

TOR (TARGET OF RAPAMYCIN): EMPERADOR EN LA TOMA DE DECISIONES QUE REGULA EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE LAS PLANTAS*

Kenia Salazar Díaz¹ y Tzvetanka D. Dinkova^{1,2}

¹Departamento de Bioquímica, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

²Autor de correspondencia: cesy@unam.mx

RESUMEN

La señalización por la vía de Target Of Rapamycin (TOR) es esencial en la integración de estímulos ambientales, disponibilidad de nutrientes y energía con el control por factores de crecimiento, señales de desarrollo y diferenciación en organismos eucariontes. En las plantas, su descubrimiento y caracterización son más recientes y se ha estudiado poco en especies relevantes agrónomicamente. Específicamente, se describió una vía similar a la del complejo TORC1 de mamíferos pero con particularidades del linaje vegetal que involucran la respuesta a fitohormonas y a la luz, la adaptación a estrés y el control del ciclo de vida de la planta. TOR tiene un gran impacto en el perfil metabólico, la proliferación/diferenciación celular y la regulación de la expresión genética en respuesta a glucosa, auxinas y estrés. Aquí se describen los componentes principales de la vía TOR en la planta modelo *Arabidopsis*, la señalización río arriba de TOR, los procesos que regula y algunos de los hallazgos que la presentan como un blanco atractivo para el mejoramiento de cultivos.

ABSTRACT

The Target Of Rapamycin (TOR) pathway is essential for the integration of environmental signals, nutrients and energy availability with growth factors control on development and differentiation in eukaryotic organisms. Discovery and characterization of the pathway in plants is more recent and has been poorly studied in crops. Specifically, a pathway similar to that corresponding to the mammalian TORC1 complex was described, but with peculiarities of the plant lineage involving responses to phytohormones and light, stress adaptation and plant life span control. TOR has important impacts on the metabolic profile, cell proliferation/differentiation balance and coordination of gene expression in response to glucose, auxins and stress. Here we describe the main components of the TOR pathway discovered in the model plant *Arabidopsis*, upstream of TOR signaling, downstream processes regulation, and present some of the findings as an attractive target for crop improvement.

Introducción

En organismos eucariontes existe una vía de señalización conservada que actúa como regulador maestro para integrar la disponibilidad de nutrientes y energía con el crecimiento (1, 2). La proteína central de esta vía es la cinasa TOR (*Target Of*

Rapamycin) que fue descrita por primera vez en levaduras, donde se identificó como blanco de la rapamicina, una molécula con actividad antifúngica aislada de una bacteria del suelo en la Isla de Pascua (Rapa Nui) (3). En células de animales y levaduras TOR forma dos complejos proteicos denominados TORC1 y TORC2. El primero está

PALABRAS

CLAVE:

Crecimiento, desarrollo, plantas, TOR, transducción de señales.

KEY WORDS:

Development, growth, plants, signal transduction, TOR.

constituido por la cinasa TOR, LST8 (*Lethal with Sec Thirteen8*) y RAPTOR (*Regulatory Associated Protein of mTOR*) y regula el crecimiento celular, la traducción y autofagia. El complejo TORC2, además de la cinasa y LST8, está integrado por la proteína RICTOR (*Rapamycin Insensitive Companion of mTOR*), y a diferencia de TORC1 es insensible a la rapamicina. TORC2 regula el crecimiento polarizado de la célula, el citoesqueleto de actina y la proliferación celular (4, 5). La mutación de cualquiera de los componentes principales de TORC1,2 es letal desencadenando el arresto del crecimiento durante el desarrollo embrionario.

A partir de su descripción en levaduras y células animales, la proteína TOR y su compleja vía de señalización comenzaron a describirse en otros eucariontes. Diez años después de su identificación, en el año 2002, se describió TOR en la planta modelo *Arabidopsis thaliana* (6). Hasta el momento, en plantas solo se ha identificado un complejo similar a TORC1, ya que no presentan homólogos a RICTOR. Aunque las funciones de TOR en plantas están conservadas con respecto a otros eucariontes, la señalización río arriba y los mecanismos efectores del complejo requieren elementos específicos que permitan la adaptación al entorno y a señales de desarrollo para la iniciación de nuevos órganos. La investigación actual se centra en el estudio de los estímulos que regulan la actividad de TOR, los efectos de la vía en el crecimiento y aunque menos explorado, la identificación de blancos específicos de plantas. En este artículo presentamos los avances en la identificación de proteínas de la vía TOR en plantas, los principales procesos moleculares que regula y su impacto en el crecimiento y desarrollo en respuesta a estímulos hormonales, nutrientes y condiciones del entorno abiótico.

La vía TOR sensora del metabolismo central está conservada en eucariontes

Los organismos eucariontes sensan las condiciones de su ambiente y en respuesta a estas se produce la adaptación de su metabolismo y cambios en el comportamiento. Algunas de estas variaciones están relacionadas con el entorno biótico o abiótico como infecciones por patógenos, cambios de temperatura, incremento en la competencia por nutrientes, entre otras. La vía TOR se encuentra altamente conservada en eucariontes y es un eje central que percibe el estatus de la célula y en respuesta regula la expresión génica, la distribución de recursos energéticos y nutricionales y permite la adaptación del organismo.

En la levadura *Saccharomyces cerevisiae* se encontró que la rapamicina inhibe el ciclo celular

en la fase G1 y que mutaciones en los genes *fpr1* y *tor1;2* confieren resistencia a su inhibición, por lo que se propusieron como los blancos del fármaco (Figura 1). El gen *fpr1* codifica una prolina isomerasa que participa en el plegamiento de proteínas, denominada FKBP debido a que se une y es inhibida por la molécula FK506. FK506 y la rapamicina tienen actividad inmunosupresora, pero afectan diferentes vías de señalización (3). Por otro lado, se identificaron dos mutantes en genes parálogos denominados *tor1-1* y *tor2-1* que codifican una proteína de la familia PIKK (cinasas similares a PI3K: fosfatidilinositol-3-cinasa) con actividad treonina/serina cinasa.

En células animales se utilizó un acercamiento bioquímico para la identificación de la proteína blanco de rapamicina. En una purificación por afinidad, se encontró asociada al complejo FKBP/rapamicina una proteína, la cual inicialmente se denominó FRAP (*FKBP Rapamycin Associated Protein*). El aislamiento del transcrito permitió demostrar que su secuencia era muy similar a TOR1;2 de levadura y que la proteína es un ligando directo del complejo FKBP/rapamicina (7). TOR se compone de 5 dominios conservados (Fig. 1). El dominio HEAT está formado por repeticiones de aproximadamente 40 aminoácidos que se pliegan en dos α -hélice antiparalelas y está involucrado en la interacción proteína-proteína. El dominio FAT se compone de repeticiones HEAT y tetratricopéptido e interactúa con el dominio cinasa a través de residuos conservados. FRB es el sitio de unión del complejo FKBP12-rapamicina y regula la entrada de sustratos al sitio activo. FATC es un dominio de andamiaje y participa en la conformación del sitio activo. En células animales este dominio es esencial para la actividad catalítica de TOR.

