

Fotonastias en plantas

Carlos Vicente Córdoba. María Estrella Legaz González.

Departamento de Biología Vegetal I (Fisiología Vegetal). Facultad de Biología.
Universidad Complutense. Avenida José Antonio Novais, 2. Ciudad Universitaria, 28040 Madrid. España.
cvicente@bio.ucm.es melegaz@bio.ucm.es

Resumen: En el presente trabajo se describen las bases anatómicas y fisiológicas y los mecanismos moleculares que permiten la fotonastia en los vegetales. Las nastias, en general, son respuestas de crecimiento asimétrico de ciertos órganos de las plantas a la percepción de estímulos externos multidireccionales y difusos. Por ejemplo, las fotonastias son respuestas de crecimiento asimétrico a la variación de la intensidad luminosa que acompaña al amanecer y al atardecer, con independencia de los cambios cualitativos (cambios de color) que lleva siempre asociados. Quizá las fotonastias más conocidas sean la apertura diurna y el cierre nocturno de algunas flores. Este mecanismo, que es un fenómeno ligado a crecimiento, implica una cascada de señalización que transforma percepción en respuesta fisiológica.

Palabras clave: Auxina. Fotonastias. Fototropinas. *Hybiscus*. PIN.

DEDICATIO

A Benjamín Fernández Ruiz

Español, Catedrático por oposición, heterosexual, cristiano aunque pecador (como todo buen cristiano) y socio del Atlético de Madrid. Es decir, toda una provocación, de esas que tanta falta hacen en los tiempos grises que todo lo difuminan.

Benjamín Fernández Ruiz, Catedrático de Biología Celular de la Facultad de Biología de la Universidad Complutense, lo que hoy se tiende a llamar (¡ay, lo políticamente correcto!) profesor doctor con vinculación permanente, cumple 70 años el próximo Septiembre y, por lo tanto, le jubilan. Parece mentira que hayan pasado los años tan deprisa. Parece mentira que nuestra sociedad se permita el lujo de prescindir de servicios tan valiosos cuando tan necesitados estamos de un poco de excelencia en todos los niveles. Benjamín es el más joven y lúcido de los setentañeros que conocemos, un hombre fundamentalmente bueno, algo que es prácticamente utópico. Benjamín es amante de la ciencia y de la belleza, enamorado de la forma y de la función, aquel que, cuando te lo encuentras, o va a clase o viene de clase, detenido y retenido a cada paso por sus alumnos. Benjamín es el encuentro feliz, la palabra amable y certera, tan naturalista como neurobiólogo. Benjamín es el humor y el amor, la crítica y el respeto, la amistad y la exigencia. A Benjamín no podemos hacerle la

clásica pregunta: “Y ahora que te jubilan, ¿a qué vas a dedicarte?” A Benjamín habría que preguntarle: “Y ahora que te jubilan, ¿qué va a ser de esta Institución?” Porque, si bien no hay nadie imprescindible, lo ingente y absolutamente personal de su labor creativa y educativa es difícilmente reemplazable. Y no todos tenemos su inmenso carisma.

INTRODUCCIÓN

Las fotonastias requieren fotorreceptores específicos denominados **fototropinas**. Son proteínas con cromóforos de naturaleza flavínica que inducen, tras la percepción del cruce de los umbrales de fotosensibilidad, una cascada de transducción de energía que permite el traslado de otra clase de **proteínas**, las llamadas **PIN**, de la zona basal de la membrana celular a la cara lateral de la misma. Las proteínas PIN funcionan como “facilitadoras” del transporte de auxinas y actúan asociadas a las **proteínas AUX**, permeasas transportadoras de auxina, localizadas en la zona apical de la membrana celular. La acción conjunta de ambas clases de proteínas, PIN y AUX, obligan a un transporte basípeto de la auxina. Sin embargo, este sentido basípeto del transporte puede ser cambiado transitoriamente si las proteínas PIN son desplazadas a las caras laterales de la célula. Si las células de la cara externa de los sépalos de una flor de *Hybiscus* reciben más auxina al percibir las fototropinas la disminución de la intensidad luminosa del atardecer, estas células crecerán más deprisa que las células de la cara interna del sépalo y éste se curvará hacia dentro. El resultado es que la corola cierra durante la noche. El incremento en la intensidad luminosa tras el amanecer desencadenaría el proceso inverso y la corola abre durante el día.

Sin embargo, el conocimiento puede ser expresado y transmitido de diversas formas, todas ellas válidas. Puede ser expresado, además de con rigor científico, con humor, con alegría y con sentimiento. Los cambios cualitativos de la luz solar de principio y final del día, las variaciones en la razón rojo lejano/rojo, definido por Harry Smith como ζ , fueron descritos en el último cuarto del siglo XX mediante la utilización de complejos y sofisticados aparatos de medida denominados espectro-radiómetros, cuyo costo era de muchos, pero muchos miles de euros. Casi cinco siglos antes, D. Luis de Góngora escribía en la octava real inicial de su Polifemo y Galatea:

Oh excelso conde, en las purpúreas horas
Que es rosas la alba y rosicler el día.

sin aparatos millonarios, sin funciones de onda, sin saber que $E = hc/\lambda$, solamente con la percepción de sus sentidos, con el lenguaje de su poesía. Estaba ya definiendo qué cambios cualitativos sufre la luz del mediodía (rosicler) frente a la del amanecer (rosas). En este trabajo hemos tratado de unir estas dos expresiones del conocimiento, literario y científico (no sabemos si con fortuna), como homenaje a un hombre que hizo del humanismo (de su humanidad) su manera de vivir la vida y de expresar la ciencia. Muchas veces ha sido el estímulo en momentos difíciles, calma y

prudencia en momentos de agitación y nos ha enseñado a susurrar el mismo ruego que él usó en un momento crucial de su historia académica, tomado de la reinterpretación que hizo León Felipe de otro de los héroes manchegos:

Cuántas veces, D. Quijote,
Por esa misma llanura
En horas de desaliento
Así te miro pasar.
Y cuántas veces te grito
Hazme un sitio en tu montura
Y llévame a tu lugar.

