

Capítulo XV

Hormonas y Reguladores del Crecimiento: Auxinas, Giberelinas y Citocininas

Miguel Jordán¹ y José Casaretto²

CONCEPTO DE HORMONA

Las hormonas en plantas, vinculadas con todas las respuestas morfogénicas durante la ontogenia de las plantas, son relativamente escasas en número. Un análisis conjunto de todas ellas, desde su descubrimiento en la década de 1930, se resumen los siguientes conceptos:

1. A pesar de su escaso número (menor a diez), se encuentran sin embargo en todas las plantas terrestres y acuáticas de aguas dulces, de diferentes formas, hábitats, ciclos y formas de vida, ya sea en plantas geófitas, arbustivas como igualmente en árboles de gran altura y en todas las especies distribuidas en las más diferentes familias botánicas.
2. Aún, a pesar del relativo escaso número de ellas y, al contrario que en organismos animales, su interacción permite regular todas las respuestas de crecimiento y desarrollo durante la ontogenia de las plantas.
3. Se trata de compuestos de estructura química relativamente simple; que no cuentan con grupos proteicos asociados. Uno de ellos, el etileno, es además de naturaleza gaseosa.
4. No se caracterizan por generar un efecto específico; es decir, su acción puede derivar en varios efectos diferentes a corto y/o a largo plazo.
5. A diferencia de la generalidad de hormonas animales, algunas pueden tener acción en los mismos sitios de su síntesis.
6. En algunos casos, la presencia y acción conjunta de dos fitohormonas (por ejemplo auxinas y citocininas) puede inducir y fijar un tipo determinado de expresión morfogénica de acuerdo a los niveles relativos entre sí, o de cada una de ellas, en un tejido. Así por ejemplo, auxinas y citocininas, de acuerdo a su nivel relativo pueden conducir a la formación de brotes, alternativamente de raíces y/o a la proliferación de masas celulares sin mayor organización.
7. Algunas parecen tener sitios o receptores comunes a nivel de membrana.
8. Existen compuestos denominados "reguladores de crecimiento", que pueden ser de

¹ Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. Av. Libertador Bernardo O'Higgins 340, Santiago, Chile. E-mail: mjordan@bio.puc.cl

² Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca. E-mail: jcasaretto@utalca.cl

naturaleza química diferente a algunas hormonas y/o "desconocidas o nunca codificadas" por el metabolismo celular, que pueden igualmente desarrollar efectos semejantes a hormonas endógenas naturales. Algunas de ellas provocan respuestas más intensas que los compuestos naturales a igual concentración molar. Al mismo tiempo algunas de estas sustancias sintéticas de acción afín también pueden ser reconocidos por receptores específicos de hormonas naturales (por ejemplo: auxina y reguladores no naturales del "tipo auxina").

En estos dos capítulos se describen las fitohormonas más importantes: auxinas, giberelinas, citocininas, etileno y ácido abscísico y otras cuya importancia en distintos procesos de crecimiento y desarrollo ha sido dilucidada más recientemente: brasinoesteroides, ácido jasmónico, ácido salicílico y poliaminas. Otros compuestos como la turgorinas, sistemina, fitosulfoquinas cuya acción es limitada a uno o muy pocos procesos fisiológicos o bien sólo actúan en muy pocas especies, generalmente no son por hoy todavía consideradas como reguladores de crecimiento y no serán analizadas.

Crecimiento y Desarrollo

Es sorprendente que un número tan bajo de hormonas en las plantas de cuenta de la morfogénesis particular que se expresa en tantos tipos de plantas con la más diversa morfología. Consideremos por ejemplo que en primates, animales que poseen una mayor semejanza entre sí, sin embargo su pool hormonal es mucho más amplio.

La presencia de hormonas en diferentes niveles en las plantas y sus células, permite que éstas desarrollen caminos morfogénicos alternativos muy distintos, los cuales pueden darse todos de acuerdo al grado de ontogenia. Lo más general es que las células en crecimiento por acción de varias hormonas expresen división y elongación celular; sin embargo, y especialmente bajo condiciones *in vitro*, se ha observado que tales células inician procesos de diferenciación bajo ciertos niveles hormonales, por ejemplo, generación de elementos xilemáticos. A nivel tisular en cambio las respuestas pueden ser más sorprendentes. Si se combinan diferentes niveles de auxinas y citocininas pueden darse varias respuestas alternativas: la presencia de niveles relativamente altos de ambas hormonas conduce solo a una multiplicación celular con escasa diferenciación. Si existiese un nivel relativamente alto de citocininas vs. auxinas, el tejido manifiesta la formación de nuevos brotes a cambio de la intensa proliferación celular vista antes. Si por el contrario, los niveles de ambas hormonas se invierten de manera de tener una relación más alta de auxinas vs. citocininas, la expresión del tejido cambia y se originan raíces. De manera que, las células vegetales que cuentan con núcleo y tienen un grado de diferenciación relativo, pueden bajo ciertas condiciones revertir a su estado meristemático y expresar luego diferentes respuestas conducentes todas a la generación de órganos y plantas. Se trata de células totipotentes. Esta propiedad se ha usado en ciencia y tecnología permitiendo regenerar plantas fértiles en forma masiva *in vitro* a partir de células y a la vez, lograr los avances en ingeniería genética. Con ello se han generando plantas modificadas a partir de células que han recibido y codificado positivamente nuevos genes insertos que se expresan en plantas viables y son reproducibles genéticamente y fielmente en el tiempo, mediante el potencial de la biotecnología derivada de la totipotencia celular vegetal.