TOR se asocia a RAPTOR y LST8 para formar el complejo TORC1, principal regulador de procesos anabólicos que permiten el crecimiento celular, como la biogénesis de ribosomas, síntesis de DNA y transcripción en respuesta a nutrientes y factores de crecimiento (8). RAPTOR es importante para la localización del complejo en lisosomas y su activación, así como para el reconocimiento de sustratos. LST8 es necesario para la conformación del sitio activo, la actividad catalítica de TOR y posiblemente para la regulación de la entrada de sustratos al sitio activo (9,10). TORC2 contiene LST8 y la proteína regulatoria RICTOR en lugar de RAPTOR. La unión de RICTOR bloquea la asociación de TORC2 con FKBP-12 confirniéndole insensibilidad a la rapamicina. TORC2 también es activado en respuesta a factores de crecimiento e insulina pero controla procesos diferentes a TORC1 como el metabolismo de la glucosa, lipogénesis y migra-

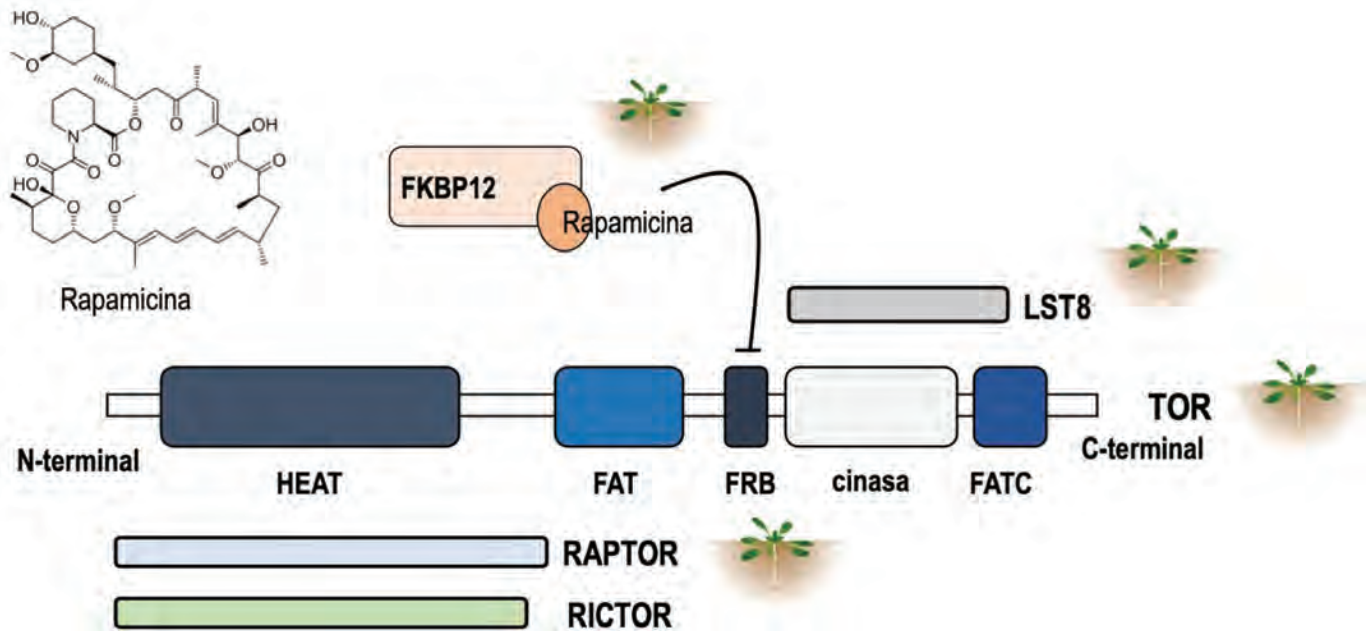


Figura 1. Representación esquemática de los dominios de la proteína TOR y los principales miembros del complejo TORC. TOR se compone de cinco dominios conservados: el dominio HEAT (Huntington, EF3A, ATM, TOR), involucrado en la interacción con otras proteínas y la asociación a membranas; el dominio FAT (Frap, ATM, and TRRA), que participa en el plegamiento del dominio catalítico; el dominio FRB (FKBP12-rapamycin binding domain), importante para la regulación de la proteína; el dominio cinasa; y FATC (FAT del C-terminal), que participa en el control de la accesibilidad de sustratos. La proteína RAPTOR interactúa con el dominio HEAT de TOR y LST8 se une a FATC y al dominio cinasa conformando el complejo TORC1 de animales que es sensible a la rapamicina. Por el contrario, el complejo TORC2 que contiene RICTOR es insensible a la rapamicina. Se indican en la figura las proteínas que presentan homólogos en plantas: FKBP12, RAPTOR, LST8 y TOR.

ción celular a través de sus principales blancos, entre los que se han descrito, la proteína Akt/PKB (*protein kinase B*) y PKC (*protein kinase C*) (11). TOR es esencial para el crecimiento en animales y levadura. La mutación de cualquiera de los componentes principales de TORC1,2 en animales es letal desencadenando el arresto del crecimiento durante el desarrollo embrionario.

A diferencia del acercamiento bioquímico que se utilizó para estudios en animales y levadura, en las plantas se utilizó un método genético para la identificación de TOR. A partir de su similitud con la secuencia codificante de mTOR, se identificó un transcrito y el gen codificante en *Arabidopsis* At1g50030, y maíz NM-00111823 (6,12). AtTOR forma parte de un complejo proteico similar a TORC1 ya que contiene LST8 y RAPTOR. Al igual que en animales, mutantes homocigotas de *tor* no son viables. RAPTOR y LST8 están codificadas por dos genes en *Arabidopsis*. Las mutantes de solo uno de los genes RAPTOR o LST8 son viables, aunque presentan crecimiento reducido. Este fenotipo es similar al que presentan mutantes reducidas en *tor*, en cuanto a crecimiento, desarrollo y perfiles metabólicos (13-15). En plantas, no se han identi-

ficado ortólogos de RICTOR, por lo que se considera que de existir otros complejos TORC en células vegetales, estos serían esencialmente diferentes al complejo TORC2 de animales y levadura.

Tanto RAPTOR como LST8 están relacionados con respuestas a estímulos ambientales. RAPTOR es esencial para el crecimiento post-embrionario en *Arabidopsis* y es blanco de un importante sensor del déficit energético en la célula, denominado SnRK (*Snf1-related kinase*). Su fosforilación conduce a la disociación del complejo y pérdida de actividad. Por otro lado, la mutación en LST8 reduce el crecimiento de la plántula principalmente en condiciones de fotoperiodo largo, y se ha propuesto que la proteína está implicada en la adaptación a cambios de fotoperiodo y deficiencia de fosfato en células vegetales (14-16).

