

Mecanismos de desarrollo y fisiología de raíces de plantas superiores

Gladys I. Cassab y Yoloxóchitl Sánchez-Guevara

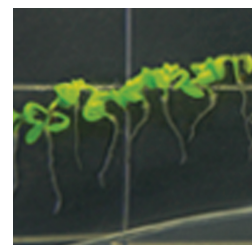
Y sin embargo... se mueven

Las plantas, al estar enraizadas, son inmóviles, y por lo tanto deben confrontar el destino que se les presente. Sin embargo las plantas no son estáticas. Las flores se abren y se cierran, las hojas se extienden hacia la luz del día y se doblan por la noche, las especies que aman la sombra se alejan de la luz directa del sol o, como la *Mimosa pudica*, se colapsan repentina y dramáticamente al ser estimuladas mecánicamente. Las raíces navegan continuamente en su entorno con el fin de encontrar agua y nutrientes. También, las raíces evitan horizontes del suelo con microorganismos peligrosos o con plantas competidoras. Además, en este mundo hostil, las plantas presentan diversos programas de desarrollo que les permiten sobrevivir y reproducirse. Por ejemplo, en la selva amazónica, la palma con zancos, también conocida como palma caminadora, crece hasta 22 metros de altura y tiene un tronco que no toca el suelo; cuando se aproximan competidores o si perciben una grieta en el suelo, sus raíces adquieren una forma cónica que la sostienen y le permiten “caminar” lentamente mediante la producción de nuevas raíces adventicias en el lado iluminado. Las raíces en el lado oscuro son abandonadas (Allen, 1977). La vida se enrosca alrededor de un soporte acumulando una

alta presión de agua de un lado de la célula y disminuyéndola del otro. Los lirios son capaces de mover sus bulbos a mayor profundidad en el suelo, contrayendo sus raíces para protegerse del frío. Por otro lado, un bambú toma tanta agua que puede crecer hasta 40 cms. en un solo día, y el concreto de una banqueta puede quebrarse por la germinación de unas cuantas semillas, ya que éstas pueden producir una presión de miles de kilos por m². Así que las plantas, al igual que los animales, utilizan un comportamiento exploratorio para aumentar sus oportunidades de sobrevivencia al optimizar la búsqueda de agua y recursos alimenticios, garantizando su reproducción y paso de genes a la siguiente generación. Esto nos indica que las plantas construyen una perspectiva tridimensional de su ambiente y, en consecuencia, utilizan mecanismos evaluadores similares a los de algunos animales.

Principios físicos de los movimientos en las plantas

Las escalas de los movimientos de las plantas varían en diferentes órdenes de magnitud, tanto en tiempo como en duración, pero finalmente están basadas en la mecánica y en la hi-



