

FISIOLOGIA VEGETAL

INTRO

La fisiología explica el funcionamiento de las plantas y se relaciona con otras muchas cosas como la botánica, la bioquímica, la genética, las matemáticas, la agronomía, la biología molecular, la edafología, la histología, la ecología, etc.

Las plantas son organismos autótrofos que transforman la Energía solar en Energía química que permitirá en última instancia la fotosíntesis de compuestos orgánicos.

Las plantas no se mueven, crecen permanentemente y se asocian a otros organismos para la obtención de nutrientes, la reproducción y la dispersión de nuevas generaciones.

TIPOS DE FOTOSINTESIS

La Bacteriorrodopsina es una molécula fotosintética que tienen las arqueobacterias halófitas

La Clorofila es una molécula que poseen algunas bacterias y las plantas superiores únicamente. Las bacterioclorofilas pertenecen a las bacterias rojas y verdes y a algunas heliobacterias. Estos organismos solo pueden hacer fotosíntesis anoxigénica. Las clorofilas verdaderas (sistemas completos) son únicas de cianobacterias, algas y plantas y les permiten hacer fotosíntesis oxigénica.

Las clorofitas tienen ciclo de Calvin, donador H₂O, Quinonas, Feocitina, Complejos Fe-S, etc., la fotosíntesis ocurre en Tilacoides y cloroplastos y tienen clorofila a, ficobiliproteínas, etc.

UN POCO DE HISTORIA

Fósiles de cianobacterias son de hace 3,5 millones de años (estromatolitos más antiguos...)

Geológicamente, la fotosíntesis oxigénica ocurrió hace unos 2500 millones de años (se ve en el aumento de la proporción de rocas minerales hidratadas en esa época)

El salto a la tierra es en el silúrico, pero los briófitos están en el devónico recién

EL PASO A LA TIERRA

En la tierra hay fundamentalmente más LUZ, MATERIA, CO₂, MINERALES, O₂ (todo esto muy bueno) – pero FALTA H₂O (el donador fotosintético!!!)

Por lo tanto, la evolución de las plantas terrestres estará marcada por la necesidad de acaparar la mayor cantidad de agua posible. El equilibrio hídrico y la protección frente a la desecación serán los objetivos primarios.

UN ALGA

Obtiene el porte erguido que se precisa para la luz mediante la FLOTACIÓN

Todas las células están en continuo contacto con el AGUA

Se anclan a rocas para no caerse mediante MUCUS

UNA PLANTA

Crea raíces para recoger agua y minerales del medio

Sus partes aéreas tienen abundante transpiración ya que el aire no es húmedo generalmente y se pierde H₂O

(se adaptan de varias formas para evitar esa transpiración sin bloquear el ingreso del aire)

Los tallos conectan las partes y le permiten estar erguida mediante las paredes de celulosa mejoradas

TEMA 2: GENERALIDADES SOBRE LAS CELULAS VEGETALES

- Organos principales: VACUOLA, PLASTOS, PARED CELULAR
- Se considera que una planta está formada por PROTOPLASTOS unidos por PAREDES CELULARES

PARED CELULAR

Su existencia y conexión influye en la morfogénesis haciendo que de ello dependan los planos de la división celular (en los animales la morfogénesis depende de los movimientos celulares)

El movimiento de fluido por el espacio continuo de las Paredes celulares (apoplasto) para que no tenga que pasar por el protoplasto. El espacio continuo que conecta los protoplastos se llama simplasto

PLASMONEMA

Es la membrana plasmática constituida por Hidrocarburos, Proteínas, Lípidos, Proteínas periplásmicas

La bicapa tiene menos esteroides y más glicolípidos y ácidos grasos insaturados que en animales

Los ácidos grasos dan fluidez en las células y por ello todas las plantas son POIKILOTERMAS.

La regulación del potencial de membrana en animales funciona mediante la bomba de sodio potasio donde el permite el acople con muchos procesos de transporte activo. En vegetales funciona la bomba de protones – ATPasa. El Potencial animal está en -70 mV, pero el vegetal está mucho más abajo, en -130 mV. El citoplasma se encuentra cargado muy negativamente. Esto es porque no solo se sacan cationes hacia afuera, sino porque existen muchas moléculas de carga negativa que se acumulan para esto.

NÚCLEO

Con su doble membrana, cromosomas, etc. como el de cualquier célula. La mayor diferencia está en que el tamaño del genoma varía ampliamente. Cuanto más grande es una planta, más cantidad de genoma suele tener.

Un tercio de los genes vegetales existen también en animales. Hay más intrones que en animales. Muchos genes duplicados. Escaso splicing alternativo. Muchos transposones (masomenos igual que en animales).

SISTEMA VACUOLAR MEMBRANAL (REL, REG, Golgi)

El REL acumula lípidos y aceites. El RER acumula los cuerpos proteicos. El Golgi está muy desarrollado porque casi todos los polisacáridos, menos la celulosa, se sintetizan en él (abundan en la PCelular)

Las vacuolas en conjunto forman el TONOPLASTO. El potencial de sus membranas está regulado por una única proton-atpasa "diferente" de la de MP y de la de los plastos. Los protones van DEL CITOSOL al INTERIOR VACUOLAR. El PH de la vacuola es de 5,5 y su potencial es de -90 mV (cargado positivamente respecto del citosol).

Son fundamentales en el papel de mantener la osmosis celular y por lo tanto, mantiene erguida la planta. También son esenciales en la acumulación de iones y solutos (los que hacen que el agua entre en la vacuola y la turgencia celular aumente). Los tejidos de reserva acumulan en ellas diferentes lípidos y sustancias de reserva. Los tejidos vegetativos acumulan metabolitos, toxinas, desechos celulares, pigmentos antociánicos...etc.. y fundamentalmente sirven para mantener la planta turgente y erguida.

MITOCONDRIAS

Son fundamentales en las plantas por su papel fundamental en el metabolismo celular. El ciclo de Krebs, es fundamental, la cadena respiratoria, etc. Son fundamentales en luz y en oscuridad.

LA DIFERENCIA FUNDAMENTAL ENTRE MITOCONDRIAS ANIMALES Y VEGETALES SE ENCUENTRA A NIVEL DE CADENAS DE TRANSPORTE (el resto del metabolismo es masomenos igual)

LAS MITOCONDRIAS NO PRODUCEN ATP, NO GENERAN GRADIENTES DE PROTONES, PERO SI OBTIENEN NADH. PARA ELLO EL NADH ENTRA DESDE EL CITOPLASMA. UNA OXIDASA ALTERNATIVA LO USA PARA GASTAR O₂ Y GENERAR AGUA!!!!

PLASTOS (plastidios)

Diferentes tipos, todos ellos interconvertibles entre sí:

- Cloroplastos: fotosintéticos
- Otros tipos de plastos:

El origen de todos los plastos está en los proplastos: en las células meristemáticas indiferenciadas. Todos los plastos se van a diferenciar a partir de los proplastos. Ellos no tienen tilacoides ni clorofila.

En las zonas verdes de la planta, las células parenquimáticas expuestas, esos proplastos se convierten en cloroplastos. Pasan por algunos estadios intermedios (diferenciación de ciertas membranas, síntesis de elementos clorofílicos, etc.).

Si un cloroplasto que está diferenciándose, o uno maduro, se coloca en oscuridad TOTAL durante varias horas, se va a transformar en un Etioplasto. Estos están diferenciados por tener una masa tubular llamada CUERPO PROLAMELAR. En cuanto un etioplasto se ilumina, se transforma en un cloroplasto nuevamente. Ojo: es un artificio de laboratorio. No sabemos si eso sucede en condiciones naturales.

Plastos de acumulación: AMILOPLASTOS (almidón acumulado en vacuolas gigantes), CROMOPLASTOS (carotenoides, xantofilas, y otros isoprenoides acumulados en pequeñas vesículas– dan color a frutos, hojas, flores, etc.)

TODOS LOS TIPOS DE PLASTOS ESTÁN INTERCONECTADOS – pueden transformarse unos en otros

dependiendo de las condiciones (simulables en el laboratorio) – Esto nos permite ver que son orgánulos relacionados ("hermanos") por lo menos fisiológicamente.

ES MUY RARO QUE EN LA NATURALEZA CAMBIEN DE UN TIPO A OTRO

CLOROPLASTOS

Son los más importantes para la vida vegetal. Son fundamentales para los procesos fotosintéticos.

Tienen 3 tipos de membranas: Ext, INT, y Membranas tilacoidales....

En las membranas tilacoidales tiene lugar la FASE LUMINICA de la fotosíntesis.

PEROXISOMAS

Membrana sencilla

Son orgánulos en cuyo interior se almacenan sistemas enzimáticos que generan agua oxigenada (oxidasas flavínicas – una familia de sistemas). Esa agua oxigenada es tóxica para la célula. Por ello están enclaustrados en peroxisomas. Allí también se encuentran la CATALASA que se ocupa de transformar el H₂O₂ en Agua y Oxígeno. De esa manera la célula no se ve perjudicada por la reacción de las oxidasas flavínicas.

El peroxisoma participa en la fotorrespiración (es ahí donde actúan las flavooxidasas). El cloroplasto inicia el proceso, sigue en el peroxisoma, va a la mitocondria, vuelve al peroxisoma y termina nuevamente en el cloroplasto (es una ruta cíclica). Sin peroxisoma, NO HAY FOTORRESPIRACION!!! Las flavooxidasas son FUNDAMENTALES.

GLIOXISOMAS

Son unos orgánulos abundantes en las semillas de plantas oleaginosas. Normalmente están al lado de los cuerpos oleosos (vesículas del REL). En ellos se desarrolla la ruta metabólica del ciclo del ACIDO GLIOXÍLICO. Es una variante para el ciclo de Krebs. Comparte muchas enzimas con el ciclo de Krebs, pero estas se encuentran en el Glioxisoma.

Las grasas de los OB se movilizan y metabolizan por la vía del GLIOXILATO y terminan en mitocondrias para ser transformados en AZUCARES!!! O sea que esto permite el crecimiento de la planta (síntesis de glucosa, celulosa, etc.) SOLO UTILIZANDO RESERVAS LIPIDICAS (es ESENCIAL EN OLEAGINOSAS).

LOS ESQUELETOS CELULARES

Tienen los mismos componentes que las células animales: FILAMENTOS

Hay dos tipos de filamentos (MICROTUBULOS de TUBULINA Y MICROFILAMENTOS de ACTINA)

MICROTUBULOS

La alfa y beta tubulina se unen dando dímeros de tubulina (8 nm de largo). Los protofilamentos son productos de la unión de tubulinas que luego se unen a su vez en forma de escalera de caracol (25 nm de ancho). Esos microtúbulos resultantes se entrecruzan mediante proteínas. Finalmente se obtiene un entramado de proteínas por las que viajan muchos orgánulos, vesículas, etc.

Esos tubulos se van polimerizando y despolimerizando de acuerdo con el momento del ciclo celular en que se encuentre la célula.

La disposición de los microtúbulos es esencial para la morfogénesis celular.

La mayor parte de los microtúbulos están en la zona cortical formando haces paralelos entre sí siempre perpendiculares al eje mayor de la célula (eje longitudinal).

Esa distribución está en relación con la síntesis de la celulosa (ver temas posteriores). **ORIENTAN LA SINTESIS DE CELULOSA.**

Cuando va a empezar la división celular, los microtubulos corticales se despolimerizan en su mayor parte. Solo queda una pequeña banda en la región ecuatorial llamada **PREPROFÁSICA**. Su posición marca el plano ecuatorial de la división (donde estará la placa metafásica). O sea que **MARCA EL PLANO METAFÁSICO**. Por ello, su función es crucial para la división celular.

Una vez comenzada la profase, la banda se desorganiza y empiezan a formarse los husos acromáticos (microtúbulos también). **NO HAY CENTRIOLOS**, por lo que la polimerización tiene lugar a partir de unas zonas **DIFUSAS** que se conocen como **ORGANIZADORES DEL HUSO**, pero que no son centriolos animales. Los cromosomas se dispondrán en la **METAFASE** en el plano marcado por la banda.

Una vez ya se dió la división nuclear tiene que formarse el tabique de separación. El tabique temprano se llama **FRAGMOPLASTO**. Los microtubulos del huso (que quedan desde la metafase...) orientan las vesículas de golgi para la formación correcta del **FRAGMOPLASTO**. Recordar que en vegetales no hay citocinesis por estrangulación, sino por tabicación...

Una vez ya se dió la división celular, los microtúbulos se reorganizan nuevamente en la disposición cortical para ya empezar nuevamente a orientar la **SINTESIS** de **CELULOSA**.

El papel de los microtubulos es entonces crucial para el crecimiento y la división celular. Son fundamentales en el desarrollo celular y por lo tanto para la morfogénesis de la planta.

MICROFILAMENTOS

Son dos protofilamentos de actina enrollados helicoidalmente.

FILAMENTOS INTERMEDIOS

Más estables en la célula que los microtubulos. Son helices que se enrollan a su vez entre sí. Luego se unen en cadenas tridimensionales, muy resistentes.

PLASMODESMOS

Son los puentes de conexión entre los protoplasmas de las células vegetales. Esos plasmodesmos son zonas por las que la MP de las células vecinas se expande, conecta entre sí, atravesando la PCellular. Esas finas perforaciones entonces conectan los citoplasmas de células contiguas.

Varía su disposición según muchas variables (tipo celular, entorno, paredes celulares ...)

Los plasmodesmos están ocupados también por unos sistemas de vesículas y vacuolas que comunican los retículos endoplásmicos celulares y los sistemas de Golgi.

Las Membranas en los plasmodesmos están llenas de proteínas que forman puentes de unión con la membrana del retículo plasmático.

Los plasmodesmos son muy estrechos (20 – 40 nm de diámetro). Aun así, pueden pasar elementos de mayor diámetro que 40 nm. Las partículas víricas pueden pasar! y ellas tienen más de 100 nm!!!

O sea que es una estructura que controla lo que pasa por allí, pero es muy variable.

El agua, la savia y otras soluciones esenciales pasan por ellos. Son una parte constitutiva del sistema de simplastos que comunica los líquidos vegetales esenciales para la vida.

Esos simplastos forman un continuo en toda la planta y permiten transportar compuestos a lo largo de toda la longitud del individuo.

QUIEN CONTROLA LO QUE PASA POR AHI ENTONCES?

LA PARED CELULAR

Estructura que define a las células vegetales frente a las células animales. Lo excepcional es que las células animales no tengan pared. Es mucho más abundante los organismos que tienen paredes celulares (arqueas, bacterias, plantas y hongos, y algas) que los que no las tienen (animales y protozoos).

FUNCIONES y ASPECTOS EN QUE SE INVOLUCRAN

Determinan el volumen y la forma celular

Permiten la elevada presión de turgencia celular (soportan la presión interna)

Expansión necesaria para el crecimiento celular – dependiendo de como se expanda la pared, determina la dirección del crecimiento celular (por lo tanto interviene en la morfogénesis de la PLANTA)

No se pueden dar desplazamientos celulares

Da una rigidez mecánica a la planta (porte aéreo sostenible)

Evitan el colapso de los tejidos vasculares en sus funciones fisiológicas normales ()– xilema por ejemplo

Función de reserva (cotiledones, tejidos embrionarios...)

Polisacáridos – reconocimiento celular – comunicación celular ()

Permeable a los pequeños metabolitos – entrada de grandes macromoléculas o patógenos en la célula

Sus funciones repercuten no solo en la célula, sino en el conjunto de la planta.

La pared celular tiene como mínimo dos componentes:

LAMINA MEDIA (el más externo): formada por Pectinas

PARED PRIMARIA (debajo de ella): formada por fibras de celulosa embebidas en una matriz extracelular

muy hidratada y que contiene Hemicelulosa, Pectinas y Proteinas diversas

A veces, debajo de la pared primaria podemos encontrar una pared más rígida y gruesa llamada PARED SECUNDARIA. En cuanto a componentes es similar a la Primaria, pero tiene más Celulosa que Hemicelulosa o Pectinas. Además aparece en algunos tejidos un componente llamado Lignina.

CELULOSA

Polisacárido lineal sin ramificaciones formado por la unión de Beta-glucosas unidos por enlaces Beta 1-4. Los ciclohexanos de las glucosas contiguas están girados (flip) en sillas opuestas.

Múltiples cadenas de celulosa se disponen en paralelo, uniéndose entre ellas a través de enlaces de hidrógeno, de tal manera que se forman estructuras llamados DOMINIOS CRISTALIZADOS de celulosa que alternan con otras zonas no cristalizadas (amorfos). Por eso se la llama estructura PARACRISTALINA.

Una fibra de celulosa está formada por centenas de polímeros.

Las zonas cristalizadas son tan fuertes y tensas que tienen una capacidad mecánica similar a la del acero. Adheridas a las fibras de celulosa aparecen cadenas de Hemicelulosas (en la pared primaria).

La rigidez de la pared está SOLO DETERMINADA POR LA CANTIDAD DE FIBRAS DE CELULOSA QUE TENGA.

HEMICELULOSA

Grupo heterogéneo de polisacáridos con ramificaciones cortas. Se asocian a la celulosa por enlaces de hidrógeno. O sea que una hemicelulosa puede estar unida a varias fibras de celulosa. Por eso son las grandes formadoras de entramados de fibras de celulosa (todo estabilizado por enlaces de hidrogenos).

El Xilobucano es un polisacarido complejo ramificado. Es una cadena lineal de celulosa pero con ramificaciones cortas de Xilosa que además se une a Arabinosa o Fucosa normalmente. Impiden que se formen estructuras paracristalinas de hemicelulosa.

Los Xilanos son unas hemicelulosas que están formados por polímeros de Xilosa unidas por Beta-1-4 con ramificaciones variadas que suelen ser Acido Glucurónico y Arabinosa. Uno muy comun es el Glucuronoarabinoxilano.

PECTINAS

Polisacáridos que REALMENTE forman la matriz. Es un grupo bastante heterogéneo de polisacáridos. Están fuertemente hidratados. Tienden a asociarse con moléculas de agua. Por ello constituyen la matriz acuosa que baña las fibras de celulosa y las células.

Las pectinas ácidas son las más comunes y son fuertemente polares e hidratadas. Tienen grupos ácidos. La más abundante es el Homogalacturonano. Es una secuencia de Acidos Galacturónicos enlazados por enlaces Alfa-1-4. Eventualmente, los grupos ácidos del AcGal pueden estar metilados (enlaces ester) – Acido Metil Galacturónico.

Hay otras mucho más complejas. El ramnagalacturonano es también muy importante. El tipo I es el más simple y común. Hay un tipo II más complejo. Está formado por moléculas de Ramnosa unidas por un enlace Alfa-1-2 a un Ácido Galacturónico que se une a su vez a la siguiente Ramnosa por un Alfa 1-4.

Cada cierta cantidad de monómeros, hay ramificaciones. En esas ramificaciones se unen a unas pectinas neutras llamadas Arabinanos. También hay Galactanos o Arabinogalactanos unidos como ramificaciones.

En conjunto se ven como zonas libres y zonas con muchas ramificaciones que alternan.

Como se estabiliza el conjunto? El principal elemento ensamblador de pectinas es el ión CALCIO! Es un catión positivo que establece enlaces iónicos con los grupos ácidos de las pectinas ácidas.

A través de esos enlaces se estabiliza la red de pectinas hidratadas que constituye la matriz extracelular vegetal.

Si los grupos ácidos están metilados (esterificados), el calcio no puede unirse, pero también estabiliza.

Otro elemento estabilizador es el Ácido Bórico, un elemento que será más importante más adelante.

Las pectinas forman una red hidratada – pero también tenemos las hemicelulosas de eslabones entre celulosas. Pero por si todo eso es poco también hay.....

PROTEINAS

Están en un porcentaje muy pequeño. Su función no es completamente claro. Son glicoproteínas la mayor parte de ellas. Son generalmente ricas en prolina, glicina o hidroxiprolina. Sus porcentajes varían mucho dependiendo del tejido. En un ataque de patógenos, la cantidad de proteínas en la pared aumenta brutalmente, por lo que evidentemente es un sistema de defensa.

Otro sistemas de proteínas frecuentes son las proteínas arabinogalactánicas. Están asociadas a polisacáridos largos como el arabinogalactano. Se cree que tienen que ver con señalización, reconocimiento, etc. pero no se sabe.

COMPOSICION TIPICA DE LA PARED PRIMARIA (es la media esperable al analizar la pared primaria)

- 80% agua (está fuertemente hidratada)
- 20% otros componentes
- 25% celulosa
- 25% hemicelulosa
- 35% pectinas
- 8% proteínas
- el resto es ácidos, sales, boro, calcio, etc.

ORGANIZACION GENERAL

Las Microfibrillas de celulosa están paralelas, enlazadas por las moléculas de hemicelulosa. Las pectinas cementan todo el tema. Las proteínas cruzan toda la estructura tridimensionalmente. El resto es agua que baña todas las fibras y está atraída por las pectinas.

ESTO ES REALMENTE UN GEL! por el que pasan todas las moléculas pequeñas. O sea que no es una

BARRERA, y decirle pared es algo incorrecto. Es una estructura relativamente rígida o flexible pero con una indudable capacidad de transporte. Recordar el concepto inicial.

SÍNTESIS DE LOS ELEMENTOS DE LA PARED

La celulosa se sintetizan en la membrana plasmática por acción del sistema CELULOSA SINTASA que actúa en el exterior. Varias unidades se agrupan formando una roseta (suelen ser 8 unidades). Ese complejo macromolecular permite sintetizar varias moléculas a la vez. Ya desde la síntesis salen en paralelo, con forma de microfibrillas. Otro sistema enzimático participa – la SACAROSA SINTASA. Está asociada al otro complejo, pero por el lado interior. La sacarosa sintasa es la que suministra los monómeros necesarios para la síntesis de la celulosa. El monómero es la UDP–glucosa, por lo que la SACAROSA SINTASA lo que hace es romper la molécula de Sacarosa, une la Glucosa al UDP y deja Fructosa resultante. La UDP–glucosa es el monómero que se incorpora al sistema anexo de la CELULOSA SINTASA!

LA FUENTE DE CARBONO PARA LA PARED PROVIENE DE LA SACAROSA

La mayor parte del carbono que sintetiza la planta se dirige a la síntesis de los componentes de la pared. O sea que estas proteínas son muy importantes. Mucho del carbono pasa por ahí!!!

Echarle un ojo al sistema de la CELSINT (fijarse en el mecanismo enzimático)

IMPORTANTE: EL COMPLEJO CELULOSA SINTASA se mueve por la MP dirigido por los microtúbulos del interior de la célula. Si los microtúbulos están en una orientación entonces, la celulosa tendrá LA MISMA ORIENTACIÓN!!!!

Los otros componentes provienen del Golgi. El RER es el lugar de síntesis de proteínas, obviamente. En el aparato de Golgi se sintetizan las Hemicelulosas y las Pectinas. Mediante las vesículas que se emiten del Ap de Golgi, se vierten al exterior los componentes de la matriz.

PROCESO ENSAMBLANTE DE COMPONENTES

Es un proceso espontáneo. Su forma de enlazarse es natural y relativamente rápida. Algunos sistemas enzimáticos juegan un papel importante en el ensamblaje. La XILOGLUCANO ENDOTRANSGLICOLASA está en la pared y se ocupa de romper cadenas de XILOGLUCANO (una hemicelulosa de las que se unen a la celulosa) que estén "viejas" e incorporarles cadenas "nuevas" que puedan establecer nuevos enlaces puente hidrógeno. Así se mantiene la estabilidad de la planta.

Otros sistemas quitan las metilaciones en las pectinas para que el Calcio sirva para estabilizar. Recordar que el Calcio es más eficiente. Por cada Calcio se puede estabilizar cuatro grupos ácidos.

En su tránsito por el sistema de Golgi....en la síntesis, los grupos ácidos de las pectinas están bloqueados por metilos. A penas salen de la célula, las ESTERASAS DE PECTINAS liberan los grupos metilos y permiten ensamblar las PECTINAS mediante Calcio.

PARED SECUNDARIA

Algunas células necesitan capas gruesas sólidas que forman la Pared Secundaria. Los tejidos esqueléticos las tienen. A veces no cubren toda la superficie de la célula (caso del colénquima). El xilema tiene pared secundaria completa.

Tienen más fibras de celulosa (50% o más del peso seco de la pared..., elementos RIGIDOS). Disminuyen las proporciones de hemicelulosa y pectinas (elementos FLEXIBLES).

Las fibras se disponen en capas sucesivas orientadas en angulos diferentes (similar al hueso) — eso le da una rigidez excepcional.

Además suele incluir un polímero llamado Lignina. Ese polímero complejo desplaza al agua de la pared. Une entre sí la lignina a las fibras de celulosa. Entonces, en vez de estar en un gel acuoso, en la pared secundaria, las celulosas están atrapadas entre lignina. Consecuencia: IMPERMEABILIDAD TOTAL! INTERCAMBIO ENTRE CELULA Y EXTERIOR ES CERO. POR ELLO, SI LA PARED SECUNDARIA RODEA COMPLETAMENTE A LA CELULA, EL PROTOPLASMA MUERE. ES POR ESO QUE EI XILEMA ESTA MUERTO.

En el caso del colénquima, no toda la célula está cubierta, por lo que realmente están vivas.

LA EXPANSIÓN DE LA PARED CELULAR PARA PERMITIR EL CRECIMIENTO CELULAR

La pared celular limita el volumen de la célula. Para que la célula crezca, la pared debe expandirse.

Las células meristemáticas indiferenciadas suelen ser células isodiamétricas, pequeñas, practicamente de tamaño similar en todas sus orientaciones.

A medida que se diferencian, van aumentando su tamaño. El aumento del tamaño celular dependerá de la orientación de las fibras de celulosa. Si las fibras estuvieran dispuestas al azar, sin ninguna orientación predominante, el crecimiento de la célula sería igual en todas las dimensiones y tendería hacia una forma esférica. Pero sabemos que las células vegetales son polihédricas alargadas, masomenos como un primsa irregular.

Por qué el crecimiento está polarizado en un eje predominante?

Lo que genera este crecimiento en principio es la disposición de las fibras de celulosa. Esa disposición es en perpendicular con el eje longitudinal de crecimiento. Se suele hacer el simil de esa distribución con lo que ocurre con un tonel de madera. A un tonel de madera se le ponen unos aros de hierro, que sirven como abrazaderas. Si el tonel se llena de líquido, la madera se expande por la presión del líquido. Lo que limita la expansión de la madera son los aros metálicos (crean una tensión opuesta a la presión de la madera!)

Una célula vegetal es similar, está en una situación de turgencia y estrés en la que el citoplasma tiende a expandirse. La pared se opone a esa tensión para mantener el equilibrio.

Para que la célula crezca, la disposición a lo ancho de la celulosa es lo que limita el crecimiento en esa dirección. De esa forma, la célula vegetal puede aumentar de tamaño en la dirección perpendicular a las fibras.

Dependiendo del caso puede aumentar en miles de veces su longitud.

Para que la célula pueda crecer, para que la pared se pueda expandir hacen falta dos cosas. Primero hace falta que la célula SINTETICE NUEVOS MATERIALES para la pared celular. Si la célula crece, pero los materiales de la pared no aumentan, la pared se hace más delgada con el crecimiento y habría un momento en que sin poder sujetar la presión interna, la célula estallaría. Es necesario que el ancho se constante, por lo que la síntesis es esencial. Segundo, necesita perder temporalmente UNA PARTE DE SU RIGIDEZ (quitarle algunos anillos al tonel).

La mayor parte de la gente opina que una señal externa a la célula marca la polaridad y que la orientación de

los microtúbulos sea consecuencia de eso. La orientación de los microtúbulos es entonces clave para el crecimiento de la planta en una dirección y no en otra.

Las distintas capas de la celulosa tienen distintas orientaciones. Las capas más externas se reorientan según el eje de crecimiento longitudinal. Si uno hace un análisis de la orientación de las fibras en cada capa., la capa interna es perpendicular al eje. Si analizamos las capas sintetizadas con anterioridad vemos que son cada vez más perpendiculares hasta que hay una perpendicular a la más nueva. Eso es un efecto causado por el movimiento natural de la célula en crecimiento. Las fibras se van reorientando.

Si no se pierde algo de rigidez, la pared. Si no se perdiera rigidez, la pared se engrosaría sin sentido. Las células con pared secundaria añaden materiales sin crecimiento de la célula. Por eso la pared aumenta. Pero esas ya son células diferenciadas específicas.

Las células en crecimiento siempre necesitan relajación. O sea que la pared secundaria se sintetiza siempre después de que se termina el crecimiento.

Una célula normal siempre está en situación de hinchamiento o turgencia. Esa presión intenta expandir el volumen. Frente a esa turgencia, la pared está generando una tensión en sentido contrario que se opone a esa expansión. Para que la célula se expanda, la fuerza que se opone deberá disminuir. En el equilibrio, las fuerzas se contrarrestan, por lo que no puede haber expansión.

COMO ES LA EXPANSION (al examen)

Los puentes de hidrógenos de las celulosas con las hemicelulosas se rompen. La tensión se relaja. ¿Cómo se rompen esos puentes de hidrógeno?

No se rompen todos, pero su cantidad disminuye, por lo que la expansión de la pared se logra solo por la relajación de algunos.

En el momento en que el protoplasma se expande, la turgencia disminuye. Esa disminución de presión hace que el potencial hídrico de la célula (letra phi mayus) disminuya. El resultado es que la célula está en condiciones para que le entre más agua y de esa manera volver a llegar la turgencia anterior – recuperar el equilibrio anterior pero con un volumen mayor.

Al hacer esto de una forma así secuencial la célula va creciendo.

Cuando una célula crece, lo que realmente hace es acumular agua en su vacuola. El crecimiento de una célula vegetal realmente significa el crecimiento notorio de su vacuola. Realmente el protoplasma crece muy poco en relación a lo que crece la vacuola.

MECANISMOS QUE EXPLICAN LA ROTURA DE LOS PUENTES DE HIDROGENO – LA HIPOTESIS ACIDA

Una de las hormonas de crecimiento vegetales – la AUXINA sería la señal para que la célula entre en expansión. Lo que hace la auxina es fundamentalmente estimular la actividad de la proton ATPasa de la membrana plasmática.

La auxina estimula esa proteína haciendo que los protones se bombeen hacia el exterior gastando ATP. La pared celular se acidifica como consecuencia. Esa acidificación hace que los grupos ácidos desprotonados de las Hemicelulosas se llenen con protones?

La acidificación estimula las EXPANSINAS, unos sistemas enzimáticos de la pared. Esas expansinas

producen la ruptura parcial de los enlaces de hidrógenos.

Cuando el volumen llega al final, la señal de auxinas cesa, las expansinas se inhiben...etc.

PROCESOS DE TRANSPORTE Y NUTRICION MINERAL

TEMA 3: EL POTENCIAL HIDRICO –

Por cada gramo de materia orgánica que sintetiza una planta consume 500 gramos de agua. Evidentemente, esto NO ES POCO. Un árbol de una tonelada necesita 500000 litros de agua. Una cosecha de cereal de algunas toneladas requiere millones de litros de agua. Una cosecha típica de 15 kg por hectárea implica 7,5 millones de litros de agua por hectárea.

O SEA QUE CONSUMEN MUCHA MÁS AGUA QUE LOS ANIMALES!!!!

El agua es su medio de conseguir electrones. Además no la reciclan (los animales tienen riñones!!). Un 10% del agua se usa para la fotosíntesis. El resto se desperdicia.

Un árbol de 10 metros de agua tiene que bombear 500000 litros de agua. Evidentemente necesitaría MUCHO JODIDO ATP para llevar esos litros de agua hasta arriba. Las plantas no consumen ni un puñetero ATP para llevar ese agua hasta ahí. TODO ESO GRACIAS A QUE SON BOMBAS NATURALES.

Los animales gastamos un tercio de la energía que consumimos en bombear los líquidos y reciclarlos en nuestro cuerpo.

Somos eficaces en el consumo de agua, pero necesitamos mucha energía para eso. Por eso necesitamos comer tanto. NADA SE RECICLA GRATIS. REQUIERE UN CONSUMO DE ENERGIA!!!!

Las plantas no reciclan ni un gramo de agua. Reciclan casi todo lo demás pero ni un gramo de agua.

La mayor parte del agua que consume un país, la consume la agricultura!! En un país tan seco como España, se debería tener una cultura del agua mucho más ambientalista. Los agricultores se pasan la vida criticando que no se hacen trasvases y pantanos, pero ellos no aportan NADA al manejo del agua...

El riego de aspersión es COMPLETAMENTE INEFICIENTE, SOBRETUDO EN VERANO!!!

La producción de un cultivo dependerá siempre de la disponibilidad del agua para el cultivo. Al aumentar la disponibilidad del agua, la producción aumenta, pero a partir de un punto, por mucha agua que pongas, la productividad no aumenta MAS!

Las plantas deberán transportar entonces volúmenes enormes de agua contra la fuerza de gravedad y sin gastar un mísero ATP!

Como lo consiguen? Aprovechando las propiedades fisicoquímicas del agua y algunas leyes físicas. Son unas ingenieras increíbles!

El oxígeno comparte electrones mediante enlaces covalentes con los Hidrógenos. Esos electrones pasan más rápido junto al oxígeno que es más electronegativo. Aunque el agua es eléctricamente neutra se comporta como un dipolo que tiene cargas parciales positivas en el H y carga parcial negativa en el O. El resultado de esto es la de los enlaces hidrógeno múltiples que se establecen entre varias moléculas de agua todas al mismo tiempo.

Esas millones de interacciones temporales hacen que el agua tenga una elevada COHESION!

Eso también hace que el agua tenga una gran ADHESIÓN frente a superficies cargadas o polares. Esas dos propiedades son aprovechadas por la planta!

Derivadas de estas dos propiedades, existe la propiedad de la TENSION SUPERFICIAL del agua. El agua tiene una elevada tensión superficial. Fundamentalmente se debe a la cohesión! Las moléculas de la superficie son más atraídas por la columna de agua debajo de ellas que por el agua que existe en forma de vapor en el aire. La consecuencia de añadir la adhesión al esquema es que la tensión superficial es mayor en el centro que cerca de las paredes. Esta es la razón por la que el agua en una pipeta, en la superficie se ve cóncava.

La tensión superficial se transmite en toda la columna.

EL MECANISMO CLAVE QUE IMPULSA LA SUBIDA DEL AGUA SE BASA EN LA TENSION SUPERFICIAL ELEVADA DEL AGUA!!!!

LAS "CAÑERIAS" ADECUADAS HACEN EL RESTO

Otra consecuencia de las propiedades es el fenómeno de CAPILARIDAD. Si tenemos un recipiente con agua, y le ponemos una pajita, el agua sube por la pajita hasta un determinado punto. Sube por la capacidad de adhesión a las paredes de la pajita y por la tensión superficial! Ese fenómeno se llama capilaridad. Se detiene cuando la fuerza de la gravedad es mayor que la fuerza de la subida capilar.

Fundamentalmente la fuerza de la capilaridad depende del radio del tubo por donde esté subiendo el agua. Cuanto más pequeño sea el radio, más alta será la velocidad de ascenso por capilaridad.

Capilaridad (metros subidos) = $14,9 \cdot 10^{-6} \text{ m}^2 / \text{radio}$

El radio del xilema es 10 micrómetros, lo cual significa unos 1,49 metros

El agua también tiene una elevada FUERZA TENSIL. Es la resistencia que opone el agua a una fuerza de succión. También se deriva de la adhesión y la tensión superficial.

RECORDATORIO: La presión es una fuerza POSITIVA por unidad de superficie. La tensión es una fuerza NEGATIVA por unidad de superficie (es una fuerza de SUCCION!!!). En la tensión superficial, la columna del agua TIRA del agua superficial.

Ahora...**QUE GENERA LA TENSION PARA QUE EL AGUA SUBA POR EL XILEMA?**

La tensión la genera la TENSION SUPERFICIAL QUE HAY EN LAS HOJAS.

A veces, la fuerza tensil puede llegar hasta 30 MegaPascuales. Si una atmósfera es 0,1013 Megapascuales. Una rueda neumática tiene 0,2 Megapascuales.

O SEA QUE LA FUERZA TENSIL QUE GENERA UNA PLANTA EN LAS HOJAS PUEDE SER ENORME!!!!!!

MPa = 10^6 Pa

Pa = $\text{N/m}^2 = \text{J/m}^3$

Termodinámica: Todo cambio implica una variación en la energía libre. En una reacción química, esa

diferencia en energía libre es igual a $RT \cdot \ln(C) / (A) / (B)$

En el transporte de una sustancia desde un compartimiento inicial a uno final, la diferencia en energía libre es igual a $RT \ln(\text{Final}) / (\text{Inicial})$

O sea que es la diferencia entre la energía libre del estado final y la energía libre del estado inicial.

De esa manera, si la Energía libre del estado final es menor, el proceso libera energía y es espontáneo. Si necesita energía, la energía libre del estado final es mayor y el proceso no es naturalmente espontáneo (necesita energía).

Ejemplo: En el agua en una presa, la caída del agua supone un cambio en el sistema. Se pasa desde una determinada energía libre (está a una altura dada) a otra energía libre. La energía libre abajo es menor. O sea que se libera energía. Esa energía se aprovecha con turbinas para generar electricidad. De qué depende la energía libre en este caso? Depende de la diferencia de altura y de la fuerza de gravedad.

O sea que la energía libre puede depender de factores muy diversos, pero todos ellos relacionados en alguna forma física. En la planta, diferentes factores influirán en la energía libre del agua haciendo que sea más factible que ascienda por el xilema!

El agua se mueve a favor de energía libre evidentemente, ya que no necesita ATP. El agua en la atmósfera tiene menor energía libre que en el suelo **EN EL CASO DE LAS PLANTAS!!! ESTO PARECE MUY JODIDAMENTE ILOGICO!!! EL AGUA SUBIRIA DESDE EL RIO HASTA LA PRESA!!!!**

El tema es que el término energía libre está muy alejado de los MPa....más que hablar de energía libre, habría que hablar de potencial químico! Ese potencial químico del agua, o mu (letra griega) es la energía libre de un mol de agua.

El potencial químico es la energía libre asociada a un mol de sustancia.

El potencial químico se mide entonces en JULIOS por MOL....

Pero lo que realmente mueve el agua dijimos que es la presión...Entonces como hacemos para acercar más a la presión nuestra expresión energética?

El potencial HIDRICO del agua es un artilugio matemático para acercar más a las unidades de presión el potencial químico del agua. Se divide el potencial químico por el volumen molar del agua y obtenemos Julios sobre metros cúbicos.

Recordemos que los moles de agua se pueden expresar en metros cúbicos a través de la expresión del volumen molar del agua!

Potencial Químico = J/mol

Pero Pa = J/m³

Potencial Hidrico = J/m³

Cual es el volumen molar parcial del agua...

Cuantos moles de agua hay en un litro

M = 18 gramos por mol

Cuántos volúmenes molares tiene un litro de agua

Densidad = 1kg por litro

1 litro de agua tiene 55,5 moles de agua

18 cmcubicos por mol... $1,8 \cdot 10^{-5}$ metros cubicos por mol es el VOLUMEN MOLAR DEL AGUA

El potencial hídrico en la hoja es menor que el potencial hídrico en la raíz. Eso parece ilógico, pero es lo que hace que el agua se mueva hacia las hojas por el xilema.

Primera consideración: Hay que recordar que el ascenso del agua es un sistema en tres partes. El agua va del suelo a la planta en la raíz y de la planta a la atmósfera en las hojas. Hay tres partes raíz–hoja–atmósfera.

Movimientos de Fluidos

Difusión: si tenemos un balde con agua y añadimos tinta china como colorante hidrosoluble en una zona, al principio la zona estará completamente azul y el agua estará incolora. Con el tiempo, la tinta china se habrá extendido por todo el balde. Está impulsado por el gradiente de concentraciones. Siempre las sustancias se difunden desde donde están más concentradas hasta donde están más diluidas. Para el agua es exactamente igual. El agua se moverá de donde está más diluida a donde está más concentrada.

En el proceso de difusión, cada molécula, en una difusión, se mueve independientemente del resto de las moléculas. Ellas se mueven por propio movimiento Browniano o de vibración. Ese movimiento las impulsa a la difusión.

Flujo Masivo: Las moléculas de agua se mueven de forma concertada y simultánea, impulsada por un gradiente de presión. Es el caso del agua que sale por una tubería en el grifo por ejemplo. Las moléculas no son independientes. El movimiento es concertado.

Cada tipo de movimiento tiene una ecuación que explica el tipo de flujo.

En una membrana biológica, el agua podrá pasar de dentro a fuera o de fuera a dentro a través de la bicapa lipídica por difusión molécula a molécula, usando gradientes de concentración, o bien mediante acuoporos (formados por acuaporinas) o canales acuosos, impulsada por flujo masivo, usando diferencias de presión.

¿En qué sentido se moverá el agua? Dependiendo de los potenciales hídricos en un compartimiento u otro, el agua se dirigirá hacia dentro o hacia fuera.

Si el Potencial hídrico del exterior es mayor que el del interior, el agua se moverá hacia dentro, empujará el protoplasma contra la pared y la célula entrará en un estado de TURGENCIA. En una célula animal, tremenda entrada de agua podría hacerla estallar. Eso no sucede en los vegetales gracias a la pared celular.

Por el contrario, si el potencial hídrico del exterior sea más pequeño, el agua tenderá a salir de la célula, con lo cual el protoplasma se quedará arrugado, dentro de los límites marcados por la pared celular. Eso se llama estado de PLASMOLISIS.

Si el potencial hídrico es igual a ambos lados, no es que no hay movimiento de agua, pero el flujo neto es cero y hay equilibrio, se dice que esta en un estado de PLASMOLISIS INCIPIENTE. EN ESE ESTADO, NO HAY PRESION INTERNA (la presión que se ejerce sobre la pared por el contenido turgente de agua)!!!!

FACTORES QUE CONDICIONAN EL POTENCIAL HIDRICO

Puede venir condicionado hasta por cuatro factores, uno sería la presencia de solutos. Esa presencia determina el potencial osmótico (Ψ_s).

Otro sería la presión que determina el potencial de presión (Ψ_p)

El tercero sería la gravedad que determina el potencial de gravedad (Ψ_g)

El último sería la adhesión superficial del agua que determina el potencial mátrico (Ψ_m)

Ojo, no siempre el potencial en una parte del sistema depende de TODO, sino que en distintas partes del sistema pueden influir algunas partes u otras, o incluso ninguna de ellas.

El potencial hídrico (Ψ o Ψ_w del water – agua) neto será la suma de cada uno de los cuatro componentes.
 $\Psi = \Psi_m + \Psi_s + \Psi_p + \Psi_g$

Por convenio se considera que el potencial hídrico del agua pura a temperatura ambiente es 0 MPa. ¿Por qué se considera esto así? Porque la temperatura puede modificar enormemente el potencial químico. También la presión, por lo que si hacemos experimentos en dos sitios nunca podríamos comparar los datos. Es por eso que es necesario establecer una referencia o parámetro.

Potencial osmótico

Digamos que tenemos otro balde de agua, esta vez con agua solamente. ¿Como cambiaría el potencial hídrico referencia si le añado Sacarosa (0,1M)? Evidentemente el potencial hídrico disminuye. Las capas de solvatación formadas alrededor del soluto disminuye la entropía del agua, pero los enlaces de hidrógeno no se destruyen, ya que la molécula es polar. Como efecto positivo, en el caso de la molécula diluida, tenemos otro tipo de molécula, con lo que la entropía aumenta en ese aspecto. Entonces, en suma el sistema agua se desorganizó, por lo que es más favorable.

La ecuación de VantHoff dice que el $\Psi_s = - R \cdot T \cdot C_s$ ($R = 8,32 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$)

El signo negativo es porque, recordando, el potencial osmótico siempre actúa disminuyendo el potencial hídrico neto. Si tenemos un electrolito, recordemos que el Ψ_s hay que multiplicarlo por la cantidad de iones en que se disocia la sal.

OJO de no confundir la presión osmótica (fuerza con la que un soluto atrae al agua adentro de la célula) cuya fórmula es similar solo que con signo opuesto.

PROBLEMA!!!!

El potencial osmótico de una célula que está a 20 grados centígrados es de -1 MPa . Calcular las osmolaridad de la célula expresando el resultado en moles por decímetro cúbico.

$$-1 \text{ E}06 \text{ J/m}^3 = - 8,32 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot 293 \text{ K} \cdot C_s$$

$$C_s = 4,1 \text{ E}-04 \text{ moles por decímetro cubico}$$

Potencial de presión

Si la presión hidrostática de un sistema es mayor que la ambiental, 0, el potencial de presión es positivo. Si

por el contrario, la presión es menor que la ambiental, el potencial de presión es una tensión. En una planta encontramos las dos posibilidades. En el xilema, la presión hidrostática es negativa, o sea que es una tensión. En el resto de las células de una planta que está en condiciones normales, es decir un estado de turgencia, la presión hidrostática en el interior de la célula es una presión positiva. Esa presión hidrostática se conoce como PRESIÓN de TURGENCIA. Es la presión que ejerce el agua del protoplasma en turgencia tendiendo a que la pared se dilate.

Potencial de gravedad

Es el efecto que tiene la gravedad sobre el potencial hídrico de cualquier sistema. Como en el caso de la presa, la altura es la determinante de ese valor. Cuanto más alto, mayor será el efecto de la gravedad, por lo que será mayor el potencial de gravedad, que siempre es positivo.

Potencial de gravedad = g (aceleración de la gravedad) . h (altura – height) . d (densidad del líquido)

Que efecto tendrá este potencial? Depende de la zona donde actúe y el tipo de planta. En árboles y arbustos pequeños, el potencial tiene un valor tan bajo que está por debajo de la milésima de otros potenciales por lo que son ignorados. Hay un cierto convenio de que en árboles de 5 m de altura, el potencial gravitacional se puede ignorar. Cuando los árboles son de mayor altura, en esas hojas a mayor altura, el potencial gravitacional sí es importante. En un árbol por encima de los 130 metros, la capacidad de tomar agua y de que el agua llegue a esas últimas hojas es tan pequeña que ya no pueden crecer más.

Muchos árboles milenarios logran vivir cientos de veces más que los animales. Hay un límite para la longevidad? Esas respuestas pueden encontrarse en el potencial de gravedad

A 100m de altura, el potencial gravitacional es de 0,98 MPa. Un árbol gigantesco como las Sequoias tienen hojas a 100m que tienen un potencial hídrico neto de $-1,3$ MPa. Eso quiere decir que sin el efecto de la gravedad, el potencial sería de casi $-2,3$ MPa, una tensión BRUTAL.

Potencial mátrico o matricial

Es el efecto que tiene una superficie a la que el agua puede adherirse sobre la energía libre del agua. Es un término que está en discusión y muchos autores ni siquiera lo consideran. En el Taiz por ejemplo no lo considera. Cuando el agua queda adherida a una partícula de arcilla o a una membrana, o a una macromolécula, eso tiene un efecto sobre la energía libre. La energía libre del sistema disminuye, por supuesto. El efecto matricial es indiferenciable de los efectos de los solutos y de los efectos de presión. Tiene un valor teórico muy pequeño. Entonces, si uno está considerando el potencial de solutos y el de presión, se puede considerar que se está tomando en cuenta el potencial matricial a través de ellos.

En el caso del suelo, el potencial matricial es más visible. Se supone que es un efecto real pero que lo que origina es una tensión, por lo que se transforma en un potencial de presión.

EL PROFE NO LO TIENE CLARO!

Después de comentar los componentes del potencial hídrico, lo importante es saber que en la célula vegetal los que están incidiendo realmente son el potencial de solutos u osmótico y el potencial de presión. Solo en el caso especial de árboles muy altos podemos considerar el potencial de gravedad.

PROBLEMA!!!!!!!!!!

A una disolución de agua a 20 grados centígrados le metemos una solución 0,1M de Sacarosa

Potencial osmótico = $-8,32 \cdot J \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1} \cdot 293 K \cdot 0,1 mol dm^{-3} = -244 J/dm^3 = -244 J/m^3 = -0,24 MPa$

Potencial de presión = 0 (seguimos a presión ambiente)

Potencial hídrico = $-0,24 MPa$

En la solución metemos una célula vegetal que está flácida y que tiene un potencial osmótico de $-0,732 MPa$. Obviamente su potencial hídrico es de $-0,732 MPa$. Pero qué le sucede cuando la metemos en la disolución? El agua debería entrar o salir?

La diferencia de potencial para la salida del agua es $-0,244 + 0,732 MPa = POSITIVO$ (no es favorable). La diferencia de potencial para la entrada es $-0,732 + 0,244 MPa = NEGATIVO$ (favorable).

Cual será el potencial hídrico en el equilibrio? Para ello deberemos considerar que la diferencia de potencial osmótico es despreciable (son nanolitros!!!). Por ello, se considera que los potenciales osmóticos son los mismos que antes. Entonces lo único que cambió debe ser el potencial de presión. Evidentemente, la célula adquiere turgencia gracias a la entrada de agua, así que todo parece lógico.

En la condición de equilibrio el potencial hídrico de la solución es $-0,244$ (no cambia) por lo que el potencial hídrico de la célula debe ser $-0,244$. Se generó en la célula un potencial de presión igual a $+(0,732 - 0,244)$. La ecuación final para la célula queda como $-0,244 MPa = 0,488 MPa - 0,732 MPa$

Normalmente, cuando se da un cambio en el potencial hídrico, lo que suele ajustarse, lo que suele cambiar realmente es el potencial de presión. Verdaderamente, el potencial de solutos no suele cambiar.

Luego cambiamos sacamos la célula y la ponemos en una concentración de sacarosa de $0,3 M$. El potencial hídrico de la solución después del equilibrio es $-0,732 MPa$. El potencial hídrico de la célula era de $-0,244 MPa$. Por ello, el agua saldrá de la célula y pasará a la disolución de sacarosa. Se alcanzará el equilibrio cuando los potenciales hídricos se igualan. El potencial de la célula cambiará hasta llegar a $-0,732 MPa$. Por eso, el potencial de presión habrá de disminuir nuevamente hasta 0. La célula ha perdido turgencia y entra en una fase de plasmólisis.

Comprobamos nuevamente que el potencial osmótico raramente cambia, sino que lo que realmente se refleja en el potencial hídrico son los cambios del potencial de presión.

Esto no quiere decir que el potencial osmótico nunca cambie. En casos extremos si lo hace.

Si tenemos una célula turgente en la solución inicial de $0,1 M$ y le aplicamos una presión mecánica artificial, la célula largará agua hacia fuera. Hacemos que salga la mitad del agua, con lo cual la concentración osmolar habrá cambiado hasta el doble. Por ello, el potencial osmótico será el doble: en vez de $-0,732$, será $-1,464 MPa$. El potencial de presión cambiará en consecuencia hasta que recupere su condición de equilibrio. El potencial hídrico de la célula no cambia.

Los cambios del potencial osmótico casi nunca modifican el potencial hídrico de equilibrio. Lo que se intenta es mantener el potencial hídrico constante y modificar el potencial de presión.

Los potenciales que moverán el agua hasta las hojas están conectados todos entre sí. El potencial del tallo debe ser menor que el de la raíz. El potencial de las hojas debe ser menor que el del tallo, etc. Además no todas las células de las hojas tienen el mismo potencial hídrico. El potencial de las células que están mas lejos debería ser mucho menor que el de las células que están cerca del xilema. De esa manera, todas las células recibirán algo de agua.

Normalmente el potencial hídrico de la célula y de la planta deberá gran parte a las condiciones ambientales. La sequía por ejemplo es un tipo de estrés hídrico. Cuando un suelo está seco, sus potenciales hídricos serán muy pequeños y puede llegar el caso de que el potencial hídrico del suelo sea más bajo que el de las raíces. Entonces el agua de las raíces pasaría al suelo y la planta se marchitaría por falta de agua.

¿Como pueden hacer frente a esto las plantas?

Hay que ajustar los potenciales hídricos para poder seguir tomando agua del suelo. Hay que hacerlos aún menores que como están normalmente. Eso se puede hacer cambiando radicalmente la concentración de solutos en la vacuola. Eso hace que su potencial osmótico cambie y en resumen su potencial hídrico cambie. La célula sintetiza azúcares y aminoácidos como la prolina que son osmorreguladores. Esos se acumulan en la vacuola y su potencial osmótico disminuye.

Como es obvio, el componente del suelo es fundamental en la regulación del potencial hídrico.

EL SUELO

Es un sistema variado y muy heterogéneo. Las partículas más pequeñas son las de los suelos arcillosos. Las arenas están en el otro extremo llegando hasta los 2 mm. El área superficial de un gramo de arcilla es mucho mayor que la de un gramo de arena. Esa área superficial es la que importa. La de la arcilla es del orden de 100 o 1000 veces mayor que la de la arena. La capacidad de retención de agua de un suelo dependerá de cuan grande sea el área superficial por gramo de sus partículas. O sea que un suelo arcilloso retendrá mucha más agua que un suelo arenoso. Eso es obvio considerando que los espacios que quedan entre las partículas de suelo en el caso de las arenas son mucho mayores y por lo tanto el agua discurre más fácilmente. Además los suelos arcillosos suelen tener mayor carga eléctrica (abundancia de cargas negativas) y esas cargas retienen mejor el agua por el efecto de adhesión a superficies.

Cuando llueve en un suelo abundantemente, llega un momento en que se encharca. Todos los espacios están llenos de agua y se forman los charcos superficiales, los charcales.

Con el paso del tiempo, el agua que está en el espacio entre partículas empieza a pasar hacia las capas más profundas del suelo. El agua que está menos unida a las superficies de las partículas empieza a viajar hacia las capas freáticas. Esa agua que se pierde se llama agua gravitacional. Ese es un agua que no estará disponible para la planta. Entonces, el único tipo de agua disponible será fundamentalmente el que esté unido a las partículas por efecto matricial.

Un riego intenso entonces no es necesario ya que la sobre abundancia de agua no será utilizada. El agua gravitacional será mayor en un suelo arenoso ya que los espacios entre partículas son mayores.

Menos perdida gravitacional

Mas superficie para retener agua por su mayor superficie por gramo

Mayor interacción matricial por su mayor cantidad de cargas

El agua retenida en la superficie se llama Agua de CAPILARIDAD. Ese será el agua disponible para la planta. El aire pasará a ocupar los espacios entre partículas. La superficie de contacto nueva que se formará será la superficie aire-agua de capilaridad. Ahí se creará una tensión superficial que tiende a minimizar la superficie. O sea que el agua está retenida por un efecto matricial pero que realmente lo que produce es una presión negativa (tensión). Entonces, el agua está sometida a un efecto matricial o a un efecto de tensión? Da igual, ya que los dos efectos serían prácticamente lo mismo (da igual donde lo incluyamos en la ecuación, lo que sí no podemos hacer es incluirlo dos veces, no?)

El potencial de presión o matricial está dado por $-2 T$ (tensión superficial del agua) / r (radio en metros de los meniscos que se forman en las burbujas de agua). $T = 7,28 \text{ E}-8 \text{ MPa} \cdot \text{m}$

Cuanta más pequeña sea la burbuja de aire, mayor será el valor absoluto del potencial de presión, pero en conclusión será menor el potencial de presión (más negativo).

Este valor determina casi únicamente el potencial hídrico en el suelo. El efecto de la gravedad es nulo. El efecto de solutos podría influir, pero en la mayoría de los suelos, la cantidad de solutos en el agua de capa es pequeña y se suele despreciar. En los suelos salinos se hace una excepción. Ahí el potencial osmótico influye de forma marcada y notable.

Si no hubiera burbujas el potencial hídrico sería 0 ya que no habría tensión superficial que trabajara.

La capacidad de campo es la máxima cantidad de agua de capilaridad que puede retener un suelo. El potencial hídrico del suelo en la capacidad de campo, es muy próximo a cero, ya que no hay burbujas. En un suelo arcilloso, la capacidad de campo está en un 55% del peso de ese suelo. En un suelo arenoso, la capacidad de campo está por debajo del 20%. Eso es obvio: los suelos arenosos pueden retener menos agua.

El valor del potencial hídrico para el cual el agua ya no puede ser absorbida por la planta se llama Porcentaje de Marchitez Permanente. Está alrededor de los $-1,5 \text{ MPa}$. En el caso de los suelos arcillosos, eso sucede cuando el porcentaje de agua está alrededor del 20%. Eso quiere decir que entre 20 y 55% el suelo podrá ceder agua perfectamente a la planta. Si el porcentaje es más bajo la planta no puede absorber agua. En el caso de los suelos arenosos, el porcentaje está alrededor del 10%. Por tanto, entre el 10 y el 50%, el suelo funciona bien para la planta. Fuera de esos parámetros, la planta puede tener dificultades para sobrevivir.

ATMOSFERA

El agua en la atmósfera está en forma gaseosa. En forma gaseosa, el potencial hídrico no está marcado por los parámetros que vimos. Cuando el agua está en forma de gas, el potencial hídrico está determinado por la humedad relativa del aire. $HR = C_v H_2O \text{ real} / C_v H_2O \text{ que habría si estuviera saturado}$

O sea que es la diferencia entre concentraciones de vapor de agua. La primera marcará el potencial hídrico. La $C_v H_2O \text{ sat}$ es un valor constante a una temperatura constante.

El potencial hídrico atmosférico está dado por $(RT/V_{\text{molar}}) \cdot \ln HR$

La HR se puede expresar de 0 a 1 o en tantos por ciento.

En la hoja, el agua también está en forma de vapor de agua, por lo que conviene aprender las fórmulas. ¿Por qué serán bajos los potenciales hídricos del agua en la atmósfera? La atmósfera es muy desordenada. El agua de vapor es muy entrópica, aunque no tenga enlaces de hidrógeno.

SEGÚN LA PARTE DE LA PLANTA, EL POTENCIAL DETERMINANTE (driving potential) SERA DIFERENTE

En el suelo es el potencial de presión o matricial. A través de la raíz estará involucrado todo el potencial hídrico. En el xilema, es el potencial de presión. En los espacios aéreos de las hojas será el potencial

Realmente está mal diseccionar el sistema dado que realmente es un equilibrio continuo. Además la cantidad de agua que entra es igual a la cantidad que se transpira realmente cuando la planta está en el equilibrio hídrico correcto.

La planta tiene solo un punto de control para el circuito. Ese punto de control está en las hojas en los estomas. Controlando la transpiración la planta controla el flujo y la absorción de agua.

TEMA 4 – MOVIMIENTO DEL AGUA A TRAVES DE LA PLANTA

La relación planta–atmósfera es una relación un poco difícil. Como la atmósfera está más seca, el agua tenderá a ir hacia la atmósfera. Por otra parte, la planta necesita el CO₂ de la atmósfera ya que es el sustrato de la fotosíntesis. Si la planta permite un intercambio libre de gases, podrá tomar mucho CO₂ pero perderá mucho agua. Si restringe el intercambio, perderá menos agua, pero tendrá menos CO₂ para la fotosíntesis. Por ello, un sistema de control estomático le permite llegar a un equilibrio para poder fotosintetizar sin quedarse secas. La fotosíntesis y la transpiración son procesos íntimamente conectados. Los factores que influyan en la fotosíntesis pueden afectar la transpiración y viceversa.

La planta incorpora 500 moléculas de H₂O por cada 1 molécula de CO₂ que sintetiza. Eso se llama la TR (tasa de respiración). Eso es típico de las plantas de fotosíntesis C₃. Las plantas C₄ o CAM tienen unas tasas de transpiración de alrededor de 200 moles de H₂O por cada CO₂. Se dice que son más eficientes. Eso porque han desarrollado mecanismos para mejorar el aprovechamiento del agua, no mejorando los potenciales hídricos, sino sus mecanismos fotosintéticos del aprovechamiento CO₂. Es un buen ejemplo de cómo el aprovechamiento del agua, la transpiración y la fotosíntesis son todos procesos íntimamente relacionados.

Las hojas son las que fundamentalmente transpiran. Hay dos fases. La primera es la evaporación que tiene lugar en las paredes celulares de las células del mesofilo y de la epidermis. En esas paredes, el agua escapa por evaporación. Para ello falta calor del orden de unas 580 calorías por cada gramo de agua evaporada. Ese calor viene de la radiación solar. Cuanto mayor sea la radiación solar, mayor será la evaporación en las células del mesofilo y la epidermis.

La segunda fase es la transpiración por difusión del vapor de agua desde los espacios internos de la hoja hacia la atmósfera. Depende de una diferencia de concentraciones. Es un movimiento pasivo. Ese flujo de transpiración (E) tiene una ecuación:

$$E = (C_v H_2O \text{ en los espacios internos de la hoja} - C_v H_2O \text{ en la atmósfera}) / \text{resistencias}$$

$$I = V / R$$

O sea que el flujo se equipara a un circuito eléctrico.

La humedad relativa está prácticamente al 100% en los espacios internos de la hoja. En la atmósfera, en condiciones normales está alrededor del 50%. Cuando está cerca del 90% hay mucho bochorno y eso sofoca mucho. Normalmente está alrededor del 50%.

El interior de la hoja está saturado así que su potencial hídrico es de $-1,38$ MPa. En el aire está entre -7 y -100 MPa. Esa diferencia es muy grande y hace que el intercambio sea muy favorable hacia el aire.

El intercambio con el interior se da mediante: a) los estomas o directamente a través de b) las células epidérmicas. La vía de las células epidérmicas es muy poco importante. La epidermis está recubierta de una cutícula muy impermeable que hace que la resistencia al paso sea muy alta. Está formada por ceras y ácidos grasos (es muy hidrófoba). Por ello, el paso del vapor de agua es casi exclusivamente mediante los estomas.

Además de la cutícula hay una capa llamada límite (boundary layer). Es una capa de aire muy delgada, en la que el aire circula con un flujo laminar paralelo a la superficie de la hoja. Esa capa añade una resistencia más, que se debe considerar añadida a la de la cutícula. El flujo a través de los estomas también tiene que vencer esa resistencia por capa límite.

En el flujo por los estomas entonces hay dos resistencias: la resistencia estomática y la resistencia de la capa límite. $E = (C_h - C_{aire}) / R_{estomas} + R_{capa\ límite}$

El estoma es una especie de diafragma que la planta puede abrir o cerrar, modificando la resistencia estomática y modificando el flujo de transpiración. Entonces, si quiere limitar la transpiración cierra los estomas y la tasa de transpiración baja por el aumento de la resistencia. O sea que el diafragma se abre más o menos a voluntad de 0 a 12 o más micras. A partir de 10 micras, la transpiración crece asintóticamente.

Esto es lo único que controla la planta de toda la ecuación y es lo que utiliza para controlar la toma del H₂O del suelo. O sea que los estomas son lo más importante de la planta!!!

La resistencia de la capa límite depende de la velocidad del aire. No es lo mismo la velocidad de transpiración un día que haga viento que un día que el viento está en calma. Además no es lo mismo el flujo laminar o turbulento. El viento genera turbulencias en la zona entre el límite de la hoja y la capa límite se hace más delgada haciendo que oponga menos resistencia. Si hay más viento, los estomas deben cerrarse más. **ES POR ESO QUE LAS HOJAS SON PLANAS!!!!!!** (deducción de Alejo)

Vimos que el flujo de viento en la superficie y la humedad relativa influyen directamente en la transpiración. La HR en particular tiene mucho que ver con la concentración de vapor de agua en la atmósfera. Pero a su vez, la HR está íntimamente asociada a la temperatura. La temperatura incide en la concentración de saturación del vapor de agua en la atmósfera. Cuando más alta sea la temperatura, la saturación será mayor, con lo cual para la misma concentración de vapor real, la humedad será mayor. En resumen, cuanto más alta sea la temperatura, más agua puede haber en la atmósfera. Esto se ve en cosas tan complejas como la fisiología vegetal o en cosas tan simples como la formación de nubes en altura. La Antártida es el continente más frío y SECO del planeta, simplemente porque el frío hace que el aire esté sin agua.

Si estamos a 20° C y tenemos una C_{real} de 0,48 moles por m³, cual será la HR?

C_{sat} es 0,961 moles por m³. Entonces la HR estará cerca de 50%.

Si sube la temperatura en el mediodía y hace 25°C, la C_{sat} será 1,28 moles por m³. Entonces la HR disminuyó notablemente hasta un 35% aproximadamente. El potencial hídrico era igual a RT/V_{mol} . $\ln HR$ por lo que también cambió.

En la hoja, el aire está siempre saturado de agua. Si el sistema cambia y la concentración de saturación del aire cambia, la hoja comenzará a evaporar agua hasta poder rellenarse hasta la nueva concentración de saturación. La temperatura afecta enormemente a la hoja a través de la saturación. Al aumentar la capacidad de tener agua, en la atmósfera le da igual. Pero en la hoja no da igual ya que siempre debe tener una concentración de saturación para poder mantener el E para mantener el potencial hídrico en la hoja.

(TEMA DE EXAMEN!!!!)

OTROS FACTORES QUE INCIDEN EN LA TRANSPIRACION

La concentración de CO₂ en el aire es un ejemplo. Todo lo que afecte a la fotosíntesis afectará a la transpiración. Son procesos conectados. Pero para ver eso, primero tenemos que ver el tema de los estomas que es la llave de regulación de la transpiración y del flujo de agua interno. Haciendo que el estoma esté abierto o cerrado la planta regula su potencial hídrico en la hoja.

LOS ESTOMAS

Una célula puerta o guarda es la que regula la transpiración, la entrada de gases, etc. Están acompañadas por

células que ayudan en el proceso de apertura y cierre. El estoma de las gramíneas es especial, tiene forma alargada y la abertura tiene forma de hisopo.

Es más frecuente que solo estén en el envés de la hoja (plantas hipoestomáticas), aunque en algunas especies hay también en el haz (plantas anfiestomáticas).

Lo más importante es la distribución de las fibras de celulosa. En la mayor parte es radial. La densidad es mayor en la zona cercana al poro. Es menor en el lado opuesto. O sea que las fibras se abren como en abanico. En la zona de donde salen las fibras, su densidad es mayor.

Esto es una característica tan importante que determina si el poro se abre o no.

Las células guardicas actúan como válvulas de presión multisensoriales. Sienten multitud de estímulos: temperatura, luz, HR, etc. Esas células perciben el estímulo y dan una respuesta integrada provocada por el sumatorio de los factores. Si solo cambia la HR puede no pasar nada, si las células guardia consideran que no es necesario abrir los estomas.

La respuesta consiste en un cambio en la concentración de iones y metabolitos en el interior de las células guarda.

Para la apertura de los estomas, aumenta la concentración en las células guarda. Disminuye el potencial osmótico de la célula. El potencial hídrico también disminuirá por lo que entrará agua y la célula se hinchará. El incremento del volumen puede ser hasta del doble. Las paredes son muy elásticas y el incremento es muy notable. Ahí está la clave de todo. Como las fibrillas de la pared no están distribuidas homogéneamente, el incremento de volumen no será homogéneo. Lo que se acentúa es la forma arriñonada de la célula dado que aumenta el volumen celular en la zona distante al poro. En resumen, el poro se ensancha. Esto puede graduarse para que el cambio en la transpiración sea proporcional a lo que haya aumentado la concentración de iones y metabolitos en el citoplasma de las células guarda. La respuesta de aumentar o disminuir la concentración de iones está graduada y dependerá de la integración de la señal ambiental.

Para el cierre de los estomas se hace lo opuesto, se disminuye la concentración en las células guarda y el agua sale de la célula. En consecuencia el volumen disminuye y el poro se cierra.

Lo que dispara la apertura del estoma es el incremento en la actividad ATPasa de la membrana vegetal. El resultado de expulsar protones al medio externo se refleja ya que se alcaliniza el medio interno relativamente. Además se acidifica la pared del apoplasto. Esos cambios actúan haciendo que el potencial eléctrico celular cambie y los iones potasio entren en la célula por la apertura de los canales de potasio dependientes de voltaje. Así aumenta la cantidad de iones interna.

Para controlar la entrada masiva de iones, se utiliza un sistema complejo. Entran iones cloruro que disminuyen el efecto de la hiperpolarización. También aumentando la concentración interna de malato (ácidos inorgánicos). El ácido málico procede de la degradación del almidón de reserva. El almidón se degrada dando maltosa, luego triosa-P y finalmente malato que se acumula en la vacuola. El K y el Cl también se acumulan en la vacuola.

Para el cierre, se expulsa el potasio, se expulsa el cloruro, el malato y se deja entrar protones. El tema del cierre está poco estudiado.

RELACION ENTRE Conc CO₂ aéreo y la APERTURA ESTOMATICA

La concentración de CO₂ es alta a la madrugada y los estomas están cerrados. En la mañana, a medida que hay más luz, el nivel de CO₂ disminuye y los estomas se abren para meter el CO₂ dentro. Además, la

máquina fotosintética se activa más en presencia de luz. Cuando la luz se acaba, en el anochecer, los estomas se van cerrando a medida que la Concentración de CO₂ vuelve a crecer.

El efecto está asociado con la intensidad de luz.

Lo que regula la apertura estomática es el aspecto fotosintético, las relaciones con la luz y el CO₂.

La luz visible tiene muchos tipos de luces de colores combinados. Se ha estudiado el efecto de la intensidad de las luces azules que parecen tener muchos efectos reguladores en las plantas.

Los estomas distinguen las luces rojas monocromáticas (activas en fotosíntesis) de las luces azules (no fotosintéticas). Cuando se ponen las luces azules, los estomas se abren. O sea que la luz azul es el principal componente de la luz solar que provoca esa apertura. Al amanecer, la cantidad de radiación azul es mayor. Al atardecer predominan las radiaciones rojas. Eso también provoca la apertura relativa a las intensidades solares.

La luz azul realmente activa la protón ATPasa, fundamental para la apertura y cierre de los estomas, tal y como vimos en la última clase. El medio externo de la planta se acidifica cuando los estomas se abren por efecto de la luz azul. La acidificación es proporcional a la intensidad de los flashes de luz azul.

EL ESTADO HIDRICO TAMBIEN AFECTA LA APERTURA ESTOMATICA

El potencial hídrico en el suelo disminuye después de que pasan algunos días sin lluvia o riego. Como consecuencia, la planta se va deshidratando, perdiendo potencial hídrico. La planta incrementa una de las hormonas vegetales llamada ABA (ABscisic Acid). Esas hormonas hacen que la planta responda cerrando los estomas. Así aumenta la resistencia estomática y en consecuencia se mantiene el agua adentro sin transpirar

GRAFICAS PARA LOS EXAMENES!!!!

Una hoja en el mediodía puede perder todo su contenido en agua en media hora. Lo cual quiere decir que se necesita un suministro de agua, por lo menos igualmente intenso. El agua llega a través del xilema ramificado en las hojas de manera que ninguna célula en la hoja está alejada a más de 1 mm del xilema.

XILEMA

Células muertas sin membrana ni protoplasma. Son realmente una cañería de pared vegetal agujereada. Así ofrecen menos resistencia. Pueden ser de dos tipos: Traqueadas (alargadas y delgadas) y Vasos (cortos y gruesos). Los vasos son exclusivos de angiospermas. Las gimnospermas solo tienen traqueidas.

Los vasos tienen una pared celular más resistente y lignificada.

En las paredes presentan punteaduras distribuidas irregularmente. Son zonas donde no hay pared secundaria y la pared primaria es muy delgada. Eso hace que el paso de agua sea fácil. La punteadura de dos células contiguas está alineada para que el agua pase de una célula a otra fácilmente. O sea que tienen un sentido muy claro: permitir movimiento lateral de agua.

En las traqueidas, hay una estructura interna llamada el toro (Torus) que funciona como una válvula que permite o impide el paso de líquido. Es típico de las gimnospermas.

Las traqueidas están perforadas entre sí y son lo suficientemente delgadas para que realmente funcionen como una cañería en cualquier sentido. Los vasos necesitan esas punteaduras para que el agua pase de un lado a otro. En las angiospermas se combinan vasos y traqueidas en el tejido xilémico. El movimiento es de FLUJO MASIVO (NUNCA DIFUSION!!!). En consecuencia está impulsada por una diferencia de presión.

El flujo sigue más o menos la ecuación de Poiseville: Flujo (J) = $(\pi \cdot r^4) / 8\eta \cdot \text{diferencia de } F_i\text{-presión}$

Como vemos, el flujo será mayor cuanto mayor sea el radio. Por tanto, el flujo será mayor en los vasos. El agua va más lenta en los bordes de los vasos. El efecto matricial se nota menos en los vasos que en las traqueidas. El tener vasos o traqueidas influirá en el flujo notablemente.

En un abeto o un pino, el flujo a través del xilema será menor que en las angiospermas. En las gimnospermas será de entre 0,2 a 1,5 mm por segundo. En las angiospermas, es del orden de 10 veces mayor, hasta 15 mm por segundo. Esto es consecuencia de que las angiospermas tienen vasos y traqueidas.

Si el agua sube por los vasos y traqueidas impulsado por un gradiente de presión, ¿dónde se genera la tensión que hace subir el agua? La teoría que lo explica es la teoría de la TENSION-COHESION. Durante mucho tiempo se discutió sobre cómo subía el agua, donde estaba la fuerza impulsora. Algunos decían que las raíces impulsaban, otros decían que las hojas succionaban, otros decían que todo se combinaba.

Con la experimentación se logró ver que no había fuerzas de empuje, sino una fuerza de succión que se generaba en las hojas. La tensión que tira del agua hacia arriba se está generando en el apoplasto de las células del mesofilo de la hoja como consecuencia de la evaporación que tiene lugar en ese apoplasto. O sea que el mismo mecanismo de pérdida de agua hace que el agua se recupere!!!

En el mesofilo, el aire está en contacto con el agua del apoplasto de las células vegetales. Como consecuencia se genera una tensión superficial en el agua del apoplasto. Las moléculas de agua tiran de las compañeras haciendo que el efecto final sea el mismo que el que vimos en el suelo. Hay un agua adherida a las paredes que está en contacto con el aire. Hay, en consecuencia una tensión generada por el aire. Pero el efecto es mucho más severo. En el suelo, la tensión estaba en los $-0,1$ MPa o $-0,01$ MPa. Pero en las hojas, el aire tira del agua con hasta -3 MPa. El efecto es mucho más intenso. La tensión es mucho mayor. El mecanismo, sin embargo, es el mismo. ¿Cuál es la diferencia? En la hoja, el agua está evaporándose y al evaporarse se generan meniscos cuyo radio dependerá de la fuerza de la evaporación. El efecto de la presión matricial dependía del valor de la tensión superficial del agua y del radio de los meniscos generados. Cuando la evaporación es pequeña, el radio es grande. Cuando la evaporación es más grande, los meniscos son cada vez más pequeños. Un radio de un menisco de $0,01$ micras puede dar lugar a una presión hidrostática de -15 MPa!!!! Pero cuando la evaporación es intensa, la transpiración es intensa. Necesita mucha agua para compensar. Pero afortunadamente para la planta, el mismo mecanismo de evaporación genera una fuerza que sube el agua desde el suelo. Una transpiración y evaporación intensas generan absorción muy intensa.

La segunda parte de la teoría se basa en la cohesión del agua. Las moléculas de agua están muy cohesionadas entre sí. Cuantos más enlaces de hidrógeno tiene, se comportará más como una masa entera. Puede moverse, por lo tanto, como un todo en flujo masivo. Eso hace posible que la tensión superficial se transmita a toda la columna de agua del xilema. Si eso no fuera así, el agua nunca podría subir desde las raíces. Es similar al efecto de la jeringuilla. La evaporación es como la mano que tira de toda la columna de agua en el émbolo de una jeringuilla.

El fenómeno de la formación de burbujas de aire en una columna de agua sometida a una tensión es conocido como LA CAVITACIÓN. Ese es el caso del xilema. En el xilema, hay una columna de agua sometida a tensión, con lo cual se producen fenómenos de cavitación, es decir pequeñas burbujas de aire. El problema de la cavitación es que si se hace muy intensa (suele suceder si la tensión es muy fuerte) puede dar origen a una embolia. Eso es cuando las burbujas se expanden, se juntan unas con otras y forman una gran burbuja que en el caso de las plantas puede taponar todo un vaso o una traqueada, imposibilitando la circulación de agua por ese vaso. A cavitación es normal. La embolia no! Eso puede no ser problemático, pero si el proceso de embolia se generaliza, la planta puede deshidratarse!!! Es por eso que las punteaduras, etc. son esenciales. Una de sus funciones es funcionar como un bypass para el paso de agua.

OJO! La tensión superficial alta se genera como consecuencia de una transpiración alarmantemente alta. O sea que eso solo se produce cuando hay mucha evaporación – en el mediodía. Cuando llega la noche, la transpiración cesa, la planta no necesita tomar CO₂ y cierra los estomas y disminuye la tensión superficial. En consecuencia, la embolia puede recuperarse.

Es decir que estos son fenómenos temporales. Es raro que una embolia se quede fija. Puede darse el caso que un vaso quede inutilizado, pero tampoco eso es problemático ya que el cambium crece creando más y más vasos.

La transpiración es clave para que la planta tome agua del suelo, pero eso no quiere decir que la planta quiera transpirar. La planta quiere chupar agua, pero finalmente lo que logra es terminar transpirando para lograr chupar. El proceso de transpiración NO ES NECESARIO para que la planta viva, solo para tomar agua cuando la está perdiendo. Si la planta NO PIERDE AGUA por transpiración ENTONCES NO

NECESITA ABSORBER!!! Y CERRARA LOS ESTOMAS!!!!

ME FALTA UNA CLASE AQUÍ

La caída en un nutriente de la planta resultaba en una desaceleración del crecimiento de la planta. El nitrógeno es un ejemplo típico. Cuanto más nitrógeno tiene una planta, el crecimiento es más rápido. Si una planta tiene déficit de nitrógeno crece más lento y es más pequeña. Si una planta tiene déficit de azufre o potasio también se producen.

La clorosis (pérdida de clorofila) es un resultado típico. La deficiencia en Nitrógeno se observa primero en clorosis de las hojas nuevas. La deficiencia en Azufre se observa primero en las hojas jóvenes.

Con la deficiencia de magnesio y hierro pasa algo similar. También producen clorosis pero que se manifiesta en las zonas intervenicas (o sea en las zonas de parenquima alejadas de los tejidos conductores). La de magnesio se ve en hojas viejas. La de hierro se ve en hojas jóvenes.

Algunos nutrientes se movilizan rápidamente. Otros se desplazan más lento. Como la demanda es mayor en las hojas jóvenes, normalmente esos elementos de alta movilidad se van rápidamente hacia las zonas jóvenes. Es el caso del Magnesio, del Nitrógeno, del potasio, del fósforo, etc.

La deficiencia se ve mejor en las hojas maduras para estos elementos móviles.

Los elementos de baja movilidad son el Calcio, el Azufre, el Hierro, el Boro o el Cobre. Con ellos sucede lo opuesto. Al ser menos móviles abundan en las hojas maduras y la deficiencia se nota mejor en las hojas jóvenes.

La de nitrógeno y hierro son deficiencias comunes. La de Azufre es más rara.

La deficiencia en Fósforo provoca que primero las hojas tomen un color verdoso para luego cambiar a unos colores rojizos y rosados.

En potasio, la clorosis comienza en los bordes de las hojas y luego avanza hacia las zonas centrales.

La deficiencia en Boro es más espectacular. Las células se joden rápidamente. Las paredes se desestructuran y las hojas se necrotizan rápidamente.

Las deficiencias también afectan a las raíces y otras zonas de la planta, pero no suele ser necesario ver más que las hojas.

Los análisis de suelo no suelen ser indicativos de las deficiencias potenciales para una planta. Normalmente el nitrógeno abunda en el suelo, pero no abunda en forma inorgánica. Suele abundar en forma orgánica, pero la planta solo puede incorporar amonio o nitratos. Entonces lo correcto es analizar el nitrógeno disponible para las plantas. El análisis de suelo entonces suele ser una aproximación no siempre correcta.

El análisis de savia es el más exacto para determinar las deficiencias, aunque también es el más caro.

En los ecosistemas naturales las deficiencias no son frecuentes. Son más comunes en los sistemas agrarios en los que el agricultor tiene muchas plantas juntas y que requieren mucho aporte de nutrientes. Es en estos casos donde surgen la mayor parte de las preocupaciones por determinar.

En los años 60 (revolución verde) comienzan a usarse fertilizantes con objeto de paliar el hambre del mundo. Se aumentaría así la producción de forma que se podría disminuir el precio y aumentar el volumen de alimentos en el mercado mundial.

Se aumentó espectacularmente el número de cosechas en los países desarrollados. El precio alto se pagó en contaminación ambiental. La agricultura es la actividad humana globalmente más contaminante. Aún más que la industria. Una buena parte de los fertilizantes van a parar a las aguas freáticas y entonces dejan de ser útiles para los usos domésticos. Tienen números de nitratos muy elevados y pueden ser tóxicas. Esos nitratos vienen de los fertilizantes (típico del Levante español). Otro tanto sucede con los fosfatos, con los sulfatos y con plaguicidas.

Es evidente que aún así la productividad aumenta tanto que compensa por la contaminación generada.

El pico en la productividad está en los 70 kilos de Nitrógeno por ha. aunque típicamente se utilizan 140 o más. A partir de ahí la productividad disminuye producto de la desproporción que adquiere la planta en partes como las hojas en detrimento de las raíces, los granos, etc.

El porcentaje de contaminación ambiental generado a partir de 70 kilos por ha. de N es del orden de 50%, o sea 35 kilos que se van a las capas freáticas. Ese nitrógeno va a los ríos y finalmente eso mata a los peces (bacterias mediante). Con 140 kilos, la contaminación llegaba al 60%!!! Y la productividad no aumentaba!!!

Aún así, con revolución verde y todosiguen habiendo muertos de hambre en el mundo.

El hierro es uno de los típicos elementos involucrados en déficits y contaminaciones. El hierro férrico se acompleja con unos compuestos especiales. Las raíces se lo dan al quelante en forma ferrosa. Así lo mantienen soluble. El hierro férrico podría precipitar si no existieran esos quelantes. O sea que su función es hacer que el hierro esté disponible para la planta.

Además hay quelantes para el zinc, el cobre, etc.

Las raíces SOLO pueden incorporar elementos metálicos reducidos!!!

Problema: Los elementos solubles como los quelantes, los nitratos y los cloruros pueden descender hacia las capas freáticas mediante el agua de lixiviación. En ese lugar ya están fuera del alcance de las plantas. Con todos esos elementos, el agricultor mantiene un equilibrio entre su solubilidad y el peligro de que lixivie. O sea que la ultrasolubilización es mala. Es una regulación problemática que tiene que resolver la planta para no quedarse sin hierro y otros nutrientes.

SUELOS – COMPOSICION

Desde el punto de vista de la productividad, cuanto más materia orgánica tenga un suelo, más rico es. Además

de materia orgánica que suele estar entre un 1 y un 5% hay agua, minerales inorgánicos, aire y otros organismos. Por supuesto que entre los organismos tenemos gusanos (que airean y oxigenan los entornos de las raíces de la planta). Las raíces solo respiran usando oxígeno para crecer ya que no hacen fotosíntesis. Es por eso que es tan importante que haya gusanos. Si los suelos son muy compactos, las plantas no crecen bien. La práctica agrícola del arado es simplemente lograr que la tierra se airee.

Además están las bacterias que excretan amoníaco y otros compuestos amínicos que hacen que el nitrógeno esté disponible para la planta.

El suelo está dividido en capas denominadas horizontes. Para las plantas, el horizonte A es el vital. En él se acumulan los compuestos orgánicos en parcial o total descomposición. Suelen tener colores oscuros que se aclaran en profundidad.

Debajo está el horizonte B. Hasta allí pueden llegar las raíces de la planta a aprovechar .

Debajo está el C que tiene restos de la roca madre. Más hacia abajo ya encontramos la roja madre como tal, a veces llamada horizonte D.

El tamaño de los horizontes depende de muchos factores ambientales entre los que se incluye la temperatura, la precipitación, la erosión, el arrastre, la composición orgánica superficial etc.

Los suelos arenosos tienen menos cargas negativas. Los suelos arcillosos tienen más silicatos y por lo tanto tienen más cargas negativas. Esto no solamente tiene que ver con la disponibilidad de agua. Los cationes también interactúan con las cargas negativas de las arcillas y por lo tanto éstas retienen más los iones que las arenas. En éstas últimas, la mayor parte de los iones se van por lixiviación.

El intercambio catiónico es la habilidad que tiene un suelo para retener los iones positivos en las mallas de silicatos por reemplazo de protones que son los que se van en la lixiviación.

La capacidad de intercambio catiónico de un suelo es una característica típica que se mide para un suelo. Cuanto mayor sea su capacidad de intercambio iónico, más rico será el suelo. Los suelos arcillosos tienen valores mucho más altos de intercambio catiónico.

Además, los ácidos orgánicos también retienen cationes. Los suelos arcillosos y con materia orgánica y que sean aireados serían los mejores suelos posibles.

El nitrato no suele quedarse ya que tiene cargas negativas. No es retenido y por lo tanto es lixiviado. Los agricultores saben eso y por lo tanto siempre se ponen formas reducidas del nitrógeno (amoníaco, urea) en vez de nitratos.

Es más fácil retener fosfatos y sulfatos ya que son menos solubles que los nitratos. Además suelen reaccionar con ciertos iones para precipitar y quedarse en el suelo. El peligro del exceso de retención es sin embargo que la planta no pueda tomar lo que haya en el suelo. Volvemos a hablar del equilibrio que debe haber en un suelo para que la planta tenga la disponibilidad de nutrientes necesaria. Ese equilibrio es muy frágil y difícil de mantener.

El PH del suelo es otro factor importantísimo. No solo determina el grado de solubilidad de nutrientes en el suelo sino también el tipo de microorganismos que podrán crecer. Elementos como el Mo no se ven afectados. Pero la disponibilidad de elementos como el Boro si se puede ver muy afectada por cambios muy someros del PH. Entre 5 y 6,5 los elementos suelen estar todos ellos disponibles. O sea que los PH algo ácidos son los mejores para que la planta los incorpore. A PHs más alcalinos hay otros nutrientes, como el Mn o el B que pueden volverse no disponibles para la planta.

Los metales pesados como el Cadmio, el Molibdeno o el Mercurio son contaminantes graves para algunas plantas. Pero hay plantas que sirven para hacer fitorremediación de suelos. El altramuz es muy típico y no solo crece sino que incorpora esos nutrientes en su estructura. Luego la solución típica es trasplantarlos o quemarlos, pero aún así el problema no se resuelve al 100%.

FACTORES BIÓTICOS DEL SUELO

En las raíces se da la absorción. Cuanto más desarrollado esté el sistema radicular mayor será su capacidad de absorción de nutrientes y por ello su capacidad de crecimiento. Dependiendo del tipo de planta en general la biomasa radicular es importante con respecto a la biomasa total. Sobre todo importa la extensión de esas raíces.

Unos americanos intentaron establecer el tamaño de las raíces de una planta de centeno y llegaron a la conclusión de que una planta de centeno, bien desarrollada, venía a tener del orden de 13 millones de raíces primarias y laterales. Claro que eso no es nada espectacular. Son grandes y pueden llegar a un metro. Si las poníamos una al lado de otra, la superficie de absorción generada era de alrededor de 200 metros cuadrados. O sea que, extrapolando esas dimensiones a un árbol de metros, el sistema radicular es asombroso.

Está afectado por muchos factores, como por ejemplo, la irrigación del suelo. Pueden estar más o menos desarrollados según diversos factores ambientales y el estrés ambiental general. Además se dan cambios morfológicos diversos.

El agua no se transporta por igual en todas las raíces. En la zona donde la raíz ya está formada, la película de suberina está tan desarrollada que el transporte no es óptimo. En la zona apical meristemática no llega el xilema por lo que hay menor transporte de agua. En la zona de la elongación el transporte iónico es máximo. Ciertos iones se absorben mejor en la zona apical que en el resto de la raíz. Salvo casos particulares y raros como éste, en general la absorción de iones por la raíz es mayor en las zonas de elongación, exactamente igual que el caso del agua.

Los iones como el Amonio se van incorporando, desde los más próximos a los más lejanos. Lo que se genera es un gradiente de concentración entre la zona próxima a la raíz y la zona distal. La consecuencia de ese gradiente de concentración es que los iones se irán difundiendo desde donde hay más hacia donde hay menos (zona más próxima). Ese gradiente hace que la planta chupe también los iones que estén más alejados. En algún momento se alcanzará en la zona circundante a la planta una concentración para el nutriente tan baja que la planta no tendrá otro remedio que crecer hacia zonas donde ese nutriente abunde. Se extenderá así poco a poco hasta alcanzar valores como los que midieron los americanos.

MICROORGANISMOS DEL SUELO

La mayor densidad está en los primeros 25 o 30 centímetros de suelo, en ese horizonte A, más o menos rico en materia orgánica. Fundamentalmente son hongos, bacterias y algas (en la zona más superficial). Dentro ya de ese horizonte A, la abundancia es mayor en las zonas más próximas a la raíz (rizosfera – raíz más 5 mm que rodea a las raíces). Esos microorganismos viven a expensas de los exudados de las raíces de las plantas. Esos exudados están ahí para congrega microorganismos. Esos suelen ser mayormente saprófitos heterótrofos que hacen una digestión fuera de la célula. Los restos de la digestión son aprovechables por la planta!

Más distribuidos por todo el suelo podemos encontrar quimiosintéticos y autotróficos + una dispersión de heterótrofos dependiendo de la disponibilidad local de materia aprovechable.

Ciertos organismos viven directamente asociados a las raíces de las plantas, en vez de estar simplemente alrededor. Esos organismos pueden ser EPIFITICOS (viven sobre la superficie) o ENDOFITICOS (penetran en el organismo y viven completamente o en parte dentro de la raíz). Los más interesantes desde el punto de

vista de la nutrición de la planta son éstos últimos.

Algunos tienen un efecto genérico no muy conocido. Muchas bacterias son endofíticas y producen lo que se conoce como GPR (sustancias promotoras de crecimiento – growth promoting r). Algunas son hormonas vegetales directamente. Otras pueden ser de diversos tipos. Lo que hacen es desarrollar el sistema radicular (estimulan su crecimiento con estas hormonas de crecimiento). Más crece la planta, más se nutre, más exudado y más se congregan las bacterias. El sistema es una retroalimentación MUY positiva para la planta.

Las bacterias del género *Rhizobium* se asocia con leguminosas típicamente, pero cuando en Egipto se inoculaba *Rhizobium* en el arroz se aumentaba el crecimiento. Se pensó que el *Rhizobium* fijaba nitrógeno como hacía con las leguminosas, pero descubrieron que no era eso lo que sucedía. Realmente el *Rhizobium* generaba GPRs que hacía que el crecimiento de las plantas fuera exacerbado. La productividad en grano aumentaba enormemente en consecuencia, derivado del crecimiento radicular.

Asociaciones para fijar N

Las asociaciones más conocidas son las que se dan con organismos fijadores de Nitrógeno atmosférico como se vió entre leguminosas y bacterias fijadoras.

Hay un verdadero lenguaje químico entre las plantas y las bacterias. Esos mensajes son muy abundantes en la naturaleza. Es un sistema muy eficiente. En los animales están las feromonas, pero en las plantas vemos que también hay cosas por el estilo. Entre las aves o insectos y las flores se dá! También se da entre las raíces (secreción de flavonoides) y las bacterias!

Los flavonoides se emiten en exudados para llamar a las bacterias fijadoras de Nitrógeno. Las bacterias reconocen esos flavonoides con una especificidad 1 a 1. Bacterias del género *rhizobium* que nodulan con el trébol no son eficientes con las lentejas o las judías. Y también viceversa. O sea que las asociaciones simbióticas son súper-específicas.

En las bacterias, los flavonoides activan los genes de nodulación. Esos genes promueven la formación de nodulos fijadores de N₂ en las raíces. Los factores NOD son heteropolisacáridos que secreta la bacteria en respuesta a los flavonoides y hace que la planta facilite la entrada de las bacterias a las raíces.

Hongos micorrízicos

Se creía que era muy raro, pero se cree ahora que es realmente supercomún. El 100% de las gimnospermas están micorrizadas. El 80% de las angiospermas pueden micorrizar. La verdadera excepción es que no haya una asociación entre hongos y plantas. Hay dos tipos generales de micorrizas: las ectotrópicas y las vesicular-arbusculares.

Están formadas por las hifas que se asocian en micelios y a su vez con las raíces de la planta. La biomasa del micelio en las ectotrópicas es enorme. Tienen casi la misma biomasa que la raíz. Son exclusivas de especies arbóreas: todas las gimnospermas y todas las angiospermas arbóreas. O sea que la biomasa de las raíces de un pino + la biomasa de los micelios asociados puede llegar a ser de toneladas. Las hifas pueden penetrar en los organismos pero nunca pasando de los espacios intercelulares. NUNCA PENETRAN DENTRO DE LAS CÉLULAS. Son características de las especies arbóreas.

Las vesiculares arbusculares se asocian a herbáceas. Son solo de angiospermas. La biomasa del micelio es mucho menor. Como mucho un 10% de la biomasa de la raíz. No recubren totalmente la raíz, están en parches. Las hifas se extienden hacia el suelo además de hacia dentro de los tejidos. En el suelo forman cuerpos fructíferos de clamidosporas. Penetran dentro de las raíces y SI PENETRAN DENTRO DE LAS CELULAS. Allí pueden dar origen bien a vesículas o a ramificaciones arborescentes (arbusculos).

Las micorrizas hacen que las plantas asociadas absorban 4 veces más fósforo que las plantas no micorrizadas. O sea que es esencial la micorrizogénesis. Además la entrada de otros nutrientes también se ve favorecida. Está claro que la importancia de estos hongos para las plantas es esencial.

TEMA 6 – TRANSPORTE DE NUTRIENTES

POTENCIAL QUIMICO

El potencial químico de una sustancia mide la energía que aporta un compuesto según su concentración en el compartimiento que lo contenga. El potencial de una sustancia es igual a su potencial estándar + $RT \ln C$

Si el soluto tiene carga se debe incluir el aporte energético de la carga.

Para un electrolito: Potencial químico del ión = potencial estándar + $RT \ln C + z \cdot F \cdot E$

F: constante de Faraday 96,490 Julios / mV.mol

Z: carga

E: potencial eléctrico

R: constante de los gases

T: temperatura ambiental en Kelvin

Existen, por tanto, dos componentes para el potencial químico de un ión: la componente química propiamente dicha y la componente eléctrica.

Cuando una sustancia pasa de un compartimiento A a un compartimiento B, la diferencia de potenciales químicos entre los dos compartimientos es clave para entender el comportamiento de la sustancia.

La variación del potencial químico = $RT \ln C_B / C_A$

La variación del potencial químico de un electrolito = $RT \ln C_B / C_A + zF \cdot E$

La variación del potencial químico establece el gradiente de difusión de una sustancia. Siempre las sustancias tienden a moverse a favor de su gradiente de potencial químico. Así puede que una sustancia se mueva en contra de su gradiente de concentración, sin aporte energético, si su gradiente eléctrico lo supera.

El transporte pasivo (no requiere aporte energético) siempre se da desde el sitio con mayor potencial al sitio con menor potencial.

El transporte activo (requiere aporte energético) siempre se da desde un compartimiento con menor potencial a uno con mayor potencial, es decir en contra de gradiente.

El transporte a través de las membranas biológicas está regulado por estas leyes termodinámicas simples. En las células, las membranas suelen ser selectivas para el paso de unos iones sobre otros. Eso implica un cambio en la permeabilidad para un tipo de ion. Esa permeabilidad es bidireccional.

Como consecuencia se generan potenciales de membrana. El Potencial de difusión se genera debido a la diferencia de potencial electroquímico en los lados de la membrana. Los iones se moverán dependiendo de su permeabilidad y hasta generar un equilibrio electroquímico a los lados de la membrana. Ese equilibrio se

genera cuando el flujo neto es cero. En ese estado de equilibrio, los iones se están moviendo. El potencial de difusión será cero en el estado de equilibrio.

El estado de equilibrio para un ión se alcanzará cuando el potencial electroquímico a un lado es igual al potencial de equilibrio del otro lado de la membrana. Pero el estado de equilibrio de una membrana no es nunca el estado de equilibrio para un ión ya que hay varios iones a ambos lados y cada uno tiene un estado de equilibrio determinado. El estado de equilibrio de la membrana es una puesta en común entre todos los estados de equilibrio de los iones y es resultante de los mismos.

El equilibrio electroquímico para un ión puede calcularse a partir de la siguiente manera:

Potencial externo = potencial interno

$$RT \ln C_e + z_f E_e = RT \ln C_i + z_f E_i$$

Derivada de la operación matemática se encuentra la ecuación de Nernst:

$$\Delta E = RT/zF \cdot \ln C_e/C_i$$

O sea que la diferencia de potencial eléctrico a través de la membrana resulta de la diferente concentración de electrolitos a los lados de la membrana y de la carga que lleven.

En un experimento clásico se vió que realmente la célula vegetal tiene un potencial de equilibrio de membrana muy alejado del equilibrio iónico de muchos cationes y aniones, excepto para el potasio. Los cationes estaban en mucho menor cantidad que lo esperado, y los aniones estaban en mucho mayor cantidad. Eso quiere decir que el transporte de aniones necesitará transporte activo, en contra de gradiente. Toda la salida de aniones será por difusión. El caso de los cationes es precisamente lo contrario, saldrán por transporte activo y entrarán por difusión.

Esto es una situación ideal aunque sea un experimento.

El tema es que está la vacuola que es un regulador osmótico del transporte muy importante. Normalmente el potasio se va a difundir porque está prácticamente en equilibrio excepto si la concentración externa es muy baja. En el caso del sodio, puede difundir sin problemas hasta la vacuola. Los procesos en general son similares en lo que concierne al transporte hasta la vacuola y hasta el exterior. Es como si fuera un medio externo dentro de la célula. El calcio tiene el mismo comportamiento que el sodio. Los aniones, por el contrario.

La ecuación de Goldman establece que el potencial eléctrico de membrana no solo depende de las concentraciones externas e internas, sino también de las permeabilidades diferenciales de la membrana para los diferentes iones. Solo considera las permeabilidades del potasio, el sodio y el cloro.

$$V_m = RT/F \cdot \ln (P_{K^+} \cdot C_{eK^+} + P_{Na^+} \cdot C_{eNa^+} + P_{Cl^-} \cdot C_{iCl^-}) / (P_{K^+} \cdot C_{iK^+} + P_{Na^+} \cdot C_{iNa^+} + P_{Cl^-} \cdot C_{eCl^-})$$

El potencial de difusión está entre -50 y -80 mV pero la célula tiene entre -110 y -130 mV de potencial. Siempre es negativo hacia el interior de la célula. O sea que el potencial de membrana de una célula vegetal es siempre más negativo que el potencial de difusión. O sea que hay otros factores, no solamente el potencial de difusión iónico, de los que depende el potencial real de membrana. Además debe ser un factor importante ya que es casi dos veces más negativo!!!!

Ese factor es una proton ATPasa que está expulsando iones hacia el exterior constantemente gastando ATP.

Se puede ver añadiendo un inhibidor clásico de la cadena de transporte electrónico como es el cianuro.

Después de añadir cianuro el potencial de membrana cambia rápidamente y se hace menos negativo llegando a un valor de -50 o -70 mV.

Comparando las permeabilidades relativas de las membranas biológicas con el de las bicapas lipídicas vemos que para ciertos compuestos como el oxígeno, el CO₂ o el glicerol es el mismo. Pero ciertos iones y el agua tienen una permeabilidad mayor en las membranas biológicas. Eso quiere decir que hay elementos proteicos que facilitan el paso de esas sustancias.

Esos elementos son los canales iónicos, las permeasas (carriers) y las bombas, para el caso de los iones. Para el agua existen poros acuosos que facilitan su paso.

En los canales siempre se da por difusión. En las permeasas se puede dar el transporte activo o pasivo. Las bombas son siempre de transporte activo. El transporte está acoplado a una fuente externa de energía, la más usual la hidrólisis del ATP, aunque pueden ser cadenas de transporte también.

