminal) y otro dominio para la dimerización (C-terminal). Los heterodímeros AUX/IAA-ARF permiten la expresión o la represión de los genes regulados por los AuxRE. Los homodímeros ARF-ARF potencian la expresión de esos genes.

ARRs (reguladores de respuesta de *Arabidopsis*). Componentes de la ruta de señalización de las citoquininas. Desde el punto de vista químico, son proteínas similares a los reguladores de respuesta del sistema de dos componentes bacteriano. Existen dos clases: ARR-tipo A, codificados por genes de respuesta primaria a las citoquininas; y ARR-tipo B, factores de transcripción de los genes que codifican los reguladores de respuesta de tipo A.

Asparagina sintetasa. Enzima que transfiere el nitrógeno del grupo amido de la glutamina al aspartato para formar asparagina. La asparagina constituye uno de los principales productos de la asimilación del nitrógeno en las plantas y desempeña una importante función como metabolito de transporte y almacenamiento de nitrógeno.

Aspartato aminotransferasa. Aminotransferasa que cataliza la transferencia del grupo amino del glutamato al oxalacetato para formar aspartato. Además de actuar como precursor metabólico de la asparagina, el aspartato también es utilizado como metabolito para transportar nitrógeno y carbono entre compartimientos celulares y entre una célula y otra.

ATP sulfurilasa. Enzima que cataliza la activación del sulfato transfiriendo el fragmento de adenosina 5'-fosfato del ATP al sulfato (SO_4^{2-}) para formar adenosina 5'-fosfosulfato (APS). Dicha reacción constituye la primera etapa de la asimilación del sulfato.

ATP. Siglas de la molécula adenosina trifosfato, que consta de una purina (adenina), un azúcar (ribosa) y tres grupos fosfato. En los enlaces de alta energía que unen los grupos fosfato se almacena una gran cantidad de energía para las funciones biológicas, la cual se libera cuando uno o dos de los fosfatos se separan de las moléculas de ATP. El compuesto resultante de la pérdida de un fosfato se denomina ADP o adenosina difosfato; si se pierden dos fosfatos, el ATP se transforma a AMP o adenosina monofosfato.

Autocatalisis. Proceso de regulación de la producción de una hormona por el cual se estimula su propia síntesis. Es el proceso característico de la producción de etileno durante la maduración de los frutos climatéricos.

Autogamia. Polinización o unión de dos gametos de sexo distinto producidos por un mismo individuo, ya dentro de una misma flor, ya entre flores distintas. También se denomina autopolinización o autofecundación.

Autoincompatibilidad. Imposibilidad que presenta una variedad para formar semillas mediante autofecundación.

Autoinhibición. Proceso de regulación de la producción de una hormona por el cual esa hormona inhibe su propia síntesis. Es un proceso más extendido que el de autocatalisis, ya que tiene lugar en tejidos vegetativos y reproductivos de numerosas especies.

Autótrofo. Organismo vivo que es capaz de crecer y desarrollarse utilizando como fuente de energía y alimento sustratos inorgánicos.

AUX/IAA, genes-. Familia de genes de respuesta rápida de las auxinas. Su producto (proteínas AUX/IAA) se une a factores ARF para regular la respuesta a la auxina.

AUX1, genes-. Familia de genes cuyo producto (AUX1) se identifica como un transportador de entrada para las auxinas.

Auxanómetros. Dispositivos para medir la variación en el tiempo de crecimiento de los órganos vegetales como respuesta a diferentes tratamientos (físicos o químicos).

Auxina. Clase de hormonas vegetales (fitohormonas) cuyo representante paradigmático es el ácido indolil-3-acético (ácido indolacético o AIA). Existen auxinas naturales y sintéticas.

Auxina ligada. Producto del catabolismo hormonal en el que la sustancia activa pierde sus propiedades al unirse a un azúcar o a un aminoácido. También se conoce como auxina conjugada.

- AuxRE.** Elementos *cis* de respuesta a la auxina (*auxin-responsive element*) identificados dentro de los promotores de los genes regulados por la auxina. Poseen secuencias características TGTCTC.
- β -oxidación.** Vía metabólica de degradación de los ácidos grasos en la que a partir de un acil-CoA graso se obtienen moléculas de acetil-CoA. En plantas, esta vía se ubica en los peroxisomas o en los glioxisomas.
- BA (o BAP).** Siglas de la citoquinina aromática benciladenina (bencilamino purina).
- Bacterioide.** Rizobios que, una vez liberados del cordón de infección en el interior de las células del huésped, sufren un proceso de transformación que comprende, entre otros procesos, la síntesis del complejo nitrogenasa.
- Balística.** Técnica para generar células transgénicas en la que micropartículas de oro o tungsteno se recubren con DNA y se impulsan a velocidades de varios cientos de metros por segundo para ser introducidas en el genoma de las células vegetales diana. Esta técnica se ha utilizado con éxito para transformar no sólo el genoma nuclear, sino también el genoma cloroplástico de células vegetales.
- Banco de semillas.** Población de diferentes semillas presentes en un suelo dado.
- Banda de Caspari.** Impregnación de suberina cérica en la pared radial y transversal de las células de la endodermis y la exodermis, que hace que la pared sea impermeable al agua.
- Basípeto.** Transporte polarizado desde el ápice hacia la base de un órgano.
- BFA.** Brefeldina A, sustancia inhibidora del tráfico intracelular de vesículas.
- Bioensayo.** Método en el que se utiliza un material vegetal para establecer una relación cuantitativa entre el estímulo aplicado (fitohormona) y la respuesta fisiológica observada.
- Biótico.** En el contexto del estrés en los vegetales, relativo a las condiciones desfavorables para el crecimiento vegetal causadas por otros seres vivos (pequeños o grandes animales, otras plantas, bacterias, hongos, virus y viroides).
- BODENLOS (BDL), gen-.** Gen de *Arabidopsis* cuya mutación produce plántulas sin hipocótilo ni raíz, pero con meristemo apical del tallo y los cotiledones. Codifica una proteína represora del factor de transcripción MONOPTEROS. La proteína codificada por el gen *BDL* mutado es resistente a la degradación inducida por las auxinas, por lo que el mutante *bdl* tiene el mismo fenotipo que el mutante *monopteros (mp)*.
- Bomba primaria.** Proteína de membrana que mueve iones (masa y carga) o solutos en contra del gradiente de potencial electroquímico, consumiendo energía metabólica (ATP o poder reductor) y generando un gradiente de concentración, eléctrico, o de ambos tipos.
- Bucle de retroalimentación WUS/CLV.** Regula el funcionamiento del meristemo apical del tallo. El gen *WUS* especifica las células troncales y activa la expresión del gen *CLV3*, que actúa reprimiendo la expresión de *WUS* a través de una cascada de proteína quinasas que se inicia con la unión del oligopéptido *CLV3* al receptor *CLV1/CLV2*. El bucle mantiene un equilibrio entre la proliferación de células troncales y la pérdida de células debida a la diferenciación.
- C5 Isopentenil difosfato (IpPP).** Precursor universal de los terpenos o isoprenoides. Se puede considerar el isopreno activo hipotético de Ruzicka.
- Caída fisiológica de frutos.** Fenómeno que presentan los árboles de algunas variedades de especies frutales y que consiste en la caída (véase **abscisión**) de los frutos recién cuajados para ajustar su número a la capacidad de nutrirlos. En el hemisferio norte también recibe el nombre de caída de junio, ya que tiene lugar alrededor de este mes.
- Caliptra (cofia, piloriza).** Estructura que protege la parte apical del meristemo apical de la raíz.
- Callo.** Masa no organizada de células diferenciadas y no diferenciadas que se dividen activamente a consecuencia de una herida, o bien en un cultivo mantenido en un medio provisto de fitohormonas.
- Calmodulina.** Proteína citosólica de unión reversible al calcio que regula muchas de las principales acciones del Ca intracelular, como segundo mensajero en el funcionamiento de hormonas y respuestas ambientales, señales celulares, modulador enzimático, etc. Conservada desde las cianobacterias, se encuentra en todas las plantas y animales.
- Cámara de presión.** Equipo utilizado para determinar el potencial hídrico en el xilema del tallo.
- Cambio climático.** Variación global o regional del clima terrestre a lo largo del tiempo (desde décadas a millones de años). Estos cambios pueden ser debidos a variaciones en los procesos internos o externos de la Tierra (la denominada variabilidad natural, como la variación en la intensidad de la luz solar); o bien a acciones antropogénicas (p. ej., emisiones de CO₂ debidas al consumo de combustibles fósiles como fuente energética, actividades industriales, deforestación).
- Cambio de fase.** Transición del estado juvenil al estado adulto.
- Cámbium del felógeno.** Meristemo secundario (lateral) que origina la peridermis o tejido dérmico, que sustituye a la epidermis cuando la planta experimenta crecimiento secundario en grosor.
- Cámbium vascular.** Meristemo secundario (lateral) que origina el xilema y el floema secundarios, que sustituyen a los tejidos vasculares primarios cuando la planta experimenta crecimiento secundario.
- Canal de agua.** Véase **acuaporina(s)**.
- Canal iónico.** Proteína de membrana que permite el paso selectivo de iones a favor del gradiente de potencial electroquímico, es decir, el transporte difusivo de éstos a través de las membranas.
- Capa de aleurona de semillas de cereales.** Capa presente en las semillas de este grupo de vegetales que tradicio-

nalmente ha sido utilizada para el estudio del proceso de señalización de las GAs. Sobre ella se ha estudiado la regulación de la transcripción de los genes de la α -amilasa conducentes a la germinación de la semilla.

Capa límite. Capa fina alrededor de la hoja o la raíz en la cual las condiciones difieren de las de la atmósfera o del suelo, respectivamente.

Capacidad de campo. Contenido hídrico que puede retener un suelo en contra de la fuerza de la gravedad.

Caroteno. Pigmento vegetal de naturaleza terpénica, de color amarillo, anaranjado o rojo. El β -caroteno es convertido en vitamina A por los animales.

Carotenoide. Biomolécula cromófora (pigmento) de cuarenta átomos de carbono (C40) que tiene una estructura principal lineal con grupos metilo laterales cada cuatro carbonos y dobles enlaces alternados. Desde el punto de vista biosintético, se deriva de la fusión de ocho unidades de isopreno (molécula de 5 C); por ello, se encuadra dentro de los lípidos isoprenoides o terpenos. Los carotenoides comprenden los carotenos (sin funciones oxigenadas) y las xantofilas (con oxígeno en su molécula). Actúan en la fotosíntesis como pigmentos accesorios en la captación y el transporte de la energía luminosa, y protegen a los vegetales del efecto letal combinado de la luz y el oxígeno.

Cavitación. Rotura de una columna de agua debida a la entrada de aire.

CBPs, proteínas-. (del inglés, *cytokinin binding protein*). Proteínas de unión a las citoquininas aisladas por métodos bioquímicos. Por el momento, ninguna de las CBPs identificadas cumple los requisitos de los receptores de citoquininas.

CDC, genes-. (del inglés, *cell division cycle*, ciclo de división celular). Genes que codifican proteína quinasas dependientes de ciclinas (véase CDKs).

CDKs (del inglés, *cyclin-dependent protein kinases*, proteína quinasas dependientes de ciclinas). Proteína quinasas que regulan las transiciones G1/S y G2/M durante el ciclo celular. Sólo se activan cuando forman un heterodímero con ciclinas específicas.

Célula derivada. Célula hija de las células troncales (iniciales) del meristemo. Las células derivadas se dividen de nuevo, inician una ruta de diferenciación, o ambas cosas a la vez.

Célula generativa. En el grano de polen, núcleo haploide que sufre mitosis para producir las dos células espermáticas que participan en la doble fertilización.

Célula troncal o inicial. Célula meristemática capaz de auto-perpetuarse y de generar células derivadas. En última instancia, estas células, también llamadas «madres», producen todas las células de la planta. Al dividirse, una de las células hijas permanece como troncal, mientras que la otra (denominada derivada) sigue una ruta de diferenciación.

Células anexas. Tipo de células localizadas distal y lateralmente con respecto a las células oclusivas del estoma.

Células oclusivas. Células epidérmicas especializadas que rodean al estoma y regulan el tamaño de su abertura.

Celulosa. Polisacárido constituido por cadenas lineales de β -glucosa, a través de enlaces β -1,4-glucosídico. Es la biomolécula más abundante de los seres vivos.

Centro organizador. Grupo de células situado en la base de la zona central del meristemo apical del tallo, responsable de la especificación y el mantenimiento de las células troncales de dicho meristemo. Es equivalente al centro quiescente del meristemo apical de la raíz. Sus células expresan el gen *WUS*, responsable de la especificación de las células troncales.

Centro quiescente. Zona central del meristemo apical de la raíz, cuyas células se dividen muy lentamente, y que da origen a las células troncales (iniciales) de los distintos tejidos de la raíz. Es equivalente al centro organizador del meristemo apical del tallo.

Ciclinas. Proteínas reguladoras que, asociadas con CDKs, participan en la regulación del ciclo celular (transiciones G1/S y G2/M).

Ciclo celular. Secuencia de episodios entre una división celular y la siguiente. Incluye los tres estados de la interfase G1 (del inglés, *gap*, espacio, o de pre-síntesis del DNA), S o síntesis (autoduplicación del DNA) y G2 (o de post-síntesis del DNA) y la división celular (M, mitosis).

Ciclo vital, de vida. Círculo imaginario que traza un organismo desde las estructuras reproductivas a partir de las cuales se desarrolla, hasta el momento en que él mismo forma nuevas estructuras reproductivas, que son similares a las primeras y darán lugar a un nuevo ciclo.

Citoquininas. Hormonas de las plantas que ejercen múltiples efectos sobre su desarrollo; uno de los más característicos es la estimulación de la división celular en presencia de auxinas. Desde el punto de vista químico, la mayoría de las citoquininas naturales son derivados de la base púrica adenina (presentan una cadena lateral unida al N⁶ de la adenina).

Citoquininas aromáticas. Citoquininas en las que la cadena lateral unida al N⁶ de la adenina es un compuesto aromático.

Citoquininas isoprenoidicas. Citoquininas en las que la cadena lateral unida al N⁶ de la adenina es un isoprenoide.

CKI1, gen-. (del inglés, *cytokinin independent 1*, independiente de citoquininas 1). Su sobreexpresión confiere un crecimiento independiente de citoquininas en cultivos celulares de *Arabidopsis*. Codifica proteínas similares a las histidina quinasas que funcionan en la señalización de citoquininas; sin embargo, no se ha demostrado que la proteína CKI1 se una con citoquininas a niveles fisiológicos.

CKX, enzima-. Citoquinina oxidasa/deshidrogenada que inactiva a las citoquininas eliminando su mitad isoprenoidica. Las citoquininas (y otras hormonas) regulan la expresión de los genes que codifican la enzima (genes *CKX*).

CLAVATA (CLV), genes-. Genes de *Arabidopsis* cuya mutación causa la formación de meristemos apicales de tallo muy voluminosos debido a un incremento de las células troncales de la zona central del meristemo apical del tallo.

Los genes *CLV1/CLV2* codifican receptores proteína quinasas, mientras que *CLV3* codifica un oligopéptido que actúa como ligando de *CLV1/CLV2*. Junto con el gen *WUS*, mantienen el funcionamiento del meristemo apical del tallo (véase **bucle de retroalimentación *WUS/CLV***).

Climaterio. Fase del desarrollo de algunos frutos caracterizada por una respiración particularmente activa y una producción máxima (variable según la especie) de etileno, que preceden a su inmediata maduración.

Clorofila. Biomolécula cromófora (pigmento) cuya estructura es un anillo tetrapirrólico cíclico, de tipo porfirina (similar al grupo hemo), con un catión metálico de magnesio ligado en el centro del anillo (Mg^{2+}) y una larga cadena hidrófoba de fitol.

Cloroplastos. Orgánulos subcelulares en los que se localiza específica y exclusivamente la maquinaria macromolecular fotosintética. Estos orgánulos son el elemento común presente en todas las células fotosintéticas eucariotas, desde las plantas superiores hasta las algas pluricelulares y unicelulares. Son, por tanto, unos plastidios especializados en la función fotosintética en eucariotas.

Clorosis. Síntoma visual de deficiencia de nutrientes habitualmente en las plantas que consiste en el amarilleo de las hojas, debido a una carencia prolongada de nitrógeno en la planta.

Clorosis férrica. Clorosis producida por problemas en la absorción del hierro que altera de forma lesiva la ultraestructura del cloroplasto. Es muy habitual en cítricos crecidos en suelos calizos, donde la movilidad del hierro se encuentra muy dificultada.

Cociente respiratorio (RQ). Cantidad de CO_2 (moles) liberado, dividida por la cantidad de O_2 consumido en la respiración. Indica el tipo de sustrato consumido en la respiración (p. ej., $RQ=1$ en caso de carbohidratos como sustrato).

Cofactor de molibdeno (MoCo). Complejo entre un átomo de molibdeno y una pterina fosforilada, que forma parte, como grupo prostético redox, de algunas molibdoenzimas, tales como la nitrato reductasa, la xantina deshidrogenasa, la aldehído oxidasa y la sulfito oxidasa.

Columela. Región central de la caliptra.

Competencia. Capacidad de una célula (o grupo de células) para responder a las señales hormonales (o de otra naturaleza) que activan una ruta particular de diferenciación.

Complejo. Tipo de molécula, también llamado compuesto de coordinación, formado por la unión entre un metal y un agente complejante. Este tipo de unión en los complejos es el covalente coordinado: uno de los átomos pone los electrones (base de Lewis) y el otro los acepta (metal o ácido de Lewis).

Complejos de respuesta a GAs. Elementos que se localizan en los promotores de genes activados por GAs, también conocidos como GARC, cuyas secuencias son muy definidas y constantes y que se caracterizan por contener los elementos específicos de respuesta a GAs (GARE).

Composición espectral. Proporción de luz en distintas longitudes de onda.

Conductancia. Flujo por unidad de fuerza motriz (p. ej., gradiente de concentración); inverso de resistencia.

Conductancia/resistencia cuticular. Conductancia/resistencia para la difusión de CO_2 o vapor de agua a través de la cutícula.

Conductancia/resistencia de la capa límite. Conductancia/resistencia para la difusión de CO_2 , vapor de agua o calor entre la superficie foliar y la atmósfera.

Conductancia/resistencia del dosel. Conductancia/resistencia para la difusión de CO_2 , vapor de agua o calor entre el dosel vegetal y la atmósfera.

Conductancia/resistencia estomática. Conductancia/resistencia para la difusión del CO_2 o vapor de agua a través del estoma.

Conductancia/resistencia foliar. Conductancia/resistencia para la difusión del CO_2 o vapor de agua de la hoja (incluye la conductancia/resistencia estomática y la de la cutícula).

Conductancia/resistencia interna. Conductancia/resistencia para la difusión del CO_2 entre los espacios intercelulares y el sitio de la rubisco.

Constante catalítica. Véase **número de recambio**.

Constante de Michaelis-Menten (K_M). Véase **Michaelis-Menten (K_M), constante de**.

Contenido hídrico relativo. Contenido hídrico de un tejido vegetal en relación al contenido hídrico a plena hidratación.

Control fotoperiódico del metabolismo de GAs. Efecto de la luz y del fotoperíodo en la acción de las GAs, y particularmente en ciertos procesos del desarrollo, como en la elongación del tallo. Este efecto es variable, en función de que la planta sea de día corto (del inglés, 'short day', SD) o largo ('long day', LD).

COP1 (constitutive photomorphogenesis 1). Proteína que reprime la fotomorfogénesis mediante su acción como E3 ligasa.

Cordón de infección. Estructura tubular por la que entran los rizobios en los pelos radicales de las leguminosas. Está rodeado de pared celular y contiene glicoproteínas de origen vegetal que se polimerizan y le confieren consistencia.

Cosupresión. Fenómeno natural de silenciamiento génico que actúa inhibiendo la expresión de transgenes y genes nativos con alta homología de secuencia a través de un fenómeno de interferencia de RNA que implica la degradación de mRNA nativo y transgénico.