AUXINAS

Uno de los ensayos más antiguos sobre crecimiento vegetal implicó estudios sobre la biología y mecanismos de acción de las auxinas, las primeras hormonas vegetales en ser descubiertas. El primer indicio de su existencia se derivó de experimentos realizados por Darwin

quien analizó los efectos de una sustancia hipotética presente en el ápice de coleoptilos de avena sobre el crecimiento de plántulas hacia una señal de luz (El coleoptilo corresponde a una estructura "tubular" semejante a una hoja hueca que envuelve y protege a la plúmula durante los primeros estados de desarrollo en gramíneas. Sus células crecen sólo por elongación). Más tarde los ensayos de Boysen-Jensen (en 1913) y Paál (en 1919) también en coleoptilos, llevaron a postular la presencia de sustancias que serían transportadas de forma polarizada desde el ápice del coleoptilo hacia la base de éste para provocar la respuesta fototrópica de la planta. Estas pruebas culminaron con los experimentos de Fritz Went en 1926, quien aisló esta "sustancia promotora de crecimiento" desde los ápices, la transfirió a trozos de agar y la aplicó de esta manera a coleoptilos decapitados induciendo la curvatura en respuesta al posicionamiento de la auxina, sin mediar una señal lumínica. El término auxina, proviene del griego "auxein" significa "crecer", que fue aplicado pocos años después por Kögl y Haagen-Smith al examinar una sustancia promotora de crecimiento vegetal presente en orina humana pero de estructura diferente a la hormona vegetal. La hormona vegetal fue luego aislada desde maíz y hongos e identificada más tarde como ácido indol-3-acético (Thimann 1977).

Las auxinas son un grupo de hormonas vegetales naturales que regulan muchos aspectos del desarrollo y crecimiento de plantas. La forma predominante en las plantas es el ácido indolacético (IAA), muy activo en bioensayos y presente comúnmente en concentraciones nanomolares. Otras formas naturales de auxinas son el ácido 4-cloro-indolacético (4-Cl-IAA), ácido fenilacético (PAA), ácido indol butírico (IBA) y el ácido indol propiónico (IPA; Ludwig-Müller & Cohen 2002).

Síntesis y degradación

Aunque las auxinas se encuentran en todos los tejidos de la planta, una mayor concentración ocurre en las regiones que están en crecimiento activo. La síntesis de IAA ocurre principalmente en meristemos apicales, hojas jóvenes y frutos en desarrollo. Plántulas de *Arabidopsis* pueden sintetizar IAA en hojas, cotiledones y raíces, siendo las hojas jóvenes las de mayor capacidad sintética. Aunque se sabe que las plantas tienen varias rutas para sintetizar IAA, ninguna de estas rutas ha sido definida al detalle de conocer cada una de las enzimas e intermediarios. Las plantas usan dos rutas biosintéticas para producir IAA, una dependiente del triptófano (Trp) y otra independiente de él, siendo la primera la más importante y de la que se tiene más información. La síntesis de Trp es una de las más complicadas entre todos los aminoácidos, involucrando cinco pasos desde corismato (Fig. 1).

Las rutas de síntesis del IAA que se conocen hoy en día se basan en evidencias obtenidas a partir de la identificación de intermediarios, la actividad biológica de éstos y la identificación de enzimas capaces de convertir algún intermediario en IAA o algún precursor de éste. La síntesis de IAA puede derivar del triptófano por cuatro vías: (1) por descarboxilación para producir triptamina (TAM), (2) por oxigenación para originar indolacetamida (IAM); (3) por transaminación para producir ácido indol-3-pirúvico (IPA) y (4) por oxigenación para producir indol-3-acetaldoxima (IAOx). La ruta vía IAM es una ruta sintética descrita en bacterias que también puede ocurrir en plantas. En *Agrobacterium tumefaciens* y *Pseudomonas syringae*, la enzima Trp monooxigenasa convierte el Trp a IAM y una IAM hidrolasa convierte IAM en IAA. IAM se encuentra en *Arabidopsis* a niveles similares que IAA y se sabe que la enzima aminohidrolasa (AMI1) puede convertir IAM en IAA *in vitro* (Pollmann et al. 2003). La ruta vía IPA es también importante en algunos microorganismos y puede ocurrir en plantas (Normanly, 1997). Se ha aislado IPA en plantas, pero las enzimas que convierten Trp en IPA o IPA a IAA aún no han sido identificadas. La conversión de Trp a IAOx es catalizada por dos enzimas del tipo citocromo P450, llamadas CYP79B2 y CYP79B3 en *Arabidopsis* (Hull et al. 2000). IAOx constituye un punto común para la síntesis de IAA y de compuestos secundarios conocidos como glucosinolatos indólicos (Bak et al. 2001). Mutantes de *Arabidopsis* que carecen de estas dos citocromos P450 presentan niveles algo reduci-