Los canales de potasio están muy bien caracterizados en las células animales. Sobre todo los más estudiados son los que detectan voltaje y se abren o cierran dependiendo del potencial local de membrana. La señal que abre o cierra los poros suele ser siempre el voltaje, pero en animales también se da la apertura por unión a metabolitos (receptores ionotrópicos de neurotransmisores en las células nerviosas). Hoy se sabe que el ion se va uniendo en ciertas partes de la membrana. Están caracterizados por tener una rápida velocidad de transporte.

Transporte activo primario:

Las bombas dependientes de ATP o de cadenas transportadoras de electrones.

Transporte activo secundario:

En muchas permeasas, el transporte contragradiente se hace mediante un proceso de cotransporte. Se transportan simultáneamente dos elementos, uno contra gradiente y uno a favor de gradiente. En el sumatorio de los dos procesos, el balance energético debe ser favorable. Realmente se consume energía mediante la eliminación de diferencia de potencial químico para el elemento transportado a favor de gradiente.

Generalmente en las células vegetales se dan simportes o antiportes con PROTONES.

TIPOS DE PROTON ATPasas

- Tipo P: se unen al protón. Es sensible a la inhibición con vanadato (la distingue de los otros tipos)
- Tipo F: distribución en mitocondrias y cloroplastos.
- Tipo V: vacuolares

Las Bombas de Calcio y Protones – también se fosforilan en presencia de ATP (Atp-binding-casette)

La Protón Atpasa genera un gradiente electroquímico de protones que sirve para energizar el transporte de otros elementos, por transporte activo secundario (Cotransporte) – Cambios conformacionales

Cotransporte:

- Simporte
- Antiporte

Encontramos los dos en las células vegetales.

Ejemplo: Transporte de Glucosa. Se añade glucosa a la planta (lenteja de agua) lo que despolariza la membrana. Entran cargas positivas simultáneamente con la glucosa (simporte). Además el aumento del pH exterior de la célula. Una vez ha entrado la glucosa, la membrana expulsa los protones recibidos antes al medio externo para recuperar los valores iniciales.

CINETICA DEL TRANSPORTE

Ayuda a entender el transporte que se está produciendo.

- Transporte de libre difusión: el factor limitante para el transporte es la concentración. Además, un aumento de la concentración de soluto implica un aumento de la velocidad de transporte (siempre y cuando no se sature)
- Transporte con permeasas: cinética micaselinana – 2 fases. La velocidad aumenta con la concentración. Cuando hay saturación, la velocidad no aumenta aunque aumente el ligando. En éste caso la variable limitante es la cantidad de transportador.

En la realidad el transporte es doble o triple como por ejemplo la sacarosa (cinética de saturación): la cinética de entrada de sacarosa se da con un simporte de protones. Pero si aumenta la concentración de sacarosa, la cinética se vuelve lineal. Dependiendo de la cantidad de sacarosa obtendremos una cinética u otra.

Hay plantas que pueden tener varias cinéticas sobrepuestas dependiendo de la concentración exterior de ligando.

TRANSPORTE EN LA MEMBRANA PLASMATICA Y VACUOLAS

- Membrana plasmática:
- El punto clave es la protón atpasa (que funciona con gradiente electroquímico de protones). Es un simporte fundamentalmente.
- Otros elementos salen por antiporte también con protones.
- También hay canales para la salida de sacarosa y para el cloro, potasio y sodio para el mantenimiento de la homeostasis
- Vacuola:
- Con referencia a la membrana externa tiene un potencial de membrana de -90 mV. Con respecto al hialoplasma, tiene un potencial de membrana de $+20$ mV.
- Genera gradiente electroquímico de protones, transportados del hialoplasma al interior de la vacuola por una protón ATPasa (tipo V).
- Posee mecanismos de antiporte con cationes para regular el transporte entre ella y el hialoplasma. Los aniones pasan a través del canal.

HOMEOSTASIS DE POTENCIAL DE MEMBRANA

Todos los mecanismos mencionados anteriormente producen fluctuaciones en el potencial de membrana que tienen que ser corregidos por la célula para mantener el equilibrio. Cuando se despolariza la membrana la célula lo corrige sacando cargas positivas al exterior mediante un aumento de la actividad de la protón ATPasa y canales potasio. Cuando se hiperpolariza la célula introduce protones y cargas positivas y saca cargas negativas. La protón ATPasa prácticamente deja de funcionar. Abre canales de potasio para que entren cationes y abre canales de cloro para que éste salga.

Otro elemento clave en el proceso homeostático es el calcio. Para mantener bajos los niveles de calcio:

- antiporte de calcio con protones (se introduce calcio en la vacuola)
- Saca calcio al exterior a través de canales

Pero si la célula necesita introducir calcio al citoplasma, simplemente abre los canales de la membrana plasmática y vacuolar.

TRANSPORTE DE IONES EN LA RAIZ

Dos vías posibles:

- Vías de simplasto: tienen que atravesar dos membranas: una de entrada al simplasto y una de salida de este al xilema
- Vía del apoplasto: tiene que esquivar la banda de Kaspari, para lo que se introduce en el simplasto (después pueden continuar por éste o NO)

MECANISMOS:

Los potenciales electroquímicos son mayores en las raíces que en el suelo y el xilema así que:

- Los nutrientes entran por transporte activo
- Y Salen al xilema por difusión

TEMA 7 – Traslocación floémica: TRANSPORTE A TRAVÉS DEL FLOEMA

Hasta ahora vimos como las plantas vasculares toman el agua y las sales del suelo y la suben desde el suelo hasta las hojas a través del xilema. En las hojas tiene lugar la producción de materia orgánica (fotoasimilados) que se deben distribuir por toda la planta. Todas las partes no fotosintéticas necesitan un suministro de materia. Así que además del xilema, es necesario un sistema para el transporte de materia orgánica. Son vasos más periféricos.

No son células muertas, a diferencia del xilema. Las paredes no son gruesas ni lignificadas. Las células están eso sí: modificadas enormemente.

Los elementos básicos son los elementos CRIBOSOS. Presentan abundantes poros distribuidos por toda la célula. En el caso de las angiospermas, los elementos se disponen formando tubos CRIBOSOS de forma que las paredes transversales entre los sucesivos elementos estén en contacto. Los poros son de mayor diámetro en esas paredes de conexión transversal. Se forman así placas CRIBOSAS exclusivas de las angiospermas. Son células vivas con hialoplasma, con pared (nunca lignificadas), etc. Pero el interior ha sufrido modificaciones. Carecen de núcleo o de vacuola (eso se ve a simple vista). No tienen ribosomas ni citoesqueleto. Tienen solo retículo liso, mitocondrias y cloroplastos. Todos los procesos nucleares de información están impedidos, o sea que no sintetizan sus propias proteínas. Aún así abunda la proteína P, una proteína que sirve para taponar las puntaduras en el caso de que el elemento criboso sea defectuoso, bien porque se haya quebrado y haya un escape, bien porque su génesis fue incorrecta. Además de la proteína P, otro elemento taponar las puntaduras (elemento glucídico: CALLOSA).

De donde viene la proteína P? Los elementos cribosos siempre están acompañados por las CELULAS DE COMPAÑÍA. Son las encargadas de suministrarles energía, proteínas y todos los elementos que necesitan para mantener con vida el hialoplasma. Esas células de compañía son células morfológicamente normales que presentan abundantes plasmodesmos que las conectan con el elemento criboso que acompañan. Están perfectamente interconexionados. El conjunto de célula de compañía + elemento criboso sería la unidad funcional del floema. Son células hermanas en las angiospermas (o sea que provienen de la misma división celular). En los tallos, los elementos son más grandes que las células de compañía. La situación se invierte en

las hojas.

En las gimnospermas, los elementos cribosos no se disponen en tubos. No hay placas cribosas que los conecten unos con otros. Aparecen en los poros algunas estructuras membranosas. No hay proteína P, pero sí hay CALLOSA. En general las células de compañía no son células hermanas de los elementos cribosos, pero sí las hay.

Hay a veces más de 1 célula de compañía por elemento criboso. Se distinguen 3 tipos. Las células ordinarias, las de transferencia y las intermediarias.

Los tres son células completas y bien formadas. Tienen pequeñas diferencias morfológicas en cuanto a la disposición de los tilacoides en los cloroplastos. Lo fundamental son las diferencias en cuanto a las conexiones plasmodésmicas con los diferentes tejidos de la hoja.

En las ordinarias y de transferencia prácticamente no hay plasmodesmos entre la célula de compañía y otros tejidos de la hoja. Entonces solo tienen una conexión apoplástica a través de las paredes celulares.

En las intermediarias, sí hay en general conexiones plasmodésmicas con otras células del resto de tejidos, con lo cual, la conexión de la unidad funcional con los tejidos de la hoja será una conexión simplástica.

Las de transferencia tienen invaginaciones por el lado opuesto de donde está la unión con el elemento criboso. Esas invaginaciones hacen que la superficie de contacto con las células próximas sea mayor debido a esas invaginaciones.

Composición del floema (la savia elaborada)

Varía mucho de unas plantas a otras. También depende del estado y el momento fisiológico. A grandes rasgos, en características generales, el pH es alcalino, más que el citoplasma de las células. Además es más alcalino que el xilema (pH 5,5 o 6,5). El floema por su propia naturaleza tiene una osmolaridad altísima porque tiene muchos compuestos de bajo peso molecular disueltos. Además puede tener un potencial osmótico de hasta -3 . La viscosidad es alta, mucho más que la del xilema. La proporción de materia seca es alta (contenido en agua es bajo). Más del 10% del floema es materia seca. En el xilema apenas llega al 1%. El componente básico es la sacarosa. Hay algunos aminoácidos (transporte de nitrógeno) – muy poco amonio y nitrato viaja por el floema. Hay abundancia de ácidos orgánicos y proteínas. También viajan hormonas y sales minerales. Hay más cationes que aniones y el más abundante es el potasio, con bastante diferencia. Así que es un líquido rico en sales, materia orgánica, algo alcalino (pH = 8) y viscoso.

No tiene monosacáridos con grupos carbonilos libres (monosacáridos ácidos o reductores). Eso es porque es poco útil transportar monosacáridos tan reactivos. En las plantas con células de compañía intermediarias, se encuentran además de la sacarosa otros compuestos derivados como la Rafinosa, la Estequiosa y la Verbacosa. Son moléculas de sacarosa modificadas por la unión de una, dos o tres moléculas de galactosa.

Los aminoácidos que se transportan son el glutámico y la glutamina y la asparagina y aspartato. Casi todo el nitrógeno es nitrógeno orgánico. En el caso de las leguminosas que estén viviendo con bacterias simbióticas fijadoras, hay otros compuestos que transportan nitrógeno, como la citrulina, la alantoina o el ácido alantóico (UREÍDOS).

El movimiento no es unidireccional. ES BIDIRECCIONAL (puede ir en sentido ascendente o descendente). En unos elementos irá en un sentido. En otros irá en el opuesto. Nunca son simultáneas las dos direcciones en un mismo tubo.

El flujo va a ir siempre en el floema desde las zonas de producción o liberación de la materia orgánica

(FUENTES) hasta zonas de consumo y almacén de materia orgánica (SUMIDEROS).

Las fuentes son lógicamente en las hojas y en los lugares donde hay almacén de materia orgánica. Esas son las hojas maduras, verdes ya desarrolladas. También en las raíces y otras zonas de almacén. En las plantas bienales, que almacenan en las raíces napiformes materia orgánica durante el primer año que se consume en el segundo año (año de crecimiento), tenemos un ejemplo de fuentes a partir de zonas de acumulación y reserva de materia orgánica.

Los sumideros son los ápices de crecimiento, las hojas inmaduras, las raíces, los frutos y las zonas de reserva en los períodos cuando se construyen los almacenes.

Los sumideros usan siempre las fuentes más cercanas. Eso se ve cuando se experimenta con carbono radiactivo. Se marca el CO₂ y se le suministra a las fuentes. Se verifica que solo aparece radiactividad en los sumideros cercanos.

FASES DEL MOVIMIENTO A TRAVES DEL FLOEMA

CARGA

La carga del floema a partir de las fuentes es la primer parte.

Las fuentes serían las células del mesófilo. La conexión es vía simplastos hasta las células de la vaina y luego hasta las células parenquimáticas del floema. Entonces hay dos mecanismos de carga según el tipo de tubo criboso que tengamos. Si tenemos células de compañía ordinarias o de transferencia, la carga del elemento criboso será apoplástica. Si las células de compañía son intermediarias, la carga será simplástica, a través de plasmodesmos.

En el caso de la vía apoplástica, cuántas membranas tiene que atravesar al sacarosa para pasar desde el parénquima del floema hasta la célula de compañía? Dos! La salida al apoplasto y la entrada a la célula de compañía. Siempre la concentración es más alta en la célula parenquimática del floema que en el apoplasto. La salida es por difusión y va a favor de gradiente (mecanismo pasivo). Pero la concentración en el apoplasto es mucho menor que la de sacarosa en el tubo criboso, por lo tanto, será un transporte activo.

El transporte se da por un simporte con protones. La concentración de protones es baja en el plasma celular del tubo criboso (pH = 8,2), por eso se puede usar el simporte.

La protón ATPasa de la célula acompañante vuelve a bombear los protones al apoplasto gastando ATP. El consumo final es de 1 molécula de ATP (se rompe en ATP + Pi) por cada sacarosa que debe ser transportada.

La vía simplástica se da a través de plasmodesmos. Es solo en plantas con células de compañía de tipo intermediarias. Las moléculas de sacarosa difunden a través de los plasmodesmos hasta el elemento criboso. Es frecuente que además de sacarosa en el floema abunden oligosacáridos derivados de la sacarosa que sirven para mantener el gradiente de sacarosa para permitir la difusión en el sentido correcto.

DESCARGA

La variabilidad de sumideros es mayor que la de fuentes, por lo tanto los procesos de descarga serán también muy diversos. Básicamente encontramos también dos vías: la simplástica y la apoplástica.

1 – Simplástica – Conexión a través de plasmodesmos con el sumidero final. El transporte se da por difusión de sacarosa y demás elementos. Son generalmente zonas de crecimiento activo que están utilizando constantemente sacarosa para crecer y por lo tanto crean gradientes lo suficientemente favorables como para

funcionar por la vía simplástica.

2 – Apoplástica – En algunas fases el floema discurre por el apoplasto. Esto puede ser inmediatamente después de la salida, en un punto intermedio de la descarga, o al final. Esto implica que hay que atravesar nuevamente 2 membranas, lo cual implica un gasto energético considerado para el paso de la sacarosa desde el apoplasto hasta la célula receptora.

Posibles destinos de la sacarosa – Es importante que ésta se metabolice y no se acumule en el sumidero ya que eso impediría la formación de gradientes y por lo tanto el transporte se vería entorpecido. Se desdobra generalmente en fructosa y glucosa. Esta hidrólisis se puede dar directamente en el apoplasto, en el hialoplasma o recién en la vacuola.

TRASLOCACION

La difusión es un proceso muy lento. Según la Ley de Fick, el tiempo de difusión dependerá de la distancia que debe ser recorrida al cuadrado, dividida por el coeficiente de difusión que es $10E-09$ m² sobre segundo. Por ello, como el movimiento de difusión es muy lento y solo sirve a distancias cortas, el movimiento a través del floema de los nutrientes debe darse por flujo masivo primero. Ese flujo masivo se consigue a través de diferencias de potenciales de presión que ya hemos visto. La Presión osmótica de los nutrientes es mayor en las fuentes que en los sumideros. Ésta es la razón por la cual la diferencia de potencial hace favorable el paso de sustancias desde las fuentes a los sumideros a través de todo el sistema floemático. Pero eso mete mucho agua en el floema, por traslocación. Si solo existiera este proceso el floema sería un tejido muy turgente. Pero esa entrada de agua se compensa con la salida de agua en los sumideros. Ahora lo veremos.

En los sumideros ocurre lo contrario. Ahí sale el agua del floema, junto con los nutrientes y va a parar a las células que los necesitan. La presión de turgencia en esas zonas disminuirá. Pero en angiospermas ésta hipótesis no es válida ya que nunca hay movimientos por difusión fundamentalmente dado a que no hay membranas dentro de los tubos floemáticos. Puesto que en las gimnospermas sí hay membranas, el transporte debería ser completamente por difusión. Pero esto tampoco es así, negro o blanco. El agua no puede ir contra gradiente. El flujo masivo se genera igualmente gracias a las diferencias de potenciales hídricos y punto. (DUDAS!!!!!!)

DESTINO DE LOS FOTOASIMILADOS

Par del Carbono se queda en el cloroplasto y otra parte pasa al hialoplasma. El elemento que regula esos procesos – Allocation and Partioning. La distribución del carbono dentro de la célula se llama Allocation. La distribución dentro de la planta se llama Partioning. Hay cierta competencia entonces entre los sumideros y la fijación de carbono. Eso se mide con un parámetro llamado la Fuerza del Sumidero. Esa fuerza dependerá de esos valores de competencia entre los sumideros y otras zonas de la planta fijadoras de carbono.

PARTE II – BIOQUIMICA Y METABOLISMO VEGETAL

TEMA 8 – Luz y fotosíntesis – visión general de la fotosíntesis, naturaleza de la luz, absorción de luz por las moléculas y destino de la energía absorbida. Pigmentos fotosintéticos.

La fotosíntesis es un proceso de traducción de energía lumínica en energía química. Se puede formalizar como $CO_2 + 2 H_2A - CH_2O + 2^a + H_2O$. Para esto, el compuesto donador de electrones cambia. Según la fotosíntesis sea oxigénica o anoxigénica, tendremos un donador diferente. En la oxigénica, el donador de electrones es el agua, o sea que $A = O$. $CO_2 +$ agua dará $MOrg + O_2 + H_2O$. En la anoxigénica, el donador de electrones puede ser cualquier cosa.

La fotosíntesis oxigénica tiene 2000 millones de años y data de las cianobacterias. Hoy en día, las plantas, las

algas y las cianobacterias son todos organismos que usan la fotosíntesis oxigénica.

La fotosíntesis sulfogénica es un tipo de fotosíntesis anoxigénica que usa el sulfhídrico como donador de electrones. Se produce como resultado un depósito externo de azufre. Todas las bacterias fotosintéticas, excepto las cianobacterias son anoxigénicas.

Es un proceso endergónico, o sea que requiere un gasto de energía de 2840 kJ por mol de glucosa. Hace falta toda esa energía a partir del aprovechamiento de luz para crear glucosa. Entonces la ecuación se completa con el aporte energético en forma de fotones.

El oxígeno producido en fotosíntesis procede del agua. Eso que hoy parece tan obvio, hace decenios provocó un quilombo bárbaro en el mundo de la bioquímica vegetal. Uno de los padres de la biología vegetal se murió pensando (el pobre señor Barbu se murió en los años 60) que provenía del dióxido de carbono. El señor Barbu era muy excitable, como una neurona postsináptica

El cloroplasto es el orgánulo donde se da parte de la fotosíntesis en los vegetales oxigénicos. Tiene 3 membranas y tres espacios. Las tres membranas son la externa, la interna y la tilacoidal. Los espacios son el estroma, el citoplasma y el espacio tilacoidal.

Las dos fases, lumínica y no lumínica dependen de la luz. O sea que realmente no hay la llamada fase oscura y fase clara. Es más correcto hablar de una fase de OXIDACION DEL AGUA y una fase de REDUCCION DEL CARBONO.

FASE DE OXIDACION DEL AGUA

Se desarrolla en las membranas tilacoidales. En esa fase el agua se oxida a oxígeno y los electrones que provienen del agua son recogidos por el NADP⁺ (un transportador de electrones y protones del agua). En esa fase se libera suficiente energía como para que se forme ATP a partir del ADP + Pi.

FASE DE REDUCCION DEL CO₂

El carbono se reduce hasta carbono inorgánico. Para ello necesita energía que se obtiene a partir de la rotura del enlace fosfato del ATP y el poder reductor del NADPH.

LAS DOS FASES SE PUEDEN SEPARAR SUMINISTRANDO UN ACEPTOR DE ELECTRONES DIFERENTE DEL CO₂. SE PUEDE DE ESA MANERA OBSERVAR LA REACCION LUMINICA EN LA LLAMADA REACCION DE HILL. SE AÑADE FERRICIANURO QUE ES EN ULTIMA INSTANCIA HIERRO OXIDADO. USANDO LOS ELECTRONES DE LA OXIDACION DEL AGUA, SE GENERA UN COMPUESTO COLORADO CON LO CUAL SE PUEDE MEDIR LA TASA FOTOSINTÉTICA.

FASE DE OXIDACION DEL AGUA

- 1) ABSORCION DE ENERGIA LUMINICA POR MOLECULAS CAPTADORAS
- 2) TRADUCCION DE LA ENERGIA EN POTENCIAL REDOX (acto fotoquímico)
- 3) TRANSPORTE DE ELECTRONES PARA GENERAR EL NADPH
- 4) FORMACION DEL ATP (fotofosforilación)

ABSORCION DE LUZ

La pequeña franja de luz visible se caracteriza por estar entre 400 y 800 nanómetros de longitud de onda.

Las plantas utilizan ondas de luz que están fundamentalmente en el visible. Las partículas de luz de las ondas luminosas son los fotones. Cada fotón tiene asociada una determinada energía que viene dada por la ecuación de Planck:

Energía = constante de Planck . frecuencia

Pero la frecuencia es igual a la velocidad de la luz dividida por la longitud de la onda de esa luz ($C = 3 \times 10^8$ m/s) Con lo cual, la ecuación completa sería:

Energía = $h \cdot C /$ longitud de onda

Cada fotón está caracterizado por una cierta energía. Un fotón cargado con una cierta energía define un cuanto. La luz entonces realmente está dividida en cuantos móviles.

Para saber la energía que tienen los fotones en un paquete de cuantos, basta con aplicar la ecuación de Planck ($h = 6,62 \cdot 10^{-34}$ J.s).

Finalmente, cada longitud de onda tiene una energía asociada.

Cuando una molécula absorbe un cuanto, pasa de un estado basal a un estado excitado, producto del cambio en la distribución de los electrones de valencia. Uno de los electrones de valencia va a dar un salto y pasa de su orbital basal a un orbital de mayor energía. Es decir, los electrones absorben la energía de los cuantos y pasan a orbitales más alejados del núcleo y con mayor contenido energético.

Pero las leyes de la mecánica cuántica imponen una restricción para los saltos electrónicos, de manera que para que se produzca el salto electrónico, se debe producir que la energía del fotón sea la diferencia de energía entre la del estado basal y la del estado excitado. Si hay un exceso de más o de menos, el electrón volverá a su estado original o se irá volando por ahí!!!

Por lo tanto, una molécula no puede absorber cualquier energía lumínica, sino solo la correspondiente a las longitudes de onda para las cuales sea posible un salto de electrones dentro de sus electrones de valencia. Entonces, ciertas longitudes de onda pueden absorberse y ciertas otras no.

Para la clorofila, ella puede absorber, de entre todo el espectro visible, solo las luces rojas y azules. No puede absorber la luz amarilla y la verde. Eso es porque en la clorofila, esas luces no producen cambios electrónicos que los hagan pasar a estados excitados. En el caso de una molécula con orbitales moleculares complejos, hay una serie de estados excitados fundamentales y una serie de subestados posibles.

Es decir que en una molécula hay muchas posibilidades de absorción de energía, hay muchas longitudes de onda que se pueden absorber, siempre dependiendo del tipo y número de enlaces de la molécula.

Las longitudes cercanas a los 650 corresponden a las energías que pueden crear estados excitados. Esos subestados están generados por diferentes energías además de la lumínica como la rotacional, la vibracional, etc. Entonces todo lo que esté cerca de 650 se podrá absorber en el caso de la clorofila. Eso corresponde al color rojo.

La otra zona de excitación posible está cerca del 450 y corresponde a las luces azules que son de mayor energía que las luces rojas. Si una molécula de clorofila recibe energía de luz azul, saltará a un orbital energético de mayor energía que si recibe energía de luz roja. La luz amarilla o verde están en el medio, pero no pueden ser absorbidas, por lo que se repelen (POR ESO LAS PLANTITAS SON VERDES!!!).

Estos estados de excitación que se producen se llaman estados de excitación singletes. Eso es porque los electrones excitados mantienen el espín electrónico que tenían en el orbital de donde salieron (el correspondiente al par que formaba en su orbital completo). Tienen una vida media de $10E-09$ segundos, con lo cual se mantienen en el singlete durante muy poco tiempo hasta volver a su estado basal.

Cuando una molécula de clorofila absorbe energía adecuada formará el singlete. Inmediatamente después ese estado tiende a desexcitarse y el electrón vuelve al estado basal, pero hay cuatro posibles vías para desexcitarse.

Prácticamente en todos los casos se produce primero una relajación, que es simplemente una pérdida de energía vibracional que se mide en forma de calor y que hace que el electrón pase desde el orbital en el subestado donde fue a parar por excitación a otro orbital de excitación pero de menor energía. Se emite calor por relajación en el proceso de desexcitación. La desexcitación se da solo hasta el estado excitado de la luz roja. Una vez producida la relajación y llegado hasta el singlete de menor energía, una de las posibles vías es emitir un fotón, proceso conocido como fluorescencia. El fotón emitido va a tener menor energía que el fotón del cual se absorbió la energía. Eso es porque parte de la energía se disipó en forma de calor por relajación al perderse energía vibracional.

La otra vía posible es la fosforescencia. Para ello, primero se debe llegar hasta el llamado triplete, un estado energético más bajo que el del primer singlete en el que se cambia el sentido del spin del electrón. Se pasa entonces a este estado intermedio y muy efímero. Recién ahí se produce la fosforescencia. Esto es menos frecuente que la fluorescencia.

Las otras dos vías son las importantes para la fotosíntesis.

Una se da entre los pigmentos antena de los parches fotosintéticos en las membranas tilacoidales. Se llama transferencia excitónica. Consiste en que cuando una molécula pasa a un estado excitado, la vuelta la hace transfiriendo la energía vibracional a otra molécula mediante resonancia electromagnética. Entonces, la segunda molécula pasa a un estado excitado y así sucesivamente entre todos los pigmentos antena. Así se pasa de las clorofilas a otras clorofilas o a las ficobiliproteínas o a los carotenoides y otras moléculas excitables de las membranas tilacoidales.

La última vía es la transferencia fotoquímica. El electrón no vuelve al estado basal sino que pasa a un orbital excitado y desde ese orbital es recogido por otra molécula aceptora de electrones que es más avida por el electrón que la molécula en estado basal. Entonces se da directamente la transferencia electrónica.

La molécula de clorofila es el donador que se oxidará y el compuesto aceptor se reducirá. En ese acto fotoquímico la energía lumínica se ha transformado en energía redox-química.

Desde el punto de vista estricto de mecanismos, ESTO ES LA FOTOSINTESIS VERDADERA! Luego esa energía se pasará de compuesto en compuesto hasta llegar al compuesto de carbono orgánico, pero la verdadera fotosíntesis es esta. Eso se da en los centros de reacción de los parches fotosintéticos de las membranas tilacoidales. Es importante destacar que en este caso no se vuelve estrictamente al caso inicial sino que ahora los compuestos han cambiado a diferencia de los otros tres casos.

La transferencia excitónica y la fotoquímica requieren que las moléculas alrededor de la molécula excitada estén en estados basales. Entonces, el tiempo que se mantenga el electrón excitado en el estado de singlete dependerá de las condiciones ambientales electrónicas de su entorno bioquímico. Esa es otra diferencia importantísima.

La molécula excitada siempre tiene más potencial que la no excitada. La molécula excitada con más potencial electronegativo será entonces la que ceda el electrón?

La molécula de clorofila A se oxidará de esta manera y cederá el electrón en los centros reactivos.

En condiciones fisiológicas de iluminación, la mayor parte de la energía absorbida irá a fotosíntesis. El porcentaje que se perderá por fluorescencia o fosforescencia será pequeño cuando hay luz. El parámetro que sirve para indicar el rendimiento del proceso es lo que se llama el RENDIMIENTO CUÁNTICO (letra griega PHI). Ese número sale de dividir el número de productos fotoquímicos formados (es decir número de actos fotoquímicos que han tenido lugar) por el número de cuantos de luz absorbidos. En condiciones óptimas, el rendimiento cuántico es de 1. Eso implica que todos los cuantos absorbidos dan lugar a transferencia fotoquímica. Eso es irreal, aunque generalmente una planta en buenas condiciones de agua pueden tener sí una PHI de 0,95, muy cercana a ese valor ideal. El restante 5% se iría en disipación.

El paso del resto de energía radiante a energía química, como dijimos, se produce en los centros de reacción. O sea que la antena es realmente un canalizador de energía de radiación que pasa la energía hasta los centros de reacción mediante resonancia electromagnética de electrones conjugados.

CUALES SON LOS PIGMENTOS FOTOSINTETICOS?

Hay tres grandes tipos:

- Clorofilas (bacterioclorofilas – a, b, c, d, e, g – y euclorofilas – a, b, c, d)
- Carotenoides
- Ficobiliproteínas

El pigmento clave en la fotosíntesis oxigénica es la clorofila A. Además, los organismos fotosintéticos oxigénicos pueden tener otras formas de clorofila que tienen un funcionamiento secundario anexo. En las algas verdes la clorofila b es la que acompaña. En las algas pardas, es la c. En las rojas, es la d. En las cianobacterias solo hay clorofila a. Los proclorofitos (los más similares al plasto) hay a y b.

En el resto de las bacterias, nunca hay clorofila, sino bacterioclorofilas. Su diferencia es pequeña.

La más ampliamente distribuida es la A, que está casi en todos los grupos fotosintéticos de bacterias. Las heliobacterias son las únicas que no tienen la a. Además de las clorofilas, todos los organismos fotosintéticos tienen distintos tipos de carotenoides. Solo dos grupos fotosintéticos del reino biótico tienen ficobiliproteínas: las algas rojas y las cianobacterias.

Como vemos, solo con clorofila o bacterioclorofila A y carotenoides se puede hacer fotosíntesis. Es obvio que la clorofila y los carotenoides son lo esencial.

Todos los pigmentos tienen algo en común en su estructura química. Tienen dobles enlaces conjugados.

En el caso de las clorofilas, tenemos un núcleo tetrapirrólico (cuatro anillos pirrólicos asociados entre sí en un anillo de porfirina similar al grupo hemo de las hemoglobinas o a los grupos porfirínicos de los citocromos). La diferencia del núcleo pirrólico es que está asociado con un átomo de Magnesio en la clorofila, cosa que en el resto de los pigmentos suele ser el Hierro. Luego, además del núcleo porfirínico tenemos la cadena de fitol, una cola hidrófoba que tienen todas las clorofilas. Esa cadena de fitol está formada por isoprenos.

Entre la bacterioclorofila A y la clorofila A no hay más que algunos radicales hidrogenados u oxigenados. Esas pequeñas diferencias químicas se diferencian en unos cambios de la capacidad de absorción de luz. Hace que haya unas propiedades espectrales diferentes, es decir, absorben diferentes longitudes de onda.

La clorofila b es también similar a la A, solo cambia porque un radical metilo es oximetilo en la B.

Los máximos de absorción de la clorofila A es en el violeta y cerca del rojo. El de la B es entre violeta y azul y entre el naranja y el rojo. En la bacterioclorofila, el pico está en el UV y el IR. Sin embargo, se ve un cierto solapamiento en otras zonas que no son los picos.

Los carotenoides son tetraterpenos formados por isoprenos (estructuras orgánicas comunes con enlaces dobles conjugados). Esa energía y esos electrones resonantes son los que le permiten a estas moléculas absorber la energía de los cuantos. Hay dos grandes grupos: los carotenos y las xantofilas (las que terminan en –xantina, –nina, etc.)

En los extremos de la cadena de terpenos, los carotenoides tienen unos ciclohexenos con radicales metilos en diferentes posiciones. Esos anillos de los extremos son los que diferencian unos carotenoides de otros. En las xantofilas los radicales de los ciclohexanos están algo oxidados, cosa que no sucede en los carotenos.

Las diferencias espectrales son pequeñas también. Los carotenoides tienen 3 picos en las regiones entre el ultravioleta, el violeta y el azul. Pueden transferir la energía a las clorofilas de las antenas, pero su papel fundamental no es de fotosíntesis, sino que están ahí más que nada para proteger al aparato fotosintético del exceso de radiación de onda corta. Recordemos que las plantas están enfrentándose constantemente a radiaciones altas con mucha intensidad lumínica (están todo el día expuestas al sol). Ese exceso de generación de poder reductor puede ser venenoso (el NADPH de hecho lo es). Por eso están los carotenoides.

El último grupo son las ficobiliproteínas. Son las únicas que aparecen covalentemente unidas a proteínas. Las clorofilas y los carotenoides están asociados a proteínas pero por uniones débiles (al igual que los grupos hemo o muchos transportadores de electrones de la cadena); esa es la diferencia principal.

Son tres tipos fundamentales: la ficocianinas, la aloficocianinas y las ficoeritrinas. Son familias de proteínas. Las ficocianinas y las aloficocianinas tienen un color azulado. Las ficoeritrinas tienen un color rojo fuerte (de ahí lo de cyan- y eritr-). Los compuestos asociados a estas proteínas, que les dan las características de absorción se llaman ficobilinas. Son las ficocianobilinas y las ficoeritrobilinas.

Son anillos tetrapirrólicos abiertos, no cerrados como en el caso del grupo hemo o la clorofila. Son también 4 anillos. Están siempre unidos a la proteína por un enlace de azufre (tiol) desde un residuo de Cisteína.

Hay distintos tipos de ficobiliproteínas que se forman por cadenas proteicas diferentes que además están unidas a un distinto número de ficobilinas en lugares diferentes de la cadena.

Generalmente absorben en la zona del espectro visible donde no absorben las clorofilas (o sea las luces naranjas, amarillas y verdes).

Permite a las algas rojas y a las cianobacterias usar mejor el espectro visible. O sea que, combinando la clorofila A y los carotenoides con las ficobiliproteínas, pueden aprovechar todo el espectro visible. Se localizarán en las zonas más altas de una columna lacustre y hacen que poca radiación alcance los niveles inferiores.

Las ficobiliproteínas normalmente se asocian en unas estructuras que tienen forma semidiscoidal. Se asocian a las membranas tilacoidales por fuera mirando hacia el estroma de los cloroplastos. Se llaman Ficobilisomas. Siempre se organizan con un núcleo central de aloficocianina, por fuera con ficocianina y en la parte más externa la ficoeritrina. Esto es obviamente en los casos típicos de las cianobacterias y las rojas.

TEMA 9 – PIGMENTOS Y CADENA DE TRANSPORTE

Los pigmentos se asociarán y se situarán en las membranas tilacoidales que es donde se desarrollará la fase lumínica de la fotosíntesis.

Situémonos en la membrana tilacoidal y veamos los elementos que tenemos ahí y que participan de la oxidación del agua.

Lípidos de las membranas tilacoidales:

Están formados por una bicapa lipídica con las proteínas inmersas en el famoso mosaico fluido. Pero la composición lipídica es diferente de la de cualquier otra membrana biológica. La mayoría de las membranas, los lípidos dominantes son los fosfolípidos. Pero en la membrana tilacoidal los fosfolípidos son minoritarios. El 80% son galactalípidos. Hay un 10% de sulfolípidos que no son muy frecuentes en otras membranas y un 10% restante de fosfolípidos.

No solo es la abundancia de galactolípidos lo curioso, sino también porque predominan los ácidos grasos insaturados que son los que dotan de mayor fluidez a las membranas.

Inmersos hay cuatro grandes complejos macromoleculares: el llamado FOTOSISTEMA II, el complejo de citocromos B6F, el FOTOSISTEMA I y el complejo ATPasa.

Aunque no vamos a hablar de la fotosíntesis anoxigénica cabe destacar que en las bacterias con fotosíntesis anoxigénica solo hay un único fotosistema. Los únicos organismos fotosintéticos con dos fotosistemas son los que tienen fotosíntesis oxigénica. Las bacterias púrpuras, verdes, etc, tienen solo uno de los dos fotosistemas.

Además de los elementos inmersos, hay otra serie de elementos que participan en el transporte electrónico y que conectan unos complejos con otros. Esos elementos móviles que se desplazan por la membrana son las quinonas (PLASTOQUINONA) que conectan el FII con el B6F, las cianinas (PLASTOCIANINA) que conectan el B6F con el FI, la ferredoxina que recoge electrones del FI y se los cede a otro elemento móvil que es la Ferredoxin-NADP⁺ oxidoreductasa (FNR). La FNR se los cede finalmente al NADP⁺.

Como consecuencia del transporte electrónico a través de la cadena, se acumularán protones en el espacio intratilacoidal. El paso de los protones de vuelta al estroma a través de la ATPasa proveerá la energía necesaria para la creación de un enlace de alta energía en el ATP.

EL FOTOSISTEMA II

También conocido como H₂O-PQ Oxidorreductasa.

Las proteínas más interesantes con la D1 y la D2 que es a donde está asociado el centro de reacción del PSII (P680). A estas también están asociados otros receptores y donadores de electrones que participan en el proceso.

La clorofila del centro de reacción (CR) es de tipo A (máximo de absorción a 680). Tiene una longitud de onda mayor que otras clorofilas lo que le permite recibir energía de excitación de otra pigmentación con máximos de absorción menores.

Además de estos elementos, el PSII, tiene 3 cadenas polipeptídicas conocidas como OXYGEN ENVOLVING COMPLEX (OEC) donde se oxida el agua y que se caracteriza por el Clúster-Mn (4 átomos de Manganeso). También hay cadenas CP (CP43 y 47), asociadas a moléculas de clorofila de la antena (antena intrínseca del propio centro de reacción=).

El resto del complejo antena es el Light Harvesting Complex II (LHC-II). Su asociación al PSII no es permanente. Los LHC-II están formados también por cadenas polipeptídicas asociadas a pigmentos (160 moléculas de clorofila A, 70 de clorofila B, 10 de beta-caroteno, 3 de luteína, 4 violaxantinas y 7 neoxantinas)

EL FOTOSISTEMA I

También conocido como Plastocianin–Ferredoxin–Oxidoreductasa. Formado por cadenas polipeptídicas de las cuales las más importantes son la PsaA y PsaB o simplemente llamadas A y B. Aquí es donde está asociado el CR (P700) que consiste en una clorofila A (de máximo de absorción a 700nm) que también puede recibir energía de excitación de pigmentos con máximos de absorción a menores longitudes de onda.

Hay una proteína D periférica en el lado del estroma que es la que se asocia a la Fd.

Luego hay una cadena polipeptídica F en el lado del lumen a la que se le asocia la Plastocianina.

El Light Harvesting Complex I está asociado permanentemente al PSI y está formado por cadenas polipeptídicas también asociadas a pigmentos (190 clorofilas A, 24 clorofilas B, 27 beta-carotenos, 12 luteínas, 9 violaxantinas y 2 neoxantinas).

COMPLEJO CITOCROMOS B6F

También conocido como Plastoquinona–Plastocianin–Oxidoreductasa. Hay 3 elementos funcionales clave. Está el citocromo b6, el citocromo f y la llamada proteína RIESKE donde se encuentra el centro activo ferro–sulfúrico.

COMPLEJOS IMPLICADOS EN EL TRANSPORTE DE ELECTRONES Y PROTONES

Las Plastoquinonas son elementos móviles derivados de los terpenos. Tienen un anillo aromático con grupos funcionales ceto. Consta de 2 estados de reducción: el estado semiquinona con coger 1 electrón y el estado de hidroquinona cuando coge un segundo electrón y 2 protones. Conecta el PSII con el complejo de citocromos y se desplaza por la bicapa lipídica (coeficiente de difusión $10E06$ cm/seg)

La Plastocianina: se mueve por el lumen del espacio tilacoidal. Tienen bajo peso molecular y el Cobre como cofactor. Conecta el PSI con el complejo de citocromos b6f.

La Ferredoxina (Fd): proteína de bajo peso molecular con Hierro como cofactor. Es multifuncional. Participa en el transporte de electrones de la cadena pero también en otros procesos metabólicos del cloroplasto. Está situada en el lado del estroma. Cede los electrones del PSI a la proteína FNR (mayor peso molecular que la Fd). Esta Ferredoxin–NAD–Reductasa tiene FAD como grupo prostético y coge los electrones de la Fd cediéndoselos al NAD⁺ a través del FAD.

La ATP–asa: es similar a la variante mitocondrial. Está formada por 2 grandes subunidades. El Fo disipa el gradiente protónico. El F1 se ocupa de formar el ATP.

La DISTRIBUCION de todos los componentes es heterogénea en las membranas tilacoidales de las que hay 2 tipos en los cloroplastos.

Los Grana son membranas tilacoidales apiladas donde se sitúan preferentemente los citocromos y los PSII. Luego están las regiones que dan directamente al estroma abierto. Ahí encontraremos el PSI y las ATP asas. El aparato fotosintético se debe adaptar a las condiciones de luz, por lo que la colocación de los componentes nunca es demasiado estable, para evitar luego problemas de inadaptabilidad.

El transporte de electrones se da desde el agua hasta el nucleótido de pirimidina (NADP). El potencial del agua es 0,8. El potencial redox del NADP es 0,2–0,3. O sea que el transporte de electrones se da desde un potencial redox muy positivo hasta uno más negativo. Eso es muy poco favorable y es absolutamente imposible en espontaneidad. Por ello se debe suministrar energía. La energía se suministra en los dos

fotosistemas. Con la absorción de la energía lumínica un electrón de cada PS salta a la cadena de transporte. La enorme afinidad de los PS por electrones supera a la del agua y hace que se pueda oxidar.

El NADPH se reduce finalmente. El único momento en que los electrones fluyen en contra del gradiente es en los que se excitan los PS.

La antena es una estructura perfectamente organizada. Sus componentes están asociados y orientados para que haya transferencia por resonancia.

Los pigmentos antena absorben energía y la transmiten de unos pigmentos a otros hasta canalizarla

Falta un cachito

SEPARACION DE CARGAS EN EL LADO REDUCTOR DEL FOTOSISTEMA II

El sistema es el P680. Cuando la energía lumínica incide sobre P680 pasará a su estado excitado, produciéndose el salto del electrón a un estado superior de energía. Ese electrón será recogido por la feofitina, una molécula de clorofila sin átomo de magnesio en el núcleo porfirínico.

El P680 se queda en estado oxidado. La Feofitina queda reducida. El P680 entonces tiene 3 estados posibles: el estado normal, su estado excitado (reductor) y su estado oxidado (oxidante fuerte). La Feofitina cede el electrón rápidamente a una quinona llamada QA, covalentemente unida a las proteínas del centro de reacción (D1 y D2). Coge un electrón y se transforma en una semiquinona parcialmente reducida. Las quinonas tienen dos estados de reducción: semiquinonas (con un electrón) e hidroquinonas (con 2 electrones y 2 protones). Las quinonas ceden el electrón a la Quinona B. Ese QB es una plastoquinona que se puede unir o separar del fotosistema II. O sea que más que una molécula propiamente dicha el QB es una localización dentro del fotosistema II a la que llegan, a través de la membrana, por difusión, de moléculas de quinona oxidadas desde el fotosistema I. Allí recogen un electrón cedido desde las quinonas A fijas en el QA. Así, el electrón que procede de la oxidación de la clorofila ha pasado hasta un aceptor más permanente que es la plastoquinona. Todos estos procesos, hasta la plastoquinona, se dan rápidamente y muy favorablemente, en tiempos del orden de picosegundos (10 elevado a la menos 12). El P680 recupera su electrón sacándoselo al agua.

Ese P680 está en condiciones de recibir un segundo fotón de luz. Esa segunda excitación luminosa vuelve a reproducir todo esto hasta el QA. Pero ahora, el QA le da el electrón nuevamente a la MISMA QUINONA B QUE ESTABA PARCIALMENTE REDUCIDA EN ESTADO DE SEMIQUINONA. CON LA SEGUNDA EXCITACIÓN LA QB LLEGA A HIDROQUINONA. TOMA EN ELLO LOS DOS PROTONES del estroma Y AHORA SI YA PUEDE VIAJAR NUEVAMENTE HASTA EL FOTOSISTEMA I, llevando consigo los dos electrones. La Quinona hidroxilada viaja hasta el fotosistema I. Allí dejará sus electrones y vuelta al fotosistema II.

Este lado reductor está hacia el estroma.

EL LADO OXIDANTE (lumen tilacoidal) DEL FOTOSISTEMA II

Es lo más misterioso. Para generar un oxígeno se deben oxidar 2 de agua. Ello libera 4 protones en el lumen y se generan 4 electrones. El P680 tendrá falta de 1 electrón. Entonces, entre el proceso de oxidación del agua, y el de la reducción del P680, tiene que haber un mecanismo en el que se acumulen cargas negativas. Esa acumulación

Donde está esa acumulación de cargas? En el llamado ciclo S de Kok. Hay un centro especial anexo al centro de reacción que tiene cuatro átomos de Mn. Ese átomo actúa como acumulador de cargas. Ese centro tiene 5 posibles estados redox: So, S1, S2, S3 y S4. Hasta ahora solo se localizaron So, S1, S2 y S3. La

evidencia de S4 se publicó la semana pasada en la Nature. Entonces el modelo sigue siendo válido hasta hoy en día. El estado S0 corresponde al Mn sin carga eléctrica neta. El S1 corresponde a 1 carga positiva: es decir un hueco electrónico. El estado S2 tiene 2 huecos. El S3 3 y el S4 4 huecos. El S4 es tal ávido por electrones que es capaz de quitárselos al agua. Ninguna otra molécula biológica es capaz. Y no solamente biológica. Se cree que la fotosíntesis artificial es imposible.

Entre S y P, hay un residuo de tirosina llamado Yz que pertenece a la proteína D1. Ese es el intermediario entre el S y el P. También está en ciclos de oxidoreducción con todos estos compuestos. Cada cuatro excitaciones se libera 1 O₂.

Se sabe también que si no hay cloruro o calcio, no se produce oxígeno en el PSII. No se sabe como están implicados todavía.

Hasta la QA todo sucede en picosegundos. Hasta la Qb, es más lento, en microsegundos. El paso desde la YZ hasta el P680 es en nanosegundos.

LAS PLASTOQUINONAS REDUCIDAS LLEVAN ELECTRONES HASTA EL COMPLEJO DE CITOCROMOS B6F

El paso no se conoce bien en los detalles. Es bastante complicado. Tiene lugar en lo que se llama el Ciclo Q o de las Quinonas. Es un proceso que tiene lugar en dos etapas continuas llamadas turnover o intercambios.

La PQH₂ va hasta el sitio Qp del complejo b₆f. Ese está del lado del lumen. Allí liberará los electrones y los protones. Volverá al estado de quinona y se irá para el PSII. Por el lado del estroma está la localización Qn. De los dos electrones generados, uno va hacia la plastocianina a través de un centro hierro azufre 4 unido a la proteína rieske, y el citocromo f. El otro va hacia los citocromos b y llega al sitio Qn. Allí se cede a una plastoquinona oxidada. Esa se queda en forma de semiquinona.

En la siguiente fase, el proceso se repite. Se le cede otro electrón a la PC. Y la PQ del sitio N se reduce nuevamente. Esta toma 2 protones del estroma y finalmente llega a hidroquinona. En ese estado irá a regenerar el pool de PQH₂. O sea que cada 2 electrones que van a la PC han entrado dos PQH₂ y se perdió una PQH₂ que se transformó en PQ y se han trasladado 4 protones. O sea que lo único que está sucediendo es que se trasladan más protones de los que teóricamente serían necesarios.

EL LADO REDUCTOR DEL FOTOSISTEMA I

También hubo una excitación y absorción de la energía lumínica con lo cual uno de los electrones del P700 habrá saltado hasta el orbital excitado y en un proceso fotoquímico similar al del fotosistema II, el electrón es recogido por un aceptor primario en vez de volver a la clorofila de donde partió.

El A₀ es una molécula de clorofila especial. Esa se lo transfiere a un segundo aceptor A₁ (una quinona). Todo eso en cuestión de picosegundos. Así llega hasta aceptores algo más estables como Fx, Fa y Fb (núcleos sulfoférricos todos contenidos en el PSI). Desde esos últimos aceptores se pasa el electrón a la ferredoxina que es una proteína móvil que tiene hierro como aceptor electrónico y que se localiza en el estroma.

EL LADO OXIDANTE DEL FOTOSISTEMA I

El hueco electrónico que quedó en la clorofila del centro de reacción se llena con los electrones que vienen de la plastocianina (que tiene el cobre reducido).

EL FNR (NAD reductasa)

Se ocupa de reducir el NAD⁺ con los electrones provenientes de la ferredoxina. El NAD⁺ necesita 2 electrones para reducirse. Por lo tanto, la FNR necesita 2 ferredoxinas. Por ello se necesitan 2 electrones provenientes del PSI y por lo tanto dos fotones.

ESTEQUIOMETRIA FINAL Y GLOBALIZACION DEL PROCESO

2 Aguas generan 1 oxígeno y desprenden 4 protones que van al lumen tilacoidal. Los 4 electrones van al ciclo S con el Mn reduciéndose y oxidándose en etapas sucesivas, entregando el electrón al P680 oxidado para reducirlo permitiendo su excitación posterior. Esos 4 electrones se transmiten desde el PSII a las quinonas dando una PQH₂ por cada 2 electrones. Las PQH₂ entregan los electrones a cada complejo de citocromos de a uno. Esos electrones van hasta la plastocianina y de ahí hasta el PSI donde son cedidos a las P700 oxidadas. Las P700 reducidas se excitan y se lo pasan a la Ferredoxina. De las cuatro ferredoxinas reducidas generadas, cada dos de ellas se formará un FNR reducido. Cada FNR reducido dará lugar a un NADPH a partir de NADP⁺ y H⁺.

En resumen, el desprendimiento de una molécula de oxígeno a partir de 2 moléculas de agua genera 4 electrones que después de recorrer toda la cadena van a generar 2 moléculas de NADPH. Son necesarios para ello 8 fotones de luz: 1 por cada electrón por cada fotosistema o sea 4 por cada fotosistema.

El rendimiento cuántico teórico es entonces 8 fotones y 2 aguas por cada 2 NADPH y 1 O₂ generados. En la práctica se necesitan de 9 a 10 fotones. Eso es porque algún fotón siempre se pierde. Por eso la eficiencia no es del 100%. Pero en cualquier caso, el rendimiento real es alto. Pero además se crea un gradiente protónico. Por cada 2 Aguas, o sea 8 fotones, se traslocan 12 protones al lumen tilacoidal. 4 se liberan directamente de la oxidación en el lumen del agua. 8 se traslocan en el ciclo Q de las plastoquinonas. Aunque en teoría en ese ciclo están implicados, en principio, solo 4 protones, la mecánica del ciclo hace que se trasloque el doble.

ESTE TIPO DE TRANSPORTE ES EL QUE SE CONOCE COMO NO CÍCLICO YA QUE HAY UNA FUENTE DE ELECTRONES (EL AGUA) Y UN SUMIDERO DE ELECTRONES (EL NADP⁺).

EN EL SE GENERA LA ENERGIA Y EL PODER REDUCTOR NECESARIO PARA LA LLAMADA FASE OSCURA – O FASE DE REDUCCION DEL CARBONO

TRANSPORTE CICLICO DE ELECTRONES

Solo está implicado el fotosistema I. Los electrones salen del PSI y vuelven al PSI. No hay ni fuente ni sumidero de electrones. No hay balance final de electrones. Con el paseo de electrones por la membrana tilacoidal y la energía proveniente de fotones logran traslocar protones. Básicamente el proceso consiste en que el PSI se excita: uno de sus electrones pasa a un estado excitado – a toda la cadena de aceptores y finalmente a la Fdx. Pero la Fdx no le pasa los electrones a la FNR. En éste caso, la Ferredoxina los lleva, por el estroma hasta las plastoquinonas. Los electrones se supone que pasan por una proteína hipotética, todavía no caracterizada ni aislada (putativa: se piensa que está) llamada Ferredoxin–PQ oxidoreductasa. Los electrones entonces reducen las quinonas y atraviesan el ciclo Q. Se traslocan los protones debidos y finalmente las quinonas le entregan los electrones al complejo de citocromos b₆f. De ahí van de vuelta hasta el PSI a través de la PCianina.

Obviamente aquí no se oxidó el agua y no se redujo NAD. De hecho el balance electrónico es nulo.

De donde se saca la energía de éste proceso entonces? Se saca de los fotones de luz que llegan al PSI.

Mucha gente duda de que el proceso exista, dado que la proteína putativa todavía sigue siendo putativa. Mucha gente también dice que hay otras vías, aunque la proteína no exista para llegar a las PQ. Por lo tanto, la evidencia más clara es la generación de gradiente electroquímico de protones sin generación de O₂.

Entonces el transporte cíclico solo sirve para generar ATP a través del gradiente de protones y la bomba protón ATP-asa.

EL COMPLEJO DE LA BOMBA PROTON-ATPASA

Lo que se hace es almacenar energía potencial. Esa energía potencial química se transforma en energía cinética en la bomba. Esa bomba a la vez funciona como una turbina y hace que la energía cinética pase a energía química nuevamente, con la formación de enlaces de alta energía.

La ATPasa tiene la subunidad F₀ anclada a la membrana. Por ahí atraviesan los electrones. Ese paso de los protones impulsan el giro de la cabeza de la subunidad F₁. En esa rotación, está acoplada la síntesis de ATP. La estequiometría del proceso cíclico ha ido cambiando.

Hoy se piensa que la más correcta es de 4 protones para formar 1 ATP. Asumiendo esa estequiometría y teniendo en cuenta que en el transporte no cíclico se habría trasladado un total de 12 protones, esos 12 protones permitirían la síntesis de 3 ATPs. Entonces, en el balance total, por cada 2 aguas, 3 ADPs, 3 Pi, 8 fotones y 2 NADP⁺ – se generaría 1 oxígeno, 3 ATPs y 2 NADPH.

La reducción en el ciclo de Calvin de 1 CO₂ requerirá 2 NADPH y 3 ATPs exactamente. Es decir que la estequiometría del proceso, de acuerdo a las ecuaciones globales es la correcta. Por cada molécula de O₂ desprendida, se fija 1 molécula de CO₂. Pero éste balance tan perfecto para la fijación hace que mucha gente dude de la necesidad del transporte cíclico para generar ATP. De hecho, ese ATP estaría teóricamente de más.

Sin embargo, en mutantes de Arabidopsis a las que se les inhibe el transporte cíclico, la fotosíntesis no cíclica no funciona. O sea que debe ser esencial para la vida de las plantas. Entonces el transporte electrónico no tienen solamente una función fotosintética, sino también de energización de la planta para el mantenimiento de procesos no fotosintéticos de las plantas.

Además hay otro aspecto en el que se ha visto que es importante el pH ácido que se genera en la membrana tilacoidal. Es para disipar el exceso de energía luminosa al cual se puede ver sometida una planta si llega más luz de la que la planta necesita. O sea que el exceso de luz en la planta puede traer problemas. Sin transporte cíclico, no habría superacidificación del espacio tilacoidal y por lo tanto no habría disipación de energía. Efectivamente es esencial.

¿DE QUE MANERA EL APARATO FOTOSINTÉTICO SE PUEDE ACLIMATAR A LAS VARIACIONES EN LA LUZ?!

Las plantas no están sometidas a unas condiciones de luz constantes y permanentes. La luz cambia muchísimo en fracciones de muy poco tiempo. Además hay plantas que por su situación estén expuestas a intensidades de luz muy fuertes mientras que otras pueden estar en zonas mucho más sombreadas. En un bosque no es lo mismo las hojas de las copas de los árboles que la luz que le llega a las hojas que están por debajo de ese dosel o a las que están en el suelo. Hay un gradiente de intensidades de luz que no solamente es un gradiente de intensidad sino que también es un gradiente de calidad espectral de la luz porque no toda la luz, aunque toda es luz blanca, tiene igual intensidad. La luz que pasa a través de las copas de los árboles hará que las luces rojas y azules se queden arriba y solo pase el verde. La luz del amanecer por ejemplo es muy rica en luz azul. La del alba es mejor en rojas. Además las nubes, los gases atmosféricos, las modificaciones ambientales. O sea que la luz tiene cambios extremadamente dinámicos. Eso las plantas tienen que preverlo de alguna manera.

Dentro de las respuestas de las plantas en cuanto a fotosíntesis con respecto a variación de las intensidades de luz hay adaptación. Hay plantas adaptadas a crecer a intensidades de luz altas y plantas adaptadas a crecer en regiones de umbría. Eso implica cambios en la morfología de las hojas, la distribución de los cloroplastos, la

cantidad de pigmentos y el tipo. Esos son cambios a largo plazo y que solo pueden permitirse plantas que vayan a estar distribuidas ambientalmente siempre igual.

Entonces esos cambios y adaptaciones a largo plazo las veremos luego.

Pero hay las llamadas aclimataciones a corto plazo. Esos cambios son transformaciones constantes y rápidas de la planta.

Un aspecto fundamental es por ejemplo que para la fotosíntesis funcione bien, los dos fotosistemas tienen que funcionar de forma coordinada. En las bacterias es diferente, pero en las plantas hay 2 fotosistemas que tienen que estar coordinados. Sería fácil pensar que tienen la misma cantidad de pigmentos antena, pigmentos del centro de reacción, etc. Pero sabemos que no tienen los mismos pigmentos y además tampoco hay un número proporcional constante de centros de fotosistemas I y II. Realmente el cociente está lejos de 1. Y eso es motivo de una adaptación pero requiere una coordinación.

El factor coordinante, ¿cuál será?

La actuación coordinante sabemos que depende de una pieza clave que se movía por la membrana tilacoidal que es el pool conjunto de PQH₂/PQ. ¿Qué sucede si el PSII está siendo más activo que el PSI? Evidentemente el pool de plastoquinonas aumentará ya que el PSI no puede drenar todas las PQH₂ que produce el PSII. Eso es bastante frecuente. La PQH₂ en forma reducida aumenta tanto que actuará sobre un sistema de regulación formado por una quinasa que fosforilará los complejos antena del PSII (los complejos LHC II). Esos LHC-II tenían una relación variable con el PSII. Cuando el PSII está muy activo, se fosforilarán los LHC-II. Se cargan con cargas negativas del fósforo. Esos grupos fosforilados se repelen por estática y como consecuencia los complejos antena se separan del PSII y emigran hacia los bordes de los grana (tilacoides apilados). La distribución en los fotosistemas era diferente además. El PSII no dejará de funcionar, pero la mayor parte de la antena se perderá en el momento en que los complejos LHC desaparezcan. La capacidad de crear PQH₂ disminuirá y el sistema volverá a normal. Pero además, los LHC-II se asocian al PSI y empiezan a actuar ahí como antena del PSI. Con lo cual no solo disminuye la capacidad de PSII sino que aumenta la de PSI con lo que se corrige finalmente el problema de la acumulación excesiva de PQH₂. Cuando la relación PQ/PQH₂ vuelve a lo normal se activa una fosfatasa que quita los grupos fosfatos a los complejos LHC-II. Los complejos antena vuelven otra vez al PSII reestableciendo las condiciones pasadas.

Eso está produciéndose de una manera muy dinámica y constante, con lo cual en cuestión de segundos los LHC están constantemente viajando de un sistema a otro permitiéndole a la planta equilibrar el funcionamiento de los dos PS.

¿Qué sucede cuando una planta está sometida a un exceso de luz al que no puede responder debido a su baja capacidad fisiológica?

FOTO-OXIDACIÓN: CICLO DE LAS XANTOFILAS Y FOTOINHIBICION

Si una planta está sometida a un exceso de luz, de alguna manera tiene que hacerle frente. Y eso no puede esperar dado que el exceso de luz da origen a procesos denominados foto-oxidación que destruyen las membranas tilacoidales y los pigmentos fotosintéticos. Esos daños, si son muy grandes, el individuo puede morir por foto-blanqueamiento. Los pigmentos se pierden y la hoja queda pálida. La fotooxidación se debe a que el exceso de luz da origen a especies tóxicas del oxígeno como los superóxidos o los peróxidos. El radical del oxígeno (singlete), el ión radical superóxido, o el radical hidroxilo son especies típicas. Son tremendamente tóxicas y son las que producen la degradación de las membranas biológicas. Estas mismas especies son las causas del envejecimiento en los animales. En los animales los produce la mitocondria. En los vegetales se forman por fotosíntesis. Pero en los vegetales se producen en mayor cantidad. El singlete se

produce cuando la energía de excitación absorbida por los pigmentos fotosintéticos de la antena, en lugar de cederse hacia el centro de reacción es recogida por el oxígeno. Por ello, el que pega el salto es uno de los electrones del oxígeno. En el hidroxilo pasa otro tanto. Pero el superóxido se forma a partir del PSI y de otra manera. El PSI en condiciones normales cede electrones a la Ferredoxina. Pero cuando hay una sobreproducción de electrones en el PSI y no hay suficiente Ferredoxina, entonces el oxígeno puede actuar como aceptor del electrón y se reduce a radical superóxido.

La generación de estos radicales es muy peligrosa. Por lo tanto la planta debe evitar que esto suceda. Hay mecanismos de desintoxicación enzimática para eliminar el Superóxido a través de la Superóxido–Dismutasa. Ese sistema también lo tenemos los animales.

Además de estos mecanismos enzimáticos, la planta puede activar los mecanismos de disipación de la energía absorbida, es decir impedir las razones que generan los radicales nocivos.

Una opción es la fluorescencia. Otra posibilidad es la emisión de radiación de onda larga, es decir calor. Cuando una planta está sometida a una fuente de luz muy fuerte, aumenta la radiación de calor y la fluorescencia, es decir se activan los mecanismos de disipación.

La mayor parte de la energía se disipará en forma de calor. La fluorescencia también aumenta, pero el mecanismo más básico será la emisión de calor. ¿Pero cuál es el sensor en éste caso? Para percibir el exceso de energía, la planta puede percibir la acumulación de protones por traslocación que se da en el espacio del lumen tilacoidal. ¿Cómo detecta entonces el gradiente protónico? Simple si el lumen está acidificado en exceso, unas proteínas se activan por ese pH. Esas enzimas transformarán un pigmento llamado Violaxantina en otra xantofila diferente, la Zeaxantina, por De–Epoxidación. Si la cantidad de Zeaxantina aumenta, la capacidad de la planta de recoger la energía de excitación de clorofilas aumenta. Se puede de esta manera activar la disipación de calor. Pero no se sabe como se da la disipación de calor todavía. Pero cuando el calor disminuye, el pH aumenta y la Zeaxantina se epoxida nuevamente hasta Violaxantina. Éste es el llamado CICLO DE LAS XANTOFILAS.

Se han conseguido plantas mutantes de Arabidopsis sin esos carotenoides. Solo pueden crecer en condiciones anaerobias, en presencia de oxígeno se mueren rápidamente. O sea que las xantofilas son clave para los procesos de de–epoxidación y la liberación de energía radiante.

Si el ciclo falla, y sigue habiendo un exceso de luz y aniones superóxidos el sistema de los PS puede fundir el fusible, es decir la FOTOINHIBICION. El fusible es la proteína D1 del PSII que es la proteína a la que están asociados los centros de reacción. Si la situación es demasiado fuerte la proteína se separa del PSII y se degrada, otra vez mediante activación de sistemas enzimáticos. El PSII desaparece y deja de funcionar con lo cual se evita la foto–oxidación. Esto se lo puede permitir la planta fundamentalmente porque es más fácil petarte una proteína y sintetizarla de nuevo cuando las condiciones vuelvan a la normalidad que dejar que te fotoblanqueen que es una situación irrecuperable. De hecho, la D1 es la proteína que más se sintetiza en las hojas porque constantemente se están quemando fusibles.

La imagen que deben quedarnos es que la fotosíntesis es algo dinámico, constantemente en adaptación y acondicionamiento a corto plazo.

TEMA 10: LA ETAPA DE REDUCCION DEL CARBONO ¿FASE OSCURA?

Si ponemos cloroplastos en oscuridad y les ponemos ATP y NADPH no reducen nada de CO₂. Pero si les damos un flash de luz, se activan los sistemas enzimáticos momentáneamente, permitiendo el ciclo de Calvin y la reducción del carbono. Solo cuando los sistemas enzimáticos se activan por luz podremos reducir Carbono. ¿Entonces qué sentido tiene decir que es una fase oscura? Realmente lo concreto es que hay una fase que es solo lumínica, que es la fase de oxidación del agua, y un proceso que se da tanto durante el día como

durante la noche.

La reducción del CO₂ se da mediante el CICLO REDUCTIVO DE LAS PENTOSAS FOSFATADAS TAMBIEN CONOCIDO COMO CICLO DE CALVIN – se reductivo porque hay uno oxidativo!

El Ciclo de Calvin fue coautorado por Calvin y Benson. Benson trabajaba en el laboratorio de Calvin aunque éste último se llevó el crédito.

El Ciclo de Calvin tiene 3 fases claramente diferenciables. La primera fase es la fase de carboxilación en la que el CO₂ se une a un azúcar de 5 carbonos, la Ribulosa – 1,5 – bisfosfato y se forma un compuesto de 6 carbonos que se distribuye en 2 moléculas de 3 carbonos, 3-PG. En esa fase no se consume nada de poder reductor ni de energía. La segunda fase es la de reducción. Ahí ya sí es necesario el aporte de energía en forma de poder reductor. El 3-PG se reducirá a Gly-3-P usando ATP y NADPH. A través de diversas vías el G3P servirá para generar Sacarosa y Almidón. Otra parte del G3P será empleada en regenerar la ribulosa – 1,5 – bisfosfato. Esa última parte es la de regeneración. Ahí también hará falta energía en forma de ATP en una de las reacciones.

PRIMERA FASE: FASE DE CARBOXILACIÓN – LA RUBISCO

La Carboxilación está catalizada por la Ribulosa – 1,5 – BisFosfato Carboxilasa Oxigenasa.

Hay un compuesto intermediario de 6 carbonos que es inestable. Con agua ese compuesto se escinde en 2 moléculas de FosfoGlicerato. El sistema es el más abundante de toda la biosfera. Su nombre no solo implica la carboxilación sino que también implica la oxigenación. Esa actividad hace que oxigene, en vez de carboxilar, la ribulosa bisfosfato y que luego la escinda en 3-fosfoglicerato y 2-fosfoglicolato. Esa actividad inicia la ruta de la Fotorrespiración, otra ruta esencial en las plantas que sirve para eliminar el excedente de oxígeno en ambientes superoxigenados y que serían potencialmente peligrosos para la planta.

Entonces el oxígeno y el dióxido de carbono son dos sustratos alternativos en la rubisco y que compiten entre sí por unirse al centro activo de la rubisco. La Km para el CO₂ es de 12 micromolar. La Km para el O₂ es algo mayor, de unos 250 micromolar. Es decir que es más afin para el CO₂. Pero en el aire hay un 21% de O₂ y 0,4% de CO₂. Entonce sería peligroso si fuera más afin para el O₂. Si fuera así en lugar de haber fotosíntesis, habría más fotorrespiración.

La Rubisco tiene 8 subunidades grandes de gran masa molar y 8 pequeñas. Son 16 cadenas polipeptídicas. Las 8 pequeñas están codificadas por el ADN del núcleo mientras que las 8 grandes están codificadas por el ADN del cloroplasto. Entonces está bajo el doble control del núcleo y el cloroplasto. Es un ejemplo de una proteína bajo doble control genético.

SEGUNDA FASE: FASE DE REDUCCION DEL CARBONO

Se parte de las dos moléculas de 3-PG que se habían obtenido en la fase de carboxilación. Ellas se reducirán a Gliceraldehido-3-Fosfato. El grupo carboxílico se reducirá a un carbonílico. Es un proceso exactamente opuesto al que sucede en la glucólisis donde se pasa del G-3P al 3-PG.

El 3-PG primero se fosforila con ATP-ADP en su grupo carboxilo. Ese enlace anhídrido será de alta energía. Como tenemos 2 moléculas de 3PG requeriré 2 ATP por cada Ribulosa carboxilada en la primer fase.

Luego comienza la etapa en la que los 1-3 BisFosfoGlicerato se reducirán mediante NADPH y la ruptura de los enlaces fosfato. Finalmente obtenemos las dos moléculas de G3P.

Ahí ya tenemos un azúcar de 3 carbonos. Pero una parte del G3P servirá para conseguir glucosa y otra parte

servirá para regenerar la Ribulosa.

Pero la pregunta es ¿cuánto CO₂ deberá fijarse para generar por lo menos una ganancia neta de una molécula de G3P? Si quiero ganar un compuesto de 3C deberé fijar por lo menos 3CO₂. Eso implicará el uso de 3 Ribulosas. En este caso se generarán 6 G3P de las cuales una irá a ganancia y 5 irán a la regeneración de las 3 ribulosas.

Las G3P se irán condensando por diversas vías hasta generar la ribulosabifosfato.

Veamos

En la primera vía será isomerizada a DHAP. Esa DHAP se une a la segunda molécula de G3P y formarán una hexosa como es la Fructosa-1,6-BisFosfato. Esa reacción la cataliza una ALDOLASA.

La F-1,6-BP se desfosforila por acción de la FBisFosfatasa (FBPasa). Se libera el primer fosfato. La F6P se condensará con una tercera molécula de G3P. El compuesto de 9 carbonos se redistribuye en forma de un compuesto de 5 Carbonos, la Xilulosa-5-P y un compuesto de 4 Carbonos, la Eritrosa-4-P. Esa reacción la cataliza una TRANSCETOLASA. Ya tenemos la primera pentosa.

La Eritrosa-4P que me queda se unirá a la cuarta molécula de G3P que primero se isomerizó en forma de DHAP. La unión de la E4P y la DHAP dará lugar a la Sedoheptulosa-1,7-BP (siete carbonos). Eso es catalizado otra vez por una ALDOLASA. Igual que antes, lo que sucedió con la fructosa, por acción de una fosfatasa se pierde uno de los fosfatos. Se genera por tanto la S-7-P. Ese compuesto de 7 carbonos se combina otra vez por una transcetolasa con la última G3P que nos queda. Los 10 carbonos se redistribuyen en 1 Xilulosa-5P y una Ribosa-5P.

Así las 5 triosas fosfato ya se han transformado en 3 pentosas fosfato ninguna de las cuales es la ribulosa - 1,5 - BISFOSFATO.

Pero la ribulosa solo necesita una fosforilación más, la ribosa solo necesita isomerizarse y la xilulosa solo necesita epimerizarse. Por acción entonces de una isomerasa y una epimerasa ya tenemos ahora 3 moléculas de Ribulosa-5-P. La última reacción está catalizada por una kinasa y supone la fosforilación de las 3 moléculas de R-5-P hasta R-1,5-BP. Hará falta 3 moléculas de ATP. Cada ATP cede un grupo fosfato y se liberan 3 ADP. Hemos recuperado finalmente las 3 R-1,5-BP.

PERO CUANTO NECESITE DE ATP Y NADPH FINALMENTE!!!!???

ENERGETICA Y RENDIMIENTO

Para generar un G3P requerí lo siguiente



NADPH - 217 Kj

ATP - 29 Kj

Glucosa - 2817 Kj

Si nos fijamos en el proceso, cada molécula de CO₂ reducido requiere 2 NADPH y 3 ATP. Con lo cual, una glucosa, de 6 C necesitaría 12 NADPH y 18 ATP. Pero si recordamos, 2NADPH y 3 ATP era lo que se producía en la oxidación de 2 moléculas de agua y la generación de 1 O₂ en la fase lumínica. O sea que cada

oxígeno que se libera servirá para fijar 1 CO₂ consumiéndose en el proceso global 8 fotones. Siempre hablando de valores teóricos en que O₂/CO₂ = 1

Resumiendo una glucosa necesitará 48 fotones siempre trabajando en un modelo teórico. Teniendo en cuenta los kilojulios que suponen los 12 NADPH y los 18 ATP, la producción de una molécula de glucosa a partir de 6 CO₂ supone un consumo de 3126 KJ por cada mol de glucosa.

Eso implica que si una glucosa en sus enlaces tiene 2817 KJ hemos tenido una eficiencia de fijación del orden del 90% aproximadamente.

Pero si tenemos en cuenta los fotones de luz (roja por ejemplo – la más eficiente) el rendimiento será menor, dado que 48 fotones, a 175 KJ por fotón (según la ecuación de Planck), tienen una energía de 8400 kilojulios. El rendimiento sería de un apenas 30%. O sea que la mayor pérdida se da en la fase lumínica.

Eficiencia de la fase oscura: $2817 / 3126 \cdot 100 = 90,11 \%$

Eficiencia de la fase lumínica: $3126 / 8400 \cdot 100 = 37,21 \%$

Rendimiento total: $2817 / 8400 \cdot 100 = 33,54 \%$

Evidentemente el rendimiento es mayor en la fase oscura.

A partir de las pentosas fosfato se generará toda la variedad de materia orgánica que la planta necesitará. Eso es metabolismo secundario, flavonoides, etc. Pero esas metabolizaciones son más a largo plazo. Las vías más rápidas de metabolización de triosas serían a) la exportación desde el cloroplasto al citosol para la síntesis citoplásmica de sacarosa (que a su vez será el disacárido que se exportará al resto de la planta) y b) la acumulación en el cloroplasto en forma de almidón como polisacárido de reserva.

La exportación de las triosas fosfato desde el cloroplasto hasta el citoplasma se consigue mediante un antiporte con fosfato. Se exporta una triosa fosfato desde el plasto al citosol al mismo tiempo que se importa un fosfato. ¿Por qué el mecanismo es en un antiporte? Porque así se compensa el balance de fosfatos cloroplástico. Recordemos que el noveno fosfato de los 9 ATP que se gastaban por cada 3 CO₂ era el que se iba en el G3P. Pero si el G3P se exporta, deberemos importar un Pi para mantener el balance de fosfato cloroplástico.

En el citosol, 2 G3P dan lugar a una Fructosa Bisfosfato. La FBP se defosforila dando lugar a F6P. Esa fructosa sigue la vía inversa a la glucólisis. Finalmente llega a Glucosa-1-P. Pero para la creación de sacarosa-P se necesita la unión de un UDP-Glucosa y una F6P. La F6P vendrá de una segunda exportación de 2 G3Ps. Pero la UDP Glucosa se debe sintetizar a partir de la Glucosa-1-P. Un UTP se une a la G-1-P liberando 1PPi que luego es escindido en 2Pi (ruptura de 2 enlaces P). Eso da como producto la UDP-Glucosa. La unión de ésta con la F6P libera UDP y da lugar a Sacarosa Fosfato.

Para cada Sacarosa Fosfato se requerirían 4 G-3-P.

Hay isoenzimas de esta vía en el cloroplasto que llevan también a la Glucosa-1-P a partir de las moléculas de G-3-P. Ahí, a partir de la G-1-P, la unión se da con ATP y da lugar a ADP-Glucosa. Esa ADP-glucosa se añade en monómeros sucesivamente creándose las cadenas del almidón. Se libera como resultado un ADP.

Pero qué decidirá el destino de los G-3-P.

Hay lo que se llama una partición de los fotoasimilados, es decir el gliceraldehído. Una parte se quedará en el cloroplasto y otra parte se irá por el citosol y al hialoplasma.

Pero el semáforo para esta partición es la cantidad de fosfato en el hialoplasma. Sin fosfato en el hialoplasma, el sistema de antiporte se inhibe y el fotoasimilado se queda en el cloroplasto y se acumula. Si hay fosfato inorgánico abundante en el hialoplasma, señal de que la planta está usando ATP y por lo tanto está necesitando energía, el antiporte se activa y el G3P se lleva al hialoplasma.

Ese sacárido puede tener 3 destinos.

- dentro de la célula: respiración de la planta a través de la glucólisis
- fuera de la célula
 - ◆ transporte hacia partes de la planta necesitadas de energía para crecimiento, etc.
 - ◆ transporte hacia partes de la planta donde hay tejidos de reserva

O SEA QUE EL TRANSPORTADOR DE LAS TRIOSAS FOSFATOS ES UNA PIEZA FUNDAMENTAL DEL METABOLISMO DE LA PLANTA EN GENERAL!!!!

El Ciclo Reductivo de las Pentosas Fosfato, para que funcione correctamente necesitará algo muy obvio como es que haya metabolitos intermediarios. Fundamentalmente necesitará Ru-BisP. Cuando el Ciclo de Calvin funciona a todo ritmo, de forma equilibrada, evidentemente todo marcha bien. Pero cuando se hace de noche, una parte de los compuestos carbonados se metabolizarán para mantener el metabolismo basal y el crecimiento de la planta. Al amanecer, las células parenquimáticas, cuando comienza la actividad fotosintética, los niveles de Ru-BisP han disminuido enormemente por culpa de éste efecto. O sea que la Ru-BisP se respiró por la noche.

Eso hace que durante los primeros minutos de la mañana, prácticamente la actividad del ciclo de Calvin se centra en producir Ru-BisP. No hay ni exportación ni respiración de fotoasimilados, sino que el destino de todo lo que entra en forma de CO₂ es regenerar los niveles basales de Ru-BisP.

Claro que para una molécula orgánica de 5 Carbonos necesitaré 5 Ru-BisP iniciales y 5 CO₂. Eso generará 10 triosas que tienen 30 Carbonos. Ellas regenerarán las 5 iniciales y generarán una adicional de Ru-BisP.

Esto sucede a la mañana como dijimos.

FOTOACTIVACION DEL CICLO DE CALVIN

El ciclo entonces depende, como habíamos dicho de luz. Entonces necesita aunque sea un destello de luz. Eso es porque cinco de los sistemas enzimáticos del ciclo de calvin que son activados por luz (FOTOACTIVADOS).

Una vez activos ya funcionan, con lo cual no requieren luz constante. Es decir que no extraen energía de la luz como hacen las clorofilas y las cadenas de transporte. Más bien la luz es una manera de regular la producción y el ciclo de calvin ajustándolo a un ciclo circadiano.

La RUBISCO, la Gliceraldehido BisFosfoGlicerato DHasa, y otros 3 sistemas la FBPasa, la SBPasa y finalmente la Ribulosa-5-P Kinasa.

Excepto la RUBISCO, todas se activan por la luz a través del sistema Ferredoxina-Tiorredoxina. Se dice que es una forma de activación directa. La RUBISCO, por el contrario, se activa por la luz de forma indirecta.

La RUBISCO tiene dos formas posibles: la forma activa y la forma inactiva. El paso a la forma activa requiere 3 cosas:

- alto nivel de CO₂

- pH elevado en el estroma
- alto nivel de Magnesio²⁺

La luz es necesaria para dos de estas tres condiciones. La luz es responsable de la alcalinización del estroma y es responsable de elevar el nivel de magnesio en el estroma.

Si hay luz, hay transporte en cadena de electrones. Eso genera un transporte de protones. El gradiente generado hace que el pH del estroma se alcalinice hasta 8 y pico. Pero el tránsito de protones tiene otra consecuencia. Como siempre que se transportan iones, hay una generación de un potencial de membrana que será positivo en el lumen tilacoidal y negativo en el estroma. Este potencial de membrana se contrarresta mediante la expulsión de magnesio desde el lumen tilacoidal hacia el citoplasma. O sea que el magnesio es un elemento que equilibra las cargas cuando la membrana tilacoidal está activada y la cadena de transporte está activada por la luz.

La Rubisco se activa finalmente por CARBAMILACION. El CO₂ se une a la rubisco para que se de la carboxilación. O sea que el CO₂ es un sustrato de la enzima. Pero además es un activador de la enzima. Se une a ella no solo en el centro activo sino que también se une por el centro regulador que está en otra zona topológica distinta de la enzima. Esa unión reguladora es covalente. Pero para la unión se requiere la liberación de protones. Es por eso que el pH alcalino en el estroma promueve la activación de la rubisco. Ahora que ya no hay protones, se une un carboxilo y se genera un grupo carbamato en un residuo de Lys. La Rubisco carbamilada ya puede unirse al ión magnesio. Finalmente la RUBISCO está activada absolutamente.

Finalmente hay una activación ulterior mediada con RUBISCO ACTIVASA. Su mecanismo de acción no está excesivamente claro.

Esto es porque hay dos formas inactivas. Una es la forma sin magnesio. La otra es la forma que está unida a un Azúcar-Fosfato. La RUBISCO ACTIVASA se ocupa de separar el azúcar fosfatado de la RUBISCO INACTIVA permitiendo que se pueda activar. La activasa no necesita luz en principio. Sin embargo, a la mañana se activa el transporte electrónico y la movilización de azúcares. Eso hace que la activasa se promueva para remover el azúcar.

Como vemos, el papel es indirecto la generación de altos niveles de magnesio y el pH alcalino son consecuencia del transporte electrónico. Esa mejoración de las condiciones hacen que la rubisco se active.

Pero esto no es así en los otros 4 sistemas enzimáticos

En la G3P DHasa, las fosfatasas y la kinasa se activan mediante el sistema de la Ferredoxina-Tiorredoxina. En la forma inactiva, el sistema enzimático tiene puentes disulfuro formados. En la forma activa, los puentes disulfuro están reducidos. O sea que lo que hace la Ferredoxina-Tiorredoxina es regular la oxidación o reducción de puentes disulfuro. Los electrones necesarios para la reducción vienen de la actividad del PSI. Los electrones se pasan, al final de la cadena de transporte a la Ferredoxina disuelta. La Ferredoxina puede cederle los electrones luego a la Tiorredoxina (que tiene varios puentes disulfuros oxidados). La Tiorredoxina ahora reducida, con sus puentes reducidos le terminará pasando los electrones a las proteínas de los sistemas enzimáticos del Ciclo de Calvin. O sea que al final del camino, vuelvo a tener Tiorredoxina oxidada, Ferredoxina oxidada, y todo se ha reseteado, solo que ahora, los sistemas están activados. La cantidad de electrones necesaria no es significativa energéticamente. Por eso basta con un flashazo de luz para que el ciclo de Calvin se active. Pero con el tiempo, si no se van reduciendo continuamente los puentes disulfuro, pueden volver a oxidarse.

O sea que la Ferredoxina puede tener 3 vías: ceder electrones a la FNR (flujo acíclico), ceder electrones a la plastocianina (flujo cíclico) y ceder electrones a la Tiorredoxina (fotoactivación del ciclo de calvin).

CICLO OXIDATIVO DE LAS PENTOSAS FOSFATO es un ciclo respiratorio, una vía respiratoria que tiene muchas reacciones comunes con el ciclo reductivo. Muchas reacciones de Calvin son reversibles con lo cual pueden usarse las mismas enzimas, o enzimas parecidas para llevar a cabo el ciclo oxidativo. Hay dos enzimas que son exclusivas, una de cada ciclo. La Rubisco es de la vía reductiva. La Glucosa-6-P DHasa es exclusiva de la vía oxidativa. Para potenciar la fotosíntesis, la Ferredoxina también jode la Glucosa-6-P DHasa haciéndole que se inhiba la vía oxidativa de las pentosas fosfato. Esto no lo hace mediante reducción de puentes disulfurosino de otra manera.

FOTOOXIDACION

Este proceso es catalizado, en su paso inicial por la misma RUBISCO. Si lo que se une a la RuBisP es el Oxígeno, la ribulosa se rompe en dos fragmentos, uno de 3 carbonos (3-Fosfo Glicerato) y uno de 2 carbonos (2-FosfoGlicolato).

Pero la afinidad de la RUBISCO es mucho mayor, casi 80 veces mayor para el CO₂. Si hubiera entonces igual concentración de O₂ y CO₂, la fotooxidación se daría solo 1 de cada 80 veces. Son inhibidores competitivos.

Pero en el aire, el CO₂ es mucho menos abundante que el O₂. Con lo cual, de cada 4 RuBisP que se unen a la RUBISCO, 3 son carboxiladas y 1 es oxigenada. La mayor parte de la pentosa entonces sigue la vía fotosintética. Eso es en las plantas que tienen metabolismo de tipo C₃.

Pero hay plantas que se llaman C₄ o CAM que tienen modificaciones fotosintéticas que les permiten evitar la vía fotosintética normal.

La FOTOOXIDACION entonces solo es importante en ambientes muy altos en carbonos, mucho más que lo que normalmente hay en el aire.

El 3PG producido en la reacción de oxigenación es reciclable mediante el Ciclo de Calvin. Pero el Fosfoglicolato no. O sea que de cada 5 carbonos de la Ribulosa, 2 se están perdiendo por cada ciclo oxidativo. Además de que se dejó de fijar uno. Con lo cual realmente perdí 3!!!

Donde antes podíamos tener 6 carbonos, ahora me quedo con 3!!!!!!

O sea que hay una merma importante en la planta de fotoasimilados.

Pero hay una vía metabólica que permite reciclar una parte del 2PGly.

Esa vía metabólica es la FOTORESPIRACION!!!

En ella, 2 moléculas de 2-PG se transforman en una de 3-PG y en un CO₂ liberándose un Pi. Ese 3PG luego se recicla vía ciclo de Calvin.

Si hacemos un balance general de cada 10C que entran en forma de 2 RubisP, se producen 9 C reciclables (en forma de 3-PG) y 1 CO₂. Ahora solo perdimos 3CO₂ en vez de 6 (si consideramos los que se podrían haber ganado). O sea que es una vía compensatoria por la pérdida por actividad oxigenasa.

La FOTORRESPIRACION es una vía de conexión que mezcla las vías del metabolismo del nitrógeno y del carbono. O sea que a parte de ser compleja, es un punto clave de la regulación de nutrientes de la planta.

Se llama fotorrespiración porque tiene lugar solo en presencia de luz. Se llama respiración porque en el balance global del proceso se consume O₂ (en la oxigenación de la RubisP) y se produce CO₂ (en la reacción de los glicolatos).

La FOTORRESPIRACION necesita la interactuación de orgánulos, además de enzimas. Los tres funcionan coordinadamente en una forma cíclica. Comienza en el cloroplasto y va hasta el peroxisoma y la mitocondria. Luego vuelve al peroxisoma y termina otra vez en el plasto.

(OJO! HAY UNA ERRATA GORDA EN LA IMAGEN DEL CICLO EN EL APUNTE QUE NOS DIO!!)

CLOROPLASTO

A partir de 2 RubisP y 2 O₂ se generan 2 fosfoglicolato. Esos se fosfatan con una fosfatasa hasta glicolato. El glicolato sale del cloroplasto.

PEROXISOMA

En el peroxisoma la Glicolato oxidasa usa 2 O₂ y transforma el glicolato en glioxilato. La oxidasa es una oxidasa flavínica que generan agua oxigenada. Eso es transformado en el peroxisoma por la catalasa en oxígeno nuevamente. Así que se consume un neto de 1 O₂ que se añade a los 2 O₂ de la rubisco.

Uno de los glioxilatos se transamina con glutamato y se transforma en Glicina. El glutamato pasa a Alfa-Cetoglutarato. El otro glioxilato se transamina con Serina mediante la Serina-glioxilato amino-transferasa. El glioxilato pasa a Glicina y la Serina a Hidroxipiruvato.

Lo que sale del peroxisoma es 2 moléculas de Glicina. Además se produjo un consumo de 1 O₂.

MITOCONDRIA

Las glicinas se incorporan al ciclo de los metilos mediado por THF. Una de ellas sufre una desaminación descarboxilativa mediante la glicina sintasa DHasa. Se genera un NADH. El carbono que falta de los 2 que tiene la glicina pasa al THF y da lugar al MTHF. Ese MTHF le tranfiere el metilo a la otra glicina dando lugar a la Serina mediante la Serina Hidroxi-metilTransferasa. Se llama Hidroximetil porque además incorpora una molécula de agua para añadir el grupo hidroxilo que necesita el metilo que viene del MTHF para que se incorpore como el grupo alcohol que tiene la serina. El MTHF pasó a THF nuevamente regenerando el ciclo de los metilos.

Se ve evidentemente que se desprendió un CO₂ en esta etapa. El amoníaco es un desecho tóxico que deberá metabolizarse o expulsarse porque es tóxico (desacopla gradientes de protones en las plantas y por lo tanto jode a la fosforilación en el complejo protón-ATPasa). La planta generalmente lo recicla.

VOLVEMOS AL PEROXISOMA

FALTA UNA CLASE

TEMA 11 – EMPEZAMOS – MECANISMOS DE CONCENTRACION DE CARBONO

Surgen como una alternativa al problema de la fotorrespiración. Lógicamente surgen en organismos fotosintéticos que viven en ambientes que en principio serían muy favorables para la fotorrespiración. Eso quiere decir que vivirían en entornos con muy bajo CO₂. Esos son los organismos en los que han surgido los mecanismos fisiológicos que evitan la fotorrespiración simplemente aumentando la concentración de CO₂ en el microambiente de la RubisCo. Tienen toda la metabólica para la fotorrespiración pero no la dejan producirse a través de mecanismos para impedir la actividad oxigenasa de la RubisCo. Eso lo logran aumentando la cantidad del inhibidor competitivo del oxígeno, es decir el CO₂.

En las plantas con metabolismo fotosintético C₄ y las plantas CAM, tenemos plantas que viven en ambientes

cálidos y que son bastante secos. Son dos condiciones que en principio favorecerían a la fotorrespiración. ¿Por qué? En primer lugar porque las altas temperaturas favorecen la actividad oxigenasa de la RubisCo. Eso es por dos razones, porque las características cinéticas de la RubisCo se modifican con la temperatura y favorecen la actividad oxigenasa y porque en altas temperaturas, cambia la solubilidad del CO₂ y del oxígeno. Las dos disminuyen con la temperatura pero disminuye más la del CO₂ que la del oxígeno. Con lo cual, en un aumento de temperatura habrá menos CO₂ disuelto y aumenta la proporción de O₂. La sequedad del ambiente hace que (al haber poco agua en la atmósfera) la planta cierra los estomas para no perder agua y al cerrarlos ocurre lo que antes, la proporción CO₂/O₂ disminuye al no poder entrar el CO₂ y el O₂ producido por fotosíntesis no poder salir de la hoja.

En algunas de esas plantas que viven en climas de esas características han surgido estos mecanismos de concentración de CO₂ en el entorno de la RubisCo para aumentar la actividad carboxilasa.

MECANISMOS ACUÁTICOS – EN CIANOBACTERIAS Y ALGAS

Los ambientes acuáticos también son peligrosos para la fotorrespiración. La solubilidad del CO₂ disminuye más que la del O₂ en el agua. En el agua hay menos CO₂ disuelto que O₂. Eso hace que la actividad y la fotorrespiración aumente muchísimo. Además hay que tener en cuenta que el CO₂ disuelto puede presentar distintas formas iónicas. Puede estar en forma de CO₂ obviamente, pero también en forma de ión bicarbonato o de ión carbonato. Las formas son interconvertibles evidentemente, pero en los pHs más normales, en lo que va desde 6,5 a 9,5 la mayor parte del carbono disuelto están en forma de ión bicarbonato.

Con lo cual la concentración de CO₂ en el agua es realmente baja. Eso favorecería la fotorrespiración. En las cianobacterias y las algas, evolutivamente se desarrolló el mecanismo de concentración de carbono. Eso les permite acumular carbono en la célula.

En cianobacterias, frente a concentraciones externas de carbono inorgánico de 15 uM, la concentración interna es de 50 mM. Hay 3 órdenes de magnitud más alto. Eso es una absoluta pasada!!!!

Ese mecanismo de concentración de CO₂ se basa fundamentalmente en dos cosas

En un transporte activo de CO₂ y en la existencia de la actividad carbónico anhidrasa (un sistema que cataliza la interconversión del bicarbonato a CO₂. La anhidrasa acelera el proceso enormemente, que en condiciones normales tendría lugar a una velocidad tan lenta que sería útil para la planta.

Las cianobacterias no tienen cloroplastos. En ellas, las membranas tilacoidales están dispersas en el citoplasma, generalmente en la periferia de la célula. Ahí tiene lugar la fase lumínica de la fotosíntesis. La RubisCo está en unos cristales poliédricos proteicos. No son estructuras de reserva, sino estructuras llamados CARBOXISOMAS donde se encuentran secuestrados los complejos proteicos con actividad RubisCo. Ahí está la carbónico anhidrasa. El mecanismo entonces es fácil, el carbonato se transporta adentro mediante un transportador de bicarbonato o un transportador activo de CO₂. Se gasta mucha energía en eso. Independientemente de si lo que se mete dentro es CO₂ o HCO₃, lo que aparece en el citoplasma es HCO₃. Por ello, el bicarbonato deberá transformarse nuevamente en CO₂ en el cristal proteico mediante la actividad anhidrasa. La envoltura del carboxisoma actúa como barrera para evitar que el CO₂ creado en el carboxisoma se pierda. Finalmente, casi todo el CO₂ y el bicarbonato transportado adentro de la célula terminará haciéndose disponible para la RubisCo.

LAS ALGAS EUKARIOTES

Aquí ya hay cloroplastos. Tienen una estructura que no tienen los cloroplastos de las plantas terrestres. Esa estructura es el pirenoide. El pirenoide es una estructura que está rodeada por almidón dentro del cloroplasto de las algas. Ninguna planta terrestre tiene pirenoide. El pirenoide está constituido por múltiples proteínas. En

la década de los 90 se descubrió que era el equivalente a los carboxisomas de las bacterias. Ahí se localiza la RubisCo y la Carbonico-Anhidrasa.

El sistema es el siguiente. Hay un mecanismo de transporte inorgánico que puede ser bicarbonato o dióxido de carbono. Unas transportasas lo meten hasta el cloroplasto (una jodida cianobacteria modificada metida dentro de una célula). Entra todo en forma de bicarbonato. Eso va hasta el pirenoide donde es modificado y es transformado en CO₂ por la anhidrasa. Finalmente el CO₂ va a la RubisCo.

El pirenoide se ha estudiado menos que el carboxisoma. Pero se han conseguido aislar los pirenoides activos a partir de cultivos de algas.

Como vemos la idea en las algas y las cianobacterias es muy similar.

Pero los sistemas no eliminan la maquinaria metabolica de la fotorrespiración. Se ha comprobado que de hecho la maquinaria persiste y es funcional. Pero como la concentración de CO₂ aumenta tanto alrededor de los cristales de RubisCo

Además, los mecanismos de concentración de carbono no funcionan si aumenta mucho la cantidad de CO₂. Si las plantas que no tienen la maquinaria expresada son colocadas en un ambiente hiperoxigenado, comienzan a hacer fotorrespiración. Al cabo de 4 o 5 horas, la fotorrespiración cesa. Eso fue porque se volvieron a sintetizar los mecanismos de concentración de carbono.

Eso es una comprobación de que la fotorrespiración no se elimina, sino que los mecanismos permanecen en las células.

LA FOTOSINTESIS SURGE HACE MUCHO

En un principio no era oxigénica. Luego lo fue cuando lo fue, la cantidad de oxígeno comenzó a aumentar progresivamente. La atmósfera actualmente tiene unos niveles bajo y crecientes de CO₂. En épocas no muy remotas, los niveles de CO₂ fueron más altos que los que hay ahora. Había mucha más temperatura. Eso era en la época de los dinosaurios.

Pero la primera rubisco seguramente fue muy carboxilasa y muy poco oxigenasa dado que había muy poco oxígeno en atmósfera.

¿QUÉ SUCEDE EN LAS PLANTAS TERRESTRES?

Desarrollan mecanismos para evitar la fotorrespiración. El más extendido es el de la fotosíntesis o metabolismo C₄. Es un mecanismo que no solamente implica cambios metabólicos, sino que también implica cambios morfológicos en las hojas. Mientras que en las plantas C₃ (normales) hay un único tipo de células fotosintéticas (las del mesófilo), en las C₄, en las hojas se desarrolla una anatomía especial denominada de K_{RANZ}.

Hay dos tipo de células fotosintéticas que rodean los haces vasculares. Las primeras, que forman como un epitelio sobre el haz se denominan células de la vaina. Rodeandolas hay otras células fotosintéticas que son las del mesófilo.

Los dos tipos de célula se coordinan en la labor fotosintética.

Hay diferencias esenciales entre ellas, sobre todo en el nivel de los cloroplastos.

En las células de la vaina no hay grana y por lo tanto casi no hay Fotosistema II. Sin embargo, sí está ahí la

RubisCo. Por el contrario, en los cloroplastos de las células del mesófilo que aparentemente son normales, NO HAY RUBISCO, aunque sí hay grana y PSII. Es decir que se separa la localización anatómica de la RubisCo de la del PSII.

Como el PSII es el que produce oxígeno, lo que se consigue así es que el oxígeno se produzca en las células en que no hay RubisCo. La RubisCo se expresará en las células que no tengan forma de hacer Fotorrespiración (por falta absoluta de oxígeno).

Curiosamente, éste metabolismo tiene variaciones y modificaciones metabólicas muy interesantes. Sobre todo hay tres variaciones básicas. Sin embargo, desde el punto de vista taxonómico no hay ningún tipo de coherencia. Hay plantas de 16 familias diferentes que son C4. O sea que es una estrategia metabólica polifilética. Sin embargo, han llegado a la misma conclusión anatómica, morfológica y metabólica.

Cómo se ven las plantas C3 cuando marcamos con carbono 14? Se ve que el primer compuesto en que aparece el carbono radiactivo fijado es de 3 carbonos

Las plantas C4 se llaman así porque el primer compuesto en que aparece el carbono 14 es uno o varios compuestos de 4 carbonos.

Tendrán dos enzimas carboxilantes una será la RubisCo. Ésta estará en las células de la vaina. Pero además de la RubisCo hay una segunda que es la PEP-carboxilasa. Esa está en las células del mesófilo. Será el primer sistema carboxilante que actuará. O sea que el que fijará el CO₂ atmosférico será la PEP-carboxilasa en las células del mesófilo.

El sustrato en la PEP-carboxilasa será obviamente el fosfoenol-piruvato, un compuesto de 3 carbonos que tiene un grupo fosfoalcohol, un doble enlace (–en–) y un carboxilo. Mediante la unión con bicarbonato, la carboxilasa lo transforma en OXALACETATO (OAA) que es un compuesto de 4 carbonos. Se libera un fosfato y se incorpora un grupo carboxilo sobre el doble enlace. Además el grupo alcohol se transforma en un grupo carbonilo. Esa reacción tiene lugar en el CITOPLASMA de las células del mesófilo. En todas las C4 ese sistema es el mismo.

A partir de aquí ya puede haber diferencias dependiendo del tipo de plantas. Veremos la ruta principal, que es la más importante y general. Secuencialmente trabajarán los dos tipos de células. El OAA pasará a las células de la vaina donde se dará la síntesis del azúcar. Luego el PEP volverá hasta las células del mesófilo. La superficie de contacto de esas células está íntimamente porizada mediante plasmodesmos que forman una criba.

El OAA muy rápidamente se metabolizará. Puede metabolizarse por dos rutas: puede pasar a Malato mediante la Malato DHasa (que usa NADPH para reducir el grupo carbonilo-ceto), o a Aspartato mediante una Aspartato Transaminasa (a partir de Glutamato- α -KetoGlutarato se añade un amino reemplazando el grupo carbonilo). Dependiendo de qué planta sea, tendremos malato o aspartato. La más normal es la del malato. De las 3000 especies de plantas C4, la mayor parte usan malato.

El Malato o el Aspartato viajan hasta las células de la vaina. Esa difusión tiene lugar a través de los abundantes plasmodesmos. En las células de la vaina se da la descarboxilación del compuesto C4, liberando por una parte CO₂ y transformándose el compuesto C4 en un compuesto C3. El CO₂ liberado va directamente al cloroplasto donde tendrá lugar el Ciclo de Calvin (donde está la RubisCo).

Si el compuesto C4 era el aspartato, la descarboxilación conduce, no en una sino en 2 o 3 reacciones a la Alanina. Si era el Malato, la descarboxilación conduce directamente al Piruvato. Esa descarboxilación puede darse a través de 3 rutas diferentes que reciben el nombre según cuál sea la enzima que cataliza la descarboxilación.