Crasuláceas. Familia de plantas dicotiledóneas extendida por todo el mundo, pero que se da principalmente en el hemisferio norte y en África meridional. Estas plantas almacenan agua en sus hojas suculentas, ya que su hábitat característico son las zonas secas y calurosas, donde el agua es escasa. Se conocen aproximadamente unas 1 400 especies.

CRE1, gen-. (del inglés, *cytokinin response 1*, respuesta a citoquininas 1). Gen de *Arabidopsis* que codifica el recep-

tor de citoquininas CRE1/AHK4/WOL. Desde el punto de vista químico, es una histidina quinasa híbrida que guarda relación con los sensores de los sistemas de dos componentes bacterianos (véase **AHKs**).

Crecimiento. Incremento irreversible del tamaño.

Crecimiento determinado. Modelo de crecimiento en el que un organismo o un órgano crecen hasta alcanzar un tamaño definido.

Crecimiento indeterminado. Modelo de crecimiento ilimitado a lo largo de la vida de la planta; lo presentan los meristemos vegetativos.

Crecimiento partenocárpico del fruto inducido por GAs. Efecto inhibitorio de la formación de semillas inducido por la presencia de GAs en el fruto en desarrollo. El uso de estos compuestos en el ámbito agrícola tiene por objeto conseguir frutos sin semillas de valor comercial.

Crecimiento por ácido, hipótesis del-. Expansión y relajación de las paredes celulares primarias inducidas por los protones que atraviesan la membrana plasmática.

Crecimiento secundario. En las plantas, crecimiento producido por la activación de los meristemos laterales, el *cámbium* vascular y el *cámbium* del felógeno. Contribuye al crecimiento en grosor de la planta.

CRF, genes-. (del inglés, *cytokinin response factor*). Genes de *Arabidopsis* que codifican factores de transcripción CRF, diferentes de los ARR-tipo B, que también participan en la ruta de señalización de las citoquininas.

Criptocromos. Familia de flavoproteínas que actúan como fotorreceptores de luz azul.

Cromatina. Complejo de ácidos nucleicos (DNA y RNA) y proteínas (histonas y no histonas) que forma parte de los cromosomas.

Cromóforo. Parte no proteica de un fotorreceptor cuya conformación es la primera que cambia como respuesta a la modificación del ambiente luminoso.

ctr. Mutación que provoca la manifestación constitutiva del etileno en ausencia de hormona. El gen correspondiente, *CTR*, codifica una proteína quinasa de la familia Raf.

Cuajado. Transición del ovario de una flor a fruto en desarrollo.

Cubierta seminal. Parte más externa de la semilla que sirve como órgano protector, fuente de ciertos compuestos implicados en el metabolismo seminal y barrera que controla el paso de gases y agua según el estado germinativo en que se encuentre la semilla.

Cuerpo lipídico. Espacio celular rodeado por una membrana de tipo monocapa lipídica que almacena lípidos de reserva en las semillas.

Cuerpo primario de la planta. El originado por la actividad de los meristemos primarios (apicales) del tallo y la raíz.

Cuerpo proteico. Compartimiento celular rico en proteínas de reserva, las cuales son utilizadas exclusivamente para alimentar la plántula antes de que sea fotosintéticamente competente.

Cuerpo secundario. El originado por la actividad de los meristemos secundarios (laterales), el *cámbium* vascular y el *cámbium* del felógeno.

Cultivo hidropónico líquido. Cultivo de plantas sin suelo, utilizando soluciones nutritivas para su crecimiento. Se debe proporcionar, además, oxígeno al sistema radical, para lo cual se hace burbujear aire en la solución. Las técnicas hidropónicas son todavía una herramienta esencial en los estudios de nutrición mineral de las plantas.

Cutícula. Cubierta cérea de las superficies vegetales externas.

Cutina. Sustancia de naturaleza lipídica depositada en la superficie externa de las paredes de las células de la epidermis en los vegetales.

cZ. Sigla de la citoquinina isoprenóidica *cis*-zeatina.

Déficit de presión de vapor. Diferencia entre la presión de vapor a saturación y la actual a la misma temperatura y presión.

Déficit hídrico. Véase **estrés hídrico**.

Dehiscencia. Proceso de desarrollo cuya finalidad es posibilitar la liberación al medio de alguna estructura de dispersión previamente almacenada, como granos de polen o semillas. Al igual que la abscisión, a nivel estructural es el resultado de un proceso de separación celular localizado.

Desarrollo. Cambios graduales y progresivos en tamaño (crecimiento), estructura y función (diferenciación) que hacen posible la transformación de un cigoto en una planta completa. La definición es también aplicable a un órgano, a un tejido, o incluso a una célula.

Desdiferenciación. Proceso que se desencadena en los tejidos vegetales como respuesta a las heridas, y también en cultivo, y que determina que las células pierdan su carácter de diferenciadas y comiencen a proliferar por división celular. Las células desdiferenciadas pueden diferenciarse de nuevo si se les aplica un estímulo apropiado, volviendo a formar el mismo tipo de célula u otro diferente.

Desetiación. Cambio de las características morfológicas y fisiológicas típicas de una planta cultivada en la oscuridad, que pasan a ser las de una planta cultivada a la luz.

Determinación. Estado del desarrollo en el que las células (tejidos/órganos) siguen un programa específico de desarrollo. La determinación entraña la activación de un «mecanismo de memoria» que se mantiene incluso cuando las condiciones que lo indujeron desaparecen.

Diagnóstico de nutrición. Determinación del estado nutricional de una planta o de un cultivo a partir de la información disponible, fundamentalmente a partir del análisis de los contenidos de nutrientes en la hoja (análisis foliar). El Sistema Integrado de Diagnóstico y Recomendación (DRIS) se basa en el uso de las concentraciones de nutrientes en la planta para el cálculo de relaciones óptimas entre nutrientes; por ejemplo, las relaciones N/P, N/K, N/Ca, etc., que son menos sensibles a los cambios que dependen de los factores edafoclimáticos.

Diazotrofo. Organismo capaz de sintetizar la enzima nitrogenasa y de fijar nitrógeno atmosférico.

- Dicogamia.** Fenómeno que presentan algunas plantas por el que los estambres y el estigma, o estigmas, de una misma flor alcanzan la madurez para la polinización en época distinta. Si son los estambres los que la alcanzan antes, se denomina protandria; si son los estigmas, se denomina protoginia.
- Dicotiledóneas.** Clase de angiospermas cuyo embrión tiene dos cotiledones, característica que da nombre al grupo. Sus hojas presentan un limbo y un pecíolo, y a menudo son compuestas. La disposición de los nervios de las hojas es generalmente reticulada, con un nervio central grueso del que parten otros más finos. Las dicotiledóneas comprenden vegetales leñosos y herbáceos. Sus raíces son axonomorfas y secundarias, con un gran eje central con bifurcaciones.
- Diferencia de presión de vapor.** Diferencia en la presión de vapor entre los espacios intercelulares y la atmósfera.
- Diferenciación.** Proceso de especialización en el que las células adquieren propiedades metabólicas, estructurales y funcionales distintas a las de la célula progenitora. Es la expresión del proceso de determinación.
- Difusión.** Movimiento neto de una sustancia a lo largo de un gradiente de concentración, debido a una actividad cinética al azar de las moléculas.
- Discriminación isotópica.** Diferenciación por algunas enzimas o procesos entre diferentes isótopos (p. ej., hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno).
- DNcp.** Genoma circular que es propio del cloroplasto. Se encuentra en el estroma y codifica una serie de genes relacionados con la fotosíntesis y la función cloroplástica.
- Doble fecundación.** Característica fundamental de las angiospermas, por la que una célula espermática se fusiona con la célula huevo (originando el embrión), y la otra con los núcleos polares del saco embrionario (originando la primera célula del endospermo).
- Dominancia apical.** Inhibición del desarrollo de las yemas axilares por la yema apical.
- Dormición.** Período de arresto del crecimiento de la planta.
- Dormición primaria.** Fenómeno por el cual la germinación de la semilla madura queda impedida antes de su dispersión al medio. En él está implicado el ABA, cuya inhibición provoca el viviparismo, o lo que es lo mismo, la germinación sobre la planta madre.
- DR5.** AuxRE sintético que se asemeja a los promotores de la familia de genes *GH3*. Está formado por secuencias TGCTC repetidas, con una separación entre ellas de cinco pares de bases.
- DR5::GUS.** Construcción en la que se acopla un promotor sensible a la auxina con un gen cuyo producto permite revelar un color característico o fluorescencia (DR5::GFP).
- Duramen.** Parte muerta del leño de un árbol no apta para el transporte de agua.
- DZ.** Siglas de la citoquinina isoprenóidica dihidrozeatina.
- E3 ligasa.** Enzimas que participan en el proceso de ubiquitinización que marca a ciertas proteínas reconocidas de forma específica para su posterior destrucción en el proteosoma 26S.
- Efecto posición.** Influencia de la localización de un transgén en el genoma vegetal sobre su expresión; de ahí su efecto sobre el fenotipo.
- Efectos pleiotrópicos de las GAs.** Efectos múltiples producidos por las GAs en los vegetales, y en los que están implicados procesos fisiológicos muy diversos, tanto reproductivos como vegetativos.
- Eficiencia de la cadena respiratoria (cociente ADP/O).** Cantidad de ADP que se fosforila para dar ATP por cada átomo de oxígeno consumido.
- Eficiencia relativa (de la nitrogenasa).** Proporción del flujo total de electrones que utiliza la nitrogenasa y que se invierten en la generación de nitrógeno combinado, descontando los que intervienen en la producción de H₂.
- Eficiencia transpiratoria.** Total de materia seca producida por unidad de agua transpirada.
- Eficiencia en el uso del agua de la fotosíntesis.** Relación entre la ganancia de CO₂ en la fotosíntesis y la pérdida transpiratoria de agua.
- Eficiencia en el uso del agua de la productividad.** Total de materia seca producida por unidad de agua consumida en la evapotranspiración.
- ein.** Mutantes de *Arabidopsis thaliana* insensibles a la acción del etileno afectado en otros componentes de la cadena de transducción de la señal.
- Eje embrionario (eje apical-basal).** Línea hipotética central del embrión sobre la que se desarrollan los órganos laterales; en los dos extremos opuestos del eje se sitúan los meristemos apicales del tallo y la raíz.
- Elasticidad de la pared celular.** Extensión reversible de una célula.
- Electroenzima.** Enzima que es capaz de generar un gradiente de potencial eléctrico consumiendo ATP. Este término se aplica a las bombas primarias.
- Elemento asimilable o disponible para la planta.** Aquel que puede ser absorbido por la raíz, bien en el momento o bien en un plazo corto dentro del ciclo de cultivo. Estrictamente hablando, elemento «asimilable» es el que entra dentro de la planta, mientras que elemento «disponible» es el que está en la disolución del suelo a disposición de la planta. Se suele contraponer al concepto de elemento total en el suelo, que en ocasiones está poco relacionado con el de elemento asimilable o disponible.
- Elemento beneficioso.** Aquel que no es esencial para la generalidad de las plantas pero puede serlo para algunos grupos (p. ej., el Si en las gramíneas o el Na en las halófitas y algunas plantas C4). Se considera también elemento beneficioso aquel que puede suplir parcialmente a los esenciales o mejorar sus procesos de absorción y movilidad, o participar en la defensa frente a concentraciones elevadas de elementos.
- Elemento mineral esencial.** Nutriente cuya ausencia impide a la planta completar su ciclo biológico y que no puede ser sustituido en su papel por ningún otro elemento. Fue definido así por Arnon y Stout; posteriormente, Epstein completó esta definición añadiendo que el elemento en

cuestión debería estar implicado en un proceso bioquímico o fisiológico concreto. Estas premisas deben afectar a todas las plantas; si sólo se dan en alguna familia o grupo, se habla de **elemento beneficioso**, pero no esencial.

Elemento de respuesta al ácido abscísico (ABRE, *ABA-responsive element*). Secuencia reguladora de 6 nucleótidos que se localiza en el promotor de los genes regulados por la fitohormona ácido abscísico (ABA).

Elemento de respuesta a la deshidratación (DRE, *dehydration-responsive element*). Secuencia reguladora de 9 nucleótidos que se localiza en el promotor de los genes regulados por la fitohormona ácido abscísico (ABA).

Elevación hidráulica. Movimiento ascendente de agua desde niveles del suelo húmedos y profundos hasta niveles superficiales secos a través de las raíces, siguiendo un gradiente de potencial hídrico.

Elicitores. Moléculas específicas de patógenos o fragmentos de la pared celular que se unen a las proteínas vegetales y participan en la señalización de las respuestas defensivas.

Embolia. Véase **cavitación**.

Embriogénesis somática. Proceso de diferenciación de embriones somáticos tanto a partir de células de explantes (embriogénesis directa) como a partir de callo (embriogénesis indirecta).

Embriogénesis zigótica. Conjunto de alteraciones moleculares por las que un cigoto se desarrolla y madura para formar un embrión apto para germinar si las condiciones endógenas y ecofisiológicas son las apropiadas.

Embrión somático. Embrión neoformado (diferenciado de *novo*) a partir de tejidos somáticos. Desde el punto de vista ontogénico, el embrión somático sigue todas las fases del embrión zigótico, aunque sin fecundación.

Emergencia. Proceso por el que el eje embrionario o la radícula de una semilla atraviesan los tejidos que los rodean. Una vez efectuada la emergencia, ambos órganos pasan a tener un metabolismo aerobio.

Endodermis. Capa especializada de células cuyas paredes presentan una impregnación de suberina (banda de Caspari) que rodea los tejidos vasculares de las raíces y algunos tallos.

Endospermo. Tejido terminal, normalmente triploide, de las semillas de las angiospermas que almacena nutrientes utilizados por el embrión.

Entrenudo. Región entre dos nudos del tallo (véase **fitómero**).

Epicótilo. Región del tallo de la plántula por encima de los cotiledones.

Epigenético. Relativo a fenómenos no mutacionales pero que varían la expresión de un gen, tales como la metilación y la modificación de histonas.

Epinastia. Proceso controlado por el etileno y las auxinas por el que se curvan los pecíolos de las hojas de algunas plantas sometidas a condiciones de estrés por hipoxia o desecación.

ERS. Receptor del etileno de características similares a las de los componentes de transducción de señales de estrés

en las bacterias, que consta de los tres dominios característicos: dominio sensor, dominio de actividad histidina quinasa y dominio de respuesta.

ert. Mutantes de *Arabidopsis thaliana* resistentes a la acción del etileno afectado en el receptor ETR.

Escape. Planta capaz de regenerar en un medio de cultivo que contiene un agente de selección, pese a no ser resistente a dicho agente. Los escapes se producen por ineficacia del agente de selección o porque las células transgénicas resistentes destoxifican su entorno y protegen a las células no transgénicas situadas alrededor del agente de selección.

Esclerénquima. Tejido que consta de dos tipos de células: esclereidas y fibras; ambas poseen paredes secundarias gruesas y a menudo están muertas en la madurez.

Esfingolípidos. Lípidos derivados de la esfingosina (aminoalcohol alifático) que participan en la transmisión intracelular de señales y en el reconocimiento celular.

Especies reactivas de nitrógeno. Moléculas, radicales libres (óxido nítrico) o no (peroxinitrito), que contienen nitrógeno y que presentan una reactividad moderada o extrema frente a las biomoléculas.

Especies reactivas del oxígeno (*reactive oxygen species*, ROS). Formas tóxicas del oxígeno que son generadas en las células. En el caso de células infectadas, las ROS preceden a la respuesta hipersensible. Las ROS incluyen el anión superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo ($\cdot OH$).

Esporofito. Una de las dos formas pluricelulares de una planta, de carácter diploide, que produce las esporas (véase **alternancia de generaciones**).

Esquema Z (o esquema en Z). Disposición en la que, al ordenarse los elementos oxidorreductores de la cadena fotosintética según sus potenciales redox (E_0') y representarse gráficamente en escala, la cadena fotosintética queda en forma de Z invertida (esquema Z), correspondiendo los dos palos a los dos saltos energéticos que tienen lugar en torno al núcleo de cada fotosistema (P680 y P700).

Estado adulto. Véase **fase adulta o madura**.

Estado hídrico. Término impreciso relativo a aspectos del potencial hídrico, el contenido hídrico, la conductancia estomática, etc.

Estado juvenil. Véase **fase juvenil**.

Estilbeno. Compuesto fenólico que se suele acumular en la médula del tronco de especies arbóreas. La forma molecular más extendida es el resveratrol, un importante antioxidante que en el género *Vitis* se acumula principalmente en la epidermis del fruto. Por ello, las uvas y el vino constituyen una fuente de resveratrol en la dieta humana.

Estoma. Estructura en la epidermis foliar formada por células epidérmicas especializadas; a menudo el término se aplica tanto al poro como al aparato estomático.

Estratificación. Tratamiento con frío de una población de semillas. En algunos casos favorece la pérdida de la dormición.

Estrés hídrico. Estrés debido a la falta de agua.

Estrés oxidativo. Situación caracterizada por la acumulación de productos oxidativos de lípidos y proteínas, que se produce en las células cuando las defensas antioxidantes son insuficientes para hacer frente a las especies reactivas de oxígeno.

Estroma. Espacio del cloroplasto situado fuera de las lamelas tilacoidales.

Etiolada(o). Dícese de la plántula cultivada en la oscuridad. Fenotipo con elongación acusada y sin pigmentación verde.

ETR. Receptor del etileno de características similares a las de los componentes de transducción de señales de estrés en las bacterias, que consta de los tres dominios característicos: dominio sensor, dominio de actividad histidina quinasa y dominio de respuesta.

Evapotranspiración. Pérdida de agua a partir de un ecosistema mediante transpiración y evaporación superficial.

Excitón. Cantidad de energía absorbida y localizada en exceso en una molécula. Se denomina también energía de excitación molecular.

Exodermis. Capa de células corticales externa en las raíces, inmediatamente por debajo de la epidermis; estas células están suberificadas y rodeadas por una banda de Caspari.

Expansinas. Proteínas de la pared celular que aceleran la expansión de la misma, presentando su actividad óptima a pH ácido.

Explante. Fragmento de una planta que se escinde y se prepara de forma aséptica para su cultivo *in vitro* en un medio nutritivo.

Expresión génica inducida por GAs. Tras la cascada de sucesos de señalización, los efectos de las GAs se materializan, en último término, a través de la activación de la transcripción de los genes de respuesta a las GAs.

Extensibilidad de la pared celular. Extensión irreversible de las paredes celulares debida a cambios químicos.

Factores de transcripción. Proteínas que interactúan con los elementos del promotor de los genes para modular su transcripción.

Factores de transcripción SPT y PIL5. Represores de la germinación de semillas en oscuridad; en presencia de luz + frío la inhibición, en cambio, es baja.

Factores edafoclimáticos. Factores relativos al clima (temperatura, pluviosidad) y a las propiedades del suelo (físicas, químicas y biológicas). Están muy relacionados con la localización geográfica de los suelos.

Factores Nod. Moléculas de tipo lipo-quitina-oligosacáridos producidas por los rizobios, que desencadenan el proceso de nodulación.

Fanerógamas o espermatófitas. División *Spermatophyta*, grupo monofilético del reino de las plantas (*Plantae*) que comprende todos los linajes de plantas vasculares que producen semillas. El nombre científico proviene del griego σπέρμα («sperma», que significa «semilla»), y φυτόν («fiton», que significa «planta»), y puede traducirse como «plantas con semilla». Debido a que en las espermatofitas

el grano de polen produce un tubo polínico para llegar al óvulo y hacer posible la fecundación, este grupo también se conoce con el nombre de embriofitas sifonógamas (del griego, *embrios*: embrión; *fiton*: planta; *xifos*: tubo; *gamos*: unión sexual. Literalmente, «plantas con embrión cuya unión sexual ocurre con tubo»).