El complejo TOR en plantas controla el crecimiento y desarrollo

Estudios fisiológicos, análisis metabólicos y perfiles de expresión en mutantes reducidas en *tor* por RNAi, *lst8* o *raptor*, así como en presencia de inhibidores ATP competitivos de TOR, señalan a la

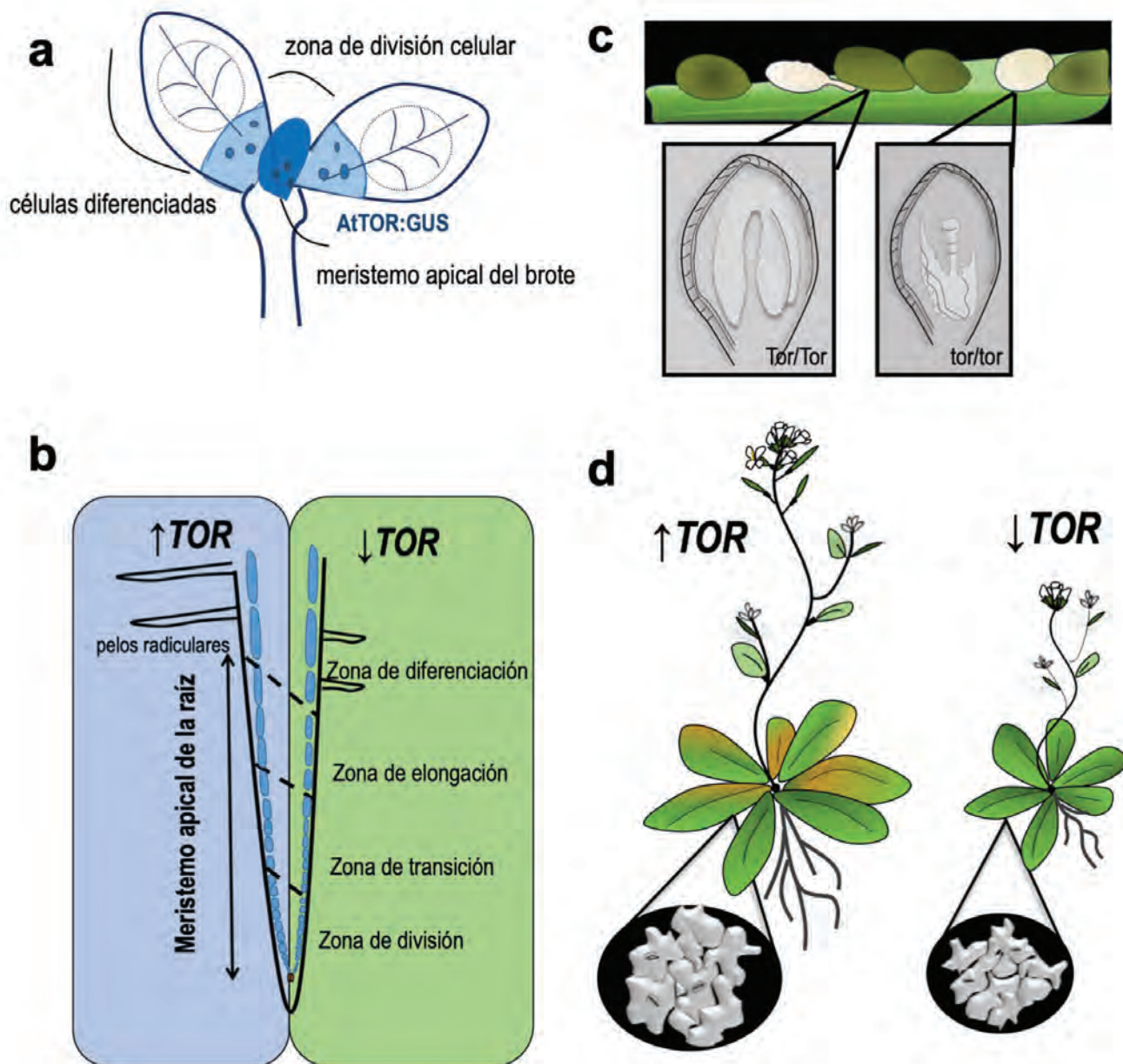


Figura 2. TOR es esencial en el control del crecimiento y desarrollo de las plantas. a) TOR se expresa en zonas meristemáticas del brote, acorde a la actividad del reportero beta-glucuronidasa (GUS; coloración azul) bajo el control del promotor del gen fusionado a la región codificante de TOR de *Arabidopsis thaliana*, AtTOR:GUS (6). b) Cambios en los niveles de TOR modifican la estructura de la raíz. La disminución de la actividad TOR reduce el tamaño del meristemo, adelanta la diferenciación y reduce el crecimiento de pelos radiculares. c) TOR se requiere para el desarrollo embrionario y su ausencia produce el arresto del crecimiento en las primeras divisiones celulares. d) La sobreexpresión de TOR estimula el crecimiento y tamaño celular, e induce la floración y senescencia de la planta, mientras que su inhibición reduce el crecimiento y desencadena retraso en el desarrollo.

vía como un importante actor en la regulación del metabolismo, proliferación y diferenciación celular. TOR se expresa principalmente en los meristemos y controla su tamaño (Fig. 2a,b), mediante la regulación del crecimiento celular en la zona de división, el número de células en proliferación y el paso de células a la zona de diferenciación (Fig. 2b) (17,18).

La inhibición de TOR afecta el crecimiento de la raíz primaria, raíces laterales e hipocotilo mientras que su sobreexpresión conduce a hojas y raíces más grandes (19, 20). Estos fenotipos coinciden con las funciones de TORC1 en mamíferos, por lo que se confirmó la conservación de la vía como regulador central del crecimiento en plantas.

La mutación homocigota de *tor* es letal y provoca el arresto del desarrollo embrionario en las primeras etapas de división (Fig. 2c). La sobreexpresión de TOR induce la floración, senescencia y el llenado temprano de las silicuas (Fig. 2d) (20). Por el contrario, mutantes inducibles por RNAi de *tor*, o nulas para *raptor* o *lst8* presentan retraso en la aparición de hojas y en la floración (13, 14, 19).

TOR regula la síntesis de proteínas, la expresión génica, el ciclo celular, y el metabolismo

Para un crecimiento acelerado se requiere la síntesis activa de proteínas para generar los componentes celulares necesarios para la elongación y división celular. En mamíferos y levadura, se demostró que TOR regula la biogénesis de ribosomas y el inicio de la traducción dependiente de 5'CAP (Fig. 3). La proteína cinasa de S6 (S6K) es un importante

blanco de TOR en la regulación traduccional, ya que controla la producción de rRNA (RNA Polimerasa I) y el inicio de la traducción (eIF4B). Además, TOR controla el inicio de la traducción inactivando a las proteínas 4E-BP (*eIF4E-Binding Proteins*) que inhiben la traducción al secuestrar el factor de unión a 5'CAP eIF4E (*eukaryotic initiation factor 4E*) e impedir el reclutamiento de mRNA por la maquinaria traduccional. La fosforilación de 4E-BP por TOR libera a eIF4E promoviendo la traducción, principalmente de transcritos que son poco reconocidos por la maquinaria traduccional (factores de crecimiento, promotores de mitosis, entre otros) (21).

La función de la vía en la regulación traduccional también se conserva en plantas, donde se ha descrito su importancia para la biogénesis ribosomal y la traducción de mRNA específicos (Fig. 3). En *Arabidopsis thaliana*, TOR se une al promotor del rDNA y desencadena su transcripción (22). Se propuso

