

El otro genoma de las plantas: los cloroplastos y su ADN

LAURA ESPINOSA-BARRERA Y EDUARDO CHÁVEZ-SAHAGÚN

Unidad de Recursos Naturales, Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.
Calle 43 No. 130 x 32 y 34, Col. Chuburná de Hidalgo, 97205,
Mérida, Yucatán, México.
lauespinosaba@gmail.com

Los cloroplastos son los organelos encargados de llevar a cabo la fotosíntesis en plantas; estos evolucionaron a partir de bacterias fotosintéticas. Los cloroplastos contienen su propio ADN, en el cual se encuentran codificados genes necesarios para su funcionamiento. El genoma de los cloroplastos o plastoma se divide en cuatro regiones con características distintivas. El estudio de la secuencia, estructura y composición de los plastomas es una herramienta útil para la comprensión de la evolución tanto de plantas como de los cloroplastos mismos.

Palabras clave: Cloroplasto, fotosíntesis, organelo, plastoma.

En las plantas y otros organismos eucariotes (aquellos que poseen células con un núcleo), los cloroplastos son los organelos donde se lleva a cabo la fotosíntesis. Sin embargo, este no es el único proceso en el que participan, y pueden ser importantes para procesos metabólicos como la biosíntesis de almidón o lípidos, así como el desarrollo y diferenciación de las plantas. Cuando los cloroplastos no presentan clorofila, el pigmento verde fundamental para la fotosíntesis, pueden ser llamados cromoplastos, leucoplastos o etioplastos, dependiendo de su función. Los cloroplastos y sus variantes no fotosintéticas reciben el nombre de “plástidos” (Taiz y Zeiger 2002, León y Guevara 2007).

Los cloroplastos presentan una membrana externa y una membrana interna, y un tercer sistema de membranas apiladas e interconectadas llamadas tilacoides (Taiz y Zeiger 2002) (Figura 1A). Adicionalmente, los cloroplastos tienen sus propios ribosomas, las estructuras donde se producen proteínas a partir de la información genética; y su propio ADN, pero de este último hablaremos más tarde (Odintsova *et al.* 1964). El conjunto de ti-

lacoides apilados conforma la grana, y el fluido al interior de los cloroplastos que rodea a los tilacoides es el estroma. La clorofila y el resto de los componentes necesarios para obtener energía a partir de la luz solar se encuentran insertados en la membrana de la grana. Durante la fotosíntesis ocurre un proceso de transporte de electrones a lo largo de la membrana de la grana, que culminan en la formación de ATP y NADPH. Estos compuestos son necesarios para las reacciones químicas conocidas, como ciclo de Calvin, en el cual se sintetiza glucosa a partir de CO₂ (Figura 1B) (Taiz y Zeiger 2002, León y Guevara 2007).

Las características de los cloroplastos sugieren un origen sorprendente: hace aproximadamente 2,000 millones de años un organismo eucariote, que ya tenía mitocondrias, fagocitó (ingirió) o fue parasitado por una cianobacteria (McFadden y van Dooren 2004, Sánchez-Baracaldo *et al.* 2017). Las cianobacterias, o algas verdeazuladas, son organismos procariontes fotosintéticos y de vida libre, que al igual que los cloroplastos tienen doble membrana celular, tilacoides con clorofila y