Fase adulta o madura. Período del desarrollo de una planta durante el cual ésta es capaz de florecer si se dan las condiciones inductivas para que ello ocurra.

Fase G1 (del inglés, *gap*, espacio). Fase inicial del ciclo celular.

Fase G2. Tercera fase del ciclo celular, posterior a la fase S, en la que el material genético ya se ha duplicado.

Fase juvenil. Período de crecimiento y desarrollo vegetal comprendido entre la germinación y el momento en el que la planta es capaz de iniciar los procesos reproductivos. Cuando la planta se encuentra en esta fase no se produce la floración.

Fase M. Cuarta fase del ciclo celular en la que tiene lugar la mitosis.

Fase S. Tercera fase del ciclo celular en la que se autoduplica el material genético.

Fenilalanina amonio-liasa (PAL). Enzima que cataliza la biosíntesis del ácido cinámico a partir de la fenilalanina, canalizando el aminoácido hacia la síntesis de sustancias fenólicas. Los fenoles formados por la vía del ácido siquímico derivan del ácido cinámico.

Fenilpropanoides. Derivados fenólicos del ácido cinámico que contienen un anillo de benceno y una cadena lateral de tres átomos de carbono.

Fenoles. Compuestos fenólicos sintetizados predominantemente a partir de productos de la vía del ácido siquímico. Están implicados principalmente en las relaciones ecológicas de las plantas. Otros compuestos fenólicos, las ligninas, tienen importancia fisiológica, puesto que proporcionan fuerza y rigidez estructural a la pared de la célula vegetal.

Fertirrigación. Técnica de aplicación conjunta de agua y nutrientes a los cultivos, que se realiza a través de sistemas de riego localizado. Permite un ahorro considerable de agua frente al riego tradicional o por inundación y, además, posibilita una nutrición adecuada para el cultivo en función de su edad y de las condiciones climáticas en las que se desarrolla.

Filotaxis (filotaxia). Patrón básico de disposición de las hojas en el tallo; el término también se aplica a la disposición de las inflorescencias y los órganos de la flor. El patrón filotáctico viene determinado por las auxinas.

Fitasa. Enzima localizada en las células aleuronares capaz de producir fosfato y mioinositol usando fitato como sustrato.

Fitato. Derivado del ácido fítico cuya misión es almacenar fosfato (mioinositol hexafosfato).

Fitoalexina. Grupo amplio y diverso de metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana que se sintetizan y acumulan en el lugar en el que se ha producido la infección. Muchos flavonoides son fitoalexinas.

- Fitocromos.** Familia de cromoproteínas que funcionan como fotorreceptores de luz roja y roja lejana.
- Fitohormona (hormona vegetal).** Molécula orgánica, sintetizada por la planta, que tiene la capacidad de afectar a los procesos fisiológicos en concentraciones mucho más bajas que los nutrientes y las vitaminas ($< 1 \text{ mM}$, frecuentemente $< 1 \mu\text{M}$).
- Fitómero.** Módulo generado por el meristemo apical del tallo consistente en una o más hojas; el nudo, al que se unen las hojas; un meristemo axilar (yema axilar), localizado en la axila de la hoja; y el entrenudo. Metámero hipotético básico en el desarrollo de una planta.
- Fitovelatinas.** Pequeños péptidos ricos en restos de cisteína que se inducen en presencia de metales pesados, con los que forman quelatos, anulando así, al menos en parte, el efecto nocivo de esos metales.
- Fitosideróforos.** Tipo de quelatos de hierro producidos por las plantas herbáceas que, en circunstancias de deficiencia de Fe, liberan grandes cantidades de estos compuestos al suelo. Están formados por aminoácidos no proteicos, como el ácido mugineico, que forman complejos muy estables con el Fe^{3+} .
- Flavonoides.** Amplio grupo de pigmentos vegetales de naturaleza fenólica al que pertenecen las antocianidinas. Los flavonoides presentan propiedades biológicas: actúan como antimicrobianos, insecticidas o antioxidantes. Esta última propiedad es de interés en el tratamiento de procesos degenerativos y enfermedades cardiovasculares. Al ser excretados a la rizosfera por las leguminosas, provocan efectos quimiotácticos y de inducción de la síntesis de factores Nod por los rizobios.
- Florigeno.** Compuesto o sustancia hipotética de identidad desconocida que sería responsable de la inducción de la floración.
- Flujo masivo.** Transporte masivo de solutos debido al movimiento del agua.
- Fluorescencia.** Propiedad de una molécula de emitir una radiación luminosa tras ser expuesta a otra radiación electromagnética de más energía, normalmente también luminosa. La radiación incidente absorbida es transformada en una luz emitida de longitud de onda mayor y, por ello, de menor energía.
- Fosforilación a nivel de sustrato.** Reacción en la cual se produce la síntesis de ATP a partir de ADP y Pi utilizando la energía de rotura de un enlace químico.
- Fosforilación oxidativa.** Reacción en la cual se produce la síntesis de ATP a partir de ADP y Pi mediante la ATP-sintasa, enzima situada en la membrana interna mitocondrial, utilizando como energía la fuerza protón-motriz de un gradiente protónico generado por transporte electrónico.
- Fotoasimilado o fotosintato.** Compuesto biológico formado al final de un proceso de asimilación fotosintética. Habitualmente el término hace referencia a los carbohidratos terminales (p. ej., sacarosa y almidón) producidos en la fotosíntesis.
- Fotofosforilación.** Síntesis de adenosina trifosfato (ATP) a partir de adenosina difosfato (ADP) y fosfato inorgánico (Pi) acoplada al flujo fotosintético de electrones y protones, y catalizada por el último macrocomplejo enzimático anclado en la membrana tilacoide, que es la ATP-sintasa. Ésta no interviene en el flujo electrónico-protónico, sino que utiliza la energía acumulada por la cadena fotosintética en forma de fuerza protón-motriz. La fotofosforilación también se denomina fosforilación fotosintética.
- Fotoinhibición.** Fenómeno fisiológico en el que, debido a una irradiación luminosa excesiva sobre una planta, se produce una reducción de la tasa fotosintética normal, y un daño en el aparato fotosintético provocado por el exceso de luz que no llega a ser disipado eficientemente.
- Fotólisis del agua.** Primera reacción de la cadena redox fotosintética de las plantas, que tiene lugar en el fotosistema II y en la cual, tras la absorción de energía fotónica, se produce la oxidación del agua (H_2O), que da como subproducto oxígeno molecular (O_2) gas. Éste se difunde fuera del cloroplasto y de la célula y es liberado a la atmósfera a través de los estomas.
- Fotomorfogénesis.** Modificación de los patrones de crecimiento, desarrollo, o de ambos, por el ambiente luminoso percibido por los fotorreceptores.
- Fotoperíodo.** Longitud del período de iluminación diaria.
- Fotorreceptor.** Cromoproteína encargada de percibir cambios en el ambiente luminoso y transformarlos en señales bioquímicas que modifican el crecimiento y el desarrollo de las plantas.
- Fotosintato.** Azúcar $(\text{CH}_2\text{O})_n$ producto final fotosintetizado, también llamado fotoasimilado (p. ej., los monosacáridos glucosa y fructosa, el disacárido sacarosa, o el polisacárido almidón).
- Fotosíntesis.** Proceso biológico complejo que realizan las plantas y otros organismos fotoautótrofos. Incluye dos fases: una de absorción y conversión de energía luminosa, y otra de asimilación de los elementos constitutivos de la materia orgánica (C, H, O, N, S). La energía luminosa, normalmente solar, es absorbida por el aparato fotosintético y transformada en biomoléculas estables de energía (ATP) y de poder reductor (NADPH). Los elementos son tomados de fuentes minerales inorgánicas (H_2O , CO_2 , NO_3^- , SO_4^{2-}) e incorporados en biomoléculas orgánicas metabolizables.
- Fotosíntesis oxigénica.** Tipo de fotosíntesis que realizan los vegetales y, en general, todos los organismos oxifotótrofos, que se caracteriza por utilizar como sustrato primero el agua (H_2O) y por formar oxígeno molecular (O_2) como subproducto fotosintético que es desprendido a la atmósfera.
- Fotosistema.** Macrocomplejo proteínico incluido en la membrana fotosintética que actúa como sistema capaz de absorber y transformar la energía fotónica en energía electroquímica redox/acidobásica, y de realizar la transferencia electrónica-protónica desde un sustrato donador a un producto aceptor. Para su función, los fotosistemas contienen engarzadas en su esqueleto proteínico una serie

de moléculas, átomos o agrupaciones atómicas con capacidad fotosensible y capacidad reductora-oxidativa y acidobásica reversible.

Frankia. Género de bacterias filamentosas con capacidad para fijar nitrógeno que vive en simbiosis con las plantas actinorrhizas.

Freatofita. Especie vegetal que tiene acceso a capas profundas de agua.

Fruto. Flor, partes de la flor (con órganos auxiliares) o inflorescencias que contienen a las semillas hasta que maduran, protegiéndolas y facilitando su dispersión.

Fuerza protón-motriz. Es la energía (Δp) derivada del movimiento de protones (H^+) desde el lumen al estroma tilacoidal a favor del gradiente. Según la teoría quimioosmótica de Mitchell, la energía de oxidorreducción que se libera cuando los electrones descienden de nivel no se utiliza directamente en la síntesis de ATP, sino que se almacena, como etapa intermedia, en la energía acidobásica que se crea al establecerse una diferencia de concentración de protones (ΔpH o potencial electroquímico protónico) entre uno y otro lado de la membrana tilacoidal del cloroplasto.

FUS3 Gen. Gen que se expresa en la epidermis del embrión en períodos muy tempranos para regular la división celular.

GA 20-oxidasas. Sistema multifuncional enzimático que convierte GAs C_{20} en C_{19} . Catalizan las reacciones de oxidación y eliminación del C-20 en las tres vías biosintéticas.

GA 2-oxidasas. También llamadas 2β -hidroxilasas. Enzimas que incorporan un grupo hidroxilo en posición 2 y que desactivan irreversiblemente las giberelinas activas.

GA 3-oxidasas. También llamadas 3β -hidroxilasas. Enzimas que añaden un grupo hidroxilo a la posición 3 y confieren actividad biológica a las GAs C_{19} .

Gametofito. Una de las dos formas pluricelulares de una planta, de carácter haploide, que produce los gametos (véase **alternancia de generaciones**).

Gases de efecto invernadero. Gases presentes en la atmósfera que tienen la capacidad de absorber parte de la energía (en forma de radiación infrarroja) que el suelo terrestre emite al ser calentado por la radiación solar. La energía absorbida por estos gases «invernadero» evita que el calor se disipe y conserva el calor terrestre, lo que permite la existencia y el funcionamiento de la biosfera. El incremento de la concentración de estos gases en la atmósfera terrestre desde la revolución industrial ha superado la variabilidad natural, y ha tenido como consecuencia un progresivo calentamiento del planeta, fenómeno conocido con el nombre de calentamiento global. Algunos gases con efecto invernadero son el vapor de agua (H_2O), el dióxido de carbono (CO_2), el metano (CH_4) y el ozono (O_3).

Gen antisentido. Gen que produce un mRNA complementario al transcrito de un gen nativo. Generalmente se construye por inversión de la región codificante con respecto al promotor.

Genes GH3. Familia de genes de respuesta rápida de las auxinas.

Gen informador o delator. Gen que codifica un producto fácilmente detectable en los primeros estadios del proceso de transformación. Se utiliza como marcador para confirmar la incorporación de un transgén en una célula, órgano o tejido, y como medio para mapear promotores.

Genes de respuesta primaria a las citoquininas. Genes cuya expresión es regulada por citoquininas y que se transcriben rápidamente después de la exposición a la hormona. Normalmente su expresión no requiere síntesis de proteínas.

Genes homeóticos. Genes que regulan la identidad de un órgano.

Germinación mediada por GAs. Papel de las GAs en la inducción de la germinación de los vegetales. En las semillas de algunas especies, incluso, las GAs suplen los requerimientos de luz o frío que éstas precisan para germinar. A ello le sigue una inducción de la movilización de reservas, mediada por distintas enzimas, entre ellas α -amilasas y proteasas.

gfp Gen. Gen de la proteína de fluorescencia verde de la medusa *Aequorea victoria*. La proteína emite fluorescencia cuando se expone a luz azul o ultravioleta. El gen que la codifica ha sido clonado y modificado para ser funcional en las plantas. Presenta algunas ventajas con respecto al uidA (GUS) como marcador delator de transgénesis, ya que puede detectarse en tiempo real y de forma no destructiva.

Gibberella. Género perteneciente al reino Fungi, de algunas de cuyas especies se obtuvieron por primera vez extractos inductores del crecimiento asociables a la presencia de GAs. Por el momento se han aislado hasta 136 GAs en distintas especies.

Giberelinas. Hormonas endógenas de los vegetales que regulan múltiples aspectos del desarrollo, entre ellos el crecimiento del tallo, la inducción del desarrollo del fruto y la germinación de las semillas.

Gimnospermas. Plantas vasculares y productoras de semillas. Su nombre proviene del griego $\gamma\upsilon\mu\upsilon\omicron\varsigma$, desnudo, y $\sigma\pi\acute{\epsilon}\rho\mu\alpha$, semilla. Este término se debe a que las semillas de estas plantas no se forman en un ovario cerrado, sino que están desnudas en las escamas de los conos.

Glicerolípidos. Lípidos polares que constituyen los componentes mayoritarios de las membranas celulares.

Glicófitas. Plantas sensibles a la presencia de sal que muestran inhibición en el crecimiento, clorosis de las hojas y disminución en su desarrollo, y que incluso llegan a morir, si la concentración de sales en el suelo es muy superior a su concentración umbral.

Glicosiltransferasas. Enzimas que transfieren un resto de azúcar desde el donador a la cadena del polímero en un solo evento.

Glucólisis. Vía metabólica de degradación de azúcares en la que se obtiene piruvato (y también malato en las plantas) a partir de hexosas fosfato derivadas de la degradación de sacarosa y almidón.

- Glucósidos de citoquininas.** Conjugados de citoquininas con un resto glucídico (generalmente glucosa), que se une al anillo (*N*-glucósidos) o al grupo hidroxilo de la cadena lateral (*O*-glucósidos). Mientras que los *N*-glucósidos son biológicamente inactivos, los *O*-glucósidos son formas de almacenamiento de citoquininas que pueden ser convertidos en las bases biológicamente activas.
- Glutamato deshidrogenasa.** Enzima que cataliza la reacción reversible de síntesis o de desaminación del glutamato en el metabolismo del nitrógeno.
- Glutamato sintasa.** Cataliza la transferencia reductiva del grupo amido de la glutamina al 2-oxoglutarato, produciendo dos moléculas de glutamato. También se conoce como glutamina 2-oxoglutarato amidotransferasa (GOGAT).
- Glutamina sintetasa (GS).** Cataliza la incorporación de amonio en el glutamato para producir glutamina. La glutamina, y la asparragina, son los aminoácidos preferentemente utilizados por la planta para transportar nitrógeno a larga distancia.
- Glutati6n.** Tripéptido que contiene cisteína y que constituye la principal forma de transporte y almacenamiento del azufre asimilado. También desempeña otras funciones, tales como el mantenimiento de los grupos sulfhidrilos de las proteínas en estado reducido y la detoxificación de especies activas de oxígeno y de xenobi6ticos.
- Glutati6n reductasa.** Enzima que cataliza la reducci6n de glutati6n oxidado a glutati6n reducido (GDH), con NADPH como donador de electrones.
- Glutati6n S-transferasas.** Enzimas que catalizan la reacci6n de conjugaci6n del glutati6n a diversos compuestos electrofílicos (herbicidas, pesticidas, toxinas y fitohormonas), actuando como sistemas de detoxificaci6n de dichas sustancias.
- GNOM (GN), gen-.** Gen de *Arabidopsis* que codifica una proteína necesaria para la relocalizaci6n de los transportadores de eflujo de auxina. En los mutantes *gn* no hay transporte polarizado de la auxina y no se establece el eje apical-basal del embri6n, que detiene su desarrollo en el estado globular.
- GNOM.** Proteína asociada con el tráfic6 intracelular de vesículas y el endosoma.
- GPCR, receptor-** (del inglés, *G protein coupled receptor*, receptores acoplados a proteínas G). Receptores con siete dominios transmembrana asociados a proteínas G heterotriméricas, las cuales se activan cuando el receptor se une al ligando.
- Grano de aleurona.** Estructura perteneciente al tejido aleur6n que contiene fitato cálcico y magnésico.
- Hal6fitas.** Plantas crecidas en suelos salinos, en las que el Na resulta esencial para su desarrollo, a diferencia del resto de las plantas, y que son capaces de completar su ciclo biológico en estos lugares, en los que no pueden crecer las plantas glic6fitas. El genero *Atriplex* es uno de los más representativos de este tipo de plantas.
- Hemicelulosas.** Término genérico que designa a un grupo de polímeros glucídicos de carácter neutro que se sue-
- len extraer de la pared celular en medio básico. Los polímeros hemicelulósicos interaccionan con la celulosa mediante puentes de hidrógeno. El xiloglucano es el polímero hemicelulósico más abundante.
- Heterocisto.** Tipo de célula especializada de las cianobacterias que contiene nitrogenasa y es capaz de fijar el nitrógeno atmosférico.
- Hibridaci6n somática.** Fusión natural o inducida de células o protoplastos somáticos de dos progenitores genéticamente diferentes.
- Hidroestable.** Véase **isohídrica**.
- Hidr6fitas.** Plantas que crecen sumergidas parcial o totalmente en agua, adaptadas a condiciones de hipoxia o anoxia.
- Hidrogenasa.** Enzima capaz de reciclar, total o parcialmente, el H₂ producido por la nitrogenasa y que se encuentra en algunas estirpes de rizobios.
- Hidrolábil.** Véase **anisohídrica**.
- Hifa.** Uno de los filamentos tubulares que configuran el hongo. El conjunto de hifas constituye el micelio, que es el «cuerpo» del hongo, con el aspecto típico de maraña que los caracteriza.
- Hiperexpresi6n.** Exceso de expresi6n de un determinado gen provocado por la modificaci6n de su promotor en plantas transgénicas.
- Hipoc6tilo.** Porci6n del eje embrionario entre los cotiledones y la raíz.
- Hipodermis.** Véase **exodermis**.
- Hipoestomática.** Con estomas sólo en el envés de la hoja.
- Hip6fisis.** Célula más apical del suspensor, que contribuye a la formaci6n del meristemo apical de la raíz.
- Hipoxia.** Baja concentraci6n de oxígeno. Contrasta con anoxia.
- Histonas.** Proteínas pequeñas ricas en aminoácidos ácidos que se unen al DNA y son componente mayoritario de la cromatina.
- HMBDP.** Hidroximetilbutenil difosfato. Intermediario de la ruta plastidial de síntesis de los terpenos (Ruta MEP) que puede actuar como donador de restos prenilo para la síntesis de citoquininas isoprenoidicas.
- Holoenzima.** Enzima formada por una proteína (apoenzima) y un cofactor o una coenzima. Hace referencia, por tanto, a la enzima completa y catalíticamente activa.
- Homeobox.** Segmento de unos 180 pb del DNA presente en los genes *Hox*. Estos genes codifican factores de transcripci6n con un dominio de uni6n al DNA denominado homeodominio. Regulan la expresi6n de otros genes y controlan procesos ligados al desarrollo.
- Homeostasis.** Tendencia a alcanzar el equilibrio en el ambiente interno de las células o los tejidos de un organismo.
- HPLC-MS/MS.** Equipo de cromatografía líquida de alta resoluci6n (HPLC) acoplado a un espectrómetro de masas que puede realizar análisis sucesivos de un espectro (en tándem o masas/masas).