3
1
2

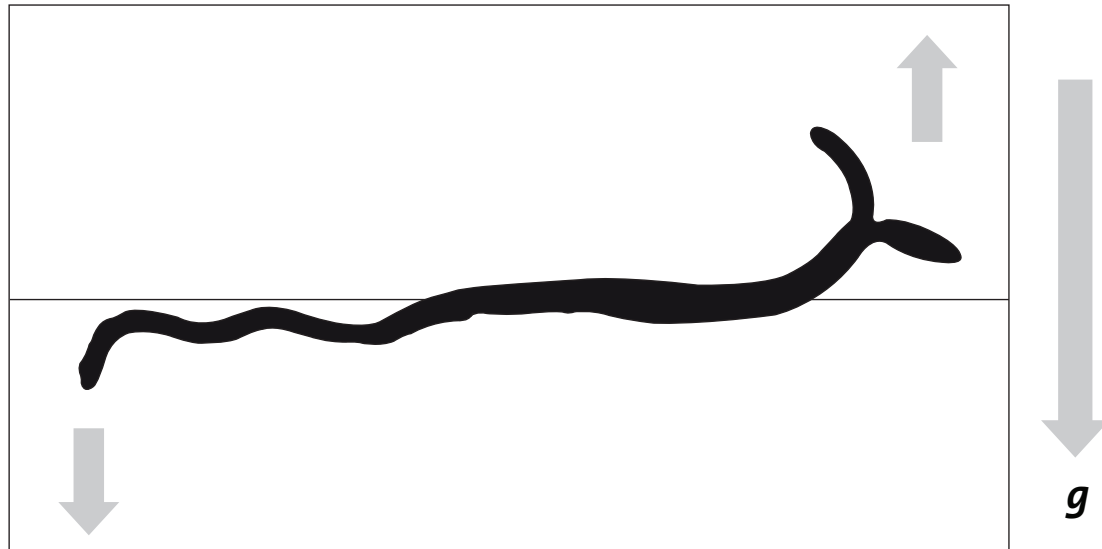


Figura 1. Plántula de *Arabidopsis* crecida en posición vertical gravestimulada (colocándola en posición horizontal). En 3.5 horas, la raíz inicia su curvatura siguiendo el vector de gravedad (gravitropismo positivo) y la parte aérea tiende a curvarse en contra del mismo estímulo (gravitropismo negativo). La dirección del vector de gravedad (g) se muestra con la flecha grande.

dráulica, es decir, en la mecánica del transporte de agua a través de un tejido elástico. Del movimiento rotatorio y helicoidal de órganos en crecimiento (conocido como circumnutación), a la apertura y cierre de los estomas, las plantas se están moviendo todo el tiempo, a veces demasiado lento para ser percibido a simple vista. Los movimientos rápidos, aunque raros, son utilizados por varias plantas en funciones esenciales, tales como la dispersión de semillas (*Hura crepitans*) o del polen (orquídeas del género *Catasetum*, o en plantas disparadoras como *Stylidium*, *Cornus canadensis* e *Impatiens* sp.), o de defensa (*Mimosa*) y nutrición (plantas carnívoras como *Dioneae muscipula*, la venus atrapamoscas). Las respuestas rápidas al tacto son conocidas como respuestas tigmotrópicas o tigmonásticas (tigma es el griego de tacto). Las respuestas trópicas y násticas se distinguen por la influencia del vector del estímulo en la dirección del movimiento. Las respuestas trópicas ocurren de una manera determinada por la dirección o lugar del estímulo. Por el contrario, las respuestas násticas son movimientos, tales como el doblamiento de las hojas de *Mimosa pudica*, que ocurren en dirección completamente independiente del estímulo.

Tropismo en raíces

Charles Darwin (Darwin, 1880) contempló el destino de las raíces mientras viajaban en el suelo enfrentando varios obstáculos, como piedras en su camino. Observó que cuando las raíces son bloqueadas en su camino hacia abajo por un obstáculo, tal y como una placa de vidrio, las puntas de las raíces se aplanaban, adquirirían una forma oblicua y se curvaban casi 90 grados para tomar una nueva dirección de crecimiento sobre la superficie de vidrio. Darwin suponía que el ápice de la raíz era sensible a estímulos mecánicos y que el contacto resultaba en la transmisión de una señal que cambiaba la dirección de crecimiento en la región proximal de la raíz. También experimentó con raíces en cuya punta colocaba pedazos de papel lija

para crear un estímulo mecánico. Observó que la raíz perdía su comportamiento gravitrópico, ya que el estímulo resultaba en un movimiento tigmotrópico lejos del punto de contacto.

Recientemente se ha reportado un comportamiento similar (el evitar obstáculos) en raíces de *Arabidopsis*. Cuando las raíces de *Arabidopsis* se enfrentan a una barrera de vidrio, el gravitropismo se ve comprometido y ocurre en su lugar el tigmotropismo. Las raíces estimuladas mecánicamente ignoran su propensión a crecer hacia el vector de la gravedad y, en su lugar, crecen lejos del punto de contacto mecánico. La interacción de la gravedad con el estímulo mecánico ocurre a nivel subcelular; el tacto retrasa una de las primeras respuestas a la gravedad, la caída de gránulos de almidón en la parte inferior de las células de la columela de la cofia de la raíz.

Esta respuesta de evitar obstáculos ha sido propuesta como un componente importante de la respuesta de ondulado de las raíces de *Arabidopsis* crecidas en placas con agar concentrado y en posición inclinada (Okada y Shimura, 1990). Bajo estas condiciones de crecimiento, las raíces forman un patrón de ondas sinusoidales como consecuencia de las direcciones alternantes de expansión celular diferencial en la zona de elongación y el doblamiento de las células de la punta. Mutantes defectuosas en este patrón tan elegante de crecimiento han provisto evidencia de la importancia del transporte polar de auxinas y la función de los microtúbulos para un ondulado apropiado.

Especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés) son señales importantes en la respuesta a estímulos y en la morfogénesis vegetal. Las ROS han sido detectadas inmediatamente después de una perturbación mecánica. Cambios coincidentes de ROS y Ca^{2+} en varios comportamientos de plantas y la evidencia de la regulación por ROS de los canales de Ca^{2+} sugiere que estas dos señales subcelulares pueden ser generadas interdependientemente y estar al mismo tiempo ligadas.