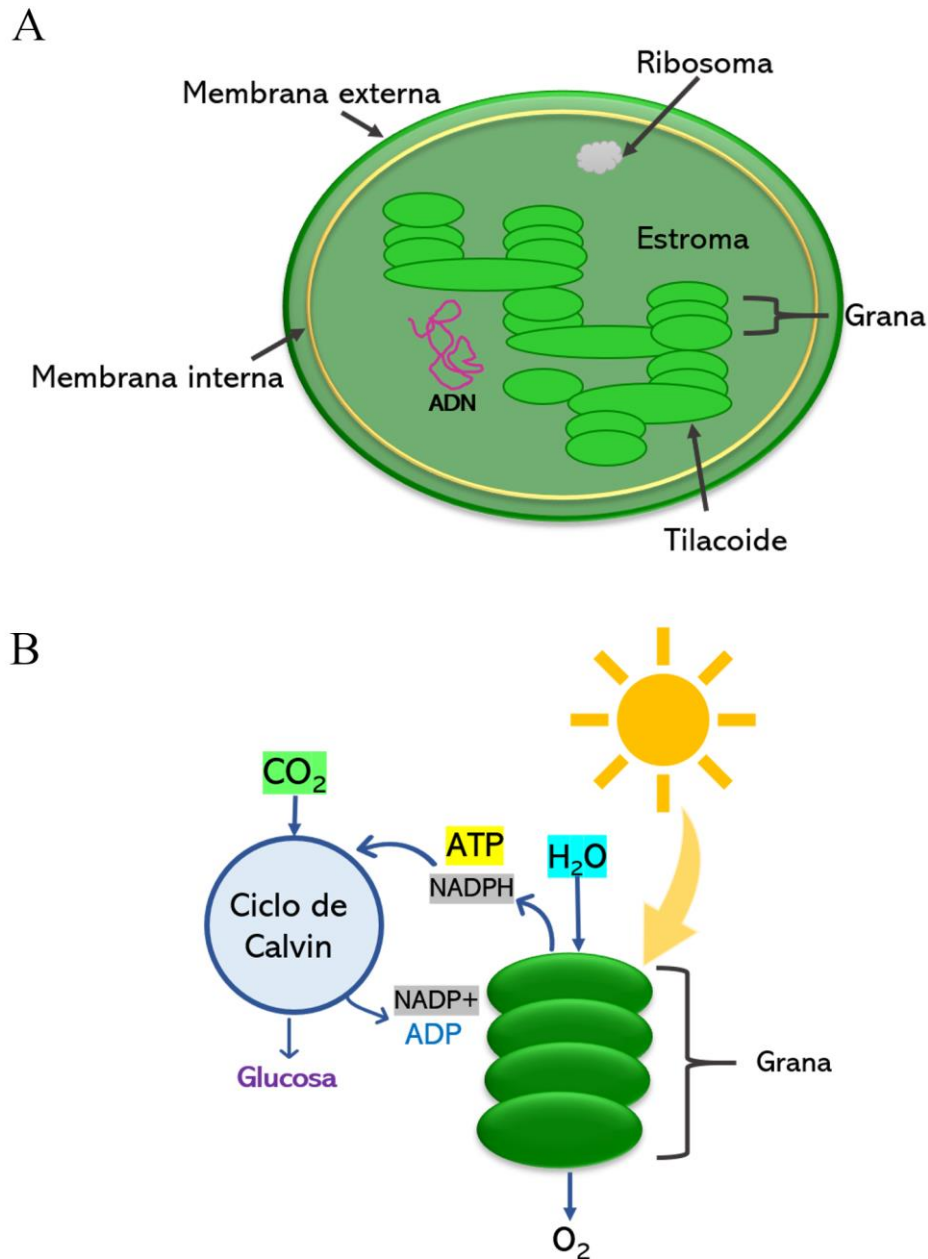


Figura 1. Las partes de los cloroplastos y la fotosíntesis. **A.** los cloroplastos están constituidos de dos membranas, interna y externa, la grana, los tilacoides, ADN, ribosomas y su interior que es el estroma. **B.** En plantas y otros eucariotas la fotosíntesis sucede en los cloroplastos; esta se divide en procesos dependientes de la luz y el ciclo de Calvin, durante este último ocurre la fijación del CO₂ y la producción de glucosa. (Figuras: Laura Espinosa-Barrera).

ADN en forma de un solo cromosoma circular (Jiao y Guo 2014). Esta relación fue beneficiosa para ambas partes y con el tiempo dio origen a los cloroplastos (y por lo tanto a las plantas) tal como los conocemos. Sin embargo, este proceso ha resultado en cambios importantes con res-

pecto a los ancestros de vida libre (Zimorski *et al.* 2014). Probablemente el más dramático de estos cambios se observa en la reducción del genoma. Aproximadamente 90% de los genes de la cianobacteria ancestral fueron transferidos al genoma nuclear del hospedero (Clegg *et al.*

1994, Huang *et al.* 2003). Estos genes transferidos participan en funciones importantes como el anclaje de la clorofila en la membrana del tilacoide y aunque son capaces de duplicarse a sí mismos (otra característica que han mantenido de sus ancestros), cabe recalcar que los cloroplastos son incapaces de sobrevivir de manera autónoma (León y Guevara 2007).