- Humedad relativa.** Concentración de vapor de agua del aire en relación con la concentración de vapor de agua máxima a esa temperatura.
- Imbibición.** Toma de agua por una semilla seca debido a un proceso eminentemente físico.
- Inducción floral mediada por GAs.** Función reguladora de las GAs en los procesos de aparición y desarrollo de brotes florales en los vegetales. Su acción es variable y depende de distintos factores, entre ellos el grupo taxonómico e incluso la especie.
- Información de posición.** Durante el desarrollo, señales que sitúan a las células en una localización determinada.
- Interfase.** Fase del ciclo celular entre dos divisiones sucesivas.
- Interferencia de RNA.** Mecanismo de silenciamiento génico postranscripcional específico de secuencia, ejercido por moléculas de RNA aberrante que, siendo complementarias a un mRNA, conducen a la degradación de éste mediante la formación de moléculas de RNA bicatenario que actúan como desencadenantes del proceso. Los RNA aberrantes suelen ser transcritos de transgenes, de genes virales o de transposones.
- Intrón.** Segmento del transcrito primario de un gen eucariota, que se elimina antes de que se traduzca el mRNA maduro en el proceso que se conoce como corte y empalme de intrones.
- iP.** Abreviatura de la citoquinina isoprenóidica isopenteniladenina.
- IPT, enzima-.** Adenosina fosfato isopentenil transferasa. Cataliza el primer paso de la biosíntesis de las citoquininas isoprenóidicas, consistente en la *N*-prenilación de la adenosina 5'-fosfato (AMP, ADP, o ATP) en N⁶ con dimetilalil difosfato (DMAPP) o hidroximetilbutenil difosfato (HMBDP).
- IPT, gen-.** Gen que codifica isopentenil transferasas (IPT), enzimas que catalizan la primera reacción de la síntesis de citoquininas isoprenóidicas (véase **IPT, enzima-**). En *Arabidopsis* se han identificado siete genes (*AtIPT1* y *AtIPT3* a *AtIPT8*).
- Irradiancia.** Flujo de luz que llega a una superficie por unidad de tiempo.
- Isohídrica.** Que mantiene un estado hídrico constante.
- Juvenilidad.** Condición de la planta que se encuentra en estado juvenil.
- Lamelas estromáticas.** Parte de los tilacoides plegados en láminas paralelas de dobles membranas (lamelas) no apiladas, sino simples y más extensas, que interconectan zonas de lamelas apiladas.
- Lamelas grana.** Parte de los tilacoides plegados en láminas paralelas de dobles membranas (lamelas) que forman apilamientos de numerosas láminas a modo de discos.
- Lámina media.** Primera capa que se deposita durante la división celular, fundamentalmente formada por polisacáridos pécticos, que mantiene la unión entre células adyacentes.
- LAX(like AUX), genes-.** Familia de genes con similitud estructural y funcional a los *AUX1*.
- Lectina.** Glicoproteínas sin actividad enzimática, producidas por la planta, que son responsables de la adhesión de los rizobios a la raíz.
- Leghemoglobina.** Proteína con un grupo hemo similar al de la hemoglobina, presente en los nódulos y responsable del transporte y la regulación del nivel de oxígeno.
- Leguminosas, modelo.** Especies de leguminosas (especialmente *Medicago truncatula* y *Lotus japonicus*) utilizadas preferentemente para el análisis molecular de la simbiosis, y cuyos genomas nucleares se encuentran en fase de completa secuenciación.
- Lenticela.** Protuberancia que aparece en la superficie de las ramas de los vegetales leñosos y permite el intercambio gaseoso entre la planta y el exterior.
- Ley del mínimo.** Se atribuye a Justus von Liebig, que la enunció en 1880, aunque ya a principios del siglo XIX Sprengel había enunciado sus principios esenciales al establecer que la causa de la falta de productividad agrícola de un terreno podía deberse a la ausencia exclusiva de un único elemento esencial.
- Lignina.** Polímero complejo constituido a partir de los alcoholes aromáticos *p*-cumarílico, coniferílico y sinapílico. Se deposita en la pared celular secundaria, a la cual confiere una gran resistencia tanto física como química, además de una gran rigidez.
- Lípido.** Compuesto químico del tipo de las grasas. Son compuestos de este tipo las grasas, los aceites, los esteroides, los fosfolípidos y los carotenos.
- lumen.** espacio del cloroplasto dentro de las lamelas tilacoidales.
- Luz azul.** Radiación con una longitud de onda comprendida, aproximadamente, entre 400 y 500 nm.
- Luz roja.** Radiación con una longitud de onda comprendida, aproximadamente, entre 600 y 700 nm.
- Luz roja lejana.** Radiación con una longitud de onda comprendida, aproximadamente, entre 700 y 800 nm.
- Macronutriente.** Elementos esenciales presentes en mayor medida en las plantas. Habitualmente son los constituyentes de las biomoléculas estructurales (como proteínas, lípidos, hidratos de carbono, ácidos nucleicos, etc.). Su presencia en los tejidos vegetales es siempre superior al 0.1% del peso seco. Se consideran macronutrientes el nitrógeno, el fósforo, el potasio, el calcio, el azufre y el magnesio.
- Maduración.** Conjunto de cambios externos, de sabor y de textura que experimenta un fruto cuando completa su crecimiento. Estos cambios consisten, sobre todo, en modificaciones de coloración, descenso en el contenido en almidón, incremento de la concentración de azúcares, reducción de la concentración de ácidos y pérdida de firmeza.
- MAPK** (del inglés, *mitogen-activated protein kinases*, proteína quinasas activadas por agentes mitogénicos). Proteínas que forman parte de las cascadas de fosforilación iniciadas por los RPK (receptores proteína quinasa).
- MDR/PGPs, genes-.** Familia de genes, homólogos a otros humanos, que codifican transportadores de salida para

- auxinas (del inglés, *multiple drug resistance / P-glycoproteins*).
- Megagametofito.** Gametofito femenino.
- Megaspora.** En las plantas, espora haploide que produce el gametofito femenino.
- MEP, ruta-.** Ruta del metileritritol fosfato, residente en los plastos, que conduce a la síntesis de isopentenil difosfato (IPP) y dimetilalil difosfato (DMAPP).
- Meristemo.** Conjunto de células indiferenciadas responsables del crecimiento de la planta. El meristemo apical, que se localiza en el ápice del tallo principal, es el responsable de su crecimiento. Los meristemas axilares se forman en las axilas de las hojas y son los responsables del crecimiento de las ramas laterales.
- Meristemo apical.** Meristemo situado en el ápice del tallo (meristemo apical del tallo) o de la raíz (meristemo apical de la raíz), responsable del crecimiento primario de las plantas.
- Meristemo floral.** Conjunto de células indiferenciadas responsables del desarrollo de una flor.
- Meristemas primarios.** Meristemas formados durante la embriogénesis, situados en el ápice de tallos y raíces, que originan el cuerpo primario de las plantas.
- Mesófilo.** Espacio interior de las hojas constituido por células fotosintéticas no adyacentes a los vasos del xilema, así como los espacios intercelulares entre ellas.
- Metabolito secundario.** Compuesto que suele ser peculiar de ciertos grupos taxonómicos vegetales. Los metabolitos secundarios están principalmente implicados en las relaciones ecológicas, es decir, en la relación de la planta productora con los demás organismos de su medio natural.
- Michaelis-Menten (K_M), constante de-.** Concentración de sustrato cuando la velocidad de reacción de la enzima es la mitad de la velocidad máxima. Indica la afinidad de la enzima por el sustrato: a mayor K_M , menor afinidad.
- Micorrizas.** Asociación simbiótica existente entre ciertos hongos y las raíces de las plantas vasculares. La interacción es de claro carácter mutualista, pues el hongo consigue carbohidratos y las plantas obtienen más nutrientes del suelo.
- Micorrizas vesículo-arbusculares (VAM).** Grupo de micorrizas cuyo nombre se debe a que algunas hifas penetran en células individuales del córtex radical y se extienden a través de las regiones intercelulares configurando estructuras a modo de arbustos o pequeños árboles. Son endomicorrizas, y actualmente son las más estudiadas, ya que son también las más abundantes.
- Microfibrillas de celulosa.** Estructura cristalina compuesta por cadenas de celulosa unidas por puentes de hidrógeno con regiones menos organizadas. Proporciona integridad estructural a las paredes celulares de las plantas y determina la direccionalidad del crecimiento celular.
- Microgametofito.** Gametofito masculino (grano de polen).
- Micronutriente u oligoelemento.** También denominados elementos traza, son los elementos esenciales presentes en cantidades mínimas en las plantas. Su presencia en los tejidos vegetales está siempre por debajo del 0.01% del peso seco. Se consideran micronutrientes el hierro, el manganeso, el cinc, el cobre, el boro, el molibdeno, el cloro y el níquel.
- MicroRNA (miRNA).** Moléculas pequeñas de RNA (20-25 nucleótidos) sin información para codificar proteínas, que regulan la expresión de otros genes.
- Microspora.** En las plantas, esporas que originan el gametofito masculino.
- Modelo ABC/ABCD.** Modelos de control genético del desarrollo de la flor.
- Módulo de elasticidad.** Fuerza necesaria para alcanzar un cambio determinado en el volumen celular.
- Monocotiledóneas.** Clase de angiospermas que se caracterizan por poseer un embrión con un solo cotiledón, así como raíces secundarias y adventicias, que no poseen crecimiento secundario en grosor, y hojas casi siempre sésiles y de nerviación paralela.
- Monopteros (MP), gen-.** Gen de *Arabidopsis* cuya mutación produce plántulas sin hipocótilo ni raíz, pero con meristemo apical del tallo y cotiledones. Codifica factores de transcripción de respuesta a auxinas (ARF).
- Morfogénesis.** Desarrollo (génesis) de la forma. Para muchos autores es sinónimo de desarrollo.
- mT.** Abreviatura de la citoquinina aromática meta-topolina (meta-hidroxibencialadenina).
- Muerte celular programada.** Proceso fisiológico finamente regulado que tiene como resultado final la muerte de una célula o un grupo de células específicas.
- Mutación «miniatura 1».** La que provoca la disminución de la actividad invertasa ácida e impide el desarrollo del endospermo, afectando al número de células de éste.
- Mutación «rb».** Mutación que impide que la cubierta seminal actúe como sumidero.
- Mutación «sit».** Mutación que provoca la inhibición de la biosíntesis de ABA y la aparición de semillas vivíparas con cubierta seminal muy fina.
- Mutaciones homeóticas.** Mutaciones que provocan cambios en la identidad de los órganos.
- Mutantes deficientes en GAs.** Mutantes de biosíntesis de GAs en los que no existen niveles adecuados para inducir distintos procesos del desarrollo (p. ej., del crecimiento del tallo). Estos mutantes responden a la aplicación de GAs exógenas recuperando el fenotipo normal.
- Mutantes insensibles de GAs.** Mutantes de respuesta con fenotipo enano, idénticos en aspecto a los deficientes en GAs pero que muestran una respuesta nula o muy reducida a la aplicación de GAs exógenas.
- MVA, ruta-.** Ruta del mevalonato, residente en el citoplasma, que conduce a la síntesis de isopentenil difosfato (IPP) y dimetilalil difosfato (DMAPP).
- NAC1, gen-.** Gen de *Arabidopsis*, de respuesta primaria a las auxinas, implicado en la diferenciación de las raíces laterales en el periciclo.
- NADPH.** Sigla de la molécula nicotinamida adenina dinucleótido fosfato, una coenzima utilizada, entre otras reacciones, en la fase de fijación del dióxido de carbono de la

fotosíntesis que se encarga de reducir el CO_2 a carbohidrato.

Necrosis. Manchas de tejido muerto de coloración oscura, pardusca, a veces casi negra, características de la deficiencia grave de algún bioelemento. Son muy habituales, por ejemplo, en las deficiencias prolongadas de macroelementos (fósforo, potasio, etc.), así como en los estados tóxicos (p. ej., de oligoelementos, como la toxicidad de boro).

nif/nod Genes. Conjunto de genes responsables de la síntesis de la nitrogenasa y de la nodulación, respectivamente.

Nitrato reductasa. Enzima que reduce el nitrato (NO_3^-) a nitrito (NO_2^-) utilizando NAD(P)H como donador de electrones. Cataliza la primera etapa de la asimilación del nitrato.

Nitrito reductasa. Enzima que reduce el nitrito (NO_2^-) a amonio (NH_4^+) con ferredoxina reducida como donador de electrones.

Nitrogenasa. Complejo enzimático exclusivo de los organismos procariotas, responsable de la fijación del nitrógeno atmosférico.

Nivel crítico de un nutriente en la planta. Concentración de un nutriente por debajo de la cual se reduce más del 10% el rendimiento o la cosecha.

NOA. Ácido 1-naftoxiacético, inhibidor del transportador de entrada de auxina.

Nodulina. Proteína que se expresa exclusiva o predominantemente en los nódulos.

Nódulo. Tumorción que aparece generalmente en las raíces de las plantas fijadoras de nitrógeno como consecuencia de la infección por los rizobios. Se distinguen dos tipos según su patrón de crecimiento, estructura y metabolismo: indeterminados y determinados.

NPA. Ácido naftilftalámico, inhibidor de una proteína moduladora de un transportador de salida de auxina.

Núcleos polares. En las angiospermas, los dos núcleos de la célula central del saco embrionario (megagametofito). Una vez fusionados con una de las células espermáticas, origina el endospermo.

Nudo. En las plantas, punto del tallo en el que se insertan las hojas (véase **fitómero**).

Número de recambio o constante catalítica. Constante cinética que determina la eficiencia de una enzima. Se define como el número de moléculas de producto que una determinada enzima produce por cantidad de producto y unidad de tiempo. Se representa por el símbolo k_{cat} .

nptI Gen. Gen de *E. coli* que codifica la enzima neomicina fosfotransferasa II, la cual confiere resistencia a antibióticos aminoglicósidos como la kanamicina. La enzima desactiva la sustancia antibiótica mediante fosforilación.

Oleosina. Proteína de función poco conocida que está presente en la membrana de los cuerpos lipídicos de las semillas ortodoxas.

Oligosacarinas. Fragmentos procedentes de la degradación de las paredes celulares con funciones en el desarrollo y la defensa.

Ontogenia. Segmento de desarrollo de un organismo comprendido entre dos puntos equivalentes de un ciclo vital.

Organogénesis. Formación de brotes adventicios o de raíces a partir de cultivos de callo, de células en suspensión o de explantes.

Órganos de reserva (endospermo y cotiledones). Órganos de la semilla a partir de los cuales se nutre la plántula hasta que adquiere carácter autótrofo.

Osmorregulación. Mantenimiento de la concentración de solutos osmóticos en un valor estable.

oT. Abreviatura de la citoquinina aromática ortotopolina (ortohidroxibencialadenina).

Panel Intergubernamental de Expertos en el Cambio Climático (IPCC). Grupo intergubernamental de trabajo establecido por Naciones Unidas en 1988, cuya finalidad es la evaluación del impacto del cambio climático a partir de estudios científicos y técnicos. Las acciones del IPCC se basan principalmente en mejorar los conocimientos sobre el cambio climático y su posible relación con causas antropogénicas, su impacto potencial, y las opciones disponibles para la adaptación a este fenómeno y su mitigación.

Pared primaria. Pared extensible que se deposita entre la lámina media y la membrana plasmática en las células en crecimiento.

Pared secundaria. Pared especializada rica en celulosa, lignina y hemicelulosa, que se deposita entre la pared primaria y la membrana plasmática en algunos tipos de células.

Partenocarpia. Desarrollo de un ovario sin fecundación previa y que da lugar, por tanto, a un fruto sin semillas. Si para ello se precisa un estímulo exógeno, se denomina partenocarpia estimulada; si el desarrollo del ovario tiene lugar sin ningún estímulo externo, recibe el nombre de partenocarpia autónoma.

Pectinas. Término genérico que se aplica a un grupo de polímeros glucídicos de carácter ácido, entre los que predomina el ácido poligalacturónico, muy abundante en las paredes celulares vegetales. Es el componente mayoritario de la lámina media y también está presente en la pared celular primaria.

Periciclo. Capa más externa del cilindro central (vascular de la raíz). Sus células originan los primordios de las raíces laterales.

Período de polinización efectiva. Diferencia en días entre los de longevidad del óvulo maduro de la flor y los que necesita el tubo polínico para alcanzar el saco embrionario.

Pfr. Forma biológicamente activa de los fitocromos.

pin. Mutante de *Arabidopsis thaliana* que presenta una inflorescencia con forma de alfiler (*pin formed*) y que está afectado en un transportador de salida de auxinas.

PIN, genes-. Familia de genes cuyo producto (PIN) se identifica como un transportador de salida para las auxinas. Existen hasta ocho homólogos en *Arabidopsis thaliana*.

- pinoid.** Mutante con fenotipo similar al del *pin* y que está afectado en una proteína quinasa relacionada con el transporte polar de auxinas.
- Plantas acidófilas.** Plantas que viven en suelos ácidos con valores de pH inferiores a 4.
- Plantas basófilas.** Plantas que viven en suelos con valores de pH entre 8 y 9. Entre ellas se encuentran las plantas calcícolas, que acumulan grandes concentraciones intracelulares de Ca.
- Plantas dioicas.** Se refiere a plantas en las que las flores masculinas y femeninas se encuentran en individuos diferentes (comparar con plantas monoicas).
- Plantas monocárpicas.** Plantas que sólo florecen (fructifican) una vez y mueren.
- Plantas monoicas.** Plantas en las que las flores masculinas y femeninas se encuentran en el mismo individuo.
- Plantas policárpicas.** Plantas que florecen (fructifican) durante varias estaciones antes de morir.
- Plásmido Ti.** Plásmido inductor de tumores. Se trata de un plásmido grande que se encuentra en *Agrobacterium tumefaciens* y que es responsable de la inducción de tumores en las plantas huésped. Las formas de este plásmido creadas por ingeniería genética son de importancia fundamental en la producción de plantas transgénicas.
- Plasmodesmo.** Canal diminuto recubierto de membrana que atraviesa la pared celular de la planta proporcionando así una vía citoplásmica para la difusión de moléculas pequeñas entre células vecinas; recientemente se ha descubierto que estas conexiones también transportan moléculas grandes.
- PLETHORA (PLT1/PLT2), genes-.** Genes de *Arabidopsis*, activados por auxinas, que codifican factores de transcripción que participan, junto con los genes *SHR/SCR*, en la especificación y el mantenimiento del centro quiescente y las células troncales del meristemo apical de la raíz.
- Poiquilohídrica.** Plantas o partes de plantas (semillas, polen) que se pueden desecar sin perder su capacidad funcional después de la rehidratación.
- Polaridad.** En el desarrollo, diferencia entre un extremo y otro.
- Polisacárido sintasas.** Enzimas que catalizan la incorporación iterativa de restos de azúcares a partir de los respectivos donadores a la cadena central del polímero.
- Porcentaje de marchitez permanente.** Contenido de agua del suelo en el cual una planta no puede absorber más agua de éste; en general se considera que alcanza -1.5 MPa para la mayoría de las especies herbáceas.
- Poros estomático.** Abertura en la epidermis foliar formada por estomas.
- Poroso anillado.** Leño en el que los vasos xilemáticos producidos al comienzo de la estación de crecimiento son más largos y anchos que los producidos en la madera tardía, originándose así anillos de crecimiento anual diferentes.
- Poroso difuso.** Leño en el que los vasos xilemáticos anchos y estrechos están distribuidos al azar en cada anillo de crecimiento.
- Potencial de difusión.** Valor de potencial de membrana que se detecta cuando se anula el componente metabólico de dicho potencial, y que se debe a la diferencia de concentración, a ambos lados de la membrana, de K^+ , Na^+ y Cl^- .
- Potencial gravitacional.** Componente del potencial hídrico determinado por el efecto de la gravedad.
- Potencial hídrico.** Potencial químico del agua dividido por el volumen molar de éste en relación con el del agua pura a temperatura y presión estándar.
- Potencial mátrico.** Componente del potencial hídrico que se debe a la interacción del agua con los capilares en moléculas grandes (p. ej., partículas de arcilla en un suelo).
- Potencial de membrana.** Diferencia de potencial eléctrico que existe entre ambos lados de las membranas. En las células vegetales consta de un componente metabólico, generado por la actividad de la bomba de protones, y otro difusivo, o potencial de difusión.
- Potencial osmótico.** Componente del potencial hídrico que se debe a la presencia de solutos osmóticos.
- Potencial de presión.** Componente de presión del potencial hídrico; es positivo en las células vegetales vivas no plasmolizadas y negativo en el xilema de las plantas transpirantes.
- Pr.** Forma biológicamente inactiva de los fitocromos.
- Prenilación.** Adición de grupos prenilo (terpenoides o isoprenoides) a otros compuestos.
- Presión de raíz.** Potencial hídrico positivo en el xilema debido al transporte de iones hacia el xilema de las raíces.
- Primordio.** Primer estadio en el desarrollo de un órgano.
- Promotor.** Secuencia corta de DNA normalmente situada en dirección 5' con respecto a la correspondiente secuencia codificante, a la que se une la RNA polimerasa para iniciar la transcripción. Actúa como un interruptor que regula la transcripción del gen, es decir, determina en qué cantidad, cuándo, dónde y en respuesta a qué estímulo se expresará el gen.
- Proteasoma 26 S.** Complejo proteico en el que se degradan proteínas previamente marcadas mediante la adición de moléculas de ubiquitina.
- Proteína G (GTPasa).** Proteína implicada en las rutas de señalización, caracterizada por unirse al GDP o GTP. Cuando la proteína G está unida al GDP, se encuentra inactiva. El intercambio de GDP por GTP activa a la proteína G; en este estado, la proteína G puede activar otras moléculas. El ciclo se cierra cuando la proteína G hidroliza el ATP y queda unida al GDP.
- Proteína quinasa.** Enzimas que transfieren fosfatos desde el ATP hasta aminoácidos específicos localizados en las propias enzimas o en otras proteínas. Son fundamentales en la transducción de señales.
- Proteínas Cry.** Clase de proteínas cristalinas producidas por *Bacillus thuringiensis*. Sus genes precursores se han introducido, mediante ingeniería genética, en plantas cultivadas para hacerlas resistentes a las plagas de insectos. Estas proteínas son tóxicas para ciertos tipos de insectos (p.

ej., taladro del maíz), pero inofensivas para los mamíferos y para la mayor parte de los insectos beneficiosos.