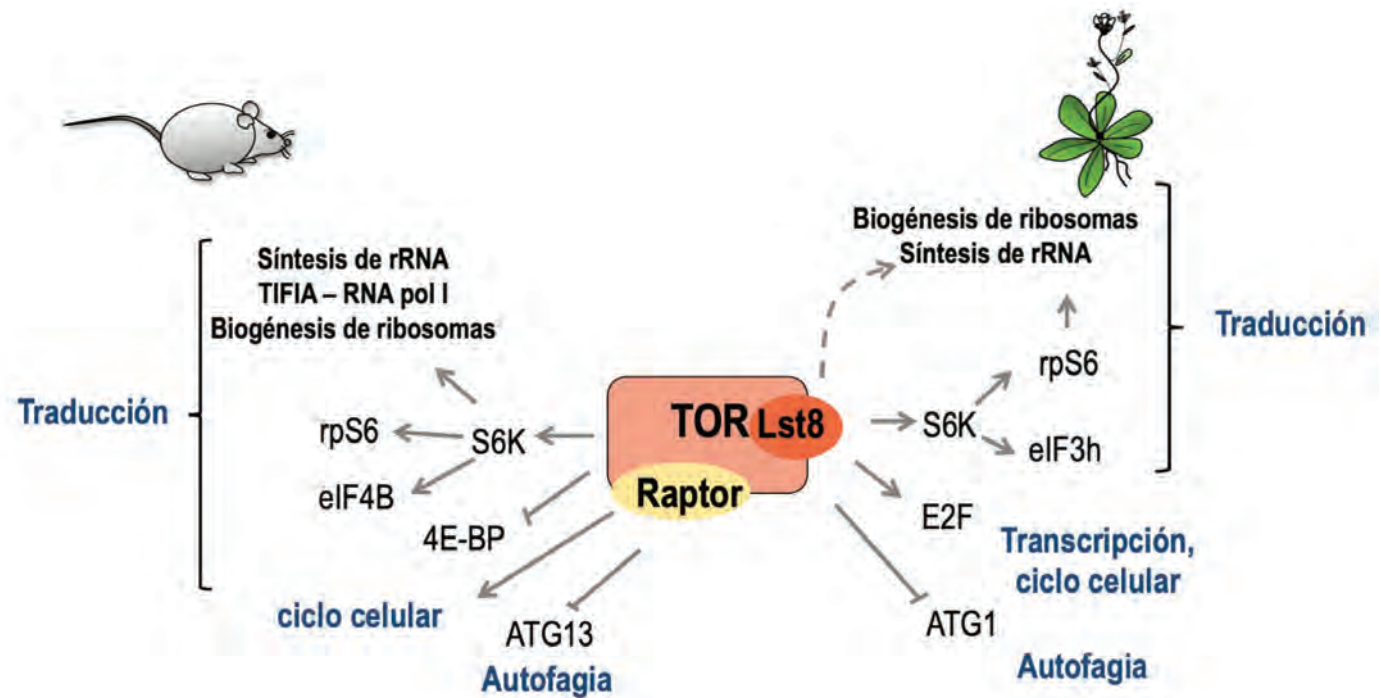


Figura 3. Conservación de procesos regulados por TOR en plantas y animales. TOR controla la traducción, transcripción y autofagia en plantas y animales. Algunos de los principales blancos de TOR se encuentran conservados, como S6K (proteína cinasa de S6) y S6 (proteína ribosomal de la subunidad pequeña). Estas proteínas están involucradas en la biogénesis de ribosomas. Además, TOR activa la transcripción de RNA ribosomal, en animales y plantas. Algunos blancos de la vía TOR involucrados en traducción en animales, como el factor de traducción eIF4B que participa en el escrutinio del 5'UTR de mRNA por la maquinaria traduccional y el factor transcripcional TIFIA que se requiere para la síntesis de RNA ribosomales (rRNA) por la RNA polimerasa I, no se han explorado en plantas. Además, las plantas no presentan homólogos de 4E-BP (proteínas de unión al factor eIF4E) que controlan la traducción de mensajeros importantes para la proliferación celular. Por otra parte, se han descrito mecanismos específicos de plantas que involucran blancos novedosos de TOR como el factor transcripcional E2F de fase S del ciclo celular y el factor de inicio de la traducción eIF3h (*eukaryotic translation initiation factor 3h*) que participa en la traducción de mensajeros que contienen uORF (marco abierto de lectura río arriba del ORF principal). Las proteínas ATG (proteínas relacionadas con autofagia) participan en la formación de autofagosomas y son inhibidas por TOR, tanto en animales como en plantas.

que TOR controla la expresión de rDNA a través de la fosforilación de la proteína ribosomal S6 (rpS6) la cual en estado inactivo (desfosforilación) interactúa con una desacetilasa de histonas que reprime la apertura de cromatina en esta región (23). Cuando rpS6 se fosforila por TOR, se promueve la apertura de la cromatina en esa zona. Además, en la plántula de *Arabidopsis* y ejes embrionarios de maíz se comprobó que TOR participa en la síntesis de proteínas ribosomales (24, 25). La regulación a la baja de la vía TOR conlleva a un decremento en la abundancia de fracciones traduccionalmente activas – polirribosomas – aunque su efecto es menos notable que en células animales (19, 26). En las plantas no se han identificado homólogos conservados de las proteínas 4E-BP, lo que conlleva a un vínculo más débil de la vía con el inicio de la traducción. Sin embargo, TOR participa en la traducción del factor de inicio de la traducción eIF4E el cual se requiere para la traducción de transcritos presentes en la semilla seca de maíz (27).

En *Arabidopsis*, TOR se requiere de manera específica para la traducción de mRNAs que contienen secuencias regulatorias en el 5' UTR denominadas uORF (*upstream Open Reading Frame*) (28). Los uORF inhiben la traducción del marco abierto de lectura principal (mORF) codificado en el mensajero. Su reconocimiento y traducción pueden desacoplar a la maquinaria de traducción del transcrito y anclar el ribosoma hacia el final de la secuencia del uORF impidiendo su avance hacia el mORF o propiciar la desestabilización del mensajero. Los transcritos que contienen uORF codifican para proteínas regulatorias, de señalización y factores transcripcionales que participan en la adaptación a estrés y el control del crecimiento y desarrollo (29, 30). Se propuso que TOR activo mantiene el estado de fosforilación de sus blancos en los complejos traduccionales, que son importantes para que el ribosoma continúe el escrutinio de la región 5' UTR después de la traducción del uORF y alcance el codón de inicio del mORF. Hasta el momento se conoce que la fosforilación de S6K, rpS6 y el factor de inicio de la traducción eIF3h son importantes para este proceso (Fig. 3).

Además de la traducción, TOR tiene un fuerte impacto en la regulación transcripcional en plantas, los principales blancos a nivel de abundancia de transcrito están involucrados en la biogénesis de ribosomas, fotosíntesis, autofagia, respuestas a fitohormonas, metabolismo de la pared celular, síntesis de DNA y regulación transcripcional (31-33). Un blanco fundamental de la vía para la regulación transcripcional, es el factor de transcripción E2F, quien funciona como regulador de la entrada a fase S del ciclo celular. Este es directamente fosforilado por TOR, y su activación conlleva a la inducción de

la maquinaria de replicación y la proliferación celular (33, 34).

El extenso impacto de TOR en la regulación de la expresión génica y la señalización celular en plantas conduce a importantes cambios metabólicos. La disminución de su actividad en plántulas de *Arabidopsis* desencadena un redireccionamiento del flujo de carbono y el uso de nitrógeno en la célula (35). Por un lado, se produce la disminución de procesos anabólicos de consumo de energía como la síntesis de proteínas y DNA. En condiciones normales de suministro de nutrientes y luz, esto conduce a la acumulación de ácidos orgánicos, triacilgliceroles y almidón, funcionando estos últimos como sumidero del carbono celular. Además, en plantas mutantes de *lst8* y reducidas en *tor* por microRNA artificial (amiR), se encontró un aumento de aminoácidos aromáticos y de cadena ramificada. No existe evidencia de que estos cambios se deban al aumento de la síntesis de aminoácidos (35). Sin embargo, se sugiere que podría relacionarse con la degradación de proteínas debido a la inducción de la autofagia en condiciones de inhibición de TOR y a la disminución de su incorporación en proteínas debido a la represión traduccional (19). Interesantemente, también se observaron cambios en el metabolismo de poliaminas, las cuales participan en el reciclaje de nitrógeno y son esenciales para el crecimiento de la planta.