Que Rocinante te lleve con paso firme. Bienhallado seas en el lugar que elijas para seguir tu fructífera vida. Sigue sembrado en él como aquí lo hiciste y vuelve a tu Universidad de vez en cuando.

FORMAS DE EXPRESIÓN DEL CONOCIMIENTO



Figura 1. La rosa y la flor del hibisco.

Amanecía. El sol asomaba por el horizonte derramando una luz suave y rosada sobre la tierra. El capullo de hibisco, en la cima de la planta, se balanceaba mecido en brazos de una brisa tenue mientras apenas asomaba el extremo de sus pétalos por la boca del cáliz casi cerrado. De pronto, sintió un dulce estremecimiento. Los sépalos verdes sufrieron una lenta sacudida y sus extremos puntiagudos, que mantenían comprimida la corola en el interior del receptáculo, comenzaron a doblarse hacia fuera muy lentamente. Este movimiento fue prácticamente imperceptible al principio, no produjo ningún cambio apreciable. Los insectos que se acercaban daban un par de vueltas alrededor de aquel conato de flor y se alejaban buscando otros aromas, otros colores, en las rosas, las buganvillas y los flamboyanes.

Pero los sépalos seguían curvándose, decididos, buscando espacio, buscando aire. Entonces fue cuando los pétalos, al sentir que la presión cedía, comenzaron a relajarse, surgieron del interior del cáliz e iniciaron una expansión que aún duraría

varias horas, hasta que el sol estuviese en la vertical. Entonces la flor conseguiría su máximo esplendor.

Cuando el aire dejó de ser templado para ser cálido, la flor del hibisco estaba completamente abierta. Sus pétalos formaban una hermosa y equilibrada copa, rosada en sus extremos redondeados para aumentar la intensidad del color hacia el interior, en cuyo centro se erguía un hermoso tallo que contenía los estambres cerca de su extremo. En éste se abrían como una estrella cinco hermosos pistilos de cabezas redondeadas e intensamente rojas. Encaramada en la cima de la planta, la flor del hibisco se sentía la dueña del mundo. Escuchaba el zumbido las abejas, el zureo de las palomas, el murmullo del aire entre las hojas del tamarindo y algún colibrí de alas temblorosas revoloteaba alrededor suyo, sin decidirse a cuál flor acercarse. Un golpe de viento hizo que se inclinara y, bajo ella, divisó una hermosísima rosa amarilla, de pétalos apretados en una corola compacta y sintió que aquella flor era el culmen de la belleza. En su corta vida no había visto nada semejante. Era un sentimiento de certeza, de origen desconocido, pero sabía que no podía haber en el mundo nada más hermoso que aquella flor. Y le dijo que la amaba, que la amaba profundamente, con todo su ser. Sin embargo, la rosa recibió aquella declaración con desdén y un cierto temor. La belleza del hibisco estaba reducida a cinco pétalos rosados y, sin embargo, sí observó estremecida el enorme aparato reproductor que asomaba como un impúdico tallo desde el fondo de la corola, sobrepasándola con creces (Fig. 1).

Un colibrí, en aquel momento, introdujo su largo pico en la flor del hibisco, libando el néctar dulcísimo que cubría sus estambres. Las alas, batiendo a una velocidad de vértigo, parecían dos nubecillas irisadas y difusas a ambos lados del cuerpecito delgado del ave. En un rápido revoloteo, bajó hasta la rosa y libó de ella con su pico al que se habían adherido algunos granos de polen, amarillos, del hibisco. La rosa sintió entonces que un temblor intenso sacudía toda su corola y se preparó para una dura reacción de dolor y fiebre, al rechazar su estigma el germen de aquella especie invasora. El pajarillo, sin dejar de batir sus alas, se alejó en busca de otras flores, ignorante del drama que había provocado. “Voy a bajar hasta ti para acariciarte”, susurró el hibisco a la rosa, pero ningún golpe de viento fue lo suficientemente fuerte como para doblar su tallo y hacer llegar su flor hasta el objeto de su deseo. Y sus pétalos intentaban alargarse, turgentes, para alcanzar ese roce deseado. “Sube tú hasta mí”, pedía el hibisco, “crece, crece hasta poder abrazarte con mis pétalos”. “Sigue creciendo tu y aléjate de mí”, contestaba la rosa en voz muy baja.

Comenzaba a caer la tarde. Aún había mucha luz y el horizonte seguía de un azul intenso. Pero aquella luz iba perdiendo insensiblemente fuerza, tan lentamente que el ojo humano no era todavía capaz de percibir esa sutil diferencia. Sin embargo, la flor del hibisco sufrió un temblor, una especie de escalofrío que recorrió sus finos pétalos en toda su longitud. Entonces, como si de una señal presentida se tratara, los extremos de sus sépalos comenzaron a incurvarse hacia dentro, clavando su extremo puntiagudo en la base engrosada de cada uno de los pétalos. La presión era apenas perceptible, pero se fue haciendo cada vez más decidida e intensa cuanto más bajaba el sol sobre el horizonte. Ya el cielo en el este comenzaba a teñirse de tonos grisáceos cuando la

turgencia de los pétalos no pudo resistir la presión de aquellos dedos verdes, duros como piedras, insistentes, y la corola comenzó a cerrarse. Las bases de los pétalos, gracias a la fuerza con la que eran empujados, comenzaron a escurrirse una sobre otra, como lo hacían las finas láminas del diafragma de una cámara fotográfica al modificar el grado de apertura, como las varillas de un abanico al plegarse lentamente. De esta forma, la corola se iba cerrando, yuxtaponiendo un pétalo sobre otro, cada vez con mayor superficie de contacto, la cara de uno sobre la espalda del vecino, hasta formar un apretado y compacto cilindro que albergaba los dobles genitales de la flor hermafrodita.