Proteínas DELLA. Grupo de proteínas pertenecientes a la familia GRAS que contienen motivos específicos en su región aminoterminal, los dominios DELLA, que actúan como reguladores negativos de la señalización. En el núcleo actúan como represoras de la acción de las GAs, de modo que en presencia de GAs estas proteínas son rápidamente degradadas, desencadenándose el proceso de señalización.

Proteínas G heterotriméricas. Proteína G ligada a membranas compuesta por tres subunidades (α , β y γ) que median la transducción de señales iniciadas por los receptores acoplados a proteínas G (véase **GPCR**).

Proteínas LEA. Proteínas implicadas en la estabilización de las membranas de las semillas con dormición primaria. Pueden proteger a las proteínas «clave» en el proceso germinativo y, consecuentemente, deben permanecer salvaguardadas durante el proceso de dormición.

Proteínas ricas en hidroxiprolina (extensinas). Proteínas estructurales de la pared celular con múltiples secuencias repetidas ricas en hidroxiprolina, a las que se unen cadenas de tri- o tetraarabinanos.

Proteínas-arabinogalactano. Proteínas solubles muy glicosiladas que participan en la adhesión celular y en la señalización durante la diferenciación.

Proteosoma. Véase **proteasoma**.

Protoplasto. Célula vegetal de la que se ha eliminado la pared celular por un procedimiento químico o enzimático, dejando su citoplasma rodeado por una membrana periférica.

Psicrómetro de termopares. Equipo utilizado para medir el potencial hídrico, mediante la determinación de la depresión del bulbo húmedo, en un sistema gaseoso cerrado que está en equilibrio con la muestra (tejido vegetal o suelo).

Punto de marchitez. Potencial hídrico en el cual la presión de turgencia es cero.

PUP, transportadores-. Permeasas de purina, acopladas a la bomba de protones, que transportan citoquininas libres y adenina.

Quelatos. Tipo de complejo en el que el metal (Fe, Cu, Zn, etc.) se une a una molécula orgánica, agente quelante (como los derivados de los ácidos poliaminocarboxílicos, EDTA o EDDHA), por al menos dos enlaces, de modo que el ion quelado cambia sus propiedades. Normalmente, los quelatos son moléculas más estables que los complejos.

Quimiosmótica (hipótesis para el transporte polar). Hipótesis que fundamenta el transporte polarizado de auxina en la existencia de gradientes electroquímicos de protones (pH) entre distintos compartimientos celulares, además de una disposición asimétrica (basal) de los transportadores de salida.

Quinetina. Primera citoquinina descubierta; no es sintetizada por las plantas y fue aislada a partir del esperma de arenque sometido al autoclave.

Rafts. Microdominios transitorios de la membrana plasmática resistentes a detergentes, enriquecidos en esteroides y esfingolípidos altamente empaquetados y proteínas. Pueden desempeñar algún papel en la señalización.

Raíz adventicia. Raíces neoformadas (diferenciadas de *novo*) a partir de órganos diferentes a la raíz (p. ej., tallos u hojas).

Realimentación. Respuesta en la cual el producto de una de las etapas finales en una cadena de eventos afecta a una de las primeras; las fluctuaciones en la velocidad o en la concentración son minimizadas con realimentaciones negativas o amplificadas con realimentaciones positivas.

Receptor. Proteína de membrana o soluble que reconoce de forma específica una señal (p. ej., una hormona) y que, al unirse con ella, inicia una ruta de señalización.

Receptores de GAs. Elementos iniciales de la señalización inducida por GAs que desencadenan, en último término, cambios en la expresión génica. Durante mucho tiempo se pensó que únicamente residían en la membrana plasmática, pero descubrimientos recientes han demostrado que al menos uno de ellos, conocido como **GID1**, presenta una localización nuclear.

Red de Hartig. Estructura característica de las ectomicorizas constituida por el micelio del hongo, que forma un manto o red alrededor de las raíces pero no llega a penetrar en las células corticales. En algunos casos el desarrollo del micelio puede superar a la masa total de las propias raíces.

Regulación por retroalimentación. Tipo de control metabólico que autorregula en todo momento los niveles de las GAs activas. Dependiendo de que sea positiva o negativa, ajusta los niveles finales de las enzimas de las rutas de síntesis (incrementándolos o reduciéndolos, respectivamente) para que el efecto de las GAs sea el óptimo.

Reguladores positivos y negativos de la señalización de las GAs. Elementos de la ruta de señalización de GAs que inducen o reprimen, respectivamente, la cascada de reacciones metabólicas conducentes a la activación de la expresión de ciertos genes implicados en la respuesta.

Relación rojo/rojo lejano. Relación entre el flujo de fotones en el rango de color rojo y en el rango de color rojo lejano, que cae por el contacto de la luz con las hojas verdes.

Rendimiento cuántico del PSII (Φ). Parámetro que informa sobre la probabilidad de que un fotón de luz absorbido sea utilizado en el PSII liberando un electrón a la cadena de transporte electrónico. El rendimiento cuántico será máximo en las hojas adaptadas a la oscuridad.

Resistencia. Capacidad de la planta para minimizar el impacto de factores de estrés en el ambiente, bien mediante la presencia de mecanismos de tolerancia o mediante la evitación del estrés.

Respiración de crecimiento. Energía respiratoria necesaria para convertir los carbohidratos no estructurales en nuevos constituyentes de las plantas (proteínas, lípidos, carbohidratos estructurales, ácidos orgánicos).

Respiración de mantenimiento. Energía respiratoria asociada al conjunto de procesos que consumen energía para

el mantenimiento de la estructura celular (recambio proteico y lipídico, mantenimiento de gradientes a través de membranas) y que no determina una ganancia neta de biomasa orgánica.

Respuesta de hipersensibilidad. Respuesta activa de una planta frente a la infección de determinados organismos patógenos, que finaliza con la muerte selectiva de la célula, o grupo de células, en el lugar de la infección. Con esta estrategia se impide que el patógeno siga infectando al resto de la planta.

Respuestas a altas irradiancias. Denominación utilizada tradicionalmente para las respuestas a exposiciones prolongadas a la luz roja lejana que no son reemplazables por pulsos horarios de luz aunque éstos sumen la misma cantidad de fotones que la luz continua. El fotorreceptor es el fitocromo A.

Respuestas a bajos flujos de luz. Denominación utilizada tradicionalmente para designar las respuestas inducidas por la luz roja que son reversibles por la luz roja lejana. El principal fotorreceptor es el fitocromo B.

Respuestas a muy bajos flujos de luz. Denominación aplicada tradicionalmente a las respuestas inducidas por un pulso breve de luz roja de baja irradiancia o por luz roja lejana. El fotorreceptor es el fitocromo A.

Ribósidos de citoquininas. Nucleósidos formados por conjugación con la ribosa en posición 9 del anillo de purina.

Ribótidos de citoquininas. Nucleótidos formados por la esterificación del ácido ortofosfórico, en posición 5', con el correspondiente ribósido.

Ritmo circadiano. Ciclo endógeno de aproximadamente 24 horas que regula muchos procesos fisiológicos de los seres vivos.

Rizobios. Denominación colectiva de bacterias pertenecientes, entre otros, a los géneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium* y *Azorhizobium*.

Rizosfera. Suelo que rodea y está influido por las raíces de una planta.

Rotación de cultivos. Práctica agrícola que consiste en el empleo sucesivo de especies vegetales de distintas características (p. ej., leguminosas y cereales) en un terreno cultivado.

RPK, receptor- (del inglés, *receptor protein kinase*). Proteína quinasa de membrana con un sitio de reconocimiento para la señal y un dominio quinasa citoplasmático. La unión de la señal causa su autofosforilación y el inicio de una cascada de fosforilaciones en la que participan MAPK (véase **MAPK**).

Rubisco. Forma abreviada con la que normalmente se designa a la enzima cuyo nombre completo es ribulosa-1,5-bisfosfato (RuBP) carboxilasa-oxigenasa. Esta enzima, que se localiza en el estroma de los cloroplastos, tiene un doble comportamiento que justifica su nombre: es capaz de fijar CO₂ a una molécula orgánica aceptora, la RuBP, durante la primera fase del ciclo fotosintético de reducción del carbono; por otra parte, también cataliza la oxigenación del mismo sustrato, reacción inicial de la fotorrespiración.

Rubisco activasa. Enzima cuya función consiste en mantener y regular la actividad de la rubisco. Promueve la disociación de la RuBP y otros azúcares fosfato de los lugares activos descarbamilados de la rubisco. Debido a su importante función, esta enzima determina en último término la proporción de lugares activos que son catalíticamente competentes. Para realizar dicha función, la rubisco activasa necesita ATP y es inhibida por ADP.

Ruta de señalización (cadena de percepción y transducción de la señal). Serie de pasos bioquímicos que se inician con la unión de una señal al receptor y que conducen a una respuesta fisiológica mensurable.

Ruta de síntesis de la 13-hidroxilación de las GAs. La ruta más común de síntesis de GAs en el reino vegetal. El precursor GA₁₂ incorpora un grupo hidroxilo en el carbono 13 para transformarse en GA₅₃. Tras una serie de oxidaciones sucesivas y tras la eliminación del C-20, se sintetizan las GAs bioactivas. Otras rutas minoritarias de biosíntesis son la vía de la 3α-hidroxilación y la de la no-hidroxilación.

Sacarosa. Azúcar no reductor formado por una molécula de glucosa y otra de fructosa. Este disacárido se sintetiza en el citoplasma de las células fotosintéticas y es el principal azúcar que se transporta en el floema.

Saco embrionario. Gametofito femenino de las angiospermas. Se encuentra dentro del óvulo y contiene 8 células: la célula huevo, dos células sinérgicas, tres antípodas y la célula central con dos núcleos polares.

SAUR, genes- Familia de genes de respuesta rápida de las auxinas (del inglés, *small auxin up-regulated RNA*).

SCARECROW (SCR), gen- Gen de *Arabidopsis* que codifica un factor de transcripción que participa, junto con los genes *PLT* y *SHR*, en la especificación y el mantenimiento del centro quiescente y las células troncales del meristemo apical de la raíz. Junto con el gen *SHR*, también controla la diferenciación del córtex y la endodermis.

SCF^{TIR1}. Complejo de ubiquitinización encargado de marcar proteínas para su degradación en el proteosoma 26S. La unión directa de la auxina a la proteína TIR1 regularía este proceso.

Secuestro de carbono. Proceso natural a través del cual se capta CO₂ de la atmósfera y se inmoviliza durante períodos más o menos largos (años, décadas o siglos). La comunidad científica continúa investigando este proceso como posible opción para mitigar los efectos del cambio climático. Los principales sumideros biológicos de CO₂ (captadores netos de CO₂) son los océanos y los ecosistemas vegetales, ya que tienen la capacidad de captar grandes cantidades de CO₂ de la atmósfera en relación con las emisiones antropogénicas de este gas.

Segundo mensajero. Compuesto sintetizado o liberado después de que una señal (primer mensajero) se haya unido a un receptor; el segundo mensajero activa las reacciones de la ruta de señalización.

Semilla. Unidad de diseminación y perpetuación en las angiospermas.

- Semilla quiescente.** Semilla con un estado metabólico «basal» en el que se puede llevar a cabo el proceso germinativo si las condiciones para ello son óptimas.
- Senescencia.** Conjunto de procesos de desarrollo regulados a nivel genético, encaminados a conseguir el desmantelamiento y el reciclaje ordenado de una parte de las estructuras y moléculas que ya no resultan útiles para la planta en su estado de organización presente.
- Senescencia monocárpica.** La que afecta a la planta completa. El proceso acaba con la muerte del individuo.
- Senescencia policárpica.** La que afecta a estructuras, órganos o tejidos de una planta, pero no a la totalidad del individuo.
- Sensor histidina quinasa híbrido.** Sensor histidina quinasa fusionado con un dominio receptor de los reguladores de respuesta. Los receptores de citoquininas identificados son las histidina quinasa híbridas (véase **AHKs**).
- Señales luminosas.** Cambios en el ambiente luminoso que pueden ser percibidos por la planta, que de este modo ajusta el crecimiento y desarrollo al ambiente actual o futuro.
- SHOOTMERISTEMLESS (STM), gen-.** Gen de *Arabidopsis* de la familia *KNOX*, emparentados con los genes *HOX* (genes homeobox) de los animales. Los mutantes *stm* carecen de meristemo funcional. La función del gen *STM* es mantener el meristemo apical del tallo en estado indiferenciado.
- SHORTROOT (SHR), gen-.** Gen de *Arabidopsis* que codifica un factor de transcripción que participa, junto con los genes *PLT* y *SCR*, en la especificación y el mantenimiento del centro quiescente y de las células troncales del meristemo apical de la raíz. Junto con el gen *SCR*, también controla la diferenciación del córtex y la endodermis.
- Silenciamiento génico.** Pérdida de expresión génica bien de un transgén, o bien del transgén y de un gen nativo con secuencia homóloga.
- Simbiosis.** Interacción entre dos o más organismos con beneficio mutuo.
- Simbiosoma.** Vesícula rodeada por una membrana sencilla derivada de la planta (membrana simbiosomal o peribacteroidea) y que engloba a los bacteroides en las células infectadas de los nódulos.
- Simplasto.** Espacio que comprende todas las células de los tejidos de una planta conectadas mediante plasmodesmos y rodeado por una membrana plasmática.
- Simporte.** Tipo de transporte que se produce cuando un transportador cataliza el movimiento de un soluto a través de una membrana en la misma dirección que se desplaza el ion motriz.
- Sinérgidas.** Las dos células que acompañan a la célula huevo en el saco embrionario.
- Sistema de dos componentes.** Ruta de señalización bacteriana en la que participan dos proteínas, el sensor histidina quinasa y el regulador de respuesta, que funciona a través de una fosforilación alternante entre residuos de histidina y aspartato.
- Skoog-Miller, modelo-.** Hipótesis de regulación hormonal de la organogénesis según la cual la diferenciación de las yemas adventicias es promovida por balances auxina/citoquinina favorables a las citoquininas, mientras que los balances favorables a las auxinas inducen la formación de raíces.
- SMS, señal- (del inglés, shoot multiplication signal).** Derivado de la oxidación de carotenoides que puede estar implicado, junto con las auxinas y las citoquininas, en la regulación de la dominancia apical.
- Solución nutritiva.** Solución que contiene exclusivamente sales minerales constituidas por los nutrientes esenciales requeridos por las plantas y que permite el crecimiento de éstas sin la presencia de suelo o materia orgánica. Su invención y difusión a partir de 1860 se atribuye a J. Sachs, prestigioso botánico alemán. La solución Hoagland, con sus distintas modificaciones, es una de las más utilizadas.
- Soluto compatible.** Solute que no tiene efecto perjudicial sobre el metabolismo en concentraciones elevadas.
- Sonda de presión.** Microcapilar que es introducido en una célula viva para medir la turgencia celular.
- Suberina.** Sustancia de naturaleza lipídica presente en las paredes celulares del tejido suberoso y en la banda de Caspari de la endodermis en los vegetales.
- Suculencia.** Estado carnoso y grueso de los tejidos herbáceos debido a un alto contenido hídrico; en las hojas se cuantifica como el volumen de agua a un contenido hídrico relativo del 100% dividido por el área foliar.
- Suculenta.** Planta con un gran volumen de agua en los tejidos (a un contenido hídrico relativo del 100%) por unidad de área.
- Sulfito reductasa.** Enzima que reduce el sulfito (SO_3^{2-}) a sulfuro (S^{2-}) con ferredoxina reducida como donador de electrones.
- Superenfriamiento.** Proceso por el cual se enfría un líquido por debajo de su punto de congelación sin que éste se haga sólido. Mediante este proceso, determinadas especies vegetales toleran la congelación.
- Suspensor.** Órgano que durante la embriogénesis zigótica comunica el embrión con los tejidos maternos. Sirve para conducir los nutrientes hacia el embrión.
- Sustancia alelopática.** Metabolito secundario de origen vegetal que inhibe el crecimiento de otros organismos vegetales.
- T-DNA.** Segmento de DNA del plásmido Ti o Ri, que se encuentra en los patógenos *Agrobacterium tumefaciens* y *A. rhizogenes* y que se transfiere a las células vegetales, insertándose en el DNA de la planta como parte del proceso de infección. El tipo silvestre del T-DNA codifica enzimas que inducen a la planta a sintetizar opinas específicas, necesarias para el metabolismo de la bacteria, y fitohormonas, responsables del crecimiento tumoral en los tejidos infectados. En el T-DNA creado por ingeniería genética, tales genes se sustituyen por transgenes.
- TDZ.** Abreviatura del tidiázurón, compuesto sintético, derivado de la fenilurea, con actividad citoquinina.
- Tejido aleuronar.** Conjunto de células agrupadas en uno o varios estratos cuya misión consiste en producir enzimas

degradativas del endospermo y colaborar en el proceso germinativo.

Temperatura de cambio de fase (T_c). Temperatura a la que se produce la transición gel-líquido de las membranas.

Teoría de la tensión-cohesión. Explica la ascensión de la savia en el xilema como un fenómeno debido a las fuerzas de cohesión entre las moléculas de agua ascendentes y las fuerzas de adhesión entre el agua y los capilares en las paredes de los conductos xilemáticos.

Terpeno. Los terpenos o isoprenoides se componen de cinco unidades de carbono, y en los vegetales son sintetizados por la vía del acetato/mevalonato o del gliceraldehído 3-fosfato/piruvato. Muchos terpenos están implicados en las relaciones ecológicas, y otros (como los fitoesteroles o los carotenoides) tienen importancia fisiológica.

Textura del suelo. Proporciones relativas de arena, limo y arcilla en un suelo.