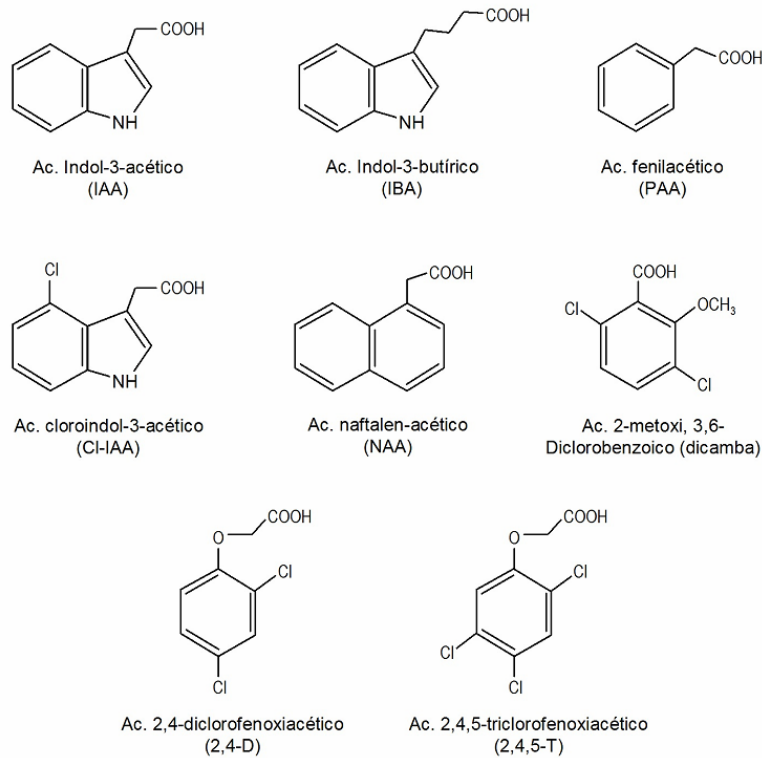


Fig. 1. Estructura de algunas auxinas naturales (IAA, IBA, PAA, Cl-IAA) y sintéticas (NAA, dicamba, 2,4-D y 2,4,5-T).

dos de IAA y niveles casi no detectables de glucosinolatos indólicos, lo que ratifica al IAox como intermediario común (Fig. 1). Varios glucosinolatos son de mucho interés, no sólo por constituir una fuente de auxinas conjugadas, sino también por las características de su sabor y propiedades medicinales antioncogénicas. El intermediario común entre los glucosinolatos indólicos y IAA es el indol-3-acetonitrilo, el cual es convertido a IAA por enzimas nitrilasas (Normanly et al. 1997).

Hace pocos años, sin embargo, investigadores que buscaban genes que regulan elongación de hipocotilos en la oscuridad, hallaron un gen que codifica a una enzima de tipo flavín monooxigenasa (FMO) que resultó ser clave para la síntesis de auxina (Zhao et al. 2002). La planta mutante obtenida tenía hipocotilos largos y dominancia apical pronunciada y hojas que se curvaban hacia abajo, crecimiento característico de una sobreproducción de auxinas. El análisis de estas plantas reveló que, en efecto, éstas presentaban niveles crecientes de auxina. El gen activado en la mutante, llamado YUCCA (por el fenotipo de la mutante similar a la planta de la yuca), pertenece a dos familias de genes del tipo FMO. Tal redundancia explicaría porqué intentos anteriores de varios investigadores para producir mutantes de auxina de tipo "knock-out" no habían sido exitosos. Estudios de esta enzima de tipo FMO revelaron que la enzima sería capaz de catalizar la oxigenación del compuesto intermediario triptamina, lo que ayudaría a aclarar una vía de síntesis de auxina a partir de Trp que ha sido muy discutida en años anteriores.

Además de estas rutas biosintéticas dependientes de Trp, se ha postulado que las plantas también serían capaces de sintetizar IAA a través de vías independientes de Trp. Plantas que no pueden sintetizar Trp han demostrado ser capaces de producir auxina (Ouyang et al. 2000). Las mutantes de *Arabidopsis trpaβ* y *trpβ*, por ejemplo, deficientes en la Trp sintasa α y β , respectivamente, son capaces de acumular compuestos conjugados de IAA, aún presentando niveles muy bajos de Trp. Por otro lado, la mutante *trp1*, que tiene niveles

muy bajos de la enzima indol-3-glicerol fosfato sintasa (IGS) no acumula IAA conjugados, lo que explica que una ruta alternativa independiente de Trp a partir de indol-3-glicerol fosfato podría ser importante en plantas aunque su influencia en el producción total de auxina aún se desconoce (Fig. 1; Tabla 1).

Tabla 1. Genes implicados en la biosíntesis de IAA en *Arabidopsis* descritos en la Figura 1. (Revisados en Woodward y Bartel, 2005)

Gen	Enzima	Mutante
ASA1 (trp5), ASA2	Antranilato sintasa	trp5
ASB1 (trp4), ASB2, ASB3	Antranilato sintasa	trp4
PAT1 (trp1)	Fosforibisil antranilato transferasa	trp1
PAI1, PAI2, PAI3	Fosforibisil antranilato isomerasa	
IGS1	Indol glycerol fosfato sintasa	
TSA1 (trp3)	Triptófano sintasa a	trp3
TSB1 (trp2), TSB2	Triptófano sintasa b	trp2
YUCCA	Tipo flavin monooxigenasa	Yucca
AAO	Indol-3-acetaldehído oxidasa	
CYP79B2, CYP79B3	P450 monooxigenasas	cyp79b2, cyp79b3
AMI1	Indolacetamida hidrolasa	
NIT1, NIT2, NIT3	Nitrilasa	nit1