Componentes de la vía y señalización de entrada a TOR en plantas

El complejo TOR de *Arabidopsis* es un centro de integración de señales nutrimentales, hormonales y de crecimiento, que traduce esta información a través de sus blancos, descritos anteriormente, permitiendo la adaptación sistémica a los cambios del entorno. Los actores proteicos de la vía de señalización de entrada a TOR han sido poco caracterizados en plantas. Es importante señalar que algunos de los componentes principales de las rutas de señalización que convergen en TOR en mamíferos no tienen ortólogos en plantas (36, 37). No obstante, la disponibilidad de genomas secuenciados ha permitido explorar la homología y proponer posibles integrantes de la ruta en plantas (Fig. 4).

En células animales el fosfatidil-inositol-3-fosfato (PI3P) es un importante señalizador celular que activa a la proteína PDK (*phosphoinositide-dependent kinase*) desencadenando la activación de TOR. Sin embargo, las plantas carecen de homólogos para la principal cinasa productora de PI3P de animales, una PI3K de clase I. Por otro lado, las proteínas PI3K de clase III, como la Vps34 (*vacuolar protein sorting 34*), catalizan la forma-

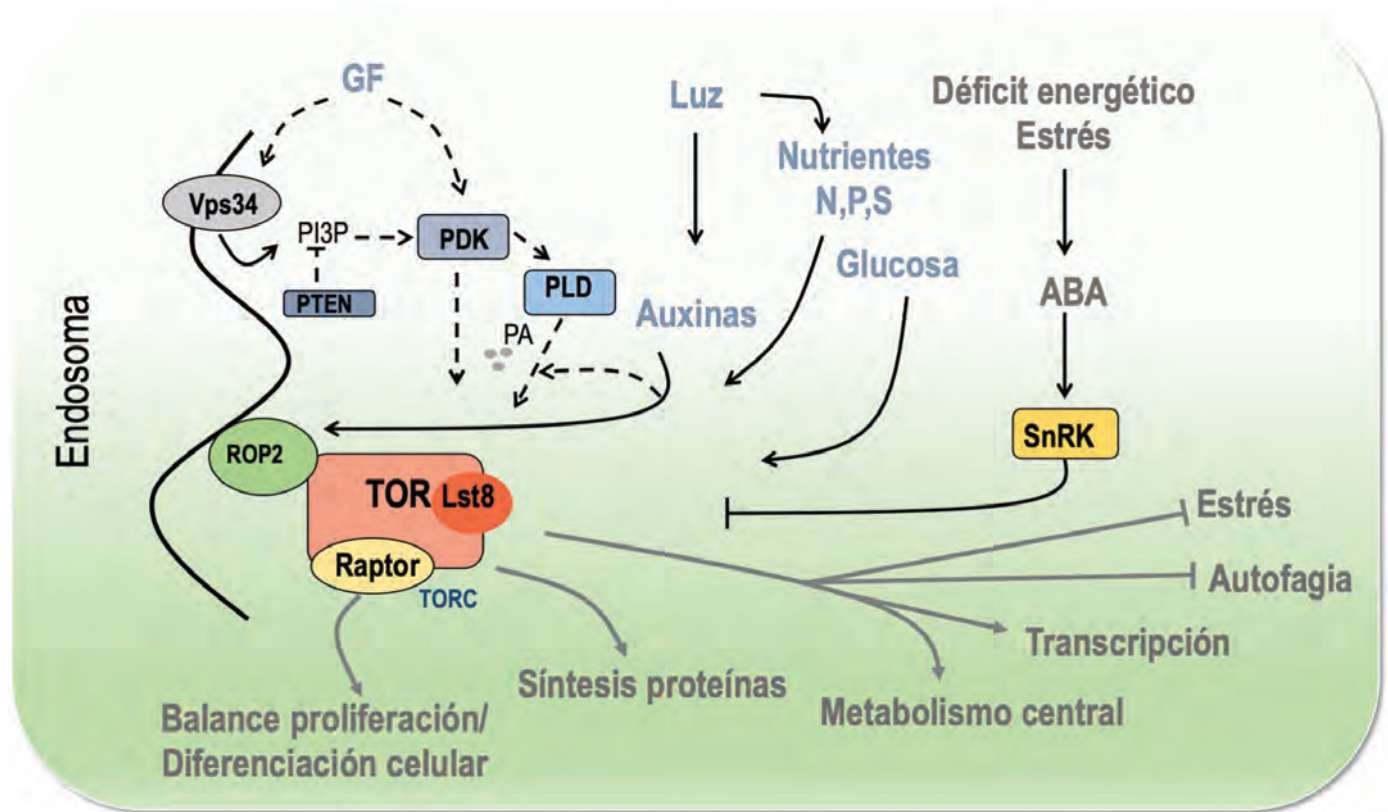


Figura 4. Componentes y señalización de entrada a la vía TOR en plantas y procesos a los que regulan.

TORC recibe las señales relacionadas con la disponibilidad de nutrientes, energía, factores de crecimiento (GF) y condiciones de estrés en la célula y mediante el control de la actividad de sus proteínas blanco regula la expresión génica, el metabolismo, la proliferación celular y la adaptación a estrés en las plantas. Aunque la conexión entre factores de crecimiento y TOR no se conoce con detalle en plantas (flechas discontinuas), se ha propuesto un rol para la producción localizada de fosfatidilinositol-3-fosfato (PI3P) por Vps34 (vacuolar protein sorting-34) y la activación de la proteína cinasa dependiente de fosfoinositoles (PDK). PDK podría activar directamente al complejo TORC, o a través de la producción de ácido fosfatídico (PA), un activador directo de TOR en animales, por la enzima fosfolipasa-D (PLD). Por otra parte, la fosfatasa PTEN (phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10) se ha propuesto como punto de control para la abundancia de PI3P. Una señal bien caracterizada en plantas, es la activación de TORC por auxinas. En este caso, la localización del complejo en endosomas permite su activación por la pequeña GTPasa ROP (proteína similar a Rho) en respuesta a la hormona vegetal. En condiciones de déficit energético y estrés otra fitohormona, ácido abscísico (ABA), activa la cinasa SnRK (cinasa similar a Snf1) que fosforila a Raptor e inhibe la formación del complejo y su actividad.

ción de PI3P a partir de fosfatidilinositol y tienen secuencias homólogas en plantas (36, 37). Estas cinasas se relacionan con el tráfico vesicular, la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y respuesta a estrés. Aunque el vínculo directo entre Vps34 y TOR no se ha descrito en plantas, las mutantes de ambos genes comparten fenotipos como la inhibición del crecimiento de pelos radiculares y la acumulación de prolina. La PDK de *Arabidopsis* se une a una amplia gama de fosfolípidos, específicamente a fosfoinositoles, cuya abundancia es controlada por la fosfatasa PTEN (*phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10*). Sin embargo, la función de estas proteínas en la

señalización hacia TOR no se ha comprobado aún en plantas. En células animales, en respuesta a altos niveles de nutrientes se produce ácido fosfatídico (PA) que activa TOR a través de su unión al dominio FRB. En plantas, se ha propuesto que la señalización por fitohormonas induce la producción de ácido fosfatídico derivado de PI3P por la enzima fosfolipasa D (PLD) (38) lo cual podría contribuir a la activación de TOR (37).