TIBA. Ácido 2,3,5-triyodobenzoico, inhibidor competitivo del transportador de salida de la auxina.

Tilacoide (del griego, *thylakos*, saco). Membrana del interior del cloroplasto que forma un sistema intrincado, con pliegues que dan dobles membranas a modo de láminas paralelas, más o menos separadas o apiladas. En los tilacoides se insertan los macrocomplejos pigmento-proteína que forman el aparato fotosintético.

TIR1. Proteína soluble de la clase F-box que se considera receptor de la auxina (*transport inhibitor response 1*).

Tmr, gen-. (tumor con raíces). Gen IPT de *Agrobacterium tumefaciens*.

Tolerancia a la desecación. Tolerancia al déficit hídrico extremo, con recuperación de las tasas normales de fotosíntesis y respiración en un corto plazo tras la rehidratación.

Totipotencia. Capacidad de una célula o tejido para regenerar un organismo entero.

Tpl-1 (*topless-1*). Mutante de *Arabidopsis* con dos polos radicales. El gen *TPL-1*, codifica proteínas que remodelan la cromatina y estabilizan el eje apical basal del embrión, formado inicialmente gracias al transporte polar de la auxina.

Transformación genética. Proceso mediante el cual se introduce e integra DNA foráneo en el genoma de una célula con el propósito de cambiar el fenotipo del organismo receptor.

Transpiración. Pérdida de agua en las hojas debida a la evaporación.

Transportador. Proteína de membrana que transporta solutos en contra del gradiente de potencial electroquímico utilizando para ello la energía asociada al movimiento de un ion.

Transporte polar. Forma típica de transporte de auxinas en un solo sentido (acrópeto o basípeto). La velocidad y la intensidad son dos parámetros característicos de ese transporte.

Transporte primario. Es el transporte de solutos que se produce a través de las bombas primarias.

Transporte secundario. Es el transporte de solutos que se produce consumiendo la energía acumulada en las membranas por las bombas primarias, y que puede ser tanto

pasivo (a través de canales) como activo (a través de transportadores).

Traqueida. Tipo de célula en el xilema.

Triple respuesta. Efectos del etileno en el crecimiento de las plántulas etioladas, que consiste en la inhibición del crecimiento longitudinal del hipocótilo, el aumento de su engrosamiento y el cambio en la orientación del crecimiento. Estos procesos han sido ampliamente utilizados como sistema de selección de los mutantes de *Arabidopsis* insensibles al etileno.

tRNA-IPT, enzima-. Isopentenil transferasa dependiente del tRNA. Cataliza la prenilación en N⁶ del residuo de adenina adyacente al extremo 3' del anticodón de ciertos tRNA con dimetilalil difosfato (DMAPP). En *Arabidopsis* se han identificado dos genes que codifican tRNA-IPT (*AtIPT2* y *AtIPT9*).

Túnica-cuerpo del meristemo apical del tallo. Denominación que se aplica a la descripción del meristemo apical del tallo como una bóveda estratificada en la que se distinguen tres capas de células que se diferencian por la orientación de sus planos de división; las dos capas más externas (L1 y L2) forman la túnica, mientras que la más interna (L3) forma el cuerpo del meristemo.

Turgencia. Presión hidrostática positiva en las células vivas.

tZ. Abreviatura de la citoquinina isoprenóidica *trans*-zeatina.

Ubiquitina. Polipéptido pequeño que se une covalentemente a proteínas y las marca para su degradación selectiva en el proteosoma.

uidA Gen. Gen de *E. coli* que codifica la producción de beta-glucuronidasa (GUS). Como esta proteína no es propia de las plantas, el gen se utiliza como marcador informador o delator para detectar el éxito de una transformación. En presencia del sustrato apropiado, tiñe, generalmente de color azul, las células transformadas.

Ureidos. Compuestos nitrogenados (alantoína y ácido alantoico) producidos por la asimilación del amonio procedente de la fijación y que son transportados por el xilema desde los nódulos a la parte aérea, generalmente en las leguminosas de origen subtropical y tropical.

Valor umbral de turgencia. Presión de turgencia mínima para la expansión celular.

Vernalización. Adquisición de la competencia para florecer en primavera como consecuencia de la exposición prolongada a las bajas temperaturas del invierno.

Vía alternativa de la respiración. Flujo de electrones desde la ubiquinona reducida (ubiquinol) al oxígeno, mediante la oxidasa alternativa. Esta vía no genera gradiente protónico, y la energía se libera por calor.

Vía citocrómica de la respiración. Flujo de electrones desde la ubiquinona reducida (ubiquinol) hasta el oxígeno para formar agua, pasando por el complejo III o los citocromos bc₁, el citocromo c y el complejo IV, o citocromo c oxidasa.

vir Genes. Conjunto de genes de un plásmido Ti implicados en la excisión, transferencia e integración del T-DNA del plásmido Ti o Ri de *Agrobacterium* a una célula vegetal.

WOL, proteína- (del inglés, *wooden leg*). Receptor de citoquininas de *Arabidopsis* (véase **AHKs, receptores-**).

WUSCHEL (WUS), gen-. Gen de *Arabidopsis* que codifica un factor de transcripción homeodominio responsable del mantenimiento de las células troncales de la zona central del meristemo apical del tallo. El meristemo de los mutantes *wus* carece de células troncales. Junto con los genes *CLAVATA*, mantiene el funcionamiento del meristemo apical del tallo (véase **bucle de retroalimentación WUS/CLV**).

Xantofila. Carotenoide que tiene algún grupo oxigenado en su estructura molecular (como, por ejemplo, -OH).

Xenobiótico. Se dice del compuesto externo a un organismo vivo que interacciona con él, generalmente a través de alteraciones metabólicas.

Xerófitas. Plantas específicamente adaptadas a ambientes extremadamente secos.

Xiloglucano endotransglicosilasa/hidrolasa. Familia de enzimas que utilizan xiloglucano como sustrato, con ac-

tividad transglicosilasa (XET), hidrolasa (XEH), o de ambos tipos.

Yema adventicia. Yema neoformada (diferenciada *de novo*).

Yemas axilares. Meristemas secundarios (laterales) formados en las axilas de las hojas.

Zona central. Grupo central de células troncales del meristemo apical del tallo.

Zona de abscisión. Capas de células ubicadas en la estructura que une el órgano al eje de la planta donde tienen lugar los acontecimientos celulares y bioquímicos que propician una separación celular y, finalmente, la abscisión del órgano.

Zonación del meristemo apical del tallo. Denominación que se aplica a la descripción del meristemo apical del tallo como una bóveda dividida en tres partes (zonas): zona central (con células troncales), zona periférica y zona medular.

Índice analítico

- ABA, 52-54, 76, 136
- Abertura estomática, 47-52
 - y luz azul, 50, 51, 486
- ABRE, secuencias, 548, 591, 592
- Abonado nitrogenado, 162
- Absorción
 - de agua por las raíces, 57, 61
 - de fotones, cuantos, 169, 468
 - del nitrato, 287, 288
 - del sulfato, 297, 298
- Acetato, 324
- Acetosiringona, 606
- ACC
 - oxidasa, 446-448, 532, 555, 590
 - sintasa, 445-447, 553, 558, 590
- Ácido(s)
 - abscísico (ABA), 35, 52, 53, 70, 136, 327
 - aspártico, 232
 - C₄, 234
 - dicarboxílicos, 314
 - fitico, 544
 - 3-fosfoglicérico (3-PGA, PGA), 212, 213
 - fosfoglicólico o fosfoglicolato, 227
 - giberélico (GA₃), 399, 415, 478, 528, 531
 - grasos, 6, 8, 9, 22, 218, 337, 338
 - insaturación, 8
 - insaturados, 6, 9, 22, 338
 - β-oxidación de los, 265, 274
 - poliinsaturados, 175
 - síntesis, 8, 9, 268, 337
 - linolénico, 175
 - málico, 232, 238, 270
 - mevalónico (AMV), 325
 - naftilftalámico, 389
 - oxíndol-3-acético 386
 - pirúvico, 270
 - salicílico, 332, 457, 564, 581, 592
 - salicilhidroxámico (SHAM), 272, 281
 - siquímico, 324, 334, 335, 384
 - transhexadecenoico, 175
 - 2,3,5-triyodobenzoico, 389
- Acil-CoA
 - oxidasa, 274
 - sintetasa, 274
- Aclareo, 93, 396, 526
- Aclimatación, 70, 577
 - a la baja de la fotosíntesis, 261
 - al estrés hídrico, 57
 - de la fotosíntesis, 260
 - al frío, 76
- Acomodación, 577
- Activación del sulfato, 298
- Actividad del agua, 27
- Acuaporinas, 34-36, 54, 60, 61, 134, 138, 157, 229, 416
- Adaptación, 359, 360, 501, 587-595
 - sensorial, 487
- S-Adenosilmetionina (SAM), 445, 588
- Adenosina fosforilasa, 428
- ADP-glucosa pirofosforilasa, 216, 218, 224
- Aerénquima(s), 280, 281, 319, 552, 570, 577, 583
- Áfidos, 88, 90
- Agallas de corona, 429, 600
- Agravitropismo, 488
- Agricultura sostenible, 151, 156
- Agua disponible, 34
- Aireación del suelo y absorción de agua, 54
- Ajuste osmótico, 68, 74
- Alcaloides, 324, 338, 339
 - de Amaryllidaceae, 342
 - de bencilisquinolina, 342
 - diterpénicos, 327
 - indólicos
 - complejos, 344
 - simples, 342
 - de isoquinolina, 342
 - de piperidina, 340
 - de piridina, 342
 - de pirrolicidina, 340
 - de pirrolidina, 340
 - de quinolicidina, 341
 - tropánicos, 340
 - verdaderos, 339, 340

- Alcohol deshidrogenasa, 553
 Aleloquímicos, 162
 Aleurona, 369, 411, 412, 458, 538, 569
 Almidón, 216, 218, 219, 238, 265, 266
 degradación de, 265-267
 fosforilasa, 266
 síntesis de, 218, 223, 224, 250, 259
 Alogamia, 522
 Alternancia
 de fases nucleares, 559
 de generaciones, 354, 559
 Amidas, 315
 Amilasas, 266, 267, 400, 412-417, 541, 543, 553
 Amilopectina, 216, 218, 219, 266
 Amilosa, 216, 219, 266
 Aminoácidos, 324, 334, 338
 esenciales, 218
 en el floema, 90
 Análisis
 foliar, 145, 148, 163
 de savia, 148, 163
 del suelo, 145
 Anastomosis, 92
 Anatomía
 Kranz, 233, 237, 243
 suculenta, 238
 Androesterilidad, 612
 Anemofilia, 520
 Anhidrasa carbónica, 114, 134, 229, 234, 241
 Anillado, 82
 Anoxia, 105, 120, 280, 281, 583
 Antena(s), 191, 193, 194, 251, 253
 agregación de, 203
 fotosintéticas (véase LHC), 167, 170, 253
 migración de, 203
 periféricas o extrínsecas (LHC), 182
 Antiauxinas, 379, 380
 Anticitoquinas, 425, 426
 Antioxidantes, 318, 460, 549, 566, 586
 Aparato
 estomático, 46
 fotosintético, 174
 de Golgi, 8, 9, 18, 22
 Apomixis, 356
 Apoplasto, 4, 5, 22, 95, 97, 137, 392, 455, 491, 493, 543, 586
 Apresorio, 157
 APS
 quinasa, 298
 reductasa, 298, 300
 sulfotransferasa, 298
 Arabinanos, 14
 Arabinogalactano I/II, 14
 Arabinoxilanos, 11, 12
 Arbúsculos, 157
 Áreas cribosas, 83, 84
 Arginina descarboxilasa, 459
 Aridez, 72
 Ascorbato, 403, 446, 586-587
 peroxidasa, 586
 Asimetría en las membranas, 7
 Asimilación
 del amonio, 287
 del azufre, 297, 301
 del CO₂, 206
 fotosintética del carbono, 49
 neta de CO₂, 54
 del nitrato, 287, 289, 297
 del nitrógeno, 294, 295, 301
 del sulfato, 287, 298, 300, 301
 Asparragina, 292, 293, 295, 303, 315
 sintetasa, 293, 303, 314
 Atenuación de la luz, 485
 ATP
 binding cassette (ABC), 129
 fosfohidrolasa de protones, 126
 hidrolasa protónica, 7,
 sintasa, 178, 184, 199, 273, 277
 síntesis de, 200
 sulfurilasa, 298, 300
 Aumento del CO₂ atmosférico, 260
 Autocatálisis del etileno, 447, 452
 Autogamia, 522, 523
 Bacteroides, 311, 312, 314, 316, 318, 319
 Balance hídrico, 44, 66
 de las plantas, 37
 Banda de Caspari, 60, 61, 137, 154
 Betaína, 74
 Bicarbonato, 234
 Bioensayo, 379, 400
 Biotrofia, 580
 Bomba(s)
 de Ca²⁺, 138
 iónicas, 141
 primarias, 126, 141
 de protones, 126, 139
 redox, 136
 de sodio, 127
 Bombeo
 de calcio, 128
 de Na⁺, 134
 Brasinólido, 461
 Brasinoesteroides, 328, 329
 Burbuja de aire en el xilema, 64, 65
 Ca²⁺-H⁺-ATPasa, 128, 136
 Cadena de transporte electrónico
 fotosintética, 193, 196, 199
 mitocondrial (cadena respiratoria), 265, 268, 271-275, 277
 Caída fisiológica, 525, 529
 Caja de huevos, estructura en, 13, 20
 Caliptra, 58, 59
 Calmodulina, 110, 490, 552
 Calosa, 83, 84, 85, 88, 99, 550
 CAM, 51
 Cámara de presión, 31, 32
 Cambio
 climático, 247, 260, 261
 IPCC, Panel Intergubernamental de Expertos en el, 260
 de fase, 395, 494, 500, 561, 562
 Canal(es), 131, 132, 141
 de agua, 157
 aniónico(s), 133, 134
 dependiente de voltaje (VDAC) o porina, 270

- de calcio, 129, 131, 133, 136
- iónicos, 131
- de potasio, 47, 131, 132, 138
- Capa
 - de hidratación, 25
 - límite, capa estacionaria o *boundary layer*, 43, 248
 - nacarada, 84
- Capacidad
 - de campo, 33, 34
 - fotosintética, 253, 258-260
- Carboxiarabinitol 1-fosfato, 222
- Carboxilación
 - del fosfoenolpiruvato, 234
 - gasto energético de la, 233
 - de RuBP, 213, 215
- Carga
 - apoplástica del floema, 87, 94-96, 101
 - del floema, 87, 94, 133
 - simplástica del floema, 96, 97, 101
- Carotenoides, 171-173, 330, 331, 401, 434, 453, 486, 531, 565, 568
- Carotenos, 171, 330
- Catafilos, 513
- Catalasa(s), 230, 231, 274, 318, 319, 586
- Caudal o flujo total por conducto, 62
- Cavidad sub-estomática, 41, 42, 248
- Cavitación en el xilema, 49, 51, 52, 63-66, 68
- Célula(s)
 - albuminosas, 86
 - de compañía, 85-87, 90, 91
 - cribosas, 83
 - diana, 369
 - de la endodermis, 137
 - epidérmicas, 46
 - extensoras, 492
 - flexoras, 492
 - del floema, 4
 - intermediarias, 86, 96, 97
 - del mesófilo, 52, 53, 233, 235, 237, 251
 - motoras, 492
 - oclusivas o de guarda, 46-48, 52, 53
 - plasmolizada, 29
 - del parénquima, 4
 - de transferencia, 86
 - turgente, 29
 - de la vaina, 86, 233, 235, 237
 - del xilema, 4
- Celulasa(s), 311, 525, 553, 568,
- Celulosa, 11, 16-18, 20, 22
 - sintasa, 17, 18
- Centro(s)
 - o *cluster* de manganeso, 198
 - organizador, 363
 - quiescente, 367
 - de reacción, 167, 191, 193, 203, 255
 - sulfoférrico, 289
- Ceras, 338
 - cuticulares, 41
- Chaperonas, 590
- Ciclinas, 352, 353, 416, 432, 433, 538
- Ciclo
 - de los ácidos tricarbóxicos o de Krebs, 113, 265, 268, 271, 275, 277, 285, 294, 302, 314
 - ascorbato-glutación, 318
 - C4, 234
 - CAM, 238
 - celular, 352, 432, 433
 - fotorrespiratorio, 230, 231, 244
 - fotosintético de reducción del CO₂ (CFRC) o de Calvin, 212-217, 222, 223
 - del glioxilato, 274, 275
 - GS/GOGAT, 230, 290, 291, 302, 314
 - de Halliwell-Asada, 586
 - de la luteína epóxido, 256
 - del N, 305
 - de la violaxantina o ciclo VAZ, 256
 - de las xantofilas, 203
 - Cierre estomático, 47, 48, 51, 53, 54, 69, 70, 73, 458, 587
 - al mediodía, 51, 52
 - Cinética
 - bifásica, 125, 126
 - multifásica, 126
 - Circumnutación, 483, 484
 - Cisteína-proteasas, 319
 - Citocromo
 - b/c₁ o complejo III, 272
 - b559, 197, 199, 205
 - b₆f, 178, 182, 199, 200
 - c, 272
 - c oxidasa (COX) o complejo IV, 113, 272, 280
 - Citoquinina oxidasa/deshidrogenasa, 430
 - Citosol, 4
 - Climaterio, 530
 - de frutos, 447
 - Clinostato, 489
 - Clorofila(s), 110, 170-173, 182, 192, 254
 - dímeros de, 196
 - especiales de los fotosistemas, 193, 194
 - síntesis de, 112, 113
 - Clorofilasa, 565, 584
 - Clorofiloproteínas, 179
 - Cloroplastos, 174, 187
 - origen procariótico de los, 187
 - Clorosis, 107-110, 146
 - férrica, 111, 151
 - intervenial, 111-113
 - Cluster*
 - o centro de manganeso, 195, 198
 - sulfoférrico, 196
 - CO₂ intercelular, 49, 50, 54
 - Cociente respiratorio (RQ), 277, 278
 - Cocultivo, 605
 - Coefficiente(s)
 - molares de absorción (ϵ), 173
 - de reflexión, 28
 - de temperatura o factor Q₁₀, 280
 - Cohesión, 25
 - Colonización, proceso de, 157
 - Columela, 367, 489
 - Columnas de agua en el xilema, 62, 67, 79
 - Combustibles renovables, 3
 - Complejo(s)
 - citocromo b₆f, 178, 182
 - pigmento-proteína, 171
 - proteicos mitocondriales (I, II, III, IV, V), 271-273

- de respuesta a las GAs, 415
- tubo criboso-célula de compañía (TC/CC), 85-87, 95, 98
- Concentración de CO₂ intercelular (C_i), 49, 50, 53, 54, 249
- Conductancia, 42
 - al CO₂, 249
 - estomática, 53, 54, 70, 229
 - del mesófilo foliar (g_m), 228, 229
 - total al vapor de agua, 43
- Conductividad hidráulica, 35, 65
 - de la raíz, 53, 54, 61
 - del suelo, 33
- Congelación del xilema, 65, 66
- Constante solar, 165
- Contenido hídrico (CH), 26
 - relativo (CHR), 26
- Continuo suelo-planta-atmósfera (SPAC), 37, 38
- Control respiratorio, 277
- Conversión interna (CI), 170
- Copalil difosfato (CDP), 403
- Cordón de infección, 311, 312
- Cosupresión, 613
- Crecimiento
 - por acidificación, 390, 392
 - determinado, 360, 500
- Crioprotectores, 76
- Criptocromos, 405, 468, 504
- Cruce intersistemas (IS), 170
- Cuajado, 396, 417, 524-528
- Cubierta seminal vacía, 97
- Cuerpos lipídicos y protéicos, 542
- Cultivos hidropónicos, 103-105, 109
- Cumarinas, 324
- Curva(s)
 - A/C_i, 249, 250, 259, 260, 262, 263
 - presión-volumen, 32, 33
 - de respuesta a la temperatura de la fotosíntesis, 256, 257
 - de saturación de luz de la tasa de fotosíntesis neta, 252
- Cutícula, 41, 45, 56, 73, 359
- Cutina, 20, 21, 41, 338, 545