La distinta localización de las enzimas involucradas en la síntesis de auxinas provee mayor información respecto a cómo se controlan los niveles de compuestos indólicos en la célula. Por ejemplo, CYP79B2 ha sido localizada en cloroplastos, mientras algunas enzimas para la síntesis de glucosinolatos indólicos se localizan preferentemente en el retículo endoplásmico y YUCCA en el citosol. Estas observaciones sugieren que existiría una gran cantidad de tráfico de intermediarios indólicos que controlarían las rutas metabólicas descritas. La respuesta de un tejido determinado de la planta a auxina depende de la concentración de la hormona y sensibilidad a ella. El nivel endógeno de auxina en la planta puede regularse no sólo por su tasa de síntesis y velocidad de transporte entre órganos, sino también por mecanismos de desactivación. La desactivación de IAA puede ocurrir mediante su conjugación con otras moléculas como azúcares o aminoácidos. La idea de la presencia de formas conjugadas de auxinas se originó de los trabajos pioneros que involucraban tres formas distintas para extraer IAA, una difusión simple, otra algo más difícil que requería el uso de solventes orgánicos y, por último, una tercera forma que requería métodos más enérgicos, como hidrólisis con NaOH o el empleo de enzimas proteolíticas (Thimann 1977). Las formas conjugadas son generalmente inactivas, aunque algunas formas conjugadas de IAA han demostrado ser activas en bioensayos. La existencia de formas conjugadas cumple las funciones de almacenamiento, transporte, protección y desintoxicación por exceso de IAA. Así, el nivel intracelular de auxina activa depende de su síntesis, transporte, degradación y compartimentación.

IAA puede ser inactivado en casi todos los tejidos vegetales y diferentes especies tienen distintas clases de conjugados de IAA. La concentración de IAA libre en plantas varía de 1 a 100 mg/kg peso fresco, mientras que los niveles de auxina conjugada son en ocasiones sustancialmente más elevados. En *Arabidopsis*, por ejemplo, ensayos de lisis alcalina que libera IAA de sus formas conjugadas, indicaron que aproximadamente un 90% de IAA está

unido con amidas, un 10% como conjugados tipo éster y sólo un 1% como IAA libre. IAA-Ala, IAA-Asp, IAA-Glu, IAA-Leu han sido detectados en semillas y plántulas y también IAA-glucosa (Staswick et al. 2005). Las formas conjugadas de IAA pueden ser de dos tipos: aquellas que servirían como fuente de IAA libre y aquellas susceptibles a hidrólisis, es decir para el catabolismo de IAA (Rampey et al. 2004). Las plantas también pueden obtener IAA a partir de una reacción de β -oxidación de IBA, la segunda auxina más abundante, que ocurriría en los peroxisomas. Así como IAA, IBA también puede ser conjugado a través de uniones amidas o ésteres (Bartel et al. 2001). Mientras la conjugación es un proceso reversible, la degradación de las auxinas es irreversible. Análisis de mutantes de *Arabidopsis* incapaces de hidrolizar formas conjugadas de IAA han brindado información sobre estos procesos. El catabolismo del IAA puede realizarse mediante dos vías: por oxidación descarboxilativa de la cadena lateral y por oxidación en las posiciones 2 y 3 del anillo indólico, sin descarboxilación (Woodward & Bartel, 2005).

Transporte de auxinas

El ápice de los tallos es sin duda el tejido por excelencia donde se sintetiza IAA y de donde se puede establecer un gradiente de la hormona hasta la base. Algunas objeciones a esta hipótesis sugieren que el IAA presente en ápices aéreos sería transportado desde semillas por el xilema. Una evidencia para ello es la presencia de IAA en el exudado de gutación en coleoptilos decapitados. Sin embargo, la capacidad de los mismos coleoptilos para sintetizar IAA a partir de Trp, sugiere que en realidad éstos son capaces de producir su propia hormona. IAA ha sido detectado en el cambium, xilema y floema (Rashotte et al. 2003). IAA puede ser sintetizado en el cambium a partir del Trp liberado a partir de células del xilema que entran en fase de diferenciación. Probablemente esta capacidad será mayor en tallos jóvenes. La cantidad de auxina presente en hojas dependerá de la edad de estos tejidos. Aunque se estima que los niveles de IAA decrecen con la edad foliar, proteólisis en el tejido senescente podría generar un nuevo aumento de la hormona a causa de un aumento del precursor Trp. Se ha notado que cualquier tejido foliar es capaz de convertir Trp en IAA, aunque hojas jóvenes son más eficientes.

Las semillas en desarrollo también son una importante fuente de auxinas. Niveles altos de IAA se encuentran en semillas de maíz antes de entrar en la etapa de maduración. Al madurar, el IAA se encuentra como formas conjugadas. En frutos, el contenido en IAA tiende a aumentar después de la polinización.