Entre las señales más estudiadas río arriba de TOR en plantas se encuentra la disponibilidad de nutrientes (luz, azúcares) y la presencia de hormonas vegetales como las auxinas (ácido indolacético y análogos) o el ácido abscísico (ABA) (39). La glucosa

y la luz son indispensables para la activación de TOR en el meristemo apical del brote, lo que permite la transición de la plántula al estadio fotoautotrófico (34). Aunque no se conocen los actores en la señalización de glucosa y luz hacia TOR, la activación de la cinasa depende de la obtención, a partir de la glucosa, de energía en forma de ATP en la mitocondria. La proteína SnRK es un importante sensor de la disponibilidad de energía en forma de ATP en la célula, señalándola como un candidato en la regulación de TOR mediada por glucosa.

La disponibilidad de nutrientes provenientes del suelo controla el crecimiento de la planta e impacta en la actividad de TORC1. La deficiencia de nitrógeno disminuye la actividad de TOR, mientras que la sobreexpresión de TOR permite a la planta mantener su crecimiento en exceso de nitrógeno (19). Por otro lado, existe una estrecha conexión entre la asimilación de fósforo, la producción de energía y la respuesta a estrés. Aunque en las plantas no se conoce cómo impactan los niveles de fosfato en la actividad de TOR, estudios en el alga unicelular *C. reinhardtii* muestran que la deficiencia de fosfato disminuye los niveles de LST8 y la actividad de TOR (16). Además, la deficiencia de azufre produce fenotipos asociados con la regulación de TOR a la baja, tales como la disminución en la actividad fotosintética, RNA ribosomales y la inducción de la autofagia. Curiosamente, estos defectos son parcialmente revertidos por la adición de glucosa al medio y la restauración de la actividad de TOR (40).

En la incipiente raíz de *Arabidopsis*, la glucosa y las auxinas dirigen el crecimiento a través de TOR. Las auxinas activan las proteínas ROP (*Rho like proteins*), GTPasa similares a Rho de animales, que se unen a TOR a través de un dominio rico en lisinas, induciendo la asociación del complejo a la membrana de endosomas y su activación (Fig. 4) (41). A su vez TOR controla la producción de auxinas y su maquinaria de percepción y respuesta, formando un lazo de retroalimentación positiva (28, 31). Particularmente, se describieron los factores transcripcionales de respuesta a auxinas como blancos traduccionales de TOR, en concordancia con la interconexión entre ambas vías en la generación de raíces secundarias, la activación del meristemo apical del brote y la proliferación de células en cultivo (31, 34, 42).

Las condiciones de estrés afectan la actividad de TOR. La señalización mediada por ABA induce la actividad de la proteína SnRK que fosforila a RAPTOR e inhibe al complejo TOR. Así mismo, plantas mutantes de *raptor* o *tor* RNAi presentan una notable sensibilidad en la germinación bajo tratamiento con ABA o estrés osmótico, respectivamente (13, 43). Por el contrario, la sobreexpresión de TOR protege a las plántulas del estrés osmótico, salino

y ante la deficiencia de agua. Por lo que se ha propuesto que TOR protege la actividad fotosintética e induce la expresión de genes de señalización y protección en la respuesta a estrés, aliviando así la restricción de crecimiento impuesta por el estrés (44).

Conclusiones y perspectivas

La vía TOR tiene un importante impacto en el control metabólico y genético, así como en el crecimiento de organismos vegetales y su respuesta a factores ambientales y señales de desarrollo. La mayor parte de la información disponible para plantas proviene del modelo *Arabidopsis thaliana*, donde se han descrito los homólogos de la vía de señalización por TOR y algunos de los procesos moleculares que controla. Estos hallazgos demuestran que aunque se conservan muchos de los efectos de la vía, en comparación con otros eucariontes, existen diferencias esenciales que contribuyen a la plasticidad inherente de las plantas en respuesta a señales de fitohormonas, disponibilidad de nutrientes y luz. Los estudios existentes presentan a la vía como un llamativo blanco para el mejoramiento de cultivos y procesos biotecnológicos (Fig. 5). Por un lado la reducción de la actividad de TOR impacta en el flujo de carbono favoreciendo la acumulación de fuentes de biocombustible como el almidón y triacilglicerol y fijación del nitrógeno. Además, importantes moléculas en la señalización y respuesta a estrés como la prolina, trehalosa y poliaminas son reguladas por la actividad de TOR permitiendo la adaptación de la planta a estas condiciones. Uno de los mayores retos en el desarrollo de cultivos resistentes a estrés es mantener la biomasa y el rendimiento. De acuerdo a hallazgos pioneros, la sobreexpresión de AtTOR en *Arabidopsis* y arroz favorece el tamaño de la inflorescencia y el número de semillas. Sin embargo, la manipulación de la vía TOR podría inducir cambios en la duración del ciclo de vida de la planta representando una desventaja en campo. Por lo tanto, el desarrollo de sistemas inducibles de expresión o silenciamiento de los componentes de la vía y su expresión tejido específica podría proporcionar resultados más refinados. Hasta el momento existen pocos avances en el estudio de la vía TOR en plantas agrónomicamente importantes como cereales y leguminosas. La caracterización del(los) complejo(s) TOR vegetal, sus interactores, blancos y señales que lo regulan, así como la implementación de métodos globales de caracterización metabólica y proteómica de mutantes de la vía en cultivos de interés agronómico, permitirán entender las funciones de TOR dentro de la planta e impulsar estrategias de mejoramiento.