Las luces de la casa se habían encendido y llegaban hasta el jardín los sonidos de la televisión. La rosa miraba perpleja la flor del hibisco, ya completamente cerrada, de la que salió un suspiro resignado que coincidió con su propio suspiro de alivio. Bueno, pero mañana será otro día y esa flor lasciva volverá a abrirse en todo su esplendor y yo habré crecido y estaré más cerca de ella. De la televisión llegaba una voz de mujer anunciando la entrada de un frente frío por el oeste que llevaría consigo una significativa bajada de las temperaturas. No importa que haga frío, el hibisco solo necesita luz para abrirse y la luz vendrá con el amanecer. La rosa comenzó a adormilarse, mecida por un vientecillo que se iba haciendo cada vez más intenso y más fresco.

Efectivamente, la temperatura fue descendiendo, lenta pero decidida a lo largo de la noche. De madrugada, una fina neblina comenzó a empañar el aire, dificultando la visión y difuminando las luces de las farolas en una especie de tímida nube amarillenta que casi se extendía a la atmósfera clara de la farola vecina. La luz de la casa volvió a encenderse arrojando hacia el jardín un tenue resplandor y salió al porche un hombre, de cabello negro y rizado, cubierto solamente por unos pantalones. Su cuerpo se estremeció y pareció que iba a volver a entrar en la casa. Sin embargo, su mano hurgó en un bolsillo, sacó una cajetilla de tabaco y encendió un cigarrillo. El hombre dio unos pasos mientras inhalaba las primeras bocanadas de humo y pronto su paseo se convirtió en un dar vueltas y vueltas al pequeño espacio que constituía el acceso a la vivienda. Su ceño fruncido marcaba unas pequeñas arrugas en su frente alta y curvada. Siguió fumando lentamente, sin ansia, como quien realiza un ritual de calma y sosiego antes que de angustia e impaciencia. La brasa brillaba en la oscuridad de la noche e iluminaba su rostro a cada inspiración, sus ojos grises, sus cejas anchas, sus pómulos marcados. Después expulsaba el humo, satisfecho. Terminó el cigarrillo, lo apagó en un cenicero y, con un último escalofrío, penetró en la casa. La luz se apagó de nuevo y el jardín volvió a quedar sumido en la oscuridad. La rosa y el hibisco dormían plácidamente su sueño vegetal. Sobre sus pétalos cerrados, el frío condensaba pequeñas gotas de rocío que iban empapando sus tejidos, absorbidas para ser sustituidas de forma casi inmediata por nuevas gotas que cada vez permanecían más tiempo intactas, esféricas y turgentes. La noche avanzaba, aún sin cejar en su negrura. El viento parecía haberse calmado y los tallos de las flores ya no se balanceaban como antes. Una calma densa abrazaba el jardín oscuro.

Por fin, el sol avanzó sobre el horizonte. Primero fue una luz clara, diáfana y amarillenta. Su intensidad no bastaba ni para combatir la densa bruma que cubría el jardín y la casa ni para calentar el aire casi helado. Sin embargo, sí fue suficiente para producir en la flor de hibisco ese estremecimiento conocido que hizo que sus sépalos comenzaran de nuevo a incurvarse hacia fuera. Cuando el sol subía sobre el horizonte, la flor estaba completamente abierta y buscaba bajo ella a la rosa, soñada durante todo el periodo de oscuridad. Allí estaba, un poquito más cerca pero no lo suficiente. Su tallo había crecido quizá un centímetro o centímetro y medio, aunque aún estaba demasiado lejos. Hablando de distancias y medidas, la flor del hibisco se notó algo más grande, un par de milímetros quizá, como si sus pétalos y sépalos se hubieran alargado. Esto le hizo concebir esperanzas. Si el tallo de la rosa crecía y su corola también, los dos estaban haciendo esfuerzos por acercarse y así llegarían a conseguir el contacto deseado. Miraba a la rosa completamente abierta, de corola prieta, sus amarillos pétalos perlados por diminutas gotitas de agua que brillaban bajo el sol. Era hermoso un día tan soleado y tan frío. A cada golpe de viento, algunas gotas de rocío caían sin que el hibisco pudiera dirigitas hacia la amarilla copa de la rosa. Caían al suelo y el hibisco soñaba que algunas de ellas serían absorbidas por sus raíces e incorporarían en su savia los aromas de la rosa amarilla, tan amada. Pero al mirar hacia abajo, observó que muchas flores de su misma planta yacían sobre la tierra, completamente cerradas, desprendidas de sus cálices, desprendidas de sus colores, todas uniformemente teñidas de un pardo claro que indicaba la muerte y el comienzo de la putrefacción, como cigarros inacabados. Al principio no pensó en nada pero, con el transcurrir de las horas, cayó en la cuenta de lo que aquello significaba. Las flores de hibisco cerradas morían y se desprendían de la planta para caer al suelo. Pero ella se había cerrado anoche y se había abierto esta mañana. Y seguía adorando a su rosa, que la miraba con ..., no sabía muy bien cómo la miraba. Entonces, ¿cuántas veces podría cerrarse y abrirse y cerrarse de nuevo antes de morir? ¿Dos, tres, cuatro, cinco, seis? ¿Tendría tiempo suficiente para besar a su rosa antes de que sobreviniera el final? Esta certeza, transformada en duda, le hizo suplicar a la rosa: "Crece, crece más deprisa, por favor; si no llegas hasta mí antes del anochecer, puede que sea tarde". Y la rosa se encogía sobre sí misma, tratando de huir del hibisco, de acercarse al suelo.