Ensayos con bloqueadores de transporte (por ejemplo TIBA) y estudios con mutantes han demostrado que el transporte de auxinas es necesario para el desarrollo normal radicular, vascular y embrionario y para respuestas a tropismos. El transporte de auxinas es complejo y está regulado por la acción de varias proteínas. IAA se sintetiza principalmente en el ápice de las yemas, y se transporta polarmente hacia la raíz a través de células parenquimáticas asociadas al tejido vascular. La polaridad del transporte de auxina, como se indicó antes, fue demostrada por primera vez por Fritz Went usando coleoptilos de avena (Went & Thimann 1937). Sin embargo, evidencias adicionales sugieren que IAA también es transportado de otros órganos hacia el ápice de tallos (Ljung et al. 2002). El transporte polar de IAA es por medio de un mecanismo dependiente de energía. Ocurre en forma basipétala en tallos y en raíces, aunque en éstas últimas puede ocurrir en ambos sentidos, en forma acropétala en el cilindro central y basipétala en la epidermis. La mayor parte de auxinas que se produce en hojas maduras viaja al resto de la planta en forma pasiva y apolar a través del floema. Las auxinas aplicadas exógenamente sobre las hojas pueden penetrar en los elementos cribosos después de ser absorbidas, pero luego se transportan al parénquima vascular (Ljung et al. 2002).

Una vez en el tejido receptor, el transporte de auxinas ocurre a través de las células en forma polar, activa, unidireccional e implicando consumo energético. Siendo las auxinas áci-

dos débiles que se encuentran generalmente protonadas en el pH relativamente bajo del apoplasto, de acuerdo al modelo quimiosmótico, un gradiente de pH entre la pared celular (pH \sim 5) y el citoplasma (pH \sim 7) facilitaría la entrada de la forma reducida de IAA a través de la membrana citoplasmática (Lomax et al. 1995). Una vez al interior de la célula, el alto pH del citoplasma resulta en la ionización del IAA, impidiéndose la salida de éste en forma oxidada. El importe de IAA se puede incrementar en algunos tejidos con la ayuda de algunos transportadores (Swarup et al. 2004). Se ha observado que uno de los primeros mutantes del transporte de auxinas en *Arabidopsis* fue *aux1*, el cual codifica a una proteína de transmembrana similar a las permeasas de amino ácidos. AUX1 y otras proteínas similares, están localizadas asimétricamente en membranas plasmáticas facilitando el transporte unidireccional de auxina (Swarup et al. 2004). La salida de auxina de la célula es en definitiva un proceso activo y dependiente de varios factores como las proteínas PIN y miembros de la familia de proteínas de resistencia a múltiples drogas (MDRs). Parece ser que las proteínas PIN no son capaces de transportar auxina en forma directa, sino más bien cooperan con las proteínas MDRs para la exportación de IAA (Paponov et al. 2005). Las proteínas PIN tienen varios motivos de transmembrana y se reciclan entre la membrana plasmática y compartimentos de vesículas intracelulares (Geldner et al. 2001). Al igual que AUX1, las proteínas PIN están asimétricamente distribuidas en la membrana plasmática. El movimiento polar hacia las raíces por los tejidos asociados con vasos xilemáticos, está correlacionado con la localización superior de AUX1 y basal de proteínas PIN en estas células. El sistema de exportación de auxinas gobernado por proteínas PIN es suficiente para generar una distribución diferencial de auxina en los tejidos, siendo los importadores de auxina necesarios sólo en tejidos donde se requiera una repartición rápida de la hormona. La localización polar de las proteínas PIN es compleja y dinámica; se re-localizan dependiendo de la necesidad de auxina por el tejido. La distribución de auxina en la raíz también está dirigida por proteínas PIN las cuales se pueden mover del centro de máxima concentración de auxinas cerca al meristemo radicular hacia la zona de elongación (Friml et al. 2003). La redistribución de IAA es requerida para regular la elongación de células conforme éstas se distancian del meristema y ubican en la zona de elongación. Recientemente se ha descrito que la auxina re-localizada en la zona de elongación también puede ser reciclada al transporte polar hacia el centro de la raíz, regresando al ápice radicular (Blilou et al. 2005). La transcripción, acumulación y localización subcelular de proteínas PIN también son reguladas por auxina, lo que sugiere que esta hormona regula su propia distribución. Por eso, mutaciones de algún miembro de genes *PIN* tiene poco efecto sobre la distribución de auxina, pues la hormona sería capaz de cambiar la expresión de otros genes *PIN* para compensar la pérdida de uno de ellos (Blilou et al. 2005).

Mediciones del transporte de auxinas en diferentes tipos de tejidos sugieren que la velocidad de transporte es independiente de la longitud del tejido y de la concentración de auxina en el tejido o fuente donadora de la hormona, lo que a su vez indica que no se trata simplemente de un proceso de difusión. Sin embargo, la rapidez del transporte varía con la edad y tipo de tejido, siendo en maíz, por ejemplo, mayor en coleótilos que en raíces.

Efectos fisiológicos de las auxinas

Crecimiento y formación de raíces. Debido a que las auxinas influyen tanto la división, como el crecimiento y diferenciación celular, están involucradas en muchos procesos del desarrollo, en algunos de ellos interactuando con otras fitohormonas. Diversos bioensayos han sido descritos para analizar respuestas a auxinas, los cuales han sido útiles en la identificación de compuestos con actividad típica de auxinas y de plantas mutantes con defectos en la síntesis, metabolismo o respuestas a auxinas. Uno de los ensayos que caracterizan el efecto de auxinas en el desarrollo es la regulación del crecimiento radicular el cual es definido desde el desarrollo embrionario (Jenik & Barton 2005). Mientras las auxinas estimulan el crecimiento de los tallos y coleótilos, inhiben el crecimiento de la raíz primaria, pero estimulan la formación de raíces secundarias. La concentración óptima para el promo-

ver elongación de tallos es entre 10^{-6} y 10^{-5} M, sin embargo, en raíces esta concentración es muy alta y retarda su crecimiento. Las auxinas además promueven la biosíntesis de la hormona etileno que inhibe el crecimiento radicular. Niveles menores a 10^{-9} M de IAA serían capaces de inducir crecimiento de raíz, pero no ocurriría a niveles normales endógeno más altos.