- Málico Descarboxilasa dependiente de NADP⁺ (la más frecuente)
- Málico Descarboxilasa dependiente de NAD⁺
- PEP–Carboxiquinasa

El compuesto C3 vuelve a pasar a la célula del mesófilo. En ellas, los compuestos C3 se transformarán en el sustrato inicial de la primera carboxilación, es decir, el PEP. Si lo que entró era Alanina, deberá transformarse en piruvato por una desaminación. Si lo que entró era piruvato, lo que falta es fosfoenolizarlo. El paso de piruvato a PEP implica la Piruvato Fosfato Diquinasa (PPDK). Para ello utiliza ATP. El ATP se transforma en AMP y 1 Pi dado que uno de los Pi se unen al piruvato.

Es decir que se gastan finalmente 5 enlaces fosfato por CO₂ fijado, en vez de 3 ATP como en las plantas C3.

¿Dónde está la clave del proceso?

La clave del proceso está en la diferencia de velocidad con que actúan los dos sistemas. La PEP–C tiene una velocidad mucho más rápida que la RubisCO, de manera que al funcionar tan rápidamente las primeras fases, se está liberando CO₂ en las células de la vaina a una velocidad superior de lo que la enzima RubisCO puede utilizar. En resumen se produce una acumulación de CO₂ en el ambiente de las células de la vaina. Esos niveles llegan a ser 20 veces más altos que en las células del mesófilo. Así se puede hacer que el CO₂ le gane al O₂ en su competencia por el sitio activo de la RubisCO. Se evita de esta manera el exceso de la actividad Fotorrespirativa en la planta.

La del maíz y la de la caña de azúcar es la que utiliza malato.

La enzima málica dependiente de NADP⁺ utiliza el NADP⁺ para oxidar el malato hasta OAA y descarboxilarlo hasta dar piruvato.

PROBLEMA: El ácido málico no solo transporta CO₂ hasta las células de la vaina. También está transportando poder reductor dado que se forma NADPH en la célula de la vaina a coste de gastar NADPH en la célula del mesofilo. Por eso realmente es una verdadera lanzadera de electrones.

¿Pero por qué es necesario transportar electrones hasta las células de la vaina?

El ciclo de Calvin necesita poder reductor. De hecho, cada CO₂ necesitaba 2 NADPH, además de 3 ATP. Además, el PSII no existe en los cloroplastos de las células de la vaina. Es decir que las células de la vaina tienen muy poca transporte de electrones acíclico y pueden generar muy poco poder reductor, es decir NADPH. Solo puede haber transporte cíclico de electrones y por lo tanto, solo genera ATP.

Por eso es necesario el transporte de poder reductor a través de la lanzadera malato–NADPH que hay en el metabolismo C4. ¿Pero entonces qué sentido tuvo perder el PSII? En el PSII se da la generación del O₂ por fotólisis del agua. Como lo que interesa es que no haya fotorrespiración, lo que se hace es evitar la producción de oxígeno. Por eso la vaina es tan interesante e importante.

En las plantas C4, tenemos el maíz y la caña de azúcar cuya producción biomásica es mejorada gracias a tener metabolismo C4 y no C3. Son de un interés industrial importantísimo.

Hay muchos sistemas regulados por la luz. La PPDK, la PEP–Carboxilasa, y la Malato DH están todas reguladas por la luz aunque los mecanismos son diferentes en cada caso. Por ejemplo, en el caso de la PEP–Carboxilasa, tenemos una regulación doble. El sistema tiene dos formas, la activa y la inactiva. La activa es a la luz. En la forma activa está fosforilada en una Serina. Por lo tanto, el paso de una a otra forma implica una fosforilación mediada por una kinasa. Esa PEP–Carboxilasa–Kinasa se activa por la luz. Esto es solo así en las plantas C4.

Al tiempo que con esta luz se activa la PEP-C-K, se activa entonces la RubisCo y todo está listo durante el día para que se dé la fotosíntesis.

PLANTAS CAM

Se descubrió ese mecanismo en las plantas crasuláceas (Crasulaceae Acid Metabolism). Pero también se vio después que otras plantas también tenían este metabolismo ácido. Muchas epifíticas tienen también metabolismo ácido del tipo de los cactus. Se incluyen también muchas orquídeas.

La estrategia es muy similar que la de las plantas C4. Hay una diferencia fundamental. En las C4 había 2 carboxilaciones, la de la PEP-C en el mesófilo y la del RubisCO en las células de la vaina. Es decir que había una separación espacial entre los dos sistemas carboxilantes.

En el C4 también están los dos sistemas carboxilantes pero la separación será una separación temporal. Los dos procesos se dan en la misma célula pero una carboxilación se da durante la noche y la otra durante el día. Por lo demás los detalles metabólicos son muy similares.

Este metabolismo se da en plantas que tienen estrés hídrico con mucha frecuencia. Son plantas que les interesa mantener cerrados los estomas durante el día para evitar la pérdida de agua. Así intentan hacer frente a esa escasez hídrica.

La tasa de transpiración no era más que los moles de agua que se transpiraban por cada mol de CO₂ fijado. En una planta C3 la transpiración era de unos 500 moles de agua por cada mol de CO₂ fijado. En las CAM, gracias a este mecanismo ácido, la tasa de transpiración puede llegar a ser de alrededor de 50 moles de agua por cada mol de CO₂ fijado. Es decir que el metabolismo CAM les permite hacer un uso más eficiente del agua. Son células con enormes vacuolas que sirven para retener el agua. Tienen hojas carnosas (células cargadas de agua). Así cuidan mucho el agua. El metabolismo CAM entonces es aún otra adaptación más de éste tipo de plantas.

Obviamente, en las horas del día de luz, la radiación es mayor y se podría perder mucha agua. Evitando la transpiración durante el día pueden subsistir. Pero el CO₂ también necesita los estomas para entrar. Entonces lo que hacen es habilitar un mecanismo que les permite concentrar CO₂ durante la noche para fijarlo durante el día sin necesidad de abrir los estomas para ello.

Durante la noche transpiran agua y toman CO₂. Ese dióxido que entra se fijará en el citoplasma de las células a través de la PEP-C. El PEP proviene de triosas-P obtenidas mediante la degradación de almidón.

La PEP-C da lugar a OAA y Pi. La reacción carboxilante de la noche es igual que en las plantas C4 en las células del mesófilo. El OAA rápidamente se metaboliza dado que es muy inestable. Se metaboliza a malato usando la enzima Malato DH (usa el NADH en vez del NADPH que usan las C4). El malato formado se acumula en la vacuola durante la noche en forma de Ácido Málico. El Malato otra vez funciona como una lanzadera de CO₂ que consume energía (1 NADH por CO₂ fijado). Al medir el pH de las hojas se ve que aumenta notablemente la acidez (de ahí lo de metabolismo ácido de las crasuláceas).

Durante el día, el malato sale al citoplasma. El malato se descarboxila mediante la enzima málica hasta piruvato. El CO₂ va al cloroplasto. El piruvato, a través de gluconeogénesis vuelve a triosa-P y finalmente a almidón nuevamente. El CO₂ fijado entra al metabolismo por diversas vías, que pueden ser la acumulación de almidón o el mantenimiento del metabolismo basal de las plantas o el crecimiento, etc.

Otra vez el truco es que la PEP-C tiene una tasa de carboxilación muy alta. El ácido málico se acumula en enorme cantidad. El CO₂ no puede escapar, al igual que el agua durante el día. Por ello, los niveles son tan altos durante el día cerca de la RubisCO que es muy difícil que se de la fotorrespiración. Hay mucha más

carboxilación que oxigenación por esa misma razón y finalmente todo se da correctamente.

Además hay otra diferencia (una tercera diferencia). La PEP-C solo actúa de día en las plantas C4. Entonces, como hacen las CAM para fijar carbono de NOCHE!!!!

Tienen una isoenzima que se activa también por fosforilación. Pero la fosforilación la cataliza una kinasa que se inactiva a la luz y que se activa de noche. Además la forma inactiva se une al malato durante el día facilitando la inhibición (inhibición por exceso de producto final en el día). Eso es porque durante la noche el malato se está metiendo en la vacuola y durante el día el malato sale al citoplasma haciendo que se inactive aún más la PEP-C.

Otras plantas pueden tener metabolismo C3 o metabolismo CAM dependiendo de las condiciones en las que están. Ciertas plantas, al estar sometidas a estrés hídrico cambian su fotosíntesis y su metabolismo. Cuando termina el estrés hídrico vuelven a la fotosíntesis C3. Esas plantas son aún más adaptadas dado que son capaces de cambiar su metabolismo dependiendo del factor clave: agua.

TEMA 12 – ASPECTOS AMBIENTALES DE LA FOTOSÍNTESIS

Influencia de la luz, Efecto dosel, movimiento de hojas y cloroplastos. Respuesta de la fotosíntesis a la irradiancia. Punto de compensación. Plantas de sol y de sombra. Fotoinhibición. Influencia del CO₂. Influencia de la temperatura.

Hay dos elementos clave en la fotosíntesis: la luz y el CO₂. El CO₂ es el sustrato. La luz es la energía. Hay muchos factores ambientales que inciden en el proceso global, pero nos fijaremos solo en la luz y el CO₂.

Una planta está sometida a un régimen de luz variable puesto que la intensidad de luz cambia durante el día. Además dependiendo de si hay o no hay viento, el tema también cambia. Además hay plantas que están creciendo en diferentes sitios: desde una maceta en el patio hasta una pradera. Evidentemente una planta creciendo en una orientación norte no es lo mismo que una planta que crece orientada al sur. Una planta que crece bajo un dosel vegetal no es lo mismo que la planta que pertenece al dosel vegetal.

Al hablar de luz nos estamos refiriendo básicamente a lo que se llama normalmente la radiación PAR (la radiación activa fotosintéticamente). Esas son luces de utilidad fotosintética para los organismos de fotosíntesis oxigénica, de 400 a 700 nm. Las bacterias con fotosíntesis anoxigénica usan luz de arriba de 700 nm. La planta absorbe esas longitudes de onda prácticamente en su totalidad. Hay luces que se reflejan más que otras. Entre 500 y 600 nm se ve que la luz reflejada dentro de la PAR es mayor.

Esta capacidad de absorción debe ser modulada por la planta en función a la intensidad a la que se somete la planta. Eso lo modula la planta para tener suficiente energía lumínica para crecer, pero no tener demasiada para que no se le estropee el sistema fotosintético.

O sea que a nivel de planta, y no solo a nivel molecular o celular, se regulará la distribución de luz.

La distribución de los cloroplastos en una hoja o la distribución de las hojas son ejemplos típicos.

Las plantas que estén creciendo a la sombra tendrán una distribución más homogénea y abierta en las células. Así pueden captar más fotones.

Las plantas que crecen al sol tendrán una distribución más fija de los cloroplastos, distribuidos en paralelo a los rayos del sol. Los pega a la pared todos juntitos, haciendo que la menor cantidad de superficie de cloroplastos esté expuesta. Eso es para que intenten captar una mínima cantidad de luz. Así evitan fotoinhibición y procesos nocivos para las células.

A nivel de planta se modulan muchísimas cosas. Las hojas expuestas al sol tendrán toda la maquinaria fotosintética más reducida. Las hojas expuestas a la sombra tendrán toda la maquinaria mejor distribuida para actuar con la mejor potencia (más pigmentos, más cloroplastos, distribución más homogénea, más células fotosintéticas, etc.)

Las luces que están sirviendo de señal para ese movimiento de cloroplastos es siempre la luz. Comentamos que en la apertura y cierre de los estomas, la luz azul era la moduladora. Pero también en el movimiento de los cloroplastos, la señal efectora será la luz azul.

Pero muchas plantas como las malváceas y las leguminosas son capaces de girofoliar las hojas moviéndolas hacia las fuentes de luz cuando las necesitan y alejándose de ellas cuando les sobra. A lo largo del día intentarán optimizar la intensidad de luz que absorberán.

Las plantas diaheliotrópicas, la orientación seguirá al sol de manera que en esas plantas las hojas al amanecer tienen una disposición erecta, perpendicular al suelo y mirando hacia el este (la salida del sol). Eso para empezar a captar luz desde el momento que el sol sale. A medida que el sol se mueve en la bóveda celeste, ellas irán girando las hojas para dirigir las siempre hacia el sol. Al atardecer las hojas están otra vez erectas y apuntando hacia el oeste. En la noche las hojas se quedan en posición horizontal y giran otra vez para orientar las hojas hacia el este nuevamente.

El cambio de la orientación se lleva a cabo porque en la zona en la que la hoja se une al peciolo tienen unas células especiales denominadas pulvinulares. Forman el pulvínulo. Mediante cambios osmóticos van orientando a la hoja y le permiten orientarse intentando siempre optimizar la captación de energía lumínica.

En las plantas paraheliótropicas también hay un movimiento y una orientación. Pero en este caso es la opuesta. Intentan siempre minimizar la luz absorbida. Les interesa por su situación fisiológica no absorber demasiada luz. De manera que orientan las hojas para que la captación de luz sea siempre la mínima.

Hay plantas que pueden tener un comportamiento diaheliotrópico o paraheliótropico dependiendo de sus condiciones fisiológicas del momento. En ciertas condiciones le conviene huir del sol, mientras que en otras no.

El factor que determina eso es nuevamente el estrés hídrico. Cuando una planta está en situación de estrés hídrico cierra los estomas, necesita conservar el agua. Le es más importante conservar el agua que fotosintetizar mucho. Así orienta las hojas para minimizar la superficie en la que incide la radiación. No es conveniente calentarse de más o generar ATP o NADH en exceso. Además, como el CO₂ no lo pueden captar no tiene sentido.

PLANTAS DE SOL Y PLANTAS DE SOMBRA

Las plantas de sol son las que tienen regímenes de sol de alta intensidad. Las plantas de sombra serían lo opuesto. Hay una serie de parámetros que diferencian unas plantas de otras. Eso puede ir desde el tamaño de las hojas a la proporción de los fotosistemas. O sea que los parámetros y las modificaciones son diversas y en toda la escala orgánica.

Las hojas de las plantas de sol suelen ser de tamaño pequeño. Tienen más densidad de estomas y menor superficie de captación. Las hojas tienen más cantidad de capas celulares.

A nivel de cloroplastos suelen tener menos grana y por lo tanto menos PSII. Como producen más fotoasimilado tienen gránulos de almidón más grandes.

Las hojas de las plantas de sombra son amplias y con baja densidad de estomas y mayor superficie de

captación. Tienen menor grosor, y menos células en empalizada. Suelen tener más grana y mayor cantidad de PSII y LHC para así amplificar la antena fotosintética. De esa manera evitan el escape de los pocos fotones que les llegan. Tienen menos número de depósitos de almidón dado que la producción es baja.

Eso hará que las plantas de sotobosque tengan más pigmentos en general y por lo tanto serán más verdes y de un verde más intenso. Las plantas más superiores serán menos pigmentadas.

Igualmente estuvimos describiendo dos extremos. En general dentro de un árbol encontramos ambos tipos de hojas. Con lo cual tenemos variegados fenotípicos con respecto a la forma y metabolismo de las hojas dependiendo de la orientación y la situación en altitud dependiendo de donde estén en relación al dosel.

(Dosel = Canopy en inglés). Es por eso que es tan difícil hablar de la fotosíntesis en general en un árbol, dado que la situación cambia aún dentro del mismo organismo.

RESPUESTA DE LA FOTOSÍNTESIS A LAS VARIACIONES EN LA INTENSIDAD DE LA LUZ

Y LAS CURVAS P/I

Son curvas que comparan la fotosíntesis frente a la irradiancia. Es decir que comparan cuanto varía la actividad fotosintética a medida que cambia la intensidad de luz a la que está sometida. Para medir la capacidad fotosintética se mide la relación entre O_2 fijado y CO_2 desprendido.

A intensidades de luz muy bajas, al analizar la relación entre la toma de CO_2 y el desprendimiento de CO_2 . lo que se observa es un desprendimiento neto de CO_2 en vez de una ingestión de CO_2 . A una determinada intensidad lumínica el balance es cero. Luego, a partir de ahí aumenta la cantidad de CO_2 que se fija con respecto a la que se respira. Lo que realmente se ve a través de esto es la comparación entre la respiración y la fotosíntesis. La respiración desprende CO_2 mientras que la fotosíntesis fija CO_2 . Cuando la irradiancia es 0, hay solo respiración y por lo tanto solo se desprende CO_2 y se consume O_2 . En el momento en que se iguala la fijación y el desprendimiento, estamos en el umbral, en el que lo que se fija es respirado luego en la mitocondria. Finalmente, pasado el umbral se ve que la fotosíntesis supera a la respiración.

Si a partir de ahí seguimos aumentando la intensidad lumínica vemos que el CO_2 pasa a ser limitante con respecto a la cantidad de electrones que pasan a la cadena y por lo tanto se nos acumularía NADPH sin sentido. Es ahí donde hay tanto PQH₂ en la cadena que se pasa a flujo cíclico en vez de a la generación de NADPH. Eso ya lo sabemos Pero tenemos que considerar que cuando la intensidad es muy alta, ya no hay más fotosíntesis dado que la fijación de CO_2 se ve limitada por falta de sustrato.

En cuanto a medición a través de curvas PI, tenemos que, a 0 intensidad, la cantidad de CO_2 asimilado es negativo, es decir que se está desprendiendo CO_2 (por culpa de la respiración). A partir de ahí, cuanto más aumente la intensidad, va haciéndose más positiva la cantidad de CO_2 asimilado a medida que la fotosíntesis bruta aumenta. A partir de que la fotosíntesis bruta es igual a R, tendremos fotosíntesis neta real, es decir fijación verdadera. En el ejemplo del profesor, la respiración es 5 micromoles por metro cuadrado por segundo. La fotosíntesis neta a 200 micromoles por metro cuadrado por segundo de absorbancia, es de 14 micromoles. Es decir que la fotosíntesis bruta ahí será de 19 micromoles.

Como vimos a partir de un momento, el CO_2 se hace limitante. Hasta ahí, a medida que aumentemos la intensidad aumenta la fijación. La pendiente de esa recta de proporcionalidad nos mide el RENDIMIENTO CUANTICO de la fotosíntesis: va de 0,04 a 0,1 normalmente.

La irradiancia a partir de la cual la fotosíntesis se satura, se denomina Irradiancia K.

El PUNTO DE COMPENSACION es la irradiancia para la cual la fotosíntesis neta es 0. En algunos casos,

como en tapetes cianobacterianos de la Antártica existen curvas PI por debajo del punto de compensación. Eso quiere decir que pierden más biomasa de la que fotosintetizan y que por lo tanto estaban en declive.

Las curvas PI para las plantas de sol son más altas. El parámetro que menos cambia suele ser el rendimiento cuántico. Pero el resto de los parámetros suele cambiar. En general las plantas de sombra tienen menos respiración que las plantas de sol y por lo tanto se saturan antes, teniendo I_k más bajas. El punto de compensación lumínica también suele ser más bajo.

Las plantas de sol suelen tener saturación en irradiancias de entre 500 y 1000 micromoles de fotones por metro cuadrado y por segundo. A medio día en verano, en España, podemos tener en un día claro despejado unos 2500 o 3000 micromoles de fotones. Es básicamente la intensidad más alta que puede recibir una hoja.

Organismos que viven en ambientes más extremos de luz pueden tener las irradiancias máximas con valores de entre 50 y 100 micromoles. También cambia muchísimo la velocidad máxima de fotosíntesis en las plantas de sombra y las plantas de sol.

Cuando una planta que es de sol queda expuesta a plena luz solar, simplemente intenta aprovechar mejor el sol. Pero las plantas de sombra, al exponerse súbitamente, tienen problemas muy serios. Al tener tal cantidad de clorofila, la capacidad de fotosíntesis es tan alta que se conduce a la fotooxidación y la fotoinhibición muy rápidamente. Usan los llamados mecanismos de adecuación para sus características fotosintéticas. La separación de los complejos antena del PS II ya fue citada con anterioridad. También hablamos del ciclo de las xantofilas que también citamos. Finalmente teníamos la quema del fusible que era la de eliminar la D1 y sintetizarla luego cuando la intensidad de luz vuelva a ser la normal.

Cuando tomamos una planta de sombra y en vez de aumentarle gradualmente la intensidad se la aumentamos rápidamente, se evidencia en la curva PI la fotoinhibición con un declive de la velocidad de fotosíntesis casi hasta niveles de respiración.

LOS NIVELES DE CO₂ EN LA ATMOSFERA

Han ido cambiando a lo largo de la historia del planeta. Hay épocas en las que el registro es mejor que en otras. Se sabe que hace muchos miles de millones de años, la concentración de CO₂ era muchísimo más alta que la que es ahora. La concentración fue disminuyendo y ha ido variando.

A partir de la aparición del Homo sapiens, el CO₂ hace un pico y comienza a hacer declive. Pero en el momento en que comienza el uso de la agricultura hace unos 10000 años, se dispara súbitamente la concentración de CO₂ más marcadamente de lo que fue en otras épocas. Estamos hoy cerca de las 400 partes por millón. Se espera que estemos cerca de las 600 partes por millón dentro de algunos años. Se superponen entonces dos fenómenos: los cambios naturales del planeta y los cambios propuestos por el hombre. Pero siempre debemos considerar que las cosas que hace el hombre no dejan de ser presión evolutiva. Lo mismo que hacen ciertas bacterias tirando antibióticos sobre su ambiente lo hace el hombre. Y muchas veces algunas bacterias salen mal por evolución y hacen cosas que las petan a sí solas. Nosotros no somos capaces de entender el caos de las interacciones que llevan a esas situaciones. Entonces no sabemos como va a repercutir todo el tema en el ambiente.

RESISTENCIA AL PASO DE CO₂ HASTA EL CLOROPLASTO DESDE LA ATMOSFERA

Los estomas son la forma de entrada que tiene el CO₂. Como sabemos, hay una cierta resistencia para esa difusión. Son muy similares a las que usamos cuando hablábamos de la transpiración de vapor de agua. Ya decíamos que está la capa límite, la resistencia estomática y la resistencia dentro de la hoja. En todas ellas siempre está en fase gaseosa. Una vez debe difundir en el apoplasto de las células fotosintéticas, el CO₂ debe difundir en el agua que forma la matriz del apoplasto. A partir de ahí llega al hialoplasma, atraviesa el

cloroplasto y llega finalmente al estroma. Por eso se suele hablar de las resistencias de la fase gaseosa y las resistencias de la fase líquida (ya cuando debe entrar en las células del mesófilo). La etapa clave de las 6 es la misma que en la transpiración, o sea la resistencia estomática. Si el estoma está cerrado, evidentemente el CO₂ no puede difundir. ¿Qué molécula difundirá mejor, el vapor de agua o el CO₂? El CO₂ tiene un peso molecular mayor. Por eso es menor la difusión del CO₂ que la del agua. Sencillamente porque es más pesado. La cantidad de CO₂ que llega al cloroplasto a través de todas estas rutas, teniendo que solventar todas esas resistencias viene a ser de un 50 o 70 % menor que la concentración de la atmósfera. O sea que la concentración en el cloroplasto de CO₂ en una planta C₃ es mucho menor que la concentración de CO₂ en la atmósfera. En la atmósfera está en 350 o 400 ppm. En CO₂ disuelto en agua viene a equivaler aproximadamente a unos 10 o 12 micromoles por litro. Si esta es la concentración atmosférica, en el estroma del cloroplasto tenemos entre 5 y 7 micromolar de concentración.

La Km de la RubisCO para el CO₂ era de 12 micromolar. Con lo cual a 5 o 7 microM, la enzima está trabajando muy por debajo de la media velocidad máxima. Está trabajando a muy poca velocidad. La respuesta de la planta frente a esta situación es similar a cuando viven en condiciones de baja luz. Cuando la concentración ambiental de CO₂ es baja, tenemos las plantas C₄ y las CAM que se las ingeniaron de una manera curiosa. ¿Pero qué se inventaron las plantas C₃ para esto? Es sintetizar grandes cantidades de RubisCO de tal manera que más del 50% de la proteína de la hoja es RubisCO. Por eso es relativamente fácil de aislar en las hojas de una planta C₃. Es similar a lo que hacían con los cuantos de luz. Tienen más clorofila para asegurarse que todos los cuantos de luz que sean aprovechables SEAN aprovechados. Eso aunque la eficiencia del proceso sea baja.

Consecuencia... la cantidad de proteína en hoja de la planta C₃ es mucho mayor que en una planta C₄. Eso es así porque la cantidad de RubisCO que tienen es mayor. Y obviamente necesitarán por ello más nitrógeno. Es así que las plantas C₃ necesitan por ello más nitrógeno que las plantas C₄ para crecer. Requieren más nutrientes por ello. Es otra vez el concepto de que la vida no se desarrolla en líneas sino más bien se teje en redes y círculos

Globalmente, la solución es costosísima para la planta, ya que tiene que sintetizar más proteína. Además, si viven en ambientes con poco CO₂ y encima con poco nitrógeno, la cagaron.

A pesar de que es menos posible que cambie la concentración de CO₂ de una manera tan drástica, también se han hecho experimentos para pintar curvas P_C (Photosynthesis/Carbon concentration). Se mide la velocidad de fotosíntesis neta frente a la concentración de carbono. Las curvas son similares, curvas con saturación que tienden hacia una asíntota, la velocidad máxima de la asimilación por la RubisCO.

La pendiente inicial habla de la eficiencia de la carboxilación (en vez de la eficiencia cuántica de los pigmentos). En las plantas C₄, con una mínima variación en la concentración de CO₂ implica un cambio muy importante en la tasas fotosintéticas ya con 50 ppm pueden trabajar a velocidades casi de saturación!! En las plantas C₃ hay una respuesta más suave. A una concentración de CO₂ absolutamente limitante para una C₃, una planta C₄ está ya casi en saturación!!! Parecería que la eficiencia fotosintética de las C₄ es mucho mayor pero

Para saturarse la C₃ necesita mucha más cantidad de CO₂ y por supuesto alcanza velocidades máximas algo mayores que la planta C₄. A 350 ppm, la C₃ está casi alcanzando la saturación, pero todavía tiene bastante proteína. La C₄ ya está saturada hace unas 100 ppm Pero a partir de ahí la C₄ estanca su fotosíntesis mientras que la C₃ sigue aumentando.

Eso es porque energéticamente el mecanismo que usan las C₄ requiere un gasto mayor de energía que el mecanismo de las C₃. Además las C₃ tienen mucha más RubisCO. Frente a estas dos cosas es obvio pensar que la velocidad de las C₃ pueda alcanzar valores más altos.

En las fases iniciales la limitación suele depender de la RubisCo. El sistema enzimático simplemente no está trabajando a todo su poder. Realmente la RubisCO no está fijando todo el CO₂ que podría. El verdadero limitante es el CO₂.

Lo que limita la es la capacidad de regeneración de la Ribulosa Bis Fosfato en el ciclo de Calvin. La Ribulosa que se generaba se reciclaba. Pero otra parte del CO₂ sirve para otras cosas. Realmente la limitación que hay es que no hay suficiente RuBP. En una planta C₃ que está todavía sin limitarse, mientras que la C₄ ya está la tasa de fotosíntesis está todavía. Si quisieran podrían intentar reducir la cantidad de generación de triosas fosfatos para emplear más carbono en generar ribulosa. pero eso no tendría un sentido ya que lo que quiero hacer con la fotosíntesis es conseguir que la plantita crezca. si solo genero RuBP no estoy consiguiendo nada más que aumentar la velocidad de fotosíntesis. o sea que es una limitación implicada con el metabolismo y las necesidades fotosintéticas y de crecimiento de la planta.

A concentraciones muy bajas, la fotosíntesis neta es negativa. Eso es así dado que hay tan poco CO₂ que la respiración supera a la fotosíntesis neta. A partir del punto de equilibrio entre la respiración y la fotosíntesis tendremos un incremento progresivo (en pendiente = eficiencia de la rubisco) de la fotosíntesis bruta.

ADEMAS DEL CO₂ TENEMOS QUE CONSIDERAR LA TEMPERATURA QUE AFECTARA TAMBIEN AL PROCESO FOTOSINTETICO

Usando terminología animal las plantas son organismos poiquiloterms. Su temperatura varía con la temperatura ambiente. Eso hace que se vean sometidas, al igual que muchos otros organismos, a cambios de temperaturas bastante marcados. Cualquier proceso fisiológico que se estudie generalmente tenemos curvas de cómo campanas de Gauss con un pico en una determinada cantidad (temperaturas óptimas) y luego un declive hacia temperaturas más altas y temperaturas más bajas. El diseño de la campana puede cambiar modificando la desviación típica y la media pero sigue siendo una campana. Las temperaturas óptimas variarán entonces dependiendo del ambiente en que viva esa planta. Generalmente el óptimo de una planta será la temperatura media para la zona donde vive esa planta.

En general, con respecto a la temperatura, los peores problemas están en los climas más fríos. La actividad fotosintética se resiente más en continentes como la Antártica. Hay solo dos vasculares en toda la Antártica.

Una Poaceae y una Caryophyllaceae. Evidentemente cuando no hacía frío en la Antártica ahí había bosques. Pero estas son solo las dos plantas vasculares que hay. Además están solo en las zonas más al norte, como las que dan hacia Argentina. En la zona más continental prácticamente no hay plantas vasculares. Sí nos encontramos musgos y otros bryophyta intercalados con tapetes de cianobacterias. Hay organismos que están viviendo a 2° en verano que es la única estación en la que la fisiología funciona. Mientras en la llamada Noche Antártica que dura Otoño, Invierno y Primavera, los organismos están en Stand-by esperando la luz y el calor.

Las respuestas a las temperaturas son más marcadas en las C₄ que en las C₃, responden mucho más frente a los incrementos de temperaturas. Las C₄ son de climas cálidos básicamente. Por eso tienen óptimos mucho más altos que en las C₃. Pero en las C₃ no suele haber un incremento muy importante y marcado y tampoco se alcanzan óptimos muy óptimos.

Eso es porque en el caso de las C₄ la fotorrespiración está inhibida absolutamente y por eso pueden aumentar más su actividad cuando la temperatura se hace óptima. Las C₃ aumentan tanto su actividad fotosintética como fotorrespirativa. Y esos dos aumentos se contrarrestan haciendo que no se vea un óptimo muy marcado. Cuando le metemos un chute de CO₂ a la C₃ mientras que le aumentamos la temperatura, ahí sí la fotorrespiración sí se inhibe en la C₃ y aumenta mucho más la fotosíntesis notándose más la campana picuda.

TEMA 13 – RESPIRACION EN LAS PLANTAS

Cuando se habla de la respiración se suele decir que son procesos metabólicos tendientes a la obtención de energía. Pero esta definición es un poco escasa.

Las vías respiratorias en los animales, como en las plantas, son clave, ya que tienen otra función metabólica además de la obtención de energía. Son el centro del metabolismo celular.

Las rutas respiratorias podemos establecerlas en 4 fases:

- Degradación de almidón y sacarosa a hexosas P (pool de las hexosasP)
- Oxidación de las hexosas P que forman compuestos de 3 C
- Ciclo de Krebs (en la mitocondria)
- Poder reductor en generación de gradientes de protones en la cadena de las mitocondrias

DEGRADACION DE ALMIDON Y SACAROSA

El pool de hexosas es básicamente Glucosa 1P, Fructosa 1P y Glucosa 6P. La degradación del almidón se produce en los plastos en general. Fundamentalmente en amiloplastos y cloroplastos. En cada uno la degradación será diferente.

- Cloroplastos: Vía de la almidón fosforilasa, que degrada almidón a G6P. Esta remetaboliza a DHAP que se exporta al hialoplasma a través del transportador de triosas P (antiporte con P).
- Amiloplastos: Ruta de la Alfa-amilasa (degradación de almidón en semillas). Producción directa de glucosa que se fosforila luego por la glucosakinasa. Esto se exporta al hialoplasma incorporándose al pool de Glucosa6P.

La degradación de la sacarosa también tiene 2 alternativas dependiendo del tejido donde estemos.

- Vía de la invertasa – rompe la sacarosa en Fructosa + Glucosa que se fosforilan a G6P y F6P[^]
- Sacarosa sintasa – la rompe mediante UTP y da lugar a Fructosa + UDP glucosa que se transforma a G1P y luego a G6P con una mutasa. La fructosa se fosforila también y pasa a F6P.

OXIDACION DE GLUCOSA – GLUCOLISIS

Es una ruta metabólica muy antigua. Consiste en la oxidación de las hexosas fosfato hasta piruvato por reacciones sucesivas en las que la célula genera ATP y poder reductor. La primera fase consiste en que las hexosas fosfato se transformen en triosas P, para lo que hay una reacción de fosforilación de la F6P a través de la PFK dependiente de ATP. En las plantas hay otro sistema enzimático, además del de la PFK que es reversible y depende de PPI. No se sabe el papel que tiene. Las plantas noqueadas crecen sin problemas sin él.

La otra diferencia de las plantas está en el punto final de la ruta. Aquí, además de la entrada de piruvato en la mitocondria hay 2 rutas alternativas. El PEP pasa del hialoplasma a la vacuola donde se muta a piruvato que también va a la mitocondria. No se han encontrado los tres de esta 2 comp

La otra alternativa final de la glucólisis es la transformación del PEP a malato a través del OAA. Lo hemos visto en temas anteriores, pero aquí se hace con sentido respiratorio. La regulación de la glucólisis en plantas es muy diferente e importante. Los animales regulan de arriba abajo. Las plantas regulan desde abajo hacia arriba.

Los dos sistemas clave son la PFK dependiente de ATP y la PiruvatoK. El producto del 1er sistema en animales activa a la PirK. Sin embargo en las plantas es al revés. La PFK es inhibida por el PEP!!!

En las plantas las células con cloroplastos tienen una exportación desde el cloroplasto hacia el citoplasma. Esa

exportación de triosas se daba mediante un antiporte con fosfato. O sea que se mantenía el balance de fosfato en la planta. Cuando hay esta exportación, esas triosas fosfato pueden metabolizarse vía glucólisis o mediante otras rutas. Si se metabolizan vía glicolisis, evidentemente se va a producir una activación de todos los sistemas enzimáticos de la vía y se formará piruvato. Si esas triosas van por la vía glicolítica porque la planta necesita ATP, evidentemente lo que no tiene sentido es que esté gastando ATP para suministrar carbonos desde la F6P en el inicio de la vía. O sea que el PEP (uno de los últimos productos de la ruta) inactivará la PFKinasa para así evitar que se metan hexosas. Eso es para ahorrar!!! Esas F6P entonces se dirigirán hacia otras rutas o sencillamente se mantendrán en almacén.

Conclusión: si estoy metiendo muchas triosas se inactiva el meter fructosas a la glucólisis.

Hay otro aspecto que también regula la PFK. Eso es los niveles de ATP. El transportador de DHAP-Pi funciona en los dos sentidos. Cuando la fotosíntesis está muy inactiva, el DHAP hace falta en el cloroplasto, por ejemplo cuando hace falta sustrato de ribulosa para hacer fotosíntesis. En esas condiciones hay que meter DHAP!!! Cuando se invierte el transportador, el Pi que pasa hasta el Citosol actuará haciendo que se active más la PFK para que se transforme más F6P en Triosas P para que puedan ir a donde se necesitan, en el cloroplasto.

O sea que el transportador de las triosas fosfato tiene un papel clave ya que conecta las vías metabólicas respiratorias (catabólicas) con las sintéticas (anabólicas). Juega con los niveles de carbono, ATP, PEP, etc. a través del control de la PFK.

CICLO OXIDATIVO DE LAS PENTOSAS FOSFATO

Está también en las células animales funciona muy bien y activamente en algunos tejidos en animales. La ruta OPP tiene lugar al igual que la glucólisis en el citoplasma. Es una ruta en la que en definitiva se producirá una oxidación parcial de la glucosa-6-P.

La primera reacción, la G-6P se oxida hasta 6P-Gluconato mediante una deshidrogenasa que usa un NADP+ (se oxida el enlace hemiacetal de la glucosa). En una segunda reacción, se produce una descarboxilación oxidativa que genera otro NADPH y libera un CO₂. El producto final es Ribulosa-5-P.

Por razones de conveniencia estequiométrica, se parte de 3 G-6P por lo cual se consiguen 3CO₂, 6NADPH y 3 Ru-5-P. Esa se isomeriza y cambia a tres pentosas, 2 de Xilulosa-5P y una de Ribosa-5P.

La Ribosa y la Xilulosa comienzan a combinarse inversamente a lo que sucedía en el reciclaje de Calvin por lo tanto se reorganizan primero en la SedoheptulosaP y el G3P^A, y luego en Fructosa6P y Eritrosa4P. La eritrosa se transcetola con la última Xilulosa-5-P para dar lugar a una segunda F-6P y un G3P.

O sea que se obtuvo al final a partir de 3 G-6P, 6 NADPH, 3CO₂, 2 F6P y 1 G3P.

Comparando esto con la glucólisis, en la glucólisis se hacen 3 Glucosas-6P y se gasta 1 ATP para dar 2 F6P y 2 G3P. Entonces qué sentido tiene toda esa vía más compleja?!!?!? Tiene algún sentido metabólico?!!?!?

El sentido es que se está produciendo NADPH y no el NADH que se produce en la vía glicolítica y el ciclo de krebs. Ese otro ciclo genera NADH y algunos sistemas enzimáticos, sobre todo en rutas biosintéticas importantes para la planta necesitan NADPH!!! O sea que la vía oxidativa tiene un papel que es fundamentalmente el generar NADPH!!!

Además de que genera más poder reductor que la glucólisis. También genera metabolitos para el ciclo de Calvin (Sedoheptulosa, Eritrosa..etc. que pueden pasar al cloroplasto). También genera Ribosa-5-P para la síntesis de nucleótidos y la síntesis de fenoles.

Es como vemos una vía más importante en las plantas que en animales.

Es importante destacar que si cogemos la fructosa y el G3P y los metemos en la mitocondria y luego al ciclo de krebs, podemos oxidarlos en el TCA!!!!

VIAS OXIDATIVAS FINALES – OXIDACION EN LA MITOCONDRIA – CADENA DE TRANSPORTE ELECTRONICO MITOCONDRIAL

El PEP o el malato que yo quiera oxidar tendrá dos formas de meterse. Se da a través de la lanzadera de malato o a través del transportador piruvato–hidroxilos. El Malato que haya entrado mediante la lanzadera con Pi deberá incorporarse como malato, y si falta acetilCoA puede primero pasar a piruvato mediante la enzima málica dependiente de NAD. Todo el piruvato que entró en la mitocondria podrá descarboxilarse y pasar a ActilCoA.

A eso le sigue el TCA. Es importante destacar una diferencia con los animales. En plantas, la SuccinilCoA sintasa (que funciona en sentido opuesto a su nombre en el ciclo) produce ATP en vez de GTP.

En el siguiente paso seguiríamos en la cadena respiratoria. Todo el NADH serviría para generar ATP mediante la cadena de transporte electrónico mitocondrial.

Los componentes normales serían los complejos I, II, III, IV y la ATPasa, más el citC del estroma y las quinonas.

El complejo I es el que oxida el NADH y le da los electrones a las Q. La II es la deshidrogenasa de membrana del TCA que mete electrones mediante el FADH₂ también hasta las quinonas. Las quinonas le pasan los electrones al III. Traslocan protones. El III le pasa los electrones al IV mediante el citC. El IV usa esos electrones para darselos al oxígeno y generar agua traslocándose más protones. Los protones luego pasan hasta la matriz mediante la ATPasa bomba de protones generándose ATP.

El NADH obtenido en la glucólisis debe entrar por las vías de malatoaspartato, y otras vías de lanzadera. El NADH entra así. Los NADPH que se formen en la mitocondria NO PUEDEN ENTRAR EN LA CADENA RESPIRATORIA PORQUE EL COMPLEJO I SOLO USA NADH EXCLUSIVAMENTE. O SEA QUE EL NADPH GENERADO NO PUEDE USARSE EN MITOCONDRIAS!!!!

En las plantas habrá 3 diferencias básicas. En primer lugar, en el lado del espacio intermembrana hay una NADPH deshidrogenasa que es capaz de coger electrones tanto del NADH como del NADPH (los que vienen del ciclo de las pentosas). Eso lo hace con un cofactor FAD. Se los pasa directamente al pool de quinonas y de ahí al III y al IV. O sea que las plantas podrían usar el poder reductor sin necesidad del I!!!

En segundo lugar, hay otra NADPH deshidrogenasa que se puede distinguir de las otras porque es insensible a rotenona (un fármaco que jode las deshidrogenasas – un inhibidor del complejo I y de la NADPH deshidrogenasa intramembrana). Se habla del bypass ya que sirve en condiciones en que el complejo I está jodido.

En tercer lugar, la citocromo oxidasa se bloquea con cianuro. En las plantas, se sabía desde hace tiempo que la respiración no se inhibía del todo en presencia de cianuro. O sea que seguía habiendo consumo de oxígeno cuando el cianuro se colocaba. Eso se debía a la existencia de la oxidasa alternativa, una proteína que es capaz de recoger electrones directamente de las quinonas y cedérselos al oxígeno. Es otro bypass..una vía directa que lleva los electrones al oxígeno sin pasar por el complejo III y IV. La consecuencia de esto es que se genera menos ATP por NAD(P)H oxidado. Es de destacar que en esa vía los únicos protones bombeados lo estarían haciendo a través del complejo I.

Otra vezqué sentido metabólico tienen las proteínas BYPASS!?!?!?!?!?

En algunas plantas el sentido metabólico se ha visto que tiene aspectos casi curiosos y anecdóticos. Hay una familia que son las Aráceas en las que se ha visto un papel para esta respiración a través de la oxidasa alternativa que es curiosa. Evidentemente si la energía que se está generando no sirve para formar ATP, ¿qué pasa con esa energía?!?! Claro es que la energía se disipa en forma de calor!!!! Cuando los osos están hibernando la respiración sirve solo para generar calor, no para generar ATP. Eso se consigue desacoplando parte de la cadena respiratoria. En vez de generar ATP se está generando calor.

Esa vía alternativa logra lo mismo con esa energía!!! Lo que se vio en las Áraceas es que en el momento de la floración, estas plantas ponen en marcha la oxidasa alternativa con la consecuencia de que aumenta 10° la temperatura en la inflorescencia. ¿Qué pasa con ese aumento? Que todos los compuestos volátiles se volatilizan permitiendo que los polinizadores sean atraídos y se favorezca la polinización!!!

En determinadas circunstancias las mitocondrias están trabajando a destajo. En el caso de los animales cuando hay un exceso de alimentación las mitocondrias trabajan más de la cuenta. En esos casos la cadena respiratoria no da abasto para drenar todo el poder reductor. Eso hace que parte de ese poder sea atrapado directamente por el oxígeno sin pasar por la oxidasa. El oxígeno capta así directamente electrones desde los nucleótidos de pirimidinas. También sucedía en la cadena de los plastos, ya lo comentamos.

Cuando el oxígeno atrapa electrones se producen los radicales tóxicos del oxígeno que alteran las membranas y causan parte del envejecimiento celular.

La idea es que la oxidasa alternativa permitiría también drenar algo de poder reductor evitando así también la formación de radicales tóxicos. El tema está poco estudiado en las plantas. En los animales está algo mejor visto. Mucha gente dice que aún así los radicales tóxicos en las plantas ya se producen sobre todo en la fotosíntesis y en la fotosíntesis no hay oxidasa alternativa que valgo con lo cual poca gente cree que haya un papel CLAVE de la alternativa. Si lo hace, bien pero no es un problema básico.

Algunas personas llegan a creer que dado que el envejecimiento en los animales tiene que ver con esos radicales tóxicos, las plantas **SERIAN MAS LONGEVAS QUE LOS ANIMALES** gracias a que tienen esa oxidasa alternativa. Pero esto es una boludez tremenda ya que estaríamos comparando animales y plantas!!!

RELACION ENTRE LA BIOSINTESIS Y LA OXIDASA ALTERNATIVA la segunda hipótesis

Como sabíamos tenemos una red metabólica impresionante. LA Glucólisis, la OPP y el TCA son importantísimas fuentes para las vías biosintéticas también. O sea que el papel no es solo oxidativo y para sacar energía sino que también se consigue conectar las vías catabólicas y anabólicas a través de estas rutas. Los procesos de regulación siempre suelen ser la clave de muchas explicaciones.

Cuando las vías respiratorias, TCA, glucólisis, etc., están muy activas, esa activación genera un incremento en el poder reductor. Por lo tanto, la cadena respiratoria se activa enormemente y en el caso de los animales, aumenta muchísimo el ATP. Tanto en animales como en plantas, esos niveles altos de ATP sirven como señal reguladora para inhibir las vías respiratorias. En condiciones normales entonces el ATP es la señal que regula los procesos respiratorios. Eso es porque en los animales, la única vía para formar ATP son las respiratorias. Pero en vegetales, el ATP se consigue en el PLASTO!!! O sea que hay dos fuentes de energía!!! Entonces necesitamos hacer una distinción metabólica de los tejidos vegetales.

En las células fotosintéticas, el papel de la glucólisis entonces es fundamentalmente el de aportar precursores para la síntesis de moléculas biológicas. Pero si el ATP aumenta, las vías respiratorias se inhiben igual!!! Entones cómo soluciono el tema!!! Eso se logra canalizando el poder reductor hacia la oxidasa alternativa en la mitocondria. Así nunca aumenta mucho el ATP en el citosol haciendo que las vías respiratorias puedan

funcionar.

Es esencial destacar también que las necesidades energéticas de una planta es siempre mucho mayor que la de un animal ya que está creciendo constantemente!!!! O casi constantemente. Es por eso que sus necesidades biosintéticas TIENEN MAS TRASCENDENCIA que en los animales!!!! Las triosas P están muy bien gracias a la fotosíntesis y de ahí a la formación de sacarosa todo OK, pero TAMBIEN NECESITO OTRAS COSAS como AMINOACIDOS y NUCLEOTIDOS!!! Entonces es necesario que esas vías respiratorias funcionen. La oxidasa alternativa podría entonces tener que ver con eso evitar que los niveles de ATP impidan la actividad de las rutas de síntesis

TEMA 14 – ASIMILACION DE AZUFRE Y NITROGENO

Además de asimilar el carbono se necesitan asimilar otros alimentos como el nitrógeno, el fósforo, el azufre. En algunos casos, se pueden incorporar directamente a la materia orgánica sin hacer ninguna transformación. Se incorporan fosfatos directamente y eso va directamente sin modificarse a la síntesis de nucleótidos. Pero en el caso del nitrógeno y el azufre se necesitan reducirlos previamente antes de que puedan pasar a formar parte de la materia orgánica. Esos elementos serán tomados preferentemente en formas oxidadas (nitratos y sulfatos) y serán reducidos para que puedan llegar a sus formas de mineral orgánico – aminos y sulfhidrilos (similar a lo que ocurre con el carbono). El CO₂ se reducía en la fotosíntesis pero el tema cambia en el caso del N y el S.

En cuanto al Nitrógeno se pueden incorporar tres formas:

- en mayor medida el nitrato
- en menor medida el amonio
- y en el caso de las leguminosas pueden incorporar también el Nitrógeno molecular a través de la simbiosis con las bacterias del género Rhizobium

Sea la fuente que sea, para su incorporación a la materia orgánica, el nitrógeno se tiene que llevar todo a amonio. El nitrato es el que necesita ser asimilado por reducción asimilativa hasta amonio. Las leguminosas y el rhizobium usan otro mecanismo: la fijación. Una vez ya tengo el amonio en la célula eso ya se puede incorporar a la materia orgánica.

ASIMILACION DEL NITRATO

Tiene lugar en dos etapas dos reacciones de reducción.

Primero es reducido a nitrito y a continuación es reducido hasta amonio.

La primera reducción implica la transferencia de 2 electrones. La segunda implica la transferencia de 6 electrones. El nitrato lo toman desde las raíces y el proceso de reducción se puede llevar a cabo en las propias raíces o bien en las partes aéreas luego del transporte del nitrato por el xilema.

El primer paso entonces es el paso de nitrato a nitrito. Eso está catalizado por la nitrato reductasa. Esa ruta fue descubierta por el grupo dirigido por el grupo Losada del departamento de bioquímica de la Universidad de Sevilla están ahora por todos lados. En los años 60, en sus inicios, estudiaron y caracterizaron los sistemas enzimáticos de esta ruta

El sistema tiene 2 subunidades idénticas entre sí. Cada subunidad tiene 3 grupos prostéticos. Tienen un grupo FAD, un grupo Hemo y un grupo que tiene Molibdeno. El Molibdeno es esencial entonces para el proceso de asimilación de nitrato. Es lo que lo hace esencial para la planta. Es el micronutriente necesario en menor cantidad pero es importantísimo dado que sin él no puede asimilar NITRATO!!!!

El poder reductor básicamente lo suministra el NADH respiratorio a través de la transferencia de electrones al FAD. El enzima es citoplasmático y por eso usa el NADH únicamente.

Hay unas isoenzimas que pueden usar NADPH o NADH. Esas están solo en las raíces.

El segundo paso está catalizado por la nitrito reductasa ahí ya se transfieren 6 electrones. El paso está catalizado por la nitrito reductasa. El donador de electrones es la ferredoxina. La reductasa está en los plastidios, bien como o leucoplastos.

En el caso de los cloroplastos, la ferredoxina se consigue a través de la fotosíntesis. Con lo cual sería OTRA VIA MAS DE LA UTILIZACION DE LA FERREDOXINA REDUCIDA!!!

La nitrito reductasa es una única cadena que tiene un núcleo sulfoférrico y un grupo hemo (2 cofactores). Requiere siempre ferredoxina para llevar a cabo el proceso.

En los tejidos no fotosintéticos el poder reductor, es decir la Fdx reducida, se formará a partir de NADPH que es aportado por el ciclo OPP.

Los dos sistemas están regulados metabólicamente. En ambos casos la activación está otra vez activada por la luz azul. También se activa por carbohidratos. Es decir en condiciones de oscuridad el suministro de carbohidratos es el que activa el sistema metabólico.

En todo caso, son regulaciones que se han hecho más in Vitro que in vivo ya que en la célula la nitrito reductasa está casi siempre activa.

TRANSPORTE DE AMONIO HASTA EL LUMEN, ESPACIO INTERMEMBRANA O LA VACUOLA

El amonio en las células es un elemento tóxico. Eso es porque disipa los gradientes de protones. El amonio entra como amoníaco en órganos de pH ácido y se une a los protones cargándose los gradientes. Además llega como amonio a los órganos de pH bajo y se une a los hidroxilos haciendo que el pH se haga más básico. El amoníaco generado en este paso vuelve a comenzar el ciclo y con cada ciclo el gradiente de protones se hace menor. O sea que a concentraciones altas (y no tan altas) es MUY TOXICO!!! En un medio de cultivo con 50mM de nitrato no pasa nada pero con más de 2 mM de amoníaco cargás el cultivo vegetal.

Entonces debe metabolizarse rápidamente mediante enzimas muy efectivos. Usa dos sistemas: la GS y la GOGAT que ya aparecieron antes. La Glutamina Sintasa utiliza NH_4^+ para hacer Glutamina a partir de Glutamato. La Glutamato OxoGlutarato (alfacetoglutarato) Amino Transferasa (Glutamato sintasa) le pasa el NH_4^+ desde la Glutamina al Oxoglutarato para formar 2 Glutamatos. Uno de los dos glutamatos reestablece el ciclo con la GS. El otro glutamato sirve para transaminarse con otros oxoácidos para dar los aminoácidos clave. Produce Oxoglutarato y todo el ciclo se reinicia. O sea que en resumen a través de la GS-GOGAT logramos que el NH_4 haya pasado desde el amonio citosólico hasta un oxoácido para formar aminoácidos. Un ejemplo podría ser la ATransferencia con el Oxalacetato para formar Aspartato.

La GS necesita ATP y la GOGAT necesita poder reductor. La metabolización del amonio entonces requiere energía y poder reductor. Dependiendo de los tejidos, el poder reductor que use la GOGAT será el NADH o la Ferredoxina. Obviamente el coste no es muy alto, solo 1 ATP y 1 NADH por cada NADH que atraviesa el ciclo.

El sistema está en cloroplastos y otros plastidios. Tienen como ya sabemos un papel clave en la fotorrespiración también. Eso ya lo vimos. Dijimos que era el punto de conexión entre la vía fotosintética y la vía aminosintética.

Para el transporte de nitrógeno en el floema, se usa la Glutamina que se cambia con la Asparagino sintasa con el Aspartato para formar Glutamato y Asparagina. La Asparagina es la que luego se transporta por el floema para que el nitrógeno llegue a otros tejidos. En algunas células de la raíz también se utiliza el transporte mediante ureídos.

FIJACION

FISIOLOGIA VEGETAL 2º SEMESTRE – EL DESARROLLO, LAS HORMONAS y el ESTRÉS

TEMA 15 – INTRODUCCION AL DESARROLLO VEGETAL

Una planta adulta *Arabidopsis thaliana*

Mucho del desarrollo está basado en el estudio de organismos modelo. Es una de las grandes mentiras de la biología. Los investigadores tradicionalmente han buscado organismos sencillos para entender los procesos biológicos más generales. Los microbiólogos tienen un organismo modelo, *Escherichia coli*. Todo lo que se demostró para ella, se extrapoló como semiverdad para los caracteres procariotas. Eso es algo evidentemente incierto. Luego salen un montón de excepciones y al final solo se puede concluir que eso sucede en.

Drosophila o *Mus musculus* son los representantes en eucariontes y los mamíferos. *Xenopus* para las ranas es más o menos lo mismo para los tetrápodos anfibios.

Para las plantas no es diferente que para animales o bacterias. En ellas usamos a *Arabidopsis* como modelo, una herbácea de la familia Cruciferae o Brassicaceae.

Características que tiene que presentar un organismo modelo:

- Crecimiento fácil en laboratorio: *Arabidopsis* tiene un ciclo corto en un laboratorio se puede conseguir en pocas semanas un desarrollo increíble
- Fácil obtener mutantes (manipulación) gracias a su bajo número cromosómico: el material de *Arabidopsis* es escaso y por lo tanto con sus 10 pequeños cromosomas se pueden estudiar muy bien 5 parejas de homólogos solamente
- Se representa a sí misma: es una crucífera muy particular.

La otra es *Medicago truncatula* que es una leguminosa

Estructuras de Arabidopsis

Tenemos unas raíces axonomorfas. Luego unas hojas en roseta verticilares (de crecimiento joven). Luego está el tallo largo y tenemos las ramas laterales y las hojas caulinares. Luego tenemos los frutos (silicuas) de las crucíferas. Y también una flor típica de las crucíferas: 4 pétalos blancos, 4 sépalos (caliz) y los órganos reproductores son 6 estambres (dos pequeños y 4 grande) y un pistilo formado por dos carpelos fusionados.

Estudio con mutantes

En el estudio del desarrollo siempre se intenta encontrar las respuestas a partir de organismos mutantes. Es por eso que es fundamental encontrar y aislar mutantes. Si no los encontramos los creamos.

Mutagénesis (dos tipos)

- Química: mutágeno químico que produzca mutantes más diversos – mutación al azar (búsqueda al azar) – problema: hay que buscar los cambios en todo el DNA y eso toma mucho tiempo!!!

- T-DNA: interrumpir una secuencia de un gen mediante T-DNA bacteriano (se usa DNA del plásmido T de infección que pertenece a *Agrobacterium tumefaciens*) – mutagénesis más dirigida (búsqueda de T-DNA) – ventaja: la búsqueda del T-DNA donde se haya insertado es más fácil – por hibridación!!!

Pero entonces hay un problema si solo estudiamos organismos modelos, y encima mutantes estamos limitando muchísimo el estudio y los resultados!!! Pero es lo que hay.

Uso de Bibliotecas genéticas en Levaduras

Se digieren los cromosomas de Arabidopsis y se obtienen los clones se usan vectores y se insertan como YACs en levaduras. Luego así tenemos las colonias con nuestra librería de cDNA. Esos genes se expresan entonces en las levaduras y podemos intentar secuenciarlos, aislarlos, etc.

MORFOGENESIS y TOTIPOTENCIA VEGETAL

La morfogénesis son los cambios que se dan lugar al comienzo del ciclo de un organismo y que resulta en el desarrollo de las funciones vegetativas y reproductivas del mismo.

En el desarrollo juvenil se da el desarrollo vegetativo fundamentalmente. Luego se comienza con la morfogénesis reproductiva para poder cumplir con la función de transmisión de información genética y la obtención de herencia.

Es fundamental tanto en el desarrollo vegetativo como reproductivo el aumento del número celular. Esas células generadas deberán crecer y aumentar su volumen celular. Finalmente deberán diferenciarse dando lugar a las células especializadas en su función.

En ese último proceso lo que se intenta es activar un programa de expresión génica, es decir activar selectivamente unos genes para que se expresen diferencialmente en esos tejidos que cumplirán las funciones y los fenotipos relacionados con esos genes. Esos programas se activarán dependiendo de señales del medio celular (*morfógenos*). En ese medio cuentan cosas muy diversas. Como respuesta a esos estímulos, la célula responderá para especializar su DNA activando diferencialmente ciertos genes para expresarlos.

Normalmente una célula en que se dispara un programa, esa célula ya está predeterminada y determinada para ser eso. O sea que hay un cierto compromiso. En animales, generalmente el proceso es irreversible. En plantas, las células son más totipotentes. Es decir que no tienen una irreversibilidad tan clara. Cuando uno planta un esqueje de una planta, se regenera un individuo entero. Eso no se sabe si es porque todas las células son totipotentes o porque en cada división realmente solo una de las hijas se diferencia y la otra mantiene la totipotencia latente. O sea que realmente en esqueje podría ser que tuviéramos una población de células diferenciadas y comprometidas y una población pequeña de células madre totipotentes. Esas serían las que cambiarían según el ambiente cuando las trasplantamos en forma de un esqueje. De ellas dependería entonces la verdadera totipotencia vegetal. Pero aún así el tema no está demostrado y permanece como hipótesis.

Para El Crecimiento Vegetal Habrá Dos Formas – aumento del número celular y aumento del volumen celular. El aumento del volumen celular por la extensión de la pared, el aumento de la turgencia y el aumento del volumen vacuolar ya lo vimos en el primer semestre. Sin embargo hay aumento del volumen también por el aumento del tamaño del núcleo. El aumento del número celular será por mitosis como siempre.

1) Mitosis Y Aumento Del N° Celular: La Regulacion Del Ciclo Celular En Plantas

En vegetales, hay número de células menor que en animales. El crecimiento es más que por número de células, por aumento del volumen celular. Pero claro, inicialmente, en la juventud, evidentemente habrá

proliferación y habrá mitosis normales. Así que el tema del ciclo celular es muy importante.

Sabemos que consta de las fases gap G1 y G2, una fase intermedia de síntesis y replicación S y una fase de división y mitosis M. La transición entre esas fases está regulada por las quinasas dependientes de ciclinas (proteínas reguladoras del ciclo). Entonces los dos componentes fundamentales son ciclinas y CDKs. Las ciclinas son unas proteínas que se unen activando a las CDKs. Esas CDKs están fosforiladas en el sitio activador. Las CDKs en general tienen 2 sitios de activación por fosforilación además del sitio de unión a las ciclinas. Luego de la división, en G1, las CDKs están inactivas, sin ciclinas ni fosfato. La fosforilación activadora se da en G1. La unión de la ciclina ya activa completamente la CDK y por lo tanto ahora se comienza la fase S. Durante la fase S, se suelta el fosfato del sitio activador (mediante una fosfatasa) y se degrada la ciclina. En consecuencia, durante la fase S, la CDK vuelve a inactivarse. Eso hará que la síntesis termine y comience la fase G2. En esta fase G2, se fosforilan los dos sitios y por lo tanto la CDK permanece inactiva luego se une a una ciclina mitótica y ahora tenemos una CDK casi activa finalmente una fosfatasa activadora elimina el fosfato del sitio inactivador y por lo tanto la CDK vuelve a estar activa y lleva la célula hasta la fase M. Durante la fase M se liberará el P del sitio activador mediante otra fosfatasa y se degradará la ciclina mitótica. En resumen se completa la fase M y finalmente se da la división adecuada.

Los checkpoints entonces estarán fundamentalmente entre las diferentes fases y están mediados por quinasas activadoras de CDK, fosfatasas activadoras de CDK y fosfatasas y quinasas inactivadoras de CDKs. Además lógicamente por las ciclinas que se degradarán o se sintetizarán de formas diferentes.

Las CDKs activas serán las que promuevan entonces el PASO de la fase G1 a S y el paso de la fase G2 a la M. Luego tanto durante la fase S como M, se deben inactivar para concluir la fase. Tanto las auxinas como las citoquininas regularán como fito-hormonas este ciclo celular.

2) La Endorreduplicación Del Dna Origina Poliploidía Como Mecanismo De Aumento De Tamaño En Celulas Vegetales

El hecho de que las células vegetales sean más voluminosas que las animales depende también del volumen del núcleo. El volumen del citoplasma depende del volumen del núcleo. Los vegetales tienen una enorme capacidad para generar endociclos. Es decir que hay cariosíntesis y cariocinesis sin que haya citocinesis y división celular. En resumen aumentará el número cromosómico de la célula dando lugar a la reduplicación de los cromosomas y dando origen a poliploidías. El proceso es llamado endorreduplicación del DNA. La mayor parte de las células vegetales SON POLIPLOIDES. Así tenemos células 4n, 8n, 12n. De hecho la poliploidía ha llevado a la selección artificial en la agricultura de granos y cereales.

Así, como hay más núcleo, aumenta también el tamaño de la célula.

Ejemplo: En un meristemo tendremos todas células diploides. Cuando comienza la diferenciación, ciertos tejidos aumentan de volumen. Entonces tendremos tejidos más juveniles con algunas capas de células 4n. Luego continúa la diferenciación y la maduración del tejido donde ya tendremos células octaploides, tetraploides, etc.

Citocinesis Asimétrica Y Diferenciación Celular

Esto sucede mucho en animales pero fundamentalmente lo encontramos en vegetales. Excepto en las células madre originales, las divisiones mitóticas suelen ser asimétricas. Las divisiones pueden ser anticlinales o periclinales. Una célula troncular se divide primero de forma anticlinal y da origen a una célula hija también troncal y una célula hija ya destinada a dar otro tipo de tejidos más diferenciados. La que se quede con la vacuola de la original madre será la que mantenga la totipotencialidad y será troncular.

A su vez, la célula hija diferenciada podría dividirse por una división periclinal en dos células que darán

origen a tejidos diferentes, por ejemplo endodermis y cortex. Si pensamos en una raíz entonces, a partir de la célula pequeña endodérmica darán lugar a la lámina de la endodermis radicular. La célula más grande de las que originó la hija diferenciada será la que dará lugar a todo el córtex.

Una vez ya se dio el compromiso y la diferenciación ya no hay divisiones asimétricas. Y por lo tanto cada uno de esos linajes celulares darán paso a tejidos mediante divisiones y crecimiento celular típico. Luego se poliploidizarán, etc.

La comunicación para la diferenciación y el compromiso a corta distancia se da a través de plasmodesmos. Pero no se sabe como se da la transmisión rápida de señales.

Otro mecanismo de comunicación que tiene mucha importancia la generación de oligosacarinas. La pared celular tiene muchas pectinas, hemicelulosa, etc. Una señal de diferenciación un poco a más larga distancia es que las células que ya van a generar un determinado tejido están ya predeterminadas para producir unas determinadas oligosacarinas (fragmentos de unas pectinas de la pared celular). Entonces los linajes celulares podrían establecerse mediante la ruptura específica de ramnogalacturonano mediante una enzima especial del programa de diferenciación de ese linaje. Eso daría entonces la oligosacarina que comunicaría al resto del tejido la señal de que se diferenció correctamente. Se transportan obviamente vía apoplasto y entonces son reconocidas y tal Otras muy clásicas se generan en respuesta a patógenos para disparar los mecanismos de defensa celular.

Tejidos Vegetales

La hoja es un clásico epidermis, parénquima lagunar y parénquima en empalizada. Las células de la vaina del haz. El haz conductor (vasos – nervios, etc.). En monocotiledóneas no tenemos haz y envés. Hay estomas a ambos lados (anfiestomáticas).

La anatomía del tallo es lo siguiente. En una herbácea (no leñosa) podemos encontrar desde dentro a fuera. Existen células parenquimáticas (las normales con pared 1ª sin ningún tipo de modificación o dureza añadida), células de los vasos (que sí tienen pared 2ª a veces) y las células meristemales del cambium. Existe un tipo de meristemo llamado cambium vascular. Eso origina hacia dentro el xilema y hacia fuera el floema ya maduros (tejidos conductores). Por fuera tenemos un cortex (células parenquimáticas más similares a las de la médula). La diferencia entre el cortex y la médula es esencialmente en la presencia de mayor cantidad de celulosa.

La anatomía de la raíz es algo diferente. Normalmente no hay, aunque puede haber, médula. El único tipo de haz vascular es la estela (un haz único central). Tiene obviamente forma de estrella. Dentro de ella encontramos el xilema y fuera el floema. Entre xilema y floema otra vez tenemos el cambium vascular. Es el tejido meristemático que dará lugar a floema hacia fuera y a xilema hacia dentro. Luego estará la endodermis y el periciclo y ya por fuera el cortex y la epidermis con pelos radiculares. El periciclo es otro meristemo específico de la raíz. No está activo hasta que una señal lo hace entrar en división. A partir de él se originarán las raíces secundarias y laterales del típico sistema axonomorfo de las dicotiledóneas. Por fuera del periciclo suele haber una monocapa de células que forman un epitelio denominadas endodermis. Es la que tiene la banda de Kaspari (una interrupción del apoplasto), clave en la regulación de la entrada de agua por la raíz.

EL CICLO VITAL DE LAS PLANTAS – recordamos desde botánica

Si hablamos de plantas como organismos fotosintéticos con clorofila A y eucariotas, hay plantas que no tienen alternancia de generaciones en el ciclo: las algas. Pero el resto suelen tener ciclos sexuales con alternancia de generaciones. Suele haber un esporofito (genéticamente en origen diploide, 2n) y un gametofito (haploide en origen, n). El esporofito da lugar a esporas a través de los esporangios. En ellos se da la meiosis que dará lugar al gametofito. El gametofito dará lugar a los gametos mediante mitosis y ellos serán los que se unirán dando lugar al embrión 2n. La más clásica que se ve siempre es la de los bryophyta y los pteridophyta. Es porque en

ellos se pueden diferenciar bien las dos fases ya que están separados. En el envés de las frondas están los esporangios en los que se da la meiosis. Las esporas haploides resultantes dan lugar a los gametofitos que crecen y desarrollan los gametangios. En ellos se diferencian los gametos. Esos se fecundan y dan lugar al cigoto diploide que se desarrollará en el esporofito diploide nuevamente.

Pero en las plantas con flores sabemos que el ciclo haplodiplonte es diferente. El gametofito es una parte que se desarrolla sobre el esporofito. Las plantas con flores tienen el gametofito muy reducido. El femenino es el saco embrionario que reside en los primordios seminales. El masculino es el grano de polen. Las flores monoicas son las que tienen los dos sexos (hermafroditas) en el mismo órgano floral. Las plantas dioicas tienen los dos sexos sobre diferentes individuos. Las plantas monoicas tienen flores hermafroditas.

En gimnospermas, que no son plantas con flores verdaderas tienen estróbilos. No suele haber gimnospermas con estróbilos hermafroditas. Sin embargo los estróbilos (pseudoinflorescencias) se desarrollan como hermafroditas pero solo se desarrolla un sexo. En los estróbilos femeninos tendremos los primordios seminales. En los masculinos tendremos el polen.

Las angiospermas tienen doble fecundación y las gimnospermas tienen fecundación única. La doble fecundación da lugar al embrión rodeado por el endospermo. El endospermo sin embargo será triploide mientras que el embrión será diploide.

EMBRIOGENESIS

Es la primera etapa del desarrollo de una planta y una clave en el desarrollo de la semilla (está incluido, es decir, hay que contárselo si nos pregunta sobre el desarrollo de las semillas – una pregunta clásica)

Tenemos ya formado el cigoto rodeado por el endospermo. Por fuera tendremos el saco embrionario y la nucela (tejido nucelar). La embriogénesis produce en las espermatophyta las SEMILLAS. En una semilla hay un embrión, un endospermo (muy desarrollado y nada transitorio si son monocotiledóneas o poco desarrollado y transitorio si son dicotiledóneas) y cubiertas de la semilla (cubiertas seminales o testas). Las semillas pueden estar encerradas en un fruto (fructificación). Luego sigue un proceso de germinación de las semillas que serán las que generen el esporofito (la planta típica) nuevamente. Hablaremos nosotros sobre este ciclo fundamentalmente en todo esto del desarrollo vegetal.

Desde la germinación hasta el desarrollo del gametofito tenemos el **DESARROLLO VEGETATIVO**. La generación de gametos hasta la fecundación es el llamado **DESARROLLO REPRODUCTIVO**.

La planta que genera ramas, hojas, etc. llega a un momento en su ciclo vital que hace que en vez de seguir generando ramas u hojas genere **FLORES**. Donde una yema debería dar lugar a una rama da lugar a una flor. Las mismas señales que promovían el desarrollo de ramas ahora actuarán para el desarrollo de la flor! Entrará entonces en el ciclo reproductivo!!!! Ahí ya la planta cumplió su ciclo vegetativo y puede O NO reanudarlo. Esto es una parte del ciclo es una importante diferencia con respecto a los animales.

Se ve mucho en las anuales pero también en las bianuales, etc.

Coincidiendo entonces con el fin del desarrollo reproductivo comienza entonces la **SENESCENCIA** de órganos vegetativos – flores y partes no reproductivas de las flores (pétalos, sépalos, etc. – el llamado perianto). Eso es porque la planta no necesitará gastar energía en esos tejidos. Y por lo tanto la senescencia es una parte **FUNDAMENTAL** del desarrollo vegetal.

El Desarrollo De La Megaespora Femenina

A partir de 3 mitosis, la megaespora femenina da lugar a 7 células hijas en vez de 8. Eso debido a que dos se

fusionan nuevamente. Entonces tenemos 6 células haploides y una diploide. Se forma así el gametofito femenino. De los 6 núcleos haploides, uno de ellos será la ovocélula (equivalente al óvulo animal el oocito). El diploide constituirá los núcleos endospermicos. La fecundación de la ovocélula dará lugar al cigoto diploide. La fecundación del núcleo diploide dará lugar al endospermo triploide. Es el único tejido originalmente triploide encontrable en todos los seres vivos. Es un tejido nutritivo para el desarrollo del embrión. Es un tejido de transición en dicotiledóneas y es permanente en monocotiledóneas.

El Cigoto

Es una célula alargada y polarizada. Tiene una vacuola por un lado alargada y en un extremo el núcleo. Ese núcleo se replica y divide para comenzar el desarrollo primario del embrión. Las dos células resultantes serán diferentes. La superior será pequeña y redondita y se lleva casi todo el citoplasma del cigoto. La inferior se quedará con TODA la vacuola del cigoto, pero con poco más. ¡Cada una dará origen a cosas DIFERENTES!

Todo el programa de desarrollo de la planta estará entonces en esa primera célula hija que se llevó casi todo el citoplasma. La célula inferior degenerará y será vestigial. Se llama suspensor. A partir de ahí la otra (la potencial) se llama ya embrión. El suspensor sirve solamente para sostener el embrión en las primeras fases.

En el citoplasma ese que se llevó la célula hay mensajeros de origen materno que tienen funciones fundamentales para el desarrollo de las fases iniciales. Sin embargo todavía no están muy vistos y hay todavía mucha experimentación sobre el tema.

El Embrion

El suspensor se seguirá dividiendo dando lugar a un tronquito de taquitos de células. El embrión enseguida con unas pocas divisiones ya consigue diferenciaciones en algunas zonas. Con ya 8 o 16 células, hay una prodiferenciación en algunos tejidos. La futura epidermis, los precursores del córtex y la médula y los precursores del cambium vascular (Procambium). A esos primeros pasos de diferenciación les siguen unos pasos de diferenciación de órganos debido al inicio de las llamadas divisiones asimétricas. En seguida se diferencia una parte ligada al suspensor que será la futura caliptra (el órgano que protege a la raíz primaria que se desarrollará por el suelo. El procambium ya se ramifica dando lugar a los vasos primarios de transporte acuoso. También se estructura ya la protodermis y el córtex. Ese estado terciario del embrión es el estado corazón.

En el cuarto estado ya comienza el desarrollo de los cotiledones. En un quinto estado embrionario ya está configurado el desarrollo de los meristemos apicales del tallo y los meristemos apicales radiculares. Esos meristemos serán los que originarán el tallo y la raíz respectivamente. Y permanecen latentes como meristemos secundarios en las yemas por toda la planta adulta. Sin embargo si comparamos estos embriones con los fetos animales, no tienen nada que ver. Los embriones animales son más similares a animales que este embrión a una verdadera planta adulta. Es otra diferencia con respecto a los animales bastante importante. Pero lo que sí está definido ya en el embrión es el programa de desarrollo de la planta. El patrón de desarrollo de la planta. Ya lo que va a ser tallo está predestinado a ser tallo y ya lo que es meristemo radical no puede cambiar y será predestinado a ser raíz. O sea que hay ya un compromiso y una determinación en esta quinta fase. Además dentro del meristemo apical del tallo se puede ver incluso los meristemos foliares (los que darán lugar a los tejidos foliares, la última parte de la planta que nos quedaba por ver en el embrión).

En el estado de 8 células entonces tenemos ya las células que darán lugar al tallo, a la hipófisis (caliptra). Las cuatro células apicales dan lugar a epicótilo y meristemos apicales del tallo. Las cuatro células medias darán lugar a la raíz y el hipocótilo. Las células más inferiores son las que dan lugar a la caliptra, los centros quiescentes del ápice de la raíz, etc.

La porción que hay entre el meristemo apical del tallo y los cotiledones se llama epicótilo. La porción que hay

por debajo de los cotiledones y por encima del meristemo apical radicular es el hipocótilo. Normalmente crece primero el epicótilo y luego el hipocótilo. Luego de que la planta termina las primeras etapas del desarrollo, esa nomenclatura se desecha.

En el estado ya de corazón podemos tener células diferenciadas y comprometidas con capas específicas de la porción donde les toca jugar parte. Por ejemplo, las células intermedias podríamos dividir las en las que darán lugar a la epidermis (protoderma), las que darán lugar al córtex radicular, las que darán lugar al periciclo y la endodermis, las que darán lugar al cambium vascular, etc (lendo hacia dentro obvio).

En las monocotiledóneas hay algo más raro. El embrión de un cereal es una especie de hilito o agujita pequeña que define un eje apical-basal. En ellos, el único cotiledón que se desarrolla entre los dos meristemas es un tejido conector y no nutritivo (el tejido nutritivo es el endosperma). Se llama normalmente escutelo o escudete. Sirve para transportar sustancias nutritivas desde el endosperma hasta el embrión. También es un tejido de síntesis de fitohormonas y enzimas necesarias para que el embrión luego pueda comer. Son fundamentalmente las Giberelinas (Ácido Giberélico). El meristema apical del tallo de las monocotiledóneas está protegido por un tejido embrionario denominado coleóptilo. Se ocupa de protegerlo y estudiándolo aparecieron las hormonas vegetales por primera vez.

Germinación De La Semilla

Cuando germinan ambos tipos de plantas, una dicotiledónea primero saca el meristemo radicular (crece fundamentalmente el hipocótilo, los cotiledones se expanden rompiendo la cubierta seminal (de la semilla) y una vez expandidos comienza a crecer el epicótilo y se expanden las primeras hojas fotosintéticas. Una monocotiledónea crece de otra forma diferente. El hecho de que tengan un coleóptilo hace que crezcan de esa manera peculiar. Una vez que las semillas se abren, crece el tallo y la raíz más o menos a la misma velocidad. No es como el caso anterior que crece primero la raíz y luego el tallo. Esto se lo pueden permitir gracias a que el coleóptilo protege el meristemo apical del tallo mientras crece el epicótilo dentro de la tierra. Eso no lo pueden hacer las dicotiledóneas. Por eso primero empujan los cotiledones mediante el crecimiento del hipocótilo para hacer que el meristemo apical del tallo salga afuera y ya ahora sí puede crecer sin peligro.

En la elongación de la raíz no habrá problemas gracias a que está la caliptra protectora.

Los meristemas germinan y aumenta la división celular en ellos. Una vez que las células se han dividido y han dado lugar a más células luego comienza la expansión total de la planta mediante endoreduplicación, crecimiento de volumen, etc. como siempre.

Organización de los meristemas apicales y desarrollo de la raíz y el tallo (base del desarrollo vegetativo de una planta)

Al desarrollo le sigue la germinación que da lugar a:

- Un aumento en la división celular en los meristemas apicales
- Un aumento en la elongación celular

El desarrollo de esos meristemas dará lugar a la planta final.

EL DESARROLLO DE LA RAIZ

En la organización del meristemo radicular destacamos:

- La caliptra:
 - ◆ Células laterales de la caliptra

- ◆ Células de la columna o de la columela (centrales)
- ◆ Células meristemales de la caliptra (entre unas y otras): originan por división dos tipos de células
 - ◇ Las laterales de la caliptra
 - ◇ La epidermis de la raíz
- ◆ Células meristemales de la columela (están por debajo de la columela): originan por división las células de la columela
- Células meristemales del córtex: las que dan lugar al procórtex y la endodermis
- Células del centro quiescente: el centro a partir del cual se regeneran células madre de cualquier tipo – en mutantes en los que se reprime su actividad, las células de los meristemas que rodean al centro quiescente se diferencian todas instantáneamente con lo cual cesa el crecimiento de la raíz
- Células meristemales de la estela – las que dan lugar a la estela
- Células del periciclo

Zonas de desarrollo en una raíz madura La transición entre las zonas no es discreta sino progresiva

- Zona de la caliptra y centro quiescente
- Zona meristemática (algo más superior) donde están las células que darán lugar a los distintos tipos de tejidos – gran actividad proliferativa mitótica – crecimiento por aumento del número celular
- Zona de elongación – donde las divisiones celulares son más escasas.. las células comienzan a configurar los distintos tipos de tejidos sin que haya una verdadera diferenciación todavía La zona de elongación termina cuando la estela ya está correctamente diferenciada entre xilema y floema El crecimiento celular se da por aumento de volumen de diversas maneras (pero no hay tanto crecimiento proliferativo).
- Zona de maduración en las que los vasos ya están maduros y las células de la endodermis ya están diferenciadas completamente (presentan banda de Kasper madura). Ya se desarrolla la epidermis y hay presencia de pelos radiculares
- Zona de desarrollo de raíces laterales a partir del periciclo se inducen meristemas mediante cambios ambientales sobre el periciclo justo por encima de las zonas de maduración

El tamaño de las zonas cambia dependiendo de las condiciones del ambiente. Pero también hay un componente genético importantísimo con lo cual evidentemente existe un programa (al igual que con los pelos radiculares) genético. El desarrollo en mayor o menor medida de esa expresión será lo que cambiará dependiendo del ambiente.

El desarrollo de las raíces laterales es exactamente igual que el caso de desarrollo de meristemas primarios. El periciclo es un meristemo quiescente potencial y durmiente que en las señales apropiadas (ambientales o de desarrollo) comenzará a hacer mitosis y proliferación. A partir de unas pocas células se origina un meristemo lateral de raíz exactamente igual que el típico meristemo apical – con células madre de la columela, células madres laterales, centro quiescente, meristemas corticales meristemas vasculares

Generalmente las raíces principales tienen geotropismo positivo y crecen a favor de la fuerza de gravedad. Pero las laterales tienen ageotropismo y no crecen dirigidas por la gravedad. Realmente lo que falta es el mecanismo que hace que realmente las raíces principales SI tengan geotropismo positivo.

EL DESARROLLO DEL TALLO

Es casi igual de simple que el de la raíz. Parece algo más complejo sin embargo. En la zona apical tendremos los primordios foliares flanqueando el centro donde está el meristemo apical del tallo. Tiene un desarrollo estratificado. Existen 3 capas de tejido perfectamente diferenciables en el meristemo apical del tallo: la L1 que origina epidermis y la L2 y L3 que originan los tejidos internos.

La L1 es una monocapa de células con división anticlinal (no se dividen en capas sucesivas que se amontonan sino que se dividen horizontalmente dando lugar a una proliferación cada vez mayor de células en la capa que se van haciendo).

La L2 también se divide normalmente anticlinalmente, pero en algunas especies, en los puntos del crecimiento donde están las hojas puede que haya algunas pocas divisiones periclinales (de manera que crezca más hacia arriba que hacia los costados). En *Arabidopsis* la L1 y la L2 crecen las dos anticlinalmente.

La L1 y la L2 constituyen la TUNICA del meristemo apical del tallo.

La L3 es la capa más sencilla. Las células ahí crecen en todas las direcciones y dan lugar al cuerpo y el grosor del tallo y recibe el nombre de CORPUS.

Además de la distribución estratificada de los tejidos meristemales hay también una distribución radial en cuanto a la actividad de las células. Está la zona central y la zona periférica. Por debajo de la zona central está la zona medular (*Rib zone*).

El verdadero ápice del meristemo apical del tallo comprende la zona central. Es algo así como la zona generadora de las células madre del resto de los tejidos del tallo. O sea que ahí estarán las células meristemáticas epiteliales, las de los tejidos vasculares, etc Sin embargo no se dividen continuamente. Es así similar al centro quiescente de la raíz, aunque algo diferente dado que éste no es verdaderamente quiescente.

La proliferación apical del tallo de las plantas es diferente en la zona central y en la zona periférica. La zona periférica presenta mayor tasa de proliferación (horizontal). La zona central presenta menor tasa de proliferación. Eso hará que la forma general del desarrollo apical del tallo sea triangular y en punta. Al final todo el desarrollo y morfología de la plana estará determinado por este programa de proliferación meristemática.

En la zona periférica estarán los primordios foliares. El L1, L2 y L3 periféricos darán lugar a las hojas y yemas laterales (axilares) y a todos sus tejidos internos y externos.

En la zona medular, por debajo de la central, tendremos una zona exclusivamente formada por L3. Esa es una zona muy activa durante todo el crecimiento del tallo. Da lugar al crecimiento del macizo central del tallo – el eje central parenquimático del tallo.

El crecimiento en esta zona además, como es todo L3 se da en todas las direcciones. Como resultado, hace resaltar aún más la forma triangular del meristemo (siempre quitando la presencia de los primordios foliares que son como dos orejitas periféricas).

El tallo crece formando unos metámeros vegetales especiales llamados fitómeros. Es decir que el crecimiento es secuencial y repetitivo en segmentos todos ellos muy similares. El metámero va desde una hoja a la siguiente y está formada por un nudo y un entrenudo. Del nudo sale una hoja y en la axila de la hoja tenemos siempre una yema axilar. Entre dos nudos siempre hay una sección de elongación del tallo que se llama entrenudo o internudo.

De las yemas axilares podrá tener lugar luego el desarrollo de ramas y/o flores. Eso vendrá dado por una señal externa casi siempre. Pero eso lo hablaremos más adelante.

DESARROLLO DE PRIMORDIOS FOLIARES Y DESTINO CELULAR APICAL

Determinación del destino celular: siempre recordemos que las células madre siempre dan lugar células hijas totipotentes que en parte reponen la población de células tronculares y cuyas células restantes podrán

desarrollarse hacia uno u otro tipo de tejido dependiendo de la comunicación y relación celular (señales) con el ambiente biológico que las rodea. En un ejemplo simplificado, una célula madre da lugar a dos células. Una de ellas se divide en 2 nuevamente la otra pasará a continuar la población central La célula hija que se dividió se dividirá nuevamente dando lugar a cuatro células así las células pasan desde la zona central a la zona periférica. Ahí ya las células, fuera de la zona central adquieren unos compromisos determinados. Continúan dividiéndose y las células pasan a llegar a las zonas de los primordios foliares ahí vuelven a cambiar y adquieren una diferenciación final en la que terminan de predeterminarse definitivamente como foliares.

O sea que las células del meristemo apical proliferan de forma anticlinal haciendo que las células más viejas viajen hacia la periferia. Al llegar a esas zonas cambian y adquieren compromisos debido a las señales que reciben del ambiente. Siguen viajando y sus programas celulares de expresión van cambiando hasta llegar a las zonas donde ya cambian y se desarrollan como primordios foliares. Esos primordios comienzan a partir de entonces un desarrollo en el eje proximo–distal y se van achatando hasta terminar por configurar los primordios foliares completos.

Etapas del desarrollo de un primordio foliar:

- Po: desarrollo de las células recién venidas desde el meristemo apical diferenciándose morfológicamente
- P1: primordio recientemente formado con simetría radial todavía inmaduro
- P2: primordio alargado en el eje proximodistal
- P3: primordio comienza a aplanarse desarrollando un eje dorsoventral

Lo que sí será característico de cada planta será la disposición de los primordios foliares alrededor del eje del tallo. Se pueden encontrar que algunos respecto de otros están desplazados un ángulo preciso. Se pueden encontrar disposiciones verticiladas, disposiciones alternas etc

El estudio de esto se llamará filotaxia (también se incluye en el estudio filogenético el desarrollo de los primordios foliares). Habrá filotaxia alterna (un primordio por nudo y entre dos primordios vemos que están girados 90° uno respecto del otro). Habrá filotaxia opuesta (los primordios van de a pares y siempre con la misma disposición en cada nudo, uno a 180° del otro). Habrá la opuesta–alterna (decusados los pares están opuestos, pero entre pares contiguos están girados a 90°). Está la trifoliar (de a tres hojas por cada nudo) y la espiral (más primitiva y con hojas simples).

Los tipos de tejidos madre de la zona meristemática en el tallo es diferente (obvio acá no hay caliptra, banda de kaspari, etc.). Tenemos una zona de meristemo apical inmaduro y totipotente (en continuo crecimiento por división celular y donde se desarrollan los primordios foliares), una zona de elongación (crecimiento celular mediante aumento del volumen por endorreduplicación y menor cantidad de división celular) y una zona de maduración (tejidos ya diferenciados que crecen por aumento de la vacuola).

En donde haya primordios foliares ya en desarrollo, tendremos un desarrollo de más cosas y habrá una zona meristemática más complicada. Por un lado tenemos crecimiento meristemático de los haces vasculares, y muchas cosas más super complicadas que todavía no están bien estudiadas.

DESARROLLO DEL CUERPO SECUNDARIO – Las leñosas

Además de las herbáceas, también hay plantas plurianuales que tienen un crecimiento en ancho debido a que tienen un desarrollo secundario. Su tallo es particular y es muy grueso generando lo que llamamos madera. Se denomina normalmente tronco. Realmente no es tan diferente del caso de las herbáceas, solo que los tejidos vasculares van creciendo a partir del cambium vascular en cada año.

En la raíz, a partir del cambium vascular (en el centro de la estela) se genera floema y xilema. En torno al

periciclo y la endodermis se origina otro cambium, el llamado cambium del felógeno o cambium suberoso (la madera – corcho, compuesto fenólico, células con pared secundaria bien seria). Ese cambium da lugar a felodermis (células lignificadas pero con menos súber y menos compuestos fenólicos – es lo que conocemos como madera) hacia dentro y a súber (corcho fenólico – impermeabilizador y endurecedor) hacia fuera.

En el tronco secundario, el cambium vascular genera floema hacia fuera y xilema hacia dentro. Así da lugar a xilema secundario y floema secundario. Los tejidos vasculares más viejos se van jodiendo con el tiempo y finalmente solo están activos los más externos. Ese crecimiento diferencial según las estaciones dará lugar a los anillos de crecimiento. Así se puede contar más o menos la edad de un tronco contando los anillos de crecimiento. También hay un cambium del felógeno que se diferencia en el córtex. Hacia fuera da lugar al súber o corcho y hacia dentro da lugar a la felodermis (la lámina de madera). Las láminas del corcho degeneran y forman la corteza esa típica que vemos en los árboles

SEÑALES EXTERNAS QUE AFECTAN AL DESARROLLO DE LA PLANTA

Las señales externas influyen en todo este desarrollo de distintos tipos y órganos de las plantas. No se va a cansar de decirnos que la fisiología de las plantas es fundamentalmente la respuesta adaptativa que tienen esos organismos llamados plantas, entendiendo por ello a las plantas sésiles (quitando algunas plantas marinas, pocas se desplazan), ante cambios o señales ambientales (entendido el ambiente como concepto amplio). Cuando nosotros tenemos frío, nos abigamos, cuando tenemos hambre, vamos a buscar la comida, cuando tenemos calor, nos refrescamos. Nuestras respuestas fisiológicas en los animales implican un desplazamiento hacia un mejor ambiente, más adecuado para encontrar nuestro nicho más favorable. Pero las plantas son sésiles y no pueden hacer esas cosas como los animales. O sea que ellas vivirán modulando continuamente su desarrollo orgánico, desde la forma, la velocidad, los tejidos, la longitud de las hojas, la longitud de la planta, el grosor, el color, etc. Los animales no hacen eso... Las plantas serán únicas por esto

Una planta puede estar sometida al mismo tiempo a una serie de cambios de condiciones ambientales a lo largo del día, todos los días, MUY INTENSOS. Esas variables ambientales serán muchísimas y actuarán bien en el tallo, bien en la raíz. Debemos resaltar en esta última los microorganismos del suelo además de por la calidad del suelo. Además de los rizobios y las micorrizas están las PGPR (plant, growth, promoting rhizobacteria) que producen fitohormonas muy favorables en las plantas. Una corriente de fisiobiólogos vegetales cree que las citoquininas (cuya síntesis todavía no se sabe donde está en la planta) podrían ser sintetizadas exclusivamente en estos PGPR.

Las plantas suelen responder mediante señales intraorgánicas frente a esas señales externas. Generalmente son hormonas, pero hay también muchas otras respuestas posibles. Todos los seres vivos generamos señales internas para regular nuestras variables internas. Las plantas no son diferentes en cuanto a eso. Esas señales son generalmente amplificadas o amplificables y luego tienen múltiples dianas en el organismo a nivel de desarrollo.

Una señal lleva una cadena de eventos que suele comenzar primero en la percepción de esa señal. Por eso decimos que requiere que el ser vivo tenga receptores específicos para esa señal. Mucha gente dice que los animales no tenemos receptores de luz roja. Mucha otra gente duda de esto dado que los efectos que tiene la luz del día en el estado de ánimo y algunas cosas a nivel hormonal animal indudablemente ciertos. Pero así en general se cree que las únicas que pueden recibir y responder a la luz del día son las plantas. Bueno es nada más que un ejemplo sobre receptores específicos continuamos

Esa señal debe traducirse (translation – transducción) luego. Muchas veces en este proceso participa o implica la producción intraorgánica de segundos mensajeros (el primero sería la señal original). Ese 2º mensajero desencadena la cascada de eventos de la respuesta celular. El más clásico en animales es el cAMP. En las plantas es el ión Calcio. Pero cada vez se van conociendo más adenilato–ciclasas en plantas. Se cree por tanto que también es importante en plantas. También están los Inositoles–P tanto en animales como en plantas.

Ese 2º mensajero amplifica la señal de forma que muchas veces, una única señal que se transluce mediante una ruta determinada puede dar lugar a múltiples respuestas de la célula (divergencia). Esas respuestas pueden ser metabólicas (nivel de interacción proteína–sustrato / a corto plazo), pueden ser cambios en la expresión de genes (nivel de interacción Ribosomas–mRNA–DNA / a medio–largo plazo) y hasta pueden ser cambios genéticos constitutivos (a largo plazo).

Percepción De La Señal Química: unión a receptores de membrana o intracelulares

Existen dos tipos clásicos de receptores: de membrana y citosólicos. Normalmente los de membrana son glucoproteínas aunque también pueden ser glucolípidos o en algunos casos también proteínas no glucosiladas o algunas partes de lípidos no glucosilados. La unión da lugar a unos cambios que tendrán como objetivo la generación de cascadas de señales internas. Los intracelulares son casi siempre proteínas (Enzimas) que implican que el ligando entra al interior de la célula y se une a él y el complejo receptor–ligando viaja a donde deba y desencadena la respuesta adecuada en la célula. En animales pasa algo similar con las hormonas por ejemplo, las hormonas peptídicas usan receptores de membrana y las hormonas esteroideas tienen receptores intracelulares. En los vegetales es similar así, pero hay algunos que también pueden unirse a ambos tipos de receptores.

Clasificación de receptores de membrana:

Receptores ligados a proteínas G. Tienen una proteína anexa que viaja por el inner–leaflet de la membrana plasmática. Cuando la molécula señal se une al receptor, la proteína G se une al receptor por el lado de adentro y al interactuar cambia su conformación y se activa uniéndose a GTP en la subunidad alfa (tiene otras dos subunidades – beta y gamma). La activación dispara la subunidad alfa que viaja y se unirá a una enzima efectora de membrana (que tiene el dominio activo por el lado citosólico de la membrana). La efeción activa la enzima y esa puede desencadenar la cascada final de señales generando el 2º mensajero (el intracelular).

Receptores ligados a Enzimas. Tienen una conformación inactiva mientras están sin unir el dímero o la molécula señal. Cuando se unen al dímero, los receptores cambian de conformación y sus dominios citosólicos se transforman en dominios catalíticos activados por grupos fosforilación. Entonces tienen un dominio receptor y un dominio efectos (el que se activa y actúa como enzima desencadenando la transducción de la señal). El etileno es un gas con geometría dimérica simétrica. Su fórmula es $H_2C=CH_2$. Es una típica fitohormona que tiene receptores (también diméricos) ligados a enzimas.

Receptores ligados a Canales Iónicos. La proteína forma un canal que está cerrado o abierto dependiendo de si la molécula está unida o no. Al cerrarse impide la entrada del ión. Al abrirse permite la entrada del ión. Si lo que entra es calcio, ese mismo ión actuará como 2º mensajero.

Principales rutas de transducción de señales:

Las dos clásicas en las plantas son la de generación de un flujo citosólico de Calcio (modificación de los niveles de calcio citosólicos) que actúa él mismo como 2º mensajero (solo o unido a una proteína llamada calmodulina – una proteína que cambia de conformación y se activa unida al calcio formando el complejo calcio–calmodulina Ca–CaM luego ese complejo va por dentro haciendo de las suyas) y la segunda: la ruta o cascada de las proteína–quinasas que activadas por la señal van fosforilando y van actuando sobre muchas cosas. Está el ejemplo de las MAP kinasas, las PKinasas C, las PKinasas dependientes de Calmodulinas (punto de unión con la ruta del calcio)etc.

Señales De Calcio

Al aumentar la concentración de calcio citosólico (por cualquier razón), bien por sí solo o bien unido a la calmodulina (una de las tantas Calcium dependent Enzymes and Kinases) se da la generación de diversas segundas-señales. El complejo Ca-CAM activado puede activar a proteínas kinasas muy diversas. La fosforilación puede ser muy diversa a partir de aquí. En el ejemplo del profe se fosforila un factor de transcripción que viaja al núcleo y activa la transcripción diferencial.

El Calcio es un elemento muy particular en las plantas. En la mayor parte de la planta tienen una función estructural (fundamentalmente mantienen las pectinas de la pared celular – el famoso ejemplo del homogalacturonano). Pero hay una pequeña cantidad de Calcio siempre libre citosólico en forma iónica Ca^{2+} que tiene una función reguladora, típica de todos los oligoelementos presentes en muchas enzimas y rutas metabólicas (el ejemplo del Zinc y los dedos de zinc que están solo en proteínas de unión a DNA nucleares – típico oligoelemento).

Un súbito cambio con frío en la planta naturalmente hace que el calcio incremente mucho su concentración citosólica. En ese momento se activa todo y se da un pico. Luego ya tarda mucho tiempo hasta volver a su concentración basal (o de reposo).

Pero por ejemplo, el pH ácido en la planta da una respuesta inicial igual, rápida, con un pico en los niveles de calcio, pero que luego puede tener, en vez de una disminución gradualmente hasta su nivel de reposo, el calcio tiene una respuesta con una pendiente diferente. Entonces se pueden diferenciar las diferentes rutas del calcio a través de los perfiles diferentes que se tenga en lo que es el regreso al reposo. Esas imágenes y perfiles se llaman firmas de Calcio. Sirven para identificar señales y respuestas de Calcio intracelulares a las señales ambientales. En esas firmas, como vemos, más que la amplitud, importa el perfil que hace la concentración de calcio al regresar a su origen. Para que las firmas existan, debe haber cosas implicadas diferentemente en las rutas. Esas cosas son las que hacen que finalmente (y con diferentes tiempos) los perfiles sean diferentes.

Luego puede darse cosas tan a largo plazo como la activación de factores de transcripción. Un factor de transcripción puede hacer dos cosas – activar la transcripción de un gen (unirse al promotor y activar la transcripción), pero también hay factores de transcripción que primero se unen a un inhibidor de la unión del promotor. Quitando al inhibidor desinhibe la transcripción de un gen y así finalmente se activa la transcripción.

Sin embargo, generalmente los genes eucariotas nunca pueden expresarse con solo algunos factores. Por eso, muchos genes, a pesar de no estar activados, tienen una actividad basal pequeña (producción de proteína controlada). Cuando la señal activa y la célula necesita mucho producto, todos esos factores de transcripción activados y amplificadas irán a unirse al promotor para lograr que se den picos en la producción de proteínas de los que la célula pueda sacar verdadero rédito.

Cascadas De Map-Kinasas

Las Map-Kinasas suelen estar involucradas en las rutas de receptores de membrana. Se descubrieron que se activaban en mitógenos (células cancerígenas). MAP significa Mitogen Activated Protein Kinases. Generalmente las cascadas se dan entre Kinasas de Kinasas de Kinasas de MAP Kinasas o sea que una proteína fosforila a otra, y otra a otra amplificándose mucho la señal. Al final de toda esa cascada se fosforila activándose finalmente la MAPKinasas. Esa MAPK puede fosforilar el transcription factor en el citosol (y el factor activo entra por los poros nucleares y activa y tal) o puede entrar ella al núcleo y fosforilar el factor de transcripción recién ahí. Al final se activa la transcripción.

Además algunas MAPKKK pueden ser activadas por Calmodulin Dependent Kinases.

Las rutas y las interacciones son muy específicas y la amplificación que se logra (tanto por inhibición de rutas opuestas como por activación por retroalimentación de sus mismas rutas) es increíble en algunos casos. Al

final las redes de las interacciones son increíblemente complicadas pero debemos ser capaces de abstraer los conceptos y de poder establecer las interrelaciones.

COORDINACION DEL CRECIMIENTO Y EL DESARROLLO – LA LUZ Y LAS HORMONAS

La luz suele ser el morfógeno más importante. Hay 3 tipos de luz y 3 tipos de receptores. Están los de luz roja que son citosólicos por ejemplo. Una vez veamos como la luz incide en el desarrollo vegetal, hablaremos ya de la coordinación de ese crecimiento y desarrollo. Esa coordinación la llevan señales internas hormonales (fitohormonas).

Las hormonas de vegetales son muy peculiares y muy diferentes de las animales. Por eso cada vez más fisiólogos vegetales proponen que se elimine el término de hormonas para hablar de reguladores, coordinadores, etc. Eso fundamentalmente porque desde su génesis hasta el mecanismo de actuación son muy distintos.

Las hormonas animales están situadas en células especiales (células endocrinas) y viajan hacia unas células diana donde o bien son percibidas en la membrana o entran en ellas por difusión hidrófoba y ejercen su función en esa célula diana dependiendo la acción de la cantidad de hormona que llega a la célula. Si llega al umbral habrá acción hormonal. Si pasa el umbral.

Pero las hormonas vegetales son diferentes. No hay tejidos ni células especializadas que produzcan y sintetizen hormonas. En general todas las células vegetales pueden generar hormonas (todas las vivas, obviamente). Eso implica que no siempre tienen por qué viajar. Si una célula necesita una hormona, ella misma produce la hormona que le sirve a ella misma. Entonces se desvirtúa todo el concepto de célula diana – célula endocrina, etc. O sea digamos que no hay sistema endocrino verdadero. La última diferencia es que algunas señales hacen que el umbral de actuación de una hormona en las células diana se pueda modificar. En concreto, la diferencia es que no es determinante la concentración de hormona circundante en la célula para que se desate la actuación (cosa que sí lo es en animales). Las señales van modificando la sensibilidad para las fitohormonas.