El sol había templado el aire, el día volvía a ser primaveral, una primavera espléndida, y abejas y colibríes libaban una flor y otra y otra y el deseo del hibisco por la rosa se acentuaba. Varias horas estuvo gozando de su presencia presentida, de sus néctares compartidos gracias a terceros, de la esperanza de acercarse hasta lograr el contacto deseado. La tarde pasó plácidamente, el tallo de la rosa crecía con exasperante lentitud (para su propia tranquilidad) y la flor del hibisco comenzó a notar los primeros síntomas del descenso de la intensidad de la luz del sol. El cáliz comenzó de nuevo a crecer hacia dentro y los extremos puntiagudos de los sépalos volvieron, como en el atardecer anterior, a empujar la base de los rosados pétalos. Sabía que en una hora escasa estaría de nuevo cerrada, como el resto de sus compañeras, como las flores que habían sido y ahora yacían en tierra, casi podridas ya. Solo rogaba, suspiraba, deseaba, que el amanecer siguiente le permitiera abrirse de nuevo y volver a ver a su rosa ... su rosa.

Cayó la noche. La flor del hibisco estaba completamente cerrada y la rosa la contemplaba con pasmo y con alivio. Su tallo, para su desgracia, seguía creciendo y ya casi llegaba a aquella flor cerrada que unas pocas horas antes había sido un hermoso hibisco que le decía palabras de amor, nunca oídas, que le sonaban sin embargo aterradoras. El frío arreciaba, las nubes corrían sobre el cielo, agrupándose en grandes masas algodonosas, arrastradas por un viento airado y violento. La temperatura comenzó bruscamente a bajar. La rosa sintió sus pétalos ateridos, sin fuerza para abatirlos y cerrarse sobre sí misma, buscando su propio abrigo. La humedad que los cubría fue formando diminutas agujas de hielo que rasgaban su delicada piel y penetraban hasta lo más profundo de sus tejidos. Parecía que sus propias entrañas se transformaban en finos cuchillos que la herían, que la destrozaban. Quedó sumida en una somnolencia inconsciente, invidente de todo aquello que la rodeaba. Arreciaba el viento y, en una de sus acometidas, más potente que las anteriores, la cerrada flor del hibisco cayó al suelo.

Al amanecer, la rosa, agonizante, alcanzó a ver el cáliz del hibisco desnudo de los pétalos que ayer lo cubrían. Solo cinco sépalos verdes que albergaban un gran botón amarillo pálido en su centro. Lo miró sin comprender, con sus pétalos desgarrados por el hielo que ahora, ya tarde, comenzaba a fundirse, enloquecida de dolor. Su hermoso color gualda comenzaba a oscurecerse y habían perdido toda su tersura. Entonces se vino abajo, terminó su resistencia y fue a caer sobre una flor de hibisco, enrollada sobre sí misma, arrugada y muerta, que yacía sobre la tierra húmeda.

EL MECANISMO BIOLÓGICO DE LAS FOTONASTIAS

Este mecanismo, que ha sido “dramatizado” literariamente, tiene ciertas inexactitudes al margen de la antropomorfización del fenómeno. El número de aperturas y cierres fotonásticos de una flor varía con la especie y, aún dentro de una sola, como el hibisco, puede ser variable en ciertas condiciones climáticas. La muerte por congelación no suele ser tan instantánea como aquí se ha descrito, ya que las plantas sintetizan proteínas de defensa, además de otros mecanismos, que aumentan su resistencia a la congelación. Sin embargo, los pétalos en general suelen ser bastantes sensibles al frío.

Por lo demás, el fenómeno de la fotonastia puede descomponerse en tres procesos distintos:

- La percepción del estímulo luminoso debe llevarse a cabo por medio de un fotorreceptor específico, con una localización celular determinada.
- La percepción debe ser transmitida como señal para producir una respuesta en la célula.
- Esta respuesta debe promover crecimiento asimétrico.

FOTORRECEPTORES PARA SEÑALES FOTONÁSTICAS Y FOTOTRÓPICAS

Desde finales de los años 80 se sabía que los fotorreceptores tanto para los fototropismos como para las fotonastias eran flavoproteínas. BRIGGS y colaboradores, entre los años 1995 y 1997, fueron capaces de aislar mutantes de *Arabidopsis* con respuestas fototrópicas modificadas. Un mutante *phot1* (*PHOT1* en la planta salvaje) era incapaz de producir respuestas fototrópicas inducidas por la luz de bajo valor de fluencia fotónica. El incurvamiento producido en el mismo mutante por luz lateral de alta fluencia era, no obstante, normal, lo que sugería que un segundo fotorreceptor debía controlar la respuesta a valores altos de intensidad luminosa. Un gen *PHOT2*, parálogo de *PHOT1*, proporcionó un mutante *phot2* que se comportaba como la planta salvaje mientras que el doble mutante *phot1-phot2* no exhibía respuesta fototrópica a ningún valor de fluencia fotónica. Esto indicaba que *phot1* era el fotorreceptor que inducía respuestas a baja fluencia, mientras que ambos, *phot1* y *phot2*, actuarían como fotorreceptores combinados para inducir respuestas a altos valores de fluencia.