Al conjunto de genes de un organismo (u organelo) contenidos y organizados en cromosomas se le denomina genoma. El genoma de los cloroplastos es conocido como plastoma (de plástido y genoma). Los plastomas están organizados en forma de una única molécula circular de ADN de doble cadena localizada en el estroma. Cada cloroplasto puede contener más de una copia, y cada célula vegetal puede contener entre 400 a 1,600 copias del plastoma (Zaragoza 2017). Su tamaño por lo general varía entre 120,000 y 160,000 bases nucleotídicas. Los genes que se encuentran en los plastomas codifican para proteínas de la maquinaria fotosintética; transcripción, traducción y replicación de su propio ADN; importación continua, coordinación y regulación de proteínas con el núcleo (Guo *et al.* 2007, Jiao y Guo 2014, Huo *et al.* 2018). Debido a la importancia de sus funciones, los plastomas están altamente conservados, es decir, sus secuencias cambian muy lentamente (en escala evolutiva) y presentan una alta similitud entre especies (Saarela *et al.* 2018, Alwadani *et al.* 2019).

Los plastomas contienen cuatro regiones claramente delimitadas: una región larga de copia única o LSC (*Large Single Copy region*, por sus siglas en inglés), una región corta de copia única, SSC (*Small Single Copy region*) y dos regiones repetidas inversas (IR) (Figura 2). Dentro de estas regiones podemos encontrar aproximadamente 130 genes que corresponden a 80 proteínas, 30 ARNs de transferencia (tRNA) y cuatro genes ribosomales

(rRNA), así como intrones que no codifican proteínas y espaciadores intergénicos que son las regiones que están entre un gen y otro (Ohyama *et al.* 1986, Twyford y Ness 2017). Cabe resaltar que la mayoría de las enzimas y proteínas del cloroplasto son estructuras muy complejas y están constituidas por distintas partes o dominios, cada dominio es codificado por un gen distinto y a su vez, estos están distribuidos entre las regiones del plastoma, y en muchos casos también el genoma nuclear.

Como su nombre lo indica, LSC es la región más grande dentro de los plastomas, y en ella se encuentran genes que codifican para RUBISCO (encargada de la fijación de CO₂ en la fotosíntesis); ATP sintasa, necesaria para la producción de energía dentro del cloroplasto; y algunos componentes del fotosistema II (Jiao y Guo 2014, Daniell *et al.* 2016, Twyford y Ness 2017). SSC es la región más pequeña del plastoma, y entre sus secuencias se encuentran múltiples componentes de NADH deshidrogenasa, que es necesaria para el acarreo de electrones durante la fotosíntesis. Las IR son dos y flanquean a las otras dos regiones (Figura 2), se caracterizan por ambas tener la misma información, y contienen una alta cantidad de secuencias de ADN repetidas; destacan la presencia de los genes ribosomales y los pseudogenes *ycf*, de función desconocida y altamente conservados entre especies cercanas (Poczai y Hyvönen 2017).

En 1962 se confirmó por primera vez la presencia de ADN en los cloroplastos, y en 1986 se secuenció por primera vez el plastoma de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) y del musgo *Marchantia polymorpha* L. (Ris y Plaut 1962, Ohyama *et al.* 1986, Shinozaki *et al.* 1986). El estudio de la organización, posición y secuenciación de los genes y regiones dentro del plastoma ha permitido ahondar en el conocimiento del funcionamiento y mantenimiento de