TEMA 16 – FOTOMORFOGENESIS

EL DESARROLLO ETIOLADO y su reversión por la Luz

Existe el crecimiento etiolado (plantas no desarrollan color verde, tallo mucho más delgado y alargado) frente al crecimiento en luz (plantas más robustas, con color verde, pigmentos, etc.). La luz es un gran morfógeno. El desarrollo no tiene nada que ver en dos plantas que hayan recibido luz de formas diferentes.

Llamamos entonces crecimiento etiolado cuando sobre todo se desarrolla el meristemo apical del tallo, sin que haya desarrollo de meristemos laterales (foliares) ni síntesis de pigmentos. Las plantas son etioladas (sin color) cuando crecen sin luz.

El crecimiento en luz implica un tallo más grueso (mayor robustez) más pigmentado, con gran desarrollo de meristemos foliares y un desarrollo adecuado de todos los meristemos apicales. Pero el desarrollo etiolado puede ser revertido por la presencia de la luz.

La luz es de hecho el mayor morfógeno en el desarrollo vegetal. Las modificaciones en el desarrollo que están reguladas por luz es lo que se llama fotomorfogénesis.

Implica que las plantas tengan fotorreceptores (vimos unos cuantos en la fotosíntesis).

Fotorreceptores

- pigmentos fotosintéticos: para obtener energía desde la luz
- receptores morfogenéticos: son los que tienen las plantas y que les sirve para distinguir las señales morfogenéticas de los diferentes tipos de luces y que implican lógicamente la activación de cascadas de señales internas que terminen en la modificación de alguno de los patrones de desarrollo de la planta en su totalidad o alguna de sus partes. Más que percibir la cantidad de la luz, perciben el tipo de energía de la luz (la calidad de la luz en vez de la cantidad) – obviamente tendrán absorbancias a diferentes longitudes de onda dependiendo del tipo de luz que absorben
 - ◆ RECEPTORES DE LUZ ROJA: Fitocromos. Perciben longitudes entre 600–700 nm (luz roja) y entre 700–800 nm (luz roja lejana – NO INFRARROJO, pero rojo lejano)
 - ◆ RECEPTORES DE LUZ AZUL: Criptocromos. Xantofilas y otros. Perciben longitudes de onda de entre 400 y 500 nm. Algunos también perciben ultravioleta cercano (UVA).
- Receptores de luz UV lejana (UVB): absorbancias menores a 400 nm son fundamentalmente fotoprotectores de los aparatos fotosintéticos

FITOCROMOS: EL EFECTO DE LA LUZ ROJA INDUCE GERMINACION EN ALGUNAS ESPECIES

El efecto se descubrió en 1930. Un pulso de luz roja podía inducir, acelerar, activar, la germinación en semillas de lechuga. Ojo! No es que la lechuga no germinaba sin ese pulso, pero en presencia de esos pulsos, la germinación era mucho más acelerada y sincrónica. Esto se buscó extrapolar a otras especies, pero se vio solo en lechuga.

Lo que se buscó por otro lado es saber si otros tipos de luces no rojas hacían lo mismo. Se probó con el naranja, con la luz roja lejana, con luz violeta, etc. pero no se veía una activación de la germinación y ésta permanecía lenta y asincrónica como si creyéramos siempre las semillas en oscuridad.

Por casualidad, probando efectos de luces después del pulso de luz roja, se vio que un pulso de luz roja lejana después del rojo era suficiente para que la germinación volviera a inactivarse y permaneciera lenta.

Se probaron diferentes secuencias de disparos y pulsos. Al final el efecto que se manifestaba en el desarrollo dependía de la última luz que hubieran recibido las semillas (roja o roja lejana).

CONCLUSIONES PREMATURAS: Las semillas tienen un receptor de luz roja que activa una cascada de señales que lleva a inducir la germinación.

Pero como había efectos por luz roja lejana, se pensó que podía haber otro fotorreceptor. Se comprobó sin embargo que solo existía un tipo de receptor para la luz roja y luz roja lejana. No había receptores específicos de luz roja y otros de luz roja lejana.

HIPOTESIS: Había un solo fitocromo con dos conformaciones. Evidentemente el efecto de la luz roja era activar el fitocromo y el efecto de la luz roja lejana era inactivarlo. El fitocromo activado era receptor de luz roja lejana y el fitocromo inactivado era receptor de luz roja únicamente. La forma activa era la llamada PFR (Phytocrome Far Red). La forma inactiva era la que no tenía efectos biológicos y era llamada PR (Phytocrome Red). Es la forma en que originalmente es sintetizada.

Se han descubierto hasta ahora 5 tipos de fitocromos (PhyA, PhyB, PhyC, PhyD, PhyE). La forma Pfr en todos ellos es la activa. Lo que pasa es que algunos de ellos en su forma activa son muy sensibles y por lo tanto se degradan. En concreto el PhyA o Fitocromo tipo I tiene una conformación Pfr que es activa pero muy inestable y se degrada enseguida.

Estado Fotoestacionario:

El estado fotoestacionario dependerá de la cantidad de Pfr que se tenga sobre el total de Phy de un tipo. En un

estado fotoestacionario alto (mayor cantidad de luz roja que luz roja lejana – durante las horas de sol más intensas – mediodía) tenemos una relación de 0,7. En un estado fotoestacionario bajo (más luz roja lejana que luz roja – durante el atardecer) tenemos una relación de 0,2.

Ensamblaje De La Cromoproteína

El fitocromo se sintetiza en forma inactiva. Consta de dos partes y es una holoproteína (una cromobilin–proteína). Es dimérico. Está formado por dos péptidos: una fitocromobilina (síntesis plasmática) y una apoproteína (síntesis citosólica). La fitocromobilina es el cromóforo (lleva en él los pigmentos que tienen las absorbancias en el rojo y rojolejano). El Pr se modifica cuando le da la luz roja y cambia de conformación tanto en la apoproteína como en la fitocromobilina dando lugar a la activación. Al contrario que los pigmentos fotosintéticos, estos son solubles citosólicos.

Isomerización Cis–Trans De La Fitocromobilina

La parte receptora está en la fitocromobilina. El polipéptido tiene un tetrapirrol abierto (una cadena de anillos pirrólicos). El último pirrol está enlazado por un doble enlace. En la forma inactiva ese doble enlace tiene forma cis (como en el resto del tetrapirrol). Al darle la luz, el enlace pasa a conformación trans y por lo tanto la molécula hace un codo. Esa forma será la activa. La curvación del cromóforo hará que se revele un sitio lógicamente apolar hidrofóbico (el sitio que antes le hacía de nicho y estabilizaba sus enlaces cuando estaba en conformación cis). Al revelarse el sitio hidrofóbico tan inestable (estando en un medio polar como es el citosol), en el momento que eso ocurre, se pueden unir a ese sitio algunas proteínas. Ese complejo será la primera molécula de la ruta de la transducción de la señal de luz. Ese complejo podría actuar como una quinasa, pero también pueden unirse otras cosas y tener efectos varios.

El recodo que hace la fitocromobilina por la isomerización del cis–trans no solamente libera el sitio hidrofóbico y active otras proteín–quinasas sino que también modifica la conformación de otros sitios en la apoproteína haciendo que se induzca la actividad quinasa en ella. Es decir que el fitocromo activado no solamente actúa formando complejos que activan otras proteínas sino que también él mismo es activo y tiene actividad quinasa (aunque es todavía hipotética). La actividad quinasa putativa se piensa que sería la responsable de fosforilar activando la misma proteína que fue unida mediante el sitio hidrofóbico (o sea que todo está como muy sincronizado y es un ejemplo del modelo del ajuste inducido de interacción enzima–sustrato).

La luz roja lejana hace que vuelva a conformación CIS y por lo tanto toda la activación se revierte

Porqué los distintos tipos de fotocromos actúan frente a distintas longitudes de onda?

Según su comportamiento con la luz existen 2 tipos de fotocromos

- fitocromos tipo I (PhyA: el máximo representante); actúan a bajas concentraciones de fitocromo activo Pfr, es decir con índices de estado fotoestacionario bajo En resumen con solo un poco de luz roja, aunque haya luz roja lejana en un estado fotoestacionario bajo YA SE PRODUCE SU EFECTO
- fitocromos tipo II (PhyB): necesitan altas concentraciones de Pfr para actuar por tanto un estado fotoestacionario elevado Pfr/Pr En resumen solo se activarán por el sol en plena intensidad solo durante la elevada intensidad luminosa se darán sus efectos
- otros fitocromos como C, D, E solo ayudan a las vías de activación de los otros dos y sus acciones no están bien descritas todavía

PhyA vs. El resto de Fitocromos

Dos cosas caracterizan al PhyA su inestabilidad en la forma Pfr que es degradada inmediatamente por ubiquitinación y exorcación al proteosoma; y su equilibrio Pr–Pfr activo independiente de la presencia de luz

roja–luz roja lejana (razón por la cual el PhyA suele tener efecto aún cuando no hay luz roja).

- El rápido efecto del Pfr de PhyA
 - ◆ Su acción biológica es rapidísima y luego es degradado casi a la misma velocidad
 - ◆ Si se le aplica a un cultivo luz roja durante 2 horas, la respuesta a las 2 horas será la dependiente del PhyB únicamente dado que el PhyA ya habrá sido degradado y retornado a su equilibrio
 - ◆ Es decir que las respuestas a luz roja de tipo A son las rápidas, mientras que las respuestas a luz roja de tipo B son las más duraderas
- El fotoequilibrio Pr–Pfr independiente de luz roja–luz roja lejana
 - ◆ Es el responsable de la germinación lenta asincrónica aún sin presencia de luz roja
 - ◆ Es el que permite que haya aunque pocas, algo de cantidad de Pfr como para que los efectos de tipo PhyA se den pese a que no haya luz roja (es así que las semillas pueden germinar aún SIN LUZ del DIA)

Resumiendo un poco la acción del PhyA qué sucede cuando iluminamos con luz roja súbitamente una planta que estaba en oscuridad?

- la planta en oscuridad estaba en fotoequilibrio es decir que se mantenía una cantidad de Pfr mínima de PhyA
- al iluminarse, se incrementa el estado fotoestacionario y la respuesta del PhyA se activa se inicia su cascada de efectos
- sin embargo rápidamente el PfrA es degradado por proteosoma
- adicionalmente parte de esa cascada tiene un efecto de retroalimentación negativa sobre los genes que transcriben para el PhyA de forma que
- a la hora ya se ha retomado el fotoequilibrio aún cuando seguimos en presencia de luz roja

Desarrollo de la semilla y su relación con los fitocromos

En las primeras fases del crecimiento (la semilla está soterrada) el crecimiento y las respuestas dependen fundamentalmente del fotoequilibrio de PhyA dado que la cantidad de PhyB activa es mínima.

A medida que van creciendo (plántula emerge del suelo) el crecimiento depende ahora fundamentalmente de PhyB activo debido a que la luz roja constante terminará produciendo una respuesta a luz roja de tipo B.

Qué ocurre experimentalmente si iluminamos con luz R y luz FR?

La luz roja lejana inactiva a B pero A se mantiene en su fotoequilibrio (que como decíamos es independiente de luz roja o roja lejana). Así la respuesta dependería de A.

La luz roja activaría por otra parte a B y a A si se mantiene constante ahora A regresa al equilibrio mientras que B será quién luego lleve la batuta.

La concentración de Fitocromos es elevada en meristemos jóvenes con células indiferenciadas

En los sitios con mayor cantidad de cambios en el patrón de desarrollo es donde encontramos más concentración de Phy. Esos meristemos además son los que mayores concentraciones de Pfr tienen.

TIPOS DE RESPUESTA A LA LUZ ROJA

Podemos resumir todo el tema con los 3 tipos de respuesta a luz roja que existen en las plantas

- VLFR: respuestas a muy bajo influjo
- LFR: respuestas a bajo influjo
- HIR: respuestas a irradiancia alta

Las VLFR y LFR son las que dependen de afluencia de luz. Es decir que responden a la cantidad de fotones de luz que se van acumulando, primero causando las VLFR y luego las LFR. Las HIR son respuestas a alta irradiancia (un número elevado de llegada de fotones por segundo). Es así que si iluminamos con una luz roja muy ténue podremos causar las VLFR y las LFR, pero nunca las HIR. Mientras que si iluminamos con una luz de una forma intensa causaremos las HIR.

Las VLFR: No son reversibles por la luz roja lejana (dependen fundamentalmente de PhyA)

Las LFR: Reversibles por luz roja lejana (dependen de PhyB lógicamente)

Las HIR: Generalmente dependen de incrementos rápidos de PfrA (aunque también algo de B). Son irreversibles (obviamente porque dependen de PhyA)

Las respuestas también las podemos catalogar como respuestas de reciprocidad positiva o reciprocidad negativa. Las de reciprocidad positiva son las de tipo VLFR o LFR (las que responden a afluencia). Las de reciprocidad negativa con las que dependen de la tasa de afluencia, es decir del flujo de fotones (la velocidad) o irradiancia, las HIR.

Tipos de respuesta más comunes (ver diapositivas)

Respuestas típicas de HIR (ver diapositivas)

Desetiación: desarrollo de cloroplastos

Dos procesos fundamentales en el crecimiento etiolado: elongación excesiva del tallo (crecimiento en longitud sin que haya desarrollo de meristemos foliares), inhibición de la síntesis de pigmentos.

En el crecimiento verde (desetiación) lógicamente se da una reorganización del programa génico que derivan de la cascada originada en la señal por los fitocromos.

Inhibición del crecimiento etiolado (desetiación – activación de fitocromos):

- inhibición de la elongación del tallo
- enverdecimiento (maduración de cloroplastos – síntesis de clorofila)
 - ◆ maduración de cloroplastos: los proplastidios a través de la activación de los fitocromos se transformaran en cloroplastos (implica la organización y síntesis de sistemas antenna, síntesis y acumulación de proteínas de la vía de la clorofila – todas ellas rutas activadas por los fitocromos activados Pfr)

Qué sucede realmente con las plantas en la naturaleza (plantas inmersas en una población de competidoras)?

Planteamos una situación normal en la naturaleza en plantas que están recibiendo luz continuamente en un día soleado. En las plantas que están recibiendo luz solar directamente la situación será la siguiente. Rojo/Rojo lejano = 1 por lo que Pr/Pfr = 1

La respuesta de crecimiento en verde en esas plantas que continuamente están recibiendo luz solar dependerá lógicamente del PhyB (ya que el PhyA estará degradándose).

Esas plantas absorben a través de pigmentos fotosintéticos luz roja (y no luz roja lejana) cuando la luz solar las atraviesa. Además, por pasar por distintos filtros, las plantas del dosel recibirán una luz empobrecida en la franja del rojo (parte por lo absorbido y parte por lo perdido o disipado). En resumen, las plantas intervienen en el ambiente luminoso de sus vecinas. Las plantas que reciban luz reflejada tendrán una calidad de luz roja mucho menor y la relación Rojo/Rojo Lejano será menor a 0,2. Eso supondrá un estado estacionario bajísimo y por lo tanto casi todo el fitocromo estará en forma Pr, sobre todo el PhyB. O sea que las plantas que reciben ese tipo de calidad de luz germinarán y se desarrollarán en ese ambiente de sombra dependiendo de las respuestas a PhyA sobre todo.

En resumen, las plantas que crecen en sombra (y reciben sobre todo luz roja lejana) tirarán de las respuestas de las vías de PhyA. Y las plantas que están en ambientes luminosos (y reciben muchísima luz roja) crecerán en verde debido a las respuestas de las vías del PhyB.

Tanto el Phy A como el Phy B estimularán la desetiologización y el crecimiento verde. El hecho de que estén ahí es lo que permite que las plantas de sombra también puedan crecer y que por lo tanto, a lo largo de la vida de una planta, la activación de Phy A y Phy B será diferente y siempre promoviendo los procesos naturales de crecimiento de una forma correcta.

Pero, ¿es lo mismo el crecimiento de una planta que germina en base a PhyA que una que germinó en sombra usando sobre todo las respuestas de PhyB?

Dependerá de si son plantas adaptadas a crecer en sombra o plantas adaptadas a crecer en sol. Las plantas de sombra normalmente tienen un grado de crecimiento constante casi independiente del estado fotoestacionario. Tanto al sol como a la sombra básicamente crecerán a la misma velocidad.

La mayor parte de las plantas (en nuestro país por lo menos, en la selva ya sabemos que el tema es diferente) sin embargo son las plantas de sol. Esas crecen muy distinto dependiendo del estado fotoestacionario y el estado luminoso en que se encuentren. Una planta de sol, cuando está desarrollándose a la sombra, cuando Pfr/Pr es muy bajo, entonces su velocidad de elongación es muy alta. Cuando el estado estacionario Pfr/Pr es alto entonces su velocidad de crecimiento es más baja (y hay más crecimiento de hojas en vez de elongación). En resumen

La sombra de plantas vecinas estimula la elongación en plantas de sol

Cuando hay muchas plantas, y la densidad de población es elevada, las plantas suelen crecer un poquito más altas que cuando hay menos o cuando hay muy pocas. Al hacerse sombras unas a otras (densidad de población elevada) se induce el crecimiento etiolado. Cuando están muy separadas unas de otras, el estado fotoestacionario es mejor y el crecimiento en elongación es menos acusado. Se desarrollan más sus aparatos foliares. Es por esto que los árboles en bosques crecen más alto que si hay poquito (crecen más en altura). Eso tiene sentido adaptativo – te falta luz, creces más en longitud para alcanzar una mayor cantidad de luz. Una vez ya tenés la luz que querés, empezás a crecer tus hojitas.

El fitocromo regula los ritmos circadianos (circa diem quiere decir casi diario). Uno de los efectos de los ritmos circadianos es la posición de las hojas (el cierre de las hojas o folíolos – la nictinastia por la noche en *Mimosa*). También la caída axilar en algunas plantas se da a la noche por esta misma razón. Todo esto se debe debido a que el fitocromo produce cambios de turgencia en las vacuolas. Realmente regula los flujos iónicos y la turgencia en las células del pulvínulo.

En la hoja de la *Mimosa* o las *Acacias* tenemos unas células ventrales motoras (en el haz) y unas células dorsales motoras (en el envés) que tienen unas vacuolas especiales. En presencia de luz el potasio y el cloro entran en las células motoras ventrales y la hoja se abre. Cuando están turgentes las motoras ventrales, las dorsales se ponen plasmolíticas. Cuando llega la noche el potasio entra en las dorsales. Las ventrales se

plasmolizan, y las dorsales se expanden turgentes. Eso hará que se cierren las hojas.

El fitocromo regula la expresión de genes reloj

Esencialmente hay genes de noche y genes de día. El gen TOC1 es un gen de noche. Cuando está activo de noche induce la expresión de los genes de día. Esos genes de día acumulan su producto poco a poco a lo largo de la noche. Al amanecer, cuando la planta recibe luz, la expresión de esos genes de día (LHY y CCA1) aumenta muchísimo más y disparan una respuesta clave. Los genes de día ahora activarán la LHCB y otros genes del amanecer que serán los responsables del crecimiento verde de la planta durante el día. El LHY inhibirá los TOC1 y otros genes de noche para que por retroinhibición el crecimiento se autoregule. Al volver la noche, los niveles de LHCB ya bajaron muchísimo y además LHY y CCA1 están inhibidos porque falta la luz que activaba su expresión. Finalmente los genes de atardecer ya pueden activarse ahora y vuelve la noche y la activación del gen TOC1 normal.

El fitocromo realmente lo que hace es activar la expresión de LHY y CCA1 durante el amanecer en el momento en que tiene que activarse LHCB y otros.

Realmente el tema es más complejo debido a que los días van modificándose todo el tiempo gracias a las estaciones. Unos genes regulan todo esto para que el ciclo se acostumbre.

Las respuestas a nivel molecular del fitocromo – qué sucede en las células con el Pfr ya activo?

El fitocromo activo migra hacia el núcleo. Eso se vió con experimentos con GFP. Cuando una planta crece sin iluminación, el Pr está más o menos disperso (verde uniforme en la hoja). Pero cuando se ilumina con luz solar o luz blanca, el Pfr se acumula en el núcleo (puntitos verdes concentrados). O sea que funciona similar a como lo hacían las MAP kinasas que vimos que entran y fosforilaban cosas dentro del núcleo.

Se ha demostrado que tanto el A como el B entran activos en el núcleo y se unen a factores de transcripción activándolos y por lo tanto unidos a las cajas G enhancers darán lugar a la inducción del producto del gen MYB que a su vez promueve la activación de genes LHCB.

Se sabe también que el fitocromo tiene un dominio con actividad kinasa que fosforila cosas y también se autofosforila. Se supone que autofosforilado es capaz de fosforilar otras proteínas, en concreto por ejemplo, los factores de transcripción.

Pero está claro que el tema es más complejo de lo que podríamos pensar en un principio.

Tanto el fitocromo A como el B, una vez autofosforilados pueden entrar en el núcleo y activar cosas. Pero también pueden cambiar de rutas a otras que ya vimos antes más como rutas generales. Tanto uno como otro pueden activar las rutas de las vías G a través de la activación directamente de las proteínas G de membrana. Esas desencadenarían las respuestas por cGMP o Ca²⁺. Además los PfrA pueden activar a otras kinasa e inducir una cascada de MAP kinasas que a su vez también pueden entrar en el núcleo y por su cuenta tener otra cascada de respuestas. En resumen, el fitocromo puede actuar a través de múltiples rutas de transducción.

RECEPTORES DE LUZ AZUL

Los nucleótidos flavínicos, las pterinas, los carotenoides, etc. son todos pigmentos receptores de luz azul. Pero los efectos fotomorfogénicos no son comunes ni compartidos en ellos. Solo existen 3 moléculas que tienen efectos morfogénicos:

- criptocromos
- fototropinas

- proteínas con carotenoides (zeaxantina)

Criptocromos: Cromóforos De Luz Azul

Comenzaremos viendo los criptocromos. Tenemos flavoproteínas (los que están con flavinnucleótidos como FMN, FAD, etc.) y las pterinoproteínas (las que tienen pterinas).

Fototropinas

Tienen grupos cisteínicos asociados con flavinas. Con luz el azufre de la cisteína forma un enlace (éter de sulfuro) con el pigmento.

Carotenoides

Los carotenoides tienen picos de absorbancia azul (3 piquitos o 3 dedos). La luz azul está entre 400 y 500 nm, justo donde absorben los carotenoides y las xantofilas. La Zeaxantina tiene un espectro de absorción prácticamente igual al espectro fotomorfogénico de luz azul que origina respuestas en las plantas. Vimos la trans-zeaxantina (en prácticas – un fotopigmento) pero también está la cis-zeaxantina (efectos fotomorfogénicos).

EFFECTOS DE LA LUZ AZUL

La luz azul induce curvatura por crecimiento asimétrico

Ya sabemos que las plantas se elongan en oscuridad (mientras que prefieren desarrollar meristemas foliares cuando hay luz). En un experimento, si sobre una planta le disparo luz azul sobre un lado, la planta crecerá más en el lado oscuro, mientras que el lado iluminado permanece sin alargarse. Las células a oscuras entonces crecen alongadamente y eso origina una curvatura hacia donde está la luz azul. Eso se debe realmente al transporte polar de auxinas. Es un tipo de tropismo. Al final la planta crece hasta disponerse hacia la luz.

El efecto del fototropismo es un buen ejemplo dado que están implicados los tres tipos de receptores azules. Sin embargo las fototropinas (lo dice el nombre) son las más implicadas de los tres. Los otros solo ayudan.

Si iluminamos la planta cenitalmente, se induce el crecimiento en grosor (lógicamente se inhibe la elongación del meristemo apical).

La luz azul inhibe elongación del tallo por despolarización de la membrana.

La luz azul estimula el heliotropismo

El efecto es el mismo. Realmente la curvatura por crecimiento asimétrico debido al transporte polar de auxinas hará que la flor o las hojas giren y se dispongan hacia el lado donde está la luz.

El heliotropismo es lo más normal en muchas plantas. Una planta siempre intenta captar la cantidad de luz más favorable. Así intentará que el ángulo de radiación sea el óptimo en cada momento. El heliotropismo es como el fototropismo entonces, pero el heliotropismo sería la verdadera condición natural.

La luz azul induce el movimiento de los cloroplastos

En las plantas los plastos en las células se mueven en presencia de luz azul intensa. Ocurre también con luz roja, pero digamos que los plastos se esconden solo cuando el riesgo es mayor (el caso de luz azul que es la

más cercana a hacer daño).

La luz azul estimula la expresión de ciertos genes

Ligado con los efectos de crecimiento verde, la luz azul además de inhibir la elongación del tallo para que aumente la robustez, también estimula la síntesis de clorofila. La expresión del gen GSA en concreto es mucho mayor cuando se alcanza una cierta cantidad de fluencia de luz azul.

La luz regula la apertura estomática: el grado de apertura coincide con la cantidad de radiación

Se ve que la conductancia estomática es mayor en los momentos en que la radiación PAR es mayor (lógicamente viéndolo en las plantas C3).

Haciendo un experimento, metemos luz roja durante 2 horas a una planta en oscuridad. Se ve que la apertura estomática comienza a ser cada vez mayor, poco a poco. A las 2 horas les metemos un chute rápido con luz azul y se ve que la apertura se acelera muchísimo (se activa la turgencia absoluta de las células estomáticas).

Pero si ahora metemos desde la oscuridad solamente luz azul directamente, la pendiente no es tan acentuada. O sea que la luz azul tiene un efecto regulador sobre la apertura estomática. En resumen, cuando la luz azul actúa junto con el fitocromo se da la activación correcta de todos los genes y finalmente el estoma se abre completamente.

La luz azul estimula la entrada de agua a las células guarda tras activar una protón-ATPasa (tipo V inhibible con vanadato). Comparamos el efecto de luz azul en dos plantas que están iluminadas con luz roja. En la planta que creció con vanadato, al meter la luz azul no se da una apertura clara. En la planta control, la luz azul hace que los estomas se abran claramente. Conclusión: la luz azul activa la protón ATP-asa de las células estomáticas. Otros experimentos mediante patch-CLAMP, midiendo el efecto de la luz azul sobre el potencial de membrana. Se ve ahí bien como se da un potencial graduado en la activación de la bomba protónATPasa.

El contenido de zeaxantina en células guarda está relacionado con la apertura estomática

Se mide la cantidad de Zeaxantina en las células del mesófilo y las células guarda. Se mide también la radiación PAR en diferentes momentos del día. Se ve que la cantidad de Zeaxantina aumenta en el momento en que la radiación PAR aumenta

Al parecer la zeaxantina media la percepción de luz azul en células guarda.

Ya conocemos el ciclo de las xantofilas que protege al aparato fotosintético mediante la desepoxidación de la violaxantina que la lleva a zeaxantina. A más luz roja, más zeaxantina se produce.

En los estomas se cree que la zeaxantina puede isomerizarse con luz azul y pasar de trans a cis. La cis-zeaxantina podría inducir un cambio en la apoproteína con lo cual se activa la holoproteína y finalmente activa una cascada que termina activando las respuestas de luz azul. Se cree que la proteína activa una cascada de treonin/serin kinasas (que a su vez está promovida por fototropinas como phot1 y phot2 que también deberían haber sido activadas por luz azul). Una proteína periférica en la membrana interna del citosol, llamada 14-3-3, se fosforila mediante esta cascada y podría unirse y activar la bomba protón-ATPasa de membrana. Esa activación de la bomba haría que se desencadene el potencial de membrana que en última estancia aumentaría el volumen de las células guarda y abriría el estoma.

Hay también evidencia de que las fototropinas sean kinasas asociadas y fosforiladoras de proteínas de membrana. O sea que la fosforilación de la proteína 14-3-3 de membrana activadora de proton-ATPasas de membrana podría tener que ver con fototropinas directamente.

HORMONAS VEGETALES – FITOHORMONAS

Recordamos que realmente el comportamiento de las hormonas no tienen nada que ver con las hormonas vegetales. No se producen o eliminan ni actúan de la misma forma!!

El efecto del tejido depende por una lado del transporte, de la síntesis, por otro lado de la sensibilidad de un tejido determinado (es lo que dianiza un tejido frente a una hormona en distintos momentos ambientales del tejido o de la planta). Hay algunos factores en cuanto a la regulación de la concentración de hormona vegetal.

Se puede regular por: síntesis (la propia célula sintetiza más o menos), transporte (regular cuanto llega o no llega de dicha hormona – cuanto se excreta, etc.), degradación (hay mecanismos que pueden degradar y disminuir la concentración de una hormona en el tejido) y un fenómeno bastante generalizado en las plantas para las fitohormonas – la conjugación de hormonas (inactivación de las hormonas). Los 3 primeros ya se vieron mucho en otras asignaturas. Pero el último es bastante exclusivo de plantas.

La conjugación de hormonas es un proceso muy particular. Se trata de la unión normalmente a un monosacárido, a un azúcar. De forma que la hormona se glucosila (normalmente fructosa, glucosa, galactosa). La glucohormona es inactiva, no puede ejercer su función y normalmente en esos casos se almacena en la vacuola de la célula en la que está. Se puede almacenar de tal forma que en un momento determinado, si una célula necesita una hormona puede liberarla directamente rompiendo el enlace glucosídico y activándola y liberándola de la vacuola inmediatamente. Hay casos de inactivación irreversible, pero no es lo típico.

En muchos casos también (aunque no es el caso del transporte polar activado de las auxinas) viajan en forma inactiva hasta los tejidos diana. Una vez en esos tejidos se rompen los enlaces glucosídicos y finalmente ejercen su acción.

TEMA 17 – LAS AUXINAS

Una señal difusible producida en el ápice del coleóptilo se transmite a la zona de crecimiento (curvatura)

Proviene de auxin que significa crecimiento. Fueron de los primeros reguladores desde el punto de vista químico que se descubrieron. Fue la primera que se descubre y fue una revolución en cuanto al conocimiento del desarrollo en vegetales. Se creía que el tema estaba más controlado en animales que en vegetales. Se ven recién a principios de siglo XX.

Se realizaron experimentos en coleóptilos en *Avena*. Los primeros experimentos que demuestran que existe algo que actúa de forma similar a una hormona son de Darwin en 1880. Cuando se cansó de teorías de la evolución empezó a trabajar con plantas. Una de las cosas que había observado en su vida y que le llamaba la atención era la respuesta de las plantas a la luz (respuesta fotomorfogénica). En concreto una de las cosas que le causaba sorpresa es que si uno le metía un chorro de luz desde un lateral la planta crecía hacia la luz. Es lógico pensar que un tejido fotosintético que depende de la luz para actuar enfoque hacia la luz. Pero las plantas NO RAZONAN! Entonces cómo hacen para moverse hacia la luz si no!?!

Lo que hacía es que si escindía la puntita al coleóptilo, o si ponía un capuchón oscuro en la puntita al coleóptilo, para que no le dé la luz a la puntita el fenómeno de curvatura no se producía. La conclusión estaba clara, lo que producía la curvatura dependía de que el ápice del tallo detectara esa luz.

En 1913, Boysen–Jensen demuestran que el efecto de la luz depende del transporte de una molécula desde el coleóptilo hacia la base que se curva. Lo que hacían era atravesar con una laminita de mica (impermeable) justo la mitad no iluminada para que nada pudiera transportarse en ningún sentido en ese lado de la planta. Iluminaban y el efecto era el mismo que si se cubría el ápice con el capuchón – es decir que no se curvaba. Si

la lámina de mica se ponía en el lado donde le daba la luz, había curvatura igual. O sea que algo se transportaba en el lado no iluminado del coleóptilo que debía estar transportándose cuando el lado contrario se iluminaba. Esa cosa transportada es lo que producía el efecto.

El otro experimento que hicieron fue hacer un corte en el ápice. Y luego pegar el ápice con el resto del coleóptilo mediante una gelatina (o agar, algo no impermeable). Ahora iluminaban y ahora sí había fototropismo. O sea que evidentemente la cosa dependía del transporte.

En 1919 Paál cortaba el ápice. Luego reemplazaba el ápice en solo uno de los lados del coleóptilo de manera que si algo debía transportarse desde el ápice al tallo se transportara solo por ese lado. Veía que había crecimiento curvado. O sea que sacó de ello dos conclusiones. Realmente el ápice, todo bajo el mismo estímulo lumínico, transporta sustancias a ambos lados, de manera que crece todo en longitud sin que haya curvatura. Cuando iluminábamos todo el ápice con la misma luz (el experimento de Paál) pero dejamos que el ápice solo pueda difundir sustancia a uno de los lados, todo el ápice difundirá, pero solo le llegará sustancia a uno de los lados. O sea que la luz dirigida a un lado realmente lo que hacía era retardar el crecimiento en ese lado. Por ello difundían menos químicos por el lado iluminado que por el lado oscuro. En resumen, el lado oscuro crecía más en longitud.

La curvatura entonces dependía de un químico que descendía desde el ápice hasta la base.

El crecimiento depende de la concentración de auxina

Went prescinde del tejido vivo y se interesa en aislar aquello que difunde. Indican que el crecimiento del coleóptilo (medido como grado de curvatura) depende de la concentración de la sustancia. Lo que sea difundía desde el ápice hasta los bloques de gelatina. Se podía así cortar una cierta cantidad de ápices y ponerlos en bloques de gelatina e iluminarlos para que produzcan a saco esa sustancia que sabemos que una vez aplicada en un lado de la planta hará que esa planta crezca. Lo que se hacía era cortar un cachito del agar y ahora en oscuridad total poner ese bloquecito de gelatina en un coleóptilo con la punta cortada, sobre un lado (y luego sobre el otro). Se dejaba crecer y luego se medía la curvatura que se inducía. La concentración de sustancia se medía dependiendo proporcionalmente de la cantidad de ápices que se ponían en la placa de gelatina originalmente. Así se medía la curvatura en función del número de ápices de coleóptilos de los que se había extraído la sustancia. Se veía que a partir de unos 10 ápices por placa, la curvatura se estancaba un poco en 15° aproximadamente. Purificada ya más tarde se vió que era Ácido Indolacético (IAA) lo que inducía el cambio. Se veía que tenía una respuesta dependiente de dosis. Aplicando directamente IAA se veía que el grado de curvatura incrementaba hasta una cierta concentración determinada y después de una cierta concentración podía inhibir dicho crecimiento.

Hay auxinas naturales y auxinas artificiales. Se cree que la actividad auxina depende no tanto de la presencia de los anillos del grupo Indola (un doble anillo 6+5 compuesto de 8 carbonos y un nitrógeno) sino de la distancia entre el grupo carboxilo que tiene la auxina y un grupo electropositivo (que en las naturales suele ser el grupo nitrógeno del grupo indola).

El efecto de elongación celular de las auxinas

Si se les echa auxina en una placa a unas células ya crecidas, las células crecen en longitud (no crecen tanto en plan replicación, sino que más que nada se alargan!). La placa en que los brotes crecen con agua los brotes se mantienen gorditos. La placa en que se añadió IAA se ve que tiene brotes más largos y finitos. O sea que el IAA no indujo propiamente el crecimiento por división celular sino por elongación de las células!

La sensibilidad varía en los distintos tejidos u órganos vegetales para la IAA

Aunque siempre a partir de una cierta concentración hay inhibición, la concentración a partir de la cual se da

la inhibición del crecimiento es diferente dependiendo de si medimos el efecto en las raíces, el tallo o las yemas axilares. La sensibilidad del tallo es menor (necesita mayor cantidad de IAA para responder a ellas). Las raíces son las más sensibles, pero no pueden alcanzar una promoción del crecimiento tan acentuada como puede obtener el tallo o las yemas axilares.

Hay un efecto muy particular e importante que sucede a nivel de los fitómeros. En una concentración un poco mayor de 10^{-4} de IAA, las yemas axilares están siendo prácticamente inhibidas en el crecimiento mientras que el tallo está siendo estimulado para crecer. Ese es el efecto que explica la dominancia apical (las plantas crecen siempre más en el meristemo apical que en los meristemos laterales haciendo que crezcan en punta). O sea que a las concentraciones normales de auxina de las plantas (ese 10^{-4} aproximadamente) está creciendo más el tallo que los meristemos axilares – forma piramidal de las plantas.

Las raíces solo son estimuladas en su crecimiento recién a 10^{-8} y el efecto sobre el crecimiento de la raíz es muy pequeño comparado con lo que hace en el tallo. Es por eso que se suele decir que es una hormona de crecimiento de partes aéreas de la planta.

Zonas de síntesis de auxinas

Suelen ser los meristemos aéreos y las zonas de expansión de las hojas (hidátodos). En particular el que más es el meristemo apical del tallo.

Muchas hojas tienen unas glandulitas que pueden secretar sustancias hacia fuera. Están en el final de las venaciones de algunas hojas. Son zonas de crecimiento, secreción, etc. Son en concreto las zonas sintetizadoras de auxinas de las hojas.

Se han hecho numerosos experimentos en los que se ligan auxinas con GUS y otros marcadores de color azul para rastrear su síntesis y transporte.

Rutas de síntesis de auxinas

Hay hasta 3 rutas de síntesis en plantas y 1 de bacterias. La auxina por excelencia es la IAA. Todas las rutas parten desde el triptófano. La Trp monooxigenasa de bacterias les permite sintetizar indol-3-acetamida y IAA (bacterial pathway). Las auxinas de las bacterias tienen el efecto de estimular el crecimiento lateral de las raíces y no el crecimiento en elongación (A diferencia de lo que hace en el tallo a concentraciones normales).

Hay otras rutas minoritarias independientes de triptófano. Realmente suelen sintetizarse en origen a partir de metabolitos previos al triptófano en la ruta de biosíntesis del triptófano. Los animales no tenemos esta ruta casi ninguno de nosotros. Son casi exclusivas de las plantas. Hay rutas independientes de triptófano que usan metabolitos secundarios.

Transporte polar de auxinas

Por los haces vasculares pueden transportarse auxinas de una forma no polar. Normalmente se transportan inactivas (están conjugadas con aminoácidos para mantenerlas inactivadas).

Pero también existe un transporte polar (solo en una dirección) a través de las células vivas. De él depende en gran parte la concentración final de auxina en una célula determinada y la actividad de esa auxina en ellas. Se llama así porque es polarizado, normalmente desde el meristemo apical hacia las partes inferiores del tallo.

En la raíz el transporte polar es acrópeto (desde el tallo hacia el meristemo apical de la raíz). En el tallo, el transporte polar es basípeto (desde el meristemo apical del tallo hacia la base del tallo).

Hay un experimento muy elegante que demuestra que el transporte polar es así, polar. Tomamos una sección del hipocótilo y la cortamos. Tenemos una parte basal y una parte apical. SE aplica un bloque de agar o gelatina en la zona apical, cargado de auxina radiactiva (con carbono 14, por ejemplo). Se pone un bloque de agar colector en la zona basal. Pasado un tiempo se analiza el bloque de agar colector y se evidencia que hay radiactividad en él.

Ahora, invierto la disposición del tallo, pongo el ápice hacia abajo, con la placa colectora en él y la placa con auxina radiactiva sobre el tallo, en la zona basal.

Pasado un rato, la radiactividad no se evidencia en el bloque colector. De hecho, la radiactividad no se movió prácticamente desde la placa. No es un efecto de la gravedad – la auxina es TRANSPORTADA. Evidentemente las auxinas pueden ser transportadas solo de una manera polar basípeta a través del tallo.

La acción de las auxinas dependerá de este transporte polar.

Modelo quimiosmótico para el transporte polar de auxinas

Las auxinas son esencialmente hidrofóbicas excepto el grupo ácido. Son sintetizadas como IAA⁻. Pero si está protonada (a pH 5), entonces toda la molécula está casi toda apolar. Así puede atravesar la MPlasmática sin ningún tipo de problemas. El IAAH entonces es apolar y puede difundir directamente hacia el citosol de las células. No obstante, por si eso no es suficiente, existen mecanismos alternativos para el transporte. Puede entrar mediante cotransporte con protones mediante una permeasa. Los protones se mandan afuera nuevamente mediante la bomba protón-ATPasa.

Ya en el interior celular, como el pH del citosol es neutro, vuelve la IAA a forma ácida con carga negativa. Además el pH se mantiene bajo y la IAA desprotonada gracias a las protón ATPasas. Y es más, de hecho se cree que la IAA desprotonada activa la síntesis de más bombas de protones y activa aún más la acción de las bombas de protones.

En resumen, se acidifica mucho el apoplasto de la célula y se activan las extensinas y las proteínas encargadas de iniciar la síntesis de nuevos componentes de pared celular. Se activa así la extensión de la pared celular y la célula crece.

Si una célula tiene más auxina que otra, tiene más activas sus protón ATPasas

Si la concentración de IAA⁻ es lo suficientemente alta para que sea viable su difusión hacia fuera de la célula, lo hará. Para salir de la célula la auxina necesita un transportador para su forma iónica. No hay permeasas que puedan sacarla (solamente son para entrada a la célula). Curiosamente esas proteínas transportadoras no se localizan de forma igualitaria por todo el perímetro de la célula sino que se focalizan y polarizan en unos puntos determinados de la membrana plasmática de la célula, en la parte basal lógico.

De tal forma que en condiciones de iluminación cenital, todos los transportadores de auxinas se colocarán en la zona oscura de la célula, la parte basal. En consecuencia solo pueden salir las auxinas por la base de la célula – hacia la base del tallo. Al salir, podrán volver a protonarse y ahora nuevamente podrán entrar en la célula de abajo. Así es que no es posible invertir un tallo que creció de una forma determinada y pretender que solo por gravedad ahora las auxinas se muevan hacia abajo.

La responsable de este movimiento es percibida por critrocromos y fototropinas – es decir que la luz azul es la que realmente hará que los transportadores de auxinas se sitúen en el lado opuesto al de la luz.

Si iluminamos un lateral, entonces el transporte de auxinas se dirigirá polarizadamente hacia el lado oscuro no iluminado. Lógicamente crecerá mucho más el lado que reciba las auxinas.

Y cómo será en las raíces?

En la raíz la cosa debe ser diferente, porque si hay fototropismo negativo, ¿cómo hará la raíz para curvarse en contra de la luz (es decir para que crezca su lado iluminado)?

AHHH, pero la raíz tiene una sensibilidad distinta. De hecho, al ser un tejido más sensible a las auxinas, cuando la parte oscura tenga demasiadas auxinas, la parte oscura crecerá menos que la parte iluminada (que tendrá menor concentración de auxinas). En consecuencia la raíz se curvará hacia la oscuridad.

O sea, los transportadores harán lo mismo, es decir, se dirigirán siempre en el lado opuesto al iluminado y transportarán mayor cantidad de auxinas hacia la zona oscura. Pero el efecto es diferente debido que las concentraciones altas de auxinas en la raíz la inhiben, mientras que las concentraciones bajas la estimulan.

Lógicamente una vez la raíz está enterrada crecerá hacia donde haya cada vez más oscuridad y se enterrará.

El transportador de auxinas PIN1

Se llama Pin1 y se localiza basalmente con respecto a la dirección de la luz. Se sacaron imágenes por unión a GFP sobre cortes de tallos germinados con luz cenital. Es un resultado que reafirma el modelo quimiosmótico del transporte polar. Hay hasta PIN7. Hay una familia de transportadores de auxina entera!

El nombre de cada auxina es el nombre del fenotipo de arabidopsis. Las plantas mutantes para el transportador tienen forma de agujita y por lo tanto se llamó PIN. Como vimos antes, es típico que nombrando genes se utilice el nombre del fenotipo mutante para individuos con mutaciones en dicho gen.

Estudios con inhibidores del transporte polar de auxinas

Se hace con análogos de auxinas. La quercetina (un flavonol) y la genisteína son inhibidores naturales que sirven para que la planta regule su propio crecimiento y el transporte de auxinas. Tienen lógicamente grupos similares al indol del IAA y grupos ácidos.

Hay también inhibidores artificiales que se han utilizado en estudios, mutantes, etc. El más famoso es el ácido triyodobenzoico o TIBA.

Se coloca un inhibidor del transporte de auxinas y se utilizan individuos GFP-PIN. Al hacer las microscopías de fluorescencia se ve que los transportadores se quedan y la auxina se acumula dentro de las células. Las células siguiente entonces no reciben auxinas, etc. y es una forma natural de controlar la concentración de auxinas en la célula.

Una vez demostrado que el inhibidor retira de la membrana los transportadores, se lava el tejido para eliminar el inhibidor. La situación se reestablece al poco tiempo y se queda igual que el control. O sea que los transportadores pueden reciclarse. Pueden estar colocados en la membrana, retirarse y volver al citoplasma y puede volver desde las vesículas de reclutación hasta la membrana. La planta puede hacer esto naturalmente con inhibidores naturales!!! En resumen, los transportadores pueden reciclarse.

Al utilizar un inhibidor de la actina luego del inhibidor del transporte e intentar repetir el lavado, se ve que los transportadores se quedan en las vesículas y no son transportados a la membrana. Lógicamente el reciclaje se ve impedido cuando se inhibe la polimerización de microfilamentos de actina (que son los que regulan el transporte polar de vesículas).

Reciclaje de transportadores de auxinas

Estos experimentos demuestran como funciona realmente el transporte polar de auxinas que está mediado por la presencia polar de transportadores. Al recibir la señal, desde un compartimiento endoplasmático se yeman las vesículas con los transportadores. El citoesqueleto se modula con la señal y los filamentos de actina se dirigen en el mismo sentido que la luz. Como resultado las vesículas son transportadas hacia la zona basal. Por exocitosis, las vesículas se abren y las membranas vesiculares (con los transportadores incluidos) se fusionan en la MP. Como resultado los complejos PIN se disponen basalmente en la membrana.

Habrá MAL en vegetales? Reclutamiento a las membranas? Polimerización de actina? Forminas?

Conjugación de auxinas

Las auxinas se conjugan además de con glucosa también con aminoácidos (el resto de las fitohormonas suele hacerlo solo con glucosa). El IAA puede conjugarse con UDP–glucosa y dar el Indolacetil Beta D–Glucosa. Por isomerización puede cambiar la glucosa a inositol.

Otra forma es unirse a Aspartato.

Degradación de auxinas en el tejido diana

Por peroxidasa se pierde un CO₂ por descarboxilación oxidativa y se forma metileneoxindola que ya es inactiva.

Hay vías que no son por descarboxilación sino por oxidación. Se forma oxoindolacético que es inactivo. Las auxinas conjugadas pueden degradarse sin que sea necesario hacerlas pasar por una etapa activa de IAA.

Regulación de la concentración de auxinas

Para aumentar la cantidad de IAA tenemos lógicamente el aumento de la biosíntesis y hidrólisis de conjugados, al igual que activar más los transportadores. Las formas conjugadas al llegar a una célula pueden llegar a guardarse adentro en vacuola. Luego pueden intentar lanzarse afuera frente a una señal externa.

Casi todas las hormonas están sujetas a ciclos de regulación similares. Todas excepto el etileno que como es un gas difunde por donde quiere y hace sus cositas por ahí.

Los mecanismos de depleción son lógicamente la formación de conjugados, la degradación y el secuestro, etc.

Crecimiento de coleóptilos iluminados lateralmente

Hay una gráfica que muestra que si medimos el crecimiento a ambos lados de la planta con respecto al tiempo de exposición. El lado oscuro crece mucho más que el lado irradiado. En respuesta hay una curvatura del coleóptilo. Sin luz, el control crece igual por los dos lados.

Métodos

Los tips de coleóptilos se cortan directamente y se recogen. Luego se ponen en bloques de agar para recolectar la IAA. Se ponen luego bloquitos de agar sobre uno de los dos lados y se fijan. Se ve el crecimiento de la planta en oscuridad.

También están los experimentos que usan barreras de mica. Se utiliza por ejemplo una barrera de mica vertical para evitar que el IAA pase de un lado a otro cuando se ilumina polarmente sobre un lado del coleóptilo. Se recoge el IAA producido por el ápice por cada lado en separados bloques de agar. De esta forma nos aseguramos que cada bloque de agar tendrá el IAA producido por cada mitad del tip. Si se aplican los bloques

y se analiza la respuesta, el grado de curvatura producido por cada bloque de agar es el mismo.

En un último experimento se corta el tip del coleóptilo y se pone la barrera de mica únicamente en el bloque de agar. El lado del bloque que recolectó lo producido por el lado oscuro produce al final mayor curvatura (es decir que las auxinas si se movieron de un lado al otro del tip en este caso).

Es decir – la luz provoca un transporte polar de auxinas desde el lado iluminado hacia el lado oscuro.

En un coleóptilo intacto, la luz dirigida haría que los PIN1 se situaran en el lateral de la célula y polarizaran el transporte de IAA hacia el lado oscuro. Lógicamente algo de transportadores llevarán IAA hacia abajo. La redistribución de auxinas será asimétrica. Siempre habrá más en el lado oscuro y por lo tanto el lado oscuro se elongará y crecerá más! Al final se producirá la curvatura.

Un método más actual es usar genes colorados ligados al promotor de los genes implicados en el transporte de auxinas. Así se permite rastrear la presencia de auxina en el coleóptilo. Se hacen experimentos y se ve que hay color solo de un lado cuando hay luz dirigida. Si se ponen inhibidores lógicamente no hay curvatura y se ve que la auxina no es transportada polarmente.

Orto-Gravitropismo de las raíces y su relación con las auxinas

Si ponemos una semilla horizontal, pasado unas horas el tallo comienza un movimiento vertical hacia arriba y la raíz se curva hacia abajo. Si ponemos una semilla al revés, pasadas unas horas la raíz se curva y crece hacia abajo y el tallo se curva y crece hacia arriba. Hay sensores de gravedad. Esos sensores actúan sobre los PIN1 de forma similar a como lo hace la luz. Las auxinas se transportan hacia el centro de gravedad (como si cayeran por gravedad hacia abajo).

Lo que ocurre en el tallo horizontal es que las auxinas por gravedad caen hacia el lado de abajo (realmente está mediado por sus transportadores PIN). En resumen habrá más auxinas en el lado de abajo del tallo, éste crecerá más y por lo tanto el tallo se curvará por culpa de ese transporte polar de auxinas.

En la raíz, por efecto de la gravedad sobre el transporte polar de auxinas pasa otro tanto. La mayor presencia de IAA en el lado de abajo hace que ese lado crezca menos y por lo tanto se curva hacia abajo. Eso es gracias, otra vez, a que la raíz es muy sensible a auxinas y por lo tanto concentraciones altas inhiben el crecimiento.

Esto se vio también mediante proteínas transportadoras de fusión con GUS (gen colorante – azul).

Crecimiento celular por acidificación de pared mediados por auxinas – Crecimiento ácido

Ya vimos por la teoría quimiosmótica que las auxinas inducen la activación de las bombas protón-ATPasas y hacen que en el apoplasto el pH disminuya. Eso hará que se activen las expansinas y por lo tanto se promueva el crecimiento celular.

Activación por auxinas de protón ATPasas del plasmolema

Las protón ATPasas tienen un dominio inhibitorio y un sitio regulador. La unión en ese sitio de una proteína efectora de auxina (ABP, auxin binding proteins) modifica las protón ATPasas activándolas o inhibiéndolas. Cada ABP puede unirse con varias auxinas. La unión con unas pocas moléculas de auxina hace que la estructura de la ABP adopte cada vez conformaciones más activas y hace que en unión con las protón-ATPasas éstas cada vez se activen más.

Si se unen ya demasiadas auxinas a las ABP (a concentraciones muy grandes), esto induce un cambio conformacional inactivante y en resultado la protón ATPasa vuelve a su conformación inhibida y por lo

tanto no se acidifica el medio de la misma forma, etc.

Mediante otras ABP las auxinas pueden activar cascadas de señales que terminan induciendo la expresión de los genes de la protón ATPasa. Además de activar a la enzima por otras segundas rutas de transcripción, se activa entonces la síntesis de bombas y hay más bombas protónicas en membrana por efecto de las auxinas. Hay más proteína, más ABPs, más protón-ATPasas, etc.

La pared celular se ablanda debido a la activación de unas proteínas del apoplasto llamadas expansinas. Esas expansinas activadas cortan los residuos mediante la XETransferasa y finalmente se relaja y ablanda la pared celular. Como la vacuola está muy turgente eso hace que la célula aumente de tamaño debido a la disminución de la tensión del apoplasto. En resumen, la célula aumenta de tamaño y ahora una vez la presión ya se equilibró, la pared celular retoma su estabilidad original.

Efectos y regulación sobre el ciclo celular – Regulación de la mitosis

Algunos de los reguladores intrínsecos del ciclo celular (ciclinas, CDKs) son a su vez regulados por distintas hormonas y otras cosas más.

Las auxinas fundamentalmente (por una ruta de segundos mensajeros mediada por ABPs, etc. similar a la que produce la activación del promotor para los genes de bombas protón-ATPasas) modulan los niveles de ciclinas. De hecho, los niveles de división celular en los meristemos dependen de auxinas (aunque también de las citoquininas). Realmente las auxinas son las implicadas en la activación de la síntesis celular de todas estas proteínas que son reguladoras del ciclo celular.

Las citoquininas son las que están más implicadas en la regulación del ciclo celular en vegetales. Las citoquininas se encargan de activar algunas CDKs en concreto. Inducen la activación de CDKs. La iniciación del ciclo celular realmente depende de las dos.

En los meristemos, las auxinas inducen el aumento de la actividad mitótica y hace que la planta crezca más ahora por crecimiento del número celular (más que del volumen).

Distribución de auxinas durante la embriogénesis

En la determinación de los distintos tipos de tejido en el embrión parece que son muy importantes. El cambio en las distintas fases viene dado por un cambio en los transportadores de auxinas. Se concentran así más auxinas en determinadas células del embrión durante su desarrollo y permite así el crecimiento en ejes concretos dándose la determinación de los ejes del organismo, y la morfología de los primeros estadios del embrión (embrión de 2 células, embrión globular, embrión en forma de corazón, embrión en forma de torpedo).

Fundamentalmente debido a la regulación materna del desarrollo en las primeras etapas, se induce el transporte de auxinas hacia las partes apicales (hacia las células apicales del proembrión de 2 células). Eso hace que se divida más la parte apical del protoembrión y por lo tanto se da la forma globular de la zona superior. Por el contrario, la hipófisis (la que origina la raíz) y el suspensor mantienen una forma alargada en estas primeras etapas.

Una vez que las zonas apicales (tallo fundamentalmente) están desarrolladas, posteriormente ya sí se inducen divisiones celulares en el meristemo apical de la raíz gracias a que ahora ya las auxinas serán transportadas hacia la zona basal.

Se han hecho experimentos marcando con proteínas fluorescentes a los transportadores PIN7 (los más implicados en las primeras etapas del desarrollo) y PIN4 (los más implicados en el transporte basípeto). Se ve

que en las primeras etapas se expresan más los PIN7 que llevan a que las auxinas vayan hacia el tallo en las primeras etapas. Luego, en etapas más avanzadas, se expresan los PIN4 que compiten contra los PIN7 y como son más afines por las auxinas les ganan y hacen que el transporte ahora se dirija hacia la zona basal.

También se han hecho experimentos con proteínas fluorescentes marcando proteínas relacionadas con auxinas (ABPs, etc.).

Inducción de raíces laterales y adventicias

Realmente las auxinas inhiben en concentraciones normales la elongación vertical radicular (inhiben el aumento del volumen y elongación de la raíz primaria). Pero en concentraciones normales llegan al periciclo vía estela. Se transportan por el floema en forma conjugada e inactivas. Esto no por transporte polar sino por transporte floémico en forma inactiva. Estimulan el periciclo. ALF4 y ALF3 son activados y así inician la formación de raíces laterales y permiten que se mantenga el crecimiento.

Las cascadas de señalización son a nivel citoplásmico y nuclear (mediado con ABPs que se dirigen al núcleo y estimulan factores de transcripción, etc. como siempre).

Inducción de dominancia apical

En los nodos hay yemas axilares que darían lugar a ramas. Pero siempre hay una dominancia apical (crece más el meristemo apical del tallo que los meristemos axilares). Esa dominancia depende de auxinas. Si se corta en una planta el meristemo apical del tallo se desarrollan más las ramas (yemas axilares) inmediatamente inferiores al meristemo apical del tallo. Ahora bien, si a esa misma planta que se le ha cortado el meristemo apical del tallo se le aplica una caperuza con auxinas (un algodoncito o un bloqucito de agar con IAA), se inhibe el desarrollo de yemas laterales.

Crecimiento del fruto mediado por auxinas de la semilla (aquenos – fresas)

Los achenos son semillas que están metidas en la carnosidad de la placenta+carpelo que forma como una matriz que carga azúcares, etc. Una aplicación comercial es conseguir desarrollo de frutos sin semillas. Pero se ve al experimentar que los frutos no engordan. Eso está dado porque las auxinas son necesarias para el crecimiento de la carnosidad del fruto. Son secretadas por las mismas semillas para que el fruto crezca.

La solución en agricultura es que se le aplican auxinas artificiales a estos frutos sin semillas para que se puedan obtener ahora sí esos frutos sin semillas pero que crecerán casi normalmente.

Inducción de la diferenciación de tejido vascular

Si se produce un corte y una herida en una planta que interrumpa el curso de un haz vascular se evidencia que la planta puede diferenciar nuevo tejido vascular que rodea la herida y permite reestablecer el flujo floémico-xilémico. Eso depende de la concentración de IAA que le llegue al tejido circundante de la herida.

En experimentos se obtienen plantas y se las crece con un corte y se ve que no crecen mucho. Si se ponen bloqucitos de IAA se ve que el tejido vascular forma bypasses para reestablecer el circuito.

TEMA 22 – MOVIMIENTOS DE LAS PLANTAS

Las plantas en su mayor parte no tienen movimientos de desplazamiento. Muchas de sus características fisiológicas dependen de esta inevitable condición.

Sin embargo sí que hay movimientos muchos de ellos imperceptibles a la visualización del ojo humano y de

los cuales dependen muchas cosas en las plantas.

Existen dos tipos:

- tropismos
- nastias

La diferencia es que los tropismos implican crecimiento direccional de ciertas partes de la planta mientras que las nastias implican movimiento normalmente por cambios de turgencia y que son adireccionales.

TROPISMOS

El crecimiento direccional quiere decir que el movimiento depende de que un órgano crezca más que otro. Eso hace que el órgano crezca en una dirección diferente con respecto al resto de la planta.

Los tropismos y las nastias responden a las señales ambientales mediante receptores y vías de señalización celular.

Pero el crecimiento direccional tendrá diferente sentido y eso depende de la señal. Podemos encontrar tropismos positivos (HACIA LA SEÑAL QUE LO GENERA), negativos (EN CONTRA DE LA SEÑAL QUE LO GENERA) y atropismos (NO TIENEN TROPISMOS).

A su vez, los tropismos pueden ser clasificados según la dirección del crecimiento del órgano en el que se genera el tropismo. Puede haber tropismo en paralelo (ortotropismo), tropismo en ángulo (plagiotropismo) o tropismo perpendicular (diotropismo). El ejemplo más clásico es el del gravitropismo. La raíz y el tallo tienen ortogravitropismo (la una positivo y el otro negativo). Las raíces laterales crecen en un ángulo y son plagiogravitrópicas. Los rizomas de las zarzas por ejemplo crecen perpendiculares (rastreado el suelo) y serán diagravitrópicos.

Fototropismo

Es el ejemplo que vimos en el tema 17 de las auxinas. Se debe al transporte lateral de auxinas.

El fototropismo negativo de la raíz se veía en experimentos con cultivos hidropónicos de plantas. Al poner luz dirigida se veía como la raíz crecía en sentido opuesto a la luz y se dirige en contra. Mientras tanto el tallo hacia lo opuesto.

Gravitropismo

Vimos que se debía a la existencia de unos sensores llamados estatolitos que están dentro de unas cuantas células llamadas estatocitos. Esos estatocitos del tallo (algunas células parenquimáticas del córtex especialmente diferenciadas) y la raíz. Los estatolitos son amiloplastos especiales muy gordos. Están libres en el citoplasma y no anclados por el citoesqueleto como otros orgánulos celulares de manera que si la célula cambia de posición éstos bailan. En algunas algas los estatolitos son cristales de bario (Ba) como en *Cara*.

Si tenemos una planta en posición vertical los estatolitos están presionando la base de la célula. Presionan al retículo endoplasmático y esa presión incide en el transporte polar de auxinas. Cuando la planta está en vertical, a ambos lados de la planta la presión será la misma. En consecuencia, el transporte de auxina será el mismo en un lado que en el otro de las células (debido a la presión uniforme). Eso hará que el crecimiento en cada lado de la planta sea el mismo y la planta no se doble. Así el tallo crece hacia arriba y el tallo hacia abajo.

Si ponemos la planta en posición horizontal, los estatolitos caen hacia uno de los lados de las células y recae el peso todo sobre un lado. La presión desigual sobre el retículo endoplasmático hará que se presione sobre todo uno de los lados en todos estos estatocitos. Eso hará que las auxinas se transporten fundamentalmente hacia uno de los laterales de la planta (el lateral presionado por estatolitos). Las auxinas se transportarán hacia ese lado y el efecto será diferente en la raíz que en el tallo. En la raíz lógicamente, como las auxinas tienen un efecto inhibitor, crecerá más el lado no presionado y por lo tanto se curvará la raíz hacia abajo. En el tallo lógicamente crecerán más las del lado presionado (las que reciben las auxinas) y por lo tanto se curva el tallo hacia arriba.

El sensor de gravedad de la raíz se encuentra en la caliptra

En el tallo no están muy estudiado y no se conoce un órgano definido para la respuesta gravitropica. Las células están más o menos desorganizadas en el parénquima, etc. Pero en la raíz hace ya algunos años se demostró que la gravitropía estaba precisamente en la caliptra. Una raíz con caliptra tiene ortogravitropismo positivo, pero si le quitamos la caliptra hay ortogravitropismo positivo. Sin embargo, en posición horizontal, la raíz con caliptra tiene ortogravitropismo positivo mientras que la raíz sin caliptra es a gravitropica y en posición horizontal sigue creciendo en dirección horizontal. De ahí se intuye que el sensor está en la caliptra.

En posición horizontal uno puede convertir una raíz en un tallo y hacer que tenga ortogravitropismo negativo si dejamos la mitad superior del ápice radicular con caliptra y la mitad sin caliptra. Si hacemos al revés, solo con la mitad de caliptra en la parte inferior, basta para que tenga ortogravitropismo positivo.

La caliptra permite que parte de las auxinas que llegan a la raíz en forma conjugadas por transporte a través de la estela sean redistribuidas en forma activa por transporte dirigido a los tejidos periféricos de la raíz en la zona de elongación.

En el modelo las auxinas llegan a las células de la caliptra. Algunas tienen esos estatolitos y son estatocitos. Cuando la planta está en vertical, esos estatolitos presionan por igual a ambas partes y la cantidad de IAA que se mandan desde la caliptra hacia la periferia será igual. Así la zona de elongación crecerá equitativamente por los dos lados.

Si le quitáramos media caliptra, la zona de elongación de la mitad con caliptra recibirá IAA activo (que es inhibitor en raíz) y por lo tanto se elongará más la otra mitad y la raíz crecerá con ortogravitropismo negativo.

Implicación del Calcio en el gravitropismo

El EGTA es un quelante (un secuestrador) de calcio. Quita normalmente cationicos divalentes. El EGTA le quitará Calcio a las células y dejará la caliptra sin calcio.

En el experimento, se ponen raíces en horizontal con caliptra completa y con bloques de agar. Se ponen el ápice de la raíz en contacto con un bloque de agar que tiene cosas.

En el primer caso se pone agar con EGTA y se comprueba que la raíz crece agravitropicamente.

En el segundo caso se pone agar con EGTA y luego se pone agar con Calcio. Se comprueba que la raíz crece con gravitropismo positivo (la raíz se curva hacia abajo – igual que en condiciones normales). Teniendo en cuenta de que eso depende del transporte de auxinas se puede intuir que el calcio tiene que ver con ese transporte de auxinas.

En el tercer caso se pone el bloque de agar con calcio solo en el lado superior de la raíz. La raíz se curva con gravitropismo positivo.

En el cuarto caso se pone el bloque de agar con EGTA solo en el lado inferior de la raíz. Se comprueba que la raíz se curva con gravitropismo negativo hacia abajo.

Estatocitos: transformación del estímulo mecánico en químico en los estatocitos

En los últimos años se han hecho experimentos con regulación génica para comprobar esto. Si se ve como se mueve la expresión de genes dentro de las células de la caliptra uno puede llegar a un modelo molecular hipotético. Se ha confirmado un modelo el año pasado.

Cuando los amiloplastos presionan el retículo endoplasmático se abren poros que liberan calcio. Se activa la síntesis de una calmodulina. El calcio se une a esa calmodulina y la activa. La calmodulina activada por calcio induce una ruta de transducción de señales. El resultado es dos efectos fundamentalmente. Uno es que induce la colocación de transportadores de auxinas en la base de la célula. El IAA es transportado hacia la célula de abajo. Si estamos en raíz lógicamente se inhibe el crecimiento en las células de abajo. Esa misma cascada se bifurca y como otro resultado induce la colocación y activación de bombas de calcio en la base de la célula. O sea que la posición vertical hace que se mande calcio y auxinas a las células de abajo. El calcio en las células de abajo entra y por lo tanto la señal de calmodulina se ve amplificada (aún cuando las células de debajo del estatocito no tengan amiloplastos). En resumen las IAA van siendo transportadas hacia abajo.

ES MUY POSIBLE QUE ESTA PREGUNTA CAIGA EN EL EXAMEN (EL TEMA DEL GRAVITROPISMO)

Hay otros tipos de tropismos

El tigmotropismo se da por una señal de presión (seismotropismo). También hay otros tropismos eléctricos por ejemplo. Todos los tropismos están basados en una señal primaria que induce un cambio en el transporte de auxinas. Ese cambio en el transporte se traduce en un crecimiento diferencial de ciertas partes de los órganos.

NASTIAS

El mecanismo es siempre el mismo. Consiste en un cambio de turgencia celular. Las células turgentes tiran del órgano mientras que las células plasmolizadas promueven que el órgano se pliegue.

Las nictinastias dependen de los ritmos circadianos como ya vimos en su día. Se llaman también epinastias porque se producen en las hojas (zonas periféricas de la planta). Durante la noche, para no perder calor interno pliegan la noche. Las abren de día para hacer fotosíntesis.

Un ejemplo de nastias que son las seismonastias o tigonastias. Las más características son las de las mimosas. El viento (que es una típica fuerza mecánica que estimula las mimosas) hace que las mimosas cierren sus hojas.

Al tocar solo una pinna de la hoja con la punta de un lápiz se ve que se cierra esa pinna y al tiempo toda la hoja se cierra.

Lo que sucede es que unas células llamadas del pulvínulo sufren flujos iónicos en presencia del estímulo mecánico. Al tocar las hojas, las células pulvinulares del haz manda iones hacia el pulvínulo del envés. Ese pulvínulo dorsal aumenta en turgencia y por lo tanto la hoja se pliega hacia arriba.

Hay unas moléculas llamadas turgorinas que parecen ser los neurotransmisores del estímulo para producir epinastia en todas las hojas vecinas.

En el caso de las epinastias que dependen de luz tenemos nictinastias (que no son de las mimosas). En presencia de luz, la zona dorsal (el envés) se pone turgente (zona extensora en turgencia) y la zona ventral (el haz) se pone plasmolítica (zona flexora en turgencia). Así en presencia de luz la hoja se extiende. En oscuridad pasa lo opuesto.

TEMA 18 – GIBERELINAS

Deben su nombre al hongo *Giberella fujikuroi*, un hongo que provoca en el arroz la enfermedad de la planta loca (crecimiento excesivo del tallo del arroz – no llega a generar espigas y por lo tanto no se reproducen). Originalmente es un descubrimiento japonés y luego el tema pasa a los americanos. A partir de ahí se descubre que las moléculas que el hongo produce y que causan el crecimiento desmesurado del tallo son todas derivadas de una molécula llamada **kaureno**, una molécula orgánica formada por varios anillos carbonados. A partir del kaureno se forma el ent-Giberelano. Las moléculas derivadas del ent-Giberelano forman (unidas a grupos ácidos) los ácidos Giberélicos (GAs) o Giberelinas.

A todas las giberelinas se las denomina GA1, GA2, etc. El GA3 es el ácido giberélico propiamente dicho. Están numeradas por orden de descubrimiento. Hay algunas decenas.

Solo unas poquitas de esas giberelinas son activas como hormonas (muy pocas de forma permanente). Algunas son necesarias para el crecimiento de las plantas.

Variedades enanas de muchas plantas se deben a fallos en la síntesis de giberelinas.

A partir de moléculas de isoprenos las plantas sintetizan a los terpenos y terpenoides, moléculas de las que se derivan, entre otras cosas, los pigmentos. El primer terpeno de la vía es el ITP, el isopenteniliterpeno. A partir de él se forma el Geranil-G-difosfato (la molécula responsable del aroma de los geranios), un compuesto de 10 carbonos. La vía continúa en el proplastidio y es en él donde se sintetiza el kaureno, un derivado del ent-Copalil-PP que viene de la ruta de estos terpenos. El Kaureno sale y es modificado en el retículo endoplásmico y posteriormente en el citosol para formar la GA3 final.

Mediante diversas oxidasas y otras enzimas isomerizantes, etc. se pueden formar el resto de giberelinas.

Las giberelinas se inactivan por hidroxilación de uno de los carbonos de un anillo y forman las GAs inactivas. Una vez inactiva es susceptible de degradación enzimática.

Síntesis en tejidos apicales

Las giberelinas se sintetizan en tejidos apicales fundamentalmente. Las hojas que están empezando a brotar tienen intensa síntesis de giberelinas. Las hojas ya más desarrolladas tienen una síntesis mucho menos intensa hasta llegar a las hojas basales que ya maduras no sintetizan nada de GAs.

Mucho de la regulación de la actividad de GAs se produce a nivel de regulación de la síntesis, aunque también está la inactivación por hidroxilación como vimos antes, o por conjugación (como vimos que sucedía en la mayor parte de hormonas vegetales) con azúcares en este caso. Además lógicamente el transporte repleta la cantidad de GA activa en la célula.

Los ritmos circadianos y la temperatura son dos factores ambientales que regulan en concreto la síntesis de giberelina. Los días largos y fríos hace que se active la síntesis de giberelinas.

El efecto más típico – la inducción del crecimiento en tallo

Sobre una caña enana se hace un experimento. Se ponen diferentes tiestos con la planta. En el primero una

variedad enana. En el segundo una planta enana también pero con aplicación de giberelinas artificialmente. En el tercero una planta normal y en el cuarto una planta normal con giberelinas. La enana sin GA tiene una longitud anormalmente pequeña. La enana con GA crece hasta una longitud casi normal. La planta normal con GA externa sin embargo no crece en longitud mucho más que la planta normal sin GA. Eso es debido a que hay una regulación interna por algún tipo de mecanismo de loop de retroalimentación negativa que inhibe la síntesis cuando las concentraciones de GA son suficientemente altas.

¿Pero entonces, cómo hacía el hongo *Giberella* para hacer crecer más el arroz? Simple. Realmente no producía él mismo las GAs sino que regulaba la producción interna de la planta.

El crecimiento depende de la dosis endógena de GAs

La capacidad de regular internamente la concentración de GAs en la planta es suficiente para lograr que la planta crezca correctamente. Por ello, al meter GAs exógenas en una planta con regulación normal (no mutada) no hay un efecto añadido. Existen plantas enanas con una concentración interna de GAs muy inferior a las de una planta normal. Esas plantas sí admiten el aporte de GAs externas y crecerá tanto como una planta normal. Existen además variedades semienanas que son un poco más grandes que las enanas y que admiten menos dosis que las enanas para llegar al desarrollo en longitud normal.

Básicamente la explicación genética en la planta del guisante depende de un gen *Le*. Hay una serie alélica de tres alelos que regulan la producción de GAs endógena. Existe el alelo *Le* (wild-type) que es dominante y produce el fenotipo alto normal. Luego está el alelo *le1* que es recesivo frente a *Le*, pero que es dominante frente a *le2* y produce el fenotipo semienano en dominancia u homocigosis. El alelo *le2* es recesivo absoluto y produce el fenotipo enano en homocigosis.

Regulación de la síntesis por el fotoperíodo

Uno de los factores ambientales que regulan la síntesis es el fotoperíodo.

Se hace un experimento midiendo la producción de giberelinas interna en diferentes plantas que se crecen en ambientes de diferente luminosidad. Cuando una planta crece en oscuridad tiene una cierta concentración normal de giberelina. Cuando esa planta que había sido crecida en luz se la pasa a luz, en unas pocas horas degrada la GA y por lo tanto su concentración hace un declive importante. Hasta que no pasan 24 horas de luz no se reinicia la síntesis de novo de GAs. Recién luego de 120 horas de luz se comprueba que la síntesis de GA ha recuperado los niveles iniciales.

Días largos (LD) aumentan los niveles de giberelinas endógenas y crecimiento de la planta

Hay ciertas plantas que debido a su forma de regular la síntesis de giberelinas crecen de forma diferente en otoño y en primavera-verano. Estas plantas, como la espinaca o la misma *Arabidopsis*, se llaman de DIA LARGO (crecen más en primavera-verano cuando los días tienen más horas de luz).

Ese efecto depende fundamentalmente de giberelinas (aunque la floración estacional depende ya de otras cositas también).

Se hace un experimento con espinaca. Se pone a crecer, en primavera, plantas de espinaca con un inhibidor de la síntesis de giberelinas como es AMO. El fenotipo que desarrollan es el mismo que el que tienen normalmente en invierno-otoño, enano. Si se le aplica luego la GA3 de forma externa la planta crece de forma normal como lo haría en una estación de días largos normalmente.

Simulación del efecto de día largo en la división celular y orientación del plano de división del

meristemo del tallo

Crece más el tallo debido a un aumento del número de divisiones horizontales cuando la planta es criada en períodos de día largo. Pero si crecemos en fotoperíodos cortos con giberelinas artificiales, el tallo sufre el mismo tipo de divisiones que si el fotoperíodo fuera largo.

Esto mismo regulará (como veremos en temas posteriores) la floración.

Auxinas inducen síntesis de GAs

Las auxinas parecen inducir la síntesis de giberelinas e inhiben la degradación de las mismas. El experimento es similar a los que veíamos para los efectos de las auxinas. Se pone una planta intacta que tiene un nivel determinado de GAs. Una planta decapitada (con el tipo del tallo cortado) presenta lógicamente menos IAA (se sintetizaban en el ápice del tallo) y presenta menos GAs. Cuando añadimos un taquito con IAA artificialmente a la planta decapitada el nivel de GAs se recupera. O sea que otro efecto importante de las auxinas es inducir la síntesis de GAs e inducir la elongación del tallo por división celular (y no solo por su efecto directo en el aumento del crecimiento del volumen celular).

(EL TEMA DE LOS EFECTOS DE LAS AUXINAS SOBRE EL CRECIMIENTO DE LA CELULA, INCLUYENDO ESTO SOBRE GAs TAMBIEN, VA A SER PREGUNTA CLAVE EN EL EXAMEN DE JUNIO)

Elongación del tallo por activación de las endotransglicolasas de la pared celular

Las expansinas relajaban los enlaces de hidrógeno entre el xiloglucano (una hemicelulosa) y la celulosa cuando el pH se acidificaba produciendo que las hemicelulosas se soltaran mucho más entre sí.

Luego la XET, que también se activaba en pH ácido, producía la endotransglicolación de los xiloglucanos (ruptura y unión de otros fragmentos de hemicelulosas). Luego la misma XET tomaba un fragmento de hemicelulosa de nueva síntesis y lo pegaba entre los dos extremos recién abiertos dejando ahora mucho más lugar entre las diversas fibras de celulosa.

Las auxinas de forma directa e indirecta incidían en el crecimiento de la pared: de forma directa porque reducían el pH y de forma indirecta por aumentar la síntesis de GA (lo que a su vez producía la activación de la XET).

No solo aumentan el número de mitosis en el tallo sino que también producen un aumento de la elongación celular – análisis de internados en presencia o ausencia de giberelinas exógenas

Se mide el crecimiento de los internodos en un trozo de tallo desde que es escindido de la planta con respecto al tiempo. Se ve que hay una diferencia brutal entre el experimento sin GA y el experimento con GA. El efecto de la GA es sobre todo la elongación de los internodos.

Las GAs también estimulan la división celular en el meristemo apical del tallo

Las giberelinas aceleran la transición entre la etapa S y la etapa M del ciclo celular. Es decir que acortan la fase G2 fundamentalmente. No regulan kinasas ni CDCs ni nada raro. Lo que hacen es acortar la fase G2 acelerando en general el fisio–metabolismo celular.

La señal de GAs induce la degradación de represores transcripcionales inactivándolos a través de su dominio regulador

Algún intermediario de la cascada penetra activo en el núcleo y se une a una proteína reguladora de la transcripción en su dominio regulador. Al unirse induce un cambio conformacional que produce que el dominio represor (el que se ocupa de unirse al DNA e inhibir la transcripción) se inactive. Lógicamente el represor pasa a forma inactiva. En su forma inactiva el represor es exportado y se produce su degradación en el citoplasma.

O sea que las GAs no activan factores de transcripción de genes sino que inactivan represores de transcripción. Es decir que consiguen activación de la transcripción pero de una forma indirecta.

Esto le ocurre a todos los genes cuya expresión está regulada por GAs.

y esa misma degradación de represores induce el crecimiento!

En su forma activa el represor inhibe la expresión de genes estimuladores del crecimiento. Cuando hay GA, los represores se degradan, los genes aumentan su expresión y la planta crece.

Mediante experimentos de manipulación se pueden obtener plantas que tengan represores con dominio regulador mutado. Lógicamente en esas plantas no puede haber crecimiento aún en presencia de GAs.

Cuando se consiguen mutantes para ese represor que tienen el dominio de represión mutado la planta crece tanto si hay como si no hay presencia de GAs gracias a la activación constante sin represión de la expresión de genes de elongación y crecimiento celular.

La señal de GAs también inhibe la transcripción de represores transcripcionales y de sus activadores

Las GAs no solamente inactivan represores sino que también inactivan a los activadores de la transcripción de los represores transcripcionales de genes (como los de XET en concreto).

En concreto un intermediario de la cascada de señal de GA, además de inactivar los represores de genes de crecimiento (como GAI o RGA), inactiva el factor SPY (estimulador de represores) que es el que se encarga de activar los represores GAI o RGA de la planta

Algunas de esas proteínas activadoras de los represores de la transcripción de genes inducibles por GAs son Glucotransferasas o glucosil transferasas (por ejemplo SPY) que meten un glucósido en el residuo NAcetilGlucosamina de los represores.

Lógicamente en presencia de GA, el receptor de GA en MP recibe la hormona e inicia la cascada que inhibe la actividad glucosiltransferasa de SPY además de producir los metabolitos que se unirán a los dominios reguladores de los represores GAI y RGA. Al inactivarse el tema, se activa la transcripción de los genes inducibles por GA

En ausencia de GA, el receptor de GA de la MP no recibe señal y por lo tanto no se amplifica la cascada de metabolitos secundarios. En resumen, SPY se mantiene activo, viaja al núcleo y activa sin problemas a los represores RGA y GAI los cuales reprimirán la transcripción de los genes inducibles por GA.

Germinación de semillaS: las GAs del embrión inducen la producción de alfa-amilasa en la aleurona

Es el efecto más típico, más conocido y más estudiado de las giberelinas: la inducción de la germinación de semillas estudiada en los cereales.

El efecto también ocurre en dicotiledóneas. Pero en los cereales, una de las primeras señales de germinación es la inducción de las hidrolasas (alfa-amilasa) que movilizan las reservas nutritivas de la semilla. En el caso

de los cereales la reserva está en el endospermo (un tejido triploide que es sustituido por los cotiledones que son los que son tejidos de reserva en las dicotiledóneas). El almidón que hay en él es lo que alimentará al embrión al principio del desarrollo.

El endospermo tiene una testa pericárpica externa y luego tiene una monocapa celular denominada la capa de aleurona donde están las células aleurónicas. Ya por dentro está el tejido de reserva del endospermo.

El escutelo o escudete (el cotiledón reducido) es un tejido de transporte de sustancias entre el endospermo y el embrión. Cuando germina la cebada, la glucosa y los aa del endospermo viajan a través del escutelo hacia el embrión. Pero antes de que eso ocurra, primero el embrión, un tejido que en cuanto se hidrata ya comienza a vivir, debe sintetizar giberelinas. Esos genes son maternos y están almacenados en el embrión en forma de mRNAs. Las giberelinas maternas del embrión viajan también vía escutelo hacia la capa de aleurona. Allí activarán también por inactivación de represores, la síntesis de enzimas hidrolizantes de almidón, proteínas, etc. que serán las que produzcan los solutos del endospermo. De esas enzimas, la más producida es la alfa-amilasa (la primera que se activa y la más activa).

El experimento será tomar semillas completas y embeberlas en agua y medir la actividad amilasa (la degradación de almidón). En otras semillas disectaremos y quitaremos el embrión. Esas semillas no tendrán actividad alfa-amilasa (y por lo tanto el almidón no se degradará). En algunas de esas pondremos giberelinas y veremos que aún sin embrión la actividad alfa-amilasa aumentará y por lo tanto se degradará el almidón del endospermo.

Inducción de la síntesis de alfa-amilasa en la aleurona

Mediremos la tasa de síntesis de alfa-amilasa con respecto a la exposición a GA3. En una segunda parte se ponen GA pero se inhibe con un antibiótico la síntesis de proteínas. Se ve que con el antibiótico no se produce alfa-amilasa. Lógicamente la deducción será que la GA activa la síntesis de mRNA de la alfa-amilasa y que por lo tanto, con el antibiótico en el medio, la alfa-amilasa no se puede secretar en grandes cantidades.

Otra forma de comprobar a qué nivel actúa la GA es medir también la cantidad de mRNA por RPTFR (ver la síntesis de mRNA traducible dependiendo de la exposición de GA3).

Inducción de posibles intermediarios en la ruta de transducción en la aleurona

Se puede comprobar la respuesta a la presencia de GA después de tratamiento con GA. Se mide el aumento de ciertos metabolitos luego del tratamiento. Se mide el Calcio, el pH, la actividad CaM (calmodulina), la cantidad de cGMP, la cantidad de GA-MYB, la actividad alfa-amilasa, la actividad RNAasa y DNAasa. Se ve que todas estas cosas van aumentando y haciendo picos. Si se mide se puede ir diseñando una ruta de por donde va la transducción desde el receptor de MP de la GA hasta la activación final de los genes.

En base a esto se puede elaborar un modelo que ya conocemos y que vimos en el gravitropismo. El modelo combina dos cosas, el efecto del calcio y el efecto de la inactivación de represores de la transcripción.

El receptor de GA activa una proteína G que da lugar a dos segundos mensajeros mediante una cascada corta. Está la Ca²⁺ independen-pathway y la Ca²⁺ dependent-pathway.

Hipótesis 1: La vía del calcio iría por activación de calmodulinas que serían las que inducirían la fusión en MP de vesículas que tienen concentrada la alfa-amilasa. Recordamos el geotropismo que era similar, los transportadores de auxinas estaban secuestrados en vesículas y las calmodulinas activadas producían su fusión. Esto es similar.

Hipótesis 2: La vía del cGMP, la vía independiente de calcio sería la que como resultado produciría un

segundo transmisor de GA activado que se uniría a un represor produciendo su degradación y la activación de uno de los genes GA-inducible. Pero ese gen no da directamente a la alfa-amilasa. Ese gen realmente da lugar a una proteína promotora de la transcripción que vuelve a entrar al núcleo y que es la que realmente activa al gen de la alfa-amilasa (al unirse a su promotor y promover la transcripción del mRNA de la enzima).

El modelo (ambas hipótesis) todavía es válido, aunque verdaderamente es muy generalizado y no se mete en nada de una forma clara.

Ambas rutas lógicamente cooperan entre sí para dar lugar a la activación final y la secreción de las cantidades necesarias de alfa-amilasa.

Inducción de la floración

El hecho de que una verdura se espigue depende también de la cantidad de GAs. Las plantas en roseta como el repollo son plantas de día largo y en verano espigan (en vez de crecer en roseta crecen a lo largo y terminan floreciendo). En días cortos, por aplicación de GAs se puede inducir el crecimiento en espiga y la floración en otoño, al revés de lo que debería ser.

Determinación del sexo

En algunas plantas que son dioicas como el maíz el sexo se determina por la.

Las espigas son flores con pistilos (son femeninas). Un mutante sin giberelinas en mazorca desarrolla flores estaminadas (con estambres y anteras). Si a ese mutante se le aplican GAs las mazorcas se convierten en mazorcas femeninas tal cual las conocemos.

Inducción del crecimiento de frutos

La GA3 produce el engordamiento de frutos (aumenta la cantidad de agua en ellos, por lo que se hacen más insípidos). En vez de crecer en racimos, crecen mucho más gordamente. Se sospecha que es un efecto indirecto de la elongación de la rama floral. Si se aumenta la elongación de la branca, el racimo es más grande y hay más espacio para que la fruta engorde. Se cree entonces que el efecto es sobre la branca y no directamente sobre cada fruto.

TEMA 19 – LAS CITOQUININAS

Son unas moléculas que solo se comprueba que las sintetizan plantas de laboratorio. En la naturaleza no se ven plantas que tengan los genes que les permitan sintetizarlas. Todavía no está demostrado ni siquiera que las plantas en sí las sinteticen (tal vez depende de otros organismos del ambiente que se las ceden).

Activan el ciclo celular y regulan el ciclo celular de las plantas.

Son todas ellas derivadas de purinas. La purina mayoritaria es la adenina en los seres vivos y son derivados de la base nitrogenada de la adenina todos ellos.

La historia comienza en los años 50. Los laboratorios biológicos del mundo tratan en esa época de hacer cultivos de tejidos celulares animales. Los cultivos animales se consiguen pronto. Los vegetales son más complicados y es chungo que las células se dividan in Vitro como las animales. Se intenta buscar algún tipo de moléculas que active mitosis en células vegetales aisladas. La primera que se descubre es la cinetina o kinetina que se descubre en esperma de salmón (una fuente de factores genéticos de crecimiento). Se inyectaba esperma de salmón estéril en células vegetales y se ve proliferación. Se comprueba que había en el cultivo una molécula que comenzaba a aparecer, se aislaba y se analizaba. Se encuentra la primera

citoquinina.

La zeatina (una de las más abundantes) y la isopentenil–adenina son todas posteriores. Otras son más fáciles de sintetizar in Vitro (la BAP, Benzilaminopurina en concreto se usa para cultivos vegetales frecuentemente).

Las citoquininas se diferencian todas ellas en qué sustituyente tengan en el grupo amino no–cíclico (que tienen todas las purinas en la posición 1). Dependiendo de cuál sea tendrán diferentes propiedades y se clasifican así en aromáticas (si tienen grupos aromáticos como la BAP) y alifáticas, etc.

El efecto de la estimulación del crecimiento

Lo que sucede es que se inyectan citoquininas en una planta. No tienen un efecto sobre la elongación celular (como es el caso de Giberelinas y Auxinas que fundamentalmente funcionan regulando la extensión en longitud de las células, aunque como ya sabemos que actúan regulando algunas fases del ciclo celular). Solo está comprobado su efecto clave sobre la tasa de división celular.

Las citoquininas pueden estar en forma conjugada para inactivarse como muchas hormonas

Formas conjugadas con ribosas e isorribosas (unos azúcares) de las citoquininas son inactivas. En esa forma se transportan vía xilema–floema. Pero en esa forma tienen una pinta de nucleósidos acojonante. Eso llevó a investigación sobre su origen y su fuente (para intentar elucidar su vía de síntesis)

Se ha visto que en algunas plantas, algunas bases raras de los tRNA (típicas en todos los tRNA) son de hecho citoquininas! Pero el problema es que los tRNA son muy estables y no suelen ser degradables. Esto ha hecho que la hipótesis sobre la vía de síntesis

Se conocer muchas rutas de síntesis NO EN PLANTAS – sino en hongos y bacterias.

Ciertos Hongos utilizan la Isopentenil transferasa para ligar un isopentenilo al grupo amino de un adenilato y forman isopentenil–adenilato.

El precursor de todas las citoquininas es el isopentenil–adenilato en bacterias y hongos. A partir de ahí ya se pueden derivar todas las citoquininas. En plantas se conoce que a partir del isopenteno y ATP gracias a una transferasa putativa se puede conseguir una citoquinina. Aunque se conoce todos los genes, en plantas todavía no se ha detectado el gen de la isopentenil transferasa y por lo tanto no se puede conseguir la síntesis.

Hay dos hipótesis sobre eso la primera es que como es difícil conseguir mutantes para genes que no se conocen no se puede encontrar ese gen

La segunda hipótesis es que podría ser que las plantas no las sintetizan sino que son las bacterias quienes se los dan. Se han detectado algunos hongos y algunas bacterias en cultivos estériles de plantas que resisten al autoclavado (y se detectan siempre). Esos microorganismos además se ha detectado que tienen los genes de producción de citoquininas.

Hoy en día solamente se pueden conseguir plantas transgénicas que tengan esas citoquininas mediante *Agrobacterium*. Esa bacteria puede inyectar un plásmido T (tumoral) en plantas y permite transfectar cultivos de plantas. Ese plásmido lleva una parte que se llama T–DNA que se logra integrar en el cromosoma activo de la planta por recombinación. Es DNA bacteriano que logra expresarse en las células vegetales. Tienen genes para la síntesis de auxinas, genes para sintetizar citoquininas (en concreto la isopentenil transferasa), genes para crecimiento tumoral (que pueden mutarse para evitar ese efecto cuando intentamos crecer OMGs) y genes para la síntesis de octopinas (los alimentos para que las bacterias sigan viviendo tranquilamente). La bacteria le da a la planta los genes de síntesis para las dos hormonas que la planta necesita para que la mitosis

crezca brutalmente!

En resumen, todavía no se ha descubierto el gen de la IPT transferasa excepto mediante cultivos celulares transfectados con *Agrobacterium*. Al igual que todavía no se han conseguido cultivos de plantas completamente estériles para demostrar si la planta necesita obligatoriamente a esas bacterias y hongos para tener sus citoquininas.

Degradación vía citocromo oxidasa

Las plantas, todas ellas, sí tienen rutas y enzimas para la transformación, inactivación y degradación de citoquininas. La citoquinin-oxidasa es la enzima que produce la oxidación del enlace separando el isopentenilo del adenilato y degrada la citoquinina.

Consiguiendo plantas mutantes que tengan el gen de la oxidasa inactivo tienen mayores concentraciones de citoquininas y se mantienen más tiempo verde. Eso tiene muchas aplicaciones en jardinería, biotecnología de plantas, etc.

Efectos fisiológicos de las plantas – Inducción de mitosis en meristemo apical del tallo

El efecto fisiológico más importante está en el meristemo apical del tallo. Se ven menos células mitóticas en mutantes que tienen sobreexpresada la citoquinin-oxidasa (que produce degradación de citoquininas). Las silvestres tienen cantidades de oxidasa normales y por lo tanto tienen niveles normales de mitosis. Es decir que activan el ciclo celular. Sin embargo la activación del ciclo celular no es solo debido a citoquininas. De hecho el ciclo celular depende casi equitativamente por un lado de citoquininas y por otro lado de auxinas-giberelinas. Realmente el ciclo depende de la relación Auxinas / Citoquininas que evidentemente es el verdadero factor regulador de las mitosis en los cultivos in Vitro.

Hormonas y regulación del ciclo celular – la síntesis

Las auxinas, como vimos hace ya varios temas, activan la síntesis de las CDKs. No obstante, en la búsqueda en cultivos celulares, en trozos de tejido de tallo y de raíz, añadiendo solo auxinas aquello no proliferaba. Las células no proliferaban como para obtener un cultivo celular bueno. Fue entonces cuando el famoso esperma de salmón determinó que las citoquininas eran importantes también. O sea que para que se dispare la etapa G1 (para que termine correctamente la fase M) se necesitaba que la auxina (que induce la síntesis de CDKs inactivas) y la citoquinina (que inducen fosfatasa que eliminan las fosforilaciones inactivas sobre las CDKs) estuvieran presentes. Funcionando en conjunto permitían que las CDKs se preactivaran correctamente. Luego las CDKs necesitan unirse a la ciclina que sería la que luego permitiera formar los factores de mitosis funcionales (que son los que en ciertas concentraciones en las etapas de checkpoint son los que fosforilarán las proteínas necesarias para que la mitosis progrese y no se quede en stand-by).

Además: Las citoquinas en concreto activan a la ciclina D3 (CYCD3) que es la primera ciclina que activa a la primera y más fundamental cdk (en el checkpoint de M-G1). De ahí viene la historia de que sean absolutamente indispensables en las plantas. Plantas sin citoquininas (que todavía como sabemos no se han conseguido, ni siquiera por sobreexpresión de oxidasa) deberían tener impedido el crecimiento (es por eso que se cree que no se debería poder obtener plantas mutantes sin citoquininas y que EXISTAN!).

La inducción de CYCD3, un gen activador de las CDKs (que a su vez son estimuladas por auxinas)

Una planta normal tratada con auxinas y citoquininas y una planta que tiene auxinas, citoquininas y sobreexpresa la CYCD3 se comportan igualmente. Una planta normal tratada solo con auxinas, sin embargo, no crece lo suficiente como las otras. Pero una planta que sobreexpresa CYCD3 y está tratada con auxinas ya sí puede crecer como normalmente. Es evidente que además de la inducción de la síntesis de CDKs y la

activación de CDKs es necesario que esté sobreexpresado CYCD3 o que se estimule mediante citoquininas.
En resumen:

Auxinas – aumento de la síntesis de CDKs inactivas

Citoquininas – aumento de la síntesis de fosfatasa activadoras de CDKs

Citoquininas – activación de CYCD3 – activación de CDK – mitosis!

Me falta una parte

Caulogénesis y rizogénesis dependiente de auxinas/citoquininas en agallas con T-DNA mutado

La relación Auxina/Citoquinina es muy importante en la morfogénesis. Para la caulogénesis las citoquininas son más importantes. Para la rizogénesis lo son las auxinas.

El T-DNA tiene además de sus genes para crecimiento tumoral y genes para biosíntesis de auxinas, citoquinina y octopinas, una región donde puedo meter transgenes (genes como por ejemplo para modificar la coloración del algodón a color azul). Así se consiguen plantas transgénicas.

En investigación (sobre todo en biotecnología vegetal) se puede estudiar el efecto del transgen específicamente en tallo o raíz.

Para lograr que el gen se exprese fundamentalmente en el tallo se utilizan T-DNAs que tenga delecionados los genes para síntesis de auxinas (de manera que la relación Aux/Cit sea baja y por lo tanto se favorezca la cauloncogénesis).

Para lograr que ese gen se exprese fundamentalmente en raíz se usa T-DNA que tenga delecionados los genes para síntesis de citoquininas.

Es una técnica de ingeniería genética vegetal de las más comunes y deriva de la propiedad de estimular la caulo o rizogénesis de la relación auxina/citoquinina.

Quitándole los genes de crecimiento de tumores se producen aún así mitosis desequilibradamente producto de la estimulación de la síntesis de auxinas y citoquininas producida por el T-DNA. Los tumores generados se dice que son no-diferenciados.

Inducción de escobas de bruja, crecimiento de yemas laterales de abeto por citoquininas procedentes de infección por *Corynebacterium fascians*

La relación auxinas/citoquininas también influye sobre el crecimiento de yemas laterales. Las infecciones del hongo *Corynebacterium fascians* hace que proliferen las citoquininas. Al aumentarse la síntesis de citoquininas se produce un cambio de la relación. Hay muchas más citoquininas y por lo tanto las yemas laterales crecen muchísimo.

En laboratorio se ve en musgos. Se ponen citoquininas en placas con musgos. Proliferan las yemas laterales rápidamente. En vez de ramificaciones se inducen protuberancias.

Supresión de promotores de senescencia foliar – El alargamiento de la edad juvenil de las plantas por la acción de citoquininas

Las citoquininas son opuestas al etileno. Son antisenescentes. Las plantas no codifican para la IPT, eso ya lo

sabemos. Pero existe la posibilidad de retrasar la senescencia mediante aportes externos. Sin embargo, si aportamos citoquininas endógenas (metiendo T–DNA, etc.) entonces sí los efectos son importantes. La senescencia es un proceso absolutamente fisiológico. Hay una edad en la planta en que súbitamente se disparan genes de senescencia. Llega el otoño, se disparan esos genes y la hoja cae. Pero bajo inducción de esos genes se meten los genes para la IPT. Así se logra interrumpir la senescencia justo en el momento de envejecerse.

Esto se hace metiendo un T–DNA que tenga el promotor de senescencia unido a los genes de síntesis de IPT.

El tema es especialmente interesante en tabaco. En muchas plantas más que interesar que se reproduzcan, interesa que tengan las hojas bien grandes. Así el tabaco transgénico tiene esos genes y nunca envejece teniendo las hojas enormes.

Las llamadas green islands son unos parches en hojas senescentes que han sido infectados por hongos que producen citoquininas exógenamente que mantienen suprimidos los genes de senescencia. Así quedan esos parchecitos verdes donde está el hongo.

Se ha visto que las citoquininas en particular evitan la degradación del aparato fotosintético promovido por los genes de senescencia. La hoja se hace heterótrofa y se come sus cloroplastos en el proceso. Las citoquininas permitirían que

Inducción de caracteres del desarrollo en luz

Las citoquininas inducen parte del fenotipo de crecimiento en luz. Las plantas etioladas se caracterizaban por tener un crecimiento en longitud y poco robusto. La aplicación de citoquininas hace que las plantas crezcan más chatas y más robustas. Incluso si el tratamiento se prolonga pueden llegar a desarrollar hojas.

En experimentos se ponen plantas en ausencia de luz y se las crece con citoquininas a diferentes niveles. Las plantas con grandes concentraciones de citoquininas tienen un crecimiento de tipo verde aunque sin cloroplastos debido a que no recibieron luz

Las citoquininas permiten el desarrollo del cloroplasto aún en oscuridad!!

Los cuerpos prolamelares se organizan en membranas, lamellas, que son de tipo estromáticas (sin grana). Si además le agregamos luz, los LHC–antena ya ahora sí se organizan para formar los grana (revisar el semestre pasado – complejos antena). Es decir que el cloroplasto tendría tres estados de desarrollo:

- etioplasto (cuerpos prolamelares)
- cloroplasto sin pigmentos antena – incoloro (cuerpos lamelares – sin grana)
- cloroplasto con pigmentos antena (grana y tilacoides) – solo cuando iluminamos con luz – y no con demasiada!!! Que sino se me desarman las antenas de nuevo!

Estimulación de la expansión de los cotiledones

Movilización de nutrientes

Unos cotiledones son analizados. A uno de ellos en un punto se le aplica un derivado de un aminoácido como es el aminoisobutirato radiactivo (que como tiene un grupo butírico puede atravesar las membranas). Al otro se lo rocía con agua. Se ve que muy poquito del aminobutirato se mueve desde el cotiledón radiactivo hacia el rociado. Luego de mucho mucho tiempo ya sí el aminobutirato radiactivo se distribuye equivalentemente.

Sin embargo, si se enriquece el cotiledón rociado con citoquininas (como la cinetina) se ve que la radiactividad pasa toda desde el cotiledón radiactivo hacia el otro. Es decir que el aminoácido (se supone que junto a otros tantos nutrientes) pasó hacia donde están las citoquininas.

En una prueba control se hace lo mismo pero ahora se rocía con cinetina el cotiledón radiactivo. Lo que se ve es que ahora, ni aún con el paso del tiempo, la radiactividad se queda toda absolutamente en la hoja donde originalmente fue aplicada. Es decir que la cinetina estimularía la movilización de nutrientes específicamente hacia las zonas en que está en mayor concentración!!