Ambos genes codifican para sus correspondientes proteínas *phot1* y *phot2*, que han sido denominadas genéricamente como **fototropinas**. Son flavoproteínas que contienen dos moléculas de FMN unidas a dos dominios LOV en el extremo N terminal de la molécula, LOV1 y LOV2. El acrónimo corresponde a la capacidad de ambos dominios de responder a luz, oxígeno y cambios de voltaje (**Light, Oxygen, Voltage changes**). La proteína también contiene un extremo C terminal con un dominio Ser/Threo quinasa que permanece inactivo en condiciones de oscuridad. La fototropina aislada e iluminada con luz azul va progresivamente blanqueándose a 460nm y 480 nm, mientras que los máximos de absorción secundarios a 350 nm y 405 nm se desplazan, provocando la aparición de puntos isobécticos de cruce entre espectros sucesivos. Tres puntos isobécticos indican que el dominio LOV forma un adiciónado mediante la producción de un enlace covalente entre el carbono C (4a) del FMN y un grupo tiol de una cisteína (Fig. 2).

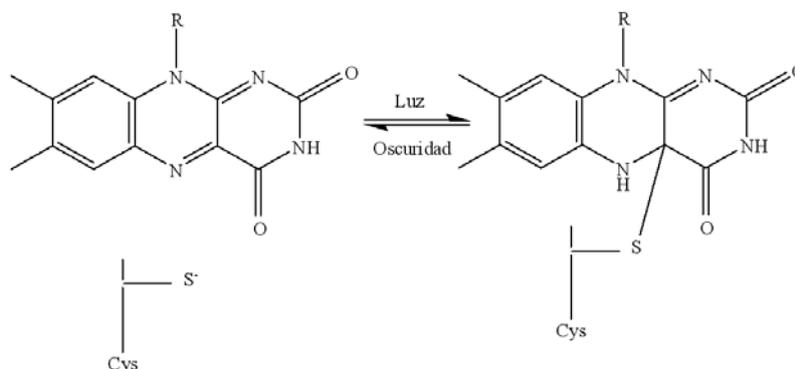


Figura 2. Formación del *cis*-adiciónado entre el C(4a) del FMN y una cisteína de la fototropina por acción de la luz y su reversión en oscuridad.

El *cis*-adiciónado, que se rompe espontáneamente en oscuridad, induce la actividad proteína quinasa de la fototropina, lo que conduce en la planta a la respuesta fototrópica o fotonástica. Una versión mutada de *PHOT1* con una mutación en el

dominio LOV1 fue introducida en el mutante *phot1* de *Arabidopsis*, mostrando la planta transgénica un fenotipo fototrópico similar al de la planta salvaje. Sin embargo, mutantes en el dominio LOV2 no responden fototrópicamente a la luz de baja fluencia. Esto indicaría que el dominio LOV2 es esencial para el fototropismo y la fotonastia.

MATSUOKA y TUKOTOMI (2005) ensayaron *in vitro* la actividad quinasa del extremo N-cys terminal usando una fototropina recombinante expresada en *Escherichia coli*. Si el dominio quinasa estaba asociado a LOV2 o a ambos dominios LOV, la quinasa podía fosforilar caseína solo después de ser iluminada con luz azul. La misma quinasa con dominios LOV adyacentes fosforilaba caseína tanto en luz como en oscuridad. Estos resultados sugieren que la actividad de la quinasa es reducida por la unión del dominio LOV2 en oscuridad e incrementada por la disociación del dominio LOV2 en luz (Fig. 3). La actividad quinasa de la fototropina recombinante con LOV1 y LOV2, comparada con la de aquella que solo posee LOV2, muestra una reducción de sensibilidad a la luz. Por ello, el papel de LOV1 parece ser el de atenuador de la actividad quinasa inducida por LOV2.

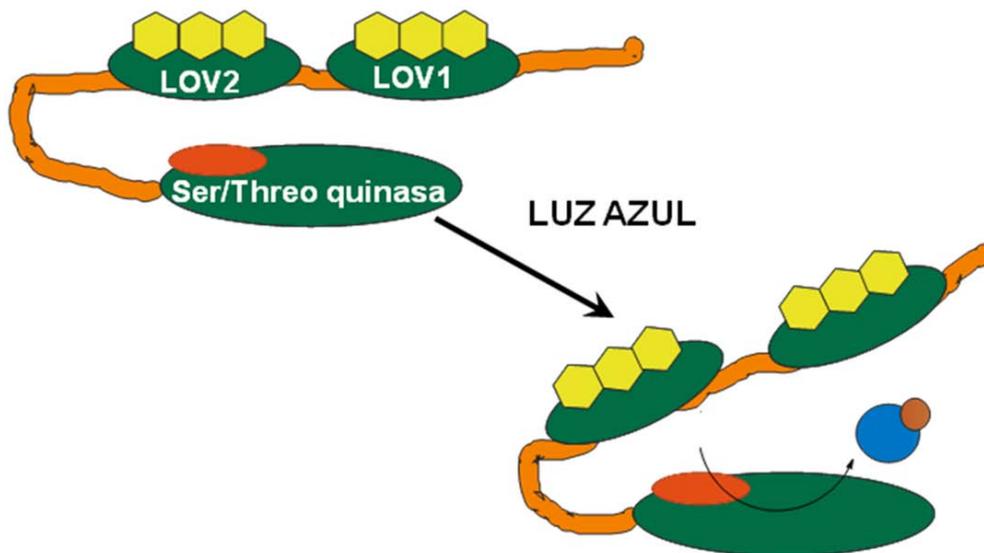


Figura 3. Desbloqueo del centro activo de la Ser/Threo quinasa, inhibido por LOV2, mediante la acción de la luz. La reactivación del centro activo permite la fosforilación (ocre) del sustrato (azul) de la quinasa.