El proceso de rizogénesis está íntimamente asociado a la división celular. Una práctica común en horticultura es aplicar auxinas para favorecer el enraizamiento de esquejes. En técnicas de cultivo de tejidos se utilizan auxinas y citocininas para promover la división celular y la diferenciación de raíces y tallos, respectivamente. Las auxinas estimulan a la división de células localizadas en el periciclo en la zona justo arriba de la zona de elongación para provocar la formación de raíces laterales. Este fenómeno también se aplica en la formación de raíces adventicias la cual puede ocurrir en varios tejidos donde existan un grupo de células en activa división.

Regulación de tropismos. Mientras el crecimiento puede ser definido como un proceso irreversible derivado de la elongación celular, los tropismos son movimientos de crecimiento direccionales en respuesta a un estímulo también direccional. El efecto que tienen las auxinas sobre el crecimiento de tallos y raíces es importante para controlar los tropismos. Estas respuestas se concretan con curvaturas, giros o inclinaciones que realizan los tallos y raíces hacia un estímulo de luz (fototropismo), de gravedad (geotropismo o gravitropismo), o de contacto (tigmotropismo). Estos crecimientos direccionales se explican con el modelo clásico de Cholodny-Went, el cual describe que una distribución lateral diferencial de auxina en el tallo o raíz es responsable del crecimiento diferencial del órgano. En el caso del fototropismo, la auxina que se produce en el ápice, en vez de ser transportada hacia la base, es transportada lateralmente hacia el lado sombreado. Asimismo, se han encontrado varias proteínas que actuarían como receptoras para el fototropismo (fototropinas). Una de ellas, NPH1, es fosforilada en un gradiente lateral durante la exposición a luz azul lateral. De acuerdo con el modelo clásico, la fosforilación en gradiente de NPH1 induciría de alguna manera el movimiento de auxina hacia el lado no iluminado del tallo o coleoptilo. Sin embargo, la regulación de la respuesta fototrópica es más compleja, pues la actividad de ésta y otras fototropinas varía dependiendo la calidad de luz y la acción de fitocromos (Esmon et al. 2005). Una vez en el lado opuesto de la luz, la auxina es transportada en forma basipétala a la zona de elongación, donde aceleraría el crecimiento de esa zona con respecto a la zona iluminada, provocando la curvatura hacia la luz.

De forma similar, el mismo modelo se puede aplicar para explicar las respuestas de tallos y raíces a la gravedad. Durante la respuesta geotrópica, si una planta en crecimiento se coloca de lado, el tallo tiende a curvarse hacia arriba y las raíces hacia el suelo. Cuando la planta está en posición horizontal, la fuerza de la gravedad hace que la auxina se distribuya mayormente en la parte inferior del tallo o raíz. Mientras en el tallo las auxinas estimulan el crecimiento de la parte inferior (ocasionando una curvatura hacia arriba), en raíces un mayor nivel de la hormona inhibe el alargamiento de las células, por lo tanto, las de la cara superior se alargan más y la raíz se curva hacia abajo. Esta re-distribución de auxina en la raíz podría deberse a la percepción de la gravedad por algunas células que se localizan en el casquete, caliptra o cofia (Hou et al. 2004). Estas células (estatocitos) contienen los llamados estatolitos correspondientes a amiloplastos que sedimentan en respuesta al vector gravitacional. Una ubicación basal de los estatolitos ocasionaría un transporte polar de auxina a lo largo del lado inferior desde la cofia hacia la zona de elongación de la raíz, donde retardaría el crecimiento.

Dominancia apical. La distribución en gradiente de auxina desde el ápice primario hacia la base de la planta reprime el desarrollo de brotes axilares laterales a lo largo del tallo, manteniendo así lo que se denomina como dominancia apical (Thimann 1977).

Abscisión de órganos. Las auxinas tienen un efecto general negativo sobre la abscisión de los órganos, retardando especialmente la caída de hojas, flores y frutos jóvenes. El movimiento de la auxina fuera de la lámina foliar hacia la base del pecíolo parece prevenir la abscisión inhibiendo la acción de la hormona etileno, principal efector de la formación de la zona de abscisión. Cuando los tejidos foliares envejecen, la producción de auxinas decrece, dando paso así a la acción del etileno y progresión de la abscisión. Sin embargo, también se han descrito casos en que aplicaciones de auxina exógena en el lado opuesto de la zona de abscisión (cerca al tallo) acelerarían el efecto del etileno sobre la abscisión (van Doorn & Otead 1997).

Desarrollo de flores y frutos. Plantas que son tratadas con inhibidores de transporte de auxinas o plantas mutantes defectuosas en transportar auxina muestran deformidades en las inflorescencias y en la arquitectura floral, lo que sugiere que esta hormona es necesaria para un adecuado desarrollo de flores (Pflugger & Zambryski 2004). De igual manera la aplicación de auxina en forma exógena induce el desarrollo floral en varias especies. Asimismo, auxina contribuye con el crecimiento normal de frutos. Un ejemplo clásico lo constituyen achenios de frutilla que fallan en completar su crecimiento (cuaje) cuando se les ha retirado las semillas, fuentes de auxina endógena. Sin embargo, la aplicación de auxina a estos frutos sin semillas es capaz de restaurar el desarrollo de frutos normales. Además auxina tendría un efecto positivo sobre la maduración de algunos frutos al promover de alguna manera la síntesis de etileno.