Gravitropismo

La gravedad es una señal ambiental única, ya que está presente de manera continua, es unidireccional y tiene esencialmente una intensidad constante. Las plantas han desarrollado mecanismos que utilizan este indicador ambiental para guiar su dirección de crecimiento y tener acceso óptimo a recursos esenciales. Este tropismo asegura que las raíces crezcan hacia abajo en el suelo, donde pueden tomar agua y minerales (gravitropismo positivo), mientras que los tallos crecen hacia arriba en el aire, donde pueden fotosintetizar, reproducirse y dispersar sus semillas (gravitropismo negativo) (figura 1). También el gravitropismo permite que las plantas cultivadas desvanecidas por el viento o por tormentas se enderecen evitando así descomponerse por la humedad de suelo. Para responder a este tropismo, la planta tiene que sentir su orientación en el campo gravitatorio. La percepción de un cambio en la orientación del órgano (graviestimulación) por las células receptoras de la gravedad (estatocitos) da como resultado la formación de una señal bioquímica que se transmite al sitio del órgano donde se desarrolla la curvatura. Darwin postuló que durante la graviestimulación había “algo” que se movía de la punta a la zona de la raíz que le permitía desarrollar una curvatura (Darwin, 1880). En la primera parte del siglo XX, Cholodny (1927) y Went y Thimann (1937) independientemente propusieron que debido a la redistribución de una sustancia promotora del crecimiento de un lado de la raíz o tallo se producía la respuesta gravitrópica. Llamaron a esta sustancia “auxina” que es el griego de “aumentar”. Un nombre apropiado, debido a sus propiedades promotoras de la elongación celular. La auxina se purificó muchos años después y llegó a ser la primera sustancia vegetal llamada “hormona”. De ahí que la señalización disparada por la gravedad controla aspectos específicos del transporte de auxinas y, de hecho, mutaciones en los transportadores de auxina afectan al gravitropismo en tallos y en raíces.

La hipótesis de los estatolitos-almidón postula que la percepción de la gravedad en plan-

tas es mediada por la sedimentación o presión/tensión ejercida por los plástidos llenos de almidón (estatolitos) dentro de las células de la columna de la coña en raíces y dentro de la capa de almidón de la endodermis en tallos. Este modelo está apoyado por la observación de que la disminución genética o fisiológica de almidón en ambas células resulta en un gravitropismo alterado. Se desconoce cómo sienten la sedimentación de amiloplastos los estatolitos de la raíz o la endodermis del tallo. Es posible que los estatolitos al sedimentar contacten receptores embebidos en las membranas de la célula y consecuentemente disparen la señalización de la gravedad dentro de la célula. Sin embargo, el modelo de interacción receptor-estatolito es inconsistente con las observaciones que sugieren que la sedimentación de amiloplastos *per se* parece no ser necesaria para la percepción de la gravedad. Por ejemplo, mutantes deficientes en almidón aún muestran respuesta gravitrópica en la raíz, aunque disminuida. También es posible disparar la señalización de la respuesta gravitrópica al someter a plántulas a estímulos gravitrópicos muy cortos y consecutivos que son insuficientes para promover la sedimentación de amiloplastos. De ahí que, hasta la fecha, no existe un buen candidato para un receptor de la fuerza de la gravedad ejercida por los amiloplastos en estructuras intracelulares. Sin embargo, no se puede excluir la posibilidad de que varias vías actúen en concierto para percibir la gravedad en raíces. Además, evidencia de más de un siglo apoya la existencia de un mecanismo secundario de percepción de la gravedad en raíces, particularmente en la zona distal de elongación, con una capacidad de percepción de aproximadamente 20%. Es posible que este sistema provea la redundancia necesaria al sistema principal, regulando la actividad de los transportadores de auxina a lo largo de la zona distal de elongación de la raíz.