EL MECANISMO DE TRANSDUCCIÓN DE SEÑAL

El estudio de la transmisión de la señal desde el centro de percepción que contiene la fototropina, al centro de respuesta que produce el crecimiento asimétrico requiere, pues, la identificación de los sustratos normales de la actividad quinasa. Desafortunadamente, estos sustratos aún no han sido identificados. Sí se conocen, al menos, dos factores que interaccionan con la proteína *phot1*, los denominados NPH3 y RPT2 de *Arabidopsis*, cuyos mutantes deficitarios anulan la respuesta fototrópica. Ambas proteínas poseen dominios en su extremo N-terminal con motivos de

interacción proteína-proteína, de tal manera que dichos extremos pueden interactuar con el extremo N-terminal de *phot1*, que contiene el dominio LOV2, aunque también *NPH3* y *RTP2* interactúan entre sí. Un ortólogo de *NPH3* en arroz, el denominado *CPT1*, provee de un mutante *cpt1* que no muestra respuesta fototrópica. Por tanto, el crecimiento asimétrico en la zona de respuesta sería dependiente de *NPH3/CPT1*.

Un gen de fusión *phot1-GFP* (Green Fluorescent Protein), conducido por un promotor nativo de *Arabidopsis*, recupera la respuesta fototrópica del mutante *cpt1*. La fluorescencia de *ctp1-GFP* se observa en la membrana plasmática de las células mantenidas en oscuridad, agrupándose en los extremos apical y basal de esas células tras irradiación lateral con luz azul. Este cambio de localización debe ser determinante en la ejecución de la respuesta fototrópica.

LA RESPUESTA DE CRECIMIENTO ASIMÉTRICO CONDUCE AL MOVIMIENTO

Desde la década de los años 40 (PHILLIPS, 1971) se sabe que el crecimiento asimétrico de los órganos que producen respuestas fototrópicas y fotonásticas es debido a una redistribución lateral de auxina tras la transducción de la señal luminosa (Fig. 4). A la luz de lo expuesto hasta ahora, cabría pensar que la fosforilación de un sustrato aún desconocido por la Ser/Threo quinasa activada por luz cambiaría el transporte basípeto de la auxina por un transporte lateral. En el caso del fototropismo, este transporte se realizaría en la misma dirección y en el mismo sentido que la luz incidente. En las fotonastias, el transporte se realizaría en sentidos opuestos según aumente o disminuya la intensidad luminosa. La fotoestimulación de las fototropinas debe cambiar la dirección del transporte de la auxina.

En plántulas de arroz, la distribución asimétrica de la auxina en la respuesta fototrópica puede observarse en la planta salvaje mientras que no se observa en el mutante *cpt1*, lo que sugiere que la redistribución lateral de auxina es dependiente de *NPH3/CPT1*.

El transporte normal de auxina, basípeto, es soportado por dos clases de proteínas de membrana. La primera consiste en una familia de permeasas transportadoras de auxina por influjo, denominadas permeasas AUX, de las cuales AUX1 ha sido la más estudiada. En *Arabidopsis* se han descrito cuatro homólogos putativos de tales transportadores. Las proteínas AUX están relacionadas con una pequeña familia de transportadores de aminoácidos, las permeasas de simporte aminoácido/auxina/protones (AAP) que muestran alto grado de analogía con las permeasas bacterianas de la familia APC (aminoácido/poliamina/colina). La segunda familia de proteínas de membrana relacionada con el transporte basípeto de auxina (CHO *et al.*, 2010) es la llamada familia de proteínas PIN. Estas se comportan como facilitadoras del eflujo de auxina y están localizadas en los extremos basales de las células asociadas al xilema. No existen evidencias experimentales de que las proteínas

PIN transporten directamente auxina. Más bien se ha sugerido que las proteínas PIN interaccionan con otras proteínas de membrana para formar un complejo proteína-proteína heteromérica que facilita el paso de la auxina a través de la membrana. Muy recientemente, se ha demostrado que la Ser/Threo quinasa y una proteína fosfatasa 2A median de forma antagonista la fosforilación de las propias proteínas PIN. La pérdida de la función quinasa (mutantes *pid* de *Arabidopsis*) conduce a un transporte de auxina preferencialmente basípeto, ya que la auxina se sintetiza mayoritariamente en el ápice caular, mientras el tipo salvaje y mutantes *pp2a*, deficitarios en fosfatasa, permiten el transporte acrópeto (ZHANG *et al.*, 2010). La fosforilación de PIN por Ser/Threo quinasa se lleva a cabo sobre un resto serina de un motivo altamente conservado TPRXS(N/S) en un bucle hidrofílico denominado PINHL (HUANG *et al.*, 2010). Si para el transporte lateral de auxina es necesario un intermediario en la fosforilación de PIN o existe otro sistema enzimático capaz de fosforilar un dominio PIN distinto (se sabe que PINs presentan restos Ala susceptibles de fosforilación) es algo que está actualmente bajo estudio.