El receptor GCR1 de citoquinas

Modelos de sistemas de señalización de dos componentes

El receptor de citoquinas presenta gran homología con los receptores clásicos que funcionan por transmisión de señal por dos componentes. El GCR1 tiene un dominio de autofosforilación citoplásmico. Luego en ese estado activado fosforilan con ese fosfato otras proteínas denominadas reguladoras de la respuesta. Esas son las que inducen la activación de la transcripción. Sin embargo realmente se parece más a un sistema más complejo derivado del anterior. Tiene un llamado repetidor, una proteína intermediaria entre la sensora y la reguladora. La sensora se autofosforila y le pasa el fosfato al relay. Estos sistemas son los más habituales en bacterias (en células procariotas). Los fotorreceptores en las plantas funcionan así. El receptor de citoquininas funciona así también. Y aparentemente los receptores de etileno funcionan así también. Es decir que hay una serie de señales y transmisores de señales que son heredados de bacterias directamente dada la enorme homología que presentan con estos receptores en ciertos géneros de bacterias. Esto nos podría explicar el hecho de que las citoquininas todavía hoy se baraje su origen procariota. No solo ellas sino que su origen también sería procariota. Son unos puntos más a favor de que las plantas no son realmente quienes las sintetizan.

El etileno, como decíamos, tiene un sistema parecido aunque realmente lo que hace es inhibir señales. El etileno es un factor de comunicación bacteriano clásico. Al parecer también afecta mamíferos y plantas (eso se vio más recientemente). Está mucho más extendido.

El fitocromo, aunque solo se vio por ahora en plantas, se cree que se tienen en humanos también. Se cree de hecho que los animales, para regular sus ritmos circadianos, deben tener moléculas similares a los fitocromos.

Modelo de transducción de la señal de citoquininas

El receptor de citoquinas en concreto es dimérico. Se autofosforila en su dominio Histidina–kinasa al unir la citoquinina. Eso luego fosforila el dominio receptor que es el que a su vez ahora toma actividad kinasa. Ese dominio receptor será el que active el factor de transcripción (el regulador) que viajará al núcleo y activará genes, etc.

TEMA 20 – EL ETILENO

El Ácido Abscísico se reconoció analizando la abscisión de partes de la planta. El etileno también. Aunque tenga ese nombre, el ácido abscísico no es el que provoca la caída de hojas sino el etileno. La senescencia animal y la senescencia vegetal no tienen nada que ver. En este caso es un proceso absolutamente natural y cíclico. Es fundamental que parte del cuerpo del vegetal envejezca en un momento determinado y muera. Es absolutamente indispensable la senescencia. Así es que no tiene un concepto negativo para nada. Lo que sí es negativo es la senescencia inoportuna.

Se descubre cuando las calles de Londres se iluminan con lámparas de carburo y se observa que las plantas iluminadas pierden las hojas antes que las que están más lejos de las lámparas. Se interpretó que la

combustión desprendía algo que hacía que la planta envejeciera y perdiera sus hojas. Estamos a principios de siglo XX.

Luego se descubrió que era responsable del desarrollo temprano de las plantas. A partir de estudios de plantas tratadas con etileno se comienzan a ver sus efectos en el desarrollo mediante estudios en oscuridad.

(1) La triple respuesta – el primer efecto del etileno

Produce tres factores en el desarrollo del vegetal: la disminución del crecimiento del hipocótilo, el aumento del grosor del tallo y el cambio en la dirección del crecimiento del epicótilo. Todos estos efectos se vieron analizando plantas en oscuridad. Algunos de los procesos de la triple respuesta frente al etileno no se dan en presencia de luz.

El crecimiento de plántulas etioladas de guisante era diferente según teníamos plantas tratadas con etileno o no tratadas con etileno. Las plantas con etileno crecían más en grosor, crecía menos su hipocótilo y además el epicótilo crecía con una dirección diferente.

Cuando vimos el ápice del tallo teníamos el MAT, los cotiledones, el epicótilo y el hipocótilo (en el embrión). El MAT estaba protegido por una caperuza denominada plúmulo o gancho. En ausencia de etileno crece más la parte cóncava del gancho (la que dá al MAT) haciendo que el plúmulo se abra y permita que el epicótilo crezca en dirección perpendicular al suelo. En presencia de etileno crece más la parte convexa del plúmulo. Al tiempo que el meristemo apical va tirando hacia arriba, el etileno mantiene la curvatura de la caperuza y por lo tanto.

Parece que ahí hay una relación con el transporte de auxinas que sería lo que causaría el cambio de la dirección.

Síntesis del etileno

El etileno se sintetiza a partir de metionina a partir del ciclo YANG. El ciclo de YANG que sirve para reciclar aminoácidos sulfurados en las plantas es el origen de etileno. Hay una ACC sintasa (la Aminociclopropanocarboxilato sintasa) y una ACC oxidasa que son las que producen el etileno (el complejo consume oxígeno y produce dióxido de carbono).

Es importante destacar que desde el punto de vista físico, el etileno es un gas. Eso es importantísimo dado que es difícil regularla por ser gaseosa. Al ser gaseosa y apolar, la molécula puede difundir como se le canta. Así la única forma de regularla es mediante su síntesis. Es por eso que esas dos proteínas, la ACC sintasa y la ACC oxidasa son tan importantes. De hecho serán los dos puntos de regulación.

Otra de las consecuencias de ser gas es que con muy poca cantidad puede tener efectos clave sobre muchas células.

Muchos factores inciden sobre la regulación de la actividad enzimática de la sintasa y la oxidasa, incluso muchas hormonas. Veremos muy poquitos.

La triple respuesta – parte 2 – la reorientación de los microtúbulos celulares en respuesta a la difusión de etileno dentro de las células

En un experimento de fluorescencia, se ve que normalmente las células tienen orientados sus microtúbulos en una forma perpendicular al eje mayor (en las células del hipocótilo). Con esa orientación, las plantas crecen hacia arriba mucho más fácilmente. Los microtúbulos refuerzan la parte de la pared sobre la que están expuesto haciendo que la pared crezca en longitud.

Un tratamiento con etileno en horas (es muy rápido!!! Es un gas!!!!) hace que los microtúbulos ahora se reorienten en forma paralela a la elongación de la célula. Al ser las caras más rígidas, la pared solo se puede expandir en grosor y las células crecen más en ese sentido haciéndose el tallo más grueso y disminuyendo la elongación del hipocótilo.

(2) El etileno estimula la epinastia

La turgencia de las células pulvinulares hace que la hoja se repliegue. El etileno estimula la epinastia!

(3) El etileno estimula la maduración de frutos climatéricos – aplicaciones comerciales importantes del etileno

Los tomates más maduros son los más gorditos y rojos siempre. Los frutos climatéricos maduran en respuesta a cambios en el clima.

La senescencia en los frutos que lleva a su maduración tiene muchas partes y procesos. Un fruto maduro es más importante para la industria. Es así que interesa madurarlos rápidamente. Los frutos climatéricos son los típicos que se pueden arrancar y tratar con algo que induzca la síntesis de etileno (cambiar el ambiente de CO₂ por ejemplo) e inducir su maduración rápida. Son frutos que en general son muy susceptibles a madurar rápidamente con pequeños cambios de las condiciones.

Uno puede agarrar un tomate que tenga la síntesis de etileno mutada y que no podrá madurar nunca (siempre duro, verde, etc.) con unas horas de tratamiento con etileno comenzará a cambiar. Pasará a tener algo de sabor a tomate, y será rojito, aunque seguirá siendo duro y así tenemos TOMATE APTO PARA ENSALADA!!!

Aumento de la respiración en frutos climatéricos

La cantidad de CO₂ que desprende un fruto varía en su maduración. Cuanto más madura un fruto más CO₂ desprenden. Al llegar la señal de etileno el desprendimiento de CO₂ hace un pico y ahí el fruto ya está maduro.

Existen cámaras en las que se inhibe por monóxido de carbono, etc. el aumento de la respiración del fruto (así se mantienen inmaduros los frutos). De pronto se le hace un tratamiento con etileno o simplemente quitando inhibidores de la respiración (como el monóxido).

Actualmente hay una tendencia de crear por ejemplo plantas de tomate transgénicas que tengan la síntesis de etileno inhibida. Luego simplemente se pone etileno en las cámaras cuando se necesitan nuevos pedidos de tomate.

(4) El etileno induce la abscisión foliar – Es el gas de la senescencia por excelencia!

La senescencia de los órganos vegetales, tanto las hojas como los órganos florales, una vez que ya se ha fecundado la flor deben caer porque sobran en la planta. El efecto de la senescencia es rematado por la presencia del etileno. Lo importante de hecho es la relación entre etileno y auxinas.

El etileno induce realmente la abscisión, pero en presencia de muchas auxinas no puede terminar de hacerlo. En hojas, la abscisión más estudiada, se induce la llamada zona de abscisión. En una lámina entera de células el etileno induce la producción de enzimas de degradación de pared celular (fundamentalmente pectinasas). Esas enzimas debilitan toda esa zona y ya entonces con la muerte de esas pocas células se queda muy débil el peciolo. Solo falta que sople un poco el viento para que caigan las hojas. Se producen luego otras historias. La parte de la hoja que queda pegada a la planta cicatriza (secreta corcho, suber y lignina, se impermeabiliza y protege, etc.)

Hace falta una pequeña cantidad de auxinas para activar la primer enzima (la ACC sintasa). Pero curiosamente si la concentración de auxinas es muy elevada se inhibe la síntesis de etileno. La única forma que tiene la planta de controlar entonces todo es con auxinas que son las que regularán la síntesis de etileno endógeno.

Pensamos en una hoja joven que son las principales productoras de auxina en las plantas. Esas hojas verdes sintetizarán auxinas que por transporte irán pasando hacia la base del tallo y a partir de ahí hacia la raíz. En consecuencia la zona de abscisión de la hoja tendrá una alta concentración de auxinas porque tendrá una fuente de síntesis de auxinas a su lado. En ese sentido la síntesis de etileno estará inhibida. Cuando la hoja madura, comienza cada vez a ser un menor productor de auxinas. La síntesis irá disminuyendo. En consecuencia va disminuyendo el transporte polar de auxinas. En un momento determinado la cantidad de auxinas que llega a la base del peciolo es lo suficientemente baja como para que se dispare la síntesis del etileno. Ese etileno hará que se forme la capa de separación en la zona de abscisión y al digerirse la pared se debilita esa lámina y cae.

Inducción de la senescencia foliar

Aunque está más estudiado en hojas, el efecto senescente también está en los pétalos y estructuras de la flor. En las cámaras de almacenamiento floral se pulveriza con sales de plata (a concentraciones nada caras). La plata es un inhibidor de la síntesis de etileno. Algunos metales inhiben la síntesis de etileno. Una de las formas de mantener clavel fresco es esta. El clavel era una flor de temporada hace muchos años. La aspirina también mantiene. El ácido acetilsalicílico inhibe la senescencia (tiene que ver con el metabolismo secundario).

Inducción de pelos radiculares

Familias de receptores de etileno descritas

Se conocen ya muchos receptores. ETR significa Ethylene Triple–response. ERS significa Ethylene Response Sensitive. EIN es Ethylene Insensitive. Hay dos subfamilias. Una engloba la ETR1 y la ERS1. La subfamilia 2 engloba la EIN4, ETR2 y ERS2. Todos los casos tienen un dominio de recepción, un dominio transmembrana y un dominio histidin–kinasa. El dominio autofosforilado fosforila luego al sitio que tiene la capacidad de fosforilación de repetidores.

Modelo de transducción

Hay una cascada de MAP kinasas perfectamente descrita. Es la primera ruta de transducción de señal perfectamente descrita para una hormona. La triple respuesta al etileno se describió hace 2 o 3 años en concreto.

El receptor

Hay receptores de etileno en la membrana plasmática, pero el que está descrito para la triple respuesta está en el citosol, en concreto en la membrana del retículo endoplasmático. Al ser un gas hidrofóbico puede difundir y entonces es lógico que haya receptores tanto en el RE como en la MP. La membrana del RE es continua con la membrana nuclear.

Podemos decir que se está recibiendo la señal y que por la luz de la membrana eso se transmite hasta la membrana nuclear. La repetidora está en la luz de los sáculos del RE–membrana nuclear. Entonces en un momento dado interaccionará directamente con la membrana interna nuclear.

El ETR1 de membrana endoplásmica, cuando no recibe etileno, fosforila al CTR1 RAF–like Kinase (el repetidor). El repetidor es más activo fosforilado. Eso luego a través de una cascada de MAP kinasas termina por fosforilar al llamado homólogo de EIN2 N–RAMP. En concreto se inhibe (mediante esa fosforilación) su

actuación que no es otra que la de activar factores de transcripción como EIN3 o ERF1 que son los que estimulan la transcripción de los genes de la triple respuesta.

En presencia de etileno, el repetidor se inhibe y por lo tanto la cascada no funciona de manera que el EIN2 N-RAMP no se fosforila y por lo tanto no se inhibe. En resumen, se activan los genes de la triple respuesta.

Como vemos, la ruta es muy chungu y rara. Se sospecha que los demás funcionen parecido. En resumen, el etileno llega e inhibe su cascada de cosas y por lo tanto al final se activan sus genes.

TEMA 21 – EL ABA (el ácido absísico)

Estructura – La forma activa es la forma cis

La última que nos queda ver es el ABA o ácido absísico. Es muy importante, como el resto, en el desarrollo de la planta. Está relacionada como el etileno con fases relacionadas con el estrés y la senescencia. El ácido absísico está relacionada realmente con procesos muy importantes también en el comienzo del desarrollo y la germinación de la semilla.

El ABA es un sesquiterpeno (tiene 15 carbonos). Deriva del isopreno como todos los terpenos. Se deriva de algunas xantofilas. Presenta un solo anillo ciclohexano con algunos residuos metilos y algunos carbonos oxidados. El anillo tiene una cola de isoprenoides que termina en un grupo carboxilo.

Se descubrió a mediados de los 60 la influencia del ABA en la abscisión de las hojas en el algodón. Haciendo un análisis más fino de ese ácido se descubren dos tipos de moléculas, el S-cis-ABA (ABA1) y el S-2-trans-ABA (ABA2). Uno tiene configuración cis y el otro configuración trans en el último doble enlace del residuo de isopreno. La forma cis es activa para la abscisión de las hojas de algodón. La forma trans es inactiva para ese efecto.

Posteriormente estudiando un poquito los verdaderos efectos fisiológicos del ABA se descubre que induce la síntesis de etileno, no la caída de la hoja directamente sino que induce la síntesis de la hormona gaseosa de la senescencia. Por lo tanto se la debería llamar hormona de abscisión al etileno y al ABA llamarla de otra forma y no ácido absísico.

Tiene efectos de antiestrés. Cuando hay estrés hídrico provoca cambios y aclimatación como el cierre de los estomas, el estiramiento de las raíces, etc.

El efecto innato del ABA en las semillas es que provoca la dormición de las semillas.

Serían los 3 efectos básicos: inducción de la síntesis de etileno (en el caso de que la planta esté cursando un proceso de senescencia), efectos antiestrés hídrico en el caso de estrés y la dormición de semillas mientras la semilla está unida a la planta madre. El ABA produce que mientras se forma el embrión, hasta que no se deshidrata la semilla, esta no se active para que recién cuando se siembre y cuando sea regada germine.

Esa función es la que provoca una especie de corriente que todavía no tiene mucho éxito para cambiarle el nombre y llamarla dormina.

Síntesis e inactivación

Deriva de la ruta de síntesis de los carotenoides (de los tetraterpenos). Desde el isopentenil difosfato (IPP – el isopreno difosfato), se forman por polimerización moléculas de 10C (diisopreno – un monoterpeno), 15C

(triiopreno – un sesquiterpeno), 20C (tetraioopreno – un diterpeno), etc. Realmente los sesquiterpenos se forman a partir de los diterpenos (que son de 20C). Los diterpenos se escinden dando un sesquiterpeno y una molécula de 5 carbonos. También pueden formarse a partir de 30C cortando en 15 y 15 o a partir de tetraterpenos cortando en 25 y 15. El ABA tiene un anillo derivado de una xantofila (un tetraterpeno, 40C) y es por eso que solo puede sintetizarse mediante esta ruta. En la ruta de síntesis el Farnesil difosfato puede formar Zeaxantina (40C) y esa zeaxantina es procesada hasta violaxantina, neoxantina y finalmente Xantoxal (un aldehído con el anillo epoxidado) y finalmente ABA–aldehído (el anillo desepoxidado). Ese aldehído es el que será la base.

Muchos sesquiterpenos son cardiotónicos interesantes. A la planta no le sirven para mucho más que regular algunos canales iónicos. El único importante desde el punto de vista del desarrollo es el ABA que se obtiene desde tetraterpenos.

El ABA puede cambiar por iluminación de forma Cis a forma Trans. Suelen coexistir las dos formas que son isomerizables por luz. Realmente el equilibrio será lo que determine el efecto.

Además de eso, la planta puede inactivar el ácido absísico por oxidación (permanentemente) o puede conjugarlo con una glucosa (formando un ester en su grupo ácido). Los efectos del ABA dependen de receptores de membrana plasmática. Sin embargo los conjugados de ABA suelen almacenarse muy establemente en la vacuola (al contrario de otras hormonas que no pueden almacenarse durante mucho tiempo en ella dado que se degradan rápidamente). Si el conjugado artificial se rompe en la vacuola sin embargo el efecto es el mismo. Se sospecha que hay receptores de ABA internos en la membrana de la vacuola. Es decir que la conjugación del ABA es muy importante. A diferencia de otras hormonas las plantas lo sintetizan y lo movilizan conjugado por toda la planta. Se sabe que mucho entra en las células guarda de los estomas. Más que aumentar su síntesis su regulación se da moviéndolo en forma conjugada y almacenándolo en las vacuolas.

PREGUNTA FIJA SEGURO SEGURO: Papel del ABA en la apertura y cierre estomático – sobre todo la primera diapositiva

Redistribución del ABA por gradientes de pH – el efecto del ABA como hormona antiestrés

Recordamos el movimiento y percepción por las células del ABA. Pero hablaremos de algo relacionado precisamente con el comportamiento químico de la molécula dependiendo del pH que exista (similar a lo que ocurre con auxinas). Cuando hay estrés hídrico, por supuesto el ABA puede estar protonado (ABAH) o desprotonado (ABA⁻). El protonado puede atravesar la bicapa lipídica. Luego ahí se desprotona igual que ocurre con las auxinas, etc. Pero de momento no se sabe que existan receptores intracelulares debido a que HAY un efecto. En forma desprotonada es reconocido por receptores de ABA extracelulares de membrana. Esos receptores no unen ABAH nunca, pero sí puede entrar en esas condiciones a la célula.

Pensamos en una situación de pH ligeramente ácido (el que suele haber en el xilema de la planta en condiciones normales). Tiene 6,3 aproximadamente en condiciones de regado normal. En ese estado, el ABA de la raíz (que está bien regada y en un buen nivel hídrico), el xilema en esas condiciones está en pH ligeramente ácido. Lógicamente el ABA está protonado y por lo tanto sube por el xilema, llega a la hoja, sale del xilema y sale hacia las células del mesófilo. Puede entrar, porque está protonado, en todas las membranas plasmáticas de las células del mesófilo. Se reparte entonces por igual entre todas las células de la hoja. Eso quiere decir que las células guarda estomáticas recibirán muy poco ABA. No habrá efecto.

Pero en estrés hídrico, el pH del xilema cambia a pH 7,2. Falta agua en el xilema. La composición del xilema hace que el pH casi neutro. Siendo el ABA un ácido débil a la hoja llegará en forma desprotonada. Ese ABA con carga negativa no puede atravesar ninguna célula. No hay transportadores de membrana para el ABA⁻. Pero las células guarda sí pueden en forma desprotonada unirse a receptores que desencadenarán las señales

conocidas. Esos segundos mensajeros tendrán su efecto, etc. Donde está el truco? SOLO SE CONOCEN RECEPTORES PARA EL ABA– EN LAS CELULAS OCLUSIVAS DE LOS ESTOMAS. El efecto en ellas es de cerrar el estoma. Solo las células estomáticas entonces recibirán la señal de ABA. Interpretan eso como la señal de estrés y todo producirá que pierda turgencia e induzca plasmolisis y cierre estomático.

La comprobación experimental de esto se hace midiendo el potencial hídrico de la hoja. Cuando falta agua en la hoja aumenta la resistencia estomática (se cierran los estomas). Ese cierre es causado por un aumento en el contenido en ABA de las células guarda. Cuando la planta se riega nuevamente el ABA se protona nuevamente y ahora la señal disminuye. Los estomas vuelven a abrirse.

Aparentemente el ABA está relacionado con la concentración citosólica de calcio. Es decir que en la señalización posterior está implicado el calcio. Se hacen dos estudios, un control y una hoja con ABA. Previo al cierre estomático aumenta mucho la concentración de calcio citosólico. La apertura estomática luego decrece. Se ve también con indicadores de color que reconocen calcio.

Modelo del cierre estomático por señal de ABA (esto no es muy importante)

Las dos vías de transducción son las siguientes. Están descritas. Las dos ocurren en las dos células. Vía receptor se induce el aumento de especies de oxígeno muy activas. El estrés hídrico estimula la formación de peróxidos, iones superóxido, etc. O sea que son además segundos mensajeros importantes, sobre todo en senescencia y en este caso en estrés hídrico.

Como acción señalizadora abren canales de calcio de membrana. Entra calcio y aumenta la concentración intracelular de calcio. El calcio actúa y por un lado inhibe los canales de entrada de potasio de membrana. El calcio mantiene su concentración intracelular abriendo más canales de calcio de membrana y muchos otros canales vacuolares de iones (esos iones salen de la vacuola junto con agua). También estimula la apertura de canales de cloruro de MP. Y eso a su vez produce que las bombas de potasio de MP comiencen a funcionar sacando potasio fuera. Todo eso produce en resumen que la vacuola se deplete de iones y agua y por lo tanto la célula entre en plasmólisis general (cierre del estoma).

La segunda ruta es diferente. La segunda ruta se ocupa de inhibir la ruta de apertura estomática que se da por protónATPasa. En este caso no se da mediante segundos mensajeros oxigenados. En este caso el receptor activa la fosfolipasa C y produce que aumente el IP3 citosólico. Ese IP3 estimula los canales de calcio de vacuolas. El calcio sale al citosol y tiene su efecto fundamental sobre las bombas de protones de MP. Se inhibe en concreto la protón ATPasa y los protones no salen. Al no salir los protones, el apoplasto no se acidifica por lo que no se estimula la apertura de canales de entrada de potasio. En resumen, en presencia de calcio intracelular el pH no se acidifica y por lo tanto los iones en vez de entrar salen y en resumen el agua sale de la vacuola de la célula y la célula se plasmoliza.

Las dos vías son llamadas vía ROS y vía del IP3, cADPR. Cada una de esas vías establece una firma de calcio diferente (ver el concepto en clases anteriores). Cada firma de calcio, al ser diferente dará lugar a una cascada de señales diferente. Una hará que el potasio y el cloro salgan de la célula. La otra hará que se inhiba la actividad de la protón ATP–asa.

Nomejor no.no se los voy a decir. Porque la última vez que les ofrecí un seminario, realmente me lo pidieron!

Evidencia de receptores intracelulares de ABA

Uno puede conjugar ABA (el ABA conjugado es inactivo) con una molécula que forma un complejo apolar que se puede inyectar y atravesar la bicapa lipídica. Una vez dentro de la célula, el doble enlace se puede romper usando choques con UVA liberando ABA–cis activo. Así podemos tratar cultivos por un lado sin inyectar ABA conjugado (la apertura estomática es rápida) y por un lado inyectando ABA conjugado y dando

caña con UVA (la apertura estomática es mucho menor al tiempo los estomas se cierran). Lógicamente se ve evidentemente que el ABA también tiene efecto desde dentro. Es decir que DEBE haber receptores intracelulares.

Si creemos en esto, lógicamente una de las dos rutas o las dos deben estar activándose en ese experimento. Hay muchos datos de que realmente funciona así. Es de suponer entonces que los receptores intracelulares también activan firmas similares de calcio. Podrían estar libres en el citoplasma o en la membrana del retículo endoplásmico.

ABA y el desarrollo de semillas – el segundo papel más importante del ABA

Su papel fisiológico real es el de la dormición de semillas. La embriogénesis y el desarrollo de semillas puede separarse en 3 partes, el desarrollo temprano (embriogénesis), el desarrollo medio (maduración de semillas – con gran síntesis de ABA) y el desarrollo tardío (deseccación de semillas – disminución de la síntesis de ABA). La síntesis de ABA está relacionada con la dormición de las semillas. Cuando el embrión está maduro algo debe haber que le impida germinar dentro de la planta madre! Hay gente de desarrollo humano que han visto algo similar a esto en lo de la placentación mamífera. Es un mecanismo análogo lo que impide que una planta nazca pegada a su madre.

Cuando antes se compraban mazorcas sí se podían ver algunos granos germinados en la mazorca que no habían llegado a germinarse. Hoy en día se ve bien en mutantes de maíz con transgenes de síntesis de ABA. Se ve que toda la mazorca germina antes de que las semillas se suelten.

Estimulación del crecimiento relativo de la raíz frente al del tallo en estrés hídrico

Aumenta la relación raíz/tallo en estrés hídrico. Fácil, me falta agua, crezco más las raíces para poder llegar mejor al agua. Inhibe el desarrollo del tallo realmente en estrés hídrico. Cuando la tierra es seca las raíces suelen profundizar más. Eso es un efecto dependiente de ABA. Un mutante deficiente en ABA tiene un root:shoot ratio constante aún horas después de transplantarse a una tierra con estrés hídrico. Un individuo salvaje al someterse al estrés hídrico aumenta proporcionalmente la relación raíz–tallo. No es que crezca más la raíz en estrés hídrico que sin estrés hídrico. El tema es que crece menos el tallo. Está lógicamente muy relacionado con el mecanismo de cierre estomático, solo que probablemente a través de algún otro mecanismo que implica modificación del transporte de auxinas, etc.

Posible ruta de transducción de la señal de ABA

Al unirse el ABA al receptor de ABA se da la señal de cascada de calcio. Al abrirse los canales de calcio de membrana plasmática, el calcio intracelular aumenta. Ese calcio activa NO a calmodulinas, sino a otras proteínas dependientes de calcio inducibles por ABA. Esas ABI como ABI–1 se unen a calcio y defosforilan proteínas reguladoras que presentan fosforilación inhibitoria. Ahora esas reguladoras ya activas irán a hacer sus putaditas por todo el interior para regular cosas como la apertura de canales, la regulación de la expresión de ciertos genes, etc.

OTROS REGULADORES DEL DESARROLLO VEGETAL

Las poliaminas: biosíntesis

Son otras moléculas reguladoras del desarrollo pero que no llegan al rango de hormonas. Unas son las poliaminas, las más importantes de todas estas secundarias. Son moléculas poliamínicas (tienen muchas cargas positivas amínicas). La putrescina tiene 2 grupos aminos, la espermdina 3, la cadaverina 8, etc. Sí que parece que intervienen en la expresión de algunos genes se supone que porque pueden interferir (todos esos grupos amino) y unirse aniónicamente con los grupos fosfato del DNA de la cromatina e interferir en la

expresión de los genes a los que se unen. Pero la cantidad que se producen en una célula es demasiado grande como para decir que regulan específicamente el crecimiento.

Ácido salicílico: inducción de la resistencia sistémica adquirida (SAR)

El ácido salicílico se le ha visto un cierto papel en la síntesis de la oxidasa alternativa que tienen las mitocondrias de plantas. Tienen un papel absolutamente fundamental en lo que es la modificación de plantas y la relación con otros seres vivos, en concreto patógenos. Entre las relaciones de reconocimiento antigénico de las plantas, en unas cuantas está implicada la síntesis del ácido salicílico (el componente activo de las aspirinas). Ese ácido es un segundo mensajero responsable de inducir resistencia sistémica adquirida en las plantas. Si una hoja es atacada por algún patógeno, esas células atacadas comienzan a señalar e inducir la síntesis de ácido salicílico que se movilizará al resto de la planta y prevendrá al resto de la planta para que el patógeno no pueda atacar posteriormente. Es lo más parecido en plantas a un sistema inmunológico. Aunque luego la respuesta es muy parecida, es bastante específico el reconocimiento del patógeno (no tanto como anticuerpos–antígenos). Lo más curioso es que la acumulación de ácido salicílico y la SAR puede inducir esa SAR en otras plantas a través de la síntesis de un transmisor volátil como el ácido metil–salicílico que es captado por las vecinas que desarrollan su sistema inmune mucho mejor. Es así que una planta avisa a sus vecinas de la infección.

Ácido Jasmónico: defensa frente a heridas

Se le quieren dar papeles en la maduración del polen y el desarrollo de órganos reproductores hoy en día. Pero clásicamente está relacionado en defensa frente a heridas. Se sintetiza por ejemplo cuando un insecto o un mamífero herbívoro muerde una hoja. Se inducen lipasas y a partir de un ácido graso que se libera como es el linolénico se sintetiza el ácido jasmónico. Ese ácido viaja por toda la planta y lo que hacen es inducir la síntesis de inhibidores de proteinasas (de enzimas digestivas). De tal forma que si ahora la vaca va a otra hoja de la misma planta donde se están sintetizando inhibidores la vaca muerde pero lo que come le causa un corte digestivo (dado que come inhibidores de las proteinasas – enzimas necesarias para que el rumiante se alimente).

Otra cosa interesante es que el jasmónico puede volatilizarse como el salicílico para avisar ahora a las plantas y hojas cercanas de una forma rápida.

Brasinólidos: estructura

Las derivadas de esteroides se denominan brasinoesteroides o brasinólidos. Cada vez cobran más importancia. Parece ser que ayudan a los papeles de las auxinas. Es decir crecimiento del tallo por cooperación.

Oligosacarinas: estimulación de fitoalexinas

Las oligosacarinas ya las tratamos en el tema de introducción al desarrollo. Son fragmentos de pared celular que como ya nos comentaron sirven para señalar entre células vecinas para mantener un patrón de diferenciación de un tejido o desarrollo determinado. Cada vez se describen más y cada vez se presentan más trabajos en oligosacarinas. Son unas de las grandes propuestas para ser las hormonas vegetales verdaderas del futuro.

En este caso nos proponen el ejemplo para lo que es la respuesta frente al ataque de un hongo. Las paredes celulares de un hongo pueden romperse por glucanasas y quitinasas. El hongo induce producción de quitinasas, glucanasas por la planta que rompen la pared celular del hongo y liberan oligosacarinas fungales. Esas oligosacarinas junto con las que el hongo libera al romper con pectinasas la pared celular de las plantas estimulan la síntesis de fitoalexinas. Esas moléculas son compuestos de defensa de las plantas, sobre todo frente a hongos (son un fungicida natural!).

EL DESARROLLO REPRODUCTIVO DE LAS PLANTAS

TEMA 21: LA FLORACION Y LA GAMETOGÉNESIS

Hasta ahora estuvimos viendo solamente el desarrollo vegetativo de la planta. Pero el paso al adulto maduro implica un desarrollo reproductivo.

El desarrollo vegetativo suele detenerse luego de iniciado el desarrollo reproductivo en los animales. Pero en las plantas eso no es así (excepto en las anuales!).

Pero el desarrollo reproductivo entonces requiere antes el desarrollo vegetativo del porte vegetal.

El desarrollo reproductivo implica en espermatofitas dos procesos – floración y gametogénesis. Posteriormente viene la fecundación y luego sí ya el desarrollo de semillas y frutos en el caso más complejo (con el correspondiente desarrollo embrionario). Una muy posible pregunta es qué sucede después de la floración en una planta y hasta que se vuelve a iniciar el desarrollo vegetativo en la siguiente germinación (germinación).

El cambio del patrón de crecimiento vegetativo al crecimiento reproductivo implica un cambio en la identidad de los órganos. Es decir, en el momento en que la planta alcanza la maduración, hay un cambio en el patrón de desarrollo y exactamente los mismos meristemos que daban anteriormente a hojas o yemas axilares cambian y dan lugar a meristemos denominados fitómeros reproductivos. En ellos en vez de hojas habrá hojas abortadas (brácteas) y en vez de yemas axilares habrá flores o inflorescencias.

En animales esto no se da. Aquí los órganos son los mismos, lo que sucede es que unas células, al cambiar su regulación, en lugar de dar lugar a rama y hoja dan lugar a flor y bráctea. Otro cambio importante es que el desarrollo vegetativo (LA RAMA) es de crecimiento indeterminado (siempre hay un meristemo apical activo más o menos), mientras que el desarrollo reproductivo (LA FLOR) es de crecimiento definido o determinado (no quedan meristemos apicales – cesa la actividad meristemática apical). Se origina el botón floral donde se constituyen los órganos florales que ya dejan de crecer. Eso no quiere decir que si una rama lateral genera una flor la rama deje de crecer, pero allí donde se pone una flor, se terminó el crecimiento meristemático.

Sépalos y pétalos son los miembros no-fértiles (perianto). Los órganos reproductivos de la flor son el androceo (estambres) y el gineceo (carpelos más o menos fusionados). Los estambres tendrán las anteras donde se forman los granos de polen. En los carpelos tendremos los primordios seminales.

Una planta plurianual tiene una fase de crecimiento juvenil y tanto en el eje central como en las ramas laterales, en un momento determinado parte de ese tejido comenzará un desarrollo adulto que terminará por generar flores (terminar sus ramas en flores). La duración de la etapa juvenil es variable (desde días a decenas de años en el caso por ejemplo de *Fagus sylvatica*).

El cambio de la fase juvenil a la adulta implica un cambio clarísimo en la morfología de la planta. Muchas en algunos casos tienen hojas de formas diferentes en el período adulto y en el período juvenil.

La hiedra (English Ivy, *Hedera helix*) es uno de los ejemplos más claros a diario. Tienen hojas lobuladas en el período juvenil mientras que en la adulta las hojas son palmeadas. En algunas hiedras podemos tener algunas partes con hojas lobuladas y otras con hojas palmeadas.

A nivel citológico las diferencias entre el meristemo apical del tallo y los meristemos florales (meristemos apicales de ramas de desarrollo adulto) son claras. Una señal de floración hace que esas mismas células cambien su desarrollo. Cesa la actividad del meristemo apical y comienzan a desarrollarse sépalos, pétalos,

androceo y gineceo. *Arabidopsis* tiene inflorescencias y por lo tanto suelen verse muchas flores saliendo todas juntitas.

Casi todo lo que contemos a partir de ahora sobre floración se descubrió sobre *Arabidopsis thaliana* y *Antirrhinum* (nazarenos). *Arabidopsis* desarrolla inflorescencias como decíamos antes. En el tallo caulinar y en ramas laterales desarrolla inflorescencias

Que tienen la fórmula floral de 4 sépalos, 4 pétalos, 6 estambres en 2+4 (2 más largos y 4 más pequeños) y 2 carpelos fusionados de dos en dos. Los meristemas florales son verticilados. Todos los órganos se desarrollan en un mismo plano. Es decir que es diferente de la filotaxia (en la que las hojas y las yemas axilares podían desarrollarse de forma alternada, opuesta, verticilada, etc.).

Etapas del desarrollo de la flor

Meristemo apical súbitamente cambia y ahora lo que iba a dar lugar a una rama, dará lugar a una flor.

Inducción del meristemo floral y emergencia de sépalos

Comienza la actividad meristemática, primero externa – sépalos. Pero en el momento en que se induce el meristemo floral, eso deja ya de crecer y así todos los órganos florales terminarán por crecer al mismo nivel. Los primeros que crecen se desarrollarán a sépalos (el cáliz). En tanto que el cáliz va creciendo, el cáliz crece mucho más que el resto de órganos para formar el típico capullo. Una vez que el cáliz se abre, termina de desplegarse el resto de órganos (sobre todo la corola).

Emergencia de pétalos y estambres. Los sépalos envuelven al meristemo (capullo).

Son los primeros que surgen, dentro de lo que es el cáliz. Pétalos y estambres crecen más o menos al mismo tiempo. Una vez están ya en desarrollo comienza más o menos en el centro otra actividad meristemática.

Desarrollo del gineceo

Se desarrollan los dos carpelos que ya surgen fusionados.

El filamento del estambre se desarrolla por estuchamiento de su base.

Los estambres son más grandes que los pétalos en este estadio. Ahí tenemos las dos mitades de las anteras (las tecas) de los estambres.

Los estambres siguen creciendo. En la base tendrán el filamento y el resto serán las tecas

Los lóculos de las anteras se hacen ya evidentes. El estilo se desarrolla.

Los pétalos comienzan a alongarse.

Los pétalos crecen rápidamente y terminarán por envolver el resto de los órganos por dentro del cáliz.

Aparecen las papilas del estigma (las que recogeran el polen en algunas plantas). Todos los órganos ya están completamente desarrollados. Los pétalos alcanzan ya la longitud de los estambres.

Cada uno de sus órganos tendrá un tipo celular distinto. La estructura y morfología celular en cada uno es distinta.

Esquema del desarrollo secuencial de la flor

Hablaremos de dos grandes grupos de genes implicados en la floración. Unos son los genes de evocación floral (inducen el cambio del meristemo). En el momento en que se expresan en un meristemo apical, ese meristemo cambia de programa de expresión y desarrollará una flor.

Otra serie de genes serán los genes de identidad de órgano floral. Son los genes que determinarán si las células se diferencian a pétalo, a sépalo, estambres o carpelos.

El patrón de desarrollo está regulado según la pertenencia de esos genes a tres campos de desarrollo que son los que regularán el desarrollo de cada verticilo. Los genes del campo 1 o campo periférico del meristemo se ocupará del caliz y la corola. Los genes del campo 2 se solapan con los anteriores y están encargados del control de la corola junto con los anteriores, pero que también están encargados del desarrollo de los estambres. Los genes del último campo, el campo central o 3, están implicados en el desarrollo de estambres y también del gineceo.

Esos campos de desarrollo entonces se encargan de controlar los 4 verticilos florales.

Los genes se agruparán de acuerdo a qué campo controlan en genes de campo 1, 2 o 3.

Expresión de genes de inducción floral en el meristemo apical del tallo

Se mide en un experimento la expresión de genes de inducción floral (identidad floral), unos genes específicos de los meristemos florales tras darse un estímulo inductor. Los genes comienzan a expresarse a partir del estímulo y entonces su expresión sigue aumentando a medida que se desarrolla el meristemo apical del tallo.

Algunos genes inducen flores y otros inhiben tallos. Es decir que los genes de identidad floral serán de dos tipos:

- genes de inducción floral (estimulan la expresión de genes de diferenciación floral)
- genes de inhibición del tallo (inhiben el crecimiento vegetativo)

Sin embargo, los genes de inducción floral son genes en cierto modo constitutivo. Es decir que se están expresando siempre. Es decir que se SOBREENPRESAN como respuesta al estímulo de evocación floral. Realmente es la cantidad de expresión de genes florales con respecto a genes de crecimiento vegetativo lo que hará que se cambie el patrón de desarrollo en el meristemo apical.

La expresión del gen LEAFY (LFY) induce la floración

Un gen de identidad floral de los más estudiados es el gen LEAFY (es un gen expresado ante una señal de floración). Se expresa solo cuando la planta ya madura se estimula para florecer. Ese gen induce transición de meristemo apical a meristemo floral. Cuando ese gen está mutado en un individuo, el individuo no desarrolla nunca flores y los mutantes LFY⁻, en el momento en que llega la señal de floración no desarrollan inflorescencias sino que el meristemo genera capullos que al abrirse tienen hojas todas ellas verticiladas. Cuando LFY está sobreexpresado el mutante tiene flores por todas las ramas de una manera exagerada. Incluso aparecen flores en las hojas del crecimiento en roseta (la base de la planta – la de crecimiento juvenil).

En resumen, el gen LFY es fundamental para el efecto de floración. Y su sobreexpresión implica que muchos más meristemos (yemas, etc.) cambien su patrón de desarrollo hacia flores.

EMF (EMBRIONIC FLOWER) es un gen represor de la floración – los individuos mutantes para EMF

presentan embriones que expresan AP1 durante la etapa juvenil y desarrollan flores

La expresión del gen de floración APETALA1 (AP1) en embriones mutantes para el gen represor de la floración – EMBRIONIC FLOWER (emf) – induce un cambio meristemático dando lugar a meristemas florales. El cambio de meristemo podía darse por inducción o por inhibición, ya lo vimos antes.

El mutante APETALA1 no tiene pétalos en sus flores. Es un gen de identidad floral. Es inductor en cierto modo del cambio de identidad de meristemo vegetativo a meristemo floral que está sometido al control de otros genes. La señal de floración hace que ciertos genes como leafy se exprese mientras que otros, como el gen emf, uno de los represores del gen de floración AP1, se inhiban. Pero eso es al revés cuando los individuos son todavía jóvenes.

Los embriones mutantes para emf presentan el fenotipo embrionic flower y no tienen la floración reprimida. Pero en el caso normal emf wild-type

Mutaciones en genes homeóticos de identidad de órgano

Estos se expresan sí y solo sí se expresan antes los genes de identidad floral normales. Es decir que tanto APETALA 1 como LEAFY deben expresarse en el momento correcto para que entonces se de la floración.

Las cajas homeóticas son grupos de genes bajo un mismo control cuyas mutaciones en esa caja producen modificaciones en ciertos órganos. Si se muta una homeobox determinada de Drosophila desarrollará alas donde tenía patas. El famoso ratón con la oreja en la espalda también depende. Tenemos un homeobox que explica bastante de lo que fue la colonización de la tierra por los animales marinos. En el mismo homeobox donde están los dedos luego aparecen genes del desarrollo del pene.

Las cajas homeóticas es una de las cosas que más putean al darwinismo. Es muy difícil explicar desde el punto de vista de la evolución clásica el que una modificación en las cajas homeóticas lleve más de un cambio apareado. O todo se desarrolla al mismo tiempo o evoluciona al mismo tiempo o es imposible el salto evolutivo. Eso fastidia bastante a los defensores de la teoría sintética de la evolución.

Una mutación puntual en estas cajas en las flores provocan que realmente todo cambie mucho en una flor. Las flores sin perianto, las flores con androceo transformado en pistilos, las flores ágamas, etc. realmente dependen de mutaciones en estas cajas homeóticas.

Se conocen mutaciones en cajas que provocan que no haya perianto en la flor (literalmente desaparecen – fenotipo APETALA2–2). En otras se pierde la identidad de un órgano solo, como es el caso de que los estambres, en vez de desaparecer, cambian a pistilos (fenotipo PISTILLATA). En otros casos tanto estambres como carpelos cambian a dar lugar a pétalos de manera que solo haya cáliz y corola (fenotipo AGAMOUS). Pero en todos los casos el desarrollo se da desde la posición correcta. Otras mutaciones sí cambian la posición o la disposición verticilada.

El modelo ABC para la especificación de órganos florales

Hay tres cajas homeóticas identificadas que coinciden con los tres campos, el campo A, B y C. Existen genes tipo A bajo cuyo control está la identificación de sépalos y pétalos. Los genes de tipo B controlan la identificación de pétalos y estambres. Los genes C controlan estambres y carpelos.

Si una planta no expresa genes de tipo A no tendrá ni sépalos ni pétalos. Esa flor tendrá solo estambres o carpelos y por lo tanto el desarrollo será como APETALA2–2.

Si una planta no expresa genes de tipo B no tendrá ni pétalos ni estambres. Esa flor podrá tener los 4

verticilos, pero ninguno de ellos podrá ser un estambre. Es decir que desarrollará el fenotipo PISTILLATA.

Si una planta no expresa correctamente genes de tipo C, entonces las plantas serán AGAMAS dado que no poseerán estambres ni carpelos correctos. Como mucho solo tendrá sépalos y pétalos.

Pero los genes de tipo B por sí solos no controlan la identidad de ningún órgano (dado que están solapados en A y en C). Pero los genes que expresen A y B sí podrán desarrollar pétalos. Pero si alguna de las dos cajas están jodidas entonces necesariamente las plantas serán apétalas.

Los genes que expresen B y C sí podrán desarrollar estambres. Pero si alguna de las dos cajas están jodidas entonces necesariamente las plantas no tendrán estambres.

A por si solo solo controla el verticilo 1

B por si solo no controla nada

A y B controlan en conjunto el verticilo 2

B y C controlan en conjunto el verticilo 3

C por sí solo solo controla el verticilo 4

Un mutante en A solo tendrá estambres y carpelos (fenotipo APETALA2–2)

Un mutante en B solo podrá tener sépalos y carpelos (PISTILLATA/APETALA3)

Un mutante en C solo podrá tener sépalos y pétalos (fenotipo AGAMOUS)

Un mutante en A y en B solo podrá tener carpelos (fenotipo PISTILLATA)

Un mutante en A y en C no podrá tener nada (fenotipo SIN FLOR)

Un mutante en B y en C solo podrá tener sépalos (fenotipo APETALA 3)

En resumen los verticilos de pétalos y estambres están regulados por dos cajas homeóticas, mientras que los verticilos de sépalos y carpelos están regulados solo por una caja homeótica. Es decir que los estambres y pétalos tienden a desaparecer más fácilmente por mutación que los sépalos o los carpelos.

Pero es importante

(ESTO ES PREGUNTA DE EXAMEN FIJISIMA)

El modelo ABC para la especificación de órganos florales – 2

Con los genes homeóticos se da la determinación de los verticilos lo veíamos la clase pasada.

Cuando muta C tenemos el fenotipo agamous (el gen C se denomina agamous). Sin embargo, si está mutado el gen C solo se expresa A y B. Pero lo curioso es que A ocupará el sitio de C. Es decir que no es que se pierdan verticilos los 4 verticilos se mantienen, pero todos ellos son o pétalos o sépalos. Los verticilos que se den por superposición de A con B serán pétalos. Los verticilos sin superposición, solo dominados por A serán sépalos. Entonces tendríamos sépalos–pétalos–pétalos–sépalos.

Es decir que una mutación en C provoca una extensión de la función de A. Es decir que el producto de A ahora controlará a los verticilos anteriormente codificados por C.

Si se muta A se extiende la función C y es produce que los estambres y los carpelos se extiendan por toda la flor. Donde haya superposición B–C tendremos estambres y donde no tendremos carpelos. En resumen, la flor será 4 carpelos–4estambres–6estambres–2carpelos (fusionados). Eso con los genes mutados apetala 2.

Si muta B entonces ahora tenemos solo A y C y por lo tanto tenemos solo sépalos y carpelos es decir 4sépalos–4sépalos–6 carpelos–2 carpelos. Eso serán los genes apetala3 y pistillata.

El modelo ABC: esquema frontal de los mutantes típicos

El libro de Azcón–Bieto hace lo mismo que el Taiz pero lo hace con una visión horizontal sin embargo hace lo mismo también habla de extensión de la función del gen A o el gen C dependiendo de cuál esté mutado.

Evocación floral y el control de la floración

Da igual que esté mutado A, B, C o lo que sea primero debe haber evocación floral es decir que leafy y acetala no deben estar mutados En resumen primero debe poder HABER FLORES para que haya mutación de flores.

Las plantas como seres vivos usan flores para reproducirse. Pero a nosotros nos interesan para adornar la casa. Una planta que no puede irse en busca de pareja (porque no se buene) entonces intentará florecer al mismo tiempo que las otras de su misma especie para que así todas lo hagan al mismo tiempo. Lo más parecido es el celo en los animales.

El control de la floración (no los genes de desarrollo de meristemos florales, sino los genes que codifican para la recepción de esas señales ambientales) hace que una generación más o menos cercana florezca toda al mismo tiempo y así asegurarse la reproducción.

Veremos en concreto dos efectos el control del ciclo diario y el control de la tempertatura. En nuestro hemisferio las plantas florecen cuando hay luz, llegamos a la primavera, etc. Pero no basta con que sea primavera para que una planta florezca. Una planta debe estar preparada para poder recibir y traducir esa señal de floración.

A eso se le llama evocación floral. Una planta debe en principio madurar pero luego además, parte de la planta y no toda la planta entera, debe hacerse competente para poder percibir una posterior señal de floración a partir de la cual florecer.

Algunas hojas se harán competentes para poder percibir la inducción (y así cambiar desde meristemos apicales a meristemos florales). Luego, una señal ambiental como el fotoperíodo puede hacer que esas células se determinen para ser flores (la ruta de desarrollo del meristemo ya se ha determinado para que sea flor). Después de recibir ahora sí la señal que se piensa que es hormonal (señal interna) se dará la expresión de los genes de floración que serán los que en última instancia serán los que harán que el meristemo apical inicie la morfogénesis.

Demostración por explanaos e injertos del estado determinado para la evocación floral

Una planta crece y llega un momento a partir del cual la planta está preparada para florecer. Luego ya sí llega la señal y florece. Si se corta la planta que ya tiene la yema floral y se trasplanta, la planta crecerá exactamente el trozo que le queda para llegar a la primera y luego florece. Pero si el trasplante o el injerto lo hacemos cortando por más arriba y trasplantamos, en condiciones de floración, la planta florece antes de llegar a la altura necesaria. Es decir que hay una parte de la planta que está ya preparada para florecer de

forma que las plantas que se obtienen a partir de injertos de las yemas más superiores ya están determinadas para florecer. Pero si trasplantamos partes más viejas, esos injertos necesitan primero crecer y determinarse.

Es decir que una parte de la planta requiere ser competente primero para luego poder determinarse y luego de esa determinación, si trasplantamos esos trozos ya determinados floralmente, lógicamente a penas se les de la señal se dará la floración.

Si trasplantamos trozos que todavía no son competentes necesitarán crecer hasta hacerse competentes para luego sí poder determinarse al recibir la señal y finalmente florecer.

El efecto de la latitud sobre la duración del período diario de luz a lo largo del año

Si nos movemos a lo largo del hemisferio, el fotoperíodo que llega es diferente. Así las plantas florecen en distintas épocas en el ecuador que en los trópicos que cerca de los círculos polares.

Mutante gigante de tabaco pero de floración en días cortos desarrollado en período de días largos

El fotoperíodo hace que en climas templados haya 8 horas de noche y 16 horas de luz en la primavera. En cuanto a la floración tendremos plantas de día largo (florecen en días largos) y plantas de día corto (que florecen aún en días cortos) además de plantas neutras.

Las plantas de día corto florecen en otoño como los crisantemos. Las plantas de día largo florecen en primavera. Las plantas neutras tienen la floración no influida por el fotoperíodo. Las giberelinas tienen algo que ver en esa regulación de los ciclos circadianos.

El tabaco crece en otoño y florece en primavera. Pero unos americanos en el MIT desarrollaron un mutante que no florece en primavera, sino en otoño. Es así que crece muchísimo durante la primavera y luego florece cuando su crecimiento se retrasa. Las aplicaciones comerciales son lógicas. Al ser un mutante de fenotipo gigante

Demostración de la dependencia de la floración con la duración de la noche

La incidencia del fotoperíodo en la floración es un término no del todo correcto. El siguiente experimento demuestra que el hecho de que una planta florezca o no depende de la longitud del día sino de la longitud de la noche. Es el cambio de la oscuridad a la luz lo que produce todo. En otoño el día es corto y la noche es larga y florecen los crisantemos. Las plantas de día largo mientras crecen durante el invierno. Esas serán las que en primavera, cuando los días se alargan y las noches se acortan florecen.

Si artificialmente hacemos el día igual de longitud que la noche durante el otoño, es decir 16 horas de luz y 16 horas de noche (y hacemos ciclos así de 32 horas) florecen las plantas de día corto y no las de día largo. Es decir que no es el día largo lo que produce la floración sino la noche larga. Con 8 horas de luz y 8 de oscuridad (ciclos de 16 horas) florecen las plantas de día largo. En resumen es la señal de la cantidad de tiempo que pasan en oscuridad lo que establece la señal.

Si en la mitad del día se apaga la luz de la cámara de cultivo se interrumpe el día y en consecuencia serían dos días cortos y una noche corta. En resumen . Nada. Solo florecen las de día largo y no las de día corto. Si ahora lo que interrumpimos es la noche y generamos 2 noches cortas y 1 día largo, siguen floreciendo las de día largo y no las de día corto. Evidentemente hay algunos genes que deben ser los que estén regulando todo esto es evidente.

Los receptores de luz están implicados en ese control de la floración. Eso demuestra que los fitocromos están implicados en la floración debido precisamente a que si se interrumpe la noche de 16 horas y se la corta en

dos partes, en vez de florecer las plantas de día corto y noche larga, florecen las de día largo y noche corta.

Si ahora lo que hacemos es interrumpir, pero luego de interrumpir mandamos un pulso de luz roja lejana, la señal vuelve a ser la de antes y la planta permanece como si nunca hubiera sido interrumpida la noche. En respuesta florecen las de día corto y noche larga.

El florígeno se genera en la hoja en condiciones inductivas de fotoperíodo

El experimento demuestra que algunas hojas están preparadas para recibir la señal de floración del fotoperíodo y otras no. Además el experimento demuestra que no es el meristemo el que recibe la señal del fotoperíodo sino una hoja.

Asilamos la planta en fotoperíodo no inductivo. Iluminamos solo una hoja madura de esa planta en condiciones de inducción y se ve que florece el resto de la planta aunque el resto se mantiene en condiciones no inductivas!!! Es decir que la señal es percibida por hojas!!!!

Pero si ahora hacemos lo mismo poniendo en condiciones de inducción a las zonas más inmaduras (meristemas y hojas inmaduras) no se consigue la floración!!!! O sea que la señal debe percibirse en zonas maduras de la planta. El florígeno debe estar generándose en la hoja en condiciones inductivas de fotoperíodo.

Ojo esta es la señal determinante de las hojas Esa señal además deberá viajar, porque si el florígeno se genera en las hojas y llega hasta los meristemas y los transforma en florales.

Sin embargo la señal es desconocida. Se supone que es compuesta, mixta. Se supone que depende de una ruta mediada por fitocromos, receptores de luz, etc. Las moléculas generadas (muchas) deben viajar hasta los meristemas para determinar esas células para que ahora recibiendo esa señal se induzcan los genes *Leafy*, *Apetala1*, etc. dándose la evocación de la floración. Se supone que las giberelinas (algunas especiales), la concentración de sacarosa que viaja hacia el meristemo y otras cosas (tal vez otras hormonas) son parte de esa señal. Además se ha demostrado que al menos en algunas cepas de *Arabidopsis* hay mRNA que viaja. Se supone que es la parte más determinante e importante del florígeno. Esos mRNA de herencia materna viajan y se expresan cuando se da la inducción floral y viajan hasta el meristemo floral. Parece cada vez más claro que esos mRNA que viajan a través de plasmodesmos son los implicados fundamentalmente en esa señal mixta que llamamos Florígeno.

De ahí que uno que agarra una planta y corta un esqueje maduro la planta enseguida florece. Pero si uno agarra un esqueje inmaduro con hojas todavía no preparadas para producir la señal de floración, la planta deberá madurar primero para luego poder dar lugar a la floración.

La inducción fotoperiódica aumenta la expresión de genes que aceleran la floración de manera que todas las plantas florezcan y maduren muy rápidamente.

Los fotorreceptores activan genes de floración que van a inducir posteriormente a los AP, etc. Genes como *CONSTANS* (CO) o *LUMINIDEPENDENS* (LD) están expresándose de forma constitutivamente. Pero en condiciones inductivas se sobreexpresan y es ahí cuando sus productos activan a los genes de floración como *Leafy* o *Apetala1*. En concreto, el *CONSTANS* se induce en los meristemas activándose por sustancias florígenas que viajan por el floema desde las hojas estimuladas en condiciones de fotoperíodo inductivo (lógicamente regulada por fitocromos, criptocromos, etc.). El gen *CONSTANS* de forma directa o indirecta activa a otro gen como es el *AGAMOUS-LIKE 20* que está antes de los genes como *Leafy* o *Apetala 1*. Ese gen *AG-LIKE-20* actúa como un embudo de la señal producida por *CONSTANS* e induce todos los genes de identidad meristemática. Otras señales de floración como las señales de giberelinas (en algunas plantas), o genes de temperatura también son recogidas por este embudo de ese gen *AG-LIKE-20*. De forma que cuando el gen *AG-LIKE* alcanza ya un nivel de expresión determinado suficiente, el producto de ese gen inducirá la

floración directamente. Inducirá a Leafy, al gen AP1, y esos a su vez inducirán a los genes homeóticos de las flores que son los encargados del desarrollo de los cuatro órganos florales. Da igual por qué señal las plantas finalmente desemboquen en ese gen Ag-LIKE, pero ese es el gen clave para la acumulación de la proteína AG-LIKE. Esto es puro modelo teórico no demostrado todavía.

Una cosa a destacar que veíamos ya antes es que el PHYA, CRY1 y CRY2 son genes cuyos productos activan CONSTANS. Mientras tanto, el producto de PHYB es lo que da lugar a la inhibición de CO.

La inducción es permanente y el florigeno se transmite desde la hoja inducida incluso tras varios injertos

Una planta de pimienta inducida para florecer mediante fotoperíodo inductivo – con los genes activos se trasplanta una hoja sobre otra planta no inducida a la que se le han cortado los meristemos laterales esa planta que recibe un injerto inductor florece sin necesidad de ella recibir fotoperíodo inductivo. De esta segunda planta agarramos el injerto y lo retrasplantamos a otra planta no inducida nuevamente florece. Así lo podemos hacer todas las veces que queramos. Es decir que la inducción de la hoja madura es permanente y el florigeno se transmite desde la hoja inducida incluso después de varios trasplantes.

El florigeno se transmite aunque haya sido recibido vía injerto

La inducción indirecta puede ser demostrada en experimentos de cortes. La señal inductiva es definitivamente epigenética dado que se puede transmitir desde una generación a otra sin necesidad de pasar por una etapa informativa en forma de código nucleico

El efecto de la vernalización sobre la inducción de la floración

La vernalización – el cambio de temperatura es otro de los grandes inductores de floración. Si ponemos una planta en hielo se supone que cuando la trasplantemos a condiciones más cálidas la planta florecerá. Sin embargo, si uno tiene las plantas siempre en frío no florecen nunca. Pero la vernalización implica un cambio de temperatura fría a caliente. Al florigeno se lo llamó vernalina aunque no se caracterizó. Vernalis quiere decir primavera en latín. Lo que induce la floración en las plantas no es el frío, sino el cambio desde una temperatura inferior a una superior. Una planta vernalizada (40 días a 4 grados) florece 3 semanas después del cese del tratamiento, con sólo 9 hojas. Una planta no vernalizada (crecida siempre a temperatura ambiente) no florece tras 100 días y se desarrolla solo en roseta.

Es decir que la floración puede acelerarse usando cámaras en frío. De hecho en Arabidopsis, en los laboratorios se hace así.

Lisenko, un botánico ruso, allá por principios de siglo XX fue el responsable de que la población bolchevique se mantenga sin hambruna. Lo que hizo fue vernalizar cereal de Siberia haciéndola que su ciclo se redujera. El cereal es una planta que florece en día largo, pero como se desarrollan en primavera, en invierno se suelen perder grandes cultivos y por lo tanto siempre la producción es reducida. Pero Lisenko desarrolló cereales que se siembran terminando el invierno y que enseguida florecen. Hay un cambio de temperatura y florecen enseguida. No necesita el cereal un crecimiento raro. Son los cereales clásicos que se dan en climas fríos norte de Japón, Siberia, Canadá, Alaska, etc.

La vernalización inhibe la expresión del gen FRIGIDA (FRI), un sensor de temperatura

Es aparentemente el sensor de temperatura en plantas. Se expresa justo precisamente cuando hay un cambio de temperatura. Es un gen que se expresa cuando la temperatura está constante y un cambio de temperatura hace que deje de expresarse. O sea que solo deja de expresarse en vernalización. No se ha dicho nada más.

Parece que tiene que ver con el fenómeno, pero todavía no se ha visto sus efectos sobre las cascadas de señalización de floración ya vistas de una forma directa.

El gen FRIGIDA deja de expresarse en condiciones inductivas. Es decir que sería un enemigo del CONSTANS. Pero todavía no se vio bien todo el tema.

El efecto de la vernalización también es epigenético (se transmite a las siguientes generaciones celulares)

Una planta vernalizada, en el momento en que se da el cambio de temperatura la planta florecería. Pero si se agarra un extracto y se cultiva el explanto de la planta vernalizada, la planta regenerada florece enseguida.

Una planta no vernalizada, se hace un explanto y se cultiva y la planta regenerada no florece.

El experimento lo hizo Metzger y demuestra el efecto de la vernalización a nivel celulares bastante interesante el producto de FRIGIDA evidentemente se reparte entre las células hijas o algo así Tal vez FRIGIDA metila histonas, etc. el asunto está todavía por elucidar.

La inducción floral es multifactorial

La vernalización inhibe la expresión del gen frígida y esos genes eran inhibidores directos o indirectamente del AG-LIKE por lo tanto se desinhibe el AG-LIKE en vernalización. La otra vía de inducción es la vía autónoma y más o menos se sospecha que depende del número de hojas. La vernalina se produce en el meristemo apical a diferencia del florígeno. La señal inductora debida a la vernalización se produce directamente en los meristemas. De la misma forma sucede con la vía autónoma. Otras vías dependen del contenido de sacarosa o giberelinas en el meristemo apical. Se denominan vía de la energía y vía GA. Sin embargo, estas están todavía por verse.

La mayor parte de grupos de investigación en fisiología vegetal que se mueven en el planeta tratan de ganarse el dinero mediante el estudio del control de la floración debido a que es el tema de mayor interés desde el punto de vista económico.

La inducción floral es multifactorial II – inducción por fotoperíodo o por vernalización o por las dos cosas

La floración puede producirse por un cambio de día corto a día largo o por un cambio de frío a día largo o por un cambio de frío a calor o por un cambio de día corto a calor o por un cambio de giberelinas.

DESARROLLO REPRODUCTIVO

Cortando las anteras por el medio encontramos el saco polínico. Dentro tenemos el polen – con la célula madre polínica ($2n$) que se divide dando lugar a las 4 microsporas (n). Eso constituye luego el grano de polen maduro.

Por el lado femenino, en el gineceo, el óvulo diferenciará su célula $2n$ en una célula madre megaspórica. Esa se dividirá dando las 4 megasporas (n) que luego darán lugar al saco embrionario constituido por los 8 núcleos, 3 superiores, 3 inferiores y los 2 nucleos centrales.

Tanto en las anteras como en los pistilos, el desarrollo de los gametos es bastante similar. Primero hay un proceso meiótico a partir de la célula madre que generará las esporas, microsporas masculinas o megasporas femeninas. Esas esporas luego por mitosis y diferenciación celular germinal darán lugar por un lado al grano de polen y por otro lado al saco embrionario. La primera fase es la formación de esporas (esporogénesis, micro o mega). La segunda es la formación y desarrollo de gametos (gametogénesis, micro o mega).

Los gametos en las plantas no son formas mononucleadas unicelulares como en los animales. Es decir que son formas más complejas en las que hay núcleos vegetativos y núcleos fértiles todos mezclados y que en conjunto forman parte de lo que llamamos gameto.

En los sacos polínicos están las células madre rodeadas por el Tapetum (tapete). Esas células madre dentro de su pared celular sufren meiosis y de cada célula madre se obtendrá una tétrada de células idénticas (n) que se individualizan. El polisacárido de esa pared no es el típico de celulosa. Es un polisacárido de manosa y otros azúcares raro y se denomina callosa. A partir de esas tétradas cada una de esas 4 células va a dar lugar a un grano de polen en última instancia. El tapetum, entre otras cosas produce callasa, la enzima que rompe la pared de callosa. Libera 4 microesporas. Esas 4 microesporas sufren mitosis cada una dando lugar a dos núcleos y dos sistemas de pared celular, una pared interna formada por celulosa–callosa y una pared más externa. Esa pared externa es discontinua (tiene poros y huecos) y está formada por Esporopolenina, un polisacárido específico de microesporas maduras. La síntesis de la esporopolenina depende en gran parte de la actividad del tapetum (todo esto recordemos que está sucediendo en los sacos polínicos). Ocurrido esto, el tapetum comienza a degenerar y ahora lo que tenemos es un gran número de pro–granos de polen. Las microesporas ahora están libres en las anteras. A partir de ahí se da un proceso de maduración de las microesporas hacia la formación de lo que es el grano de polen en sí. Adquieren la morfología precisa, etc. En ella, la mitosis asimétrica da lugar a los dos núcleos antes mencionados. Uno queda dentro de la vacuola de la microspora y el otro se queda en el citoplasma. El núcleo espermatóico es el que está dentro de la vacuola. El núcleo vegetativo será el que está en el citoplasma. El núcleo espermatóico posteriormente sufrirá otra mitosis más para dar lugar a 2 endocélulas espermatóicas. La parte vegetativa dará lugar al tubo polínico que penetrará en el pistilo y permitirá el transporte de los núcleos fértiles que serán los que fecundarán a los dos núcleos centrales que tiene el saco embrionario. Es importante destacar que la segunda mitosis, la que da lugar a las 2 células espermatóicas de la doble fecundación es un proceso que se desencadena en el momento en que el grano de polen toca el estigma del pistilo.

La maduración final del grano de polen se debe a una deshidratación (lío-filización) y a que se rodea de una cubierta que son restos celulares del tapete – lípidos, proteínas de las células anteriores que tapizan al grano de polen. Parece una tontería pero de esa cubierta, de ese tapiz depende el reconocimiento posterior del grano de polen por el estigma y la reacción antes mencionada que permitirá la rehidratación, la generación del tubo polínico, su extensión, el transporte de los núcleos espermatóicos, etc. Ese tapiz es el que estará encargado de imposibilitar la autofecundación de plantas que no pueden autohibridar.

La cubierta interna del grano de polen es una pared clásica de callosa–celulosa que se llama intina (pared continua o 1ª). La pared discontinua específica del grano de polen se denomina exina y es rica en esporopolenina (pared 2ª). Esa pared normalmente es una pared que tiene una deposición en formas geométricas dando lugar a decoración muy espectaculares en los granos de polen. Es discontinua y es fundamental que lo sea para que el tubo polínico pueda salir de ahí . Es así que es fundamental que algunas enzimas (del tapetum) consigan esos poros. Además los poros no pueden estar solo en algún sitio. Debe haberlo en todos los lados dado a que el grano de polen no sabe de qué cara caerá en el estigma.

En la mitosis asimétrica del principio solo se expresarán genes de la célula vegetativa, del núcleo vegetativo. El núcleo fértil no lleva citoplasma, factores de transcripción, etc. Está extremadamente condensado y la cromatina no presenta expresión. Sería análogo al núcleo de un espermatozoide. Es más la maquinaria para la segunda mitosis que ocurrirá y dividirá ese núcleo fértil en 2 la aportará también el núcleo vegetativo del polen.

Ese núcleo vegetativo sí expresa unos 250 genes implicados todos ellos en la maduración y fecundación del polen. Gran parte de esos genes (más o menos específicamente) dan lugar a proteínas que cada vez más fastidian a la población humana mundial (los alérgenos del polen).

La gametogénesis femenina se entiende mucho menos. Fundamentalmente ocurre igual a nivel básico. A

partir del megasporocito por meiosis se forman 4 núcleos. De esos 4 degeneran y pasan a formar las tecas, etc. otros tejidos protectores. Eso sucede igual que en animales. Solo una se queda con gran parte del citoplasma de las demás y generan la megaspora funcional. A partir de ahí se dan tres mitosis, algunas de ellas asimétricas para generar un sincitio de 8 núcleos al principio. En algunas especies luego esos núcleos se individualizan. A veces, los 2 núcleos centrales o polares se fusionan dando lugar al núcleo del saco embrionario (NES – 2n). Los tres núcleos superiores son las células de la antípoda. Los tres núcleos inferiores son las 2 sinérgidas y la célula huevo (la célula cuya fecundación dará lugar al cigoto propiamente dicho). Esto es típico en Arabidopsis y dicotiledóneas. Pero en monocotiledóneas lo que sucede es diferente. En maíz los núcleos no se fusionan. Es más, hay solo un núcleo polar. Pero en el saco embrionario de Arabidopsis las células antipódicas degeneran, mientras que en maíz no.

Expresión génica durante la gametogénesis femenina en orquídeas

Lo poco que se sabe es gracias a las orquídeas. O tienen su tierra o no germinan como ya sabemos. Pero al contrario son tan majas que no desarrollan los gametos hasta que son polinizadas. Recién cuando el polen es recibido por el estigma se desarrolla el saco embrionario. Se generan las megasporas en los carpelos pero solo cuando cae un grano de polen en el estigma comienza la mitosis y la diferenciación del saco embrionario. Eso hace que el desarrollo femenino sea lo suficientemente lento como para estudiarlo. Se conocen los genes y proteínas que se expresan o dejan de expresarse a lo largo del transcurso de días. No se han extraído demasiadas conclusiones.

Además, como no se encontró todavía un sistema para estudiar el desarrollo de una forma correcta. Eso es porque por flor suele haber uno o pocos gametos. Es así que hay muy poco material en concreto para llevar cosas de esas.

TEMA 24 – FECUNDACION Y FRUCTIFICACION

El embrión generado debe protegerse y además el embrión debe tener un mecanismo de dispersión. Para que haya una densidad de población adecuada, tenemos dos estrategias: dormición de semillas y otro generar órganos de dispersión que no son las semillas en sí sino el fruto por ejemplo. Una vez marchita el fruto, la semilla puede moverse, etc. Pero otros sistemas son alas, etc.

El fruto como vemos es análogo a una placenta animal. Es un órgano femenino. Se desarrolla a partir de los tejidos vegetales de la planta que actuó como hembra. No es necesaria la fecundación para que se genere un fruto y hay toda una industria y tecnología dedicada a conseguir frutos no fecundados.

Las partes de un fruto son un coñazo. La primera parte del proceso de la fecundación en vegetales implica el reconocimiento o no del grano de polen por el estigma femenino. El proceso se denomina polinización. El grano de polen es un cristal deshidratado que cae en un estigma (algunos tienen papilas para ayudar la retención del polen o tienen proteínas adhesivas, etc., mucopolisacáridos). Una vez el polen cae en el estigma tiene que ocurrir una rehidratación del grano de polen para que él pueda sacar el tubo polínico. La rehidratación depende de la famosa cubierta de basura del tapiz del grano de polen. Para plantas que evitan la autopolinización, si ese tapete tiene proteínas de la misma planta que está recibiendo el polen, con mucha frecuencia el polen es rechazado y no se hidrata. Pero si las proteínas del tapete que tiene colgadas como suciedad no son reconocidas sí habrá hidratación. Se reconoce el grano como de otra planta.

Polinización – interacción Polen–estigma

El polen es recibido y adherido a las papilas estigmáticas. La cubierta del polen presenta unas proteínas específicas y luego unas proteínas de adhesión al igual que unas proteínas y glucoproteínas de la exina

llamadas ligando del polen. Generalmente la fructificación solo necesita la interacción de polen con la papila. En el momento que esas proteínas se reconocen se da la señal y ya se forma el fruto que será partenocárpico (sin semillas – aplicaciones industriales interesantes). Al principio se da la adhesión gracias a las proteínas del polen. Luego ya se da el reconocimiento.

El reconocimiento por parte de la papila lo llevan a cabo unas proteínas transmembrana que reconocen el ligando que tienen dominios kinasas y que se llaman SRK.

Hay papilas más o menos promiscuas. Las más promiscuas podrán recibir más tipos de granos y lo reconocerán menos íntimamente. Las plantas más históricas solo pueden polinizarse por polen con una gran distancia específica de la flor. Las más promiscuas pueden incluso autofecundarse sin problemas. Pero eso depende de las células.

El canal MOD de agua (una acuaporina) se abre en las papilas dejando que el agua fluya a favor de potencial hídrico hasta la papila para que hidrate el polen a través de sus poros. El polen formará el tubo polínico. Una vez hidratado activa su metabolismo y seguirá adelante con el proceso que terminará en la fecundación.

Un rechazo del grano de polen hace que los canales no se abran y así el grano no hidratado será desplazado por el viento, etc.

Crecimiento del tubo polínico

Reactivado el metabolismo de la célula vegetativa comienza el proceso de crecimiento celular que desembocará en que se de una segunda mitosis (del único núcleo espermático en dos núcleos espermáticos) y que se expresen genes que lleva al desarrollo de una prolongación citoplásmica forrada de citoesqueleto llamada tubo polínico. Solo está acompañada de intina (no lleva exina). Atraviesa uno de los poros de exina y se prolonga por el estigma hasta el estilo por el que descenderá hasta el ovario. Crece siempre por el hueco hidratado que está en contacto con el estigma. El crecimiento es clásico los microtúbulos permiten también organizar las vesículas que irán transportándose hacia el extremo final.

Se forman unos discos de callosa para impedir que los núcleos y la maquinaria metabólica vuelva hacia atrás a medida que migran los elementos. Lo que será realmente el gameto masculino es esto – el grano de polen con el tubo polínico dentro del cual van los núcleos espermáticos (masculinos). Es la última parte de la maduración–diferenciación de la gametogénesis masculina. Eso está realmente listo para fecundar.

El tubo polínico necesita energía para ese crecimiento vegetal y el aporte lo recibe del estilo

La chicha para que el tubo polínico crezca proviene de las células del estilo. Esas son las mismas que producen el néctar de vegetales. Se consiguen y purifican extractos y exudados estilares en un experimento y se colocan tubos polínicos pregerminados en una placa con algo de ese exudado. Luego de un rato se ve que los tubos polínicos brotan y se ponen vivos. Eso demuestra que los nutrientes están en el estilo y no en el estigma ni en el mismo grano de polen.

Al tiempo, dentro del ovario se están generando los tejidos de los tegumentos, las tecas, etc. Lo interesante es que el micrópilo es el poro por el que se entra a la nucela desde el exterior del ovario. Luego hay un tejido que se denomina nucela en el cual está inmiscuido el saco embrionario. Es un tejido nutritivo. La nucela está rodeada por los tegumentos interno y externo. La posición del micrópilo en la planta es importante para la taxonomía. Generalmente los ovarios están al azar. Al incubar los tubos con los ovarios, los tubos se doblan y van buscando los micropilos de los ovarios. Es decir que algún tipo de señal se exuda o llama a ese tubo polínico. Se piensa que tiene que haber algo que dirija la quimiotaxis. Si estamos en período fértil el tubo polínico deja de crecer ya entrando al micrópilo. El ápice se desarma y salen los núcleos vegetativos. Una de ellas fecunda a la célula huevo dando lugar al embrión y la otra en angiospermas (en gimnospermas no hay

doble fecundación) fecunda a la célula del saco embrionario dando lugar al núcleo triploide del endospermo. Pero hay un problema sabemos que la mitosis del tubo polínico masculino era asimétrica ¿qué núcleo fecunda a qué?

Se sabe que está previamente determinado mediante influencia materna polínica (sobre todo mediante mRNAs heredados de los tejidos maternos del grano de polen los que dicen cuál de los dos núcleos masculinos que serán generados fecundará a qué célula los dos núcleos espermáticos no son idénticos uno de ellos está previamente destinado a fecundar a la célula huevo y el otro a fecundar a los núcleos del saco embrionario).

Una serie de glucoproteínas decorativas de la membrana nuclear del núcleo espermático será la responsable de que sea ese núcleo el que fecunde a la célula endospermática mientras que la que no posee glucoproteínas será la que fecunde a la célula huevo (a veces al revés). Del lado femenino, sobre todo en gramíneas, se da la existencia de cromosomas B, cromosomas extra desapareados que dan lugar a una célula con un cromosoma más que la otra. El núcleo huevo suele ser la que lleva el cromosoma B extranumérico.

El período de polinización lo determinan la longevidad del óvulo y la velocidad de crecimiento

Una cosa es que el tubo polínico crezca y la entrega de núcleos se de y otra muy diferente es que se efectivamente la fecundación. Eso dependerá de muchos factores biológicos y ambientales.

Después de la polinización hace falta un par de días o 3 para tener óvulos maduros y fértiles que puedan ser fecundados. El desarrollo del tubo polínico toma 5 días. Pero la longevidad del óvulo dura solo 7 días. Es así que desde que cae el primer polen fértil hasta que se recibe el último grano de polen que podrá fertilizar tendremos solo 4 días de polinización efectiva. Es lógico que es importantísimo el mantenimiento genético de los ciclos circadianos para que la sincronización del desarrollo del tubo, la polinización, la liberación del polen, etc. coincidan con la fecundidad femenina. Es lógico que sean esos los factores que afecten la floración no?

Factores que afectan el desarrollo de la polinización

- **humedad** muy baja hace que la papila estigmática esté seca y que la hidratación del grano y la extensión del tubo tarden a veces demasiado se reduce el período de polinización efectiva la humedad muy alta puede provocar que (¿?)
- una **temperatura** muy baja retrasa el proceso, pero una muy alta implica deshidratación hace que se seque el estigma o el polen demasiado
- una humedad excesiva o una temperatura muy alta afecta haciendo que los **insectos** polinizadores estén o no estén, etc. y así de ellos también dependerá la polinización

Esto lógicamente hace que sea muy dificultosa la polinización en zonas muy extremas. De hecho es clave la situación de algunas flores tropicales. Muchas plantas, sobre todo de zonas tropicales se abren solo cuando el sol está en posición cenital. Esas flores solo podrán polinizarse durante esos momentos en que están abiertas.

La esterilidad de algún gameto evita la autopolinización

El desarrollo de las flores monoicas (las que tienen los dos sexos) La probabilidad de que una planta se autofecunde es elevada (desde el punto de vista espacial-físico simplemente). Es decir que la autofecundación se ve. Es una ventaja desde el punto de vista de asegurar la reproducción pero se pueden acumular con el tiempo mutaciones, etc. que podrían dar lugar a delección de individuos. Es así que muchas flores favorecen la fecundación cruzada. Algunos de ellos incluyen el mecanismo de esterilidad. Plantas que directamente tienen un programa de esterilidad de androesterilidad o ginoesterilidad (alguno de los dos órganos o gametos no maduran). O bien se produce esterilidad citológica – alteraciones de las meiosis durante la gametogénesis

impidiendo la formación de gametos. La última esterilidad es la llamada incompatibilidad homocigótica. El polen no puede fecundar flores por una de dos razones hay una autoincompatibilidad (no puede fecundarse por la misma planta) o incompatibilidad de cruce (no puede fecundarse por plantas cercanas – solo por plantas de otros cultivos).

La fecundación cruzada también puede promoverse por un proceso denominado dicogamia. Los dos órganos sexuales maduran a dos tiempos distintos unos de otros haciendo que jamás se encuentren el desarrollo polínico y el desarrollo del óvulo para que solo pueda haber polinización efectiva en las flores en las que nos conviene.

Uno de los factores de androesterilidad es un factor citoplasmático de herencia paterna uniparental en el polen. El hecho depende de algo que todavía no se sabe concretamente cómo es. Lo que sí se sabe es que es herencia citoplásmica. Ese polen es estéril debido al citoplasma que hay en el tubo polínico y es estéril solo si existe un intento de fecundación en la propia planta. Sin embargo, si la planta es otra distinta u otro cultivar (otro clon) puede haber un factor citoplasmático en el receptor femenino que contrarreste a ese factor de esterilidad y las células germinativas pueden realmente fecundar a la planta. Hay otros mecanismos que sí están basados en cosas genéticas claras, pero ese es bastante peculiar por el hecho de que la herencia no siempre es nuclear y esto es un ejemplo.

La autocompatibilidad sin embargo generalmente es mendeliana. El ejemplo es el sistema de autoincompatibilidad S_n . Existen genes S (self-incompatibility) de tipo 1, 2, 3, etc. El mismo alelo de autoincompatibilidad hace que haya rechazo. Así se evita la autofecundación. Una planta tendrá polen con el gen S_1 y por supuesto su pistilo será S_1 también. Es así que lógicamente

Pero el S femenino y el S masculino no son realmente el mismo gen. Es decir que no es ni el mismo cromosoma, son dos cosas distintas. El gen S masculino generalmente da lugar a una glucoproteína de la membrana del polen mientras que el gen S femenino tiene como producto generar el fenotipo que induce la actividad RNasa dentro del tubo polínico para evitar el desarrollo del tubo polínico.

Un polen S_2 intenta fecundar un pistilo que es S_2 – S_3 (recordemos que el estigma es diploide y tiene ambos alelos) será rechazado dado que la actividad RNasa se da en el tubo y así, degradados los mRNA cesa el desarrollo del tubo polínico.

Un polen S_1 que intenta fecundar no desencadenará en la planta el reconocimiento que culminará con la activación de las RNAsas polínicas y como resultado inhibirá la expresión de la autoincompatibilidad. Así el tubo polínico podrá desarrollarse correctamente y se dará la fecundación correctamente.

Pero eso es la autoincompatibilidad gametofítica. Pero además las plantas pueden reconocerse mediante el esporofito también en la llamada incompatibilidad esporofítica (también se llaman genes S pero que dan lugar a unas cosas completamente diferentes). Recordemos que el polen tiene una exina recubierta por restos del tapetum. Y el estigma es esporofito (es una hoja modificada) $2n$. Eso hace que pueda haber reconocimiento también al mismo nivel. Así, un grano de polen generado por una planta S_1S_2 tendrá un tapetum S_1S_2 y si intenta fecundar una planta S_2S_3 eso será imposible (aún cuando su gametofito, es decir, sus esporas fueran S_1) debido a que será reconocido como propio y no se abrirán los canales y no se hidratará para que pueda germinar. Un grano de polen cuyo tapetum fuera sin embargo S_1S_4 sí podría fecundar sin ningún problema, abriría canales de agua y por lo tanto se hidrataría, etc. Digamos que siempre tenemos que considerar los dos tipos de autoincompatibilidad S , la GSI y la SSI.

Los genes S son altamente polimórficos. Es una serie alélica enorme con una gran hipervariabilidad. Los polimorfismos en los vegetales son mucho más polimórficos que en los animales. Así es que la planta de al lado podría tener otro tipo de alelos S .

Es también de destacar que en el sistema de autoincompatibilidad siempre tenemos genes codominantes en las partes diploides, típico de los sistemas de autocompatibilidad en animales también (pensemos en el sistema ABO sanguíneo o en el HLA humano y proteínas marcadoras del MHC-II).

Cuando un polen compatible se despega, queda un menisco de agua y deja parte de la cubierta pegada al estigma. Puede llegar ahora un polen incompatible, caer ahí y enmascararse la incompatibilidad. En resumen LA AUTOINCOMPATIBILIDAD ESPOROFITICA DEPENDE DE LAS PROTEINAS DE RECONOCIMIENTO DE PARTES ESPOROFITICAS

De la misma forma, si primero se cubre el estigma de polen de la misma planta, incompatible y luego viene un polen compatible, será considerado incompatible y es así que se jode.

FASES DE DESARROLLO DEL FRUTO

Basta con un estímulo partenocárpico para que los tejidos del embrión maduren hacia un fruto con la ayuda de señales hormonales. Los que nos solemos comer suelen ser partenocárpicos (naranjas, etc.).

La fructificación tiene 3 etapas:

– mitosis de los tejidos del ovario – aumento de la proliferación controlada del número de células pero un aumento de volumen muy pequeño... (efecto de las citoquinas y giberelinas)

– fase del desarrollo del volumen – acumulación de agua, etc. (fundamentalmente debido al efecto de auxinas)

– senescencia, muerte de tejidos y cambios del metabolismo – maduración: donde antes se sintetizaba y almacenaba almidón, éste ahora se degrada a disacárido dándole el sabor dulce al fruto todo va acompañado de mucha actividad peptidasa (rotura de paredes celulares, muerte de células, etc. típicas del efecto de etileno y el ácido absísico)

En función de cómo madure el fruto (dependiendo del etileno) tendremos frutos climatéricos o frutos no climatéricos. En la última etapa, en algunos frutos hay un pico final de etileno en su senescencia en el que hay un pico de la respiración y la actividad lítica y peptidasa y se llaman climatéricos. Los que no responden simplemente tienen un perfil descendiente de la respiración sin que haya síntesis de etileno en ningún momento.

Esto se puede comprobar experimentalmente. Según va madurando el plátano puede teñirse con lugol. Algunos frutos acumulan mucho almidón y tienen mucha respiración y así se tiñen al principio con más lugol. Hacia el final casi no hay respiración y generación de electrones y ahí se ve que no hay lugol unido.

En la senescencia se van degradando la clorofila y se da la síntesis de otros nuevos pigmentos, perdiéndose el color verdoso del fruto y virando hacia otros colores. Algunos mutantes del tomate se han conseguido modificando la actividad peptidasa mediante técnicas transgénicas. Así se logra que estén rojitos y lindos y no marrones cagados ni verdes inmaduros.

DESARROLLO REPRODUCTIVO DE LAS ESPERMATOFITAS

- floración
- gametogénesis
- fecundación
- embriogénesis (desarrollo de semillas) – algo que en parte ya vimos pero que terminaremos de ver ahora

CONTINUAMOS LA EMBRIOGÉNESIS viendo lo que viene antes de lo que vimos en la primera parte del segundo semestre

La semilla conlleva sin embargo bastante más que el embrión es un órgano de individualización de la planta hija y por tanto un órgano de dispersión es imprescindible para que los hijos no nazcan encima de la madre y que de repente una madre sea aprovechada y matada por sus hijos

Vimos ya mucho de la germinación, dormición, y hemos hecho una práctica específica para poder pasar bastante de lo que vimos de germinación aunque debemos tocarlo aunque sea un poco

Recordamos algo del desarrollo del embrión tema 15 o por ahí

Pero el otro tejido fundamental de la semilla es el endospermo—cotiledones Es fundamental ver eso también y además tenemos que contarlos en la pregunta del examen que ya nos lleva 4 meses diciendo que va a caer

En la embriogénesis detectamos 3 fenómenos: desarrollo del embrión, desarrollo del endospermo y desarrollo de los cotiledones. La embriogénesis también requiere la generación de unas cubiertas impermeables para el agua y agentes químicos y biológicos que en general se denominan TESTA (cubiertas seminales).

Excepto en algunas leguminosas, en dicotiledóneas el endospermo es transitorio y se desarrollan cotiledones.

La doble fecundación da por un lado lugar evidentemente al embrión que tiene unas etapas de desarrollo que ya vimos y que tendremos que contar en el examen. Por otro lado la fecundación con los núcleos endospermicos da lugar al desarrollo del endospermo (el tejido nutritivo de las semillas – donde enfocaremos el tema de hoy).

EL DESARROLLO DEL ENDOSPERMO

Pasa por distintas fases una vez producida la fecundación. Existe una actividad de mitosis pero en la mayor parte de los casos esa mitosis es simplemente división del núcleo (no hay citocinesis no se forman paredes celulares).

Parte 1– De forma que se consigue un estado de desarrollo primario denominado sincitial. Es una única célula multinucleada (hasta 50–100 mil núcleos en una célula única enorme). Aparte desarrolla una gran vacuola central de forma que los núcleos son empujados hacia la periferia de ese sincitio. Los núcleos serán como sabemos triploides

Parte 2– Ocurre una celularización se desarrollan paredes celulares formando una red que encierra a todos los núcleos y que además deja células sin núcleo. El tamaño del endospermo no varía, simplemente el sincitio se va tabicando. Esa fase se denomina por ello celularización. En algunas plantas tanto la parte 1 como la 2 están unidas en una única fase.

Parte 3– Una vez celularizado el tejido triploide se comienzan a diferenciar las distintas fases. Es la fase de diferenciación. Las capas periféricas expresan una serie de genes para desarrollar vesículas líticas, proteínas digestivas y constituyen la aleurona. Las células centrales que muchas, la mayoría son enucleadas directamente almacenarán una gran cantidad de sustancias nutritivas, primero azúcares y aminoácidos y precursores de ácidos grasos.

Parte 4– El producto final es que cesa la mitosis y ya están diferenciadas las células en distintos tipos. Tendremos ya un endospermo amiláceo que sintetizará y acumulará almidón, proteínas (en menor cantidad que el almidón) y cuerpos lipídicos. La aleurona ya está constituida y preparada por completo.

Descarga apoplástica de fotoasimilados al endospermo

No hay nunca un contacto directo entre el endospermo de la futura planta y los tejidos de la nucela (la placenta vegetal). La vascularización (la cantidad de plasmodesmos en las paredes de las células del floema y las células acompañantes que llevan cosas al sumidero) va aumentando hasta que la nucela. Es así que se dice que hay un embudo de nutrientes, cada vez más vascularizado para así llevar los alimentos al embrión. Es el más claro sumidero.

Los nutrientes se vacían al endospermo siempre por una cavidad en su desarrollo donde la nucela va vaciando esos nutrientes. No necesita así haber un contacto plasmodésmico entre los dos tejidos.

Prácticamente toda la semilla era endospermo amiláceo. En una dicotiledónea el endospermo es un tejido pequeño y temporario. Los cotiledones son tejidos embrionarios ya. Serán los que realmente acumularán las sustancias nutritivas. El endospermo solamente se ocupará de conseguir que los cotiledones aparezcan.

Acumulación de reservas en semillas no endospérmicas

En una etapa joven recibe sacarosa de las cubiertas de la madre. Después de la descarga de la nucela una invertasa la rompe en fructosa y glucosa. La glucosa es llevada a los cotiledones donde se polimeriza a sacarosa nuevamente. Llegarán aminoácidos aminados como glutamina, asparagina (los que llevan más nitrógeno de lo normal) y llegarán precursores de aminoácidos (esqueletos carbonados) para formar aminoácidos y proteínas. En las primeras fases de reserva de nutrientes tendremos sacarosa, aminoácidos y ácidos orgánicos. Cuando madura el desarrollo del cotiledón o del endospermo, ahora la sacarosa se polimerizará a almidón en los cotiledones. Los aminoácidos y los ácidos tricarbónicos generarán proteínas y habrá otras reservas más.

En las semillas oleaginosas se sintetizarán aceites a partir de los plastos y cloroplastos

Se sintetizan aceites que se almacenarán como cuerpos lipídicos que son invaginaciones del REL.

Las proteínas se procesan de una forma muy característica

Se forman cuerpos proteicos. Hay dos rutas. Una de ellas implica el RER y procesamiento posterior en Golgi y acumulación en las vacuolas proteicas o cuerpos proteicos vacuolares. Por otro lado hay proteínas que no requieren procesamiento en Golgi y que se acumulan directamente en la luz del RER donde se están sintetizando formándose cuerpos proteicos como polisomas de prolamina, etc.

Acumulo de sustancias muy importantes – Síntesis de Sales de Fitato

Las sales de fitato son sales de monosacáridos esterificados con grupos fosfato. Ya comentamos en prácticas que lo primero que tiene que ocurrir para la germinación es primero la hidratación y luego la activación rápida del metabolismo. La energía se obtiene a partir de rotura de enlaces fosfato. Esos enlaces fosfato en vez de acumularse en forma de cristales de ATP (que por cierto no cristaliza) se acumulan en forma de sales de fitato. Cada fitato puede almacenar hasta 3 enlaces. Se acumulan en vacuolas, etc.

Durante la maduración, el ABA induce la síntesis de proteínas LBA de tolerancia a la desecación y la dormición primaria

En general el desarrollo de las semillas conlleva tres fases, la fase de embriogénesis (que implica el desarrollo de endospermo y en todo caso cotiledones, la diferenciación de las cubiertas), la fase de maduración y la fase de desecación o desarrollo tardío en la que la concentración de ABA baja. Las semillas se deshidratan. Durante la primera fase se desarrollan los tejidos de la semilla. En la maduración, la semilla termina de

acumular sustancias de reserva y lo más importante que ocurre es lo siguiente:

- se prepara para la posterior desecación (para el estrés hídrico que sufrirá) e
- impedirá su germinación en los propios tejidos de la madre

El ABA inhibe la germinación de la semilla. Aumenta mucho durante la maduración induciendo la dormición primaria o precoz y se sintetizan proteínas de resistencia a la desecación (LEA proteins, Late Embriogenesis Associated Proteins). Luego en la fase de desecación se pierde el agua que tenía (era un tejido metabólicamente muy activo, y hay que frenar ese metabolismo). Una vez ya se secó la semilla el ABA disminuye ya que no es necesario inhibir su germinación. Así, la dormición secundaria es la que depende de la desecación de semillas. Es una dormición más constante.

Organización de la pregunta que seguro va a caer – desarrollo :

- floración
- gametogénesis
- fecundación
- desarrollo del embrión
- desarrollo del endospermo
- desarrollo de las cubiertas
- dormición de la semilla

Primera fase del desarrollo vegetativo de las plantas: GERMINACION de la SEMILLA

En muchas plantas, la hidratación de la semilla y la temperatura son los dos factores que inducen la germinación de la semilla. La inducción es activar el metabolismo del embrión, que el embrión comience a sintetizar giberelinas y las giberelinas induzcan las amilasas y proteasas en la capa de aleurona o en los cotiledones que hidrolizarán las reservas para que el embrión coma y desarrolle, extendiendo raíz y tallo. En muchos casos hidratación y temperatura basta.

En algunos casos, además de la hidratación y la temperatura adecuada, hay algunas semillas cuya germinación necesita de la activación por luz. Los fitocromos no están implicados en muchas, pero en muchas otras sí. Lo vimos en el tema de fitocromos. Existe un modelo hipotético sobre como funcionan las semillas que germinan por luz roja.

Al hidratarse y aumentar la temperatura, la fluidez de las membranas por la temperatura aumenta y un precursor que podría ser un receptor de fitocromos se expone en la superficie de la semilla. La proteína X se expone en el tejido y esa molécula es posible que necesite de algunos cofactores como el nitrato para ser un receptor de fitocromo activo. En ese momento de alguna forma esa molécula podrá interactuar con Pfr (fitocromo activo que ha recibido luz roja cercana). Esa interacción desencadenaría una ruta de transducción de señales que llevará a cabo en última instancia la síntesis en el embrión de GA. En otros casos, más rústicos, la simple hidratación del embrión y una temperatura adecuada es suficiente como para que se active la síntesis de GA.

Procesos que tienen lugar durante la germinación

Lo primero que ocurre al embeber las semillas es hidratarse. A partir de la entrada masiva de agua, ya desde el principio comienza la síntesis de proteínas y la respiración. Algunos solutos almacenados se pierden en ese proceso. En pocos minutos se activa el metabolismo del embrión. Primero se activa el metabolismo anaerobio, algo que nosotros no vimos en prácticas. Pero luego ya comienza el metabolismo aerobio.

Ya en una segunda fase comienza la síntesis de proteínas a partir de RNAs nuevos (y no maternos).

La post-germinación implica ya la división celular, la síntesis de DNA, la movilización de reservas, la elongación de la radícula, etc.

Control hormonal del desarrollo de semillas y la germinación

El desarrollo de semillas y la germinación viene regulada por un balance hormonal determinado. Cuando hay que hacer muchas divisiones celulares debe haber auxinas y citoquininas. Cuando hay que elongarse habrá auxinas. Cuando necesitamos dormición primaria habrá ABA, etc. El GA aparecerá en la germinación como sabemos. Es un cuadro resumen.

TEMA 26 – PROCESOS DE MUERTE CELULAR PROGRAMADA EN VEGETALES

Una parte del desarrollo del organismo implica la muerte de algunas células. El desarrollo de algunos tejidos es así, tanto en algunos animales como en vegetales. En los vegetales, además, para el modelado y la escultura de la planta, además de eso hay un fenómeno de muerte celular denominado senescencia que es uno de los procesos que permite que nosotros tengamos plantas plurianuales que puedan sobrevivir a lo largo de los años. La caída de la hoja, la caída del fruto, de la flor, son procesos indispensables para la planta una vez llega el otoño (agostamiento).

Hay dos procesos de muerte celular programada en las células vegetales. Si miramos los libros, hay un capítulo denominado muerte celular programada y un capítulo denominado senescencia. Realmente son dos tipos de muertes celulares programadas. En plantas no existe apoptosis (del griego caída de hojas) como en los animales. Pero sí existe muerte celular programada. La gran diferencia entre senescencia y muerte celular es que la senescencia es reversible (hasta llegado un punto en el cual es irreversible). La muerte celular programada es irreversible una vez comienza. Cuando a una célula le llega la señal de muerte celular la célula empieza a morir y morirá irreversiblemente. Cuando llega una señal de senescencia, entra en una fase de muerte, pero eso es reversible hasta casi los últimos momentos del proceso.

- 1) La formación de megásporas femeninas tienen muerte celular programada
- 2) La degeneración del suspensor tiene muerte celular programada
- 3) El desarrollo del endospermo y la aleurona
- 4) El desarrollo de tricomas en las hojas
- 5) Respuesta hipersensitiva para la resistencia a enfermedades
- 6) La formación de elementos traqueolares
- 7) La muerte celular en caliptra
- 8) La formación del aerénquima
- 9) La senescencia de las hojas

SENESCENCIA

Procesos de senescencia en diferentes etapas:

Puede ocurrir en muchísimas partes, en la planta entera, en distintos momentos del desarrollo. La más clásica es la de hojas, de órganos reproductivos y la senescencia del fruto (maduración).

La senescencia ocurre:

- cuando hay falta de nutrientes
- cuando un órgano ya cumplió su papel y no es más útil (reciclaje de nutrientes y metabolitos)

La senescencia foliar ocurre cuando una planta vive en condiciones precarias para el correcto desarrollo (eso ocurre en otoño en algunas latitudes), cuando un órgano ya creció todo lo que necesitaba crecer y se cerró el ciclo del órgano o para reciclar metabolitos.

Una vez expandida completamente la hoja, a partir de ahí comienza su proceso de senescencia. Hay un amarillamiento de las zonas intervenosas permaneciendo verde justo los haces vasculares de la hoja. Luego se hace cada vez más marrón hasta que los haces también degeneran. Lo último que lo hace es la unión de la hoja al resto de la planta (abscisión). Eso ocurre en todos los órganos en general. Los frutos o las flores lógicamente hacen otras cosas, pero en las hojas sí se puede seguir una secuencia que es muy evidente y se puede seguir con el paso de los días.

I – pérdida de clorofila y degeneración del aparato fotosintético y los cloroplastos

II –

El estrés también puede desencadenar ciertos procesos de senescencia

Si no fuera octubre, sino un período de sequía bestial, ocurriría senescencia a finales de mayo (mucho antes de agosto). La planta prescindirá de las partes que más le preocupan y las más costosas. Además se estimulan genes de reproducción mucho antes de tiempo. Es una de las tantas respuestas del estrés. Como me voy a morir mejor un último intento por dejar semillas.

Si durante ese período se vuelve a recuperar la situación normal, la senescencia sería todavía reversible. El tejido de la hoja, hasta que cae no está muerto. Podría volver a ser verde, organizar cloroplastos, etc. Pero cuando ya comenzó la abscisión (desconexión vascular con el resto de la planta) ya la hoja no puede resucitar.

Etapas y eventos en el proceso de senescencia

(pregunta clásica de examen)

La senescencia se compone fundamentalmente de 3 fases. Cualquier proceso de senescencia.

La primer fase es la iniciación (todavía reversible):

- se cruza el umbral metabólico
- cascadas de señalización de senescencia se activan
- estado redox alterado (condiciones hídricas o lumínicas de estrés)

Los iniciadores son hormonas, el medio ambiente (estrés, ambiente), iniciadores dependiente de desarrollo (edad del órgano, cumplimiento de las funciones en el desarrollo, iniciadores patológicos, etc.)

La segunda fase se denomina reorganización (todavía reversible):

- el cloroplasto se convierte en un órgano de degradación, un órgano catabólico en el que se degradarán los pigmentos, luego las proteínas de los sistemas fotosintéticos, etc. (un órgano joven autotrófico pasa a ser senescente heterotrófico – primero digiere glúcidos, luego lípidos, proteínas, etc las hace disponible para su movilización)
- los compuestos se distribuyen por el floema
- detoxificación de la planta
- activación de rutas de salvatage (recuperar metabolitosreciclar!!!)
- rediferenciación reversible de orgánulos (el cloroplasto se convertirá en otra cosa)

Los iniciadores son genes activados e inactivados como respuesta a las cascadas de los pasos anteriores

La última fase es la Terminal:

- acumulación de antibióticos y mecanismos de defensa (son las partes más problemáticas y débiles mejor que no se me infecte la planta justo por ahí)
- se sueltan radicales libres y ROS
- eliminación de los metabolitos sobrantes del proceso heterotrófico
- pérdida de integridad y viabilidad celular irreversible (colapso celular)

Los iniciadores o mejor dicho terminadores también son respuesta a activación e inhibición de unos genes terciarios producirán la muerte celular

Todo el proceso tiene unos aceleradores y unos inhibidores que pueden ser tanto hormonas como cambios medioambientales como cambios de desarrollo.