La mayoría de los mecanismos de la percepción de gravedad postulan la activación de canales de iones mecano-sensibles como primer paso en la transducción de la señal gravitrópica. Sin embargo, la identidad molecular

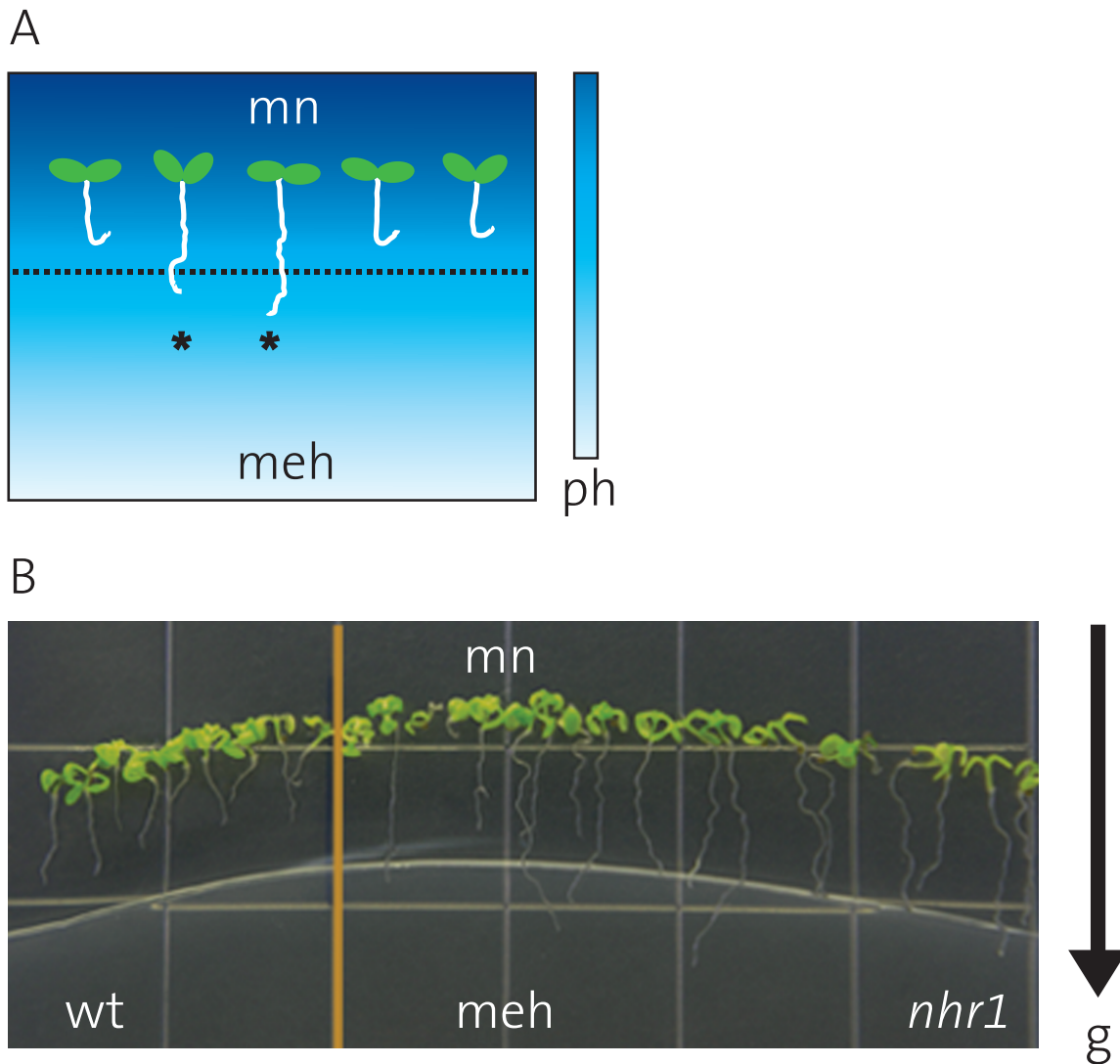


Figura 2. Selección de mutantes no hidrotrópicas de *Arabidopsis*. (A) Sistema de escrutinio formado por un medio normal (mn) en la parte superior y un medio sólido de estrés hídrico en la parte inferior (meh). (B) Las raíces silvestres de *Arabidopsis* (wt) crecen hacia abajo y muestran curvatura en respuesta al estímulo hidrotrópico en el medio normal, evitando el sustrato con bajo potencial hídrico del medio estresante (*). Mutantes putativas (*nhr1*) fueron seleccionadas de acuerdo a su inhabilidad de desarrollar una curvatura hidrotrópica positiva y de mantener crecimiento continuo en las condiciones severas de déficit de agua del medio estresante (*). La flecha negra indica la dirección del vector de la gravedad (g); la barra azul claro-azul oscuro indica el gradiente de humedad.