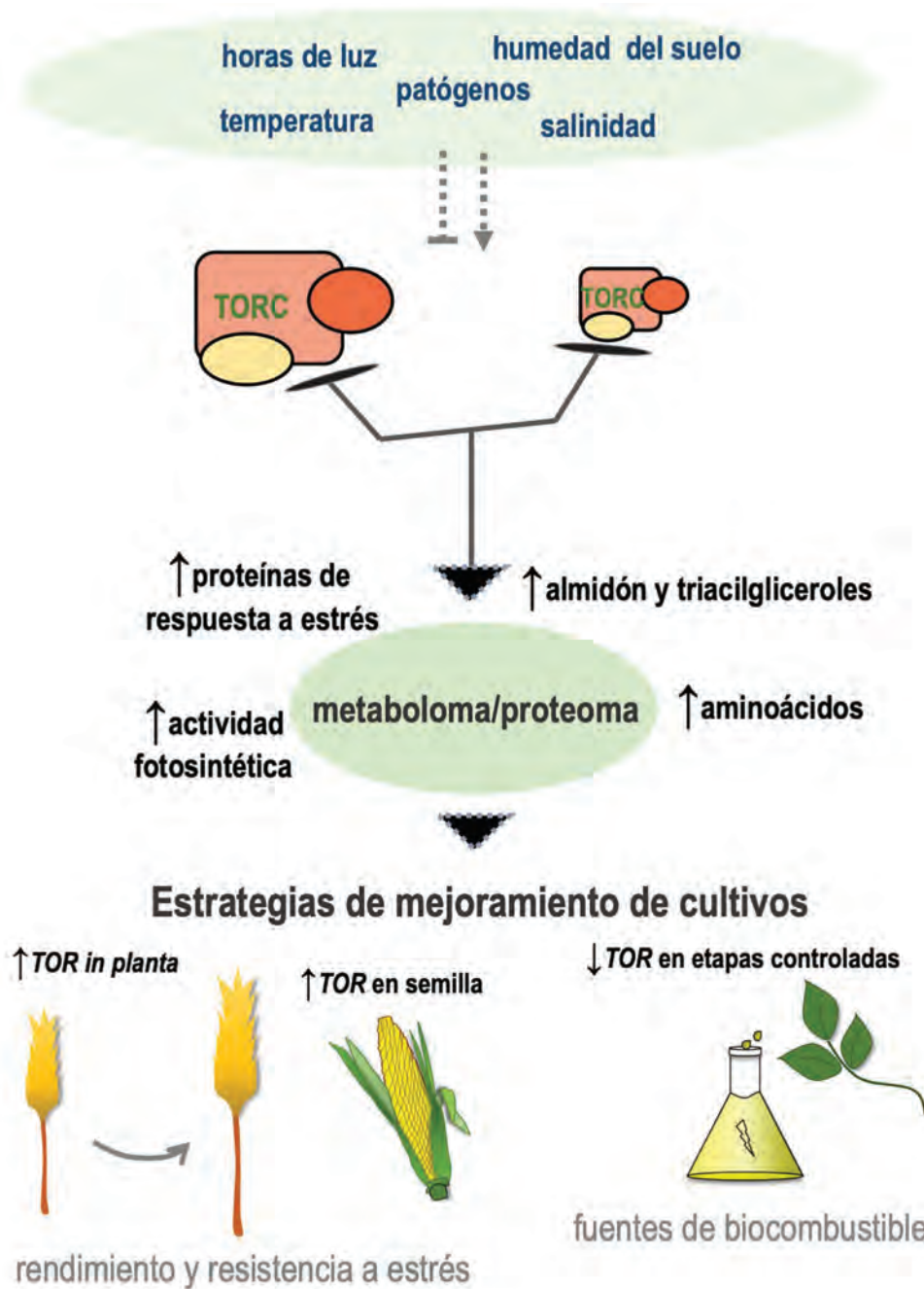



Figura 5. Aproximaciones futuras a la vía de TOR en cultivos y su aplicación en procesos biotecnológicos. TOR percibe una variedad de señales ambientales que impactan en su actividad y a través de sus blancos en el metaboloma y proteoma de la planta. La modificación de la actividad del complejo TOR en determinadas etapas de desarrollo o tejidos particulares en cultivos de interés agronómico, así como el estudio de sus efectos a nivel del metabolismo central en la planta, permitirán el diseño de estrategias para el mejoramiento de cultivos y sus usos biotecnológicos. Algunas posibilidades atractivas serían la obtención de plantas con mayor crecimiento y/o rendimiento y el aumento en la producción de fuentes de biocombustible como almidón y triacilgliceroles.

Agradecimientos

El trabajo desarrollado por las autoras sobre la regulación de la vía TOR en la germinación y establecimiento de la plántula de maíz ha sido

parcialmente financiado por el proyecto PAPIIT-UNAM IN214118 y por Facultad de Química proyecto PAIP 5000-9118. Kenia Salazar Díaz fue receptora de una beca doctoral del CONACyT (registro 576830). 

REFERENCIAS

1. Fonseca, B.D., Graber, T.G., Hoang, H.D., González, A., Hernández, G., Alain, T., Swift, S.L., Weisman, R., Meyer, C., Robaglia, C., et al. (2016). Evolution of TOR and translation control. En: *Evolution of the Protein Synthesis Machinery and Its Regulation*. Editor: Springer International Publishing, Suiza, pp 327–411.
2. Shi, L., Wu, Y., and Sheen, J. (2018). TOR signaling in plants: conservation and innovation. *Development* 145.
3. Heitman J, Movva NR, Hall MN (1991). Targets for cell cycle arrest by the immunosuppressant rapamycin in yeast. *Science* 253:905-909.
4. Martin, D.E., and Hall, M.N. (2005). The expanding TOR signaling network. *Curr. Opin. Cell Biol.* 17:158–166.
5. Sarbassov, D.D., Ali, S.M., Kim, D.-H., Guertin, D.A., Latek, R.R., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., and Sabatini, D.M. (2004). Rictor, a novel binding partner of mTOR, defines a rapamycin-insensitive and raptor-independent pathway that regulates the cytoskeleton. *Curr. Biol.* 14:1296–1302.
6. Menand, B., Desnos, T., Nussaume, L., Berger, F., Bouchez, D., Meyer, C., and Robaglia, C. (2002). Expression and disruption of the Arabidopsis TOR (target of rapamycin) gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99: 6422–6427.
7. Sabers, C.J., Martin, M.M., Brunn, G.J., Williams, J.M., Dumont, F.J., Wiederrecht, G., and Abraham, R.T. (1995). Isolation of a Protein Target of the FKBP12-Rapamycin Complex in Mammalian Cells. *J. Biol. Chem.* 270:815–822.
8. Wullschleger, S., Loewith, R., and Hall, M.N. (2006). TOR signaling in growth and metabolism. *Cell* 124:471–484.
9. Schalm, S.S., and Blenis, J. (2002). Identification of a conserved motif required for mTOR signaling. *Curr. Biol.* 12:632–639.
10. Yang, H., Rudge, D.G., Koos, J.D., Vaidialingam, B., Yang, H.J., and Pavletich, N.P. (2013). mTOR kinase structure, mechanism and regulation. *Nature* 497:217–223.
11. Luo, Y., Xu, W., Li, G., and Cui, W. (2018). Weighing In on mTOR Complex 2 Signaling: The Expanding Role in Cell Metabolism. *OXID* 2018:15.
12. Agredano-Moreno, L.T., Reyes de la Cruz, H., Martínez-Castilla, L.P., and Sánchez de Jiménez, E. (2007). Distinctive expression and functional regulation of the maize (*Zea mays* L.) TOR kinase ortholog. *Mol Biosyst* 3:794–802.
13. Anderson, G.H., Veit, B., and Hanson, M.R. (2005). The Arabidopsis AtRaptor genes are essential for post-embryonic plant growth. *BMC Biol.* 3:12.
14. Moreau, M., Azzopardi, M., Clément, G., Dobrenel, T., Marchive, C., Renne, C., Martin-Magniette, M.-L., Taconnat, L., Renou, J.-P., Robaglia, C., et al. (2012). Mutations in the Arabidopsis Homolog of LST8/GβL, a Partner of the Target of Rapamycin Kinase, Impair Plant Growth, Flowering, and Metabolic Adaptation to Long Days. *Plant Cell* 24:463–481.
15. Salem, M.A., Li, Y., Bajdzienko, K., Fisahn, J., Watanabe, M., Hoefgen, R., Schöttler, M.A., and Giavalisco, P. (2018). RAPTOR Controls Developmental Growth Transitions by Altering the Hormonal and Metabolic Balance. *Plant Physiol.* 177:565–593.
16. Couso, I., Pérez-Pérez, M.E., Ford, M.M., Martínez-Force, E., Hicks, L.M., Umen, J.G., and Crespo, J.L. (2020). Phosphorus Availability Regulates TORC1 Signaling via LST8 in *Chlamydomonas*. *Plant Cell* 32:69–80.
17. Díaz-Granados, V.H., López-López, J.M., Flores-Sánchez, J., Olguin-Alor, R., Bedoya-López, A., Dinkova, T.D., Salazar-Díaz, K., Vázquez-Santana, S., Vázquez-Ramos, J.M., and Lara-Núñez, A. (2020). Glucose modulates proliferation in root apical meristems via TOR in maize during germination. *Plant Physiology and Biochemistry* 155:126–135.
18. Montané, M.-H., and Menand, B. (2013). ATP-competitive mTOR kinase inhibitors delay plant growth by triggering early differentiation of meristematic cells but no developmental patterning change. *J. Exp. Bot.* 64:4361–4374.
19. Deprost, D., Yao, L., Sormani, R., Moreau, M., Leterreux, G., Nicolai, M., Bedu, M., Robaglia, C., and Meyer, C. (2007). The Arabidopsis TOR kinase links plant growth, yield, stress resistance and mRNA translation. *EMBO Rep.* 8. 864–870.
20. Ren, M., Venglat, P., Qiu, S., Feng, L., Cao, Y., Wang, E., Xiang, D., Wang, J., Alexander, D., Chalivendra, S., et al. (2012). Target of rapamycin signaling regulates metabolism, growth, and life span in Arabidopsis. *Plant Cell* 24:4850–4874.
21. Ma, X.M., and Blenis, J. (2009). Molecular mechanisms of mTOR-mediated translational control. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 10:307–318.
22. Ren, M., Qiu, S., Venglat, P., Xiang, D., Feng, L., Selvaraj, G., and Datla, R. (2011). Target of rapamycin regulates development and ribosomal RNA expression through kinase domain in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 155:1367–1382.