Diferenciación vascular. Las auxinas controlan la división celular en el cambium donde ocurre la diferenciación de las células que darán origen a los elementos de floema y xilema. Su mayor efecto se advierte en la diferenciación del xilema. El número de elementos de xilema que se forman en tallos decapitados tratados con AIA es proporcional a la cantidad de hormona aplicada (Bhalerao et al. 2002).

Mecanismos de acción

Crecimiento y elongación celular. Las auxinas promueven el crecimiento de las plantas principalmente por un aumento de la expansión celular. De acuerdo con la hipótesis del "efecto ácido" sobre el crecimiento, las auxinas estimulan la actividad de la bomba de protones (H^+ -ATPasa) localizada en la membrana plasmática a través de dos mecanismos: activación de las bombas preexistentes y por inducción de síntesis de nuevas H^+ -ATPasas. La extracción de protones hacia la pared celular genera una reducción del pH (acidificación) lo que a su vez activaría proteínas que rompen enlaces de hidrógeno entre los constituyentes de la pared. Los candidatos más probables para este papel inicial son las expansinas, proteínas de pared que favorecerían inicialmente a la plasticidad de la célula. Otras enzimas hidrolíticas actuarían posteriormente y la célula crecería como resultado de la presión de turgor generada por la vacuola y por el depósito de nuevos materiales, cuya síntesis y transporte también parecen ser regulados por auxinas (Hager 2003). Las auxinas también inducen la síntesis de giberelinas, hormonas que promueven el crecimiento del tallo, por lo que las auxinas también estimularían el crecimiento en forma indirecta.

Receptores de auxinas. Por muchos años la búsqueda de receptores para auxinas se ha basado en el estudio respuestas características como la elongación de coleóptilos y la inducción de raíces o tallos regulado por el balance auxinas y citocininas. Extractos de distintas especies han sido usados para obtener fraccionamientos sub-celulares en búsqueda de proteínas capaces de unir IAA y auxinas sintéticas (Jones 1994). Proteínas candidatas han sido distinguidas en fracciones de membrana, de retículo endoplásmico y citoplásmicas. Una de ellas, ABP1 (por auxin binding protein) fue por algún tiempo considerada como un posible receptor, debido a que plantas que carecían de ella perecían. Sin embargo, ABP1 no se asemeja a otros receptores hormonales y no cumple con regular múltiples genes afectados por auxina, ni explicar todos los efectos causados por la hormona. Por su localización

en retículo endoplásmico ABP1 podría estar involucrada en conjugación o transporte intracelular de auxina. Sin embargo, analizando mutantes de respuesta a auxina, recientemente se logró identificar una proteína, TIR1, como el receptor de auxina. TIR1 es una proteína del tipo "caja F", que se une a reguladores transcripcionales AUX/IAA que reprimen genes que responden a auxina y los marca para ser ubiquitinados y luego degradados por el proteasoma 26S. La unión de auxina a TIR1 activaría su interacción con AUX/IAA incitando la degradación de estos represores (Dharmasiri et al. 2005a; Kepinski & Leyser 2005). En *Arabidopsis* existirían otras 4 proteínas "caja F" que cumplirían función similar a TIR1 y entre todas gobernarían las señales de auxinas (Dharmasiri et al. 2005b).

Expresión génica. Auxina rápidamente ocasiona la acumulación transitoria de tres familias de genes: SAURs (por *s*mall *a*uxin *u*pregulated *R*NAs), genes tipo *GH3* y *Aux/IAA* (Abel & Theologis, 1996). Aunque se desconoce la función exacta de muchos de estos genes, varios de ellos están involucrados en conjugación y degradación de auxina y en mermar la señal por la hormona. Por ejemplo, las proteínas AUX/IAA forman dímeros con los factores de transcripción ARF inhibiendo la unión a elementos de promotor que responden a auxina (AuxREs; Liscum & Reed 2002). Una vez degradados AUX/IAA, los factores ARFs pueden formar homodímeros e inducir la expresión de varios genes blanco y desatar distintas respuestas fisiológicas comúnmente medidas como respuestas de crecimiento. La inducción de muchos de estos genes ocurre en cuestión de minutos, como es el caso de los genes SAUR (small auxin up-regulated RNAs), los que se localizan en la zona de mayor elongación de tallos durante respuestas trópicas (Li et al. 1991). La expresión de otros puede tardar horas, implicándolos en respuestas de largo plazo. Entre éstos que se expresan más tardíamente están genes que codifican a enzimas tipo GST (glutación S-transferasa; estimulados también por exposición a metales y otras condiciones de estrés), así como genes que codifican para ACC sintetas, enzimas clave en la biosíntesis de etileno (ver Capítulo 16).