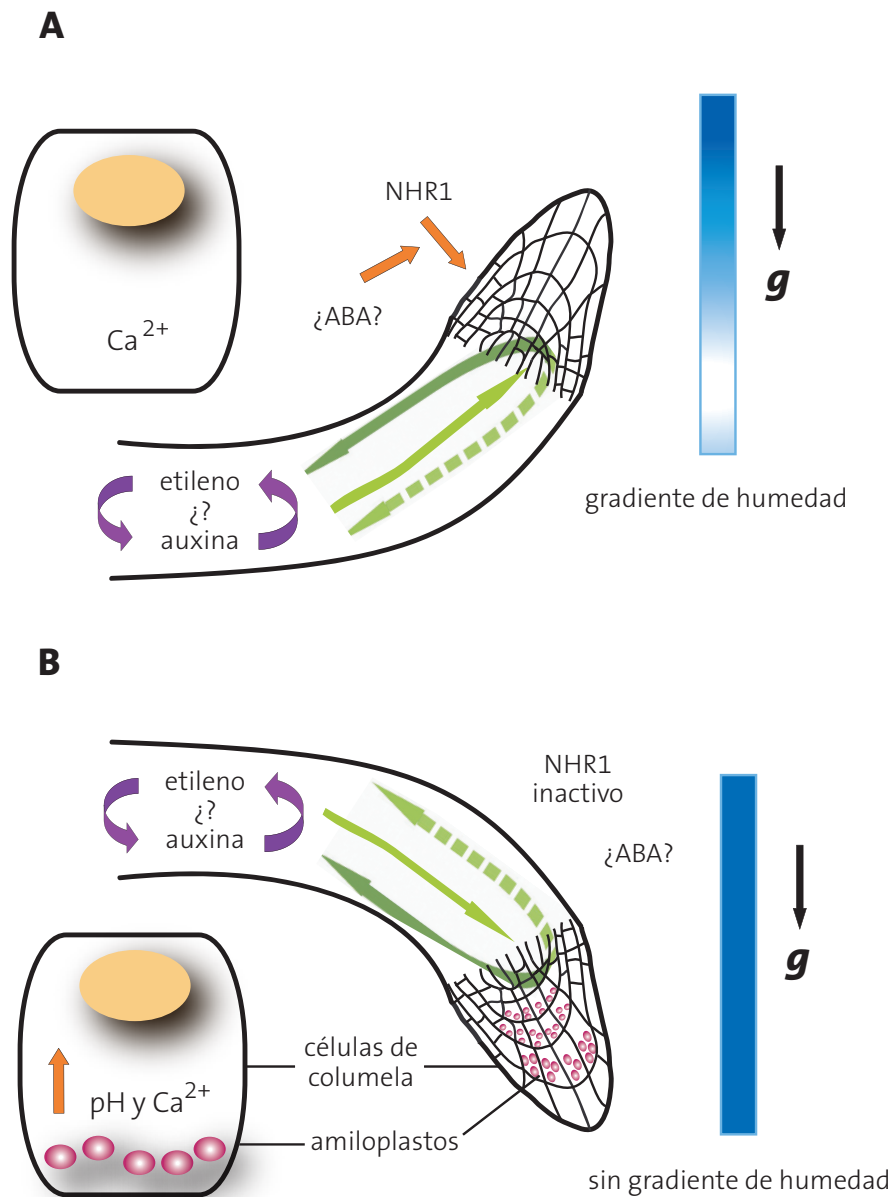


Figura 3.

La percepción de la gravedad ocurre en las células columela, que contienen amiloplastos, los cuales sedimentan siguiendo la gravedad y son responsables de su percepción. Una vez que el estímulo se percibe, una señal asimétrica se origina en las células de la columela, que produce un movimiento lateral de auxinas (B). La percepción de gradientes de humedad puede ocurrir en cualquier célula de la cofia (probablemente en las células de la cofia lateral), y dispara la degradación de amiloplastos en las células columela. Se desconoce la cadena de eventos que continúan, pero podrían incluir a un transporte lateral de auxinas, que orientarían a la raíz en la dirección del gradiente de humedad (A). La flecha negra indica la dirección del vector de la gravedad (g); la barra azul claro-azul oscuro indica el gradiente de humedad; la barra azul oscuro representa la ausencia de gradiente de humedad; las flechas dentro de las raíces denotan la dirección del transporte de auxinas. La continuidad de estas flechas correlaciona con los niveles de auxinas transportadas. La flecha dentro de la célula indica un incremento en la concentración de Ca^{2+} y el pH de la misma.

de estos canales continúa siendo un misterio. Recientemente, anotaciones en el genoma de *Arabidopsis* revelan la existencia de diez proteínas que comparten dominios funcionales con los canales mecano-sensibles de bacterias. Algunos de estos genes se expresan altamente en la punta de la raíz y uno de ellos es regulado por graviestimulación.