- Deficiencia nutricional, 146
- Déficit
 - hídrico, 52-54, 65, 68, 69-71, 74, 75, 260, 451, 456, 457, 587, 588
 - de presión de vapor de la atmósfera, 45
 - de saturación
 - hídrica (DSH), 26
 - de vapor, 43
- Demanda energética, 277, 278
- Densidad
 - estomática, 48, 49
 - de flujo otónico fotosintético (PPFD), 202, 252, 254
 - de fotones, 584
- Depósito
 - de calosa, 99
- Desacoplamiento y desactivación, mecanismos de, 202, 203
- Desaturadas, 6, 9, 338, 583
- Descarboxilación de ácidos C₄, 232, 234, 238
- Descarga del floema, 94, 96, 97
- Desetiología, 405, 472-477
- Desintoxicación, 385
- Desmotúbulo, 137

- Desnitrificación, 106
- Despuntado, 93
- Desverdización, 532
- Diagnóstico de nutrición, 145
- Diagrama de Höfler, 29, 30
- Dicer, 610
- Dicogamia, 523
- Diferencia de potencial hídrico, 42, 43
- Difusión, 34
 - de CO₂, 135, 247, 248
 - de metabolitos, 233
 - de O₂, 316, 319
- Dihidroascorbato reductasa, 446, 587
- Dioxigenasas, 402-404, 434
- Discriminación isotópica
 - del carbono, 45, 242, 243
 - del oxígeno, 281
- Disipación de energía
 - de excitación, 254
 - térmica (NPQ), 255
- Disponibilidad
 - hídrica del suelo, 52
 - de nutrientes en el suelo, 144
- Disuasorios nutritivos o alimentarios, 323, 339, 343, 344
- Diterpenos, 325-327, 401
- DNA cloroplástico (DNAcp), 185, 186
- Dobles enlaces conjugados, 171-173
- Dominancia apical, 359, 390, 391, 434, 462, 475, 478
- Dormición primaria y secundaria, 545-549

- Economía
 - del agua, 66
 - del carbono, 281, 282
- Ectomicorrizas, 154-156, 164
- Ecuación
 - de Goldman, 130
 - de Hill, 168
 - de Nernst, 123, 124, 130
- Efecto(s)
 - pleiotrópicos, 367, 406
 - de posición, 613
 - tónico, 487
- Eficiencia
 - fotoquímica del PSII, 255
 - transpiratoria, 44, 45
 - en el uso
 - del agua (WUE), 44, 75, 237, 243
 - del agua de la fotosíntesis (WUE_{ph}), 44
 - del agua de la productividad (WUE_p), 44
 - del nitrógeno, 237
- Electroenzimas, 126
- Electrones de valencia, 169
- Electroporación, 608
- Elemento(s)
 - beneficioso, 104, 105, 118, 120
 - criboso, 90
 - disponible o asimilable, 144
 - esencial, 103, 105, 110, 120
 - mineral esencial, 104
 - traza, 110
 - de los tubos, 83
- Elevación hidráulica, 61

- Elicitores, 579
- Embolia (xilemática), 51, 64, 65, 66, 68
- Embriogénesis
somática, 354, 463, 537, 606, 607
zigótica, 537-547
- Emergencia radicular, 552, 555
- Encamado, 417
- Endodermis, 60, 61, 137
- Endomicorrizas, 154-156, 164
- Endotransglicosilasa (XET), 15
- Endurecimiento, 557
- Energía
electroquímica, 193
de excitación, 191, 253, 254
excitónica, 193
libre de Gibbs, 27
- Enfermedades de las plantas, 160, 162
- Enraizamiento, 390, 463, 500, 561, 606
- Entomofilia, 520
- Enzima(s)
málica, 113
dependiente de NAD⁺ (NAD-ME), 235, 236, 238
dependiente de NADP⁺ (NADP-ME), 234-236
mitocondrial, 271
de la pared, 14, 15
- Epinastia, 390, 451, 491, 587
- Escape a la sequía, 72
- Escotomorfogénesis, 472
- Esencias naturales, 326
- Espacio(s)
aéreos del interior de la hoja, 248
extracelular, 4
libre aparente, 137
periplásmico, 137
- Especies
activadas o reactivas de oxígeno (*reactive oxygen species*, ROS),
207, 254, 274, 300, 317, 579, 587
intermedias C3-C4, 236, 237
monocárpicas y policárpicas, 361, 500
reactivas de nitrógeno (RNS), 319
- Espectro de absorción, 170, 171
- Espermidina, 459, 460
- Espermina, 459, 460
- Esqueje, 353, 390, 561
- Esqueletos carbonados, 294, 295
- Esquema en Z (o esquema Z), 196, 197
- Estado(s)
I a estado II, cambio de, 200
excitado(s), 169, 173, 192, 193, 203
fundamental, 173
S de oxidación del agua, 198
- Estatocito, 489, 490
- Estatolito, 489, 490
- Esterilidad, 406, 462, 522, 523,
- Esteroides vegetales o fitoesteroides, 327-329
- Estilbenos, 324, 333, 334, 336
- Estomas, 46, 49, 67, 109, 116, 211, 248
- Estrategia I/II, 111, 112, 151
- Estratificación, 547, 548
- Estrés
hídrico, 70, 71, 156, 164
oxidativo, 319
- Estroma, 175, 176, 188, 199
- Estructuras ramificadas de absorción (BAS), 157
- Evapotranspiración, 44
- Evitación del estrés hídrico, 72
- Excitón(es), 169, 170, 192
- Exodermis, 60, 61
- Expansinas, 15, 16, 20, 22, 352, 392, 478, 553, 572
- Expansión celular, 69
- Extensibilidad, 30, 70, 392, 416, 457, 477, 552
- Extensinas, 14
- Extensión de la pared, 15, 19, 20
- Exudación de fluido del floema, 87, 88
- Exudado del floema, 88, 89, 90, 94, 99
- Factor(es)
limitante de la tasa de fotosíntesis, 259
de transcripción
AGL15, 406
ARF, 395
ARR-tipo B, 439
CBF, 586, 592
CRF, 440
DDF1, 406, 587
DREB1, 586, 592
GAMYB, 414
PIF3, 476, 477
PIL5, 548
SPT, 548
WRKY, 592
- Fase
adulta 500, 560-563
juvenil, 500, 560-563
madura, 561
del ritmo, 494
- Fenilalanina amonio-liasa (PAL), 335
- Fenilpropanoides, 332, 594
- Fenoles, 324, 330, 332
acoplamiento oxidativo de los, 337
- Feofitina, 195
- Fermentación, 270, 275, 276, 281
- Feromonas, 327
- Ferredoxina, 180, 181, 183, 184, 196, 289, 313
-NADP⁺ reductasa, 184
- Fertilizantes, 108, 149, 150, 151, 162, 305
nitrogenados, 153, 305
- Fertirrigación, 149, 150
- Fijación biológica del nitrógeno, 153, 305
- Filotaxia, 359, 500, 563
- Firma de calcio, 110
- Fitasa, 554
- Fitina, 554
- Fitoalexinas, 21, 323, 331, 338, 581, 594
- Fitocromo y actividad de la PAL, 335
- Fitoesteroides o esteroides vegetales, 328
- Fitol, 171
- Fitómero, 359, 500
- Fitoquelatinas, 109, 159, 300, 585
- Fitosideróforos, 111, 112, 139
- Flavonoides, 309, 310, 324, 332, 334, 336, 565, 594
- Floema, 81, 83
- Flores termogénicas, 273
- Florígeno, 506
- Fluidez de las membranas, 6

- Fluido
 del floema, 87-91
 xilemático, 63
- Flujo
 cíclico, 200, 205
 electrónico cíclico, 196, 197
 de fotones, 253
 hídrico, 35
 lineal, 200
 en masa continuo, 63
 másico, 98
 masivo, 33-35, 62
 de savia, 44
 total por conducto o caudal, 62
 xilemático, métodos de cuantificación, 62, 63
- Fluorescencia (FL), 170, 203, 254
 emisión de, 203, 254, 255, 262
 modulada, 255
 variable, 255
 verde, 605
- Fluridona, 547
- Fosfoenolpiruvato
 carboxilasa (PEPC), 50, 136, 234, 235, 239, 243, 267, 295, 314
 carboxiquinasa (PCK o PEPCK), 235, 236
- Fosfofructofosfotransferasa (PFP), 267, 276
- Fosfofructoquinasa (PFK), 267, 276
- Fosfolipasas, 373, 458, 586
- Fosfolípidos, 5, 6, 7, 9, 175, 177
- Fosforescencia (FO), 170
- Fosforilación, 200
 de LHCII, 200
 a nivel de sustrato, 267
 oxidativa, 265, 273, 285
 reversible de la nitrato reductasa, 290
- Fosforilasas, 267
- Fosforribuloquinasa, 215-217
- Fosfotransferasas, 438
- Fotoasimilado(s), 81, 82, 92, 168, 223, 277, 282
 sumideros de, 224
- Fotofosforilación, 199
 cíclica, 206, 207, 235
 no cíclica, 206, 244
 pseudo-cíclica, 207
- Fotoinhibición, 76, 197, 201-203, 205, 207, 232, 254-256, 584
- Fotólisis del agua, 175, 179, 197
- Fotones, 169, 192
- Fotooxidación, 207
- Fotoperíodo crítico, 502
- Fotoprotección, 197, 201, 202
- Fotorrespiración, 206, 227, 229, 230, 232, 257, 262, 274, 290, 302
- Fotosensibilidad, 202
- Fotosíntesis
 aclimatación de la, 260
 anoxigénica, 166
 limitada por
 la actividad carboxilasa de la rubisco, 249
 regeneración de, 221
 rubisco, 221, 249
 oxigénica, 166, 168
 regulación a la baja (*down-regulation*) de la, 260
- Fotosistema(s), 178, 191, 192, 206
 I (PSI), 178, 180-182, 185, 188, 191, 195, 201, 205
 II (PSII), 178-180, 182, 185, 188, 191, 194, 195, 197, 198, 200-205, 235, 306
 rama activa, 179
 rama protectora, 180
 de luz azul, 51
- Fracción
 molar del agua, 27
 de nutrientes, 148
- Freatófitas, 73
- Fructosa
 2,6-bisfosfato, 223, 276
 bisfosfatasa, 223
- Frutos climatéricos, no climatéricos, 279, 281
- Fuente-sumidero (*source-sink*), 144
- Fuentes, 91-94, 98, 101
- Fuerza
 como sumidero, 93
 ion motriz, 123, 124, 132
 Na⁺ motriz, 134
 protón-motriz, 135, 178, 196, 199, 200, 273
- Fusicocina, 127, 135
- Galactanos, 14
- Galactolípidos, 9, 175, 177
- Galacturonanos, 13
- Gases de efecto invernadero, 260
- Gating, 132
- Gen(es)
 AGAMOUS, 511
 antisentido, 408, 452, 568, 610-611
 APETALA, 510, 511, 512
 ARR-tipo A, 439
 AUX/IAA, 394
 BODENLOS (BDL), 358
 CLV1-3 (clavata1-3), 364
 CONSTANS (CO), 100, 475, 505
 CRY, 611
 FLOWERING LOCUS C, 509
 FLOWERING LOCUS T (FT), 100, 505, 507
 FPF1, 410
 FRIGIDA, 509
 GH3, 394
 GIGANTEA, 505
 GNOM (GN), 358
 HD1, 505
 HD3a, 505
 homeóticos, 406, 417, 512-513
iaaH, 601
iaaM, 601
 inducibles por el ABA, 71
 KNOX, 364, 406
 LEA, 548
 LEAFY, 100, 410, 507, 511
 marcadores, 604, 605
 MONOPTEROS (MP), 358
 NAC1, 368
 NCED, 587
nif, 306, 313
nod, 309
 PIN, 368

- PISTILATA*, 512
PLETHORlethorA (PLTt1/PLTt2), 368
 proteína de la cápsida, 612
 quimérico, 604
rbcL, 219
rbcS, 219
RD29A, 586
RSG, 406
SAUR, 394
SHO, 433
SHORTROOThortroot/SCAREcrowrow (SHRhr/SCRr), 368
SPY, 414, 440
STM (ShootmeriStemleSS), 364
 virulencia, 602
VRN1, 510
WUS (wuschel), 364
 Genoma cloroplástico, 178, 185, 186
 Geófitas, 73
 Germinación de las semillas oleaginosas, 274, 275
 Ginsenosidos, 328
 Glicanasas, 15
 Glicerolípidos, 5, 6, 9, 175, 177
 síntesis de, 9
 Glicina descarboxilasa, 230, 231
 Glicófitas, 75
 Glicolato oxidasa, 230
 Glicolípidos, 5-7
 Glicoproteínas, 14
 Glicosiltransferasas, 17, 18
 Glioxisomas, 274
 Globulinas, 541-543
 Glucanasas, 550, 572, 583
 Glucano mixto, 12
 síntesis de, 18
 Glucólisis, 265, 267, 268, 275, 276, 284, 285
 Gluconeogénesis, 274, 276
 Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, 271, 277
 Glucósidos, 324
 cardiotónicos, 329, 330
 Glucuronidasa, 604
 Glucuroarabinosilanos, 11, 12
 Glucuronosilanos, 11
 Glutamato
 deshidrogenasa, 290, 314
 sintasa (GOGAT), 291, 292, 302, 314
 Glutamina, 292, 295, 303, 315
 sintetasa (GS), 291, 292, 302, 303, 314
 Glutación, 129, 297, 299, 301, 303, 373, 381, 586
 reductasa, 299, 300, 586
 GMP, segundo mensajero, 115, 116
 Gradiente
 de concentración, 42
 electroquímico, 47
 de potencial
 electroquímico, 124, 125, 133, 134, 141
 hídrico, 34, 35, 39, 47, 57, 63, 66, 134
 de presión de vapor, 42
 de protones o protónico, 188, 200, 271, 284
 Gutación, 61
 H⁺-ATPasa, 7, 47, 126-128, 130, 135, 138
 del plasmalema (tipo P), 7, 47, 126-128, 130, 135
 de la vacuola (tipo V), 128
 H⁺-ATP hidrolasa, 7
 Halófitas, 75, 76, 582
 Hemibiotrofia, 580
 Hemicelulosas, 11, 16
 Hemoglobinas, 307
 Hemoproteínas, 111
 Herbicidas, 379
 Heterocistos de cianobacterias, 113, 118, 306, 307
 Heterogeneidad
 de la conductancia estomática, 53, 70
 del cierre estomático, 54
 Hexoquinasa, 261, 267
 Hibridación somática, 600
 Hidrofilia, 520
 Hidrófitas, 577
 Hidrólisis del agua, 179
 Hidrogenasa, 118, 306, 315, 316
 Hiponastia, 491
 Hipótesis
 de Cholodny-Went, 487
 de Munch, 98
 quimiosmótica, 387-389
 Hipoxia, 280, 281, 451, 570, 583-588
 Hojas homobáricas y heterobáricas, 54
 Homeostasis, 377
 Homogalacturonano, 13
 Hormona floracional, 100
 HPLC, 381, 382
 Humedad relativa del aire, 28, 52
 Imbibición, 547-551
 Inactivación suicida, 446
 Incremento respiratorio, 530
 Índice
 biológico, 143
 de cosecha, 143, 145
 de madurez, 530
 Indolacético oxidasa, 115
 Ingeniería genética, 599
 Inhibidores
 del desarrollo, 450, 523
 de proteasas, 588
 de la respiración, 137, 272, 281
 del transporte polar, 366, 389, 434
 Intervalos de suficiencia de nutrientes, 147
 Inversión del espín, 170
 Invertasa, 267
 de pared, 97
 Ion motriz, 133, 134
 Isopentenil
 difosfato, 324, 325
 transferasa, 426-428
 Isopreno, 171, 218
 activo, 325
 Isoprenoides o terpenos, 218, 324, 325, 453
 Lactato deshidrogenasa, 552
 Lamelas
 apiladas, grana, 174-176, 178, 200
 no apiladas, estromáticas, 174-176, 178, 200, 201
 Lámina media, 9, 20
 Lectinas, 85, 309, 542
 Leghemoglobina (Lb), 316-318

- Lenticelas, 41
- Ley
de Fick de la difusión, 42, 228
de Hagen-Poiseuille, 62
- LHC, *Light Harvesting Complexes* (véase Antenas), 167, 178, 182, 253
LHCI, 178, 181, 182, 191
LHCII, 178, 179, 182, 191, 200, 204
- Lignanos, 332, 337
- Lignina(s), 16, 20, 21, 324, 332, 333, 337, 377, 524, 545, 571, 594
- Lipasas, 460, 553, 583
- Lipooxigenasa, 318
- Lipo-quitina-oligosacáridos o factores Nod, 309, 310
- Lisímetros, 44
- Lixiviación, 106
- Lluvia ácida, 118, 159, 584
- Lumen, 175, 176, 178, 188, 199
- Macroelementos, 105, 120
- Macronutrientes, 104, 105, 149, 150
- Malato, 267, 270, 275, 314
deshidrogenasa dependiente de NAD⁺, 238, 267
- Mananos, 12
- Mangles, 281
- MAP-quinasa, 372, 393, 579, 590
- Marchitez, 30
incipiente, punto de, 53
permanente, porcentaje de, 33
- Mecanismo(s)
antioxidantes, 75
hidropasivo/hidroactivo, 46
- Membrana(s), 4, 5
asimetría en las, 7
externa mitocondrial, 270
grado de insaturación, 22
interna mitocondrial, 270
permeabilidad, 7, 130, 258
plasmática, 4
del simbiosoma o simbiosomal, 314
temperatura de cambio de fase, 6, 22
tilacoidal, 174, 176
vegetales, 5
- Mensajeros secundarios, 391, 393
- Meristemo
apical, 356-362, 431, 450, 499, 500, 509, 510, 570
axilar, 359, 500
floral, 410, 436, 500, 511
- Mesófitas, 43, 577
- Metabolismo
ácido de las crasuláceas (CAM), 51, 238-240
inducible, 240
del ácido glicólico o del glicolato, 227, 230
primario y secundario, 323
- Metabolitos
primarios, 323
secundarios, 323
- Metales pesados, 156, 159, 164
complejos con, 300
- Metalotioneínas, 585
- Metámero, 358-360, 499
- Método(s)
de cuantificación del flujo xilemático, 62, 63
de detección acústica de la cavitación, 65
DRIS (*Diagnosis and Recommendation Integrated System*), 147, 148
de intercambio de gases, 44, 45
del intervalo de suficiencia, 147, 163
del nivel crítico, 147, 163
- Micorrizas, 108, 137, 151, 154-156, 164
arbusculares (MA), 156, 157
vesículo-arbusculares (VA, VAM), 154, 156
- MicroRNAs, 91, 100, 366, 415, 416, 580
- Microelectrodos, 130, 131
- Microelementos, 105, 120
- Microfibrillas de celulosa, 9-11, 16, 17, 19-21, 29, 46, 392, 416, 462
- Microinyección, 608
- Micronutrientes, 104, 110, 111, 119, 149, 150, 151, 161
- Microproyectiles, 608, 609
- Microtúbulos, 408, 450
- Microviscosidad, 586
- Mitocondrias, 230, 270, 318
origen endosimbótico de las, 187
- Modelo ABC, 512
- Módulo de elasticidad, 74, 79
promedio de la célula, 30, 32
- Monoterpenos, 325, 326
- Movilización de nitrógeno orgánico, 297
- Movimientos rítmicos, 483
- Muerte celular programada, 435
- Mutaciones homeóticas, 512
- Mutantes
de auxinas, 390
de citoquininas, 434-440
cop, 476
dad, 434
det, 476
fab, 583
fad, 583
de giberelinas, 406, 407
max, 434
miniatura, 540
ramous, 434
slender, 407
sit, 547
stm, 364
superproductores de citoquininas, 436
topless-1, 356
vp1, 547
- NADH deshidrogenasa(s), 114, 271, 272, 277, 282
alternativas, 272, 273
sensible a inhibición por rotenona (complejo I), 271, 272
- Necrosis, 107, 146, 160
- Necrotrofia, 580
- Neomicina fosfotransferasa, 604
- Neumatóforos, 281
- Nicotina, 339, 341
- Nitrato reductasa (NR), 114, 288, 289, 294, 302, 319
fosforilación reversible de la, 290
regulación postraduccional de la, 290
- Nítrito reductasa (NiR), 184, 288, 289, 294, 298, 302, 303
- Nitrogenasa, 114, 305, 306, 312, 313, 315-317
eficiencia relativa de la, 315
- Nivel crítico de un nutriente, 147, 163