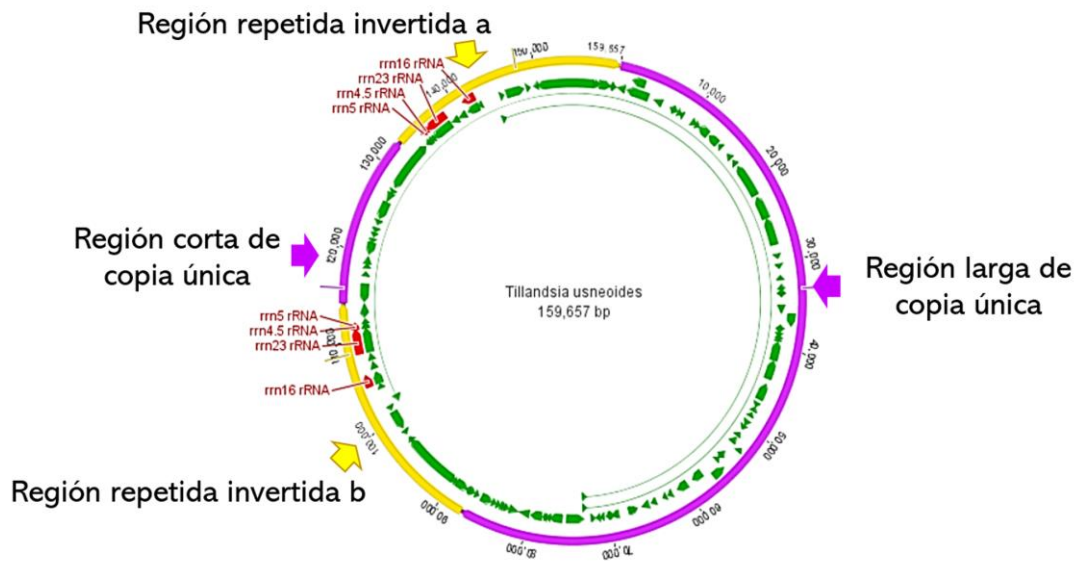


Figura 2. Estructura básica del plastoma. Los plastomas contienen cuatro regiones básicas, en las cuales se encuentran distribuidos sus genes: una región larga de copia única (LSC), una región corta de copia única (SSC) y dos regiones repetidas invertidas (IR). (Figura modificada de Poczai y Hyvönen 2017).

los cloroplastos. Este conocimiento incluso puede permitir en el futuro el desarrollo de cultivos mejorados mediante ingeniería del plastoma (Daniell *et al.* 2016). Por otro lado, el estudio comparativo del ADN de cloroplastos nos ha permitido elucidar el origen y evolución de los cloroplastos mismos. Además, una de las áreas más prometedoras parece ser el uso del ADN de cloroplasto como un marcador para estudiar la evolución y diversificación en plantas. Estos análisis pueden realizarse a partir de regiones concretas del plastoma o el plastoma completo (Guo *et al.* 2007, Hand *et al.* 2013, Yao *et al.* 2015, Poczai y Hyvönen 2017, Saarela *et al.* 2018, Alwadani *et al.* 2019) (Figura 3).

Los avances tecnológicos y los precios cada vez menores en la secuenciación masiva de ADN han permitido obtener una gran cantidad de información sobre los plastomas, y esta tendencia seguirá en aumento los próximos años. El estudio de los cloroplastos y sus genomas son una herramienta para la conservación biológica y la seguridad alimentaria; esta infor-

mación nos permitirá comprender procesos moleculares al interior de la célula, la fisiología vegetal, evolución y adaptación al medio, y diversidad biológica.

Referencias

- Alwadani K.G., Janes J.K. y Andrew R.L. 2019.** Chloroplast genome analysis of box-ironbark *Eucalyptus*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 136: 76-86.
- Clegg M.T., Gaut B.S., Learn G.H. y Morton B.R. 1994.** Rates and patterns of chloroplast DNA evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91(15): 6795-6801.
- Daniell H., Lin C.S., Yu M. y Chang W.J. 2016.** Chloroplast genomes: Diversity, evolution, and applications in genetic engineering. *Genome Biology* 17: 134.
- Guo X., Castillo-Ramírez S., González V., Bustos P., Fernández-Vázquez J.L., Santamaría R., Arellano J., Cevallos M.A. y Dávila G. 2007.**