Expresión temporal de genes asociados a senescencia durante las fases del desarrollo vegetal

Los genes según funcionan en la hoja.. se han clasificado 10 clases de RNAs

De esas 10 clases, 8 de ellas modifican su expresión para arriba o para abajo durante el período de senescencia. Es decir que el programa de desarrollo de un órgano como es la hoja CAMBIA POR COMPLETO cuando se induce la madurez y la senescencia.

Cuando todos los mecanismos antioxidantes de las plantas fallan o se ven superados por la alteración del estado redox tan acusada, se inicia el proceso de senescencia

Los cloroplastos dejan de organizarse en grana y dejarán simplemente membranas tilacoidales estromáticas que luego pierden la estructura dando lugar a un gerontoplasto (un cloroplasto viejito). La ontogenia de los plastos igualmente pueden hacer que revierta (ya lo sabemos de los primeros temas).

Senescencia – cambios en el contenido celular

El rRNA (la cantidad es la más fácil de medir porque son los mayoritarios) se degrada, la cantidad de proteína

también disminuye por degradación múltiple.

Mutantes stay-green

Mutantes mutados en muchos de los genes que se sobreexpresan durante la senescencia hacen que ese cereal retrase la expresión de esos genes asociados a senescencia. Es así que se mantiene fotosintéticamente activo. Si miramos un cloroplasto stay-green tiene muchos más tilacoides

Senescencia: degradación de clorofila a, síntesis de carotenoides (colores amarillos) y activación del metabolismo secundario de defensa

Podemos hacer una medida de la degradación de clorofila a. Fundamentalmente el marcador primero es la clorofilasa. Esa rompe el fitol y lo suelta por ahí. El anillo porfirínico ahora es tratado por una serie de enzimas dando lugar a unos anillos que absorben en diferentes longitudes de onda que pueden ser detectadas. Esto se hace en el laboratorio en un tubo de ensayo.

Toda la degradación de clorofila ocurre dentro del cloroplasto que súbitamente cambia y se vuelve heterotrófico. Una vez degradada la clorofila, hay un translocador del anillo porfirínico abierto que lo lleva a la vacuola donde se acumulan los restos por si son necesarios para reutilizar. Pueden transportarse a otras zonas de la planta posteriormente, etc.

Paralelamente se expresan y sintetizan otros pigmentos como los carotenoides. Las xantofilas y carotenos dan esos maravillosos colores de otoño que la gente que vive en los trópicos no puede disfrutar. Eso se debe a una inducción. Esto pasa en los frutos, no solo en las hojas. Cuando comienzan a senescer, el color del fruto también lo dan estos carotenoides. Sirven para fotoprotger.

Adicionalmente se activan las vías de síntesis secundaria. Los taninos, los flavonoides, etc. son compuestos la mayoría de ellos implicados en la defensa frente a patógenos.

Senescencia 2: al catabolismo de la clorofila sigue la degradación de proteínas del cloroplasto

El LHC ya no es estable y se degrada. En el mutante stay-green solo se degrada el extremo N Terminal y el resto del extremo se mantiene unido a la clorofila. De ahí que los mutantes mantengan los grana y se queden verdes.

Senescencia 3: inducción del ciclo del glioxilato en los peroxisomas y de la conversión de lípidos en azúcares por gluconeogénesis

En hojas, los peroxisomas se convierten en glioxisomas (los que obtienen a partir de ácidos grasos múltiples azúcares mediante la ruta o ciclo del glioxilato). Usando ácidos grasos se crean azúcares que serán exportados. Es otra parte del proceso

Senescencia 4 : degradación de DNA y RNA

Senescencia: inducción de mecanismos antioxidantes

El etileno induce senescencia en hojas y en frutos

Una planta crecida en una atmósfera normal o en una atmósfera alta en etileno tienen un crecimiento diferente. El crecimiento maduro vegetativo en etileno, las hojas jóvenes en roseta están senescentes. Un mutante en etileno está mutado en los receptores de la triple respuesta. Es así que no senesce en una atmósfera elevada en etileno.

Las citoquininas la previenen

Se había demostrado que las citoquininas estaban implicadas en la senescencia. El hongo este cuyo nombre todavía Luis no se acuerda produce citoquininas. Estaba implicado en las green island. En las zonas donde está el hongo y se queda produciendo citoquininas, se veían manchas de células verdes fotosintéticamente activas y no senescentes.

Muerte celular programada en respuesta a estrés: formación de aerénquimas

Cuando hay hipoxia en las raíces (hay poco aire porque están inundadas o sobrehidratadas) muchas plantas responden generando aerénquimas (muerte celular de parte del xilema). Ahí se acumulará oxígeno por parte del agua para absorber.

(el papel del calcio en la formación de aerénquimas y la muerte celular en respuesta al estrés)

Muerte celular programadas: inducción de la respuesta hipersensible

Muchos organismos, en su superficie tienen una serie de moléculas que pueden ser reconocidas esas moléculas se denominan elicitores. Si la planta reconoce al elicitador (reconocimiento genético que funciona gen a gen), la interacción provocará el desencadenamiento de una serie de respuestas de defensa en la planta. Pero claro eso solo si la planta tiene receptores previamente generados. Entre otras cosas esa unión receptor–elicitador activará unas cascadas de genes. Los genes de la respuesta hipersensible, genes de síntesis de fitoalexinas, genes de defensa, genes de señalización como el ácido salicílico (responsable de transmitir a otras zonas de la planta o si está metilado a otras plantas de la población la activación de hipersensibilidad). De forma local se induce una serie de mecanismos de defensa para matar al organismo, para aislarlo y para matar a las células que rodean a la célula infectada (crear un perímetro de seguridad). Si de esa forma no consigue acabar con el patógeno, por lo menos el patógeno no podrá proliferar porque le faltará comida. Eso termina en muerte celular programada de esas células periféricas. Allí donde hay puntos de infección se genera tejido necrótico para evitar el paso del virus. No está muy claro si la respuesta hipersensible la genera una planta o si es el virus el que la desencadena. Es decir que a veces simplemente con poner la molécula elicitadora, a veces ocurre esa respuesta hipersensible (sin necesidad que haya infección del patógeno). Pero en otros casos es necesario que además del elicitador esté presente el patógeno entero. Es decir, es un asesinato inefectivo o es un suicidio preventivo de células.

Muerte celular programada: la superación de los sistemas preventivos de la formación de ROS

Muerte celular programada en el desarrollo: xilogénesis o diferenciación de traqueidas

Es lo que lleva a que cualquier célula no demasiado diferenciada comience a sintetizar pared secundaria y se desencadenen procesos apoptóticos que llevan a la muerte y ahuecamiento de esa célula. Al tiempo que se sintetiza la pared secundaria se desorganiza el RE, el Aparato de Golgi y después comienzan a fastidiarse al final los orgánulos. Se ve que es significativamente diferente de la senescencia que empezaba por los cloroplastos.

Y todo esto está genéticamente programado y se activa al inducirse el programa de muerte.

Muerte celular programada: autofagia en las células aleuronales de cereales

Sabemos que las giberelinas inducen la síntesis de amilasas, proteasas, etc. en la aleurona. Pero lo cierto es que esas cosas degradan también a las células de la aleurona. Esas células están en vacuolas digestivas (distintas a las del tonoplasto) que funcionan análogamente a los lisosomas eucariotas. El pH baja en ellas, etc y tienen enzimas hidrolíticas ácidas. Esas degradarán la membrana de las vacuolas. Una vez petan la aleurona

salen al almidón del endospermo y pueden digerirlo.

Esa muerte celular programada está inhibida por ABA.

El ácido giberélico va bajando y el ABA las mantiene durante la planta – dormición primaria de semillas.

La forma de muchas hojas se debe a un proceso de muerte celular programada según un patrón de desarrollo

Muerte celular programada: Formación de glándulas de aceite en cítricos

Se desarrollan células de las glándulas del aceite. Por lisigenia y esquizogenia se ahueca la cavidad celular por degeneración de las paredes. En esa cavidad se acumularán los residuos de la muerte de todas esas células. Esas cavidades del aceite serán las que contengan los aromas cítricos.

Muerte celular programada en flores femeninas durante el desarrollo de espigas masculinas

Algunos cereales tienen una espiguilla masculina y las mazorcas femeninas en meristemas laterales como el maíz. En un principio la espiguilla se desarrolla con los dos verticilos fértiles. El mutante en el gen TASSESEED2 desarrolla una mazorca aberrante que tiene flores disexuales a lo largo de toda la mazorca.

Abscisión

Los órganos que mueren cursan abscisión. Se produce después de la muerte o senescencia del órgano. Cuando ya todo ha pasado se genera una zona de abscisión. Se generan unas células más pequeñas arriba y más pequeñas abajo. En ellas se secretan pectinasas (proteínas de degradación de la lámina media de la pared celular). Una vez que ha caído el órgano se sella produciéndose compuesto de metabolismo secundario como corcho, lignina, etc.

La relación viene dada por la relación auxina/etileno. Si hay más etileno que auxina se induce la abscisión. Si hay poco etileno se mantiene el órgano.

TEMA 27 – RESPUESTAS GENERALES AL ESTRÉS

Factores estresantes bióticos

- grandes y pequeños animales
- otras plantas
- insectos
- bacterias, hongos, virus y hongos patógenos
- nematodos

Factores estresantes abióticos

- sequía (estrés hídrico)
- exceso de sales (estrés salino)
- calor, frío y congelación (estrés por temperaturas extremas)
- encharcamiento e inundación (estrés por anaerobiosis)
- estrés por contaminantes medioambientales (CFC, SO₂, O₃, herbicidas, metales pesados)
- deficiencia en elementos minerales (Estrés nutricional)
- viento, suelo compacto (estrés mecánico)
- lesiones o heridas

Cuando cualquier factor externo es extremo, lógicamente sí que estamos hablando de un estrés, de algo que limita o inhibe el crecimiento de un ser vivo. Ante eso las plantas tienen una mayor capacidad de respuesta que los animales (a excepción del sistema inmune de vertebrados). Las plantas tienen mecanismos mucho más variables desarrollados y abundantes (200000 especies de dicotiledóneas!!!). Es por eso que generalmente debemos tratar este tema como el más fundamental en la fisiología vegetal.

Como todos los seres vivos, las plantas están sometidas a cambios ambientales estresantes, bióticos y abióticos. Hablaremos solo de interacciones bióticas (otras plantas, microorganismos, depredador, hongos, insectos, parásitos, etc.) y de interacciones abióticas.

Las plantas no suelen huir de un factor estresante. Generalmente las plantas están sometidas a varios estreses juntos. A veces un estrés hídrico viene por el frío que añade un estrés por temperatura, luego por estrés halino también se puede hacer la cosa mucho más heavy. Si a eso añadimos un parásito típico de invierno ahora tenemos un complejísimo cuadro de estrés vegetal.

Respuesta constitutiva vs aclimatación

Algunas plantas pueden aclimatarse antes de terminar por desarrollar una resistencia (por adaptación). Una visión darvinista podría indicar que las plantas por mecanismos evolutivos pueden responder a un estrés determinado. Esos mecanismos pueden llevar a que las plantas se adapten. Pero ese tipo de respuesta constitutiva se opone a un tipo de cambio no heredable que es la aclimatación. En general las plantas se aclimatan. Cuesta mucho pensar que una planta normal pudiera hacerse como un cactus. El hecho de que haya plantas que convivan con un estrés que eviten un estrés determinado sin más desde un punto de vista genotípico no implica que la planta poco a poco haya ido haciéndose a esas condiciones. Lo más probable es que la planta se desarrolló en una zona no desértica previamente. El cactus se originó tal vez para evitar el calor, y posteriormente las mismas adaptaciones funcionaron como exaptaciones frente al estrés hídrico. Es así que no podemos hablar de aclimatación o estrés hídrico en una planta ya adaptada al estrés hídrico constante. Una planta adaptada al estrés hídrico no podemos decir que están recibiendo un estrés.

Las potasio, prolina, solutos compatibles, osmolitos que no alteran la fisiología de la planta que permiten aumentar el potencial osmótico de la planta evita la desecación.

Fases de la respuesta al estrés

Cuando una planta viven en un óptimo fisiológico y cambia porque intervienen factores de estrés en principio hay una fase de alarma en la que la planta crece menos, se infecta, se altera (fase de resistencia mínima). En ese momento se están recién disparando las señales celulares para activar los mecanismos de aclimatación. Al dispararse comienza la fase de resistencia de una forma rapidísima. Si esos mecanismos no existen la planta muere. Si los mecanismos de resistencia máxima existen y pueden mantenerse permanentemente, entonces se continúa el crecimiento sin problema. Si eso a su vez sigue manteniéndose, podría terminar en una adaptación. Pero una planta normal luego de una fase de resistencia máxima, si persiste el estrés, lo normal es que se agoten los mecanismos porque la planta está en estrés energético. Salvo que desaparezca la situación de estrés la planta en fase de agotamiento comenzará a morir. Una planta podría en esta fase volver a un estado inicial solo en el caso de que desaparezca la situación de estrés. Eso podría llevar a que la planta tome un nuevo óptimo fisiológico bajo un fenotipo diferente. Luego vendría la fase de regeneración de la planta en el caso de que no muera.

Unos óptimos muy interesantes en la planta es que sometiendo unas plantas de floricultura en estrés, el ciclo reproductivo de la planta se acelera. Las plantas sometidas al estrés, la planta acorta el ciclo vital y se reproduce rapidísimamente. Si se repite eso sobre una planta múltiples veces (estrés–normalidad–estrés–normalidad) se consigue algo similar a un condicionamiento de la planta la planta ahora adquiere un óptimo fisiológico con un ciclo más corto

Factores que influyen en la respuesta al estrés

Características del estrés duración del estrés frecuencia del estrés, el órgano o tejido donde se está produciendo el estrés, la edad del desarrollo de la planta y el factor genotípico (los alelos de resistencia que se puedan tener). La respuesta final de la planta será:

- resistir el estrés o evitarlo y vivir
- suceder ante el estrés y morir

Mecanismos generales de la planta

Amplificación de la señal de estrés

Es la última diapositiva de este tema El estrés es percibido. La señal es transducida en la célula. Eso puede afectar la expresión génica, la producción proteínica y las respuestas fisiológicas–tolerancia al estrés posteriormente. Pero es importante la percepción de la señal (lo que hará realmente diferente una respuesta a otra). Todavía no se conocen todos los receptores al estrés. Si se sabe sin embargo que ciertos elicitores pueden activar respuestas del estrés (turgencia celular adquirida). También se sabe que hay firmas de calcio intracelulares implicadas en determinados estreses y que son diferentes de otras. Se sabe que también están implicados los estados redox de la planta, las especies ROS, etc. Hay serios candidatos a señalizadores del estrés, pero tampoco se los conoce bien. Todos los estreses sin embargo disparan la acumulación de ROS. Sí que hay ciertos fenómenos de muerte celular–senescencia que se producen por recepción intracelular de ROS (a través de segundos mensajeros). Si recordamos, cuando vimos el efecto del ABA, una de las rutas por las que actuaba venía determinada por producción de ROS. Esto sería similar. El tema es que no se conoce donde está la señalización específica. Sí se van conociendo cada vez más los segundos mensajeros (firmas de Calcio, proteínas kinasas, rutas de activación de genes nucleares, etc.)

TEMA 28 – RESPUESTAS AL ESTRÉS BIOTICO – RESISTENCIA A PATOGENOS

- hongos – micorrizogénesis
- bacterias
- virus
- herbívoros–fitófagos
- parásitos unicelulares

Las plantas pueden responder constitutivamente y respondiendo a estos patógenos mediante simbiosis, etc. En general la simbiosis tiene unos mecanismos de respuesta y el patógeno tiene unos mecanismos de actuación frente a la planta que en principio son los mismos. Agrobacterium se diferencia muy poco de Rhizobium al querer infectar una planta. Hay organismos que logran establecer simbiosis de esa forma y hay organismos que comienzan de la misma forma y terminan en relaciones patógenas. Es decir que probablemente los simbiosiontes comenzaron como patógenos solo que se dieron cuenta de que compartir era mejor que matar y aprovecharse descontroladamente. Es más Rhizobium induce mecanismos de defensa en la planta, pero los evita Entra en la planta y viven muy bien con ella.

Las infecciones pueden venir por múltiples sitios. Los patógenos se hablan de ellos como patógenos **biotróficos**, **hemibiotróficos** y **necrotróficos**. Es decir que hay patógenos que sacan provecho de ella cuando está viva, hay patógenos que sacan provecho de ella manteniéndola viva pero cuando terminan la infección la matan (por ejemplo para liberar esporas de la planta) y patógenos necrotróficos (que matan a la planta y se alimentan de los restos orgánicos de la planta muerta). El éxito del patógeno depende de muchas cosas: capacidad de generar estructuras de protección, mecanismos de defensa, capacidad de mutagénesis rápida para que la planta no pueda cargarse a la progenie mutante que escapa, etc.

Insectos

Tienen doble peligro. Por un lado son patógenos que provocan lesiones mecánicas y por otro porque son vectores para otras infecciones. Suelen ser transmisores de virus, bacterias, protozoos que le dejan a la planta una infección además de infectarla. Como los áfidos suelen ir al floema para tragar savia, los cabrones encima meten los patógenos en la zona más chunga.

Modelo gen a gen de reconocimiento planta–patógeno

Las plantas tienen sistemas de defensa diversos. Las paredes celulares lignificadas, etc. son sistemas constitutivos. Los otros son los sistemas inducidos, los que se desarrollan una vez el patógeno ya infecta.

El hecho de que un patógeno mate a un individuo de una población no quiere decir que el patógeno haya tenido éxito. A veces, la respuesta de las plantas contra un patógeno incluye el suicidio propio en beneficio de las plantas cercanas que son avisadas. Siempre que la población pueda frenar el avance, las plantas en conjunto habrán sobrevivido.

RECONOCIMIENTO PLANTA – PATÓGENO GEN A GEN (esto es pregunta fijo fijo tanto como que lo dijo el último día de clase que ya está puesta en el examen)

Para que la planta pueda defenderse de un patógeno primero hay un reconocimiento previo algo del patógeno deber ser reconocido por la planta. La planta ahora inducirá una serie de mecanismos de defensa que ayer a última hoja llamábamos mecanismos de defensa inducida (vs. Los mecanismos constitutivos que son los que están siempre).

Como siempre cuando se reconoce algo, ocurre entre dos cosas en el caso de plantas se vio para plantas–bacterias y plantas–virus. No se vio todavía para nematodos, hongos, otras plantas. De hecho en ellos los mecanismos constitutivos son los fundamentales.

El modelo que explica esto es el modelo gen a gen de reconocimiento bacteria–planta o virus–planta. Funciona muy similar a muchos mecanismos de autoincompatibilidad que vimos tiempo ha.

Existen en los patógenos genes de avirulencia (Avr). Si el reconocimiento entre la planta y el patógeno es positivo se disparan los mecanismos de defensa y la planta tiene muchas posibilidades de sobrevivir la infección. Si no se da ese reconocimiento las probabilidades de éxito del patógeno son casi seguras. El reconocimiento positivo entonces FRENA la invasión.

Los elicitores, moléculas que pueden ser reconocidas del patógeno (moléculas de la superficie, etc.) son esos genes de avirulencia (Avr). Avirulencia se refiere a que si esa molécula es expresada por el patógeno entonces es muy posible que esté condenado (no habrá virulencia). Los dominantes Avr son los que, si se expresan, PUEDEN ser reconocidos, se denominan. Los recesivos avr son los que no pueden ser reconocidos por la planta y son los que pueden producir la enfermedad en la planta.

Los receptores son glucoproteínas denominadas genes R. Un gen dominante R reconocerá positivamente a un elicitador de un gen Avr dominante y no habrá infección. Un gen recesivo r no reconocerá a ese elicitador.

Según este sistema las posibilidades de una infección serían:

- 1) Patógeno Avr – Planta R : Reconocimiento – No hay infección (avirulencia)
- 2) Patógeno avr – Planta R: No hay reconocimiento – Infección (virulencia)

3) Patógeno Avr – Planta r: No hay reconocimiento – Infección (avirulencia no reconocida)

4) Patógeno avr – Planta r: No hay reconocimiento – Infección (virulencia)

Si pensamos en Mendel, una interacción planta–patógeno tendría un 75% de posibilidades de infección. Las probabilidades no serían sin embargo iguales, porque los fenotipos dominantes son 3 veces más probables que los recesivos.

El gen R es muy polimórfico. El hecho de que en un momento determinado ocurra una interacción infecciosa no dictamina la muerte de toda una población. Es bastante probable que alguno de los individuos de la población sea R y detenga la infección. ¿Pero y si el virus es avr?, teóricamente no podría ser detenido!!! Pero esto no es así. Realmente el gen r es tan polimórfico que puede que para alguna de las plantas, el fenotipo avr se comporte como un Avr y la planta sea R en concreto para ese tipo de avr. En resumen al ser r demasiado polimórfico, hay una posibilidad bastante baja de que en una población el virus pueda acabar con toda ella a pesar de ese 75% de posibilidades de infección. Además una vez salta la respuesta defensiva y se induce en las plantas aledañas ahora la población en conjunto le habrá ganado.

Otra cosa que realmente no es cierta en el modelo. Una misma planta puede por recombinación mitótica originar varios diferentes polimorfismos para R dentro de un mismo individuo de manera que aún así el éxito del patógeno está bastante complicado.

Pero en un monocultivo, tenemos clones, todos igualitos. Es lógico que un patógeno que entre ahí se podrá cargar todo porque si jode un genotipo jode otro y todos los clones!!! Son típicos sistemas frágiles

Hay patógenos que pueden escapar de los mecanismos de defensa y comienzan a hacer sus putaditas. El patógeno puede aprovecharse de la planta y comerá y se reproducirá en ella. Otros patógenos tienen un éxito que depende de herir con gravedad a la célula empleando toxinas. En casos en los que el éxito además depende del éxito de una toxina, ahora no solamente necesito entrar en la célula vegetal, sino que además mi toxina tiene que poder joder a la célula eficientemente.

Los genes Tox son los que determinan la calidad de la toxina del patógeno cuyo éxito depende de ella. Una vez atravesó la barrera del reconocimiento ahora deberá tener los genes Tox adecuados para infectar el organismo. Esto también funciona con otro modelo similar al modelo gen–gen. Los organismos dominantes Tox producen toxina y los fenotipos recesivos tox no producen la toxina adecuada. En concreto si el patógeno no produce la toxina correcta no podrá matar a la célula y por lo tanto su éxito está condenado. Si produce la toxina dominante correcta en principio podría matar a la célula con éxito. Pero podría ser que la planta fuera dominante para el gen de resistencia a la toxina de dicho patógeno. Si la planta es resistente R, entonces aunque produzcan la toxina los patógenos no podrán hacer lo suyo. Solo si la planta es sensible r podrán ser afectadas sus células por la toxina de los patógenos y en ese único caso se dará una infección correcta.

Pareciera que producir la toxina es una mala estrategia evolutiva para el patógeno. Lo cierto es que esto es otro modelo. Hay patógenos que aunque no producen la toxina pueden reproducirse como los normales. Hay patógenos que producen varios tipos de toxinas (al igual que las plantas producen varias antitoxinas, o pierden evolutivamente dianas para las toxinas del patógeno, etc.). Es decir que es una cuestión de estrategias evolutivas.

Qué ocurre cuando una planta reconoce?

Pues lo típico rutas, vías, etc. Lo primero que sucede es una respuesta inmediata denominada respuesta hipersensible que termina induciendo una gran proliferación de ROS y la iniciación de unas rutas de activación–inhibición de genes a ese nivel (incluida la producción de NO). Todo eso culmina en la muerte celular programada de las células donde se han producido los reconocimientos. Las células infectadas mueren

con el patógeno y las de alrededor también morirán oxidadas. Así se crea una barrera protectora sacrificando unas pocas células. Pero además se activan Prps (patogénesis related proteins) que sirven para señalar, preparar e inducir otros sistemas de defensa posteriores en los tejidos circundantes. Esa respuesta inducida secundaria se denomina respuesta local.

La respuesta local termina por producir a largo plazo las llamadas respuestas sistémicas (SR), que afectan a todo el organismo. Muchas de las moléculas que catalogamos previamente en el temario como fitohormonales (jasmonato, salicilato, etileno en algunos casos, etc.) son responsables de la respuesta sistémica.

Hay nemátodos de dos tipos: los que viven dentro y los que tienen probóscides agresivas que rompen tejidos, etc. Los que viven dentro y no son dañinos, luego de infectar, inducen, a partir de la respuesta local, una señal que se mueve por el floema además de la inducción de síntesis sistémica de ácido salicílico (salicilato). Posteriormente también se volatiliza metilsalicilato. Si la planta es muy grande la respuesta sistémica viajará mediante esa vía aérea fundamentalmente (y llegará antes que por el floema). A este tipo de respuesta sistémica se la denomina SAR (respuesta sistémica adquirida).

Otros patógenos que producen la SAR son las bacterias, virus, hongos, etc. Suele ser típica de comenzar en las hojas o en el caso de nematodos en la raíz.

El otro tipo de respuesta sistémica es la de la producción de inhibidores de proteasas mediada por una señalización por jasmonato. También nos comentó que el metiljasmonato funciona similar al metilsalicilato (volátil).

Esa respuesta está dedicada a proteger frente a herbívoros, animales fitófagos y nematodos de los que usan probóscides. Las proteasas lógicamente son la pepsina, etc. Cuando se encuentran inhibidas entonces se dan indigestiones.

La SIR, la respuesta sistémica inducida. La producen ciertas bacterias. El *Rhizobium*, además de ser simbióticas, producen una SIR mediada por jasmónico y por etileno. Si una bacteria patógeno después quiere atacar, tiene unos sistemas de defensa preparados para hacer frente a esa segunda infección más rápidamente. Así es que la simbiosis, dentro de las cosas que hace produce moléculas que atraen simbioses y preparan contra los patógenos. Vemos que las plantas tienen un sistema de defensa bastante complejo, comparable con el inmune de los vertebrados.

FISIOLOGIA VEGETAL 2º SEMESTRE – EL DESARROLLO, LAS HORMONAS y el ESTRÉS

TEMA 15 – INTRODUCCION AL DESARROLLO VEGETAL

Una planta adulta *Arabidopsis thaliana*

Mucho del desarrollo está basado en el estudio de organismos modelo. Es una de las grandes mentiras de la biología. Los investigadores tradicionalmente han buscado organismos sencillos para entender los procesos biológicos más generales. Los microbiólogos tienen un organismo modelo, *Escherichia coli*. Todo lo que se demostró para ella, se extrapola como semiverdad para los caracteres procariotas. Eso es algo evidentemente incierto. Luego salen un montón de excepciones y al final solo se puede concluir que eso sucede en.

***Drosophila* o *Mus musculus* son los representantes en eucariontes y los mamíferos. *Xenopus* para las ranas es más o menos lo mismo para los tetrápodos anfibios.**

Para las plantas no es diferente que para animales o bacterias. En ellas usamos a *Arabidopsis* como modelo, una herbácea de la familia Cruciferae o Brassicaceae.

Características que tiene que presentar un organismo modelo:

- **Crecimiento fácil en laboratorio:** *Arabidopsis* tiene un ciclo corto en un laboratorio se puede conseguir en pocas semanas un desarrollo increíble
- **Fácil obtener mutantes (manipulación) gracias a su bajo número cromosómico:** el material de *Arabidopsis* es escaso y por lo tanto con sus 10 pequeños cromosomas se pueden estudiar muy bien 5 parejas de homólogos solamente
- **Se representa a sí misma:** es una crucífera muy particular.

La otra es *Medicago truncatula* que es una leguminosa

Estructuras de Arabidopsis

Tenemos unas raíces axonomorfas. Luego unas hojas en roseta verticales (de crecimiento joven). Luego está el tallo largo y tenemos las ramas laterales y las hojas caulinares. Luego tenemos los frutos (silicuas) de las crucíferas. Y también una flor típica de las crucíferas: 4 pétalos blancos, 4 sépalos (caliz) y los órganos reproductores son 6 estambres (dos pequeños y 4 grande) y un pistilo formado por dos carpelos fusionados.

Estudio con mutantes

En el estudio del desarrollo siempre se intenta encontrar las respuestas a partir de organismos mutantes. Es por eso que es fundamental encontrar y aislar mutantes. Si no los encontramos los creamos.

Mutagénesis (dos tipos)

- **Química:** mutágeno químico que produzca mutantes más diversos – mutación al azar (búsqueda al azar) – problema: hay que buscar los cambios en todo el DNA y eso toma mucho tiempo!!!
- **T-DNA:** interrumpir una secuencia de un gen mediante T-DNA bacteriano (se usa DNA del plásmido T de infección que pertenece a *Agrobacterium tumefaciens*) – mutagénesis más dirigida (búsqueda de T-DNA) – ventaja: la búsqueda del T-DNA donde se haya insertado es más fácil – por hibridación!!!

Pero entonces hay un problema si solo estudiamos organismos modelos, y encima mutantes estamos limitando muchísimo el estudio y los resultados!!! Pero es lo que hay.

Uso de Bibliotecas genéticas en Levaduras

Se digieren los cromosomas de Arabidopsis y se obtienen los clones se usan vectores y se insertan como YACs en levaduras. Luego así tenemos las colonias con nuestra librería de cDNA. Esos genes se expresan entonces en las levaduras y podemos intentar secuenciarlos, aislarlos, etc.

MORFOGENESIS y TOTIPOTENCIA VEGETAL

La morfogénesis son los cambios que se dan lugar al comienzo del ciclo de un organismo y que resulta en el desarrollo de las funciones vegetativas y reproductivas del mismo.

En el desarrollo juvenil se da el desarrollo vegetativo fundamentalmente. Luego se comienza con la morfogénesis reproductiva para poder cumplir con la función de transmisión de información genética y la obtención de herencia.

Es fundamental tanto en el desarrollo vegetativo como reproductivo el aumento del número celular. Esas células generadas deberán crecer y aumentar su volumen celular. Finalmente deberán diferenciarse dando lugar a las células especializadas en su función.

En ese último proceso lo que se intenta es activar un programa de expresión génica, es decir activar selectivamente unos genes para que se expresen diferencialmente en esos tejidos que cumplirán las funciones y los fenotipos relacionados con esos genes. Esos programas se activarán dependiendo de señales del medio celular (*morfógenos*). En ese medio cuentan cosas muy diversas. Como respuesta a esos estímulos, la célula responderá para especializar su DNA activando diferencialmente ciertos genes para expresarlos.

Normalmente una célula en que se dispara un programa, esa célula ya está predeterminada y determinada para ser eso. O sea que hay un cierto compromiso. En animales, generalmente el proceso es irreversible. En plantas, las células son más totipotentes. Es decir que no tienen una irreversibilidad tan clara. Cuando uno planta un esqueje de una planta, se regenera un individuo entero. Eso no se sabe si es porque todas las células son totipotentes o porque en cada división realmente solo una de las hijas se diferencia y la otra mantiene la totipotencia latente. O sea que realmente en esqueje podría ser que tuviéramos una población de células diferenciadas y comprometidas y una población pequeña de células madre totipotentes. Esas serían las que cambiarían según el ambiente cuando las trasplantamos en forma de un esqueje. De ellas dependería entonces la verdadera totipotencia vegetal. Pero aún así el tema no está demostrado y permanece como hipótesis.

Para El Crecimiento Vegetal Habrá Dos Formas – aumento del número celular y aumento del volumen celular. El aumento del volumen celular por la extensión de la pared, el aumento de la turgencia y el aumento del volumen vacuolar ya lo vimos en el primer semestre. Sin embargo hay aumento del volumen también por el aumento del tamaño del núcleo. El aumento del número celular será por mitosis como siempre.

1) Mitosis Y Aumento Del N° Celular: La Regulacion Del Ciclo Celular En Plantas

En vegetales, hay número de células menor que en animales. El crecimiento es más que por número de células, por aumento del volumen celular. Pero claro, inicialmente, en la juventud, evidentemente habrá proliferación y habrá mitosis normales. Así que el tema del ciclo celular es muy importante.

Sabemos que consta de las fases gap G1 y G2, una fase intermedia de síntesis y replicación S y una fase de división y mitosis M. La transición entre esas fases está regulada por las quinasas dependientes de ciclinas (proteínas reguladoras del ciclo). Entonces los dos componentes fundamentales son ciclinas y CDKs. Las ciclinas son unas proteínas que se unen activando a las CDKs. Esas CDKs están fosforiladas en el sitio activador. Las CDKs en general tienen 2 sitios de activación por fosforilación además del sitio de unión a las ciclinas. Luego de la división, en G1, las CDKs están inactivas, sin ciclinas ni fosfato. La fosforilación activadora se da en G1. La unión de la ciclina ya activa completamente la CDK y por lo tanto ahora se comienza la fase S. Durante la fase S, se suelta el fosfato del sitio activador (mediante una fosfatasa) y se degrada la ciclina. En consecuencia, durante la fase S, la CDK vuelve a inactivarse. Eso hará que la síntesis termine y comience la fase G2. En esta fase G2, se fosforilan los dos sitios y por lo tanto la CDK permanece inactiva luego se une a una ciclina mitótica y ahora tenemos una CDK casi activa finalmente una fosfatasa activadora elimina el fosfato del sitio inactivador y por lo tanto la CDK vuelve a estar activa y lleva la célula hasta la fase M. Durante la fase M se liberará el P del sitio activador mediante otra fosfatasa y se degradará la ciclina mitótica. En resumen se completa la fase M y finalmente se da la división adecuada.

Los checkpoints entonces estarán fundamentalmente entre las diferentes fases y están mediados por quinasas activadoras de CDK, fosfatasas activadoras de CDK y fosfatasas y quinasas inactivadoras de

CDKs. Además lógicamente por las ciclinas que se degradarán o se sintetizarán de formas diferentes.

Las CDKs activas serán las que promuevan entonces el PASO de la fase G1 a S y el paso de la fase G2 a la M. Luego tanto durante la fase S como M, se deben inactivar para concluir la fase. Tanto las auxinas como las citoquininas regularán como fito-hormonas este ciclo celular.

2) La Endorreduplicación Del Dna Origina Poliploidía Como Mecanismo De Aumento De Tamaño En Celulas Vegetales

El hecho de que las células vegetales sean más voluminosas que las animales depende también del volumen del núcleo. El volumen del citoplasma depende del volumen del núcleo. Los vegetales tienen una enorme capacidad para generar endociclos. Es decir que hay cariosíntesis y cariocinesis sin que haya citocinesis y división celular. En resumen aumentará el número cromosómico de la célula dando lugar a la reduplicación de los cromosomas y dando origen a poliploidías. El proceso es llamado endorreduplicación del DNA. La mayor parte de las células vegetales SON POLIPLÓIDES. Así tenemos células $4n$, $8n$, $12n$. De hecho la poliploidía ha llevado a la selección artificial en la agricultura de granos y cereales.

Así, como hay más núcleo, aumenta también el tamaño de la célula.

Ejemplo: En un meristemo tendremos todas células diploides. Cuando comienza la diferenciación, ciertos tejidos aumentan de volumen. Entonces tendremos tejidos más juveniles con algunas capas de células $4n$. Luego continúa la diferenciación y la maduración del tejido donde ya tendremos células octaploides, tetraploides, etc.

Citocinesis Asimétrica Y Diferenciación Celular

Esto sucede mucho en animales pero fundamentalmente lo encontramos en vegetales. Excepto en las células madre originales, las divisiones mitóticas suelen ser asimétricas. Las divisiones pueden ser anticlinales o periclinales. Una célula troncular se divide primero de forma anticlinal y da origen a una célula hija también troncal y una célula hija ya destinada a dar otro tipo de tejidos más diferenciados. La que se quede con la vacuola de la original madre será la que mantenga la totipotencialidad y será troncular.

A su vez, la célula hija diferenciada podría dividirse por una división periclinal en dos células que darán origen a tejidos diferentes, por ejemplo endodermis y cortex. Si pensamos en una raíz entonces, a partir de la célula pequeña endodérmica darán lugar a la lámina de la endodermis radicular. La célula más grande de las que originó la hija diferenciada será la que dará lugar a todo el córtex.

Una vez ya se dio el compromiso y la diferenciación ya no hay divisiones asimétricas. Y por lo tanto cada uno de esos linajes celulares darán paso a tejidos mediante divisiones y crecimiento celular típico. Luego se poliploidizarán, etc.

La comunicación para la diferenciación y el compromiso a corta distancia se da a través de plasmodesmos. Pero no se sabe como se da la transmisión rápida de señales.

Otro mecanismo de comunicación que tiene mucha importancia la generación de oligosacarinas. La pared celular tiene muchas pectinas, hemicelulosa, etc. Una señal de diferenciación un poco a más larga distancia es que las células que ya van a generar un determinado tejido están ya predeterminadas para producir unas determinadas oligosacarinas (fragmentos de unas pectinas de la pared celular). Entonces los linajes celulares podrían establecerse mediante la ruptura específica de ramnoglacturonano mediante una enzima especial del programa de diferenciación de ese linaje. Eso

daría entonces la oligosacarina que comunicaría al resto del tejido la señal de que se diferenció correctamente. Se transportan obviamente vía apoplasto y entonces son reconocidas y tal Otras muy clásicas se generan en respuesta a patógenos para disparar los mecanismos de defensa celular.

Tejidos Vegetales

La hoja es un clásico epidermis, parénquima lagunar y parénquima en empalizada. Las células de la vaina del haz. El haz conductor (vasos – nervios, etc.). En monocotiledóneas no tenemos haz y envés. Hay estomas a ambos lados (anfiestomáticas).

La anatomía del tallo es lo siguiente. En una herbácea (no leñosa) podemos encontrar desde dentro a fuera. Existen células parenquimáticas (las normales con pared 1ª sin ningún tipo de modificación o dureza añadida), células de los vasos (que sí tienen pared 2ª a veces) y las células meristemales del cambium. Existe un tipo de meristemo llamado cambium vascular. Eso origina hacia dentro el xilema y hacia fuera el floema ya maduros (tejidos conductores). Por fuera tenemos un cortex (células parenquimáticas más similares a las de la médula). La diferencia entre el cortex y la médula es esencialmente en la presencia de mayor cantidad de celulosa.

La anatomía de la raíz es algo diferente. Normalmente no hay, aunque puede haber, médula. El único tipo de haz vascular es la estela (un haz único central). Tiene obviamente forma de estrella. Dentro de ella encontramos el xilema y fuera el floema. Entre xilema y floema otra vez tenemos el cambium vascular. Es el tejido meristemático que dará lugar a floema hacia fuera y a xilema hacia dentro. Luego estará la endodermis y el periciclo y ya por fuera el cortex y la epidermis con pelos radicales. El periciclo es otro meristemo específico de la raíz. No está activo hasta que una señal lo hace entrar en división. A partir de él se originarán las raíces secundarias y laterales del típico sistema axonomorfo de las dicotiledóneas. Por fuera del periciclo suele haber una monocapa de células que forman un epitelio denominadas endodermis. Es la que tiene la banda de Kaspari (una interrupción del apoplasto), clave en la regulación de la entrada de agua por la raíz.

EL CICLO VITAL DE LAS PLANTAS – recordamos desde botánica

Si hablamos de plantas como organismos fotosintéticos con clorofila A y eucariotas, hay plantas que no tienen alternancia de generaciones en el ciclo: las algas. Pero el resto suelen tener ciclos sexuales con alternancia de generaciones. Suele haber un esporofito (genéticamente en origen diploide, $2n$) y un gametofito (haploide en origen, n). El esporofito da lugar a esporas a través de los esporangios. En ellos se da la meiosis que dará lugar al gametofito. El gametofito dará lugar a los gametos mediante mitosis y ellos serán los que se unirán dando lugar al embrión $2n$. La más clásica que se ve siempre es la de los bryophyta y los pteridophyta. Es porque en ellos se pueden diferenciar bien las dos fases ya que están separados. En el envés de las frondas están los esporangios en los que se da la meiosis. Las esporas haploides resultantes dan lugar a los gametofitos que crecen y desarrollan los gametangios. En ellos se diferencian los gametos. Esos se fecundan y dan lugar al cigoto diploide que se desarrollará en el esporofito diploide nuevamente.

Pero en las plantas con flores sabemos que el ciclo haplodiplonte es diferente. El gametofito es una parte que se desarrolla sobre el esporofito. Las plantas con flores tienen el gametofito muy reducido. El femenino es el saco embrionario que reside en los primordios seminales. El masculino es el grano de polen. Las flores monoicas son las que tienen los dos sexos (hermafroditas) en el mismo órgano floral. Las plantas dioicas tienen los dos sexos sobre diferentes individuos. Las plantas monoicas tienen flores hermafroditas.

En gimnospermas, que no son plantas con flores verdaderas tienen estróbilos. No suele haber gimnospermas con estróbilos hermafroditas. Sin embargo los estróbilos (pseudo–inflorescencias) se

desarrollan como hermafroditas pero solo se desarrolla un sexo. En los estróbilos femeninos tendremos los primordios seminales. En los masculinos tendremos el polen.

Las angiospermas tienen doble fecundación y las gimnospermas tienen fecundación única. La doble fecundación da lugar al embrión rodeado por el endospermo. El endospermo sin embargo será triploide mientras que el embrión será diploide.

EMBRIOGENESIS

Es la primera etapa del desarrollo de una planta y una clave en el desarrollo de la semilla (está incluido, es decir, hay que contárselo si nos pregunta sobre el desarrollo de las semillas – una pregunta clásica)

Tenemos ya formado el cigoto rodeado por el endospermo. Por fuera tendremos el saco embrionario y la nucela (tejido nucelar). La embriogénesis produce en las espermatophyta las SEMILLAS. En una semilla hay un embrión, un endospermo (muy desarrollado y nada transitorio si son monocotiledóneas o poco desarrollado y transitorio si son dicotiledóneas) y cubiertas de la semilla (cubiertas seminales o testas). Las semillas pueden estar encerradas en un fruto (fructificación). Luego sigue un proceso de germinación de las semillas que serán las que generen el esporofito (la planta típica) nuevamente. Hablaremos nosotros sobre este ciclo fundamentalmente en todo esto del desarrollo vegetal.

Desde la germinación hasta el desarrollo del gametofito tenemos el **DESARROLLO VEGETATIVO**. La generación de gametos hasta la fecundación es el llamado **DESARROLLO REPRODUCTIVO**.

La planta que genera ramas, hojas, etc. llega a un momento en su ciclo vital que hace que en vez de seguir generando ramas u hojas genere **FLORES**. Donde una yema debería dar lugar a una rama da lugar a una flor. Las mismas señales que promovían el desarrollo de ramas ahora actuarán para el desarrollo de la flor! Entrará entonces en el ciclo reproductivo!!!! Ahí ya la planta cumplió su ciclo vegetativo y puede **O NO** reanudarlo. Esto es una parte del ciclo es una importante diferencia con respecto a los animales.

Se ve mucho en las anuales pero también en las bianuales, etc.

Coincidiendo entonces con el fin del desarrollo reproductivo comienza entonces la **SENESCENCIA** de órganos vegetativos – flores y partes no reproductivas de las flores (pétalos, sépalos, etc. – el llamado perianto). Eso es porque la planta no necesitará gastar energía en esos tejidos. Y por lo tanto la senescencia es una parte **FUNDAMENTAL** del desarrollo vegetal.

El Desarrollo De La Megaspóra Femenina

A partir de 3 mitosis, la megaspóra femenina da lugar a 7 células hijas en vez de 8. Eso debido a que dos se fusionan nuevamente. Entonces tenemos 6 células haploides y una diploide. Se forma así el gametofito femenino. De los 6 núcleos haploides, uno de ellos será la ovocélula (equivalente al óvulo animal el oocito). El diploide constituirá los núcleos endospermáticos. La fecundación de la ovocélula dará lugar al cigoto diploide. La fecundación del núcleo diploide dará lugar al endospermo triploide. Es el único tejido originalmente triploide encontrable en todos los seres vivos. Es un tejido nutritivo para el desarrollo del embrión. Es un tejido de transición en dicotiledóneas y es permanente en monocotiledóneas.

El Cigoto

Es una célula alongada y polarizada. Tiene una vacuola por un lado alargada y en un extremo el núcleo. Ese núcleo se replica y divide para comenzar el desarrollo primario del embrión. Las dos células

resultantes serán diferentes. La superior será pequeña y redondita y se lleva casi todo el citoplasma del cigoto. La inferior se quedará con TODA la vacuola del cigoto, pero con poco más. ¡Cada una dará origen a cosas DIFERENTES!

Todo el programa de desarrollo de la planta estará entonces en esa primera célula hija que se llevó casi todo el citoplasma. La célula inferior degenerará y será vestigial. Se llama suspensor. A partir de ahí la otra (la potencial) se llama ya embrión. El suspensor sirve solamente para sostener el embrión en las primeras fases.

En el citoplasma ese que se llevó la célula hay mensajeros de origen materno que tienen funciones fundamentales para el desarrollo de las fases iniciales. Sin embargo todavía no están muy vistos y hay todavía mucha experimentación sobre el tema.

El Embrion

El suspensor se seguirá dividiendo dando lugar a un tronquito de taquitos de células. El embrión enseguida con unas pocas divisiones ya consigue diferenciaciones en algunas zonas. Con ya 8 o 16 células, hay una prodiferenciación en algunos tejidos. La futura epidermis, los precursores del córtex y la médula y los precursores del cambium vascular (Procambium). A esos primeros pasos de diferenciación les siguen unos pasos de diferenciación de órganos debido al inicio de las llamadas divisiones asimétricas. En seguida se diferencia una parte ligada al suspensor que será la futura caliptra (el órgano que protege a la raíz primaria que se desarrollará por el suelo. El procambium ya se ramifica dando lugar a los vasos primarios de transporte acuoso. También se estructura ya la protodermis y el córtex. Ese estado terciario del embrión es el estado corazón.

En el cuarto estado ya comienza el desarrollo de los cotiledones. En un quinto estado embrionario ya está configurado el desarrollo de los meristemos apicales del tallo y los meristemos apicales radiculares. Esos meristemos serán los que originarán el tallo y la raíz respectivamente. Y permanecen latentes como meristemos secundarios en las yemas por toda la planta adulta. Sin embargo si comparamos estos embriones con los fetos animales, no tienen nada que ver. Los embriones animales son más similares a animales que este embrión a una verdadera planta adulta. Es otra diferencia con respecto a los animales bastante importante. Pero lo que sí está definido ya en el embrión es el programa de desarrollo de la planta. El patrón de desarrollo de la planta. Ya lo que va a ser tallo está predestinado a ser tallo y ya lo que es meristemo radical no puede cambiar y será predestinado a ser raíz. O sea que hay ya un compromiso y una determinación en esta quinta fase. Además dentro del meristemo apical del tallo se puede ver incluso los meristemos foliares (los que darán lugar a los tejidos foliares, la última parte de la planta que nos quedaba por ver en el embrión).

En el estado de 8 células entonces tenemos ya las células que darán lugar al tallo, a la hipófisis (caliptra). Las cuatro células apicales dan lugar a epicótilo y meristemos apicales del tallo. Las cuatro células medias darán lugar a la raíz y el hipocótilo. Las células más inferiores son las que dan lugar a la caliptra, los centros quiescentes del ápice de la raíz, etc.

La porción que hay entre el meristemo apical del tallo y los cotiledones se llama epicótilo. La porción que hay por debajo de los cotiledones y por encima del meristemo apical radicular es el hipocótilo. Normalmente crece primero el epicótilo y luego el hipocótilo. Luego de que la planta termina las primeras etapas del desarrollo, esa nomenclatura se desecha.

En el estado ya de corazón podemos tener células diferenciadas y comprometidas con capas específicas de la porción donde les toca jugar parte. Por ejemplo, las células intermedias podríamos dividir las en las que darán lugar a la epidermis (protodermo), las que darán lugar al córtex radicular, las que darán lugar al periciclo y la endodermis, las que darán lugar al cambium vascular, etc(lando hacia dentro

obvio).

En las monocotiledóneas hay algo más raro. El embrión de un cereal es una especie de hilito o agujita pequeña que define un eje apical–basal. En ellos, el único cotiledón que se desarrolla entre los dos meristemas es un tejido conector y no nutritivo (el tejido nutritivo es el endosperma). Se llama normalmente escutelo o escudete. Sirve para transportar sustancias nutritivas desde el endospermo hasta el embrión. También es un tejido de síntesis de fitohormonas y enzimas necesarias para que el embrión luego pueda comer. Son fundamentalmente las Giberelinas (Ácido Giberélico). El meristema apical del tallo de las monocotiledóneas está protegido por un tejido embrionario denominado coleóptilo. Se ocupa de protegerlo y estudiándolo aparecieron las hormonas vegetales por primera vez.

Germinación De La Semilla

Cuando germinan ambos tipos de plantas, una dicotiledónea primero saca el meristemo radicular (crece fundamentalmente el hipocótilo, los cotiledones se expanden rompiendo la cubierta seminal (de la semilla) y una vez expandidos comienza a crecer el epicótilo y se expanden las primeras hojas fotosintéticas. Una monocotiledónea crece de otra forma diferente. El hecho de que tengan un coleóptilo hace que crezcan de esa manera peculiar. Una vez que las semillas se abren, crece el tallo y la raíz más o menos a la misma velocidad. No es como el caso anterior que crece primero la raíz y luego el tallo. Esto se lo pueden permitir gracias a que el coleóptilo protege el meristemo apical del tallo mientras crece el epicótilo dentro de la tierra. Eso no lo pueden hacer las dicotiledóneas. Por eso primero empujan los cotiledones mediante el crecimiento del hipocótilo para hacer que el meristemo apical del tallo salga afuera y ya ahora sí puede crecer sin peligro.

En la elongación de la raíz no habrá problemas gracias a que está la caliptra protectora.

Los meristemas germinan y aumenta la división celular en ellos. Una vez que las células se han dividido y han dado lugar a más células luego comienza la expansión total de la planta mediante endorreduplicación, crecimiento de volumen, etc. como siempre.

Organización de los meristemas apicales y desarrollo de la raíz y el tallo (base del desarrollo vegetativo de una planta)

Al desarrollo le sigue la germinación que da lugar a:

- Un aumento en la división celular en los meristemas apicales
- Un aumento en la elongación celular

El desarrollo de esos meristemas dará lugar a la planta final.

EL DESARROLLO DE LA RAIZ

En la organización del meristemo radicular destacamos:

- La caliptra:
 - ◆ Células laterales de la caliptra
 - ◆ Células de la columna o de la columela (centrales)
 - ◆ Células meristemales de la caliptra (entre unas y otras): originan por división dos tipos de células
 - ◇ Las laterales de la caliptra
 - ◇ La epidermis de la raíz
 - ◆ Células meristemales de la columela (están por debajo de la columela): originan por

división las células de la columela

- Células meristemales del córtex: las que dan lugar al procórtex y la endodermis
- Células del centro quiescente: el centro a partir del cual se regeneran células madre de cualquier tipo – en mutantes en los que se reprime su actividad, las células de los meristemas que rodean al centro quiescente se diferencian todas instantáneamente con lo cual cesa el crecimiento de la raíz
- Células meristemales de la estela – las que dan lugar a la estela
- Células del periciclo

Zonas de desarrollo en una raíz madura La transición entre las zonas no es discreta sino progresiva

- Zona de la caliptra y centro quiescente
- Zona meristemática (algo más superior) donde están las células que darán lugar a los distintos tipos de tejidos – gran actividad proliferativa mitótica – crecimiento por aumento del número celular
- Zona de elongación – donde las divisiones celulares son más escasas.. las células comienzan a configurar los distintos tipos de tejidos sin que haya una verdadera diferenciación todavía La zona de elongación termina cuando la estela ya está correctamente diferenciada entre xilema y floema El crecimiento celular se da por aumento de volumen de diversas maneras (pero no hay tanto crecimiento proliferativo).
- Zona de maduración en las que los vasos ya están maduros y las células de la endodermis ya están diferenciadas completamente (presentan banda de Kaspari madura). Ya se desarrolla la epidermis y hay presencia de pelos radiculares
- Zona de desarrollo de raíces laterales a partir del periciclo se inducen meristemas mediante cambios ambientales sobre el periciclo justo por encima de las zonas de maduración

El tamaño de las zonas cambia dependiendo de las condiciones del ambiente. Pero también hay un componente genético importantísimo con lo cual evidentemente existe un programa (al igual que con los pelos radiculares) genético. El desarrollo en mayor o menor medida de esa expresión será lo que cambiará dependiendo del ambiente.

El desarrollo de las raíces laterales es exactamente igual que el caso de desarrollo de meristemas primarios. El periciclo es un meristemo quiescente potencial y durmiente que en las señales apropiadas (ambientales o de desarrollo) comenzará a hacer mitosis y proliferación. A partir de unas pocas células se origina un meristemo lateral de raíz exactamente igual que el típico meristemo apical – con células madre de la columela, células madres laterales, centro quiescente, meristemas corticales meristemas vasculares

Generalmente las raíces principales tienen geotropismo positivo y crecen a favor de la fuerza de gravedad. Pero las laterales tienen ageotropismo y no crecen dirigidas por la gravedad. Realmente lo que falta es el mecanismo que hace que realmente las raíces principales SI tengan geotropismo positivo.

EL DESARROLLO DEL TALLO

Es casi igual de simple que el de la raíz. Parece algo más complejo sin embargo. En la zona apical tendremos los primordios foliares flanqueando el centro donde está el meristemo apical del tallo. Tiene un desarrollo estratificado. Existen 3 capas de tejido perfectamente diferenciables en el meristemo apical del tallo: la L1 que origina epidermis y la L2 y L3 que originan los tejidos internos.

La L1 es una monocapa de células con división anticlinal (no se dividen en capas sucesivas que se amontonan sino que se dividen horizontalmente dando lugar a una proliferación cada vez mayor de células en la capa que se van haciendo).

La L2 también se divide normalmente anticlinalmente, pero en algunas especies, en los puntos del crecimiento donde están las hojas puede que haya algunas pocas divisiones periclinales (de manera que crezca más hacia arriba que hacia los costados). En *Arabidopsis* la L1 y la L2 crecen las dos anticlinalmente.

La L1 y la L2 constituyen la TUNICA del meristemo apical del tallo.

La L3 es la capa más sencilla. Las células ahí crecen en todas las direcciones y dan lugar al cuerpo y el grosor del tallo y recibe el nombre de CORPUS.

Además de la distribución estratificada de los tejidos meristemales hay también una distribución radial en cuanto a la actividad de las células. Está la zona central y la zona periférica. Por debajo de la zona central está la zona medular (*Rib zone*).

El verdadero ápice del meristemo apical del tallo comprende la zona central. Es algo así como la zona generadora de las células madre del resto de los tejidos del tallo. O sea que ahí estarán las células meristemáticas epiteliales, las de los tejidos vasculares, etc Sin embargo no se dividen continuamente. Es así similar al centro quiescente de la raíz, aunque algo diferente dado que éste no es verdaderamente quiescente.

La proliferación apical del tallo de las plantas es diferente en la zona central y en la zona periférica. La zona periférica presenta mayor tasa de proliferación (horizontal). La zona central presenta menor tasa de proliferación. Eso hará que la forma general del desarrollo apical del tallo sea triangular y en punta. Al final todo el desarrollo y morfología de la planta estará determinado por este programa de proliferación meristemática.

En la zona periférica estarán los primordios foliares. El L1, L2 y L3 periféricos darán lugar a las hojas y yemas laterales (axilares) y a todos sus tejidos internos y externos.

En la zona medular, por debajo de la central, tendremos una zona exclusivamente formada por L3. Esa es una zona muy activa durante todo el crecimiento del tallo. Da lugar al crecimiento del macizo central del tallo – el eje central parenquimático del tallo.

El crecimiento en esta zona además, como es todo L3 se da en todas las direcciones. Como resultado, hace resaltar aún más la forma triangular del meristemo (siempre quitando la presencia de los primordios foliares que son como dos orejitas periféricas).

El tallo crece formando unos metámeros vegetales especiales llamados fitómeros. Es decir que el crecimiento es secuencial y repetitivo en segmentos todos ellos muy similares. El metámero va desde una hoja a la siguiente y está formada por un nudo y un entrenudo. Del nudo sale una hoja y en la axila de la hoja tenemos siempre una yema axilar. Entre dos nudos siempre hay una sección de elongación del tallo que se llama entrenudo o internudo.

De las yemas axilares podrá tener lugar luego el desarrollo de ramas y/o flores. Eso vendrá dado por una señal externa casi siempre. Pero eso lo hablaremos más adelante.

DESARROLLO DE PRIMORDIOS FOLIARES Y DESTINO CELULAR APICAL

Determinación del destino celular: siempre recordemos que las células madre siempre dan lugar células hijas totipotentes que en parte reponen la población de células tronculares y cuyas células restantes podrán desarrollarse hacia uno u otro tipo de tejido dependiendo de la comunicación y relación celular (señales) con el ambiente biológico que las rodea. En un ejemplo simplificado, una célula madre da

lugar a dos células. Una de ellas se divide en 2 nuevamente la otra pasará a continuar la población central. La célula hija que se dividió se dividirá nuevamente dando lugar a cuatro células así las células pasan desde la zona central a la zona periférica. Ahí ya las células, fuera de la zona central adquieren unos compromisos determinados. Continúan dividiéndose y las células pasan a llegar a las zonas de los primordios foliares ahí vuelven a cambiar y adquieren una diferenciación final en la que terminan de predeterminarse definitivamente como foliares.

O sea que las células del meristemo apical proliferan de forma anticlinal haciendo que las células más viejas viajen hacia la periferia. Al llegar a esas zonas cambian y adquieren compromisos debido a las señales que reciben del ambiente. Siguen viajando y sus programas celulares de expresión van cambiando hasta llegar a las zonas donde ya cambian y se desarrollan como primordios foliares. Esos primordios comienzan a partir de entonces un desarrollo en el eje proximo–distal y se van achatando hasta terminar por configurar los primordios foliares completos.

Etapas del desarrollo de un primordio foliar:

- **Po:** desarrollo de las células recién venidas desde el meristemo apical diferenciándose morfológicamente
- **P1:** primordio recientemente formado con simetría radial todavía inmaduro
- **P2:** primordio alargado en el eje proximodistal
- **P3:** primordio comienza a aplanarse desarrollando un eje dorsoventral

Lo que sí será característico de cada planta será la disposición de los primordios foliares alrededor del eje del tallo. Se pueden encontrar que algunos respecto de otros están desplazados un ángulo preciso. Se pueden encontrar disposiciones verticiladas, disposiciones alternas etc

El estudio de esto se llamará filotaxia (también se incluye en el estudio filogenético el desarrollo de los primordios foliares). Habrá filotaxia alterna (un primordio por nudo y entre dos primordios vemos que están girados 90° uno respecto del otro). Habrá filotaxia opuesta (los primordios van de a pares y siempre con la misma disposición en cada nudo, uno a 180° del otro). Habrá la opuesta–alterna (decusados los pares están opuestos, pero entre pares contiguos están girados a 90°). Está la trifoliar (de a tres hojas por cada nudo) y la espiral (más primitiva y con hojas simples).

Los tipos de tejidos madre de la zona meristemática en el tallo es diferente (obvio acá no hay caliptra, banda de kaspary, etc.). Tenemos una zona de meristemo apical inmaduro y totipotente (en continuo crecimiento por división celular y donde se desarrollan los primordios foliares), una zona de elongación (crecimiento celular mediante aumento del volumen por endorreduplicación y menor cantidad de división celular) y una zona de maduración (tejidos ya diferenciados que crecen por aumento de la vacuola).

En donde haya primordios foliares ya en desarrollo, tendremos un desarrollo de más cosas y habrá una zona meristemática más complicada. Por un lado tenemos crecimiento meristemático de los haces vasculares, y muchas cosas más super complicadas que todavía no están bien estudiadas.

DESARROLLO DEL CUERPO SECUNDARIO – Las leñosas

Además de las herbáceas, también hay plantas plurianuales que tienen un crecimiento en ancho debido a que tienen un desarrollo secundario. Su tallo es particular y es muy grueso generando lo que llamamos madera. Se denomina normalmente tronco. Realmente no es tan diferente del caso de las herbáceas, solo que los tejidos vasculares van creciendo a partir del cambium vascular en cada año.

En la raíz, a partir del cambium vascular (en el centro de la estela) se genera floema y xilema. En torno

al periciclo y la endodermis se origina otro cambium, el llamado cambium del felógeno o cambium suberoso (la madera – corcho, compuesto fenólico, células con pared secundaria bien seria). Ese cambium da lugar a felodermis (células lignificadas pero con menos súber y menos compuestos fenólicos – es lo que conocemos como madera) hacia dentro y a súber (corcho fenólico – impermeabilizador y endurecedor) hacia fuera.

En el tronco secundario, el cambium vascular genera floema hacia fuera y xilema hacia dentro. Así da lugar a xilema secundario y floema secundario. Los tejidos vasculares más viejos se van jodiendo con el tiempo y finalmente solo están activos los más externos. Ese crecimiento diferencial según las estaciones dará lugar a los anillos de crecimiento. Así se puede contar más o menos la edad de un tronco contando los anillos de crecimiento. También hay un cambium del felógeno que se diferencia en el córtex. Hacia fuera da lugar al súber o corcho y hacia dentro da lugar a la felodermis (la lámina de madera). Las láminas del corcho degeneran y forman la corteza esa típica que vemos en los árboles

SEÑALES EXTERNAS QUE AFECTAN AL DESARROLLO DE LA PLANTA

Las señales externas influyen en todo este desarrollo de distintos tipos y órganos de las plantas. No se va a cansar de decirnos que la fisiología de las plantas es fundamentalmente la respuesta adaptativa que tienen esos organismos llamados plantas, entendiendo por ello a las plantas sésiles (quitando algunas plantas marinas, pocas se desplazan), ante cambios o señales ambientales (entendido el ambiente como concepto amplio). Cuando nosotros tenemos frío, nos abigamos, cuando tenemos hambre, vamos a buscar la comida, cuando tenemos calor, nos refrescamos. Nuestras respuestas fisiológicas en los animales implican un desplazamiento hacia un mejor ambiente, más adecuado para encontrar nuestro nicho más favorable. Pero las plantas son sésiles y no pueden hacer esas cosas como los animales. O sea que ellas vivirán modulando continuamente su desarrollo orgánico, desde la forma, la velocidad, los tejidos, la longitud de las hojas, la longitud de la planta, el grosor, el color, etc. Los animales no hacen eso... Las plantas serán únicas por esto

Una planta puede estar sometida al mismo tiempo a una serie de cambios de condiciones ambientales a lo largo del día, todos los días, MUY INTENSOS. Esas variables ambientales serán muchísimas y actuarán bien en el tallo, bien en la raíz. Debemos resaltar en esta última los microorganismos del suelo además de por la calidad del suelo. Además de los rizobios y las micorrizas están las PGPR (plant, growth, promoting rhizobacteria) que producen fitohormonas muy favorables en las plantas. Una corriente de fisiobiólogos vegetales cree que las citoquininas (cuya síntesis todavía no se sabe donde está en la planta) podrían ser sintetizadas exclusivamente en estos PGPR.

Las plantas suelen responder mediante señales intraorgánicas frente a esas señales externas. Generalmente son hormonas, pero hay también muchas otras respuestas posibles. Todos los seres vivos generamos señales internas para regular nuestras variables internas. Las plantas no son diferentes en cuanto a eso. Esas señales son generalmente amplificadas o amplificables y luego tienen múltiples dianas en el organismo a nivel de desarrollo.

Una señal lleva una cadena de eventos que suele comenzar primero en la percepción de esa señal. Por eso decimos que requiere que el ser vivo tenga receptores específicos para esa señal. Mucha gente dice que los animales no tenemos receptores de luz roja. Mucha otra gente duda de esto dado que los efectos que tiene la luz del día en el estado de ánimo y algunas cosas a nivel hormonal animal indudablemente ciertos. Pero así en general se cree que las únicas que pueden recibir y responder a la luz del día son las plantas. Bueno es nada más que un ejemplo sobre receptores específicos continuamos

Esa señal debe traducirse (translation – transducción) luego. Muchas veces en este proceso participa o implica la producción intraorgánica de segundos mensajeros (el primero sería la señal original). Ese 2º mensajero desencadena la cascada de eventos de la respuesta celular. El más clásico en animales es el

cAMP. En las plantas es el ión Calcio. Pero cada vez se van conociendo más adenilato–ciclasas en plantas. Se cree por tanto que también es importante en plantas. También están los Inositoles–P tanto en animales como en plantas.

Ese 2º mensajero amplifica la señal de forma que muchas veces, una única señal que se transduce mediante una ruta determinada puede dar lugar a múltiples respuestas de la célula (divergencia). Esas respuestas pueden ser metabólicas (nivel de interacción proteína–sustrato / a corto plazo), pueden ser cambios en la expresión de genes (nivel de interacción Ribosomas–mRNA–DNA / a medio–largo plazo) y hasta pueden ser cambios genéticos constitutivos (a largo plazo).

Percepción De La Señal Química: unión a receptores de membrana o intracelulares

Existen dos tipos clásicos de receptores: de membrana y citosólicos. Normalmente los de membrana son glucoproteínas aunque también pueden ser glucolípidos o en algunos casos también proteínas no glucosiladas o algunas partes de lípidos no glucosilados. La unión da lugar a unos cambios que tendrán como objetivo la generación de cascadas de señales internas. Los intracelulares son casi siempre proteínas (Enzimas) que implican que el ligando entra al interior de la célula y se une a él y el complejo receptor–ligando viaja a donde deba y desencadena la respuesta adecuada en la célula. En animales pasa algo similar con las hormonas por ejemplo, las hormonas peptídicas usan receptores de membrana y las hormonas esteroideas tienen receptores intracelulares. En los vegetales es similar así, pero hay algunos que también pueden unirse a ambos tipos de receptores.

Clasificación de receptores de membrana:

Receptores ligados a proteínas G. Tienen una proteína anexa que viaja por el inner–leaflet de la membrana plasmática. Cuando la molécula señal se une al receptor, la proteína G se une al receptor por el lado de adentro y al interaccionar cambia su conformación y se activa uniéndose a GTP en la subunidad alfa (tiene otras dos subunidades – beta y gamma). La activación dispara la subunidad alfa que viaja y se unirá a una enzima efectora de membrana (que tiene el dominio activo por el lado citosólico de la membrana). La efectora activa la enzima y esa puede desencadenar la cascada final de señales generando el 2º mensajero (el intracelular).

Receptores ligados a Enzimas. Tienen una conformación inactiva mientras están sin unir el dímero o la molécula señal. Cuando se unen al dímero, los receptores cambian de conformación y sus dominios citosólicos se transforman en dominios catalíticos activados por grupos fosforilación. Entonces tienen un dominio receptor y un dominio efectos (el que se activa y actúa como enzima desencadenando la transducción de la señal). El etileno es un gas con geometría dimérica simétrica. Su fórmula es $H_2C=CH_2$. Es una típica fitohormona que tiene receptores (también diméricos) ligados a enzimas.

Receptores ligados a Canales Iónicos. La proteína forma un canal que está cerrado o abierto dependiendo de si la molécula está unida o no. Al cerrarse impide la entrada del ión. Al abrirse permite la entrada del ión. Si lo que entra es calcio, ese mismo ión actuará como 2º mensajero.

Principales rutas de transducción de señales:

Las dos clásicas en las plantas son la de generación de un flujo citosólico de Calcio (modificación de los niveles de calcio citosólicos) que actúa él mismo como 2º mensajero (solo o unido a una proteína llamada calmodulina – una proteína que cambia de conformación y se activa unida al calcio formando el complejo calcio–calmodulina $Ca-CaM$ luego ese complejo va por dentro haciendo de las suyas) y la segunda: la ruta o cascada de las proteína–quinasas que activadas por la señal van fosforilando y van actuando sobre muchas cosas. Está el ejemplo de las MAP kinasas, las PKinasas C, las PKinasas

dependientes de Calmodulinas (punto de unión con la ruta del calcio)etc.

Señales De Calcio

Al aumentar la concentración de calcio citosólico (por cualquier razón), bien por sí solo o bien unido a la calmodulina (una de las tantas Calcium dependent Enzymes and Kinases) se da la generación de diversas segundas-señales. El complejo Ca-CAM activado puede activar a proteínas kinasas muy diversas. La fosforilación puede ser muy diversa a partir de aquí. En el ejemplo del profe se fosforila un factor de transcripción que viaja al núcleo y activa la transcripción diferencial.

El Calcio es un elemento muy particular en las plantas. En la mayor parte de la planta tienen una función estructural (fundamentalmente mantienen las pectinas de la pared celular – el famoso ejemplo del homogalacturonano). Pero hay una pequeña cantidad de Calcio siempre libre citosólico en forma iónica $2+$ que tiene una función reguladora, típica de todos los oligoelementos presentes en muchas enzimas y rutas metabólicas (el ejemplo del Zinc y los dedos de zinc que están solo en proteínas de unión a DNA nucleares – típico oligoelemento).

Un súbito cambio con frío en la planta naturalmente hace que el calcio incremente mucho su concentración citosólica. En ese momento se activa todo y se da un pico. Luego ya tarda mucho tiempo hasta volver a su concentración basal (o de reposo).

Pero por ejemplo, el pH ácido en la planta da una respuesta inicial igual, rápida, con un pico en los niveles de calcio, pero que luego puede tener, en vez de una disminución gradualmente hasta su nivel de reposo, el calcio tiene una respuesta con una pendiente diferente. Entonces se pueden diferenciar las diferentes rutas del calcio a través de los perfiles diferentes que se tenga en lo que es el regreso al reposo. Esas imágenes y perfiles se llaman firmas de Calcio. Sirven para identificar señales y respuestas de Calcio intracelulares a las señales ambientales. En esas firmas, como vemos, más que la amplitud, importa el perfil que hace la concentración de calcio al regresar a su origen. Para que las firmas existan, debe haber cosas implicadas diferentemente en las rutas. Esas cosas son las que hacen que finalmente (y con diferentes tiempos) los perfiles sean diferentes.

Luego puede darse cosas tan a largo plazo como la activación de factores de transcripción. Un factor de transcripción puede hacer dos cosas – activar la transcripción de un gen (unirse al promotor y activar la transcripción), pero también hay factores de transcripción que primero se unen a un inhibidor de la unión del promotor. Quitando al inhibidor desinhibe la transcripción de un gen y así finalmente se activa la transcripción.

Sin embargo, generalmente los genes eucariotas nunca pueden expresarse con solo algunos factores. Por eso, muchos genes, a pesar de no estar activados, tienen una actividad basal pequeña (producción de proteína controlada). Cuando la señal activa y la célula necesita mucho producto, todos esos factores de transcripción activados y amplificados irán a unirse al promotor para lograr que se den picos en la producción de proteínas de los que la célula pueda sacar verdadero rédito.

Cascadas De Map-Kinasas

Las Map-Kinasas suelen estar involucradas en las rutas de receptores de membrana. Se descubrieron que se activaban en mitógenos (células cancerígenas). MAP significa Mitogen Activated Protein Kinases. Generalmente las cascadas se dan entre Kinasas de Kinasas de Kinasas de MAP Kinasas o sea que una proteína fosforila a otra, y otra a otra amplificándose mucho la señal. Al final de toda esa cascada se fosforila activándose finalmente la MAPKinasas. Esa MAPK puede fosforilar el transcription factor en el citosol (y el factor activo entra por los poros nucleares y activa y tal) o puede entrar ella al núcleo y fosforilar el factor de transcripción recién ahí. Al final se activa la transcripción.

Además algunas MAPKKK pueden ser activadas por Calmodulin Dependent Kinases.

Las rutas y las interacciones son muy específicas y la amplificación que se logra (tanto por inhibición de rutas opuestas como por activación por retroalimentación de sus mismas rutas) es increíble en algunos casos. Al final las redes de las interacciones son increíblemente complicadas pero debemos ser capaces de abstraer los conceptos y de poder establecer las interrelaciones.

COORDINACION DEL CRECIMIENTO Y EL DESARROLLO – LA LUZ Y LAS HORMONAS

La luz suele ser el morfógeno más importante. Hay 3 tipos de luz y 3 tipos de receptores. Están los de luz roja que son citosólicos por ejemplo. Una vez veamos como la luz incide en el desarrollo vegetal, hablaremos ya de la coordinación de ese crecimiento y desarrollo. Esa coordinación la llevan señales internas hormonales (fitohormonas).

Las hormonas de vegetales son muy peculiares y muy diferentes de las animales. Por eso cada vez más fisiólogos vegetales proponen que se elimine el término de hormonas para hablar de reguladores, coordinadores, etc. Eso fundamentalmente porque desde su génesis hasta el mecanismo de actuación son muy distintos.

Las hormonas animales están situadas en células especiales (células endocrinas) y viajan hacia unas células diana donde o bien son percibidas en la membrana o entran en ellas por difusión hidrófoba y ejercen su función en esa célula diana dependiendo la acción de la cantidad de hormona que llega a la célula. Si llega al umbral habrá acción hormonal. Si pasa el umbral.

Pero las hormonas vegetales son diferentes. No hay tejidos ni células especializadas que produzcan y sinteticen hormonas. En general todas las células vegetales pueden generar hormonas (todas las vivas, obviamente). Eso implica que no siempre tienen por qué viajar. Si una célula necesita una hormona, ella misma produce la hormona que le sirve a ella misma. Entonces se desvirtúa todo el concepto de célula diana – célula endocrina, etc. O sea digamos que no hay sistema endocrino verdadero. La última diferencia es que algunas señales hacen que el umbral de actuación de una hormona en las células diana se pueda modificar. En concreto, la diferencia es que no es determinante la concentración de hormona circundante en la célula para que se desate la actuación (cosa que sí lo es en animales). Las señales van modificando la sensibilidad para las fitohormonas.

TEMA 16 – FOTOMORFOGENESIS

EL DESARROLLO ETIOLADO y su reversión por la Luz

Existe el crecimiento etiolado (plantas no desarrollan color verde, tallo mucho más delgado y alargado) frente al crecimiento en luz (plantas más robustas, con color verde, pigmentos, etc.). La luz es un gran morfógeno. El desarrollo no tiene nada que ver en dos plantas que hayan recibido luz de formas diferentes.

Llamamos entonces crecimiento etiolado cuando sobre todo se desarrolla el meristemo apical del tallo, sin que haya desarrollo de meristemos laterales (foliares) ni síntesis de pigmentos. Las plantas son etioladas (sin color) cuando crecen sin luz.

El crecimiento en luz implica un tallo más grueso (mayor robustez) más pigmentado, con gran desarrollo de meristemos foliares y un desarrollo adecuado de todos los meristemos apicales. Pero el desarrollo etiolado puede ser revertido por la presencia de la luz.

La luz es de hecho el mayor morfógeno en el desarrollo vegetal. Las modificaciones en el desarrollo que

están reguladas por luz es lo que se llama fotomorfogénesis.

Implica que las plantas tengan fotorreceptores (vimos unos cuantos en la fotosíntesis).

Fotorreceptores

- **pigmentos fotosintéticos:** para obtener energía desde la luz
- **receptores morfogenéticos:** son los que tienen las plantas y que les sirve para distinguir las señales morfogenéticas de los diferentes tipos de luces y que implican lógicamente la activación de cascadas de señales internas que terminen en la modificación de alguno de los patrones de desarrollo de la planta en su totalidad o alguna de sus partes. Más que percibir la cantidad de la luz, perciben el tipo de energía de la luz (la calidad de la luz en vez de la cantidad) – obviamente tendrán absorbancias a diferentes longitudes de onda dependiendo del tipo de luz que absorben
 - ◆ **RECEPTORES DE LUZ ROJA:** Fitocromos. Perciben longitudes entre 600–700 nm (luz roja) y entre 700–800 nm (luz roja lejana – NO INFRARROJO, pero rojo lejano)
 - ◆ **RECEPTORES DE LUZ AZUL:** Criptocromos. Xantofilas y otros. Perciben longitudes de onda de entre 400 y 500 nm. Algunos también perciben ultravioleta cercano (UVA).
- **Receptores de luz UV lejana (UVB):** absorbancias menores a 400 nm son fundamentalmente fotoprotectores de los aparatos fotosintéticos

FITOCROMOS: EL EFECTO DE LA LUZ ROJA INDUCE GERMINACION EN ALGUNAS ESPECIES

El efecto se descubrió en 1930. Un pulso de luz roja podía inducir, acelerar, activar, la germinación en semillas de lechuga. Ojo! No es que la lechuga no germinaba sin ese pulso, pero en presencia de esos pulsos, la germinación era mucho más acelerada y sincrónica. Esto se buscó extrapolar a otras especies, pero se vió solo en lechuga.

Lo que se buscó por otro lado es saber si otros tipos de luces no rojas hacían lo mismo. Se probó con el naranja, con la luz roja lejana, con luz violeta, etc. pero no se veía una activación de la germinación y ésta permanecía lenta y asincrónica como si creciéramos siempre las semillas en oscuridad.

Por casualidad, probando efectos de luces después del pulso de luz roja, se vio que un pulso de luz roja lejana después del rojo era suficiente para que la germinación volviera a inactivarse y permaneciera lenta.

Se probaron diferentes secuencias de disparos y pulsos. Al final el efecto que se manifestaba en el desarrollo dependía de la última luz que hubieran recibido las semillas (roja o roja lejana).

CONCLUSIONES PREMATURAS: Las semillas tienen un receptor de luz roja que activa una cascada de señales que lleva a inducir la germinación.

Pero como había efectos por luz roja lejana, se pensó que podía haber otro fotorreceptor. Se comprobó sin embargo que solo existía un tipo de receptor para la luz roja y luz roja lejana. No había receptores específicos de luz roja y otros de luz roja lejana.

HIPOTESIS: Había un solo fitocromo con dos conformaciones. Evidentemente el efecto de la luz roja era activar el fitocromo y el efecto de la luz roja lejana era inactivarlo. El fitocromo activado era receptor de luz roja lejana y el fitocromo inactivado era receptor de luz roja únicamente. La forma activa era la llamada PFR (Phytochrome Far Red). La forma inactiva era la que no tenía efectos biológicos y era llamada PR (Phytochrome Red). Es la forma en que originalmente es sintetizada.

Se han descubierto hasta ahora 5 tipos de fitocromos (PhyA, PhyB, PhyC, PhyD, PhyE). La forma Pfr en todos ellos es la activa. Lo que pasa es que algunos de ellos en su forma activa son muy sensibles y por lo tanto se degradan. En concreto el PhyA o Fitocromo tipo I tiene una conformación Pfr que es activa pero muy inestable y se degrada enseguida.

Estado Fotoestacionario:

El estado fotoestacionario dependerá de la cantidad de Pfr que se tenga sobre el total de Phy de un tipo. En un estado fotoestacionario alto (mayor cantidad de luz roja que luz roja lejana – durante las horas de sol más intensas – mediodía) tenemos una relación de 0,7. En un estado fotoestacionario bajo (más luz roja lejana que luz roja – durante el atardecer) tenemos una relación de 0,2.

Ensamblaje De La Cromoproteína

El fitocromo se sintetiza en forma inactiva. Consta de dos partes y es una holoproteína (una cromobilin–proteína). Es dimérico. Está formado por dos péptidos: una fitocromobilina (síntesis plastídica) y una apoproteína (síntesis citosólica). La fitocromobilina es el cromóforo (lleva en él los pigmentos que tienen las absorbancias en el rojo y rojolejano). El Pr se modifica cuando le da la luz roja y cambia de conformación tanto en la apoproteína como en la fitocromobilina dando lugar a la activación. Al contrario que los pigmentos fotosintéticos, estos son solubles citosólicos.

Isomerización Cis–Trans De La Fitocromobilina

La parte receptora está en la fitocromobilina. El polipéptido tiene un tetrapirrol abierto (una cadena de anillos pirrólicos). El último pirrol está enlazado por un doble enlace. En la forma inactiva ese doble enlace tiene forma cis (como en el resto del tetrapirrol). Al darle la luz, el enlace pasa a conformación trans y por lo tanto la molécula hace un codo. Esa forma será la activa. La curvación del cromóforo hará que se revele un sitio lógicamente apolar hidrofóbico (el sitio que antes le hacía de nicho y estabilizaba sus enlaces cuando estaba en conformación cis). Al revelarse el sitio hidrofóbico tan inestable (estando en un medio polar como es el citosol), en el momento que eso ocurre, se pueden unir a ese sitio algunas proteínas. Ese complejo será la primera molécula de la ruta de la transducción de la señal de luz. Ese complejo podría actuar como una kinasa, pero también pueden unirse otras cosas y tener efectos varios.

El recodo que hace la fitocromobilina por la isomerización del cis–trans no solamente libera el sitio hidrofóbico y active otras protein–quinasas sino que también modifica la conformación de otros sitios en la apoproteína haciendo que se induzca la actividad kinasa en ella. Es decir que el fitocromo activado no solamente actúa formando complejos que activan otras proteínas sino que también él mismo es activo y tiene actividad kinasa (aunque es todavía hipotética). La actividad kinasa putativa se piensa que sería la responsable de fosforilar activando la misma proteína que fue unida mediante el sitio hidrofóbico (o sea que todo está como muy sincronizado y es un ejemplo del modelo del ajuste inducido de interacción enzima–sustrato).

La luz roja lejana hace que vuelva a conformación CIS y por lo tanto toda la activación se revierte

Porqué los distintos tipos de fotocromos actúan frente a distintas longitudes de onda?

Según su comportamiento con la luz existen 2 tipos de fotocromos

- fitocromos tipo I (PhyA: el máximo representante); actúan a bajas concentraciones de fitocromo activo Pfr, es decir con índices de estado fotoestacionario bajo En resumen con solo un poco de luz roja, aunque haya luz roja lejana en un estado fotoestacionario bajo YA SE

PRODUCE SU EFECTO

- **fitocromos tipo II (PhyB):** necesitan altas concentraciones de Pfr para actuar por tanto un estado fotoestacionario elevado Pfr/Pr En resumen solo se activarán por el sol en plena intensidad solo durante la elevada intensidad luminosa se darán sus efectos
- otros fitocromos como C, D, E solo ayudan a las vías de activación de los otros dos y sus acciones no están bien descritas todavía

PhyA vs. El resto de Fitocromos

Dos cosas caracterizan al PhyA su inestabilidad en la forma Pfr que es degradada inmediatamente por ubiquitinación y exporación al proteosoma; y su equilibrio Pr–Pfr activo independiente de la presencia de luz roja–luz roja lejana (razón por la cual el PhyA suele tener efecto aún cuando no hay luz roja).

- **El rápido efecto del Pfr de PhyA**
 - ◆ Su acción biológica es rapidísima y luego es degradado casi a la misma velocidad
 - ◆ Si se le aplica a un cultivo luz roja durante 2 horas, la respuesta a las 2 horas será la dependiente del PhyB únicamente dado que el PhyA ya habrá sido degradado y retornado a su equilibrio
 - ◆ Es decir que las respuestas a luz roja de tipo A son las rápidas, mientras que las respuestas a luz roja de tipo B son las más duraderas
- **El fotoequilibrio Pr–Pfr independiente de luz roja–luz roja lejana**
 - ◆ Es el responsable de la germinación lenta asincrónica aún sin presencia de luz roja
 - ◆ Es el que permite que haya aunque pocas, algo de cantidad de Pfr como para que los efectos de tipo PhyA se den pese a que no haya luz roja (es así que las semillas pueden germinar aún SIN LUZ del DÍA)

Resumiendo un poco la acción del PhyA qué sucede cuando iluminamos con luz roja súbitamente una planta que estaba en oscuridad?

- la planta en oscuridad estaba en fotoequilibrio es decir que se mantenía una cantidad de Pfr mínima de PhyA
- al iluminarse, se incrementa el estado fotoestacionario y la respuesta del PhyA se activa se inicia su cascada de efectos
- sin embargo rápidamente el PfrA es degradado por proteosoma
- adicionalmente parte de esa cascada tiene un efecto de retroalimentación negativa sobre los genes que transcriben para el PhyA de forma que
- a la hora ya se ha retomado el fotoequilibrio aún cuando seguimos en presencia de luz roja

Desarrollo de la semilla y su relación con los fitocromos

En las primeras fases del crecimiento (la semilla está soterrada) el crecimiento y las respuestas dependen fundamentalmente del fotoequilibrio de PhyA dado que la cantidad de PhyB activa es mínima.

A medida que van creciendo (plántula emerge del suelo) el crecimiento depende ahora fundamentalmente de PhyB activo debido a que la luz roja constante terminará produciendo una respuesta a luz roja de tipo B.

Qué ocurre experimentalmente si iluminamos con luz R y luz FR?

La luz roja lejana inactiva a B pero A se mantiene en su fotoequilibrio (que como decíamos es independiente de luz roja o roja lejana). Así la respuesta dependería de A.

La luz roja activaría por otra parte a B y a A si se mantiene constante ahora A regresa al equilibrio mientras que B será quién luego lleve la batuta.

La concentración de Fitocromos es elevada en meristemos jóvenes con células indiferenciadas

En los sitios con mayor cantidad de cambios en el patrón de desarrollo es donde encontramos más concentración de Phy. Esos meristemos además son los que mayores concentraciones de Pfr tienen.

TIPOS DE RESPUESTA A LA LUZ ROJA

Podemos resumir todo el temita con los 3 tipos de respuesta a luz roja que existen en las plantas

- VLFR: respuestas a muy bajo influjo
- LFR: respuestas a bajo influjo
- HIR: respuestas a irradiancia alta

Las VLFR y LFR son las que dependen de afluencia de luz. Es decir que responden a la cantidad de fotones de luz que se van acumulando, primero causando las VLFR y luego las LFR. Las HIR son respuestas a alta irradiancia (un número elevado de llegada de fotones por segundo). Es así que si iluminamos con una luz roja muy tenue podremos causar las VLFR y las LFR, pero nunca las HIR. Mientras que si iluminamos con una luz de una forma intensa causaremos las HIR.

Las VLFR: No son reversibles por la luz roja lejana (dependen fundamentalmente de PhyA)

Las LFR: Reversibles por luz roja lejana (dependen de PhyB lógicamente)

Las HIR: Generalmente dependen de incrementos rápidos de PfrA (aunque también algo de B). Son irreversibles (obviamente porque dependen de PhyA)

Las respuestas también las podemos catalogar como respuestas de reciprocidad positiva o reciprocidad negativa. Las de reciprocidad positiva son las de tipo VLFR o LFR (las que responden a afluencia). Las de reciprocidad negativa con las que dependen de la tasa de afluencia, es decir del flujo de fotones (la velocidad) o irradiancia, las HIR.

Tipos de respuesta más comunes (ver diapositivas)

Respuestas típicas de HIR (ver diapositivas)

Desetiolación: desarrollo de cloroplastos

Dos procesos fundamentales en el crecimiento etiolado: elongación excesiva del tallo (crecimiento en longitud sin que haya desarrollo de meristemos foliares), inhibición de la síntesis de pigmentos.

En el crecimiento verde (desetiolización) lógicamente se da una reorganización del programa génico que derivan de la cascada originada en la señal por los fitocromos.

Inhibición del crecimiento etiolado (desetiolización – activación de fitocromos):

- inhibición de la elongación del tallo
- enverdecimiento (maduración de cloroplastos – síntesis de clorofila)
 - ◆ maduración de cloroplastos: los proplastidios a través de la activación de los fitocromos se transformaran en cloroplastos (implica la organización y síntesis de sistemas antenna,

síntesis y acumulación de proteínas de la vía de la clorofila – todos ellas rutas activadas por los fitocromos activados Pfr)

Qué sucede realmente con las plantas en la naturaleza (plantas inmersas en una población de competidoras)?

Planteamos una situación normal en la naturaleza en plantas que están recibiendo luz continuamente en un día soleado. En las plantas que están recibiendo luz solar directamente la situación será la siguiente. Rojo/Rojo lejano = 1 por lo que Pr/Pfr = 1

La respuesta de crecimiento en verde en esas plantas que continuamente están recibiendo luz solar dependerá lógicamente del PhyB (ya que el PhyA estará degradándose).

Esas plantas absorben a través de pigmentos fotosintéticos luz roja (y no luz roja lejana) cuando la luz solar las atraviesa. Además, por pasar por distintos filtros, las plantas del dosel recibirán una luz empobrecida en la franja del rojo (parte por lo absorbido y parte por lo perdido o disipado). En resumen, las plantas intervienen en el ambiente luminoso de sus vecinas. Las plantas que reciban luz reflejada tendrán una calidad de luz roja mucho menor y la relación Rojo/Rojo Lejano será menor a 0,2. Eso supondrá un estado estacionario bajísimo y por lo tanto casi todo el fitocromo estará en forma Pr, sobre todo el PhyB. O sea que las plantas que reciben ese tipo de calidad de luz germinarán y se desarrollarán en ese ambiente de sombra dependiendo de las respuestas a PhyA sobre todo.

En resumen, las plantas que crecen en sombra (y reciben sobre todo luz roja lejana) tirarán de las respuestas de las vías de PhyA. Y las plantas que están en ambientes luminosos (y reciben muchísima luz roja) crecerán en verde debido a las respuestas de las vías del PhyB.

Tanto el Phy A como el Phy B estimularán la desetiologización y el crecimiento verde. El hecho de que estén ahí es lo que permite que las plantas de sombra también puedan crecer y que por lo tanto, a lo largo de la vida de una planta, la activación de Phy A y Phy B será diferente y siempre promoviendo los procesos naturales de crecimiento de una forma correcta.

Pero, ¿es lo mismo el crecimiento de una planta que germina en base a PhyA que una que germinó en sombra usando sobre todo las respuestas de PhyB?

Dependerá de si son plantas adaptadas a crecer en sombra o plantas adaptadas a crecer en sol. Las plantas de sombra normalmente tienen un grado de crecimiento constante casi independiente del estado fotoestacionario. Tanto al sol como a la sombra básicamente crecerán a la misma velocidad.

La mayor parte de las plantas (en nuestro país por lo menos, en la selva ya sabemos que el tema es diferente) sin embargo son las plantas de sol. Esas crecen muy distinto dependiendo del estado fotoestacionario y el estado luminoso en que se encuentren. Una planta de sol, cuando está desarrollándose a la sombra, cuando Pfr/Pr es muy bajo, entonces su velocidad de elongación es muy alta. Cuando el estado estacionario Pfr/Pr es alto entonces su velocidad de crecimiento es más baja (y hay más crecimiento de hojas en vez de elongación). En resumen

La sombra de plantas vecinas estimula la elongación en plantas de sol

Cuando hay muchas plantas, y la densidad de población es elevada, las plantas suelen crecer un poquito más altas que cuando hay menos o cuando hay muy pocas. Al hacerse sombras unas a otras (densidad de población elevada) se induce el crecimiento etiolado. Cuando están muy separadas unas de otras, el estado fotoestacionario es mejor y el crecimiento en elongación es menos acusado. Se desarrollan más sus aparatos foliares. Es por esto que los árboles en bosques crecen más alto que si hay poquito (crecen

más en altura). Eso tiene sentido adaptativo – te falta luz, creces más en longitud para alcanzar una mayor cantidad de luz. Una vez ya tenés la luz que querés, empezás a crecer tus hojitas.

El fitocromo regula los ritmos circadianos (circa diem quiere decir casi diario). Uno de los efectos de los ritmos circadianos es la posición de las hojas (el cierre de las hojas o foliolos – la nictinastia por la noche en *Mimosa*). También la caída axilar en algunas plantas se da a la noche por esta misma razón. Todo esto se debe debido a que el fitocromo produce cambios de turgencia en las vacuolas. Realmente regula los flujos iónicos y la turgencia en las células del pulvínulo.

En la hoja de la *Mimosa* o las *Acacias* tenemos unas células ventrales motoras (en el haz) y unas células dorsales motoras (en el envés) que tienen unas vacuolas especiales. En presencia de luz el potasio y el cloro entran en las células motoras ventrales y la hoja se abre. Cuando están turgentes las motoras ventrales, las dorsales se ponen plasmolíticas. Cuando llega la noche el potasio entra en las dorsales. Las ventrales se plasmolizan, y las dorsales se expanden turgentes. Eso hará que se cierren las hojas.

El fitocromo regula la expresión de genes reloj

Esencialmente hay genes de noche y genes de día. El gen *TOC1* es un gen de noche. Cuando está activo de noche induce la expresión de los genes de día. Esos genes de día acumulan su producto poco a poco a lo largo de la noche. Al amanecer, cuando la planta recibe luz, la expresión de esos genes de día (*LHY* y *CCA1*) aumenta muchísimo más y disparan una respuesta clave. Los genes de día ahora activarán la *LHCB* y otros genes del amanecer que serán los responsables del crecimiento verde de la planta durante el día. El *LHY* inhibirá los *TOC1* y otros genes de noche para que por retroinhibición el crecimiento se autoregule. Al volver la noche, los niveles de *LHCB* ya bajaron muchísimo y además *LHY* y *CCA1* están inhibidos porque falta la luz que activaba su expresión. Finalmente los genes de atardecer ya pueden activarse ahora y vuelve la noche y la activación del gen *TOC1* normal.

El fitocromo realmente lo que hace es activar la expresión de *LHY* y *CCA1* durante el amanecer en el momento en que tiene que activarse *LHCB* y otros.

Realmente el tema es más complejo debido a que los días van modificándose todo el tiempo gracias a las estaciones. Unos genes regulan todo esto para que el ciclo se acostumbre.

Las respuestas a nivel molecular del fitocromo – qué sucede en las células con el Pfr ya activo?

El fitocromo activo migra hacia el núcleo. Eso se vió con experimentos con GFP. Cuando una planta crece sin iluminación, el Pr está más o menos disperso (verde uniforme en la hoja). Pero cuando se ilumina con luz solar o luz blanca, el Pfr se acumula en el núcleo (puntitos verdes concentrados). O sea que funciona similar a como lo hacían las MAP kinasas que vimos que entraban y fosforilaban cosas dentro del núcleo.

Se ha demostrado que tanto el A como el B entran activos en el núcleo y se unen a factores de transcripción activándolos y por lo tanto unidos a las cajas G enhancers darán lugar a la inducción del producto del gen *MYB* que a su vez promueve la activación de genes *LHCB*.

Se sabe también que el fitocromo tiene un dominio con actividad kinasa que fosforila cosas y también se autofosforila. Se supone que autofosforilado es capaz de fosforilar otras proteínas, en concreto por ejemplo, los factores de transcripción.

Pero está claro que el tema es más complejo de lo que podríamos pensar en un principio.

Tanto el fitocromo A como el B, una vez autofosforilados pueden entrar en el núcleo y activar cosas.

Pero también pueden cambiar de rutas a otras que ya vimos antes más como rutas generales. Tanto uno como otro pueden activar las rutas de las vías G a través de la activación directamente de las proteínas G de membrana. Esas desencadenarían las respuestas por cGMP o Ca²⁺. Además los PfrA pueden activar a otras kinasa e inducir una cascada de MAP kinasas que a su vez también pueden entrar en el núcleo y por su cuenta tener otra cascada de respuestas. En resumen, el fitocromo puede actuar a través de múltiples rutas de transducción.

RECEPTORES DE LUZ AZUL

Los nucleótidos flavínicos, las pterinas, los carotenoides, etc. son todos pigmentos receptores de luz azul. Pero los efectos fotomorfogénicos no son comunes ni compartidos en ellos. Solo existen 3 moléculas que tienen efectos morfogénicos:

- criptocromos
- fototropinas
- proteínas con carotenoides (zeaxantina)

Criptocromos: Cromóforos De Luz Azul

Comenzaremos viendo los criptocromos. Tenemos flavoproteínas (los que están con flavinnucleótidos como FMN, FAD, etc.) y las pterinoproteínas (las que tienen pterinas).

Fototropinas

Tienen grupos cisteínicos asociados con flavinas. Con luz el azufre de la cisteína forma un enlace (éter de sulfuro) con el pigmento.

Carotenoides

Los carotenoides tienen picos de absorbancia azul (3 piquitos o 3 dedos). La luz azul está entre 400 y 500 nm, justo donde absorben los carotenoides y las xantofilas. La Zeaxantina tiene un espectro de absorción prácticamente igual al espectro fotomorfogénico de luz azul que origina respuestas en las plantas. Vimos la trans-zeaxantina (en prácticas – un fotopigmento) pero también está la cis-zeaxantina (efectos fotomorfogénicos).

EFFECTOS DE LA LUZ AZUL

La luz azul induce curvatura por crecimiento asimétrico

Ya sabemos que las plantas se elongan en oscuridad (mientras que prefieren desarrollar meristemos foliares cuando hay luz). En un experimento, si sobre una planta le disparo luz azul sobre un lado, la planta crecerá más en el lado oscuro, mientras que el lado iluminado permanece sin alongarse. Las células a oscuras entonces crecen alongadamente y eso origina una curvatura hacia donde está la luz azul. Eso se debe realmente al transporte polar de auxinas. Es un tipo de tropismo. Al final la planta crece hasta disponerse hacia la luz.

El efecto del fototropismo es un buen ejemplo dado que están implicados los tres tipos de receptores azules. Sin embargo las fototropinas (lo dice el nombre) son las más implicadas de los tres. Los otros solo ayudan.

Si iluminamos la planta cenitalmente, se induce el crecimiento en grosor (lógicamente se inhibe la elongación del meristemo apical).

La luz azul inhibe elongación del tallo por despolarización de la membrana.

La luz azul estimula el heliotropismo

El efecto es el mismo. Realmente la curvatura por crecimiento asimétrico debido al transporte polar de auxinas hará que la flor o las hojas giren y se dispongan hacia el lado donde está la luz.

El heliotropismo es lo más normal en muchas plantas. Una planta siempre intenta captar la cantidad de luz más favorable. Así intentará que el ángulo de radiación sea el óptimo en cada momento. El heliotropismo es como el fototropismo entonces, pero el heliotropismo sería la verdadera condición natural.

La luz azul induce el movimiento de los cloroplastos

En las plantas los plastos en las células se mueven en presencia de luz azul intensa. Ocurre también con luz roja, pero digamos que los plastos se esconden solo cuando el riesgo es mayor (el caso de luz azul que es la más cercana a hacer daño).

La luz azul estimula la expresión de ciertos genes

Ligado con los efectos de crecimiento verde, la luz azul además de inhibir la elongación del tallo para que aumente la robustez, también estimula la síntesis de clorofila. La expresión del gen GSA en concreto es mucho mayor cuando se alcanza una cierta cantidad de fluencia de luz azul.

La luz regula la apertura estomática: el grado de apertura coincide con la cantidad de radiación

Se ve que la conductancia estomática es mayor en los momentos en que la radiación PAR es mayor (lógicamente viéndolo en las plantas C3).

Haciendo un experimento, metemos luz roja durante 2 horas a una planta en oscuridad. Se ve que la apertura estomática comienza a ser cada vez mayor, poco a poco. A las 2 horas les metemos un chute rápido con luz azul y se ve que la apertura se acelera muchísimo (se activa la turgencia absoluta de las células estomáticas).

Pero si ahora metemos desde la oscuridad solamente luz azul directamente, la pendiente no es tan acentuada. O sea que la luz azul tiene un efecto regulador sobre la apertura estomática. En resumen, cuando la luz azul actúa junto con el fitocromo se da la activación correcta de todos los genes y finalmente el estoma se abre completamente.

La luz azul estimula la entrada de agua a las células guarda tras activar una protón-ATPasa (tipo V inhibible con vanadato). Comparamos el efecto de luz azul en dos plantas que están iluminadas con luz roja. En la planta que creció con vanadato, al meter la luz azul no se da una apertura clara. En la planta control, la luz azul hace que los estomas se abran claramente. Conclusión: la luz azul activa la protón ATP-asa de las células estomáticas. Otros experimentos mediante patch-CLAMP, midiendo el efecto de la luz azul sobre el potencial de membrana. Se ve ahí bien como se da un potencial graduado en la activación de la bomba protónATPasa.