En conclusión, todos los avances genéticos y de análisis genómicos del gravitropismo sugieren vías múltiples de modulación de la transducción de la señal de gravedad en la raíz e hipocotilo. Por lo que tendrán que enfocarse experimentos futuros a la identificación de redes reguladoras que conecten vías paralelas y a entender los mecanismos que integran a estas redes con otras respuestas trópicas.

Sin embargo, durante el curso de desarrollo de una planta, varios órganos pueden alterar su ángulo de crecimiento con respecto al vector de la gravedad, al percibir cambios en su micro-ambiente y, por lo tanto, responder trópicamente a humedad (hidrotropismo), luz (fototropismo), distribución de nutrientes (quimiotropismo), obstáculos (tigmotropismo), etc.

Hidrotropismo

La supervivencia de las plantas terrestres depende de la capacidad de las raíces para obtener agua y nutrientes del suelo. El crecimiento direccional de las raíces con relación a la disponibilidad de agua se conoce como hidrotropismo, y comienza en la coña con la percepción del gradiente de humedad. Aún cuando la carencia de agua es uno de los factores más importantes que afectan la agricultura, existen muy pocos estudios sobre este tropismo en comparación con el gravitropismo o fototropismo. Por ejemplo, el aislamiento de mutantes sin respuesta hidrotrópica fue reportado 19 años después de las primeras mutantes agravitrópicas (Eapen *et al.*, 2005). En consecuencia, no es sorprendente que aún no sepamos cómo y en qué células de la coña se perciben los gradientes de humedad. El análisis del hidrotropismo siempre ha sido difícil de realizar porque la respuesta de la raíz

a la gravedad interactúa fuertemente con la respuesta hidrotrópica. De ahí que varios métodos, tales como el uso de mutantes agravitrópicas, microgravedad en el espacio y clinorrotación, hayan sido utilizados para diferenciar entre ambas respuestas trópicas. El uso de la mutante de chícharo *ageotropum* en estudios de hidrotropismo fue significativo, ya que se observó que sus raíces agravitrópicas respondían al hidrotropismo, indicando la independencia de las vías de percepción y señalización para ambos (Jaffe *et al.*, 1985).

Comparado con el gravitropismo, el hidrotropismo no ha sido popular en estudios genéticos por la dificultad de establecer un sistema de escrutinio a gran escala que provea una apropiada interacción estímulo-respuesta. De ahí que la implementación de un sistema de aislamiento de mutantes con respuestas aberrantes a gradientes de potencial de agua es significativo (Eapen *et al.*, 2003). Este sistema está compuesto de una caja Petri cuadrada con un medio sólido nutritivo normal en la parte superior (donde se colocan las semillas de *Arabidopsis*) y un medio sólido de estrés hídrico en la parte inferior (figura 2). Las raíces silvestres de *Arabidopsis* crecen hacia abajo y después de 5 o 6 días muestran curvatura en respuesta al estímulo hidrotrópico en el medio normal, evitando así el sustrato con bajo potencial de agua del medio estresante. Mutantes putativas fueron seleccionadas de acuerdo a su incapacidad de desarrollar una curvatura hidrotrópica positiva y de mantener crecimiento continuo en las condiciones severas de déficit de agua del medio estresante. Esto último es importante para distinguir mutantes no hidrotrópicos de mutantes resistentes a sequía. Se encontraron dos mutantes a las que se les llamó *nhr1* y *nhr2* (*no hydrotropic response*). Raíces de *nhr1* mostraron una respuesta gravitrópica positiva más rápida que la observada en raíces silvestres. Por lo que la ausencia de la respuesta hidrotrópica en raíces de *nhr1* parece aumentar su respuesta gravitrópica positiva. Además, raíces de *nhr1* contienen amiloplastos muy grandes en los estatocitos, que probablemente podrían ace-

lerar su percepción y respuesta a la gravedad. Raíces de *nhr1* incrementan su crecimiento en presencia de ácido abscísico (ABA), una hormona implicada en la respuesta a sequía, tanto en condiciones control como en condiciones limitantes de agua. Inclusive, ABA aumenta significativamente la penetrancia del fenotipo no hidrotrópico de esta mutante.