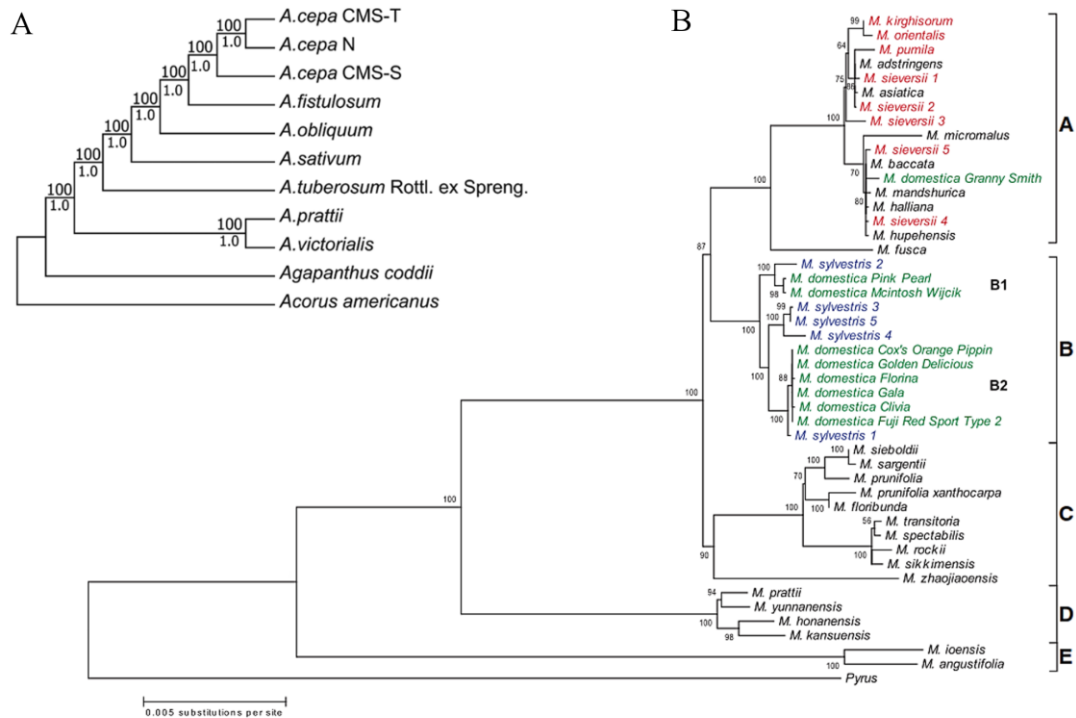


Figura 3. Estudios filogenéticos a partir de secuencias de plastomas. **A.** Análisis de máxima verosimilitud (ML) para nueve especies del género *Allium* L. a partir del genoma completo de cloroplastos. **B.** El uso de secuencias de plastoma permite conocer las relaciones entre variedades de plantas cultivadas y sus parientes silvestres; árbol de máxima verosimilitud obtenido a partir de 47 plastomas del género *Malus* Mill., que muestra que distintas especies silvestres de manzana han contribuido al desarrollo de variedades domesticadas. (Árboles filogenéticos: **A.** Tomado de Huo *et al.* 2018. **B.** Tomado de Nikiforova *et al.* 2013).

Rapid evolutionary change of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plastome, and the genomic diversification of legume chloroplasts. *BMC Genomics* 8: 228.

- Hand M.L., Spangenberg G.C., Forster J.W. y Cogan N.O.I. 2013.** Plastome sequence determination and comparative analysis for members of the *Lolium-Festuca* grass species complex. *G3 Genes/Genomes/Genetics* 3(4): 607-616.
- Huang C.Y., Ayliffe M.A. y Timmis J.N. 2003.** Direct measurement of the transfer rate of chloroplast DNA into the nucleus. *Nature* 422: 72-76.
- Huo Y.M., Gao L.M., Liu B.J., Yang Y.Y., Kong S.P., Sun Y.Q, Yang YH. y Wu X. 2018.** Complete chloroplast genome sequences of four *Allium* species: comparative and phylogenetic

analyses. *Scientific Reports* 9(1): 12250.

- Jiao Y. y Guo H. 2014.** Prehistory of the Angiosperms: Characterization of the ancient genomes. *Advances in Botanical Research* 69: 223-245 pp.
- León P. y Guevara A. 2007.** El cloroplasto: un organelo clave en la vida y en el aprovechamiento de las plantas. *Biotechnología* 14: 223-238.
- McFadden G. I. y van Dooren G.G. 2004.** Evolution: Red algal genome affirms a common origin of all plastids. *Current Biology* 14(13): R514-R516.
- Nikiforova S.V., Cavalieri D., Velasco R. y Goremykin V. 2013.** Phylogenetic analysis of 47 chloroplast genomes clarifies the contribution of wild species to the domesticated apple ma-