- NO sintasa, 319
 Nodulación, 309, 310, 319
 Nodulina, 317
 Nódulo(s)
 de crecimiento
 determinado, 311, 312, 315
 indeterminado, 311, 312, 315
 de leguminosas, 308, 309, 312, 315, 316, 318
 senescencia en los, 319
 Nutriente mineral, 104, 143, 147
- Oligoelemento, 110, 120
 Oligosacáridos, 96
 Oligosacarinas, 10
 Operones, 602
 nif, 313
 Opinas, 601
 Organismos diazotrofos o fijadores de nitrógeno, 306, 307
 Ornitina descarboxilasa, 459
 Ornitofilia, 520
 Ortogravitropismo, 487, 488
 Oscilación libre, 494
 Osmoprotectores, 593
 Osmorregulación, 68, 74
 Ósmosis, 34
 Osmotina, 76, 456, 588
 Oxidasa(s)
 alternativa (AOX), 272, 273, 277, 280, 282
 terminales de los bacteroides, 317
 Óxido nítrico (NO), 319
 sintasa, 319
 Oxigenación, gasto energético de la, 233
 Oxigenasa, rubisco, 206, 229, 230
 Ozono, 584
- P_{18} -ATPasas, 128, 139
 PAR, 50, 54
 Parásitos, 160, 161
 Pared celular, 4, 7, 9, 10, 16, 30, 66
 y boro, 115
 primaria, 9, 11, 16, 17, 19, 20
 secundaria, 9, 20
 Partenocarpia, 391, 411, 523, 528, 612
 autónoma, 501, 523
 estimulada, 523
 Partición de fotoasimilados, 93
Patch-clamp, 131, 132, 138
 Patógenos y embolias xilemáticas, 65
 Pectato liasa, 568
 Pectinas, 11, 13, 14, 19, 20
 síntesis, 18, 22
 PEP carboxilasa, 48, 50
 Periodo de polinización efectiva, 522
 Permeabilidad de las membranas, 7, 130, 132, 258
 Permeasas, 126
 de purina, 432
 Peroxidasa, 385, 586
 Peroxisomas, 230, 231, 274, 275, 318
 PGA quinasa, 267
 Pigmentos fotosintéticos, 182, 191
 Pirenoide, 241, 242
 Pirofosfatasa de la vacuola, 128
- Piruvato, 265, 267, 270, 276
 deshidrogenasa, 275, 277
 fosfato diquinasa (PPDK), 234, 236, 239
 quinasa, 276
 Placas cribosas, 83, 84, 85
 Plagas, 161, 162, 164
 Plantas
 acidófilas, 158
 actinorrícicas, 306, 307
 basófilas, 158
 C3, 228, 232, 233, 236-239, 241-243, 248-253, 257
 C4, 228, 232, 233, 236-238, 241-243, 248-253, 257
 C4, tipo NAD-ME, 236
 C4, tipo NADP-ME, 235, 236
 C4, tipo PCK, 236
 calcícolas, 158
 calcífugas, 158
 CAM, 49, 73, 228, 238, 239, 241-243, 248, 249
 inducibles, 243
 de día corto y largo, 502, 503, 508
 freatófitas, 73
 geófitas, 73
 glicófitas, 75
 halófitas o halófilas, 75, 76, 158
 hidroestables o isohídricas, 53, 66
 hidrolábiles o anisohídricas, 53, 66
 homeohídricas, 74
 micorrizadas, 156
 neutras al fotoperíodo 405, 502
 poiquilohídricas, 74
 que "resucitan", 74
 en roseta, 408
 de sol o heliófilas, 251-253
 de sombra o esciófilas, 251-253
 terófitas, 72
 transgénicas, 368, 390, 399, 408, 434, 447, 473, 501, 533, 539, 599
 xerófitas, 72, 73
 Plasmalema, 4, 123, 127, 130
 actividad reductora del, 136
 sistemas redox del, 136
 Plásmido Ti, 600
 Plasmodesmos, 5, 61, 85, 87, 90, 91, 94, 96, 137, 233, 237
 Plasmogamia, 521
 Plasmólisis, 29, 30, 39
 incipiente, 29
 Plastocianina, 113, 129, 180-183, 196
 Plastoquinona/plastoquinol, 175, 183, 195, 197, 199, 200, 325, 330
 Plastos o plastidios, 8, 9, 84, 318
 Polaridad del embrión, 356
 Poli- β -hidroxibutirato, 312
 Policétidos, 324, 334
 Polifenoles, 330, 331
 Poligalacturonasa, 531, 568, 610
 Poliisoprenoides, 330
 Poliploidía, 545
 Polisacárido-sintasa, 17
 Polisacáridos
 estructurales, 17
 hemicelulósicos, 12, 22
 de la pared, 10-12
 pécticos, 13, 14, 16

- Politerpenos, 325, 330
 Porcentaje de marchitez permanente, 33
 Porina, 174, 270
 Poro estomático, 46
 Potencial
 de difusión, 129, 130, 141
 foliar, 53, 63, 67, 69
 hídrico, 27, 28, 31-33, 36, 43, 47, 66, 67, 70, 98, 392, 484, 526, 549, 582, 593,
 hídrico del suelo, 33, 68, 69, 71
 mátrico o matricial, 28, 29
 de membrana, 123-125, 127, 130, 133, 135, 141
 de Nernst, 123-125, 133, 141
 osmótico, 27-29, 36, 69
 de presión, 29, 36, 39
 químico del agua, 27
 Presión
 osmótica, 27
 radical o de raíz, 61, 62, 65, 66
 de turgencia, 19, 20, 22, 29, 46
 Primera curvatura negativa y positiva, 486
 Productos finales de la fotosíntesis, 216, 224
 Prolina, 74
 Promotor
 35S, 604
 NOS, 604
 Proteasas, 290, 412-415, 456, 554, 565, 588
 Protección fotodinámica, 203
 Proteín
 -fosfatasas, 388,
 -quinasas, 371, 449, 585
 Proteína(s)
 AFP, 583
 AHP, 438
 ancladas en la membrana, 5
 anticongelantes, 583
 -arabino-galactano, 14
 BES1, 462
 BZR1, 462
 catabolismo de, 290
 CBP, 437
 de choque, 76
 de choque térmico, 590
 COR, 583
 CTR, 449
 D1, 179, 195, 198, 201, 203, 204, 412
 de especialización, 323
 DELLA, 413
 desacopladoras (*uncoupling proteins*, UCPs), 273, 277, 282
 ELIP, 584
 EIN2, 449
 estructurales de la pared, 14
 G (GPCR), 373
 GAI, 413, 587
 HSP, 590
 integrales de membrana, 5
 IPT, 427
 LEA, 456, 545-548, 593
 LHCII, 584
 de membrana, 6
 P (floemática), 84, 88, 90, 99
 periféricas de membrana, 5
 PR, 583
 RGA, 413
 RGL1, 413
 RGL2, 413
 RGL3, 413, 587
 ricas en hidroxiprolina, 14, 15, 20, 21
 sulfoféricas, 113
 de unión a auxinas (ABP-1), 372, 393
 de unión a citoquininas (CBP), 437
 Proteosoma 26S, 352, 358, 368, 395, 414, 462, 470, 476, 505, 549, 589
 Protoalcaloides, 345
 Protoplasto, 4, 9, 22, 29, 131, 393, 432, 458, 521, 600, 605, 608
 Pseudoalcaloides, 346
 Psicrometría, 31
 Psicrómetro de termopares, 30
 Puentes
 de hidrógeno, 25, 26
 de isoditrosina, 19-21
 Pulvínulo, 482, 491, 495
 Punto
 de compensación de
 calor, 257
 CO₂, 250, 251, 262
 luz o luminoso, 253
 de marchitez permanente, 53
 de saturación luminoso o de luz, 253, 584
 Putrescina, 458,459

 Quelante, agente, 88, 151, 152
 Quelatasa, 457, 565
 Quelatos, 111, 139, 151, 152, 163
Quenching o atenuación de la fluorescencia, 255, 256
 Quinasas
 asociadas a la pared (WAKs), 15
 dependientes de ciclinas, 352

 Radiación
 fotosintéticamente activa (PAR), 50, 54, 166, 252, 253
 solar, 165
 Radical superóxido, 71, 113
 Radicales
 libres, 71, 75
 de oxígeno, 75
 superóxido, 160
Rafts, 7
 Raíces
 adventicias, 353, 390
 asfixia de las, 281
 laterales, 58, 60
 micorrizadas arbusculares (MA), 154
 principales, 58, 59
 Ramnogalacturonano, I (RG I) y II (RG II), 13, 14, 115
 borato-, 115, 116
 Reacción
 de Hill, 168
 de Mannich, 339, 340
 de Mehler, 206, 207, 254
 Receptores hormonales, 371, 381, 448
 ABP1, 393
 AHK, 438

- CRE1, 438
 ETR1, ETR, ERS, 448, 449
 FCA, 457
 GID1, 374, 412
 TIR1, 374, 393
 WOL, 438
 Red de Hartig, 154, 155, 164
 Redistribución hidráulica, 61
 Reducción
 del carbono, 213
 del nitrato, 290
 de sulfato, 301
 Regeneración de RuBP, 213, 215, 217, 262, 263
 fotosíntesis limitada por, 221, 250, 263
 Región *vir*, 602
 Regulador negativo, 414-416, 440, 448, 476
 Rejuvenecimiento, 562
 Relación
 raíz/parte aérea, 70
 rojo/rojo lejano, 468-471, 473, 477
 Relajación de la vibración, 169
 Rendimiento cuántico, 253
 efectivo, 255
 fotoelectroquímico, 202
 del PSII, 255, 256
 Reparación, sistemas de, 203
 Resinas, 327
 Resistencia
 de la capa límite o capa estacionaria, 43, 248
 al cianuro, 273
 cuticular, 43, 73
 difusiva, 42
 estomática, 43
 foliar, 43, 248
 hidráulica del suelo, 68
 del mesófilo (r_m), 228, 249
 a plagas y enfermedades, 160
 sistémica adquirida, 581
 variable a la difusión de O_2 en nódulos, 316, 319
 Respiración
 de crecimiento, 282
 específica, 278-280
 de frutos climatéricos y no climatéricos, 279
 a la luz, 257
 de mantenimiento, 282
 nodular, 319
 resistente al cianuro, 273
 Respuesta(s)
 a altas irradiancias, 473
 a bajos flujos, 472
 defensiva de la planta, 319
 de la fotosíntesis neta a la luz, 259
 hipersensible, 580, 585
 a la temperatura, 258, 262
 Retardadores del desarrollo, 417
 Retículo endoplasmático, 8
 Resveratrol, 333, 334
 Ribulosa-1,5-bisfosfato (RuBP), 212
 carboxilasa/oxigenasa (RuBisCO), 213, 214, 231
 Ritmo circadiano, 475, 502-505
 Rizobios, 308, 309
 Rizosfera, 151, 309
 Rizovaina, 57, 59, 61
 RNA polimerasa, 114
 ROS, 317-319, 584, 591
 Rotación de los cultivos, 153
 cereal-leguminosa, 320
 Rubisco, 45, 50, 54, 213, 219, 220, 222, 228, 229, 243, 249, 257, 261, 263
 activación de la, 219-222
 activasa, 219, 221, 222, 258, 263
 actividad oxigenasa de la, 229, 230, 232, 234
 constante de Michaelis-Menten (K_M) de la, 221
 fotosíntesis limitada por, 221
 limitación por, 221, 241, 250
 número de recambio o constante catalítica (k_{cat}) de la, 221
 propiedades cinéticas de la, 230
 Ruta(s)
 del acetato-malonato, 324
 del acetato-mevalonato, 324
 del ácido siquímico, 324, 334, 335, 336
 apoplástica, 94
 C4, 235
 de degradación proteolítica, 588
 glucolítica, 314
 de los policétidos, 334, 335, 336
 simplástica, 94
 de transducción de la señal, 371
 o vía apoplástica, 35
 Sacarosa, 86, 89, 91, 95, 216, 218, 267, 313
 degradación de, 265, 267
 fosfato sintasa (SPS), 216, 218, 223, 224, 290
 sintasa, 267, 313, 314
 síntesis de, 218, 223, 224, 250, 259
 transportador de, 91, 95
 Salinidad, 75, 156-158, 164, 456, 532, 573, 578-587
 Saponinas
 esteroídicas, 329
 triterpénicas, 328
 Secuestro de carbono, 261
 Segundos mensajeros, 371, 373
 Seismonastia, 494
 Sellado, 131
 Semillas
 ortodoxas, 544-548
 recalcitrantes, 544-548
 Senescencia
 en los nódulos o nodular, 319
 monocárpica y policárpica, 563
 Separación de carga, 179, 193
 Sesquiterpenos, 325-327
 Sequía, 72
 por congelación, 76
 escape a la, 72
 osmótica, 75
 en el suelo, 37, 68
 Si-RNA, 91
 Silenciamiento génico, 613
 Simbiosis
 cianobacteria-*Azolla*, 153, 164
 fijadoras de nitrógeno, 308
 Frankia-no leguminosas, 153, 163
 Rhizobium-leguminosas, 153, 158, 163

- Simbiosoma, 115, 312, 314
 Simplasto, 4, 22, 97
 Sincronizador, 494
Single-cell C4 photosynthesis, 241
 Singlete (S), 169, 170
 excitado, 253
 Síntomas visibles
 de alteraciones nutricionales, 146
 de deficiencia, 107, 163
 Sirohemo, 289
 Sistema(s)
 endomembranoso, 8
 integrado de diagnóstico y recomendación (DRIS), 148
 simbióticos, 153, 163
 Sistemina, 461, 581
 Sitios de acoplamiento, 199
 Skoog-Miller, modelo de, 433
Soil-plant-atmosphere continuum (SPAC), 37, 38
 Sólidos solubles, 530
 Soluciones nutritivas, 104-106, 120
 Solutos compatibles, 74
 Sonda de presión, 31, 32
 SPAC (*soil-plant-atmosphere continuum*), 37, 38
 Suberina, 20, 21, 234, 338, 571, 594
 Suberización, 571
 Succinato deshidrogenasa (complejo II), 271, 272, 275, 277
 Succinil-CoA sintasa, 271
 Suelo
 escasa aireación del, 68
 resistencia hidráulica del, 68
 sequía en el, 68
 temperatura baja del, 68
 Sulfito reductasa, 298
 Sulfo-ferro proteínas, 111
 Sulfolípidos, 175, 177
 Sumideros, 91-94, 96, 98, 101, 224
 biológicos del CO₂, 261
 Superóxido dismutasa, 113, 114, 206, 318, 319, 586
 Sustancias alelopáticas, 323, 331, 332, 339
 Sustratos respiratorios, 265, 274, 278

 Taninos, 324, 332, 337
 Taponamiento de las placas cribosas, 99
 Tasa(s)
 de carboxilación neta, 228
 de crecimiento, 278, 282
 de fotosíntesis, 224, 228, 247, 249, 252, 259, 260
 global fotosintética, 202
 de respiración específica, 278-280
 respiratoria(s), 278-281
 de los bacteroides, 317, 318
 transpiratoria, 54
 Taxol, 345, 346
 T-DNA, 429-430, 434, 438, 600-609
 Temperatura,
 de cambio de fase de las membranas, 6, 22
 baja del suelo, 68
 foliar, 52
 Tensión en el xilema, 52, 63
 Teoría
 endosimbionte, 187, 188
 quimiosmótica, 199
 de la tensión-cohesión de agua, 63
 Terófitas, 72
 Terpenos o isoprenoides, 218, 324
 Tetraterpenos, 325, 326, 330, 401
 Tiempo de presentación, 488
 Tigmotropismo, 484
 Tilacoides, 174, 176, 201
 Tioninas, 588
 Tiorredoxina, 223
 Tocoferol, 175
 Tolerancia
 a la desecación, 456, 545, 548
 al estrés hídrico, 72
 al frío, 590
 a plagas y enfermedades, 160, 610
 Tonoplasto, 28, 128, 416, 489, 563, 585
 Topolinas, 424
 Totipotencia, 353, 433, 599
 Toxicidad iónica, 156, 164
 Transducción
 de energía, 193, 201
 de la señal hormonal, 369, 393, 448
 de señales, 136, 371, 374, 421, 461, 538, 590
 Transferencia excitónica (TE), 170, 192, 194
 Transformación genética, 433, 600
 Transglucosilasas, 15
 Transición de sumidero a fuente, 91
 Translocación de protones, 197
 Translocador de fosfato, 216, 218, 224
 Transpiración, 41, 42, 44, 53, 57, 63, 67, 68, 73
 cuticular, 43
 estomática, 43
 Transportadores (*carriers*), 126, 131
 ABC, 129, 314
 de potasio, 109, 138
 Transporte
 activo, 123, 125
 activo secundario, 48
 bidireccional en el floema, 93, 94
 a corta distancia, 35
 electroforético, 131
 a larga distancia, 35
 pasivo o difusivo, 123, 125, 126
 polar, 354, 357, 386-391, 434, 487
 primario, 126
 Traqueida, 62, 63
 Triosas fosfato, 275
 Triple respuesta, 445
 Triplete, 170
 Triterpenos, 325-328
 Tubo(s)
 cribosos, 82, 83, 85, 87, 90, 91, 94, 96, 98, 99
 polínico, 355, 520-523
 Turgencia, 26, 53, 69
 celular, 32
 plena, 26, 33
 Turgorinas, 495, 496
 Ubiquinona/ubiquinol, 272, 277, 325, 330
 Ubiquitina, 352, 394-395, 413-414, 470, 567, 588-590
 Ubiquitinación, 374, 449

- Ubiquitinización, 394, 414, 590
Ureasa, 118
Ureidos, 118, 315
Uricasa, 565
- Vacuola, 8, 28, 29, 128, 131, 238
Vaina del haz, 83
Vasos, 62, 63
Vector de transformación, 603
Vegetales acuáticos, 240, 241
Vernalina, 509
Verticilo, 359, 510-512, 567
Vesículas, 157
Vía(s)
 alternativa, 272, 273, 281, 285
 apoplástica, 60
 cíclicas, 196
 citocrómica, 272, 281, 285
 glucolítica, 274, 275
 de oxidación de las pentosas fosfato, 265, 268, 271, 274, 275, 277
 simplástica, 60, 137
 transcelular o transmembranosa, 60
Viviparismo, 456, 546
- Volumen
 celular, 30, 32, 39
 molar del agua, 27
Wall-associated kinases (WAKs), 15
- Xantina oxidasa, 565
Xantofilas, 171, 255, 330, 453, 584, 586
Xenobióticos, 300, 381, 584
Xerofilia, 72
Xerófitas, 43, 72, 73, 582
Xilanos, 11
Xilema, 62, 64
 congelación del, 65
 exceso de, 65
Xilogalacturonano, 14
Xiloglucano 11, 12, 16-19
 -endotransglicosilasas (XETs), 19, 20
 -endotransglicosilasas-hidrolasas (XTHs), 15, 16
- Zarcillos, 461, 483-485
Zeatina reductasa, 427-428
Zeaxantina, 49-51, 171, 172, 256
Zona de abscisión, 369, 525, 571
Zoofilia, 520