El contenido de zeaxantina en células guarda está relacionado con la apertura estomática

Se mide la cantidad de Zeaxantina en las células del mesófilo y las células guarda. Se mide también la radiación PAR en diferentes momentos del día. Se ve que la cantidad de Zeaxantina aumenta en el momento en que la radiación PAR aumenta

Al parecer la zeaxantina media la percepción de luz azul en células guarda.

Ya conocemos el ciclo de las xantofilas que protege al aparato fotosintético mediante la desepoxidación de la violaxantina que la lleva a zeaxantina. A más luz roja, más zeaxantina se produce.

En los estomas se cree que la zeaxantina puede isomerizarse con luz azul y pasar de trans a cis. La cis-zeaxantina podría inducir un cambio en la apoproteína con lo cual se activa la holoproteína y finalmente activa una cascada que termina activando las respuestas de luz azul. Se cree que la proteína activa una cascada de treonin/serin kinasas (que a su vez está promovida por fototropinas como phot1 y phot2 que también deberían haber sido activadas por luz azul). Una proteína periférica en la membrana interna del citosol, llamada 14-3-3, se fosforila mediante esta cascada y podría unirse y activar la bomba protón-ATPasa de membrana. Esa activación de la bomba haría que se desencadene el potencial de membrana que en última estancia aumentaría el volumen de las células guarda y abriría el estoma.

Hay también evidencia de que las fototropinas sean kinasas asociadas y fosforiladoras de proteínas de membrana. O sea que la fosforilación de la proteína 14-3-3 de membrana activadora de proton-ATPasas de membrana podría tener que ver con fototropinas directamente.

HORMONAS VEGETALES – FITOHORMONAS

Recordamos que realmente el comportamiento de las hormonas no tienen nada que ver con las hormonas vegetales. No se producen o eliminan ni actúan de la misma forma!!

El efecto del tejido depende por una lado del transporte, de la síntesis, por otro lado de la sensibilidad de un tejido determinado (es lo que dianiza un tejido frente a una hormona en distintos momentos ambientales del tejido o de la planta). Hay algunos factores en cuanto a la regulación de la concentración de hormona vegetal.

Se puede regular por: síntesis (la propia célula sintetiza más o menos), transporte (regular cuanto llega o no llega de dicha hormona – cuanto se excreta, etc.), degradación (hay mecanismos que pueden degradar y disminuir la concentración de una hormona en el tejido) y un fenómeno bastante generalizado en las plantas para las fitohormonas – la conjugación de hormonas (inactivación de las hormonas). Los 3 primeros ya se vieron mucho en otras asignaturas. Pero el último es bastante exclusivo de plantas.

La conjugación de hormonas es un proceso muy particular. Se trata de la unión normalmente a un monosacárido, a un azúcar. De forma que la hormona se glucosila (normalmente fructosa, glucosa, galactosa). La glucohormona es inactiva, no puede ejercer su función y normalmente en esos casos se almacena en la vacuola de la célula en la que está. Se puede almacenar de tal forma que en un momento determinado, si una célula necesita una hormona puede liberarla directamente rompiendo el enlace glucosídico y activándola y liberándola de la vacuola inmediatamente. Hay casos de inactivación irreversible, pero no es lo típico.

En muchos casos también (aunque no es el caso del transporte polar activado de las auxinas) viajan en forma inactiva hasta los tejidos diana. Una vez en esos tejidos se rompen los enlaces glucosídicos y finalmente ejercen su acción.

TEMA 17 – LAS AUXINAS

Una señal difusible producida en el ápice del coleóptilo se transmite a la zona de crecimiento (curvatura)

Proviene de auxin que significa crecimiento. Fueron de los primeros reguladores desde el punto de vista químico que se descubrieron. Fue la primera que se descubre y fue una revolución en cuanto al conocimiento del desarrollo en vegetales. Se creía que el tema estaba más controlado en animales que en vegetales. Se ven recién a principios de siglo XX.

Se realizaron experimentos en coleóptilos en *Avena*. Los primeros experimentos que demuestran que existe algo que actúa de forma similar a una hormona son de Darwin en 1880. Cuando se cansó de teorías de la evolución empezó a trabajar con plantas. Una de las cosas que había observado en su vida y que le llamaba la atención era la respuesta de las plantas a la luz (respuesta fotomorfogénica). En concreto una de las cosas que le causaba sorpresa es que si uno le metía un chorro de luz desde un lateral la planta crecía hacia la luz. Es lógico pensar que un tejido fotosintético que depende de la luz para actuar enfoque hacia la luz. Pero las plantas NO RAZONAN! Entonces cómo hacen para moverse hacia la luz si no!?!?

Lo que hacía es que si escindía la puntita al coleóptilo, o si ponía un capuchón oscuro en la puntita al coleóptilo, para que no le dé la luz a la puntita el fenómeno de curvatura no se producía. La conclusión estaba clara, lo que producía la curvatura dependía de que el ápice del tallo detectara esa luz.

En 1913, Boysen-Jensen demuestran que el efecto de la luz depende del transporte de una molécula desde el coleóptilo hacia la base que se curva. Lo que hacían era atravesar con una laminita de mica (impermeable) justo la mitad no iluminada para que nada pudiera transportarse en ningún sentido en ese lado de la planta. Iluminaban y el efecto era el mismo que si se cubría el ápice con el capuchón – es decir que no se curvaba. Si la lámina de mica se ponía en el lado donde le daba la luz, había curvatura igual. O sea que algo se transportaba en el lado no iluminado del coleóptilo que debía estar transportándose cuando el lado contrario se iluminaba. Esa cosa transportada es lo que producía el efecto.

El otro experimento que hicieron fue hacer un corte en el ápice. Y luego pegar el ápice con el resto del coleóptilo mediante una gelatina (o agar, algo no impermeable). Ahora iluminaban y ahora sí había fototropismo. O sea que evidentemente la cosa dependía del transporte.

En 1919 Paál cortaba el ápice. Luego reemplazaba el ápice en solo uno de los lados del coleóptilo de manera que si algo debía transportarse desde el ápice al tallo se transportara solo por ese lado. Veía que había crecimiento curvado. O sea que sacó de ello dos conclusiones. Realmente el ápice, todo bajo el mismo estímulo lumínico, transporta sustancias a ambos lados, de manera que crece todo en longitud sin que haya curvatura. Cuando iluminábamos todo el ápice con la misma luz (el experimento de Paál) pero dejamos que el ápice solo pueda difundir sustancia a uno de los lados, todo el ápice difundirá, pero solo le llegará sustancia a uno de los lados. O sea que la luz dirigida a un lado realmente lo que hacía era retardar el crecimiento en ese lado. Por ello difundían menos químicos por el lado iluminado que por el lado oscuro. En resumen, el lado oscuro crecía más en longitud.

La curvatura entonces dependía de un químico que descendía desde el ápice hasta la base.

El crecimiento depende de la concentración de auxina

Went prescinde del tejido vivo y se interesa en aislar aquello que difunde. Indican que el crecimiento del coleóptilo (medido como grado de curvatura) depende de la concentración de la sustancia. Lo que sea difundía desde el ápice hasta los bloques de gelatina. Se podía así cortar una cierta cantidad de ápices y ponerlos en bloques de gelatina e iluminarlos para que produzcan a saco esa sustancia que sabemos que una vez aplicada en un lado de la planta hará que esa planta crezca. Lo que se hacía era cortar un cachito del agar y ahora en oscuridad total poner ese bloquecito de gelatina en un coleóptilo con la punta cortada, sobre un lado (y luego sobre el otro). Se dejaba crecer y luego se medía la

curvatura que se inducía. La concentración de sustancia se medía dependiendo proporcionalmente de la cantidad de ápices que se ponían en la placa de gelatina originalmente. Así se medía la curvatura en función del número de ápices de coleóptilos de los que se había extraído la sustancia. Se veía que a partir de unos 10 ápices por placa, la curvatura se estancaba un poco en 15° aproximadamente. Purificada ya más tarde se vió que era Ácido Indolacético (IAA) lo que inducía el cambio. Se veía que tenía una respuesta dependiente de dosis. Aplicando directamente IAA se veía que el grado de curvatura incrementaba hasta una cierta concentración determinada y después de una cierta concentración podía inhibir dicho crecimiento.

Hay auxinas naturales y auxinas artificiales. Se cree que la actividad auxina depende no tanto de la presencia de los anillos del grupo Indola (un doble anillo 6+5 compuesto de 8 carbonos y un nitrógeno) sino de la distancia entre el grupo carboxilo que tiene la auxina y un grupo electropositivo (que en las naturales suele ser el grupo nitrógeno del grupo indola).

El efecto de elongación celular de las auxinas

Si se les echa auxina en una placa a unas células ya crecidas, las células crecen en longitud (no crecen tanto en plan replicación, sino que más que nada se alargan!). La placa en que los brotes crecen con agua los brotes se mantienen gorditos. La placa en que se añadió IAA se ve que tiene brotes más largos y finitos. O sea que el IAA no indujo propiamente el crecimiento por división celular sino por elongación de las células!

La sensibilidad varía en los distintos tejidos u órganos vegetales para la IAA

Aunque siempre a partir de una cierta concentración hay inhibición, la concentración a partir de la cual se da la inhibición del crecimiento es diferente dependiendo de si medimos el efecto en las raíces, el tallo o las yemas axilares. La sensibilidad del tallo es menor (necesita mayor cantidad de IAA para responder a ellas). Las raíces son las más sensibles, pero no pueden alcanzar una promoción del crecimiento tan acentuado como puede obtener el tallo o las yemas axilares.

Hay un efecto muy particular e importante que sucede a nivel de los fitómeros. En una concentración un poco mayor de 10⁻⁴ de IAA, las yemas axilares están siendo prácticamente inhibidas en el crecimiento mientras que el tallo está siendo estimulado para crecer. Ese es el efecto que explica la dominancia apical (las plantas crecen siempre más en el meristemo apical que en los meristemas laterales haciendo que crezcan en punta). O sea que a las concentraciones normales de auxina de las plantas (ese 10⁻⁴ aproximadamente) está creciendo más el tallo que los meristemas axilares – forma piramidal de las plantas.

Las raíces solo son estimuladas en su crecimiento recién a 10⁻⁸ y el efecto sobre el crecimiento de la raíz es muy pequeño comparado con lo que hace en el tallo. Es por eso que se suele decir que es una hormona de crecimiento de partes aéreas de la planta.

Zonas de síntesis de auxinas

Suelen ser los meristemas aéreos y las zonas de expansión de las hojas (hidátodos). En particular el que más es el meristemo apical del tallo.

Muchas hojas tienen unas glandulitas que pueden secretar sustancias hacia fuera. Están en el final de las venaciones de algunas hojas. Son zonas de crecimiento, secreción, etc. Son en concreto las zonas sintetizadoras de auxinas de las hojas.

Se han hecho numerosos experimentos en los que se ligan auxinas con GUS y otros marcadores de color

azul para rastrear su síntesis y transporte.

Rutas de síntesis de auxinas

Hay hasta 3 rutas de síntesis en plantas y 1 de bacterias. La auxina por excelencia es la IAA. Todas las rutas parten desde el triptófano. La Trp monooxigenasa de bacterias les permite sintetizar indol-3-acetamida y IAA (bacterial pathway). Las auxinas de las bacterias tienen el efecto de estimular el crecimiento lateral de las raíces y no el crecimiento en elongación (A diferencia de lo que hace en el tallo a concentraciones normales).

Hay otras rutas minoritarias independientes de triptófano. Realmente suelen sintetizarse en origen a partir de metabolitos previos al triptófano en la ruta de biosíntesis del triptófano. Los animales no tenemos esta ruta casi ninguno de nosotros. Son casi exclusivas de las plantas. Hay rutas independientes de triptófano que usan metabolitos secundarios.

Transporte polar de auxinas

Por los haces vasculares pueden transportarse auxinas de una forma no polar. Normalmente se transportan inactivas (están conjugadas con aminoácidos para mantenerlas inactivadas).

Pero también existe un transporte polar (solo en una dirección) a través de las células vivas. De él depende en gran parte la concentración final de auxina en una célula determinada y la actividad de esa auxina en ellas. Se llama así porque es polarizado, normalmente desde el meristemo apical hacia las partes inferiores del tallo.

En la raíz el transporte polar es acrópeto (desde el tallo hacia el meristemo apical de la raíz). En el tallo, el transporte polar es basípeto (desde el meristemo apical del tallo hacia la base del tallo).

Hay un experimento muy elegante que demuestra que el transporte polar es así, polar. Tomamos una sección del hipocótilo y la cortamos. Tenemos una parte basal y una parte apical. Se aplica un bloque de agar o gelatina en la zona apical, cargado de auxina radiactiva (con carbono 14, por ejemplo). Se pone un bloque de agar colector en la zona basal. Pasado un tiempo se analiza el bloque de agar colector y se evidencia que hay radiactividad en él.

Ahora, invierto la disposición del tallo, pongo el ápice hacia abajo, con la placa colector en él y la placa con auxina radiactiva sobre el tallo, en la zona basal.

Pasado un rato, la radiactividad no se evidencia en el bloque colector. De hecho, la radiactividad no se movió prácticamente desde la placa. No es un efecto de la gravedad – la auxina es TRANSPORTADA. Evidentemente las auxinas pueden ser transportadas solo de una manera polar basípeta a través del tallo.

La acción de las auxinas dependerá de este transporte polar.

Modelo quimiosmótico para el transporte polar de auxinas

Las auxinas son esencialmente hidrofóbicas excepto el grupo ácido. Son sintetizadas como IAA⁻. Pero si está protonada (a pH 5), entonces toda la molécula está casi toda apolar. Así puede atravesar la membrana plasmática sin ningún tipo de problemas. El IAAH entonces es apolar y puede difundir directamente hacia el citosol de las células. No obstante, por si eso no es suficiente, existen mecanismos alternativos para el transporte. Puede entrar mediante cotransporte con protones mediante una permeasa. Los protones se mandan afuera nuevamente mediante la bomba protón-ATPasa.

Ya en el interior celular, como el pH del citosol es neutro, vuelve la IAA a forma ácida con carga negativa. Además el pH se mantiene bajo y la IAA desprotonada gracias a las protón ATPasas. Y es más, de hecho se cree que la IAA desprotonada activa la síntesis de más bombas de protones y activa aún más la acción de las bombas de protones.

En resumen, se acidifica mucho el apoplasto de la célula y se activan las extensinas y las proteínas encargadas de iniciar la síntesis de nuevos componentes de pared celular. Se activa así la extensión de la pared celular y la célula crece.

Si una célula tiene más auxina que otra, tiene más activas sus protón ATPasas

Si la concentración de IAA – es lo suficientemente alta para que sea viable su difusión hacia fuera de la célula, lo hará. Para salir de la célula la auxina necesita un transportador para su forma iónica. No hay permeasas que puedan sacarla (solamente son para entrada a la célula). Curiosamente esas proteínas transportadoras no se localizan de forma igualitaria por todo el perímetro de la célula sino que se focalizan y polarizan en unos puntos determinados de la membrana plasmática de la célula, en la parte basal lógico.

De tal forma que en condiciones de iluminación cenital, todos los transportadores de auxinas se colocarán en la zona oscura de la célula, la parte basal. En consecuencia solo pueden salir las auxinas por la base de la célula – hacia la base del tallo. Al salir, podrán volver a protonarse y ahora nuevamente podrán entrar en la célula de abajo. Así es que no es posible invertir un tallo que creció de una forma determinada y pretender que solo por gravedad ahora las auxinas se muevan hacia abajo.

La responsable de este movimiento es percibida por critrocromos y fototropinas – es decir que la luz azul es la que realmente hará que los transportadores de auxinas se sitúen en el lado opuesto al de la luz.

Si iluminamos un lateral, entonces el transporte de auxinas se dirigirá polarizadamente hacia el lado oscuro no iluminado. Lógicamente crecerá mucho más el lado que reciba las auxinas.

Y cómo será en las raíces?

En la raíz la cosa debe ser diferente, porque si hay fototropismo negativo, ¿como hará la raíz para curvarse en contra de la luz (es decir para que crezca su lado iluminado)?

AHHH, pero la raíz tiene una sensibilidad distinta. De hecho, al ser un tejido más sensible a las auxinas, cuando la parte oscura tenga demasiadas auxinas, la parte oscura crecerá menos que la parte iluminada (que tendrá menor concentración de auxinas). En consecuencia la raíz se curvará hacia la oscuridad.

O sea, los transportadores harán lo mismo, es decir, se dirigirán siempre en el lado opuesto al iluminado y transportarán mayor cantidad de auxinas hacia la zona oscura. Pero el efecto es diferente debido que las concentraciones altas de auxinas en la raíz la inhiben, mientras que las concentraciones bajas la estimulan.

Lógicamente una vez la raíz está enterrada crecerá hacia donde haya cada vez más oscuridad y se enterrará.

El transportador de auxinas PIN1

Se llama Pin1 y se localiza basalmente con respecto a la dirección de la luz. Se sacaron imágenes por

unión a GFP sobre cortes de tallos germinados con luz cenital. Es un resultado que reafirma el modelo quimiosmótico del transporte polar. Hay hasta PIN7. Hay una familia de transportadores de auxina entera!

El nombre de cada auxina es el nombre del fenotipo de arabidopsis. Las plantas mutantes para el transportador tienen forma de agujita y por lo tanto se llamó PIN. Como vimos antes, es típico que nombrando genes se utilice el nombre del fenotipo mutante para individuos con mutaciones en dicho gen.

Estudios con inhibidores del transporte polar de auxinas

Se hace con análogos de auxinas. La quercetina (un flavonol) y la genisteína son inhibidores naturales que sirven para que la planta regule su propio crecimiento y el transporte de auxinas. Tienen lógicamente grupos similares al indol del IAA y grupos ácidos.

Hay también inhibidores artificiales que se han utilizado en estudios, mutantes, etc. El más famoso es el ácido triodobenzoico o TIBA.

Se coloca un inhibidor del transporte de auxinas y se utilizan individuos GFP-PIN. Al hacer las microscopías de fluorescencia se ve que los transportadores se quedan y la auxina se acumula dentro de las células. Las células siguientes entonces no reciben auxinas, etc. y es una forma natural de controlar la concentración de auxinas en la célula.

Una vez demostrado que el inhibidor retira de la membrana los transportadores, se lava el tejido para eliminar el inhibidor. La situación se reestablece al poco tiempo y se queda igual que el control. O sea que los transportadores pueden reciclarse. Pueden estar colocados en la membrana, retirarse y volver al citoplasma y puede volver desde las vesículas de reclutación hasta la membrana. La planta puede hacer esto naturalmente con inhibidores naturales!!! En resumen, los transportadores pueden reciclarse.

Al utilizar un inhibidor de la actina luego del inhibidor del transporte e intentar repetir el lavado, se ve que los transportadores se quedan en las vesículas y no son transportados a la membrana. Lógicamente el reciclaje se ve impedido cuando se inhibe la polimerización de microfilamentos de actina (que son los que regulan el transporte polar de vesículas).

Reciclaje de transportadores de auxinas

Estos experimentos demuestran como funciona realmente el transporte polar de auxinas que está mediado por la presencia polar de transportadores. Al recibir la señal, desde un compartimiento endoplasmático se yeman las vesículas con los transportadores. El citoesqueleto se modula con la señal y los filamentos de actina se dirigen en el mismo sentido que la luz. Como resultado las vesículas son transportadas hacia la zona basal. Por exocitosis, las vesículas se abren y las membranas vesiculares (con los transportadores incluidos) se fusionan en la MP. Como resultado los complejos PIN se disponen basalmente en la membrana.

Habrá MAL en vegetales? Reclutamiento a las membranas? Polimerización de actina? Forminas?

Conjugación de auxinas

Las auxinas se conjugan además de con glucosa también con aminoácidos (el resto de las fitohormonas suele hacerlo solo con glucosa). El IAA puede conjugarse con UDP-glucosa y dar el Indolacetil Beta D-Glucosa. Por isomerización puede cambiar la glucosa a inositol.

Otra forma es unirse a Aspartato.

Degradación de auxinas en el tejido diana

Por peroxidasa se pierde un CO₂ por descarboxilación oxidativa y se forma metileneoxindola que ya es inactiva.

Hay vías que no son por descarboxilación sino por oxidación. Se forma oxoindolacético que es inactivo. Las auxinas conjugadas pueden degradarse sin que sea necesario hacerlas pasar por una etapa activa de IAA.

Regulación de la concentración de auxinas

Para aumentar la cantidad de IAA tenemos lógicamente el aumento de la biosíntesis y hidrólisis de conjugados, al igual que activar más los transportadores. Las formas conjugadas al llegar a una célula pueden llegar a guardarse adentro en vacuola. Luego pueden intentar lanzarse afuera frente a una señal externa.

Casi todas las hormonas están sujetas a ciclos de regulación similares. Todas excepto el etileno que como es un gas difunde por donde quiere y hace sus cositas por ahí.

Los mecanismos de depleción son lógicamente la formación de conjugados, la degradación y el secuestro, etc.

Crecimiento de coleóptilos iluminados lateralmente

Hay una gráfica que muestra que si medimos el crecimiento a ambos lados de la planta con respecto al tiempo de exposición. El lado oscuro crece mucho más que el lado irradiado. En respuesta hay una curvatura del coleóptilo. Sin luz, el control crece igual por los dos lados.

Métodos

Los tips de coleóptilos se cortan directamente y se recogen. Luego se ponen en bloques de agar para recolectar la IAA. Se ponen luego bloquitos de agar sobre uno de los dos lados y se fijan. Se ve el crecimiento de la planta en oscuridad.

También están los experimentos que usan barreras de mica. Se utiliza por ejemplo una barrera de mica vertical para evitar que el IAA pase de un lado a otro cuando se ilumina polarmente sobre un lado del coleóptilo. Se recoge el IAA producido por el ápice por cada lado en separados bloques de agar. De esta forma nos aseguramos que cada bloque de agar tendrá el IAA producido por cada mitad del tip. Si se aplican los bloques y se analiza la respuesta, el grado de curvatura producido por cada bloque de agar es el mismo.

En un último experimento se corta el tip del coleóptilo y se pone la barrera de mica únicamente en el bloque de agar. El lado del bloque que recolectó lo producido por el lado oscuro produce al final mayor curvatura (es decir que las auxinas si se movieron de un lado al otro del tip en este caso).

Es decir – la luz provoca un transporte polar de auxinas desde el lado iluminado hacia el lado oscuro.

En un coleóptilo intacto, la luz dirigida haría que los PIN1 se situaran en el lateral de la célula y polarizaran el transporte de IAA hacia el lado oscuro. Lógicamente algo de transportadores llevarán IAA hacia abajo. La redistribución de auxinas será asimétrica. Siempre habrá más en el lado oscuro y

por lo tanto el lado oscuro se elongará y crecerá más! Al final se producirá la curvatura.

Un método más actual es usar genes colorados ligados al promotor de los genes implicados en el transporte de auxinas. Así se permite rastrear la presencia de auxina en el coleóptilo. Se hacen experimentos y se ve que hay color solo de un lado cuando hay luz dirigida. Si se ponen inhibidores lógicamente no hay curvatura y se ve que la auxina no es transportada polarmente.

Orto-Gravitropismo de las raíces y su relación con las auxinas

Si ponemos una semilla horizontal, pasado unas horas el tallo comienza un movimiento vertical hacia arriba y la raíz se curva hacia abajo. Si ponemos una semilla al revés, pasadas unas horas la raíz se curva y crece hacia abajo y el tallo se curva y crece hacia arriba. Hay sensores de gravedad. Esos sensores actúan sobre los PIN1 de forma similar a como lo hace la luz. Las auxinas se transportan hacia el centro de gravedad (como si cayeran por gravedad hacia abajo).

Lo que ocurre en el tallo horizontal es que las auxinas por gravedad caen hacia el lado de abajo (realmente está mediado por sus transportadores PIN). En resumen habrá más auxinas en el lado de abajo del tallo, éste crecerá más y por lo tanto el tallo se curvará por culpa de ese transporte polar de auxinas.

En la raíz, por efecto de la gravedad sobre el transporte polar de auxinas pasa otro tanto. La mayor presencia de IAA en el lado de abajo hace que ese lado crezca menos y por lo tanto se curva hacia abajo. Eso es gracias, otra vez, a que la raíz es muy sensible a auxinas y por lo tanto concentraciones altas inhiben el crecimiento.

Esto se vio también mediante proteínas transportadoras de fusión con GUS (gen colorante – azul).

Crecimiento celular por acidificación de pared mediado por auxinas – Crecimiento ácido

Ya vimos por la teoría quimiosmótica que las auxinas inducen la activación de las bombas protón-ATPasas y hacen que en el apoplasto el pH disminuya. Eso hará que se activen las expansinas y por lo tanto se promueva el crecimiento celular.

Activación por auxinas de protón ATPasas del plasmolema

Las protón ATPasas tienen un dominio inhibitorio y un sitio regulador. La unión en ese sitio de una proteína efectora de auxina (ABP, auxin binding proteins) modifica las protón ATPasas activándolas o inhibiéndolas. Cada ABP puede unirse con varias auxinas. La unión con unas pocas moléculas de auxina hace que la estructura de la ABP adopte cada vez conformaciones más activas y hace que en unión con las protón-ATPasas éstas cada vez se activen más.

Si se unen ya demasiadas auxinas a las ABP (a concentraciones muy grandes), esto induce un cambio conformacional inactivante y en resultado la protón ATPasa vuelve a su conformación inhibida y por lo tanto no se acidifica el medio de la misma forma, etc.

Mediante otras ABP las auxinas pueden activar cascadas de señales que terminan induciendo la expresión de los genes de la protón ATPasa. Además de activar a la enzima por otras segundas rutas de transcripción, se activa entonces la síntesis de bombas y hay más bombas protónicas en membrana por efecto de las auxinas. Hay más proteína, más ABPs, más protón-ATPasas, etc.

La pared celular se ablanda debido a la activación de unas proteínas del apoplasto llamadas expansinas. Esas expansinas activadas cortan los residuos mediante la XETransferasa y finalmente se

relaja y ablanda la pared celular. Como la vacuola está muy turgente eso hace que la célula aumente de tamaño debido a la disminución de la tensión del apoplasto. En resumen, la célula aumenta de tamaño y ahora una vez la presión ya se equilibró, la pared celular retoma su estabilidad original.

Efectos y regulación sobre el ciclo celular – Regulación de la mitosis

Algunos de los reguladores intrínsecos del ciclo celular (ciclina, CDKs) son a su vez regulados por distintas hormonas y otras cosas más.

Las auxinas fundamentalmente (por una ruta de segundos mensajeros mediada por ABPs, etc. similar a la que produce la activación del promotor para los genes de bombas protón-ATPasas) modulan los niveles de ciclina. De hecho, los niveles de división celular en los meristemos dependen de auxinas (aunque también de las citoquininas). Realmente las auxinas son las implicadas en la activación de la síntesis celular de todas estas proteínas que son reguladoras del ciclo celular.

Las citoquininas son las que están más implicadas en la regulación del ciclo celular en vegetales. Las citoquininas se encargan de activar algunas CDKs en concreto. Inducen la activación de CDKs. La iniciación del ciclo celular realmente depende de las dos.

En los meristemos, las auxinas inducen el aumento de la actividad mitótica y hace que la planta crezca más ahora por crecimiento del número celular (más que del volumen).

Distribución de auxinas durante la embriogénesis

En la determinación de los distintos tipos de tejido en el embrión parece que son muy importantes. El cambio en las distintas fases viene dado por un cambio en los transportadores de auxinas. Se concentran así más auxinas en determinadas células del embrión durante su desarrollo y permite así el crecimiento en ejes concretos dándose la determinación de los ejes del organismo, y la morfología de los primeros estadios del embrión (embrión de 2 células, embrión globular, embrión en forma de corazón, embrión en forma de torpedo).

Fundamentalmente debido a la regulación materna del desarrollo en las primeras etapas, se induce el transporte de auxinas hacia las partes apicales (hacia las células apicales del proembrión de 2 células). Eso hace que se divida más la parte apical del protoembrión y por lo tanto se da la forma globular de la zona superior. Por el contrario, la hipófisis (la que origina la raíz) y el suspensor mantienen una forma alargada en estas primeras etapas.

Una vez que las zonas apicales (tallo fundamentalmente) están desarrolladas, posteriormente ya sí se inducen divisiones celulares en el meristemo apical de la raíz gracias a que ahora ya las auxinas serán transportadas hacia la zona basal.

Se han hecho experimentos marcando con proteínas fluorescentes a los transportadores PIN7 (los más implicados en las primeras etapas del desarrollo) y PIN4 (los más implicados en el transporte basípeto). Se ve que en las primeras etapas se expresan más los PIN7 que llevan a que las auxinas vayan hacia el tallo en las primeras etapas. Luego, en etapas más avanzadas, se expresan los PIN4 que compiten contra los PIN7 y como son más afines por las auxinas les ganan y hacen que el transporte ahora se dirija hacia la zona basal.

También se han hecho experimentos con proteínas fluorescentes marcando proteínas relacionadas con auxinas (ABPs, etc.).

Inducción de raíces laterales y adventicias

Realmente las auxinas inhiben en concentraciones normales la elongación vertical radicular (inhiben el aumento del volumen y elongación de la raíz primaria). Pero en concentraciones normales llegan al periciclo vía estela. Se transportan por el floema en forma conjugada e inactivas. Esto no por transporte polar sino por transporte floémico en forma inactiva. Estimulan el periciclo. ALF4 y ALF3 son activados y así inician la formación de raíces laterales y permiten que se mantenga el crecimiento.

Las cascadas de señalización son a nivel citoplásmico y nuclear (mediado con ABPs que se dirigen al núcleo y estimulan factores de transcripción, etc. como siempre).

Inducción de dominancia apical

En los nodos hay yemas axilares que darían lugar a ramas. Pero siempre hay una dominancia apical (crece más el meristemo apical del tallo que los meristemas axilares). Esa dominancia depende de auxinas. Si se corta en una planta el meristemo apical del tallo se desarrollan más las ramas (yemas axilares) inmediatamente inferiores al meristemo apical del tallo. Ahora bien, si a esa misma planta que se le ha cortado el meristemo apical del tallo se le aplica una caperuza con auxinas (un algodoncito o un bloquecito de agar con IAA), se inhibe el desarrollo de yemas laterales.

Crecimiento del fruto mediado por auxinas de la semilla (aquenos – fresas)

Los aquenos son semillas que están metidas en la carnosidad de la placenta+carpelo que forma como una matriz que carga azúcares, etc. Una aplicación comercial es conseguir desarrollo de frutos sin semillas. Pero se ve al experimentar que los frutos no engordan. Eso está dado porque las auxinas son necesarias para el crecimiento de la carnosidad del fruto. Son secretadas por las mismas semillas para que el fruto crezca.

La solución en agricultura es que se le aplican auxinas artificiales a estos frutos sin semillas para que se puedan obtener ahora sí esos frutos sin semillas pero que crecerán casi normalmente.

Inducción de la diferenciación de tejido vascular

Si se produce un corte y una herida en una planta que interrumpa el curso de un haz vascular se evidencia que la planta puede diferenciar nuevo tejido vascular que rodea la herida y permite reestablecer el flujo floémico–xilémico. Eso depende de la concentración de IAA que le llegue al tejido circundante de la herida.

En experimentos se obtienen plantas y se las crece con un corte y se ve que no crecen mucho. Si se ponen bloquecitos de IAA se ve que el tejido vascular forma bypasses para reestablecer el circuito.

TEMA 22 – MOVIMIENTOS DE LAS PLANTAS

Las plantas en su mayor parte no tienen movimientos de desplazamiento. Muchas de sus características fisiológicas dependen de esta inevitable condición.

Sin embargo sí que hay movimientos muchos de ellos imperceptibles a la visualización del ojo humano y de los cuales dependen muchas cosas en las plantas.

Existen dos tipos:

- tropismos
- nastias

La diferencia es que los tropismos implican crecimiento direccional de ciertas partes de la planta mientras que las nastias implican movimiento normalmente por cambios de turgencia y que son adireccionales.

TROPISMOS

El crecimiento direccional quiere decir que el movimiento depende de que un órgano crezca más que otro. Eso hace que el órgano crezca en una dirección diferente con respecto al resto de la planta.

Los tropismos y las nastias responden a las señales ambientales mediante receptores y vías de señalización celular.

Pero el crecimiento direccional tendrá diferente sentido y eso depende de la señal. Podemos encontrar tropismos positivos (HACIA LA SEÑAL QUE LO GENERA), negativos (EN CONTRA DE LA SEÑAL QUE LO GENERA) y atropismos (NO TIENEN TROPISMOS).

A su vez, los tropismos pueden ser clasificados según la dirección del crecimiento del órgano en el que se genera el tropismo. Puede haber tropismo en paralelo (ortotropismo), tropismo en ángulo (plagiotropismo) o tropismo perpendicular (diotropismo). El ejemplo más clásico es el del gravitropismo. La raíz y el tallo tienen ortogravitropismo (la una positivo y el otro negativo). Las raíces laterales crecen en un ángulo y son plagiogravitropicas. Los rizomas de las zarzas por ejemplo crecen perpendiculares (rastreando el suelo) y serán diagravitrópicos.

Fototropismo

Es el ejemplo que vimos en el tema 17 de las auxinas. Se debe al transporte lateral de auxinas.

El fototropismo negativo de la raíz se veía en experimentos con cultivos hidropónicos de plantas. Al poner luz dirigida se veía como la raíz crecía en sentido opuesto a la luz y se dirige en contra. Mientras tanto el tallo hacia lo opuesto.

Gravitropismo

Vimos que se debía a la existencia de unos sensores llamados estatolitos que están dentro de unas cuantas células llamadas estatocitos. Esos estatocitos del tallo (algunas células parenquimáticas del córtex especialmente diferenciadas) y la raíz. Los estatolitos son amiloplastos especiales muy gordos. Están libres en el citoplasma y no anclados por el citoesqueleto como otros orgánulos celulares de manera que si la célula cambia de posición éstos bailan. En algunas algas los estatolitos son cristales de bario (Ba) como en *Cara*.

Si tenemos una planta en posición vertical los estatolitos están presionando la base de la célula. Presionan al retículo endoplasmático y esa presión incide en el transporte polar de auxinas. Cuando la planta está en vertical, a ambos lados de la planta la presión será la misma. En consecuencia, el transporte de auxina será el mismo en un lado que en el otro de las células (debido a la presión uniforme). Eso hará que el crecimiento en cada lado de la planta sea el mismo y la planta no se doble. Así el tallo crece hacia arriba y el tallo hacia abajo.

Si ponemos la planta en posición horizontal, los estatolitos caen hacia uno de los lados de las células y recae el peso todo sobre un lado. La presión desigual sobre el retículo endoplasmático hará que se presione sobre todo uno de los lados en todos estos estatocitos. Eso hará que las auxinas se transporten fundamentalmente hacia uno de los laterales de la planta (el lateral presionado por estatolitos). Las auxinas se transportarán hacia ese lado y el efecto será diferente en la raíz que en el tallo. En la raíz

lógicamente, como las auxinas tienen un efecto inhibitor, crecerá más el lado no presionado y por lo tanto se curvará la raíz hacia abajo. En el tallo lógicamente crecerán más las del lado presionado (las que reciben las auxinas) y por lo tanto se curva el tallo hacia arriba.

El sensor de gravedad de la raíz se encuentra en la caliptra

En el tallo no están muy estudiado y no se conoce un órgano definido para la respuesta gravitrópica. Las células están más o menos desorganizadas en el parénquima, etc. Pero en la raíz hace ya algunos años se demostró que la gravitropía estaba precisamente en la caliptra. Una raíz con caliptra tiene ortogravitropismo positivo, pero si le quitamos la caliptra hay ortogravitropismo positivo. Sin embargo, en posición horizontal, la raíz con caliptra tiene ortogravitropismo positivo mientras que la raíz sin caliptra es a gravitrópica y en posición horizontal sigue creciendo en dirección horizontal. De ahí se intuye que el sensor está en la caliptra.

En posición horizontal uno puede convertir una raíz en un tallo y hacer que tenga ortogravitropismo negativo si dejamos la mitad superior del ápice radicular con caliptra y la mitad sin caliptra. Si hacemos al revés, solo con la mitad de caliptra en la parte inferior, basta para que tenga ortogravitropismo positivo.

La caliptra permite que parte de las auxinas que llegan a la raíz en forma conjugadas por transporte a través de la estela sean redistribuidas en forma activa por transporte dirigido a los tejidos periféricos de la raíz en la zona de elongación.

En el modelo las auxinas llegan a las células de la caliptra. Algunas tienen esos estatolitos y son estatocitos. Cuando la planta está en vertical, esos estatolitos presionan por igual a ambas partes y la cantidad de IAA que se mandan desde la caliptra hacia la periferia será igual. Así la zona de elongación crecerá equitativamente por los dos lados.

Si le quitáramos media caliptra, la zona de elongación de la mitad con caliptra recibirá IAA activo (que es inhibitor en raíz) y por lo tanto se elongará más la otra mitad y la raíz crecerá con ortogravitropismo negativo.

Implicación del Calcio en el gravitropismo

El EGTA es un quelante (un secuestrador) de calcio. Quita normalmente catiónicos divalentes. El EGTA le quitará Calcio a las células y dejará la caliptra sin calcio.

En el experimento, se ponen raíces en horizontal con caliptra completa y con bloques de agar. Se ponen el ápice de la raíz en contacto con un bloque de agar que tiene cosas.

En el primer caso se pone agar con EGTA y se comprueba que la raíz crece agravitrópicamente.

En el segundo caso se pone agar con EGTA y luego se pone agar con Calcio. Se comprueba que la raíz crece con gravitropismo positivo (la raíz se curva hacia abajo – igual que en condiciones normales). Teniendo en cuenta de que eso depende del transporte de auxinas se puede intuir que el calcio tiene que ver con ese transporte de auxinas.

En el tercer caso se pone el bloque de agar con calcio solo en el lado superior de la raíz. La raíz se curva con gravitropismo positivo.

En el cuarto caso se pone el bloque de agar con EGTA solo en el lado inferior de la raíz. Se comprueba que la raíz se curva con gravitropismo negativo hacia abajo.

Estatocitos: transformación del estímulo mecánico en químico en los estatocitos

En los últimos años se han hecho experimentos con regulación génica para comprobar esto. Si se ve como se mueve la expresión de genes dentro de las células de la caliptra uno puede llegar a un modelo molecular hipotético. Se ha confirmado un modelo el año pasado.

Cuando los amiloplastos presionan el retículo endoplasmático se abren poros que liberan calcio. Se activa la síntesis de una calmodulina. El calcio se une a esa calmodulina y la activa. La calmodulina activada por calcio induce una ruta de transducción de señales. El resultado es dos efectos fundamentalmente. Uno es que induce la colocación de transportadores de auxinas en la base de la célula. El IAA es transportado hacia la célula de abajo. Si estamos en raíz lógicamente se inhibe el crecimiento en las células de abajo. Esa misma cascada se bifurca y como otro resultado induce la colocación y activación de bombas de calcio en la base de la célula. O sea que la posición vertical hace que se mande calcio y auxinas a las células de abajo. El calcio en las células de abajo entra y por lo tanto la señal de calmodulina se ve amplificada (aún cuando las células de debajo del estatocito no tengan amiloplastos). En resumen las IAA van siendo transportadas hacia abajo.

ES MUY POSIBLE QUE ESTA PREGUNTA CAIGA EN EL EXAMEN (EL TEMA DEL GRAVITROPISMO)

Hay otros tipos de tropismos

El tigmotropismo se da por una señal de presión (seismotropismo). También hay otros tropismos eléctricos por ejemplo. Todos los tropismos están basados en una señal primaria que induce un cambio en el transporte de auxinas. Ese cambio en el transporte se traduce en un crecimiento diferencial de ciertas partes de los órganos.

NASTIAS

El mecanismo es siempre el mismo. Consiste en un cambio de turgencia celular. Las células turgentes tiran del órgano mientras que las células plasmolizadas promueven que el órgano se pliegue.

Las nictinastias dependen de los ritmos circadianos como ya vimos en su día. Se llaman también epinastias porque se producen en las hojas (zonas periféricas de la planta). Durante la noche, para no perder calor interno pliegan la noche. Las abren de día para hacer fotosíntesis.

Un ejemplo de nastias que son las seismonastias o tigmonastias. Las más características son las de las mimosas. El viento (que es una típica fuerza mecánica que estimula las mimosas) hace que las mimosas cierren sus hojas.

Al tocar solo una pinna de la hoja con la punta de un lápiz se ve que se cierra esa pinna y al tiempo toda la hoja se cierra.

Lo que sucede es que unas células llamadas del pulvínulo sufren flujos iónicos en presencia del estímulo mecánico. Al tocar las hojas, las células pulvinulares del haz manda iones hacia el pulvínulo del envés. Ese pulvínulo dorsal aumenta en turgencia y por lo tanto la hoja se pliega hacia arriba.

Hay unas moléculas llamadas turgorinas que parecen ser los neurotransmisores del estímulo para producir epinastia en todas las hojas vecinas.

En el caso de las epinastias que dependen de luz tenemos nictinastias (que no son de las mimosas). En presencia de luz, la zona dorsal (el envés) se pone turgente (zona extensora en turgencia) y la zona

ventral (el haz) se pone plasmolítica (zona flexora en turgencia). Así en presencia de luz la hoja se extiende. En oscuridad pasa lo opuesto.

TEMA 18 – GIBERELINAS

Deben su nombre al hongo *Giberella fujikuroi*, un hongo que provoca en el arroz la enfermedad de la planta loca (crecimiento excesivo del tallo del arroz – no llega a generar espigas y por lo tanto no se reproducen). Originalmente es un descubrimiento japonés y luego el tema pasa a los americanos. A partir de ahí se descubre que las moléculas que el hongo produce y que causan el crecimiento desmesurado del tallo son todas derivadas de una molécula llamada kaureno, una molécula orgánica formada por varios anillos carbonados. A partir del kaureno se forma el ent-Giberelano. Las moléculas derivadas del ent-Giberelano forman (unidas a grupos ácidos) los ácidos Giberélicos (GAs) o Giberelinas.

A todas las giberelinas se las denomina GA1, GA2, etc. El GA3 es el ácido giberélico propiamente dicho. Están numeradas por orden de descubrimiento. Hay algunas decenas.

Solo unas poquitas de esas giberelinas son activas como hormonas (muy pocas de forma permanente). Algunas son necesarias para el crecimiento de las plantas.

Variedades enanas de muchas plantas se deben a fallos en la síntesis de giberelinas.

A partir de moléculas de isoprenos las plantas sintetizan a los terpenos y terpenoides, moléculas de las que se derivan, entre otras cosas, los pigmentos. El primer terpeno de la vía es el ITP, el isopentenilterpeno. A partir de él se forma el Geranyl-G-difosfato (la molécula responsable del aroma de los geranios), un compuesto de 10 carbonos. La vía continúa en el proplastidio y es en él donde se sintetiza el kaureno, un derivado del ent-Copalil-PP que viene de la ruta de estos terpenos. El Kaureno sale y es modificado en el retículo endoplásmico y posteriormente en el citosol para formar la GA3 final.

Mediante diversas oxidasas y otras enzimas isomerizantes, etc. se pueden formar el resto de giberelinas.

Las giberelinas se inactivan por hidroxilación de uno de los carbonos de un anillo y forman las GAs inactivas. Una vez inactiva es susceptible de degradación enzimática.

Síntesis en tejidos apicales

Las giberelinas se sintetizan en tejidos apicales fundamentalmente. Las hojas que están empezando a brotar tienen intensa síntesis de giberelinas. Las hojas ya más desarrolladas tienen una síntesis mucho menos intensa hasta llegar a las hojas basales que ya maduras no sintetizan nada de GAs.

Mucho de la regulación de la actividad de GAs se produce a nivel de regulación de la síntesis, aunque también está la inactivación por hidroxilación como vimos antes, o por conjugación (como vimos que sucedía en la mayor parte de hormonas vegetales) con azúcares en este caso. Además lógicamente el transporte repleta la cantidad de GA activa en la célula.

Los ritmos circadianos y la temperatura son dos factores ambientales que regulan en concreto la síntesis de giberelina. Los días largos y fríos hace que se active la síntesis de giberelinas.

El efecto más típico – la inducción del crecimiento en tallo

Sobre una caña enana se hace un experimento. Se ponen diferentes tiestos con la planta. En el primero

una variedad enana. En el segundo una planta enana también pero con aplicación de giberelinas artificialmente. En el tercero una planta normal y en el cuarto una planta normal con giberelinas. La enana sin GA tiene una longitud anormalmente pequeña. La enana con GA crece hasta una longitud casi normal. La planta normal con GA externa sin embargo no crece en longitud mucho más que la planta normal sin GA. Eso es debido a que hay una regulación interna por algún tipo de mecanismo de loop de retroalimentación negativa que inhibe la síntesis cuando las concentraciones de GA son suficientemente altas.

¿Pero entonces, cómo hacía el hongo *Giberella* para hacer crecer más el arroz? Simple. Realmente no producía él mismo las GAs sino que regulaba la producción interna de la planta.

El crecimiento depende de la dosis endógena de GAs

La capacidad de regular internamente la concentración de GAs en la planta es suficiente para lograr que la planta crezca correctamente. Por ello, al meter GAs exógenas en una planta con regulación normal (no mutada) no hay un efecto añadido. Existen plantas enanas con una concentración interna de GAs muy inferior a las de una planta normal. Esas plantas sí admiten el aporte de GAs externas y crecerá tanto como una planta normal. Existen además variedades semienanas que son un poco más grandes que las enanas y que admiten menos dosis que las enanas para llegar al desarrollo en longitud normal.

Básicamente la explicación genética en la planta del guisante depende de un gen *Le*. Hay una serie alélica de tres alelos que regulan la producción de GAs endógena. Existe el alelo *Le* (wild-type) que es dominante y produce el fenotipo alto normal. Luego está el alelo *le1* que es recesivo frente a *Le*, pero que es dominante frente a *le2* y produce el fenotipo semienano en dominancia u homocigosis. El alelo *le2* es recesivo absoluto y produce el fenotipo enano en homocigosis.

Regulación de la síntesis por el fotoperíodo

Uno de los factores ambientales que regulan la síntesis es el fotoperíodo.

Se hace un experimento midiendo la producción de giberelinas interna en diferentes plantas que se crecen en ambientes de diferente luminosidad. Cuando una planta crece en oscuridad tiene una cierta concentración normal de giberelina. Cuando esa planta que había sido crecida en luz se la pasa a luz, en unas pocas horas degrada la GA y por lo tanto su concentración hace un declive importante. Hasta que no pasan 24 horas de luz no se reinicia la síntesis de novo de GAs. Recién luego de 120 horas de luz se comprueba que la síntesis de GA ha recuperado los niveles iniciales.

Días largos (LD) aumentan los niveles de giberelinas endógenas y crecimiento de la planta

Hay ciertas plantas que debido a su forma de regular la síntesis de giberelinas crecen de forma diferente en otoño y en primavera-verano. Estas plantas, como la espinaca o la misma *Arabidopsis*, se llaman de DIA LARGO (crecen más en primavera-verano cuando los días tienen más horas de luz).

Ese efecto depende fundamentalmente de giberelinas (aunque la floración estacional depende ya de otras cositas también).

Se hace un experimento con espinaca. Se pone a crecer, en primavera, plantas de espinaca con un inhibidor de la síntesis de giberelinas como es AMO. El fenotipo que desarrollan es el mismo que el que tienen normalmente en invierno-otoño, enano. Si se le aplica luego la GA3 de forma externa la planta crece de forma normal como lo haría en una estación de días largos normalmente.

Simulación del efecto de día largo en la división celular y orientación del plano de división del meristemo del tallo

Crece más el tallo debido a un aumento del número de divisiones horizontales cuando la planta es crecida en períodos de día largo. Pero si crecemos en fotoperíodos cortos con giberelinas artificiales, el tallo sufre el mismo tipo de divisiones que si el fotoperíodo fuera largo.

Esto mismo regulará (como veremos en temas posteriores) la floración.

Auxinas inducen síntesis de GAs

Las auxinas parecen inducir la síntesis de giberelinas e inhiben la degradación de las mismas. El experimento es similar a los que veíamos para los efectos de las auxinas. Se pone un apilata intacta que tiene un nivel determinado de GAs. Una planta decapitada (con el tip del tallo cortado) presenta lógicamente menos IAA (se sintetizaban en el ápice del tallo) y presenta menos GAs. Cuando añadimos un taquito con IAA artificialmente a la planta decapitada el nivel de GAs se recupera. O sea que otro efecto importante de las auxinas es inducir la síntesis de GAs e inducir la elongación del tallo por división celular (y no solo por su efecto directo en el aumento del crecimiento del volumen celular).

(EL TEMA DE LOS EFECTOS DE LAS AUXINAS SOBRE EL CRECIMIENTO DE LA CELULA, INCLUYENDO ESTO SOBRE GAs TAMBIEN, VA A SER PREGUNTA CLAVE EN EL EXAMEN DE JUNIO)

Elongación del tallo por activación de las endotransglicolasas de la pared celular

Las expansinas relajaban los enlaces de hidrógeno entre el xiloglucano (una hemicelulosa) y la celulosa cuando el pH se acidificaba produciendo que las hemicelulosas se soltaran mucho más entre sí.

Luego la XET, que también se activaba en pH ácido, producía la endotransglicolación de los xiloglucanos (ruptura y unión de otros fragmentos de hemicelulosas). Luego la misma XET tomaba un fragmento de hemicelulosa de nueva síntesis y lo pegaba entre los dos extremos recién abiertos dejando ahora mucho más lugar entre las diversas fibras de celulosa.

Las auxinas de forma directa e indirecta incidían en el crecimiento de la pared: de forma directa porque reducían el pH y de forma indirecta por aumentar la síntesis de GA (lo que a su vez producía la activación de la XET).

No solo aumentan el número de mitosis en el tallo sino que también producen un aumento de la elongación celular – análisis de internados en presencia o ausencia de giberelinas exógenas

Se mide el crecimiento de los internodos en un trozo de tallo desde que es escindido de la planta con respecto al tiempo. Se ve que hay una diferencia brutal entre el experimento sin GA y el experimento con GA. El efecto de la GA es sobre todo la elongación de los internodos.

Las GAs también estimulan la división celular en el meristemo apical del tallo

Las giberelinas aceleran la transición entre la etapa S y la etapa M del ciclo celular. Es decir que acortan la fase G2 fundamentalmente. No regulan kinasas ni CDCs ni nada raro. Lo que hacen es acortar la fase G2 acelerando en general el fisio–metabolismo celular.

La señal de GAs induce la degradación de represores transcripcionales inactivándolos a través de su

dominio regulador

Algún intermediario de la cascada penetra activo en el núcleo y se une a una proteína reguladora de la transcripción en su dominio regulador. Al unirse induce un cambio conformacional que produce que el dominio represor (el que se ocupa de unirse al DNA e inhibir la transcripción) se inactive. Lógicamente el represor pasa a forma inactiva. En su forma inactiva el represor es exportado y se produce su degradación en el citoplasma.

O sea que las GAs no activan factores de transcripción de genes sino que inactivan represores de transcripción. Es decir que consiguen activación de la transcripción pero de una forma indirecta.

Esto le ocurre a todos los genes cuya expresión está regulada por GAs.

y esa misma degradación de represores induce el crecimiento!

En su forma activa el represor inhibe la expresión de genes estimuladores del crecimiento. Cuando hay GA, los represores se degradan, los genes aumentan su expresión y la planta crece.

Mediante experimentos de manipulación se pueden obtener plantas que tengan represores con dominio regulador mutado. Lógicamente en esas plantas no puede haber crecimiento aún en presencia de GAs.

Cuando se consiguen mutantes para ese represor que tienen el dominio de represión mutado la planta crece tanto si hay como si no hay presencia de GAs gracias a la activación constante sin represión de la expresión de genes de elongación y crecimiento celular.

La señal de GAs también inhibe la transcripción de represores transcripcionales y de sus activadores

Las GAs no solamente inactivan represores sino que también inactivan a los activadores de la transcripción de los represores transcripcionales de genes (como los de XET en concreto).

En concreto un intermediario de la cascada de señal de GA, además de inactivar los represores de genes de crecimiento (como GAI o RGA), inactiva el factor SPY (estimulador de represores) que es el que se encarga de activar los represores GAI o RGA de la planta

Algunas de esas proteínas activadoras de los represores de la transcripción de genes inducibles por GAs son Glucotransferasas o glucosil transferasas (por ejemplo SPY) que meten un glucósido en el residuo NAcetilGlucosamina de los represores.

Lógicamente en presencia de GA, el receptor de GA en MP recibe la hormona e inicia la cascada que inhibe la actividad glucosiltransferasa de SPY además de producir los metabolitos que se unirán a los dominios reguladores de los represores GAI y RGA. Al inactivarse el tema, se activa la transcripción de los genes inducibles por GA

En ausencia de GA, el receptor de GA de la MP no recibe señal y por lo tanto no se amplifica la cascada de metabolitos secundarios. En resumen, SPY se mantiene activo, viaja al núcleo y activa sin problemas a los represores RGA y GAI los cuales reprimirán la transcripción de los genes inducibles por GA.

Germinación de semillaS: las GAs del embrión inducen la producción de alfa-amilasa en la aleurona

Es el efecto más típico, más conocido y más estudiado de las giberelinas: la inducción de la germinación de semillas estudiada en los cereales.

El efecto también ocurre en dicotiledóneas. Pero en los cereales, una de las primeras señales de germinación es la inducción de las hidrolasas (alfa-amilasa) que movilizan las reservas nutritivas de la semilla. En el caso de los cereales la reserva está en el endospermo (un tejido triploide que es sustituido por los cotiledones que son los que son tejidos de reserva en las dicotiledóneas). El almidón que hay en él es lo que alimentará al embrión al principio del desarrollo.

El endospermo tiene una testa pericárpica externa y luego tiene una monocapa celular denominada la capa de aleurona donde están las células aleurónicas. Ya por dentro está el tejido de reserva del endospermo.

El escutelo o escudete (el cotiledón reducido) es un tejido de transporte de sustancias entre el endospermo y el embrión. Cuando germina la cebada, la glucosa y los aa del endospermo viajan a través del escutelo hacia el embrión. Pero antes de que eso ocurra, primero el embrión, un tejido que en cuanto se hidrata ya comienza a vivir, debe sintetizar giberelinas. Esos genes son maternos y están almacenados en el embrión en forma de mRNAs. Las giberelinas maternas del embrión viajan también vía escutelo hacia la capa de aleurona. Allí activarán también por inactivación de represores, la síntesis de enzimas hidrolizantes de almidón, proteínas, etc. que serán las que produzcan los solutos del endospermo. De esas enzimas, la más producida es la alfa-amilasa (la primera que se activa y la más activa).

El experimento será tomar semillas completas y embeberlas en agua y medir la actividad amilasa (la degradación de almidón). En otras semillas disectaremos y quitaremos el embrión. Esas semillas no tendrán actividad alfa-amilasa (y por lo tanto el almidón no se degradará). En algunas de esas pondremos giberelinas y veremos que aún sin embrión la actividad alfa-amilasa aumentará y por lo tanto se degradará el almidón del endospermo.

Inducción de la síntesis de alfa-amilasa en la aleurona

Mediremos la tasa de síntesis de alfa-amilasa con respecto a la exposición a GA3. En una segunda parte se ponen GA pero se inhibe con un antibiótico la síntesis de proteínas. Se ve que con el antibiótico no se produce alfa-amilasa. Lógicamente la deducción será que la GA activa la síntesis de mRNA de la alfa-amilasa y que por lo tanto, con el antibiótico en el medio, la alfa-amilasa no se puede secretar en grandes cantidades.

Otra forma de comprobar a qué nivel actúa la GA es medir también la cantidad de mRNA por RPTFR (ver la síntesis de mRNA traducible dependiendo de la exposición de GA3).

Inducción de posibles intermediarios en la ruta de transducción en la aleurona

Se puede comprobar la respuesta a la presencia de GA después de tratamiento con GA. Se mide el aumento de ciertos metabolitos luego del tratamiento. Se mide el Calcio, el pH, la actividad CaM (calmodulina), la cantidad de cGMP, la cantidad de GA-MYB, la actividad alfa-amilasa, la actividad RNAasa y DNAasa. Se ve que todas estas cosas van aumentando y haciendo picos. Si se mide se puede ir diseñando una ruta de por donde va la transducción desde el receptor de MP de la GA hasta la activación final de los genes.

En base a esto se puede elaborar un modelo que ya conocemos y que vimos en el gravitropismo. El modelo combina dos cosas, el efecto del calcio y el efecto de la inactivación de represores de la transcripción.

El receptor de GA activa una proteína G que da lugar a dos segundos mensajeros mediante una cascada corta. Está la Ca²⁺ independen-pathway y la Ca²⁺ dependent-pathway.

Hipótesis 1: La vía del calcio iría por activación de calmodulinas que serían las que inducirían la fusión en MP de vesículas que tienen concentrada la alfa-amilasa. Recordamos el geotropismo que era similar, los transportadores de auxinas estaban secuestrados en vesículas y las calmodulinas activadas producían su fusión. Esto es similar.

Hipótesis 2: La vía del cGMP, la vía independiente de calcio sería la que como resultado produciría un segundo transmisor de GA activado que se uniría a un represor produciendo su degradación y la activación de uno de los genes GA-inducible. Pero ese gen no da directamente a la alfa-amilasa. Ese gen realmente da lugar a una proteína promotora de la transcripción que vuelve a entrar al núcleo y que es la que realmente activa al gen de la alfa-amilasa (al unirse a su promotor y promover la transcripción del mRNA de la enzima).

El modelo (ambas hipótesis) todavía es válido, aunque verdaderamente es muy generalizado y no se mete en nada de una forma clara.

Ambas rutas lógicamente cooperan entre sí para dar lugar a la activación final y la secreción de las cantidades necesarias de alfa-amilasa.

Inducción de la floración

El hecho de que una verdura se espigue depende también de la cantidad de GAs. Las plantas en roseta como el repollo son plantas de día largo y en verano espigan (en vez de crecer en roseta crecen a lo largo y terminan floreciendo). En días cortos, por aplicación de GAs se puede inducir el crecimiento en espiga y la floración en otoño, al revés de lo que debería ser.

Determinación del sexo

En algunas plantas que son dioicas como el maíz el sexo se determina por la.

Las espigas son flores con pistilos (son femeninas). Un mutante sin giberelinas en mazorca desarrolla flores estaminadas (con estambres y anteras). Si a ese mutante se le aplican GAs las mazorcas se convierten en mazorcas femeninas tal cual las conocemos.

Inducción del crecimiento de frutos

La GA3 produce el engordamiento de frutos (aumenta la cantidad de agua en ellos, por lo que se hacen más insípidos). En vez de crecer en racimos, crecen mucho más gordamente. Se sospecha que es un efecto indirecto de la elongación de la rama floral. Si se aumenta la elongación de la branca, el racimo es más grande y hay más espacio para que la fruta engorde. Se cree entonces que el efecto es sobre la branca y no directamente sobre cada fruto.

TEMA 19 – LAS CITOQUININAS

Son unas moléculas que solo se comprueba que las sintetizan plantas de laboratorio. En la naturaleza no se ven plantas que tengan los genes que les permitan sintetizarlas. Todavía no está demostrado ni siquiera que las plantas en sí las sintetizan (tal vez depende de otros organismos del ambiente que se las ceden).

Activan el ciclo celular y regulan el ciclo celular de las plantas.

Son todas ellas derivadas de purinas. La purina mayoritaria es la adenina en los seres vivos y son derivados de la base nitrogenada de la adenina todos ellos.

La historia comienza en los años 50. Los laboratorios biológicos del mundo tratan en esa época de hacer cultivos de tejidos celulares animales. Los cultivos animales se consiguen pronto. Los vegetales son más complicados y es chungo que las células se dividan in Vitro como las animales. Se intenta buscar algún tipo de moléculas que active mitosis en células vegetales aisladas. La primera que se descubre es la cinetina o kinetina que se descubre en esperma de salmón (una fuente de factores genéticos de crecimiento). Se inyectaba esperma de salmón estéril en células vegetales y se ve proliferación. Se comprueba que había en el cultivo una molécula que comenzaba a aparecer, se aislaba y se analizaba. Se encuentra la primera citoquinina.

La zeatina (una de las más abundantes) y la isopentenil–adenina son todas posteriores. Otras son más fáciles de sintetizar in Vitro (la BAP, Benzilaminopurina en concreto se usa para cultivos vegetales frecuentemente).

Las citoquininas se diferencian todas ellas en qué sustituyente tengan en el grupo amino no–cíclico (que tienen todas las purinas en la posición 1). Dependiendo de cuál sea tendrán diferentes propiedades y se clasifican así en aromáticas (si tienen grupos aromáticos como la BAP) y alifáticas, etc.

El efecto de la estimulación del crecimiento

Lo que sucede es que se inyectan citoquininas en una planta. No tienen un efecto sobre la elongación celular (como es el caso de Giberelinas y Auxinas que fundamentalmente funcionan regulando la extensión en longitud de las células, aunque como ya sabemos que actúan regulando algunas fases del ciclo celular). Solo está comprobado su efecto clave sobre la tasa de división celular.

Las citoquininas pueden estar en forma conjugada para inactivarse como muchas hormonas

Formas conjugadas con ribosas e isorribosas (unos azúcares) de las citoquininas son inactivas. En esa forma se transportan vía xilema–floema. Pero en esa forma tienen una pinta de nucleósidos acojonante. Eso llevó a investigación sobre su origen y su fuente (para intentar elucidar su vía de síntesis)

Se ha visto que en algunas plantas, algunas bases raras de los tRNA (típicas en todos los tRNA) son de hecho citoquininas! Pero el problema es que los tRNA son muy estables y no suelen ser degradables. Esto ha hecho que la hipótesis sobre la vía de síntesis

Se conocer muchas rutas de síntesis NO EN PLANTAS – sino en hongos y bacterias.

Ciertos Hongos utilizan la Isopentenil transferasa para ligar un isopentenilo al grupo amino de un adenilato y forman isopentenil–adenilato.

El precursor de todas las citoquininas es el isopentenil–adenilato en bacterias y hongos. A partir de ahí ya se pueden derivar todas las citoquininas. En plantas se conoce que a partir del isopenteno y ATP gracias a una transferasa putativa se puede conseguir una citoquinina. Aunque se conoce todos los genes, en plantas todavía no se ha detectado el gen de la isopentenil transferasa y por lo tanto no se puede conseguir la síntesis.

Hay dos hipótesis sobre eso la primera es que como es difícil conseguir mutantes para genes que no se conocen no se puede encontrar ese gen

La segunda hipótesis es que podría ser que las plantas no las sintetizan sino que son las bacterias quienes se los dan. Se han detectado algunos hongos y algunas bacterias en cultivos estériles de plantas que resisten al autoclavado (y se detectan siempre). Esos microorganismos además se ha detectado que tienen los genes de producción de citoquininas.

Hoy en día solamente se pueden conseguir plantas transgénicas que tengan esas citoquininas mediante *Agrobacterium*. Esa bacteria puede inyectar un plásmido T (tumoral) en plantas y permite transfectar cultivos de plantas. Ese plásmido lleva una parte que se llama T-DNA que se logra integrar en el cromosoma activo de la planta por recombinación. Es DNA bacteriano que logra expresarse en las células vegetales. Tienen genes para la síntesis de auxinas, genes para sintetizar citoquininas (en concreto la isopentenil transferasa), genes para crecimiento tumoral (que pueden mutarse para evitar ese efecto cuando intentamos crecer OMGs) y genes para la síntesis de octopinas (los alimentos para que las bacterias sigan viviendo tranquilamente). La bacteria le da a la planta los genes de síntesis para las dos hormonas que la planta necesita para que la mitosis crezca brutalmente!

En resumen, todavía no se ha descubierto el gen de la IPTtransferasa excepto mediante cultivos celulares transfectados con *Agrobacterium*. Al igual que todavía no se han conseguido cultivos de plantas completamente estériles para demostrar si la planta necesita obligatoriamente a esas bacterias y hongos para tener sus citoquininas.

Degradación vía citocromo oxidasa

Las plantas, todas ellas, sí tienen rutas y enzimas para la transformación, inactivación y degradación de citoquininas. La citoquinin-oxidasa es la enzima que produce la oxidación del enlace separando el isopentenilo del adenilato y degrada la citoquinina.

Consiguiendo plantas mutantes que tengan el gen de la oxidasa inactivo tienen mayores concentraciones de citoquininas y se mantienen más tiempo verde. Eso tiene muchas aplicaciones en jardinería, biotecnología de plantas, etc.

Efectos fisiológicos de las plantas – Inducción de mitosis en meristemo apical del tallo

El efecto fisiológico más importante está en el meristemo apical del tallo. Se ven menos células mitóticas en mutantes que tienen sobreexpresada la citoquinin-oxidasa (que produce degradación de citoquininas). Las silvestres tienen cantidades de oxidasa normales y por lo tanto tienen niveles normales de mitosis. Es decir que activan el ciclo celular Sin embargo la activación del ciclo celular no es solo debido a citoquininas. De hecho el ciclo celular depende casi equitativamente por un lado de citoquininas y por otro lado de auxinas-giberelinas. Realmente el ciclo depende de la relación Auxinas / Citoquininas que evidentemente es el verdadero factor regulador de las mitosis en los cultivos in Vitro.

Hormonas y regulación del ciclo celular – la síntesis

Las auxinas, como vimos hace ya varios temas, activan la síntesis de las CDKs. No obstante, en la búsqueda en cultivos celulares, en trozos de tejido de tallo y de raíz, añadiendo solo auxinas aquello no proliferaba. Las células no proliferaban como para obtener un cultivo celular bueno. Fue entonces cuando el famoso esperma de salmón determinó que las citoquininas eran importantes también. O sea que para que se dispare la etapa G1 (para que termine correctamente la fase M) se necesitaba que la auxina (que inducía la síntesis de CDKs inactivas) y la citoquinina (que inducen fosfatasa que eliminan las fosforilaciones inactivas sobre las CDKs) estuvieran presentes. Funcionando en conjunto permitían que las CDKs se preactivaran correctamente. Luego las CDKs necesitan unirse a la ciclina que sería la que luego permitiera formar los factores de mitosis funcionales (que son los que en ciertas concentraciones en las etapas de checkpoint son los que fosforilarán las proteínas necesarias para que la mitosis progrese y no se quede en stand-by).

Además: Las citoquinas en concreto activan a la ciclina D3 (CYCD3) que es la primera ciclina que activa a la primera y más fundamental cdk (en el checkpoint de M-G1). De ahí viene la historia de que sean absolutamente indispensables en las plantas. Plantas sin citoquininas (que todavía como sabemos

no se han conseguido, ni siquiera por sobreexpresión de oxidasa) deberían tener impedido el crecimiento (es por eso que se cree que no se debería poder obtener plantas mutantes sin citoquininas y que EXISTAN!).

La inducción de CYCD3, un gen activador de las CDKs (que a su vez son estimuladas por auxinas)

Una planta normal tratada con auxinas y citoquininas y una planta que tiene auxinas, citoquininas y sobreexpresa la CYCD3 se comportan igualmente. Una planta normal tratada solo con auxinas, sin embargo, no crece lo suficiente como las otras. Pero una planta que sobreexpresa CYCD3 y está tratada con auxinas ya sí puede crecer como normalmente. Es evidente que además de la inducción de la síntesis de CDKs y la activación de CDKs es necesario que esté sobreexpresado CYCD3 o que se estimule mediante citoquininas. En resumen:

Auxinas – aumento de la síntesis de CDKs inactivas

Citoquininas – aumento de la síntesis de fosfatasa activadoras de CDKs

Citoquininas – activación de CYCD3 – activación de CDK – mitosis!

Me falta una parte

Caulogénesis y rizogénesis dependiente de auxinas/citoquininas en agallas con T-DNA mutado

La relación Auxina/Citoquinina es muy importante en la morfogénesis. Para la caulogénesis las citoquininas son más importantes. Para la rizogénesis lo son las auxinas.

El T-DNA tiene además de sus genes para crecimiento tumoral y genes para biosíntesis de auxinas, citoquinina y octopinas, una región donde puedo meter transgenes (genes como por ejemplo para modificar la coloración del algodón a color azul). Así se consiguen plantas transgénicas.

En investigación (sobre todo en biotecnología vegetal) se puede estudiar el efecto del transgen específicamente en tallo o raíz.

Para lograr que el gen se exprese fundamentalmente en el tallo se utilizan T-DNAs que tenga delecionados los genes para síntesis de auxinas (de manera que la relación Aux/Cit sea baja y por lo tanto se favorezca la cauloncogénesis).

Para lograr que ese gen se exprese fundamentalmente en raíz se usa T-DNA que tenga delecionados los genes para síntesis de citoquininas.

Es una técnica de ingeniería genética vegetal de las más comunes y deriva de la propiedad de estimular la caulo o rizogénesis de la relación auxina/citoquinina.

Quitándole los genes de crecimiento de tumores se producen aún así mitosis desequilibradamente producto de la estimulación de la síntesis de auxinas y citoquininas producida por el T-DNA. Los tumores generados se dice que son no-diferenciados.

Inducción de escobas de bruja, crecimiento de yemas laterales de abeto por citoquininas procedentes de infección por *Corynebacterium fascians*

La relación auxinas/citoquininas también influye sobre el crecimiento de yemas laterales. Las infecciones del hongo *Corynebacterium fascians* hace que proliferen las citoquininas. Al aumentarse la síntesis de

citoquininas se produce un cambio de la relación. Hay muchas más citoquininas y por lo tanto las yemas laterales crecen muchísimo.

En laboratorio se ve en musgos. Se ponen citoquininas en placas con musgos. Proliferan las yemas laterales rápidamente. En vez de ramificaciones se inducen protuberancias.

Supresión de promotores de senescencia foliar – El alargamiento de la edad juvenil de las plantas por la acción de citoquininas

Las citoquininas son opuestas al etileno. Son antisenescentes. Las plantas no codifican para la IPT, eso ya lo sabemos. Pero existe la posibilidad de retrasar la senescencia mediante aportes externos. Sin embargo, si aportamos citoquininas endógenas (metiendo T-DNA, etc.) entonces sí los efectos son importantes. La senescencia es un proceso absolutamente fisiológico. Hay una edad en la planta en que súbitamente se disparan genes de senescencia. Llega el otoño, se disparan esos genes y la hoja cae. Pero bajo inducción de esos genes se meten los genes para la IPT. Así se logra interrumpir la senescencia justo en el momento de envejecerse.

Esto se hace metiendo un T-DNA que tenga el promotor de senescencia unido a los genes de síntesis de IPT.

El tema es especialmente interesante en tabaco. En muchas plantas más que interesar que se reproduzcan, interesa que tengan las hojas bien grandes. Así el tabaco transgénico tiene esos genes y nunca envejece teniendo las hojas enormes.

Las llamadas green islands son unos parches en hojas senescentes que han sido infectados por hongos que producen citoquininas exógenamente que mantienen suprimidos los genes de senescencia. Así quedan esos parchecitos verdes donde está el hongo.

Se ha visto que las citoquininas en particular evitan la degradación del aparato fotosintético promovido por los genes de senescencia. La hoja se hace heterótrofa y se come sus cloroplastos en el proceso. Las citoquininas permitirían que

Inducción de caracteres del desarrollo en luz

Las citoquininas inducen parte del fenotipo de crecimiento en luz. Las plantas etioladas se caracterizaban por tener un crecimiento en longitud y poco robusto. La aplicación de citoquininas hace que las plantas crezcan más chatas y más robustas. Incluso si el tratamiento se prolonga pueden llegar a desarrollar hojas.

En experimentos se ponen plantas en ausencia de luz y se las crece con citoquininas a diferentes niveles. Las plantas con grandes concentraciones de citoquininas tienen un crecimiento de tipo verde aunque sin cloroplastos debido a que no recibieron luz

Las citoquininas permiten el desarrollo del cloroplasto aún en oscuridad!!

Los cuerpos prolamelares se organizan en membranas, lamellas, que son de tipo estromáticas (sin grana). Si además le agregamos luz, los LHC-antena ya ahora sí se organizan para formar los grana (revisar el semestre pasado – complejos antena). Es decir que el cloroplasto tendría tres estados de desarrollo:

– etioplasto (cuerpos prolamelares)

– cloroplasto sin pigmentos antena – incoloro (cuerpos lamelares – sin grana)

– cloroplasto con pigmentos antena (grana y tilacoides) – solo cuando iluminamos con luz – y no con demasiada!!! Que sino se me desarman las antenas de nuevo!

Estimulación de la expansión de los cotiledones

Movilización de nutrientes

Unos cotiledones son analizados. A uno de ellos en un punto se le aplica un derivado de un aminoácido como es el aminoisobutirato radiactivo (que como tiene un grupo butírico puede atravesar las membranas). Al otro se lo rocía con agua. Se ve que muy poquito del aminobutirato se mueve desde el cotiledón radiactivo hacia el rociado. Luego de mucho mucho tiempo ya sí el aminobutirato radiactivo se distribuye equivalentemente.

Sin embargo, si se enriquece el cotiledón rociado con citoquininas (como la cinetina) se ve que la radiactividad pasa toda desde el cotiledón radiactivo hacia el otro. Es decir que el aminoácido (se supone que junto a otros tantos nutrientes) pasó hacia donde están las citoquininas.

En una prueba control se hace lo mismo pero ahora se rocía con cinetina el cotiledón radiactivo. Lo que se ve es que ahora, ni aún con el paso del tiempo, la radiactividad se queda toda absolutamente en la hoja donde originalmente fue aplicada. Es decir que la cinetina estimularía la movilización de nutrientes específicamente hacia las zonas en que está en mayor concentración!!

El receptor GCR1 de citoquinas

Modelos de sistemas de señalización de dos componentes

El receptor de citoquinas presenta gran homología con los receptores clásicos que funcionan por transmisión de señal por dos componentes. El GCR1 tiene un dominio de autofosforilación citoplásmico. Luego en ese estado activado fosforilan con ese fosfato otras proteínas denominadas reguladoras de la respuesta. Esas son las que inducen la activación de la transcripción. Sin embargo realmente se parece más a un sistema más complejo derivado del anterior. Tiene un llamado repetidor, una proteína intermediaria entre la sensora y la reguladora. La sensora se autofosforila y le pasa el fosfato al relay. Estos sistemas son los más habituales en bacterias (en células procariotas). Los fotorreceptores en las plantas funcionan así. El receptor de citoquininas funciona así también. Y aparentemente los receptores de etileno funcionan así también. Es decir que hay una serie de señales y transmisores de señales que son heredados de bacterias directamente dada la enorme homología que presentan con estos receptores en ciertos géneros de bacterias. Esto nos podría explicar el hecho de que las citoquininas todavía hoy se baraje su origen procariota. No solo ellas sino que su origen también sería procariota. Son unos puntos más a favor de que las plantas no son realmente quienes las sintetizan.

El etileno, como decíamos, tiene un sistema parecido aunque realmente lo que hace es inhibir señales. El etileno es un factor de comunicación bacteriano clásico. Al parecer también afecta mamíferos y plantas (eso se vio más recientemente). Está mucho más extendido.

El fitocromo, aunque solo se vio por ahora en plantas, se cree que se tienen en humanos también. Se cree de hecho que los animales, para regular sus ritmos circadianos, deben tener moléculas similares a los fitocromos.

Modelo de transducción de la señal de citoquininas

El receptor de citoquinas en concreto es dimérico. Se autofosforila en su dominio Histidina–kinasa al

unir la citoquinina. Eso luego fosforila el dominio receptor que es el que a su vez ahora toma actividad kinasa. Ese dominio receptor será el que active el factor de transcripción (el regulador) que viajará al núcleo y activará genes, etc.

TEMA 20 – EL ETILENO

El Ácido Abscísico se reconoció analizando la abscisión de partes de la planta. El etileno también. Aunque tenga ese nombre, el ácido abscísico no es el que provoca la caída de hojas sino el etileno. La senescencia animal y la senescencia vegetal no tienen nada que ver. En este caso es un proceso absolutamente natural y cíclico. Es fundamental que parte del cuerpo del vegetal envejezca en un momento determinado y muera. Es absolutamente indispensable la senescencia. Así es que no tiene un concepto negativo para nada. Lo que sí es negativo es la senescencia inoportuna.

Se descubre cuando las calles de Londres se iluminan con lámparas de carburo y se observa que las plantas iluminadas pierden las hojas antes que las que están más lejos de las lámparas. Se interpretó que la combustión desprendía algo que hacía que la planta envejeciera y perdiera sus hojas. Estamos a principios de siglo XX.

Luego se descubrió que era responsable del desarrollo temprano de las plantas. A partir de estudios de plantas tratadas con etileno se comienzan a ver sus efectos en el desarrollo mediante estudios en oscuridad.

(1) La triple respuesta – el primer efecto del etileno

Produce tres factores en el desarrollo del vegetal: la disminución del crecimiento del hipocótilo, el aumento del grosor del tallo y el cambio en la dirección del crecimiento del epicótilo. Todos estos efectos se vieron analizando plantas en oscuridad. Algunos de los procesos de la triple respuesta frente al etileno no se dan en presencia de luz.

El crecimiento de plántulas etioladas de guisante era diferente según teníamos plantas tratadas con etileno o no tratadas con etileno. Las plantas con etileno crecían más en grosor, crecía menos su hipocótilo y además el epicótilo crecía con una dirección diferente.

Cuando vimos el ápice del tallo teníamos el MAT, los cotiledones, el epicótilo y el hipocótilo (en el embrión). El MAT estaba protegido por una caperuza denominada plúmulo o gancho. En ausencia de etileno crece más la parte cóncava del gancho (la que dá al MAT) haciendo que el plúmulo se abra y permita que el epicótilo crezca en dirección perpendicular al suelo. En presencia de etileno crece más la parte convexa del plúmulo. Al tiempo que el meristemo apical va tirando hacia arriba, el etileno mantiene la curvatura de la caperuza y por lo tanto.

Parece que ahí hay una relación con el transporte de auxinas que sería lo que causaría el cambio de la dirección.

Síntesis del etileno

El etileno se sintetiza a partir de metionina a partir del ciclo YANG. El ciclo de YANG que sirve para reciclar aminoácidos sulfurados en las plantas es el origen de etileno. Hay una ACC sintasa (la Aminociclopropanocarboxilato sintasa) y una ACC oxidasa que son las que producen el etileno (el complejo consume oxígeno y produce dióxido de carbono).

Es importante destacar que desde el punto de vista físico, el etileno es un gas. Eso es importantísimo dado que es difícil regularla por ser gaseosa. Al ser gaseosa y apolar, la molécula puede difundir como

se le canta. Así la única forma de regularla es mediante su síntesis. Es por eso que esas dos proteínas, la ACC sintasa y la ACC oxidasa son tan importantes. De hecho serán los dos puntos de regulación.

Otra de las consecuencias de ser gas es que con muy poca cantidad puede tener efectos clave sobre muchas células.

Muchos factores inciden sobre la regulación de la actividad enzimática de la sintasa y la oxidasa, incluso muchas hormonas. Veremos muy poquitos.

La triple respuesta – parte 2 – la reorientación de los microtúbulos celulares en respuesta a la difusión de etileno dentro de las células

En un experimento de fluorescencia, se ve que normalmente las células tienen orientados sus microtúbulos en una forma perpendicular al eje mayor (en las células del hipocótilo). Con esa orientación, las plantas crecen hacia arriba mucho más fácilmente. Los microtúbulos refuerzan la parte de la pared sobre la que están expuesto haciendo que la pared crezca en longitud.

Un tratamiento con etileno en horas (es muy rápido!!! Es un gas!!!!) hace que los microtúbulos ahora se reorienten en forma paralela a la elongación de la célula. Al ser las caras más rígidas, la pared solo se puede expandir en grosor y las células crecen más en ese sentido haciéndose el tallo más grueso y disminuyendo la elongación del hipocótilo.

(2) El etileno estimula la epinastia

La turgencia de las células pulvinulares hace que la hoja se repliegue. El etileno estimula la epinastia!

(3) El etileno estimula la maduración de frutos climatéricos – aplicaciones comerciales importantes del etileno

Los tomates más maduros son los más gorditos y rojos siempre. Los frutos climatéricos maduran en respuesta a cambios en el clima.

La senescencia en los frutos que lleva a su maduración tiene muchas partes y procesos. Un fruto maduro es más importante para la industria. Es así que interesa madurarlos rápidamente. Los frutos climatéricos son los típicos que se pueden arrancar y tratar con algo que induzca la síntesis de etileno (cambiar el ambiente de CO₂ por ejemplo) e inducir su maduración rápida. Son frutos que en general son muy susceptibles a madurar rápidamente con pequeños cambios de las condiciones.

Uno puede agarrar un tomate que tenga la síntesis de etileno mutada y que no podrá madurar nunca (siempre duro, verde, etc.) con unas horas de tratamiento con etileno comenzará a cambiar. Pasará a tener algo de sabor a tomate, y será rojito, aunque seguirá siendo duro y así tenemos TOMATE APTO PARA ENSALADA!!!

Aumento de la respiración en frutos climatéricos

La cantidad de CO₂ que desprende un fruto varía en su maduración. Cuanto más madura un fruto más CO₂ desprenden. Al llegar la señal de etileno el desprendimiento de CO₂ hace un pico y ahí el fruto ya está maduro.

Existen cámaras en las que se inhibe por monóxido de carbono, etc. el aumento de la respiración del fruto (así se mantienen inmaduros los frutos). De pronto se le hace un tratamiento con etileno o simplemente quitando inhibidores de la respiración (como el monóxido).

Actualmente hay una tendencia de crear por ejemplo plantas de tomate transgénicas que tengan la síntesis de etileno inhibida. Luego simplemente se pone etileno en las cámaras cuando se necesitan nuevos pedidos de tomate.

(4) El etileno induce la abscisión foliar – Es el gas de la senescencia por excelencia!

La senescencia de los órganos vegetales, tanto las hojas como los órganos florales, una vez que ya se ha fecundado la flor deben caer porque sobran en la planta. El efecto de la senescencia es rematado por la presencia del etileno. Lo importante de hecho es la relación entre etileno y auxinas.

El etileno induce realmente la abscisión, pero en presencia de muchas auxinas no puede terminar de hacerlo. En hojas, la abscisión más estudiada, se induce la llamada zona de abscisión. En una lámina entera de células el etileno induce la producción de enzimas de degradación de pared celular (fundamentalmente pectinasas). Esas enzimas debilitan toda esa zona y ya entonces con la muerte de esas pocas células se queda muy débil el peciolo. Solo falta que sople un poco el viento para que caigan las hojas. Se producen luego otras historias. La parte de la hoja que queda pegada a la planta cicatriza (secreta corcho, suber y lignina, se impermeabiliza y protege, etc.)

Hace falta una pequeña cantidad de auxinas para activar la primer enzima (la ACC sintasa). Pero curiosamente si la concentración de auxinas es muy elevada se inhibe la síntesis de etileno. La única forma que tiene la planta de controlar entonces todo es con auxinas que son las que regularán la síntesis de etileno endógeno.

Pensamos en una hoja joven que son las principales productoras de auxina en las plantas. Esas hojas verdes sintetizarán auxinas que por transporte irán pasando hacia la base del tallo y a partir de ahí hacia la raíz. En consecuencia la zona de abscisión de la hoja tendrá una alta concentración de auxinas porque tendrá una fuente de síntesis de auxinas a su lado. En ese sentido la síntesis de etileno estará inhibida. Cuando la hoja madura, comienza cada vez a ser un menor productor de auxinas. La síntesis irá disminuyendo. En consecuencia va disminuyendo el transporte polar de auxinas. En un momento determinado la cantidad de auxinas que llega a la base del peciolo es lo suficientemente baja como para que se dispare la síntesis del etileno. Ese etileno hará que se forme la capa de separación en la zona de abscisión y al digerirse la pared se debilita esa lámina y cae.

Inducción de la senescencia foliar

Aunque está más estudiado en hojas, el efecto senescente también está en los pétalos y estructuras de la flor. En las cámaras de almacenamiento floral se pulveriza con sales de plata (a concentraciones nada caras). La plata es un inhibidor de la síntesis de etileno. Algunos metales inhiben la síntesis de etileno. Una de las formas de mantener clavel fresco es esta. El clavel era una flor de temporada hace muchos años. La aspirina también mantiene. El ácido acetilsalicílico inhibe la senescencia (tiene que ver con el metabolismo secundario).

Inducción de pelos radiculares

Familias de receptores de etileno descritas

Se conocen ya muchos receptores. ETR significa Ethylene Triple–response. ERS significa Ethylene Response Sensitive. EIN es Ethylene Insensitive. Hay dos subfamilias. Una engloba la ETR1 y la ERS1. La subfamilia 2 engloba la EIN4, ETR2 y ERS2. Todos los casos tienen un dominio de recepción, un dominio transmembrana y un dominio histidin–kinasa. El dominio autofosforilado fosforila luego al sitio que tiene la capacidad de fosforilación de repetidores.

Modelo de transducción

Hay una cascada de MAP kinasas perfectamente descrita. Es la primera ruta de transducción de señal perfectamente descrita para una hormona. La triple respuesta al etileno se describió hace 2 o 3 años en concreto.

El receptor

Hay receptores de etileno en la membrana plasmática, pero el que está descrito para la triple respuesta está en el citosol, en concreto en la membrana del retículo endoplasmático. Al ser un gas hidrofóbico puede difundir y entonces es lógico que haya receptores tanto en el RE como en la MP. La membrana del RE es continua con la membrana nuclear.

Podemos decir que se está recibiendo la señal y que por la luz de la membrana eso se transmite hasta la membrana nuclear. La repetidora está en la luz de los sáculos del RE–membrana nuclear. Entonces en un momento dado interactuará directamente con la membrana interna nuclear.

El ETR1 de membrana endoplásmica, cuando no recibe etileno, fosforila al CTR1 RAF–like Kinase (el repetidor). El repetidor es más activo fosforilado. Eso luego a través de una cascada de MAP kinasas termina por fosforilar al llamado homólogo de EIN2 N–RAMP. En concreto se inhibe (mediante esa fosforilación) su actuación que no es otra que la de activar factores de transcripción como EIN3 o ERF1 que son los que estimulan la transcripción de los genes de la triple respuesta.

En presencia de etileno, el repetidor se inhibe y por lo tanto la cascada no funciona de manera que el EIN2 N–RAMP no se fosforila y por lo tanto no se inhibe. En resumen, se activan los genes de la triple respuesta.

Como vemos, la ruta es muy chungu y rara. Se sospecha que los demás funcionen parecido. En resumen, el etileno llega e inhibe su cascada de cosas y por lo tanto al final se activan sus genes.

TEMA 21 – EL ABA (el ácido absísico)

Estructura – La forma activa es la forma cis

La última que nos queda ver es el ABA o ácido absísico. Es muy importante, como el resto, en el desarrollo de la planta. Está relacionada como el etileno con fases relacionadas con el estrés y la senescencia. El ácido absísico está relacionada realmente con procesos muy importantes también en el comienzo del desarrollo y la germinación de la semilla.

El ABA es un sesquiterpeno (tiene 15 carbonos). Deriva del isopreno como todos los terpenos. Se deriva de algunas xantofilas. Presenta un solo anillo ciclohexano con algunos residuos metilos y algunos carbonos oxidados. El anillo tiene una cola de isoprenoides que termina en un grupo carboxilo.

Se descubrió a mediados de los 60 la influencia del ABA en la abscisión de las hojas en el algodón. Haciendo un análisis más fino de ese ácido se descubren dos tipos de moléculas, el S–cis–ABA (ABA1) y el S–2–trans–ABA (ABA2). Uno tiene configuración cis y el otro configuración trans en el último doble enlace del residuo de isopreno. La forma cis es activa para la abscisión de las hojas de algodón. La forma trans es inactiva para ese efecto.

Posteriormente estudiando un poquito los verdaderos efectos fisiológicos del ABA se descubre que

induce la síntesis de etileno, no la caída de la hoja directamente sino que induce la síntesis de la hormona gaseosa de la senescencia. Por lo tanto se la debería llamar hormona de abscisión al etileno y al ABA llamarla de otra forma y no ácido absísico.

Tiene efectos de antiestrés. Cuando hay estrés hídrico provoca cambios y aclimatación como el cierre de los estomas, el estiramiento de las raíces, etc.

El efecto innato del ABA en las semillas es que provoca la dormición de las semillas.

Serían los 3 efectos básicos: inducción de la síntesis de etileno (en el caso de que la planta esté cursando un proceso de senescencia), efectos antiestrés hídrico en el caso de estrés y la dormición de semillas mientras la semilla está unida a la planta madre. El ABA produce que mientras se forma el embrión, hasta que no se deshidrata la semilla, esta no se active para que recién cuando se siembre y cuando sea regada germine.

Esa función es la que provoca una especie de corriente que todavía no tiene mucho éxito para cambiarle el nombre y llamarla dormina.

Síntesis e inactivación

Deriva de la ruta de síntesis de los carotenoides (de los tetraterpenos). Desde el isopentenil difosfato (IPP – el isopreno difosfato), se forman por polimerización moléculas de 10C (diisopreno – un monoterpeno), 15C (triiopreno – un sesquiterpeno), 20C (tetraioopreno – un diterpeno), etc. Realmente los sesquiterpenos se forman a partir de los diterpenos (que son de 20C). Los diterpenos se escinden dando un sesquiterpeno y una molécula de 5 carbonos. También pueden formarse a partir de 30C cortando en 15 y 15 o a partir de tetraterpenos cortando en 25 y 15. El ABA tiene un anillo derivado de una xantofila (un tetraterpeno, 40C) y es por eso que solo puede sintetizarse mediante esta ruta. En la ruta de síntesis el Farnesil difosfato puede formar Zeaxantina (40C) y esa zeaxantina es procesada hasta violaxantina, neoxantina y finalmente Xantoxal (un aldehído con el anillo epoxidado) y finalmente ABA–aldehído (el anillo desepoxidado). Ese aldehído es el que será la base.

Muchos sesquiterpenos son cardiotónicos interesantes. A la planta no le sirven para mucho más que regular algunos canales iónicos. El único importante desde el punto de vista del desarrollo es el ABA que se obtiene desde tetraterpenos.

El ABA puede cambiar por iluminación de forma Cis a forma Trans. Suelen coexistir las dos formas que son isomerizables por luz. Realmente el equilibrio será lo que determine el efecto.

Además de eso, la planta puede inactivar el ácido absísico por oxidación (permanentemente) o puede conjugarlo con una glucosa (formando un éster en su grupo ácido). Los efectos del ABA dependen de receptores de membrana plasmática. Sin embargo los conjugados de ABA suelen almacenarse muy establemente en la vacuola (al contrario de otras hormonas que no pueden almacenarse durante mucho tiempo en ella dado que se degradan rápidamente). Si el conjugado artificial se rompe en la vacuola sin embargo el efecto es el mismo. Se sospecha que hay receptores de ABA internos en la membrana de la vacuola. Es decir que la conjugación del ABA es muy importante. A diferencia de otras hormonas las plantas lo sintetizan y lo movilizan conjugado por toda la planta. Se sabe que mucho entra en las células guarda de los estomas. Más que aumentar su síntesis su regulación se da moviéndolo en forma conjugada y almacenándolo en las vacuolas.

PREGUNTA FIJA SEGURO SEGURO: Papel del ABA en la apertura y cierre estomático – sobre todo la primera diapositiva

Redistribución del ABA por gradientes de pH – el efecto del ABA como hormona antiestrés

Recordamos el movimiento y percepción por las células del ABA. Pero hablaremos de algo relacionado precisamente con el comportamiento químico de la molécula dependiendo del pH que exista (similar a lo que ocurre con auxinas). Cuando hay estrés hídrico, por supuesto el ABA puede estar protonado (ABA^H) o desprotonado (ABA⁻). El protonado puede atravesar la bicapa lipídica. Luego ahí se desprotona igual que ocurre con las auxinas, etc. Pero de momento no se sabe que existan receptores intracelulares debido a que HAY un efecto. En forma desprotonada es reconocido por receptores de ABA extracelulares de membrana. Esos receptores no unen ABA^H nunca, pero sí puede entrar en esas condiciones a la célula.

Pensamos en una situación de pH ligeramente ácido (el que suele haber en el xilema de la planta en condiciones normales). Tiene 6,3 aproximadamente en condiciones de riego normal. En ese estado, el ABA de la raíz (que está bien regada y en un buen nivel hídrico), el xilema en esas condiciones está en pH ligeramente ácido. Lógicamente el ABA está protonado y por lo tanto sube por el xilema, llega a la hoja, sale del xilema y sale hacia las células del mesófilo. Puede entrar, porque está protonado, en todas las membranas plasmáticas de las células del mesófilo. Se reparte entonces por igual entre todas las células de la hoja. Eso quiere decir que las células guarda estomáticas recibirán muy poco ABA. No habrá efecto.

Pero en estrés hídrico, el pH del xilema cambia a pH 7,2. Falta agua en el xilema. La composición del xilema hace que el pH casi neutro. Siendo el ABA un ácido débil a la hoja llegará en forma desprotonada. Ese ABA con carga negativa no puede atravesar ninguna célula. No hay transportadores de membrana para el ABA⁻. Pero las células guarda sí pueden en forma desprotonada unirse a receptores que desencadenarán las señales conocidas. Esos segundos mensajeros tendrán su efecto, etc. Donde está el truco? SOLO SE CONOCEN RECEPTORES PARA EL ABA⁻ EN LAS CELULAS OCLUSIVAS DE LOS ESTOMAS. El efecto en ellas es de cerrar el estoma. Solo las células estomáticas entonces recibirán la señal de ABA. Interpretan eso como la señal de estrés y todo producirá que pierda turgencia e induzca plasmolisis y cierre estomático.

La comprobación experimental de esto se hace midiendo el potencial hídrico de la hoja. Cuando falta agua en la hoja aumenta la resistencia estomática (se cierran los estomas). Ese cierre es causado por un aumento en el contenido en ABA de las células guarda. Cuando la planta se riega nuevamente el ABA se protona nuevamente y ahora la señal disminuye. Los estomas vuelven a abrirse.

Aparentemente el ABA está relacionado con la concentración citosólica de calcio. Es decir que en la señalización posterior está implicado el calcio. Se hacen dos estudios, un control y una hoja con ABA. Previo al cierre estomático aumenta mucho la concentración de calcio citosólico. La apertura estomática luego decrece. Se ve también con indicadores de color que reconocen calcio.

Modelo del cierre estomático por señal de ABA (esto no es muy importante)

Las dos vías de transducción son las siguientes. Están descritas. Las dos ocurren en las dos células. Vía receptor se induce el aumento de especies de oxígeno muy activas. El estrés hídrico estimula la formación de peróxidos, iones superóxido, etc. O sea que son además segundos mensajeros importantes, sobre todo en senescencia y en este caso en estrés hídrico.

Como acción señalizadora abren canales de calcio de membrana. Entra calcio y aumenta la concentración intracelular de calcio. El calcio actúa y por un lado inhibe los canales de entrada de potasio de membrana. El calcio mantiene su concentración intracelular abriendo más canales de calcio de membrana y muchos otros canales vacuolares de iones (esos iones salen de la vacuola junto con agua). También estimula la apertura de canales de cloruro de MP. Y eso a su vez produce que las

bombas de potasio de MP comiencen a funcionar sacando potasio fuera. Todo eso produce en resumen que la vacuola se deplete de iones y agua y por lo tanto la célula entre en plasmólisis general (cierre del estoma).

La segunda ruta es diferente. La segunda ruta se ocupa de inhibir la ruta de apertura estomática que se da por protónATPasa. En este caso no se da mediante segundos mensajeros oxigenados. En este caso el receptor activa la fosfolipasa C y produce que aumente el IP3 citosólico. Ese IP3 estimula los canales de calcio de vacuolas. El calcio sale al citosol y tiene su efecto fundamental sobre las bombas de protones de MP. Se inhibe en concreto la protón ATPasa y los protones no salen. Al no salir los protones, el apoplasto no se acidifica por lo que no se estimula la apertura de canales de entrada de potasio. En resumen, en presencia de calcio intracelular el pH no se acidifica y por lo tanto los iones en vez de entrar salen y en resumen el agua sale de la vacuola de la célula y la célula se plasmoliza.

Las dos vías son llamadas vía ROS y vía del IP3, cADPR. Cada una de esas vías establece una firma de calcio diferente (ver el concepto en clases anteriores). Cada firma de calcio, al ser diferente dará lugar a una cascada de señales diferente. Una hará que el potasio y el cloro salgan de la célula. La otra hará que se inhiba la actividad de la protón ATP-asa.

Nomejor no.no se los voy a decir. Porque la última vez que les ofrecí un seminario, realmente me lo pidieron!

Evidencia de receptores intracelulares de ABA

Uno puede conjugar ABA (el ABA conjugado es inactivo) con una molécula que forma un complejo apolar que se puede inyectar y atravesar la bicapa lipídica. Una vez dentro de la célula, el doble enlace se puede romper usando choques con UVA liberando ABA-cis activo. Así podemos tratar cultivos por un lado sin inyectar ABA conjugado (la apertura estomática es rápida) y por un lado inyectando ABA conjugado y dando caña con UVA (la apertura estomática es mucho menor al tiempo los estomas se cierran). Lógicamente se ve evidentemente que el ABA también tiene efecto desde dentro. Es decir que DEBE haber receptores intracelulares.

Si creemos en esto, lógicamente una de las dos rutas o las dos deben estar activándose en ese experimento. Hay muchos datos de que realmente funciona así. Es de suponer entonces que los receptores intracelulares también activan firmas similares de calcio. Podrían estar libres en el citoplasma o en la membrana del retículo endoplásmico.

ABA y el desarrollo de semillas – el segundo papel más importante del ABA

Su papel fisiológico real es el de la dormición de semillas. La embriogénesis y el desarrollo de semillas puede separarse en 3 partes, el desarrollo temprano (embriogénesis), el desarrollo medio (maduración de semillas – con gran síntesis de ABA) y el desarrollo tardío (desección de semillas – disminución de la síntesis de ABA). La síntesis de ABA está relacionada con la dormición de las semillas. Cuando el embrión está maduro algo debe haber que le impida germinar dentro de la planta madre! Hay gente de desarrollo humano que han visto algo similar a esto en lo de la placentación mamífera. Es un mecanismo análogo lo que impide que una planta nazca pegada a su madre.

Cuando antes se compraban mazorcas sí se podían ver algunos granos germinados en la mazorca que no habían llegado a germinarse. Hoy en día se ve bien en mutantes de maíz con transgenes de síntesis de ABA. Se ve que toda la mazorca germina antes de que las semillas se suelten.

Estimulación del crecimiento relativo de la raíz frente al del tallo en estrés hídrico

Aumenta la relación raíz/tallo en estrés hídrico. Fácil, me falta agua, crezco más las raíces para poder llegar mejor al agua. Inhibe el desarrollo del tallo realmente en estrés hídrico. Cuando la tierra es seca las raíces suelen profundizar más. Eso es un efecto dependiente de ABA. Un mutante deficiente en ABA tiene un root:shoot ratio constante aún horas después de transplantarse a una tierra con estrés hídrico. Un individuo salvaje al someterse al estrés hídrico aumenta proporcionalmente la relación raíz–tallo. No es que crezca más la raíz en estrés hídrico que sin estrés hídrico. El tema es que crece menos el tallo. Está lógicamente muy relacionado con el mecanismo de cierre estomático, solo que probablemente a través de algún otro mecanismo que implica modificación del transporte de auxinas, etc.

Posible ruta de transducción de la señal de ABA

Al unirse el ABA al receptor de ABA se da la señal de cascada de calcio. Al abrirse los canales de calcio de membrana plasmática, el calcio intracelular aumenta. Ese calcio activa NO a calmodulinas, sino a otras proteínas dependientes de calcio inducibles por ABA. Esas ABI como ABI–1 se unen a calcio y defosforilan proteínas reguladoras que presentan fosforilación inhibitoria. Ahora esas reguladoras ya activas irán a hacer sus putaditas por todo el interior para regular cosas como la apertura de canales, la regulación de la expresión de ciertos genes, etc.