Se sabe relativamente poco acerca de los mecanismos moleculares que utiliza la cofia para integrar gradientes de agua, gravedad, obstáculos y varios estímulos más para generar sólo la respuesta apropiada. La habilidad de la cofia de percibir gradientes de humedad parece generar una señal dominante que debilita la percepción y respuesta a la gravedad. Se ha observado que la respuesta reducida a la gravedad en raíces hidroestimuladas de *Arabidopsis* y rábano se debe en parte a la degradación simultánea de amiloplastos en sus estatocitos. Raíces estimuladas por tacto retardan la tasa de sedimentación de los amiloplastos, reduciendo también la respuesta gravitropica. Sin embargo, la respuesta hidrotropica ejerce un efecto más dramático que el tigmotropismo, quizás por la importancia del agua para la supervivencia de las plantas (figura 3). Estos mecanismos indican que los estatocitos parecen haber adquirido durante su evolución diferentes tipos de receptores para percibir una gran variedad de estímulos que además sean capaces de integrar cuantitativamente las diferentes señales e iniciar la respuesta trópica adecuada (Eapen *et al.*, 2005). Los estatocitos consecuentemente podrían utilizar elementos comunes de señalización, localizados río abajo (redistribución de auxina, cambios en el pH, Ca²⁺, etc.), en todos los sistemas perceptores y así sincronizar la respuesta. Sin embargo, aún se desconoce el lugar y mecanismo de percepción de agua, por lo que estudios futuros tendrán que responder a esta pregunta.

En el laboratorio, por un lado, investigamos la capacidad de la cofia de sentir y de dirigir el movimiento de la raíz hacia gradientes de humedad y estamos interesados en identificar a

los genes involucrados en esta respuesta. Para ello, también diseñamos un sistema de selección en *Arabidopsis thaliana* con el fin de identificar mutantes que responden más eficientemente (super-hidrotropicas, denominadas *suh*). Las raíces de la mutante *suh1* crecen hasta 5 o 6 veces más que las raíces silvestres, lo que les permite llegar a la zona de la caja Petri con mayor potencial de agua (donde se coloca el medio normal) en menos de diez días (figura 4). Además, después de 16 días, desarrollan muchas raíces laterales y, por ende, pueden absorber mucho más agua. En cambio, las raíces silvestres detienen su crecimiento cinco días después de germinar y las plántulas mueren aproximadamente a los 10 o 12 días. La caracterización genética y fisiológica de estas dos clases de mutantes está aún en proceso, así como la identificación de los genes mutagenizados por mapeo posicional. Por otro lado, hemos aislado cinco genes específicos de la cofia del maíz y estamos estudiando la regulación de sus patrones de expresión por parte del meristemo de la raíz, así como su respuesta a diversos estímulos ambientales, con el fin de analizar la comunicación celular entre el meristemo y la cofia. Finalmente, estamos estudiando la posible convergencia en la expresión genética entre la cofia y el tubo polínico, ya que en ambas estructuras se presentan características fisiológicas comunes, tal y como en la respuesta trópica a gradientes químicos y de humedad.

El análisis genético del hidrotropismo nos ha permitido elucidar los mecanismos que utiliza la cofia para percibir y responder simultáneamente a los gradientes de humedad y a la gravedad. Este conocimiento nos permitirá entender cómo la cofia procesa señales ambientales que le permiten regular el crecimiento no sólo de la raíz sino de toda la planta. Asimismo, este conocimiento nos permitirá manipular a plantas cultivables para que optimicen su búsqueda de fuentes de humedad, especialmente donde no se dispone de sistemas de riego. ●