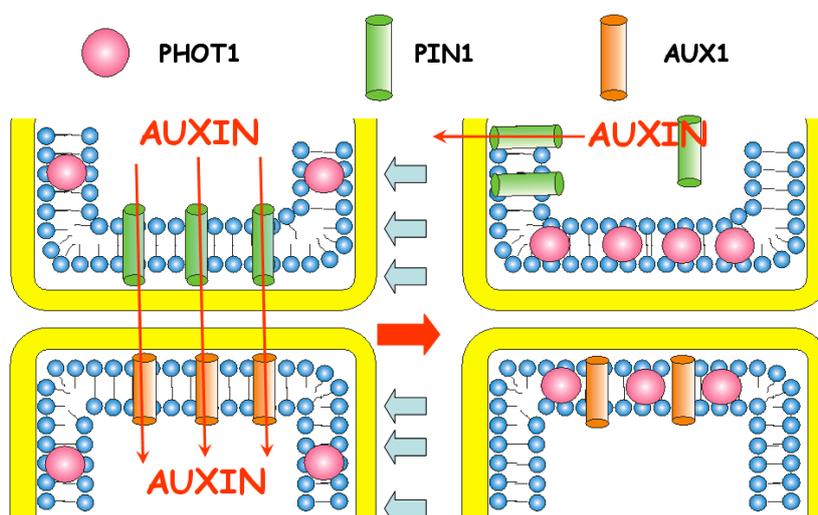


Figura 4. Modelo de regulación celular del cambio en la orientación del movimiento de la auxina en planta, que pasa de basípeto a lateral. El transporte basípeto está mediado por permeasas AUX, localizadas en la membrana celular de la cara más apical de la célula, que captan auxina de los espacios intercelulares diseñados entre ésta y la célula superior. Esta salida a los espacios intercelulares está mediada por proteínas facilitadoras del transporte, denominadas PIN, localizadas en la membrana celular de la cara inferior de la célula. La fosforilación de su sustrato endógeno por la Ser/Threo quinasa provoca el desplazamiento de los transportadores a la cara lateral de la célula, con el consecuente cambio de dirección en el transporte. Las flechas azules indican la dirección del transporte lateral de auxina, mientras que la flecha roja central indica la dirección de la curvatura del órgano.

Por tanto, la secuencia de acontecimientos en fotonastias y fototropismos sería la siguiente. Parte de la auxina citoplásmica de una célula asociada al xilema será enviada al espacio intercelular en un transporte facilitado por las proteínas PIN asociadas a la membrana de la cara inferior de la célula. Desde este espacio intercelular, las permeasas AUX de la cara superior de la célula adyacente inferior internalizarán la auxina en su citoplasma (Fig. 4). De esta manera, el transporte fisiológico de auxina es definido como basípeto (LOMAX *et al.*, 1995) y va a ser

cambiado tras la percepción de la señal luminosa, sea direccional (fototropismos) o difusa (fotonastias).

Estudios de microscopía confocal han demostrado que la agrupación PHOT1-GFP en la cara inferior de las células fotoestimuladas va acompañada de una relocalización de PIN1 en la misma posición, pasando a acumularse en la cara lateral opuesta a la luz, en el caso del fototropismo. Esta deslocalización primero y relocalización después no se observa en los mutantes *phot1*. También se ha demostrado que mutantes *pin3* de *Arabidopsis* muestran un fototropismo reducido por comparación con lo observado en plantas no mutantes. PIN1 y PIN3 tienen idéntica localización celular. Esto supone que la relocalización de PIN1 en la membrana de la cara lateral de la célula fotoestimulada impediría la salida de auxina por la base de la célula (impediría el transporte basípeto) mientras que facilitaría el transporte lateral (Fig. 4). Esto daría lugar a un gradiente de concentraciones de auxina en el plano transversal del órgano, de mayor a menor entre ambas caras del mismo (Fig. 5), lo que se traduciría en una mayor elongación de las células que mayor concentración de auxina acumulan y menor elongación en las que menor concentración retienen, con lo que el órgano se curvaría. La luz es necesaria para la correcta actuación de las proteínas PIN, como se deduce del hecho de que la proteína PIN2 se vacuolice y degrade en raíces de *Arabidopsis* mantenidas en oscuridad, mientras que muestran una correcta localización como efectores de eflujo de auxina en plantas mantenidas en luz (LAXMI *et al.*, 2008).



Figura 5. Formación de un gradiente de concentración de auxina en el plano transversal del sépalo de la flor del hibisco. Las células de la capa izquierda reciben mayor cantidad de auxina, tras la fotoestimulación, por transporte lateral desde las células de la capa derecha, con lo que se produce un crecimiento asimétrico en el sentido de las flechas.

El incurvamiento de los sépalos hacia dentro implicaría una fuerte presión en el centro de la base de los pétalos, insertos en el cáliz, lo que los abatiría hacia el centro geométrico de la flor (Fig. 6). Sin embargo, los cinco pétalos de la flor de hibisco están imbricados como las láminas de un diafragma de una cámara fotográfica (Fig. 7), con lo

que la corola se va cerrando hasta formar un cilindro del que solo sobresalen los estigmas (Fig. 8).