23. Kim, Y.-K., Kim, S., Shin, Y., Hur, Y.-S., Kim, W.-Y., Lee, M.-S., Cheon, C.-I., and Verma, D.P.S. (2014). Ribosomal Protein S6, a Target of Rapamycin, Is Involved in the Regulation of rRNA Genes by Possible Epigenetic Changes in Arabidopsis. *J Biol Chem* 289:3901–3912.
24. Dobrenel, T., Mancera-Martínez, E., Forzani, C., Azzopardi, M., Davanture, M., Moreau, M., Schepetilnikov, M., Chicher, J., Langella, O., Zivy, M., et al. (2016). The Arabidopsis TOR Kinase Specifically Regulates the Expression of Nuclear Genes Coding for Plastidic Ribosomal Proteins and the Phosphorylation of the Cytosolic Ribosomal Protein S6. *Front Plant Sci* 7: 1611.
25. Jiménez-López, S., Mancera-Martínez, E., Donayre-Torres, A., Rangel, C., Uribe, L., March, S., Jiménez-Sánchez, G., and Sánchez de Jiménez, E. (2011). Expression profile of maize (*Zea mays* L.) embryonic axes during germination: translational regulation of ribosomal protein mRNAs. *Plant Cell Physiol*. 52:1719–1733.
26. Schepetilnikov, M., Kobayashi, K., Geldreich, A., Caranta, C., Robaglia, C., Keller, M., and Ryabova, L.A. (2011). Viral factor TAV recruits TOR/S6K1 signalling to activate reinitiation after long ORF translation. *EMBO J*. 30:1343–1356.
27. Dinkova, T.D., Cruz, H.R.D.L., García-Flores, C., Aguilar, R., Jiménez-García, L.F., and Jiménez, E.S.D. (2007). Dissecting the TOR–S6K signal transduction pathway in maize seedlings: relevance on cell growth regulation. *Physiologia Plantarum* 130:1–10.
28. Schepetilnikov, M., Dimitrova, M., Mancera-Martínez, E., Geldreich, A., Keller, M., and Ryabova, L.A. (2013). TOR and S6K1 promote translation reinitiation of uORF-containing mRNAs via phosphorylation of eIF3h. *EMBO J*. 32:1087–1102.
29. von Arnim, A.G., Jia, Q., and Vaughn, J.N. (2014). Regulation of plant translation by upstream open reading frames. *Plant Sci*. 214:1–12.
30. Horst, S. van der, Filipovska, T., Hanson, J., and Smeekens, S. (2020). Metabolite Control of Translation by Conserved Peptide uORFs: The Ribosome as a Metabolite Multisensor. *Plant Physiology* 182:110–122.
31. Deng, K., Dong, P., Wang, W., Feng, L., Xiong, F., Wang, K., Zhang, S., Feng, S., Wang, B., Zhang, J., et al. (2017). The TOR Pathway Is Involved in Adventitious Root Formation in Arabidopsis and Potato. *Front Plant Sci* 8.
32. Dong, P., Xiong, F., Que, Y., Wang, K., Yu, L., Li, Z., and Ren, M. (2015). Expression profiling and functional analysis reveals that TOR is a key player in regulating photosynthesis and phytohormone signaling pathways in Arabidopsis. *Front. Plant Sci*. 6: 677.
33. Xiong, Y., McCormack, M., Li, L., Hall, Q., Xiang, C., and Sheen, J. (2013). Glucose-TOR signalling reprograms the transcriptome and activates meristems. *Nature* 496:181–186.
34. Li, X., Cai, W., Liu, Y., Li, H., Fu, L., Liu, Z., Xu, L., Liu, H., Xu, T., and Xiong, Y. (2017). Differential TOR activation and cell proliferation in Arabidopsis root and shoot apices. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 114:2765–2770.
35. Caldana, C., Li, Y., Leisse, A., Zhang, Y., Bartholomaeus, L., Fernie, A.R., Willmitzer, L., and Giavalisco, P. (2013). Systemic analysis of inducible target of rapamycin mutants reveal a general metabolic switch controlling growth in Arabidopsis thaliana. *Plant J*. 73:897–909.
36. Jacinto, E., and Hall, M.N. (2003). Tor signalling in bugs, brain and brawn. *Nat Rev Mol Cell Biol* 4:117–126.
37. Rexin, D., Meyer, C., Robaglia, C., and Veit, B. (2015). TOR signalling in plants. *Biochem. J*. 470:1–14.
38. Bögre L, Henriques R, Magyar Z. (2013). TOR tour to auxin. *EMBO J*. 8:1069-1071.
39. Xiong, Y., and Sheen, J. (2015). Novel links in the plant TOR kinase signaling network. *Curr. Opin. Plant Biol*. 28:83–91.
40. Dong, Y., Silbermann, M., Speiser, A., Forieri, I., Linster, E., Poschet, G., Allboje Samami, A., Wanatabe, M., Sticht, C., Teleman, A.A., et al. (2017). Sulfur availability regulates plant growth via glucose-TOR signaling. *Nat Commun* 8:1174.
41. Schepetilnikov, M., Makarian, J., Srour, O., Geldreich, A., Yang, Z., Chicher, J., Hammann, P., and Ryabova, L.A. (2017). GTPase ROP2 binds and promotes activation of target of rapamycin, TOR, in response to auxin. *EMBO J* 36:886–903.
42. Turck, F., Zilbermann, F., Kozma, S.C., Thomas, G., and Nagy, F. (2004). Phytohormones Participate in an S6 Kinase Signal Transduction Pathway in Arabidopsis. *Plant. Physiol*. 134: 1527–1535.
43. Wang, P., Zhao, Y., Li, Z., Hsu, C.-C., Liu, X., Fu, L., Hou, Y.-J., Du, Y., Xie, S., Zhang, C., et al. (2018). Reciprocal Regulation of the TOR Kinase and ABA Receptor Balances Plant Growth and Stress Response. *Mol. Cell* 69:100-112.
44. Bakshi, A., Moin, M., Kumar, M.U., Reddy, A.B.M., Ren, M., Datla, R., Siddiq, E.A., and Kirti, P.B. (2017). Ectopic expression of Arabidopsis Target of Rapamycin (AtTOR) improves water-use efficiency and yield potential in rice. *Sci Rep* 7:42835.