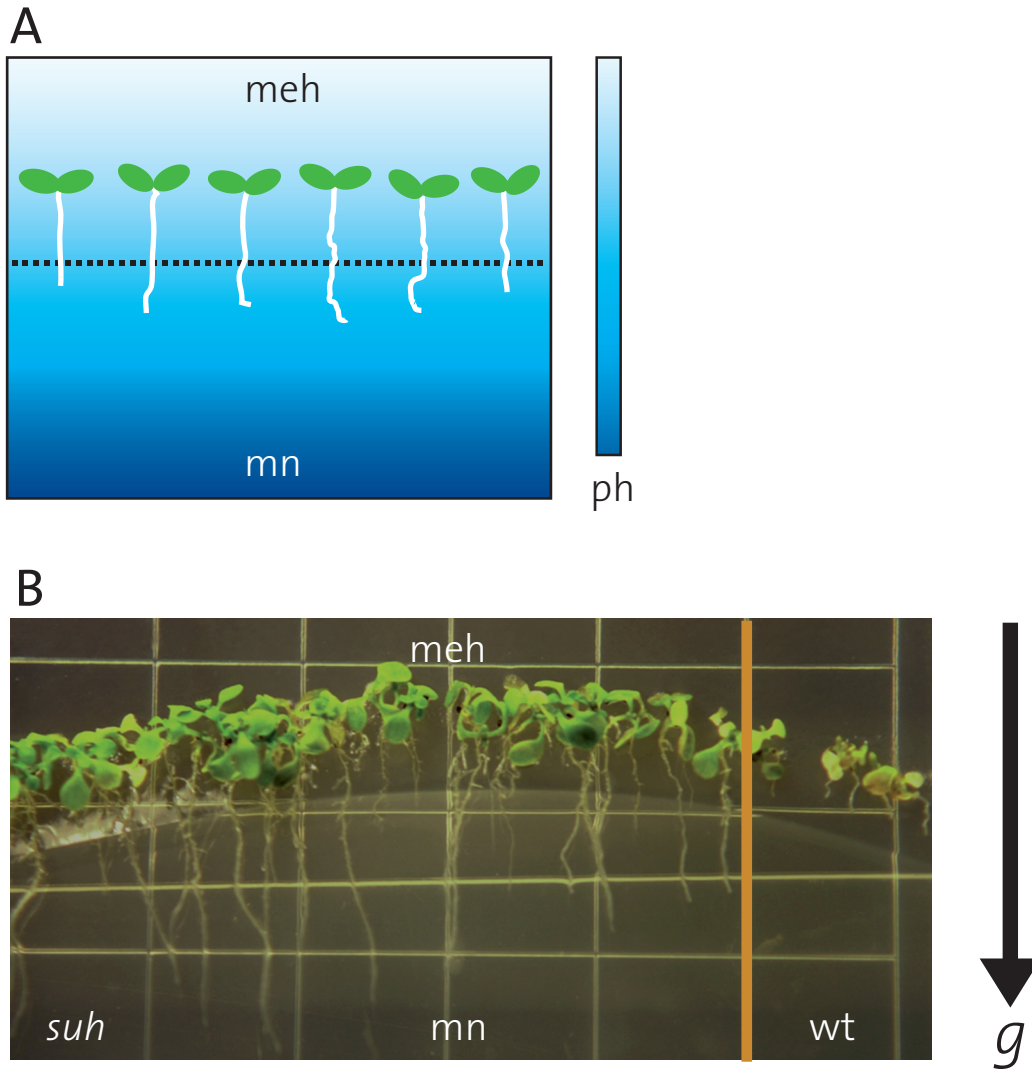


Figura 4. Selección de mutantes super hidrotrópicos (*suh*) en *Arabidopsis thaliana*. (A) Sistema de escrutinio formado por un medio estresante (meh) en la parte superior y un medio normal (mn) en la parte inferior. (B) Las raíces silvestres de *Arabidopsis* (wt) detienen su crecimiento a los 6 días en el meh. Mutantes putativas (*suh*) fueron seleccionadas de acuerdo a la capacidad de sus raíces de crecer rápidamente hacia el mn donde se encuentran condiciones más óptimas de crecimiento. La flecha negra indica la dirección del vector de la gravedad (*g*); la barra azul indica el gradiente de potencial de agua (ph).

Bibliografía

- Allen, P. H., *The rain forests of Golfo Dulce*, Stanford, Stanford University Press, 1977.
- Darwin, C., *The power of movement in plants*, Londres, William Cloves & Sons, Ltd., 1880.
- Eapen, D. *et al.*, "A no hydrotropic response root mutant that responds positively to gravitropism in *Arabidopsis*", en *Plant Physiology*, 131, 2003.
- _____, "Hydrotropism: root growth responses to water", en *Trends in Plant Science*, 10, 2005.
- Jaffe, M. J., H. Takahashi y R. L. Biro, "A pea mutant for the study of hydrotropism in roots", en *Science*, 230, 1985.
- Okada, K. y Y. Shimura, "Reversible root-tip rotation in *Arabidopsis* seedlings induced by obstacle-touching stimulus", en *Science*, 250, 1990.