OTROS REGULADORES DEL DESARROLLO VEGETAL

Las poliaminas: biosíntesis

Son otras moléculas reguladoras del desarrollo pero que no llegan al rango de hormonas. Unas son las poliaminas, las más importantes de todas estas secundarias. Son moléculas poliamínicas (tienen muchas cargas positivas amínicas). La putrescina tiene 2 grupos aminos, la espermdina 3, la cadaverina 8, etc. Sí que parece que intervienen en la expresión de algunos genes se supone que porque pueden interferir (todos esos grupos amino) y unirse aniómicamente con los grupos fosfato del DNA de la cromatina e interferir en la expresión de los genes a los que se unen. Pero la cantidad que se producen en una célula es demasiado grande como para decir que regulan específicamente el crecimiento.

Ácido salicílico: inducción de la resistencia sistémica adquirida (SAR)

El ácido salicílico se le ha visto un cierto papel en la síntesis de la oxidasa alternativa que tienen las mitocondrias de plantas. Tienen un papel absolutamente fundamental en lo que es la modificación de plantas y la relación con otros seres vivos, en concreto patógenos. Entre las relaciones de reconocimiento antigénico de las plantas, en unas cuantas está implicada la síntesis del ácido salicílico (el componente activo de las aspirinas). Ese ácido es un segundo mensajero responsable de inducir resistencia sistémica adquirida en las plantas. Si una hoja es atacada por algún patógeno, esas células atacadas comienzan a señalizar e inducir la síntesis de ácido salicílico que se movilizará al resto de la planta y prevendrá al resto de la planta para que el patógeno no pueda atacar posteriormente. Es lo más parecido en plantas a un sistema inmunológico. Aunque luego la respuesta es muy parecida, es bastante específico el reconocimiento del patógeno (no tanto como anticuerpos–antígenos). Lo más curioso es que la acumulación de ácido salicílico y la SAR puede inducir esa SAR en otras plantas a través de la síntesis de un transmisor volátil como el ácido metil–salicílico que es captado por las vecinas que desarrollan su sistema inmune mucho mejor. Es así que una planta avisa a sus vecinas de la infección.

Ácido Jasmónico: defensa frente a heridas

Se le quieren dar papeles en la maduración del polen y el desarrollo de órganos reproductores hoy en día. Pero clásicamente está relacionado en defensa frente a heridas. Se sintetiza por ejemplo cuando un insecto o un mamífero herbívoro muerde una hoja. Se inducen lipasas y a partir de un ácido graso que

se libera como es el linolénico se sintetiza el ácido jasmónico. Ese ácido viaja por toda la planta y lo que hacen es inducir la síntesis de inhibidores de proteinasas (de enzimas digestivas). De tal forma que si ahora la vaca va a otra hoja de la misma planta donde se están sintetizando inhibidores la vaca muere pero lo que come le causa un corte digestivo (dado que come inhibidores de las proteinasas – enzimas necesarias para que el rumiante se alimente).

Otra cosa interesante es que el jasmónico puede volatilizarse como el salicílico para avisar ahora a las plantas y hojas cercanas de una forma rápida.

Brasinólidos: estructura

Las derivadas de esteroides se denominan brasinoesteroides o brasinólidos. Cada vez cobran más importancia. Parece ser que ayudan a los papeles de las auxinas. Es decir crecimiento del tallo por cooperación.

Oligosacarinas: estimulación de fitoalexinas

Las oligosacarinas ya las tratamos en el tema de introducción al desarrollo. Son fragmentos de pared celular que como ya nos comentaron sirven para señalar entre células vecinas para mantener un patrón de diferenciación de un tejido o desarrollo determinado. Cada vez se describen más y cada vez se presentan más trabajos en oligosacarinas. Son unas de las grandes propuestas para ser las hormonas vegetales verdaderas del futuro.

En este caso nos proponen el ejemplo para lo que es la respuesta frente al ataque de un hongo. Las paredes celulares de un hongo pueden romperse por glucanasas y quitinasas. El hongo induce producción de quitinasas, glucanasas por la planta que rompen la pared celular del hongo y liberan oligosacarinas fungales. Esas oligosacarinas junto con las que el hongo libera al romper con pectinasas la pared celular de las plantas estimulan la síntesis de fitoalexinas. Esas moléculas son compuestos de defensa de las plantas, sobre todo frente a hongos (son un fungicida natural!).

EL DESARROLLO REPRODUCTIVO DE LAS PLANTAS

TEMA 21: LA FLORACION Y LA GAMETOGÉNESIS

Hasta ahora estuvimos viendo solamente el desarrollo vegetativo de la planta. Pero el paso al adulto maduro implica un desarrollo reproductivo.

El desarrollo vegetativo suele detenerse luego de iniciado el desarrollo reproductivo en los animales. Pero en las plantas eso no es así (excepto en las anuales!).

Pero el desarrollo reproductivo entonces requiere antes el desarrollo vegetativo del porte vegetal.

El desarrollo reproductivo implica en espermatofitas dos procesos – floración y gametogénesis. Posteriormente viene la fecundación y luego sí ya el desarrollo de semillas y frutos en el caso más complejo (con el correspondiente desarrollo embrionario). Una muy posible pregunta es qué sucede después de la floración en una planta y hasta que se vuelve a iniciar el desarrollo vegetativo en la siguiente germinación (germinación).

El cambio del patrón de crecimiento vegetativo al crecimiento reproductivo implica un cambio en la identidad de los órganos. Es decir, en el momento en que la planta alcanza la maduración, hay un cambio en el patrón de desarrollo y exactamente los mismos meristemos que daban anteriormente a hojas o yemas axilares cambian y dan lugar a meristemos denominados fitómeros reproductivos. En

ellos en vez de hojas habrá hojas abortadas (brácteas) y en vez de yemas axilares habrá flores o inflorescencias.

En animales esto no se da. Aquí los órganos son los mismos, lo que sucede es que unas células, al cambiar su regulación, en lugar de dar lugar a rama y hoja dan lugar a flor y bráctea. Otro cambio importante es que el desarrollo vegetativo (LA RAMA) es de crecimiento indeterminado (siempre hay un meristemo apical activo más o menos), mientras que el desarrollo reproductivo (LA FLOR) es de crecimiento definido o determinado (no quedan meristemos apicales – cesa la actividad meristemática apical).

Se origina el botón floral donde se constituyen los órganos florales que ya dejan de crecer. Eso no quiere decir que si una rama lateral genera una flor la rama deje de crecer, pero allí donde se pone una flor, se terminó el crecimiento meristemático.

Sépalos y pétalos son los miembros no-fértiles (perianto). Los órganos reproductivos de la flor son el androceo (estambres) y el gineceo (carpelos más o menos fusionados). Los estambres tendrán las anteras donde se forman los granos de polen. En los carpelos tendremos los primordios seminales.

Una planta plurianual tiene una fase de crecimiento juvenil y tanto en el eje central como en las ramas laterales, en un momento determinado parte de ese tejido comenzará un desarrollo adulto que terminará por generar flores (terminar sus ramas en flores). La duración de la etapa juvenil es variable (desde días a decenas de años en el caso por ejemplo de *Fagus sylvatica*).

El cambio de la fase juvenil a la adulta implica un cambio clarísimo en la morfología de la planta. Muchas en algunos casos tienen hojas de formas diferentes en el período adulto y en el período juvenil.

La hiedra (English Ivy, *Hedera helix*) es uno de los ejemplos más claros a diario. Tienen hojas lobuladas en el período juvenil mientras que en la adulta las hojas son palmeadas. En algunas hiedras podemos tener algunas partes con hojas lobuladas y otras con hojas palmeadas.

A nivel citológico las diferencias entre el meristemo apical del tallo y los meristemos florales (meristemos apicales de ramas de desarrollo adulto) son claras. Una señal de floración hace que esas mismas células cambien su desarrollo. Cesa la actividad del meristemo apical y comienzan a desarrollarse sépalos, pétalos, androceo y gineceo. *Arabidopsis* tiene inflorescencias y por lo tanto suelen verse muchas flores saliendo todas juntitas.

Casi todo lo que contemos a partir de ahora sobre floración se descubrió sobre *Arabidopsis thaliana* y *Antirrhinum* (nazarenos). *Arabidopsis* desarrolla inflorescencias como decíamos antes. En el tallo caulinar y en ramas laterales desarrolla inflorescencias

Que tienen la fórmula floral de 4 sépalos, 4 pétalos, 6 estambres en 2+4 (2 más largos y 4 más pequeños) y 2 carpelos fusionados de dos en dos. Los meristemos florales son verticilados. Todos los órganos se desarrollan en un mismo plano. Es decir que es diferente de la filotaxia (en la que las hojas y las yemas axilares podían desarrollarse de forma alternada, opuesta, verticilada, etc.).

Etapas del desarrollo de la flor

Meristemo apical súbitamente cambia y ahora lo que iba a dar lugar a una rama, dará lugar a una flor.

Inducción del meristemo floral y emergencia de sépalos

Comienza la actividad meristemática, primero externa – sépalos. Pero en el momento en que se induce el meristemo floral, eso deja ya de crecer y así todos los órganos florales terminarán por crecer al

mismo nivel. Los primeros que crecen se desarrollarán a sépalos (el cáliz). En tanto que el cáliz va creciendo, el cáliz crece mucho más que el resto de órganos para formar el típico capullo. Una vez que el cáliz se abre, termina de desplegarse el resto de órganos (sobre todo la corola).

Emergencia de pétalos y estambres. Los sépalos envuelven al meristemo (capullo).

Son los primeros que surgen, dentro de lo que es el cáliz. Pétalos y estambres crecen más o menos al mismo tiempo. Una vez están ya en desarrollo comienza más o menos en el centro otra actividad meristemática.

Desarrollo del gineceo

Se desarrollan los dos carpelos que ya surgen fusionados.

El filamento del estambre se desarrolla por estuchamiento de su base.

Los estambres son más grandes que los pétalos en este estadio. Ahí tenemos las dos mitades de las anteras (las tecas) de los estambres.

Los estambres siguen creciendo. En la base tendrán el filamento y el resto serán las tecas

Los lóculos de las anteras se hacen ya evidentes. El estilo se desarrolla.

Los pétalos comienzan a alongarse.

Los pétalos crecen rápidamente y terminarán por envolver el resto de los órganos por dentro del cáliz.

Aparecen las papilas del estigma (las que recogeran el polen en algunas plantas). Todos los órganos ya están completamente desarrollados. Los pétalos alcanzan ya la longitud de los estambres.

Cada uno de sus órganos tendrá un tipo celular distinto. La estructura y morfología celular en cada uno es distinta.

Esquema del desarrollo secuencial de la flor

Hablaremos de dos grandes grupos de genes implicados en la floración. Unos son los genes de evocación floral (inducen el cambio del meristemo). En el momento en que se expresan en un meristemo apical, ese meristemo cambia de programa de expresión y desarrollará una flor.

Otra serie de genes serán los genes de identidad de órgano floral. Son los genes que determinarán si las células se diferencian a pétalo, a sépalo, estambres o carpelos.

El patrón de desarrollo está regulado según la pertenencia de esos genes a tres campos de desarrollo que son los que regularán el desarrollo de cada verticilo. Los genes del campo 1 o campo periférico del meristemo se ocupará del cáliz y la corola. Los genes del campo 2 se solapan con los anteriores y están encargados del control de la corola junto con los anteriores, pero que también están encargados del desarrollo de los estambres. Los genes del último campo, el campo central o 3, están implicados en el desarrollo de estambres y también del gineceo.

Esos campos de desarrollo entonces se encargan de controlar los 4 verticilos florales.

Los genes se agruparán de acuerdo a qué campo controlan en genes de campo 1, 2 o 3.

Expresión de genes de inducción floral en el meristemo apical del tallo

Se mide en un experimento la expresión de genes de inducción floral (identidad floral), unos genes específicos de los meristemos florales tras darse un estímulo inductor. Los genes comienzan a expresarse a partir del estímulo y entonces su expresión sigue aumentando a medida que se desarrolla el meristemo apical del tallo.

Algunos genes inducen flores y otros inhiben tallos. Es decir que los genes de identidad floral serán de dos tipos:

- genes de inducción floral (estimulan la expresión de genes de diferenciación floral)
- genes de inhibición del tallo (inhiben el crecimiento vegetativo)

Sin embargo, los genes de inducción floral son genes en cierto modo constitutivo. Es decir que se están expresando siempre. Es decir que se SOBREENPRESAN como respuesta al estímulo de evocación floral. Realmente es la cantidad de expresión de genes florales con respecto a genes de crecimiento vegetativo lo que hará que se cambie el patrón de desarrollo en el meristemo apical.

La expresión del gen LEAFY (LFY) induce la floración

Un gen de identidad floral de los más estudiados es el gen LEAFY (es un gen expresado ante una señal de floración). Se expresa solo cuando la planta ya madura se estimula para florecer. Ese gen induce transición de meristemo apical a pmeristemo floral. Cuando ese gen está mutado en un individuo, el individuo no desarrolla nunca flores y los mutantes LFY–, en el momento en que llega la señal de floración no desarrollan inflorescencias sino que el meristemo genera capullos que al abrirse tienen hojas todas ellas verticiladas. Cuando LFY está sobreexpresado el mutante tiene flores por todas las ramas de una manera exagerada. Incluso aparecen flores en las hojas del crecimiento en roseta (la base de la planta – la de crecimiento juvenil).

En resumen, el gen LFY es fundamental para el efecto de floración. Y su sobreexpresión implica que muchos más meristemos (yemas, etc.) cambien su patrón de desarrollo hacia flores.

EMF (EMBRIONIC FLOWER) es un gen represor de la floración – los individuos mutantes para EMF presentan embriones que expresan AP1 durante la etapa juvenil y desarrollan flores

La expresión del gen de floración APETALA1 (AP1) en embriones mutantes para el gen represor de la floración – EMBRIONIC FLOWER (emf) – induce un cambio meristemático dando lugar a meristemos florales. El cambio de meristemo podía darse por inducción o por inhibición, ya lo vimos antes.

El mutante APETALA1 no tiene pétalos en sus flores. Es un gen de identidad floral. Es inductor en cierto modo del cambio de identidad de meristemo vegetativo a meristemo floral que está sometido al control de otros genes. La señal de floración hace que ciertos genes como leafy se exprese mientras que otros, como el gen emf, uno de los represores del gen de floración AP1, se inhiban. Pero eso es al revés cuando los individuos son todavía jóvenes.

Los embriones mutantes para emf presentan el fenotipo embrionic flower y no tienen la floración reprimida. Pero en el caso normal emf wild–type

Mutaciones en genes homeóticos de identidad de órgano

Estos se expresan sí y solo sí se expresan antes los genes de identidad floral normales. Es decir que tanto APETALA 1 como LEAFY deben expresarse en el momento correcto para que entonces se de la floración.

Las cajas homeóticas son grupos de genes bajo un mismo control cuyas mutaciones en esa caja producen modificaciones en ciertos órganos. Si se muta una homeobox determinada de Drosophila desarrollará alas donde tenía patas. El famoso ratón con la oreja en la espalda también depende. Tenemos un homeobox que explica bastante de lo que fue la colonización de la tierra por los animales marinos. En el mismo homeobox donde están los dedos luego aparecen genes del desarrollo del pene.

Las cajas homeóticas es una de las cosas que más putean al darwinismo. Es muy difícil explicar desde el punto de vista de la evolución clásica el que una modificación en las cajas homeóticas lleve más de un cambio apareado. O todo se desarrolla al mismo tiempo o evoluciona al mismo tiempo o es imposible el salto evolutivo. Eso fastidia bastante a los defensores de la teoría sintética de la evolución.

Una mutación puntual en estas cajas en las flores provocan que realmente todo cambie mucho en una flor. Las flores sin perianto, las flores con androceo transformado en pistilos, las flores ágamas, etc. realmente dependen de mutaciones en estas cajas homeóticas.

Se conocen mutaciones en cajas que provocan que no haya perianto en la flor (literalmente desaparecen – fenotipo APETALA2–2). En otras se pierde la identidad de un órgano solo, como es el caso de que los estambres, en vez de desaparecer, cambian a pistilos (fenotipo PISTILLATA). En otros casos tanto estambres como carpelos cambian a dar lugar a pétalos de manera que solo haya cáliz y corola (fenotipo AGAMOUS). Pero en todos los casos el desarrollo se da desde la posición correcta. Otras mutaciones sí cambian la posición o la disposición verticilada.

El modelo ABC para la especificación de órganos florales

Hay tres cajas homeóticas identificadas que coinciden con los tres campos, el campo A, B y C. Existen genes tipo A bajo cuyo control está la identificación de sépalos y pétalos. Los genes de tipo B controlan la identificación de pétalos y estambres. Los genes C controlan estambres y carpelos.

Si una planta no expresa genes de tipo A no tendrá ni sépalos ni pétalos. Esa flor tendrá solo estambres o carpelos y por lo tanto el desarrollo será como APETALA2–2.

Si una planta no expresa genes de tipo B no tendrá ni pétalos ni estambres. Esa flor podrá tener los 4 verticilos, pero ninguno de ellos podrá ser un estambre. Es decir que desarrollará el fenotipo PISTILLATA.

Si una planta no expresa correctamente genes de tipo C, entonces las plantas serán AGAMAS dado que no poseerán estambres ni carpelos correctos. Como mucho solo tendrá sépalos y pétalos.

Pero los genes de tipo B por sí solos no controlan la identidad de ningún órgano (dado que están solapados en A y en C). Pero los genes que expresen A y B sí podrán desarrollar pétalos. Pero si alguna de las dos cajas están jodidas entonces necesariamente las plantas serán apétalas.

Los genes que expresen B y C sí podrán desarrollar estambres. Pero si alguna de las dos cajas están jodidas entonces necesariamente las plantas no tendrán estambres.

A por si solo solo controla el verticilo 1

B por si solo no controla nada

A y B controlan en conjunto el verticilo 2

B y C controlan en conjunto el verticilo 3

C por sí solo solo controla el verticilo 4

Un mutante en A solo tendrá estambres y carpelos (fenotipo APETALA2-2)

Un mutante en B solo podrá tener sépalos y carpelos (PISTILLATA/APETALA3)

Un mutante en C solo podrá tener sépalos y pétalos (fenotipo AGAMOUS)

Un mutante en A y en B solo podrá tener carpelos (fenotipo PISTILLATA)

Un mutante en A y en C no podrá tener nada (fenotipo SIN FLOR)

Un mutante en B y en C solo podrá tener sépalos (fenotipo APETALA 3)

En resumen los verticilos de pétalos y estambres están regulados por dos cajas homeóicas, mientras que los verticilos de sépalos y carpelos están regulados solo por una caja homeóica. Es decir que los estambres y pétalos tienden a desaparecer más fácilmente por mutación que los sépalos o los carpelos.

Pero es importante

(ESTO ES PREGUNTA DE EXAMEN FIJISIMA)

El modelo ABC para la especificación de órganos florales – 2

Con los genes homeóicos se da la determinación de los verticilos lo veíamos la clase pasada.

Cuando muta C tenemos el fenotipo agamous (el gen C se denomina agamous). Sin embargo, si está mutado el gen C solo se expresa A y B. Pero lo curioso es que A ocupará el sitio de C. Es decir que no es que se pierdan verticilos los 4 verticilos se mantienen, pero todos ellos son o pétalos o sépalos. Los verticilos que se den por superposición de A con B serán pétalos. Los verticilos sin superposición, solo dominados por A serán sépalos. Entonces tendríamos sépalos–pétalos–pétalos–sépalos.

Es decir que una mutación en C provoca una extensión de la función de A. Es decir que el producto de A ahora controlará a los verticilos anteriormente codificados por C.

Si se muta A se extiende la función C y es produce que los estambres y los carpelos se extiendan por toda la flor. Donde haya superposición B–C tendremos estambres y donde no tendremos carpelos. En resumen, la flor será 4 carpelos–4estambres–6estambres–2carpelos (fusionados). Eso con los genes mutados apetala 2.

Si muta B entonces ahora tenemos solo A y C y por lo tanto tenemos solo sépalos y carpelos es decir 4sépalos–4sépalos–6 carpelos–2 carpelos. Eso serán los genes apetala3 y pistillata.

El modelo ABC: esquema frontal de los mutantes típicos

El libro de Azcón–Bieto hace lo mismo que el Taiz pero lo hace con una visión horizontal sin embargo hace lo mismo también habla de extensión de la función del gen A o el gen C dependiendo de cuál esté mutado.

Evocación floral y el control de la floración

Da igual que esté mutado A, B, C o lo que sea primero debe haber evocación floral es decir que leafy y acetala no deben estar mutados En resumen primero debe poder HABER FLORES para que haya mutación de flores.

Las plantas como seres vivos usan flores para reproducirse. Pero a nosotros nos interesan para adornar la casa. Una planta que no puede irse en busca de pareja (porque no se buene) entonces intentará florecer al mismo tiempo que las otras de su misma especie para que así todas lo hagan al mismo tiempo. Lo más parecido es el celo en los animales.

El control de la floración (no los genes de desarrollo de meristemos florales, sino los genes que codifican para la recepción de esas señales ambientales) hace que una generación más o menos cercana florezca toda al mismo tiempo y así asegurarse la reproducción.

Veremos en concreto dos efectos el control del ciclo diario y el control de la temperatura. En nuestro hemisferio las plantas florecen cuando hay luz, llegamos a la primavera, etc. Pero no basta con que sea primavera para que una planta florezca. Una planta debe estar preparada para poder recibir y traducir esa señal de floración.

A eso se le llama evocación floral. Una planta debe en principio madurar pero luego además, parte de la planta y no toda la planta entera, debe hacerse competente para poder percibir una posterior señal de floración a partir de la cual florecer.

Algunas hojas se harán competentes para poder percibir la inducción (y así cambiar desde meristemos apicales a meristemos florales). Luego, una señal ambiental como el fotoperíodo puede hacer que esas células se determinen para ser flores (la ruta de desarrollo del meristemo ya se ha determinado para que sea flor). Después de recibir ahora sí la señal que se piensa que es hormonal (señal interna) se dará la expresión de los genes de floración que serán los que en última instancia serán los que harán que el meristemo apical inicie la morfogénesis.

Demostración por explanaos e injertos del estado determinado para la evocación floral

Una planta crece y llega un momento a partir del cual la planta está preparada para florecer. Luego ya sí llega la señal y florece. Si se corta la planta que ya tiene la yema floral y se trasplanta, la planta crecerá exactamente el trozo que le queda para llegar a la primera y luego florece. Pero si el trasplante o el injerto lo hacemos cortando por más arriba y trasplantamos, en condiciones de floración, la planta florece antes de llegar a la altura necesaria. Es decir que hay una parte de la planta que está ya preparada para florecer de forma que las plantas que se obtienen a partir de injertos de las yemas más superiores ya están determinadas para florecer. Pero si trasplantamos partes más viejas, esos injertos necesitan primero crecer y determinarse.

Es decir que una parte de la planta requiere ser competente primero para luego poder determinarse y luego de esa determinación, si trasplantamos esos trozos ya determinados floralmente, lógicamente a penas se les de la señal se dará la floración.

Si trasplantamos trozos que todavía no son competentes necesitarán crecer hasta hacerse competentes para luego sí poder determinarse al recibir la señal y finalmente florecer.

El efecto de la latitud sobre la duración del período diario de luz a lo largo del año

Si nos movemos a lo largo del hemisferio, el fotoperíodo que llega es diferente. Así las plantas florecen

en distintas épocas en el ecuador que en los trópicos que cerca de los círculos polares.

Mutante gigante de tabaco pero de floración en días cortos desarrollado en período de días largos

El fotoperíodo hace que en climas templados haya 8 horas de noche y 16 horas de luz en la primavera. En cuanto a la floración tendremos plantas de día largo (florecen en días largos) y plantas de día corto (que florecen aún en días cortos) además de plantas neutras.

Las plantas de día corto florecen en otoño como los crisantemos. Las plantas de día largo florecen en primavera. Las plantas neutras tienen la floración no influida por el fotoperíodo. Las giberelinas tienen algo que ver en esa regulación de los ciclos circadianos.

El tabaco crece en otoño y florece en primavera. Pero unos americanos en el MIT desarrollaron un mutante que no florece en primavera, sino en otoño. Es así que crece muchísimo durante la primavera y luego florece cuando su crecimiento se retrasa. Las aplicaciones comerciales son lógicas. Al ser un mutante de fenotipo gigante

Demostración de la dependencia de la floración con la duración de la noche

La incidencia del fotoperíodo en la floración es un término no del todo correcto. El siguiente experimento demuestra que el hecho de que una planta florezca o no no depende de la longitud del día sino de la longitud de la noche. Es el cambio de la oscuridad a la luz lo que produce todo. En otoño el día es corto y la noche es larga y florecen los crisantemos. Las plantas de día largo mientras crecen durante el invierno. Esas serán las que en primavera, cuando los días se alargan y las noches se acortan florecen.

Si artificialmente hacemos el día igual de longitud que la noche durante el otoño, es decir 16 horas de luz y 16 horas de noche (y hacemos ciclos así de 32 horas) florecen las plantas de día corto y no las de día largo. Es decir que no es el día largo lo que produce la floración sino la noche larga. Con 8 horas de luz y 8 de oscuridad (ciclos de 16 horas) florecen las plantas de día largo. En resumen es la señal de la cantidad de tiempo que pasan en oscuridad lo que establece la señal.

Si en la mitad del día se apaga la luz de la cámara de cultivo se interrumpe el día y en consecuencia serían dos días cortos y una noche corta. En resumen . Nada. Solo florecen las de día largo y no las de día corto. Si ahora lo que interrumpimos es la noche y generamos 2 noches cortas y 1 día largo, siguen floreciendo las de día largo y no las de día corto. Evidentemente hay algunos genes que deben ser los que estén regulando todo esto es evidente.

Los receptores de luz están implicados en ese control de la floración. Eso demuestra que los fitocromos están implicados en la floración debido precisamente a que si se interrumpe la noche de 16 horas y se la corta en dos partes, en vez de florecer las plantas de día corto y noche larga, florecen las de día largo y noche corta.

Si ahora lo que hacemos es interrumpir, pero luego de interrumpir mandamos un pulso de luz roja lejana, la señal vuelve a ser la de antes y la planta permanece como si nunca hubiera sido interrumpida la noche. En respuesta florecen las de día corto y noche larga.

El florígeno se genera en la hoja en condiciones inductivas de fotoperíodo

El experimento demuestra que algunas hojas están preparadas para recibir la señal de floración del fotoperíodo y otras no. Además el experimento demuestra que no es el meristemo el que recibe la señal del fotoperíodo sino una hoja.

Asilamos la planta en fotoperíodo no inductivo. Iluminamos solo una hoja madura de esa planta en condiciones de inducción y se ve que florece el resto de la planta aunque el resto se mantiene en condiciones no inductivas!!! Es decir que la señal es percibida por hojas!!!!

Pero si ahora hacemos lo mismo poniendo en condiciones de inducción a las zonas más inmaduras (meristemas y hojas inmaduras) no se consigue la floración!!!! O sea que la señal debe percibirse en zonas maduras de la planta. El florígeno debe estar generándose en la hoja en condiciones inductivas de fotoperíodo.

Ojo esta es la señal determinante de las hojas Esa señal además deberá viajar, porque si el florígeno se genera en las hojas y llega hasta los meristemas y los transforma en florales.

Sin embargo la señal es desconocida. Se supone que es compuesta, mixta. Se supone que depende de una ruta mediada por fitocromos, receptores de luz, etc. Las moléculas generadas (muchas) deben viajar hasta los meristemas para determinar esas células para que ahora recibiendo esa señal se induzcan los genes *Leafy*, *Apetala1*, etc. dándose la evocación de la floración. Se supone que las giberelinas (algunas especiales), la concentración de sacarosa que viaja hacia el meristemo y otras cosas (tal vez otras hormonas) son parte de esa señal. Además se ha demostrado que al menos en algunas cepas de *Arabidopsis* hay mRNA que viaja. Se supone que es la parte más determinante e importante del florígeno. Esos mRNA de herencia materna viajan y se expresan cuando se da la inducción floral y viajan hasta el meristemo floral. Parece cada vez más claro que esos mRNA que viajan a través de plasmodesmos son los implicados fundamentalmente en esa señal mixta que llamamos Florígeno.

De ahí que uno que agarra una planta y corta un esqueje maduro la planta enseguida florece. Pero si uno agarra un esqueje inmaduro con hojas todavía no preparadas para producir la señal de floración, la planta deberá madurar primero para luego poder dar lugar a la floración.

La inducción fotoperiódica aumenta la expresión de genes que aceleran la floración de manera que todas las plantas florezcan y maduren muy rápidamente.

Los fotorreceptores activan genes de floración que van a inducir posteriormente a los AP, etc. Genes como *CONSTANS* (CO) o *LUMINIDEPENDENS* (LD) están expresándose de forma constitutivamente. Pero en condiciones inductivas se sobreexpresan y es ahí cuando sus productos activan a los genes de floración como *Leafy* o *Apetala1*. En concreto, el *CONSTANS* se induce en los meristemas activándose por sustancias florígenas que viajan por el floema desde las hojas estimuladas en condiciones de fotoperíodo inductivo (lógicamente regulada por fitocromos, criptocromos, etc.). El gen *CONSTANS* de forma directa o indirecta activa a otro gen como es el *AGAMOUS-LIKE 20* que está antes de los genes como *Leafy* o *Apetala 1*. Ese gen *AG-LIKE-20* actúa como un embudo de la señal producida por *CONSTANS* e induce todos los genes de identidad meristemática. Otras señales de floración como las señales de giberelinas (en algunas plantas), o genes de temperatura también son recogidas por este embudo de ese gen *AG-LIKE-20*. De forma que cuando el gen *AG-LIKE* alcanza ya un nivel de expresión determinado suficiente, el producto de ese gen inducirá la floración directamente. Inducirá a *Leafy*, al gen *AP1*, y esos a su vez inducirán a los genes homeóticos de las flores que son los encargados del desarrollo de los cuatro órganos florales. Da igual por qué señal las plantas finalmente desemboquen en ese gen *Ag-LIKE*, pero ese es el gen clave para la acumulación de la proteína *AG-LIKE*. Esto es puro modelo teórico no demostrado todavía.

Una cosa a destacar que veíamos ya antes es que el *PHYA*, *CRY1* y *CRY2* son genes cuyos productos activan *CONSTANS*. Mientras tanto, el producto de *PHYB* es lo que da lugar a la inhibición de *CO*.

La inducción es permanente y el florígeno se transmite desde la hoja inducida incluso tras varios injertos

Una planta de pimienta inducida para florecer mediante fotoperíodo inductivo – con los genes activos se trasplanta una hoja sobre otra planta no inducida a la que se le han cortado los meristemas laterales esa planta que recibe un injerto inductor florece sin necesidad de ella recibir fotoperíodo inductivo. De esta segunda planta agarramos el injerto y lo retransplantamos a otra planta no inducida nuevamente florece. Así lo podemos hacer todas las veces que queramos. Es decir que la inducción de la hoja madura es permanente y el florígeno se transmite desde la hoja inducida incluso después de varios trasplantes.

El florígeno se transmite aunque haya sido recibido vía injerto

La inducción indirecta puede ser demostrada en experimentos de cortes. La señal inductiva es definitivamente epigenética dado que se puede transmitir desde una generación a otra sin necesidad de pasar por una etapa informativa en forma de código nucleico

El efecto de la vernalización sobre la inducción de la floración

La vernalización – el cambio de temperatura es otro de los grandes inductores de floración. Si ponemos una planta en hielo se supone que cuando la trasplantemos a condiciones más cálidas la planta florecerá. Sin embargo, si uno tiene las plantas siempre en frío no florecen nunca. Pero la vernalización implica un cambio de temperatura fría a caliente. Al florígeno se lo llamó vernalina aunque no se caracterizó. Vernalis quiere decir primavera en latín. Lo que induce la floración en las plantas no es el frío, sino el cambio desde una temperatura inferior a una superior. Una planta vernalizada (40 días a 4 grados) florece 3 semanas después del cese del tratamiento, con sólo 9 hojas. Una planta no vernalizada (crecida siempre a temperatura ambiente) no florece tras 100 días y se desarrolla solo en roseta.

Es decir que la floración puede acelerarse usando cámaras en frío. De hecho en Arabidopsis, en los laboratorios se hace así.

Lisenko, un botánico ruso, allá por principios de siglo XX fue el responsable de que la población bolchevique se mantenga sin hambruna. Lo que hizo fue vernalizar cereal de Siberia haciéndola que su ciclo se redujera. El cereal es una planta que florece en día largo, pero como se desarrollan en primavera, en invierno se suelen perder grandes cultivos y por lo tanto siempre la producción es reducida. Pero Lisenko desarrolló cereales que se siembran terminando el invierno y que enseguida florecen. Hay un cambio de temperatura y florecen enseguida. No necesita el cereal un crecimiento raro. Son los cereales clásicos que se dan en climas fríos norte de Japón, Siberia, Canadá, Alaska, etc.

La vernalización inhibe la expresión del gen FRIGIDA (FRI), un sensor de temperatura

Es aparentemente el sensor de temperatura en plantas. Se expresa justo precisamente cuando hay un cambio de temperatura. Es un gen que se expresa cuando la temperatura está constante y un cambio de temperatura hace que deje de expresarse. O sea que solo deja de expresarse en vernalización. No se ha dicho nada más. Parece que tiene que ver con el fenómeno, pero todavía no se ha visto sus efectos sobre las cascadas de señalización de floración ya vistas de una forma directa.

El gen FRIGIDA deja de expresarse en condiciones inductivas. Es decir que sería un enemigo del CONSTANS. Pero todavía no se vio bien todo el tema.

El efecto de la vernalización también es epigenético (se transmite a las siguientes generaciones celulares)

Una planta vernalizada, en el momento en que se da el cambio de temperatura la planta florecería. Pero si se agarra un extracto y se cultiva el explanto de la planta vernalizada, la planta regenerada florece

enseguida.

Una planta no vernalizada, se hace un explanto y se cultiva y la planta regenerada no florece.

El experimento lo hizo Metzger y demuestra el efecto de la vernalización a nivel celulares bastante interesante el producto de FRIGIDA evidentemente se reparte entre las células hijas o algo así Tal vez FRIGIDA metila histonas, etc. el asunto está todavía por elucidar.

La inducción floral es multifactorial

La vernalización inhibe la expresión del gen frígida y esos genes eran inhibidores directos o indirectamente del AG-LIKE por lo tanto se desinhibe el AG-LIKE en vernalización. La otra vía de inducción es la vía autónoma y más o menos se sospecha que depende del número de hojas. La vernalina se produce en el meristemo apical a diferencia del florígeno. La señal inductora debida a la vernalización se produce directamente en los meristemos. De la misma forma sucede con la vía autónoma. Otras vías dependen del contenido de sacarosa o giberelinas en el meristemo apical. Se denominan vía de la energía y vía GA. Sin embargo, estas están todavía por verse.

La mayor parte de grupos de investigación en fisiología vegetal que se mueven en el planeta tratan de ganarse el dinero mediante el estudio del control de la floración debido a que es el tema de mayor interés desde el punto de vista económico.

La inducción floral es multifactorial II – inducción por fotoperíodo o por vernalización o por las dos cosas

La floración puede producirse por un cambio de día corto a día largo o por un cambio de frío a día largo o por un cambio de frío a calor o por un cambio de día corto a calor o por un cambio de giberelinas.

DESARROLLO REPRODUCTIVO

Cortando las anteras por el medio encontramos el saco polínico. Dentro tenemos el polen – con la célula madre polínica ($2n$) que se divide dando lugar a las 4 microsporas (n). Eso constituye luego el grano de polen maduro.

Por el lado femenino, en el gineceo, el óvulo diferenciará su célula $2n$ en una célula madre megaspórica. Esa se dividirá dando las 4 megasporas (n) que luego darán lugar al saco embrionario constituido por los 8 núcleos, 3 superiores, 3 inferiores y los 2 núcleos centrales.

Tanto en las anteras como en los pistilos, el desarrollo de los gametos es bastante similar. Primero hay un proceso meiótico a partir de la célula madre que generará las esporas, microsporas masculinas o megasporas femeninas. Esas esporas luego por mitosis y diferenciación celular germinal darán lugar por un lado al grano de polen y por otro lado al saco embrionario. La primera fase es la formación de esporas (esporogénesis, micro o mega). La segunda es la formación y desarrollo de gametos (gametogénesis, micro o mega).

Los gametos en las plantas no son formas mononucleadas unicelulares como en los animales. Es decir que son formas más complejas en las que hay núcleos vegetativos y núcleos fértiles todos mezclados y que en conjunto forman parte de lo que llamamos gameto.

En los sacos polínicos están las células madre rodeadas por el Tapetum (tapete). Esas células madre dentro de su pared celular sufren meiosis y de cada célula madre se obtendrá una tétrada de células

idénticas (n) que se individualizan. El polisacárido de esa pared no es el típico de celulosa. Es un polisacárido de manosa y otros azúcares raro y se denomina callosa. A partir de esas tétradas cada una de esas 4 células va a dar lugar a un grano de polen en última instancia. El tapetum, entre otras cosas produce callasa, la enzima que rompe la pared de callosa. Libera 4 microesporas. Esas 4 microesporas sufren mitosis cada una dando lugar a dos núcleos y dos sistemas de pared celular, una pared interna formada por celulosa-callosa y una pared más externa. Esa pared externa es discontinua (tiene poros y huecos) y está formada por Esporopolenina, un polisacárido específico de microesporas maduras. La síntesis de la esporopolenina depende en gran parte de la actividad del tapetum (todo esto recordemos que está sucediendo en los sacos polínicos). Ocurrido esto, el tapetum comienza a degenerar y ahora lo que tenemos es un gran número de pro-granos de polen. Las microesporas ahora están libres en las anteras. A partir de ahí se da un proceso de maduración de las microesporas hacia la formación de lo que es el grano de polen en sí. Adquieren la morfología precisa, etc. En ella, la mitosis asimétrica da lugar a los dos núcleos antes mencionados. Uno queda dentro de la vacuola de la microspora y el otro se queda en el citoplasma. El núcleo espermiático es el que está dentro de la vacuola. El núcleo vegetativo será el que está en el citoplasma. El núcleo espermiático posteriormente sufrirá otra mitosis más para dar lugar a 2 endocélulas espermiáticas. La parte vegetativa dará lugar al tubo polínico que penetrará en el pistilo y permitirá el transporte de los núcleos fértiles que serán los que fecundarán a los dos núcleos centrales que tiene el saco embrionario. Es importante destacar que la segunda mitosis, la que da lugar a las 2 células espermiáticas de la doble fecundación es un proceso que se desencadena en el momento en que el grano de polen toca el estigma del pistilo.

La maduración final del grano de polen se debe a una deshidratación (liofilización) y a que se rodea de una cubierta que son restos celulares del tapete – lípidos, proteínas de las células anteriores que tapizan al grano de polen. Parece una tontería pero de esa cubierta, de ese tapiz depende el reconocimiento posterior del grano de polen por el estigma y la reacción antes mencionada que permitirá la rehidratación, la generación del tubo polínico, su extensión, el transporte de los núcleos espermiáticos, etc. Ese tapiz es el que estará encargado de imposibilitar la autofecundación de plantas que no pueden autohibridar.

La cubierta interna del grano de polen es una pared clásica de callosa-celulosa que se llama intina (pared continua o 1ª). La pared discontinua específica del grano de polen se denomina exina y es rica en esporopolenina (pared 2ª). Esa pared normalmente es una pared que tiene una deposición en formas geométricas dando lugar a decoración muy espectaculares en los granos de polen. Es discontinua y es fundamental que lo sea para que el tubo polínico pueda salir de ahí. Es así que es fundamental que algunas enzimas (del tapetum) consigan esos poros. Además los poros no pueden estar solo en algún sitio. Debe haberlo en todos los lados dado a que el grano de polen no sabe de qué cara caerá en el estigma.

En la mitosis asimétrica del principio solo se expresarán genes de la célula vegetativa, del núcleo vegetativo. El núcleo fértil no lleva citoplasma, factores de transcripción, etc. Está extremadamente condensado y la cromatina no presenta expresión. Sería análogo al núcleo de un espermatozoide. Es más la maquinaria para la segunda mitosis que ocurrirá y dividirá ese núcleo fértil en 2 la aportará también el núcleo vegetativo del polen.

Ese núcleo vegetativo sí expresa unos 250 genes implicados todos ellos en la maduración y fecundación del polen. Gran parte de esos genes (más o menos específicamente) dan lugar a proteínas que cada vez más fastidian a la población humana mundial (los alérgenos del polen).

La gametogénesis femenina se entiende mucho menos. Fundamentalmente ocurre igual a nivel básico. A partir del megaesporocito por meiosis se forman 4 núcleos. De esos 4 degeneran y pasan a formar las tecas, etc. otros tejidos protectores. Eso sucede igual que en animales. Solo una se queda con gran parte del citoplasma de las demás y generan la megaspóra funcional. A partir de ahí se dan tres mitosis,

algunas de ellas asimétricas para generar un sincitio de 8 núcleos al principio. En algunas especies luego esos núcleos se individualizan. A veces, los 2 núcleos centrales o polares se fusionan dando lugar al núcleo del saco embrionario (NES – 2n). Los tres núcleos superiores son las células de la antípoda. Los tres núcleos inferiores son las 2 sinérgidas y la célula huevo (la célula cuya fecundación dará lugar al cigoto propiamente dicho). Esto es típico en Arabidopsis y dicotiledóneas. Pero en monocotiledóneas lo que sucede es diferente. En maíz los núcleos no se fusionan. Es más, hay solo un núcleo polar. Pero en el saco embrionario de Arabidopsis las células antipódicas degeneran, mientras que en maíz no.

Expresión génica durante la gametogénesis femenina en orquídeas

Lo poco que se sabe es gracias a las orquídeas. O tienen su tierra o no germinan como ya sabemos. Pero al contrario son tan majas que no desarrollan los gametos hasta que son polinizadas. Recién cuando el polen es recibido por el estigma se desarrolla el saco embrionario. Se generan las megasporas en los carpelos pero solo cuando cae un grano de polen en el estigma comienza la mitosis y la diferenciación del saco embrionario. Eso hace que el desarrollo femenino sea lo suficientemente lento como para estudiarlo. Se conocen los genes y proteínas que se expresan o dejan de expresarse a lo largo del transcurso de días. No se han extraído demasiadas conclusiones.

Además, como no se encontró todavía un sistema para estudiar el desarrollo de una forma correcta. Eso es porque por flor suele haber uno o pocos gametos. Es así que hay muy poco material en concreto para llevar cosas de esas.

TEMA 24 – FECUNDACION Y FRUCTIFICACION

El embrión generado debe protegerse y además el embrión debe tener un mecanismo de dispersión. Para que haya una densidad de población adecuada, tenemos dos estrategias: dormición de semillas y otro generar órganos de dispersión que no son las semillas en sí sino el fruto por ejemplo. Una vez marchita el fruto, la semilla puede moverse, etc. Pero otros sistemas son alas, etc.

El fruto como vemos es análogo a una placenta animal. Es un órgano femenino. Se desarrolla a partir de los tejidos vegetales de la planta que actuó como hembra. No es necesaria la fecundación para que se genere un fruto y hay toda una industria y tecnología dedicada a conseguir frutos no fecundados.

Las partes de un fruto son un coñazo. La primera parte del proceso de la fecundación en vegetales implica el reconocimiento o no del grano de polen por el estigma femenino. El proceso se denomina polinización. El grano de polen es un cristal deshidratado que cae en un estigma (algunos tienen papilas para ayudar la retención del polen o tienen proteínas adhesivas, etc., mucopolisacáridos). Una vez el polen cae en el estigma tiene que ocurrir una rehidratación del grano de polen para que él pueda sacar el tubo polínico. La rehidratación depende de la famosa cubierta de basura del tapiz del grano de polen. Para plantas que evitan la autopolinización, si ese tapete tiene proteínas de la misma planta que está recibiendo el polen, con mucha frecuencia el polen es rechazado y no se hidrata. Pero si las proteínas del tapete que tiene colgadas como suciedad no son reconocidas sí habrá hidratación. Se reconoce el grano como de otra planta.

Polinización – interacción Polen–estigma

El polen es recibido y adherido a las papilas estigmáticas. La cubierta del polen presenta unas proteínas específicas y luego unas proteínas de adhesión al igual que unas proteínas y glucoproteínas de la exina llamadas ligando del polen. Generalmente la fructificación solo necesita la interacción de polen con la papila. En el momento que esas proteínas se reconocen se da la señal y ya se forma el fruto que será

partenocárpico (sin semillas – aplicaciones industriales interesantes). Al principio se da la adhesión gracias a las proteínas del polen. Luego ya se da el reconocimiento.

El reconocimiento por parte de la papila lo llevan a cabo unas proteínas transmembrana que reconocen el ligando que tienen dominios kinasas y que se llaman SRK.

Hay papilas más o menos promiscuas. Las más promiscuas podrán recibir más tipos de granos y lo reconocerán menos íntimamente. Las plantas más histéricas solo pueden polinizarse por polen con una gran distancia específica de la flor. Las más promiscuas pueden incluso autofecundarse sin problemas. Pero eso depende de las células.

El canal MOD de agua (una acuaporina) se abre en las papilas dejando que el agua fluya a favor de potencial hídrico hasta la papila para que hidrate el polen a través de sus poros. El polen formará el tubo polínico. Una vez hidratado activa su metabolismo y seguirá adelante con el proceso que terminará en la fecundación.

Un rechazo del grano de polen hace que los canales no se abran y así el grano no hidratado será desplazado por el viento, etc.

Crecimiento del tubo polínico

Reactivado el metabolismo de la célula vegetativa comienza el proceso de crecimiento celular que desembocará en que se de una segunda mitosis (del único núcleo espermático en dos núcleos espermáticos) y que se expresen genes que lleva al desarrollo de una prolongación citoplásmica forrada de citoesqueleto llamada tubo polínico. Solo está acompañada de intina (no lleva exina). Atraviesa uno de los poros de exina y se prolonga por el estigma hasta el estilo por el que descenderá hasta el ovario. Crece siempre por el hueco hidratado que está en contacto con el estigma. El crecimiento es clásico los microtúbulos permiten también organizar las vesículas que irán transportándose hacia el extremo final.

Se forman unos discos de callosa para impedir que los núcleos y la maquinaria metabólica vuelva hacia atrás a medida que migran los elementos. Lo que será realmente el gameto masculino es esto – el grano de polen con el tubo polínico dentro del cual van los núcleos espermáticos (masculinos). Es la última parte de la maduración–diferenciación de la gametogénesis masculina. Eso está realmente listo para fecundar.

El tubo polínico necesita energía para ese crecimiento vegetal y el aporte lo recibe del estilo

La chicha para que el tubo polínico crezca proviene de las células del estilo. Esas son las mismas que producen el néctar de vegetales. Se consiguen y purifican extractos y exudados estilares en un experimento y se colocan tubos polínicos pregerminados en una placa con algo de ese exudado. Luego de un rato se ve que los tubos polínicos brotan y se ponen vivos. Eso demuestra que los nutrientes están en el estilo y no en el estigma ni en el mismo grano de polen.

Al tiempo, dentro del ovario se están generando los tejidos de los tegumentos, las tecas, etc. Lo interesante es que el micrópilo es el poro por el que se entra a la nucela desde el exterior del ovario. Luego hay un tejido que se denomina nucela en el cual está inmiscuido el saco embrionario. Es un tejido nutritivo. La nucela está rodeada por los tegumentos interno y externo. La posición del micrópilo en la planta es importante para la taxonomía. Generalmente los ovarios están al azar. Al incubar los tubos con los ovarios, los tubos se doblan y van buscando los micropilos de los ovarios. Es decir que algún tipo de señal se exuda o llama a ese tubo polínico. Se piensa que tiene que haber algo que dirija la quimiotaxis. Si estamos en período fértil el tubo polínico deja de crecer ya entrando al micrópilo. El ápice se desarma y salen los núcleos vegetativos. Una de ellas fecunda a la célula huevo dando lugar al

embrión y la otra en angiospermas (en gimnospermas no hay doble fecundación) fecunda a la célula del saco embrionario dando lugar al núcleo triploide del endospermo. Pero hay un problema sabemos que la mitosis del tubo polínico masculino era asimétrica ¿qué núcleo fecunda a qué?

Se sabe que está previamente determinado mediante influencia materna polínica (sobre todo mediante mRNAs heredados de los tejidos maternos del grano de polen los que dicen cuál de los dos núcleos masculinos que serán generados fecundará a qué célula los dos núcleos espermáticos no son idénticos uno de ellos está previamente destinado a fecundar a la célula huevo y el otro a fecundar a los núcleos del saco embrionario).

Una serie de glucoproteínas decorativas de la membrana nuclear del núcleo espermático será la responsable de que sea ese núcleo el que fecunde a la célula endospermática mientras que la que no posee glucoproteínas será la que fecunde a la célula huevo (a veces al revés). Del lado femenino, sobre todo en gramíneas, se da la existencia de cromosomas B, cromosomas extra desapareados que dan lugar a una célula con un cromosoma más que la otra. El núcleo huevo suele ser la que lleva el cromosoma B extranumérico.

El período de polinización lo determinan la longevidad del óvulo y la velocidad de crecimiento

Una cosa es que el tubo polínico crezca y la entrega de núcleos se de y otra muy diferente es que se efectivamente la fecundación. Eso dependerá de muchos factores biológicos y ambientales.

Después de la polinización hace falta un par de días o 3 para tener óvulos maduros y fértiles que puedan ser fecundados. El desarrollo del tubo polínico toma 5 días. Pero la longevidad del óvulo dura solo 7 días. Es así que desde que cae el primer polen fértil hasta que se recibe el último grano de polen que podrá fertilizar tendremos solo 4 días de polinización efectiva. Es lógico que es importantísimo el mantenimiento genético de los ciclos circadianos para que la sincronización del desarrollo del tubo, la polinización, la liberación del polen, etc. coincidan con la fecundidad femenina. Es lógico que sean esos los factores que afecten la floración no?

Factores que afectan el desarrollo de la polinización

- humedad muy baja hace que la papila estigmática esté seca y que la hidratación del grano y la extensión del tubo tarden a veces demasiado se reduce el período de polinización efectiva la humedad muy alta puede provocar que (¿?)
- una temperatura muy baja retrasa el proceso, pero una muy alta implica deshidratación hace que se seque el estigma o el polen demasiado
- una humedad excesiva o una temperatura muy alta afecta haciendo que los insectos polinizadores estén o no estén, etc. y así de ellos también dependerá la polinización

Esto lógicamente hace que sea muy dificultosa la polinización en zonas muy extremas. De hecho es clave la situación de algunas flores tropicales. Muchas plantas, sobre todo de zonas tropicales se abren solo cuando el sol está en posición cenital. Esas flores solo podrán polinizarse durante esos momentos en que están abiertas.

La esterilidad de algún gameto evita la autopolinización

El desarrollo de las flores monoicas (las que tienen los dos sexos) La probabilidad de que una planta se autofecunde es elevada (desde el punto de vista espacial-físico simplemente). Es decir que la autofecundación se ve. Es una ventaja desde el punto de vista de asegurar la reproducción pero se pueden acumular con el tiempo mutaciones, etc. que podrían dar lugar a delección de individuos. Es así que muchas flores favorecen la fecundación cruzada. Algunos de ellos incluyen el mecanismo de

esterilidad. Plantas que directamente tienen un programa de esterilidad de androesterilidad o ginoesterilidad (alguno de los dos órganos o gametos no maduran). O bien se produce esterilidad citológica – alteraciones de las meiosis durante la gametogénesis impidiendo la formación de gametos. La última esterilidad es la llamada incompatibilidad homogenética. El polen no puede fecundar flores por una de dos razones hay una autoincompatibilidad (no puede fecundarse por la misma planta) o incompatibilidad de cruce (no puede fecundarse por plantas cercanas – solo por plantas de otros cultivos).

La fecundación cruzada también puede promoverse por un proceso denominado dicogamia. Los dos órganos sexuales maduran a dos tiempos distintos unos de otros haciendo que jamás se encuentren el desarrollo polínico y el desarrollo del óvulo para que solo pueda haber polinización efectiva en las flores en las que nos conviene.

Uno de los factores de androesterilidad es un factor citoplasmático de herencia paterna uniparental en el polen. El hecho depende de algo que todavía no se sabe concretamente cómo es. Lo que sí se sabe es que es herencia citoplásmica. Ese polen es estéril debido al citoplasma que hay en el tubo polínico y es estéril solo si existe un intento de fecundación en la propia planta. Sin embargo, si la planta es otra distinta u otro cultivar (otro clon) puede haber un factor citoplasmático en el receptor femenino que contrarreste a ese factor de esterilidad y las células germinativas pueden realmente fecundar a la planta. Hay otros mecanismos que sí están basados en cosas genéticas claras, pero ese es bastante peculiar por el hecho de que la herencia no siempre es nuclear y esto es un ejemplo.

La autocompatibilidad sin embargo generalmente es mendeliana. El ejemplo es el sistema de autoincompatibilidad S_n . Existen genes S (self-incompatibility) de tipo 1, 2, 3, etc. El mismo alelo de autoincompatibilidad hace que haya rechazo. Así se evita la autofecundación. Una planta tendrá polen con el gen S_1 y por supuesto su pistilo será S_1 también. Es así que lógicamente

Pero el S femenino y el S masculino no son realmente el mismo gen. Es decir que no es ni el mismo cromosoma, son dos cosas distintas. El gen S masculino generalmente da lugar a una glucoproteína de la membrana del polen mientras que el gen S femenino tiene como producto generar el fenotipo que induce la actividad RNAasa dentro del tubo polínico para evitar el desarrollo del tubo polínico.

Un polen S_2 intenta fecundar un pistilo que es S_2 – S_3 (recordemos que el estigma es diploide y tiene ambos alelos) será rechazado dado que la actividad RNAasa se da en el tubo y así, degradados los mRNA cesa el desarrollo del tubo polínico.

Un polen S_1 que intenta fecundar no desencadenará en la planta el reconocimiento que culminará con la activación de las RNAasas polínicas y como resultado inhibirá la expresión de la autoincompatibilidad. Así el tubo polínico podrá desarrollarse correctamente y se dará la fecundación correctamente.

Pero eso es la autoincompatibilidad gametofítica. Pero además las plantas pueden reconocerse mediante el esporofito también en la llamada incompatibilidad esporofítica (también se llaman genes S pero que dan lugar a unas cosas completamente diferentes). Recordemos que el polen tiene una exina recubierta por restos del tapetum. Y el estigma es esporofito (es una hoja modificada) $2n$. Eso hace que pueda haber reconocimiento también al mismo nivel. Así, un grano de polen generado por una planta S_1S_2 tendrá un tapetum S_1S_2 y si intenta fecundar una planta S_2S_3 eso será imposible (aún cuando su gametofito, es decir, sus esporas fueran S_1) debido a que será reconocido como propio y no se abrirán los canales y no se hidratará para que pueda germinar. Un grano de polen cuyo tapetum fuera sin embargo S_1S_4 sí podría fecundar sin ningún problema, abriría canales de agua y por lo tanto se hidrataría, etc. Digamos que siempre tenemos que considerar los dos tipos de autoincompatibilidad S , la GSI y la SSI.

Los genes S son altamente polimórficos. Es una serie alélica enorme con una gran hipervariabilidad. Los polimorfismos en los vegetales son mucho más polimórficos que en los animales. Así es que la planta de al lado podría tener otro tipo de alelos S.

Es también de destacar que en el sistema de autoincompatibilidad siempre tenemos genes codominantes en las partes diploides, típico de los sistemas de autocompatibilidad en animales también (pensemos en el sistema ABO sanguíneo o en el HLA humano y proteínas marcadoras del MHC-II).

Cuando un polen compatible se despega, queda un menisco de agua y deja parte de la cubierta pegada al estigma. Puede llegar ahora un polen incompatible, caer ahí y enmascararse la incompatibilidad. En resumen **LA AUTOINCOMPATIBILIDAD ESPOROFITICA DEPENDE DE LAS PROTEINAS DE RECONOCIMIENTO DE PARTES ESPOROFITICAS**

De la misma forma, si primero se cubre el estigma de polen de la misma planta, incompatible y luego viene un polen compatible, será considerado incompatible y es así que se jode.

FASES DE DESARROLLO DEL FRUTO

Basta con un estímulo partenocárpico para que los tejidos del embrión maduren hacia un fruto con la ayuda de señales hormonales. Los que nos solemos comer suelen ser partenocárpicos (naranjas, etc.).

La fructificación tiene 3 etapas:

- mitosis de los tejidos del ovario – aumento de la proliferación controlada del número de células pero un aumento de volumen muy pequeño... (efecto de las citoquinas y giberelinas)
- fase del desarrollo del volumen – acumulación de agua, etc. (fundamentalmente debido al efecto de auxinas)
- senescencia, muerte de tejidos y cambios del metabolismo – maduración: donde antes se sintetizaba y almacenaba almidón, éste ahora se degrada a disacárido dándole el sabor dulce al fruto todo va acompañado de mucha actividad peptidasa (rotura de paredes celulares, muerte de células, etc. típicas del efecto de etileno y el ácido absísico)

En función de cómo madure el fruto (dependiendo del etileno) tendremos frutos climatéricos o frutos no climatéricos. En la última etapa, en algunos frutos hay un pico final de etileno en su senescencia en el que hay un pico de la respiración y la actividad lítica y peptidasa y se llaman climatéricos. Los que no responden simplemente tienen un perfil descendiente de la respiración sin que haya síntesis de etileno en ningún momento.

Esto se puede comprobar experimentalmente. Según va madurando el plátano puede teñirse con lugol. Algunos frutos acumulan mucho almidón y tienen mucha respiración y así se tiñen al principio con más lugol. Hacia el final casi no hay respiración y generación de electrones y ahí se ve que no hay lugol unido.

En la senescencia se van degradando la clorofila y se da la síntesis de otros nuevos pigmentos, perdiéndose el color verdoso del fruto y virando hacia otros colores. Algunos mutantes del tomate se han conseguido modificando la actividad peptidasa mediante técnicas transgénicas. Así se logra que estén rojitos y lindos y no marrones cagados ni verdes inmaduros.

DESARROLLO REPRODUCTIVO DE LAS ESPERMATOFITAS

- floración
- gametogénesis
- fecundación
- embriogénesis (desarrollo de semillas) – algo que en parte ya vimos pero que terminaremos de ver ahora

CONTINUAMOS LA EMBRIOGÉNESIS viendo lo que viene antes de lo que vimos en la primera parte del segundo semestre

La semilla conlleva sin embargo bastante más que el embrión es un órgano de individualización de la planta hija y por tanto un órgano de dispersión es imprescindible para que los hijos no nazcan encima de la madre y que de repente una madre sea aprovechada y matada por sus hijos

Vimos ya mucho de la germinación, dormición, y hemos hecho una práctica específica para poder pasar bastante de lo que vimos de germinación aunque debemos tocarlo aunque sea un poco

Recordamos algo del desarrollo del embrión tema 15 o por ahí

Pero el otro tejido fundamental de la semilla es el endospermo–cotiledones Es fundamental ver eso también y además tenemos que contarlos en la pregunta del examen que ya nos lleva 4 meses diciendo que va a caer

En la embriogénesis detectamos 3 fenómenos: desarrollo del embrión, desarrollo del endospermo y desarrollo de los cotiledones. La embriogénesis también requiere la generación de unas cubiertas impermeables para el agua y agentes químicos y biológicos que en general se denominan TESTA (cubiertas seminales).

Excepto en algunas leguminosas, en dicotiledóneas el endospermo es transitorio y se desarrollan cotiledones.

La doble fecundación da por un lado lugar evidentemente al embrión que tiene unas etapas de desarrollo que ya vimos y que tendremos que contar en el examen. Por otro lado la fecundación con los núcleos endospermicos da lugar al desarrollo del endospermo (el tejido nutritivo de las semillas – donde enfocaremos el tema de hoy).

EL DESARROLLO DEL ENDOSPERMO

Pasa por distintas fases una vez producida la fecundación. Existe una actividad de mitosis pero en la mayor parte de los casos esa mitosis es simplemente división del núcleo (no hay citocinesis no se forman paredes celulares).

Parte 1– De forma que se consigue un estado de desarrollo primario denominado sincitial. Es una única célula multinucleada (hasta 50–100 mil núcleos en una célula única enorme). Aparte desarrolla una gran vacuola central de forma que los núcleos son empujados hacia la periferia de ese sincitio. Los núcleos serán como sabemos triploides

Parte 2– Ocurre una celularización se desarrollan paredes celulares formando una red que encierra a todos los núcleos y que además deja células sin núcleo. El tamaño del endospermo no varía, simplemente el sincitio se va tabicando. Esa fase se denomina por ello celularización. En algunas plantas tanto la parte 1 como la 2 están unidas en una única fase.

Parte 3– Una vez celularizado el tejido triploide se comienzan a diferenciar las distintas fases. Es la fase

de diferenciación. Las capas periféricas expresan una serie de genes para desarrollar vesículas líticas, proteínas digestivas y constituyen la aleurona. Las células centrales que muchas, la mayoría son enucleadas directamente almacenarán una gran cantidad de sustancias nutritivas, primero azúcares y aminoácidos y precursores de ácidos grasos.

Parte 4– El producto final es que cesa la mitosis y ya están diferenciadas las células en distintos tipos. Tendremos ya un endospermo amiláceo que sintetizará y acumulará almidón, proteínas (en menor cantidad que el almidón) y cuerpos lipídicos. La aleurona ya está constituida y preparada por completo.

Descarga apoplástica de fotoasimilados al endospermo

No hay nunca uncontacto directo entre el endospermo de la futura planta y los tejidos de la nucela (la placenta vegetal). La vascularización (la cantidad de plasmodesmos en las paredes de las células del floema y las células acompañantes que llevan cosas al sumidero) va aumentando hasta que la nucela. Es así que se dice que hay un embudo de nutrientes, cada vez más vascularizado para así llevar los alimentos al embrión. Es el más claro sumidero.

Los nutrientes se vacían al endospermo siempre por una cavidad en su desarrollo donde la nucela va vaciando esos nutrientes. No necesita así haber un contacto plasmodésmico entre los dos tejidos.

Prácticamente toda la semilla era endospermo amiláceo. En una dicotiledónea el endospermo es un tejido pequeño y temporario. Los cotiledones son tejidos embrionarios ya. Serán los que realmente acumularán las sustancias nutritivas. El endospermo solamente se ocupará de conseguir que los cotiledones aparezcan.

Acumulación de reservas en semillas no endospérmicas

En una etapa joven recibe sacarosa de las cubiertas de la madre. Después de la descarga de la nucela una invertasa la rompe en fructosa y glucosa. La glucosa es llevada a los cotiledones donde se polimeriza a sacarosa nuevamente. Llegarán aminoácidos aminados como glutamina, asparagina (los que llevan más nitrógeno de lo normal) y llegarán precursores de aminoácidos (esqueletos carbonados) para formar aminoácidos y proteínas. En las primeras fases de reserva de nutrientes tendremos sacarosa, aminoácidos y ácidos orgánicos. Cuando madura el desarrollo del cotiledón o del endospermo, ahora la sacarosa se polimerizará a almidón en los cotiledones. Los aminoácidos y los ácidos tricarbónicos generarán proteínas y habrá otras reservas más.

En las semillas oleaginosas se sintetizarán aceites a partir de los plastos y cloroplastos

Se sintetizan aceites que se almacenarán como cuerpos lipídicos que son invaginaciones del REL.

Las proteínas se procesan de una forma muy característica

Se forman cuerpos proteicos. Hay dos rutas. Una de ellas implica el RER y procesamiento posterior en Golgi y acumulación en las vacuolas proteicas o cuerpos proteicos vacuolares. Por otro lado hay proteínas que no requieren procesamiento en Golgi y que se acumulan directamente en la luz del RER donde se están sintetizando formándose cuerpos proteicos como polisomas de prolamina, etc.

Acumulo de sustancias muy importantes – Síntesis de Sales de Fitato

Las sales de fitato son sales de monosacáridos esterificados con grupos fosfato. Ya comentamos en prácticas que lo primero que tiene que ocurrir para la germinación es primero la hidratación y luego la activación rápida del metabolismo. La energía se obtiene a partir de rotura de enlaces fosfato. Esos

enlaces fosfato en vez de acumularse en forma de cristales de ATP (que por cierto no cristaliza) se acumulan en forma de sales de fitato. Cada fitato puede almacenar hasta 3 enlaces. Se acumulan en vacuolas, etc.

Durante la maduración, el ABA induce la síntesis de proteínas LBA de tolerancia a la desecación y la dormición primaria

En general el desarrollo de las semillas conlleva tres fases, la fase de embriogénesis (que implica el desarrollo de endospermo y en todo caso cotiledones, la diferenciación de las cubiertas), la fase de maduración y la fase de desecación o desarrollo tardío en la que la concentración de ABA baja. Las semillas se deshidratan. Durante la primera fase se desarrollan los tejidos de la semilla. En la maduración, la semilla termina de acumular sustancias de reserva y lo más importante que ocurre es lo siguiente:

- se prepara para la posterior desecación (para el estrés hídrico que sufrirá) e
- impedirá su germinación en los propios tejidos de la madre

El ABA inhibe la germinación de la semilla. Aumenta mucho durante la maduración induciendo la dormición primaria o precoz y se sintetizan proteínas de resistencia a la desecación (LEA proteins, Late Embriogenesis Associated Proteins). Luego en la fase de desecación se pierde el agua que tenía (era un tejido metabólicamente muy activo, y hay que frenar ese metabolismo). Una vez ya se secó la semilla el ABA disminuye ya que no es necesario inhibir su germinación. Así, la dormición secundaria es la que depende de la desecación de semillas. Es una dormición más constante.

Organización de la pregunta que seguro va a caer – desarrollo :

- floración
- gametogénesis
- fecundación
- desarrollo del embrión
- desarrollo del endospermo
- desarrollo de las cubiertas
- dormición de la semilla

Primera fase del desarrollo vegetativo de las plantas: GERMINACION de la SEMILLA

En muchas plantas, la hidratación de la semilla y la temperatura son los dos factores que inducen la germinación de la semilla. La inducción es activar el metabolismo del embrión, que el embrión comience a sintetizar giberelinas y las giberelinas induzcan las amilasas y proteasas en la capa de aleurona o en los cotiledones que hidrolizarán las reservas para que el embrión coma y desarrolle, extendiendo raíz y tallo. En muchos casos hidratación y temperatura basta.

En algunos casos, además de la hidratación y la temperatura adecuada, hay algunas semillas cuya germinación necesita de la activación por luz. Los fitocromos no están implicados en muchas, pero en muchas otras sí. Lo vimos en el tema de fitocromos. Existe un modelo hipotético sobre como funcionan las semillas que germinan por luz roja.

Al hidratarse y aumentar la temperatura, la fluidez de las membranas por la temperatura aumenta y un precursor que podría ser un receptor de fitocromos se expone en la superficie de la semilla. La proteína X se expone en el tejido y esa molécula es posible que necesite de algunos cofactores como el nitrato para ser un receptor de fitocromo activo. En ese momento de alguna forma esa molécula podrá

interaccionar con Pfr (fitocromo activo que ha recibido luz roja cercana). Esa interacción desencadenaría una ruta de transducción de señales que llevará a cabo en última instancia la síntesis en el embrión de GA. En otros casos, más rústicos, la simple hidratación del embrión y una temperatura adecuada es suficiente como para que se active la síntesis de GA.

Procesos que tienen lugar durante la germinación

Lo primero que ocurre al embeber las semillas es hidratarse. A partir de la entrada masiva de agua, ya desde el principio comienza la síntesis de proteínas y la respiración. Algunos solutos almacenados se pierden en ese proceso. En pocos minutos se activa el metabolismo del embrión. Primero se activa el metabolismo anaerobio, algo que nosotros no vimos en prácticas. Pero luego ya comienza el metabolismo aerobio.

Ya en una segunda fase comienza la síntesis de proteínas a partir de RNAs nuevos (y no maternos).

La post-germinación implica ya la división celular, la síntesis de DNA, la movilización de reservas, la elongación de la radícula, etc.

Control hormonal del desarrollo de semillas y la germinación

El desarrollo de semillas y la germinación viene regulada por un balance hormonal determinado. Cuando hay que hacer muchas divisiones celulares debe haber auxinas y citoquininas. Cuando hay que elongarse habrá auxinas. Cuando necesitamos dormición primaria habrá ABA, etc. El GA aparecerá en la germinación como sabemos. Es un cuadro resumen.

TEMA 26 – PROCESOS DE MUERTE CELULAR PROGRAMADA EN VEGETALES

Una parte del desarrollo del organismo implica la muerte de algunas células. El desarrollo de algunos tejidos es así, tanto en algunos animales como en vegetales. En los vegetales, además, para el modelado y la escultura de la planta, además de eso hay un fenómeno de muerte celular denominado senescencia que es uno de los procesos que permite que nosotros tengamos plantas plurianuales que puedan sobrevivir a lo largo de los años. La caída de la hoja, la caída del fruto, de la flor, son procesos indispensables para la planta una vez llega el otoño (agostamiento).

Hay dos procesos de muerte celular programada en las células vegetales. Si miramos los libros, hay un capítulo denominado muerte celular programada y un capítulo denominado senescencia. Realmente son dos tipos de muertes celulares programadas. En plantas no existe apoptosis (del griego caída de hojas) como en los animales. Pero sí existe muerte celular programada. La gran diferencia entre senescencia y muerte celular es que la senescencia es reversible (hasta llegado un punto en el cual es irreversible). La muerte celular programada es irreversible una vez comienza. Cuando a una célula le llega la señal de muerte celular la célula empieza a morir y morirá irreversiblemente. Cuando llega una señal de senescencia, entra en una fase de muerte, pero eso es reversible hasta casi los últimos momentos del proceso.

- 1) La formación de megásporas femeninas tienen muerte celular programada
- 2) La degeneración del suspensor tiene muerte celular programada
- 3) El desarrollo del endospermo y la aleurona

- 4) El desarrollo de tricomas en las hojas
- 5) Respuesta hipersensitiva para la resistencia a enfermedades
- 6) La formación de elementos traqueolares
- 7) La muerte celular en caliptra
- 8) La formación del aerénquima
- 9) La senescencia de las hojas

SENESCENCIA

Procesos de senescencia en diferentes etapas:

Puede ocurrir en muchísimas partes, en la planta entera, en distintos momentos del desarrollo. La más clásica es la de hojas, de órganos reproductivos y la senescencia del fruto (maduración).

La senescencia ocurre:

- cuando hay falta de nutrientes
- cuando un órgano ya cumplió su papel y no es más útil (reciclaje de nutrientes y metabolitos)

La senescencia foliar ocurre cuando una planta vive en condiciones precarias para el correcto desarrollo (eso ocurre en otoño en algunas latitudes), cuando un órgano ya creció todo lo que necesitaba crecer y se cerró el ciclo del órgano o para reciclar metabolitos.

Una vez expandida completamente la hoja, a partir de ahí comienza su proceso de senescencia. Hay un amarillamiento de las zonas intervenosas permaneciendo verde justo los haces vasculares de la hoja. Luego se hace cada vez más marrón hasta que los haces también degeneran. Lo último que lo hace es la unión de la hoja al resto de la planta (abscisión). Eso ocurre en todos los órganos en general. Los frutos o las flores lógicamente hacen otras cosas, pero en las hojas sí se puede seguir una secuencia que es muy evidente y se puede seguir con el paso de los días.

I – pérdida de clorofila y degeneración del aparato fotosintético y los cloroplastos

II –

El estrés también puede desencadenar ciertos procesos de senescencia

Si no fuera octubre, sino un período de sequía bestial, ocurriría senescencia a finales de mayo (mucho antes de agosto). La planta prescindirá de las partes que más le preocupan y las más costosas. Además se estimulan genes de reproducción mucho antes de tiempo. Es una de las tantas respuestas del estrés. Como me voy a morir mejor un último intento por dejar semillas.

Si durante ese período se vuelve a recuperar la situación normal, la senescencia sería todavía reversible. El tejido de la hoja, hasta que cae no está muerto. Podría volver a ser verde, organizar cloroplastos, etc. Pero cuando ya comenzó la abscisión (desconexión vascular con el resto de la planta) ya la hoja no puede resucitar.

Etapas y eventos en el proceso de senescencia

(pregunta clásica de examen)

La senescencia se compone fundamentalmente de 3 fases. Cualquier proceso de senescencia.

La primer fase es la iniciación (todavía reversible):

- se cruza el umbral metabólico
- cascadas de señalización de senescencia se activan
- estado redox alterado (condiciones hídricas o lumínicas de estrés)

Los iniciadores son hormonas, el medio ambiente (estrés, ambiente), iniciadores dependiente de desarrollo (edad del órgano, cumplimiento de las funciones en el desarrollo, iniciadores patológicos, etc.)

La segunda fase se denomina reorganización (todavía reversible):

- el cloroplasto se convierte en un órgano de degradación, un órgano catabólico en el que se degradarán los pigmentos, luego las proteínas de los sistemas fotosintéticos, etc. (un órgano joven autotrófico pasa a ser senescente heterotrófico – primero digiere glúcidos, luego lípidos, proteínas, etc las hace disponible para su movilización)
- los compuestos se distribuyen por el floema
- detoxificación de la planta
- activación de rutas de salvatage (recuperar metabolitosreciclar!!!)
- rediferenciación reversible de orgánulos (el cloroplasto se convertirá en otra cosa)

Los iniciadores son genes activados e inactivados como respuesta a las cascadas de los pasos anteriores

La última fase es la Terminal:

- acumulación de antibióticos y mecanismos de defensa (son las partes más problemáticas y débilesmejor que no se me infecte la planta justo por ahí)
- se sueltan radicales libres y ROS
- eliminación de los metabolitos sobrantes del proceso heterotrófico
- pérdida de integridad y viabilidad celular irreversible (colapso celular)

Los iniciadores o mejor dicho terminadores también son respuesta a activación e inhibición de unos genes terciarios producirán la muerte celular

Todo el proceso tiene unos aceleradores y unos inhibidores que pueden ser tanto hormonas como cambios medioambientales como cambios de desarrollo.

Expresión temporal de genes asociados a senescencia durante las fases del desarrollo vegetal

Los genes según funcionan en la hoja.. se han clasificado 10 clases de RNAs

De esas 10 clases, 8 de ellas modifican su expresión para arriba o para abajo durante el período de senescencia. Es decir que el programa de desarrollo de un órgano como es la hoja CAMBIA POR COMPLETO cuando se induce la madurez y la senescencia.

Cuando todos los mecanismos antioxidantes de las plantas fallan o se ven superados por la alteración del estado redox tan acusada, se inicia el proceso de senescencia

Los cloroplastos dejan de organizarse en grana y dejarán simplemente membranas tilacoidales estromáticas que luego pierden la estructura dando lugar a un gerontoplasto (un cloroplasto viejito). La ontogenia de los plastos igualmente pueden hacer que revierta (ya lo sabemos de los primeros temas).

Senescencia – cambios en el contenido celular

El rRNA (la cantidad es la más fácil de medir porque son los mayoritarios) se degrada, la cantidad de proteína también disminuye por degradación múltiple.

Mutantes stay–green

Mutantes mutados en muchos de los genes que se sobreexpresan durante la senescencia hacen que ese cereal retrase la expresión de esos genes asociados a senescencia. Es así que se mantiene fotosintéticamente activo. Si miramos un cloroplasto stay–green tiene muchos más tilacoides

Senescencia: degradación de clorofila a, síntesis de carotenoides (colores amarillos) y activación del metabolismo secundario de defensa

Podemos hacer una medida de la degradación de clorofila a. Fundamentalmente el marcador primero es la clorofilasa. Esa rompe el fitol y lo suelta por ahí. El anillo porfirínico ahora es tratado por una serie de enzimas dando lugar a unos anillos que absorben en diferentes longitudes de onda que pueden ser detectadas. Esto se hace en el laboratorio en un tubo de ensayo.

Toda la degradación de clorofila ocurre dentro del cloroplasto que súbitamente cambia y se vuelve heterotrófico. Una vez degradada la clorofila, hay un translocador del anillo porfirínico abierto que lo lleva a la vacuola donde se acumulan los restos por si son necesarios para reutilizar. Pueden transportarse a otras zonas de la planta posteriormente, etc.

Paralelamente se expresan y sintetizan otros pigmentos como los carotenoides. Las xantofilas y carotenos dan esos maravillosos colores de otoño que la gente que vive en los trópicos no puede disfrutar. Eso se debe a una inducción. Esto pasa en los frutos, no solo en las hojas. Cuando comienzan a senescer, el color del fruto también lo dan estos carotenoides. Sirven para fotoprotger.

Adicionalmente se activan las vías de síntesis secundaria. Los taninos, los flavonoides, etc. son compuestos la mayoría de ellos implicados en la defensa frente a patógenos.

Senescencia 2: al catabolismo de la clorofila sigue la degradación de proteínas del cloroplasto

El LHC ya no es estable y se degrada. En el mutante stay–green solo se degrada el extremo N Terminal y el resto del extremo se mantiene unido a la clorofila. De ahí que los mutantes mantengan los grana y se queden verdes.

Senescencia 3: inducción del ciclo del glioxilato en los peroxisomas y de la conversión de lípidos en

azúcares por gluconeogénesis

En hojas, los peroxisomas se convierten en glioxisomas (los que obtienen a partir de ácidos grasos múltiples azúcares mediante la ruta o ciclo del glioxilato). Usando ácidos grasos se crean azúcares que serán exportados. Es otra parte del proceso

Senescencia 4 : degradación de DNA y RNA

Senescencia: inducción de mecanismos antioxidantes

El etileno induce senescencia en hojas y en frutos

Una planta crecida en una atmósfera normal o en una atmósfera alta en etileno tienen un crecimiento diferente. El crecimiento maduro vegetativo en etileno, las hojas jóvenes en roseta están senescentes. Un mutante en etileno está mutado en los receptores de la triple respuesta. Es así que no senesce en una atmósfera elevada en etileno.

Las citoquininas la previenen

Se había demostrado que las citoquininas estaban implicadas en la senescencia. El hongo este cuyo nombre todavía Luis no se acuerda produce citoquininas. Estaba implicado en las green island. En las zonas donde está el hongo y se queda produciendo citoquininas, se veían manchas de células verdes fotosintéticamente activas y no senescentes.

Muerte celular programada en respuesta a estrés: formación de aerénquimas

Cuando hay hipoxia en las raíces (hay poco aire porque están inundadas o sobrehidratadas) muchas plantas responden generando aerénquimas (muerte celular de parte del xilema). Ahí se acumulará oxígeno por parte del agua para absorber.

(el papel del calcio en la formación de aerénquimas y la muerte celular en respuesta al estrés)

Muerte celular programadas: inducción de la respuesta hipersensible

Muchos organismos, en su superficie tienen una serie de moléculas que pueden ser reconocidas esas moléculas se denominan elicitores. Si la planta reconoce al elicitador (reconocimiento genético que funciona gen a gen), la interacción provocará el desencadenamiento de una serie de respuestas de defensa en la planta. Pero claro eso solo si la planta tiene receptores previamente generados. Entre otras cosas esa unión receptor–elicitador activará unas cascadas de genes. Los genes de la respuesta hipersensible, genes de síntesis de fitoalexinas, genes de defensa, genes de señalización como el ácido salicílico (responsable de transmitir a otras zonas de la planta o si está metilado a otras plantas de la población la activación de hipersensibilidad). De forma local se induce una serie de mecanismos de defensa para matar al organismo, para aislarlo y para matar a las células que rodean a la célula infectada (crear un perímetro de seguridad). Si de esa forma no consigue acabar con el patógeno, por lo menos el patógeno no podrá proliferar porque le faltará comida. Eso termina en muerte celular programada de esas células periféricas. Allí donde hay puntos de infección se genera tejido necrótico para evitar el paso del virus. No está muy claro si la respuesta hipersensible la genera una planta o si es el virus el que la desencadena. Es decir que a veces simplemente con poner la molécula elicitadora, a veces ocurre esa respuesta hipersensible (sin necesidad que haya infección del patógeno). Pero en otros casos es necesario que además del elicitador esté presente el patógeno entero. Es decir, es un asesinato inefectivo o es un suicidio preventivo de células.

Muerte celular programada: la superación de los sistemas preventivos de la formación de ROS

Muerte celular programada en el desarrollo: xilogénesis o diferenciación de traqueidas

Es lo que lleva a que cualquier célula no demasiado diferenciada comience a sintetizar pared secundaria y se desencadenen procesos apoptóticos que llevan a la muerte y ahucamiento de esa célula. Al tiempo que se sintetiza la pared secundaria se desorganiza el RE, el Aparato de Golgi y después comienzan a fastidiarse al final los orgánulos. Se ve que es significativamente diferente de la senescencia que empezaba por los cloroplastos.

Y todo esto está genéticamente programado y se activa al inducirse el programa de muerte.

Muerte celular programada: autofagia en las células aleuronales de cereales

Sabemos que las giberelinas inducen la síntesis de amilasas, proteasas, etc. en la aleurona. Pero lo cierto es que esas cosas degradan también a las células de la aleurona. Esas células están en vacuolas digestivas (distintas a las del tonoplasto) que funcionan análogamente a los lisosomas eucariotas. El pH baja en ellas, etc y tienen enzimas hidrolíticas ácidas. Esas degradarán la membrana de las vacuolar. Una vez petan la aleurona salen al almidón del endospermo y pueden digerirlo.

Esa muerte celular programada está inhibida por ABA.

El ácido giberélico va bajando y el ABA las mantiene durante la planta – dormición primaria de semillas.

La forma de muchas hojas se debe a un proceso de muerte celular programada según un patrón de desarrollo

Muerte celular programada: Formación de glándulas de aceite en cítricos

Se desarrollan células de las glándulas del aceite. Por lisigenia y esquizogenia se ahueca la cavidad celular por degeneración de las paredes. En esa cavidad se acumularán los residuos de la muerte de todas esas células. Esas cavidades del aceite serán las que contengan los aromas cítricos.

Muerte celular programada en flores femeninas durante el desarrollo de espigas masculinas

Algunos cereales tienen una espiguilla masculina y las mazorcas femeninas en meristemas laterales como el maíz. En un principio la espiguilla se desarrolla con los dos verticilos fértiles. El mutante en el gen TASSELSEED2 desarrolla una mazorca aberrante que tiene flores disexuales a lo largo de toda la mazorca.

Abscisión

Los órganos que mueren cursan abscisión. Se produce después de la muerte o senescencia del órgano. Cuando ya todo ha pasado se genera una zona de abscisión. Se generan unas células más pequeñas arriba y más pequeñas abajo. En ellas se secretan pectinasas (proteínas de degradación de la lámina media de la pared celular). Una vez que ha caído el órgano se sella produciéndose compuesto de metabolismo secundario como corcho, lignina, etc.

La relación viene dada por la relación auxina/etileno. Si hay más etileno que auxina se induce la abscisión. Si hay poco etileno se mantiene el órgano.

TEMA 27 – RESPUESTAS GENERALES AL ESTRÉS

Factores estresantes bióticos

- grandes y pequeños animales
- otras plantas
- insectos
- bacterias, hongos, virus y tiroides patógenos
- nematodos

Factores estresantes abióticos

- sequía (estrés hídrico)
- exceso de sales (estrés salino)
- calor, frío y congelación (estrés por temperaturas extremas)
- encharcamiento e inundación (estrés por anaerobiosis)
- estrés por contaminantes medioambientales (CFC, SO₂, O₃, herbicidas, metales pesados)
- deficiencia en elementos minerales (Estrés nutricional)
- viento, suelo compacto (estrés mecánico)
- lesiones o heridas

Cuando cualquier factor externo es extremo, lógicamente sí que estamos hablando de un estrés, de algo que limita o inhibe el crecimiento de un ser vivo. Ante eso las plantas tienen una mayor capacidad de respuesta que los animales (a excepción del sistema inmune de vertebrados). Las plantas tienen mecanismos mucho más variables desarrollados y abundantes (200000 especies de dicotiledóneas!!!). Es por eso que generalmente debemos tratar este tema como el más fundamental en la fisiología vegetal.

Como todos los seres vivos, las plantas están sometidos a cambios ambientales estresantes, bióticos y abióticos. Hablaremos solo de interacciones bióticas (otras plantas, microorganismos, depredador, hongos, insectos, parásitos, etc.) y de interacciones abióticas.

Las plantas no suelen huir de un factor estresante. Generalmente las plantas están sometidas a varios estreses juntos. A veces un estrés hídrico viene por el frío que añade un estrés por temperatura, luego por estrés salino también se puede hacer la cosa mucho más heavy. Si a eso añadimos un parásito típico de invierno ahora tenemos un complejísimo cuadro de estrés vegetal.

Respuesta constitutiva vs aclimatación

Algunas plantas pueden aclimatarse antes de terminar por desarrollar una resistencia (por adaptación). Una visión darvinista podría indicar que las plantas por mecanismos evolutivos pueden responder a un estrés determinado. Esos mecanismos pueden llevar a que las plantas se adapten. Pero ese tipo de respuesta constitutiva se opone a un tipo de cambio no heredable que es la aclimatación. En general las plantas se aclimatan. Cuesta mucho pensar que una planta normal pudiera hacerse como un cactus. El hecho de que haya plantas que convivan con un estrés que eviten un estrés determinado sin más desde un punto de vista genotípico no implica que la planta poco a poco haya ido haciéndose a esas condiciones. Lo más probable es que la planta se desarrolló en una zona no desértica previamente. El cactus se originó tal vez para evitar el calor, y posteriormente las mismas adaptaciones funcionaron como exaptaciones frente al estrés hídrico. Es así que no podemos hablar de aclimatación o estrés hídrico en una planta ya adaptada al estrés hídrico constante. Una planta adaptada al estrés hídrico no podemos decir que están recibiendo un estrés.

Las potasio, prolina, solutos compatibles, osmolitos que no alteran la fisiología de la planta que

permiten aumentar el potencial osmótico de la planta evita la desecación.

Fases de la respuesta al estrés

Cuando una planta viven en un óptimo fisiológico y cambia porque intervienen factores de estrés en principio hay una fase de alarma en la que la planta crece menos, se infecta, se altera (fase de resistencia mínima). En ese momento se están recién disparando las señales celulares para activar los mecanismos de aclimatación. Al dispararse comienza la fase de resistencia de una forma rapidísima. Si esos mecanismos no existen la planta muere. Si los mecanismos de resistencia máxima existen y pueden mantenerse permanentemente, entonces se continúa el crecimiento sin problema. Si eso a su vez sigue manteniéndose, podría terminar en una adaptación Pero una planta normal luego de una fase de resistencia máxima, si persiste el estrés, lo normal es que se agoten los mecanismos porque la planta está en estrés energético. Salvo que desaparezca la situación de estrés la planta en fase de agotamiento comenzará a morir. Una planta podría en esta fase volver a un estado inicial solo en el caso de que desaparezca la situación de estrés. Eso podría llevar a que la planta tome un nuevo óptimo fisiológico bajo un fenotipo diferente. Luego vendría la fase de regeneración de la planta en el caso de que no muera.

Unos óptimos muy interesantes en la planta es que sometiendo unas plantas de floricultura en estrés, el ciclo reproductivo de la planta se acelera. Las plantas sometidas al estrés, la planta acorta el ciclo vital y se reproduce rapidísimamente. Si se repite eso sobre una planta múltiples veces (estrés–normalidad–estrés–normalidad) se consigue algo similar a un condicionamiento de la planta la planta ahora adquiere un óptimo fisiológico con un ciclo más corto

Factores que influyen en la respuesta al estrés

Características del estrés duración del estrés frecuencia del estrés, el órgano o tejido donde se está produciendo el estrés, la edad del desarrollo de la planta y el factor genotípico (los alelos de resistencia que se puedan tener). La respuesta final de la planta será:

- resistir el estrés o evitarlo y vivir
- suceder ante el estrés y morir

Mecanismos generales de la planta

Amplificación de la señal de estrés

Es la última diapositiva de este tema El estrés es percibido. La señal es transducida en la célula. Eso puede afectar la expresión génica, la producción proteína y las respuestas fisiológicas–tolerancia al estrés posteriormente. Pero es importante la percepción de la señal (lo que hará realmente diferente una respuesta a otra). Todavía no se conocen todos los receptores al estrés. Si se sabe sin embargo que ciertos elicitores pueden activar respuestas del estrés (turgencia celular adquirida). También se sabe que hay firmas de calcio intracelulares implicadas en determinados estreses y que son diferentes de otras. Se sabe que también están implicados los estados redox de la planta, las especies ROS, etc. Hay serios candidatos a señalizadores del estrés, pero tampoco se los conoce bien. Todos los estreses sin embargo disparan la acumulación de ROS. Sí que hay ciertos fenómenos de muerte celular–senescencia que se producen por recepción intracelular de ROS (a través de segundos mensajeros). Si recordamos, cuando vimos el efecto del ABA, una de las rutas por las que actuaba venía determinada por producción de ROS. Esto sería similar. El tema es que no se conoce donde está la señalización específica. Sí se van conociendo cada vez más los segundos mensajeros (firmas de Calcio, proteínas kinasas, rutas de activación de genes nucleares, etc.)

TEMA 28 – RESPUESTAS AL ESTRÉS BIOTICO – RESISTENCIA A PATOGENOS

- hongos – micorrizogénesis
- bacterias
- virus
- herbívoros–fitófagos
- parásitos unicelulares

Las plantas pueden responder constitutivamente y respondiendo a estos patógenos mediante simbiosis, etc. En general la simbiosis tiene unos mecanismos de respuesta y el patógeno tiene unos mecanismos de actuación frente a la planta que en principio son los mismos. *Agrobacterium* se diferencia muy poco de *Rhizobium* al querer infectar una planta. Hay organismos que logran establecer simbiosis de esa forma y hay organismos que comienzan de la misma forma y terminan en relaciones patógenas. Es decir que probablemente los simbiosiontes comenzaron como patógenos solo que se dieron cuenta de que compartir era mejor que matar y aprovecharse descontroladamente. Es más *Rhizobium* induce mecanismos de defensa en la planta, pero los evita. Entra en la planta y viven muy bien con ella.

Las infecciones pueden venir por múltiples sitios. Los patógenos se hablan de ellos como patógenos biotróficos, hemibiotróficos y necrotroóficos. Es decir que hay patógenos que sacan provecho de ella cuando está viva, hay patógenos que sacan provecho de ella manteniéndola viva pero cuando terminan la infección la matan (por ejemplo para liberar esporas de la planta) y patógenos necrotroóficos (que matan a la planta y se alimentan de los restos orgánicos de la planta muerta). El éxito del patógeno depende de muchas cosas: capacidad de generar estructuras de protección, mecanismos de defensa, capacidad de mutagénesis rápida para que la planta no pueda cargarse a la progenie mutante que escapa, etc.

Insectos

Tienen doble peligro. Por un lado son patógenos que provocan lesiones mecánicas y por otro porque son vectores para otras infecciones. Suelen ser transmisores de virus, bacterias, protozoos que le dejan a la planta una infección además de infectarla. Como los áfidos suelen ir al floema para tragar savia, los cabrones encima meten los patógenos en la zona más chunga.

Modelo gen a gen de reconocimiento planta–patógeno

Las plantas tienen sistemas de defensa diversos. Las paredes celulares lignificadas, etc. son sistemas constitutivos. Los otros son los sistemas inducidos, los que se desarrollan una vez el patógeno ya infecta.

El hecho de que un patógeno mate a un individuo de una población no quiere decir que el patógeno haya tenido éxito. A veces, la respuesta de las plantas contra un patógeno incluye el suicidio propio en beneficio de las plantas cercanas que son avisadas. Siempre que la población pueda frenar el avance, las plantas en conjunto habrán sobrevivido.

RECONOCIMIENTO PLANTA – PATÓGENO GEN A GEN (esto es pregunta fijo fijo tanto como que lo dijo el último día de clase que ya está puesta en el examen)

Para que la planta pueda defenderse de un patógeno primero hay un reconocimiento previo algo del patógeno deber ser reconocido por la planta. La planta ahora inducirá una serie de mecanismos de defensa que ayer a última hoja llamábamos mecanismos de defensa inducida (vs. Los mecanismos constitutivos que son los que están siempre).

Como siempre cuando se reconoce algo, ocurre entre dos cosas en el caso de plantas se vio para

plantas–bacterias y plantas–virus. No se vio todavía para nematodos, hongos, otras plantas. De hecho en ellos los mecanismos constitutivos son los fundamentales.

El modelo que explica esto es el modelo gen a gen de reconocimiento bacteria–planta o virus–planta. Funciona muy similar a muchos mecanismos de autoincompatibilidad que vimos tiempo ha.

Existen en los patógenos genes de avirulencia (Avr). Si el reconocimiento entre la planta y el patógeno es positivo se disparan los mecanismos de defensa y la planta tiene muchas posibilidades de sobrevivir la infección. Si no se dá ese reconocimiento las probabilidades de éxito del patógeno son casi seguras. El reconocimiento positivo entonces FRENA la invasión.

Los elicitores, moléculas que pueden ser reconocidas del patógeno (moléculas de la superficie, etc.) son esos genes de avirulencia (Avr). Avirulencia se refiere a que si esa molécula es expresada por el patógeno entonces es muy posible que esté condenado (no habrá virulencia). Los dominantes Avr son los que, si se expresan, PUEDEN ser reconocidos, se denominan. Los recesivos avr son los que no pueden ser reconocidos por la planta y son los que pueden producir la enfermedad en la planta.

Los receptores son glucoproteínas denominadas genes R. Un gen dominante R reconocerá positivamente a un elicitador de un gen Avr dominante y no habrá infección. Un gen recesivo r no reconocerá a ese elicitador.

Según este sistema las posibilidades de una infección serían:

- 1) Patógeno Avr – Planta R : Reconocimiento – No hay infección (avirulencia)
- 2) Patógeno avr – Planta R: No hay reconocimiento – Infección (virulencia)
- 3) Patógeno Avr – Planta r: No hay reconocimiento – Infección (avirulencia no reconocida)
- 4) Patógeno avr – Planta r: No hay reconocimiento – Infección (virulencia)

Si pensamos en Mendel, una interacción planta–patógeno tendría un 75% de posibilidades de infección. Las probabilidades no serían sin embargo iguales, porque los fenotipos dominantes son 3 veces más probables que los recesivos.

El gen R es muy polimórfico. El hecho de que en un momento determinado ocurra una interacción infecciosa no dictamina la muerte de toda una población. Es bastante probable que alguno de los individuos de la población sea R y detenga la infección. ¿Pero y si el virus es avr?, teóricamente no podría ser detenido!!! Pero esto no es así. Realmente el gen r es tan polimórfico que puede que para alguna de las plantas, el fenotipo avr se comporte como un Avr y la planta sea R en concreto para ese tipo de avr. En resumen al ser r demasiado polimórfico, hay una posibilidad bastante baja de que en una población el virus pueda acabar con toda ella a pesar de ese 75% de posibilidades de infección. Además una vez salta la respuesta defensiva y se induce en las plantas aledañas ahora la población en conjunto le habrá ganado.

Otra cosa que realmente no es cierta en el modelo. Una misma planta puede por recombinación mitótica originar varios diferentes polimorfismos para R dentro de un mismo individuo de manera que aún así el éxito del patógeno está bastante complicado.

Pero en un monocultivo, tenemos clones, todos igualitos. Es lógico que un patógeno que entre ahí se podrá cargar todo porque si jode un genotipo jode otro y todos los clones!!! Son típicos sistemas frágiles

Hay patógenos que pueden escapar de los mecanismos de defensa y comienzan a hacer sus putaditas. El patógeno puede aprovecharse de la planta y comerá y se reproducirá en ella. Otros patógenos tienen un éxito que depende de herir con gravedad a la célula empleando toxinas. En casos en los que el éxito además depende del éxito de una toxina, ahora no solamente necesito entrar en la célula vegetal, sino que además mi toxina tiene que poder joder a la célula eficientemente.

Los genes Tox son los que determinan la calidad de la toxina del patógeno cuyo éxito depende de ella. Una vez atravesó la barrera del reconocimiento ahora deberá tener los genes Tox adecuados para infectar el organismo. Esto también funciona con otro modelo similar al modelo gen-gen. Los organismos dominantes Tox producen toxina y los fenotipos recesivos tox no producen la toxina adecuada. En concreto si el patógeno no produce la toxina correcta no podrá matar a la célula y por lo tanto su éxito está condenado. Si produce la toxina dominante correcta en principio podría matar a la célula con éxito. Pero podría ser que la planta fuera dominante para el gen de resistencia a la toxina de dicho patógeno. Si la planta es resistente R, entonces aunque produzcan la toxina los patógenos no podrán hacer lo suyo. Solo si la planta es sensible r podrán ser afectadas sus células por la toxina de los patógenos y en ese único caso se dará una infección correcta.

Pareciera que producir la toxina es una mala estrategia evolutiva para el patógeno. Lo cierto es que esto es otro modelo. Hay patógenos que aunque no producen la toxina pueden reproducirse como los normales. Hay patógenos que producen varios tipos de toxinas (al igual que las plantas producen varias antitoxinas, o pierden evolutivamente dianas para las toxinas del patógeno, etc.). Es decir que es una cuestión de estrategias evolutivas.

Qué ocurre cuando una planta reconoce?

Pues lo típico rutas, vías, etc. Lo primero que sucede es una respuesta inmediata denominada respuesta hipersensible que termina induciendo una gran proliferación de ROS y la iniciación de unas rutas de activación-inhibición de genes a ese nivel (incluida la producción de NO). Todo eso culmina en la muerte celular programada de las células donde se han producido los reconocimientos. Las células infectadas mueren con el patógeno y las de alrededor también morirán oxidadas. Así se crea una barrera protectora sacrificando unas pocas células. Pero además se activan Prps (patogénesis related proteins) que sirven para señalar, preparar e inducir otros sistemas de defensa ulteriores en los tejidos circundantes. Esa respuesta inducida secundaria se denomina respuesta local.

La respuesta local termina por producir a largo plazo las llamadas respuestas sistémicas (SR), que afectan a todo el organismo. Muchas de las moléculas que catalogamos previamente en el temario como fitohormonales (jasmonato, salicilato, etileno en algunos casos, etc.) son responsables de la respuesta sistémica.

Hay nemátodos de dos tipos: los que viven dentro y los que tienen prbóscides agresivas que rompen tejidos, etc. Los que viven dentro y no son dañinos, luego de infectar, inducen, a partir de la respuesta local, una señal que se mueve por el floema además de la inducción de síntesis sistémica de ácido salicílico (salicilato). Posteriormente también se volatiliza metilsalicilato. Si la planta es muy grande la respuesta sistémica viajará mediante esa vía aérea fundamentalmente (y llegará antes que por el floema). A este tipo de respuesta sistémica se la denomina SAR (respuesta sistémica adquirida).

Otros patógenos que producen la SAR son las bacterias, virus, hongos, etc. Suele ser típica de comenzar en las hojas o en el caso de nematodos en la raíz.

El otro tipo de respuesta sistémica es la de la producción de inhibidores de proteasas mediada por una señalización por jasmonato. También nos comentó que el metiljasmonato funciona similar al metilsalicilato (volátil).

Esa respuesta está dedicada a proteger frente a herbívoros, animales fitófagos y nematodos de los que usan probóscides. Las proteasas lógicamente son la pepsina, etc. Cuando se encuentran inhibidas entonces se dan indigestiones.

La SIR, la respuesta sistémica inducida. La producen ciertas bacterias. El Rhizobium, además de ser simbióticas, producen una SIR mediada por jasmónico y por etileno. Si una bacteria patógeno después quiere atacar, tiene unos sistemas de defensa preparados para hacer frente a esa segunda infección más rápidamente. Así es que la simbiosis, dentro de las cosas que hace produce moléculas que atraen simbiontes y preparan contra los patógenos. Vemos que las plantas tienen un sistema de defensa bastante complejo, comparable con el inmune de los vertebrados.