- ternal line. *Molecular Biology and Evolution* 30(8): 1751-1760.
- Odintsova M.S., Golubeva E.V y Sissakian N.M. 1964.** Chloroplast ribosomes. *Nature* 204: 1090-1091.
- Ohyama K., Fukuzawa H., Kohchi T., Shirai H., Sano T., Sano S., Umesono K., Shiki Y., Takeuchi M., Chang Z., Aota S.I., Inokuchi H. y Ozeki H. 1986.** Chloroplast gene organization deduced from complete sequence of liverwort *Marchantia polymorpha* chloroplast DNA. *Nature* 322: 572-574.
- Poczai P. y Hyvönen J. 2017.** The complete chloroplast genome sequence of the CAM epiphyte Spanish moss (*Tillandsia usneoides*, Bromeliaceae) and its comparative analysis. *PLoS One* 12(11): e0187199.
- Ris H. y Plaut W. 1962.** Ultrastructure of DNA-containing areas in the chloroplast of *Chlamydomonas*. *The Journal of Cell Biology* 13: 383-391.
- Saarela J.M., Burke S.V., Wysocki W.P., Barrett M.D., Clark L.G., Craine J.M., Peterson P.M., Soreng R.J., Vorontsova M.S. y Duvall M.R. 2018.** A 250 plastome phylogeny of the grass family (Poaceae): Topological support under different data partitions. *PeerJ*. 6: e4299.
- Sánchez-Baracaldo P., Raven J.A., Pisani D. y Knoll A.H. 2017.** Early photosynthetic eukaryotes inhabited low-salinity habitats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 114(37): E7737-E7745.
- Shinozaki K., Ohme M., Tanaka M., Wakasugi T., Hayashida N., Matsu-bayashi T., Zaita N., Chunwongse J., Obokata J., Yamaguchi-Shinozaki K., Ohto C., Torazawa K., Meng B.Y., Sugita M., Deno H., Kamogashira T., Yamada K., Kusuda J., Takaiwa F., Kato A., Tohdoh N., Shimada H. y Sugiura M. 1986.** The complete nucleotide sequence of the tobacco chloroplast genome: its gene organization and expression. *The EMBO Journal* 5(9): 2043-2049.
- Taiz L. y Zeiger E. 2002.** *Plant Physiology (3th edition)*. Sinauer Associates, Sunderland, MA. 690 pp.
- Twyford A.D. y Ness R.W. 2017.** Strategies for complete plastid genome sequencing. *Molecular Ecology Resources* 17(5): 858-868.
- Yao X., Tang P., Li Z., Li D., Liu Y. y Huang H. 2015.** The first complete chloroplast genome sequences in Actinidiaceae: Genome structure and comparative analysis. *PLoS ONE* 10(6): e0129347.
- Zaragoza A.G. 2017.** Secuenciación, ensamblaje de *novo* y anotación del genoma del cloroplasto del ajo (*Allium sativum*). Grado en Biotecnología. Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad Miguel Hernández de Elche. Elche, España. 41 pp.
- Zimorski V., Ku C., Martin W.F. y Gould S.B. 2014.** Endosymbiotic theory for organelle origins. *Current Opinion in Microbiology* 22: 38-48.

Desde el Herbario CICY, 11: 201–206 (10-October-2019), es una publicación semanal editada por el Herbario CICY del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., con oficinas en Calle 43 No. 130, Col. Chuburná de Hidalgo, C.P. 97200, Mérida, Yucatán, México. Tel. 52 (999) 942-8330 Ext. 232, www.cicy.mx/Sitios/Desde_Herbario/, webmas@cicy.mx. Editor responsable: Ivón Mercedes Ramírez Morillo. Reserva de Derechos al Título Exclusivo No. 04-2016-041413195700-203, otorgado por el Instituto Nacional del Derecho de Autor, ISSN: 2395-8790. Responsable de la publicación: José Fernely Aguilar Cruz, Calle 43 No. 130, Col. Chuburná de Hidalgo, C.P. 97200, Mérida, Yucatán, México. Fecha de última modificación: 10 de octubre de 2019. Las opiniones expuestas por los autores no necesariamente expresan la postura del editor de la publicación. De la misma manera, la responsabilidad sobre la veracidad y la precisión de los contenidos, le corresponde totalmente a los autores de los ensayos.