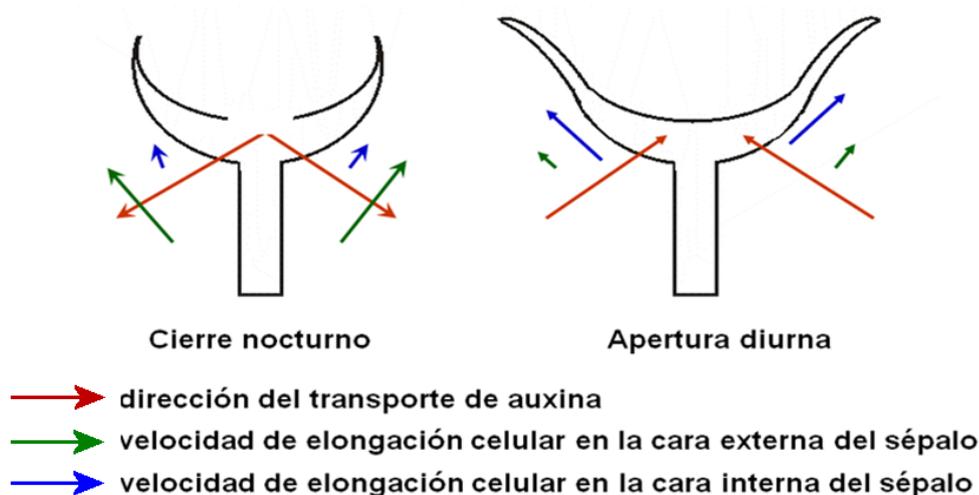


Figura 6. Mecanismo integral de cierre y apertura fotonástica de la flor de *Hybiscus*. Al atardecer, cuando la intensidad de la luz disminuye, el transporte de auxina se hace lateral, desde la cara interior del sépalo hacia las células de la cara externa. Esto hace que las células de las capas externas elonguen a mayor velocidad y el sépalo se incurve hacia dentro. Al amanecer, el incremento de la intensidad luminosa incidente revierte el mecanismo.

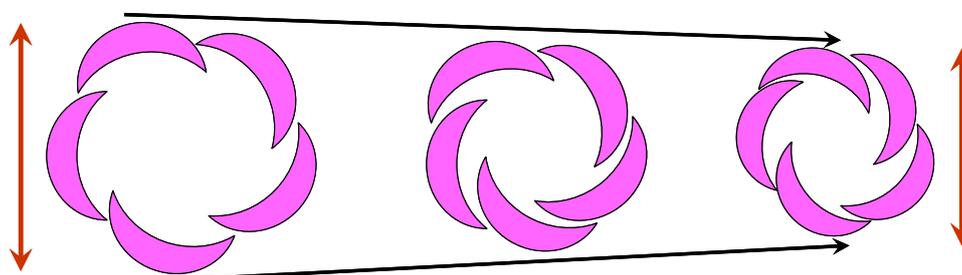


Figura 7. Disposición de los cinco pétalos de la corola del hibisco de tal forma que cuando el ápice de los cinco sépalos presiona sobre su base, el empuje se traduce en el corrimiento de los pétalos unos sobre otros a modo de las láminas de un diafragma fotográfico.



Figura 8. Secuencia de cierre fotonástico de la flor de *Hybiscus*, observada desde las 12 horas solares (máxima fluencia fotónica) hasta las 20:30 horas, cuando el valor de la fluencia fotónica ha disminuido de manera significativa.

La respuesta de crecimiento asimétrico viene mediada por mecanismos de elongación. Una mayor concentración de auxina satura los centros de recepción de la hormona en las membranas celulares, las llamadas proteínas ABP (**Auxin Binding Protein**), lo que conduce a una activación de ATPasas H^+/K^+ que automáticamente acidifican el ambiente de la pared celular. Esta acidificación (valores de pH entre 3,0 y 4,5) activa glucanasas que degradan parcialmente la celulosa, permitiendo que toda la estructura se estire por efecto de la presión de turgor ejercida por el protoplasto. Dado que cada apertura y cierre fotonástico de la flor implica un grado de crecimiento, el número de estos ciclos está genéticamente limitado, lo que impediría el gigantismo del órgano.

BIBLIOGRAFIA

- Briggs, W.R. y Olney, M.A. 2001. Photoreceptors in plant photomorphogenesis to date: Five phytochromes, two cryptochromes, one phototropin, and one superchrome. *Plant Physiology*, 125: 85–88.
- Cho, M.; Lee, S.H. y Choa, H.T. 2007. P-Glycoprotein4 displays auxin efflux transporter-like action in *Arabidopsis* root hair cells and tobacco cells W OA. *The Plant Cell*, 19: 3930–3943.
- Huang, F.; Zago, M.K.; Abas, L.; van Marion, A.; Galván, C.S. y Offringa, R. 2010. Phosphorylation of conserved PIN motifs directs *Arabidopsis* PIN1 polarity and auxin transport W OA. *The Plant Cell*, 22: 1129-1142.
- Laxmi, A.; Pan, J.; Morsy, M. y Rujin Chen, R. 2008. Light plays an essential role in intracellular distribution of auxin efflux carrier PIN2 in *Arabidopsis thaliana*. *PLoSone*, 1, e1510: 1-11.
- Lomax, T.; Muday, G.K. y Rubery, P.H. 1995. Auxin transport. En: Davies, P.J. (Ed.)-*Plant Hormones*. Kluwer Academic Publishing, Dordrecht. pp 509-530.
- Matsuoka, D. y Tokutomi, S. 2005. Blue-light-regulated molecular switch of Ser/Thr kinase in phototropin *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 102: 13337-13342.
- Phillips, I.D.J. 1971. *Introduction to the Biochemistry and Physiology of Plant Growth Hormones*. McGraw-Hill, New York. 173 pp.
- Zhang, J.; Nodzyński, T.; Pěnčík, A.; Rolčík, J. y Friml, J. 2010. PIN phosphorylation is sufficient to mediate PIN polarity and direct auxin transport. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 107: 918–922.

Recibido: 14 junio 2010.

Aceptado: 25 octubre 2010.