Auxinas sintéticas y sus usos comerciales

Tras el descubrimiento de la estructura del IAA, se han obtenido compuestos químicos estimulantes del crecimiento basados en auxinas naturales (Fig. 2). En un principio se analizaron otros compuestos con anillo indólico, como el ácido indol butírico (IBA) y derivados del naftaleno como el ácido naftalenacético (NAA) y el ácido naftoxi-2-acético (NOA), que también resultaron activos. IBA fue clasificado inicialmente como una auxina sintética, pero es un compuesto endógeno de la planta, más eficiente que IAA en promover formación de raíces laterales y es usado comercialmente con este propósito. Posteriormente, el análisis de algunos ácidos fenoxiacéticos con actividad auxínica, llevó al descubrimiento del 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D). A partir de éste se desarrollaron varios compuestos con actividad auxínica, como el ácido 2-metoxi, 3,6-dicloro benzoico (dicamba), el ácido 2,4 diclorofenoxibutírico (2,4-DB), el ácido 2-metil, 4-cloro fenoxiacético (MCPA) y el ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético (2,4,5-T), todos con propiedades herbicidas cuando se emplean a concentraciones elevadas. Una combinación de 2,4-D y 2,4,5-T constituyó el nefasto "agente naranja" utilizado como arma química en la guerra de Vietnam con la finalidad de deshojar el bosque tropical. Esta mezcla resultó tóxica por la presencia de dioxina, un producto secundario originado de la producción de 2,4,5-T. Hoy en día 2,4-D es una herbicida de uso común.

Las auxinas sintéticas, que se usan en forma de aerosol o de polvo, tienen varias aplicaciones en la agricultura. Entre sus usos están frenar el brote de yemas de tubérculos de papas, destruir hierbas de hoja ancha (2,4-D, 2,4-DB, 2,4,5-T) y prevenir la caída prematura de frutos (NAA) y pétalos de flores. Estos compuestos también se usan para obtener frutos sin semillas (partenocárpicos) como tomates, higos y sandías, y para estimular el crecimiento de raíces en esquejes (IBA, NAA).

GIBERELINAS

Las giberelinas (GAs) son hormonas de crecimiento diterpenoides tetracíclicos involucrados en varios procesos de desarrollo en vegetales. A pesar de ser más de 100 el número hallado en plantas, sólo son unas pocas las que demuestran actividad biológica. Su descubrimiento en plantas se remonta a la época de los años 30, cuando científicos japoneses aislaron una sustancia promotora del crecimiento a partir de cultivos de hongos que parasitaban plantas de arroz causando la enfermedad del "bakanoe" o "subida de las plantas". El compuesto activo se aisló del hongo *Gibberella fujikuroi* por Eichi Kurosawa en 1926 por lo que se denominó "giberelina". El efecto del hongo sobre las plantas afectadas consistía en un notable incremento en altura aunque con fuerte merma en la producción de grano. El mayor crecimiento se debió al alto contenido de este factor de crecimiento producido por el ataque fúngico (Malonek et al. 2005, Tamura 1990).

Síntesis, degradación y transporte

Posterior a la segunda guerra mundial se logró descubrir que existían muchos compuestos naturales con estructuras similares al aislado en *Gibberella* presentes en las plantas y que derivaban en una secuencia de síntesis a partir del isopreno, denominada vía o ciclo de los terpenoides. Esta ruta es también precursora de varias otras hormonas promotoras y/o de función inhibitoria (Fig. 3). Una primera fase importante es la formación de la molécula de kaureno, la cual es la molécula precursora del GA₁₂-aldehído; siendo ésta a su vez precursora natural de las más de 100 gibberelinas conocidas por hoy (Fig. 4). A partir de ella se sintetizan secuencialmente la GA₁₂ y GA₅₃, GA₁₅ y GA₄₄, GA₂₄ y GA₁₉, GA₉ y GA₂₀, GA₁ y GA₄. En la secuencia se describe un ciclo doble de conversión de moléculas hidroxiladas y de aquellas no-hidroxiladas, con interconversión entre algunas de ellas. Entre las primeras se encuentran GA₅₃, GA₄₄, GA₁₉, GA₂₀ y GA₁; entre las segundas GA₁₂, GA₁₅, GA₂₄, GA₉ y GA₄, pudiendo ésta última tornar a GA₁ (Hedden & Kamiya 1997).

En los años 50s se descubrió que las GAs estaban ampliamente distribuidas en muchas especies de plantas, provocando principalmente efectos específicos sobre el crecimiento. Ello se pudo estudiar más detenidamente gracias a la disponibilidad natural de variedades enanas de varias especies como maíz, poroto (fríjol) y recientemente de plantas de *Arabidopsis*, que tienen deficiencias en genes requeridos para la producción de GAs. Con estos mutantes, la recuperación del crecimiento aparece tan notable, que estas plantas no son distinguibles de las normales una vez realizada la aplicación de GAs. La síntesis y degradación están bien establecidas actualmente, conociéndose varias enzimas involucradas. Por ejemplo, para generar GA₁, la conversión va primero de GA₅₃ a GA₂₀ (pasando por GA₄₄ y GA₁₉), mediada por la GA₂₀-oxidasa y posteriormente, el paso de GA₂₀ a GA₁ por la GA₃- β -hidroxilasa. Métodos modernos de GC-MS han demostrado que plantas enanas acumulan GA₂₀ por falta de esta enzima, mientras que plantas normales tienen GA₁. La síntesis de GA₁ funciona como un sistema de retroalimentación que ocurriría cuando la GA₁ es reconocida por su aceptor (eventualmente localizado en el citosol) y constituiría una señal que provoca la síntesis de la GA₂₀-oxidasa y GA₃- β -hidroxilasa involucradas en producir GA₁ activa (Hedden & Phillips 2000, Sakamoto et al. 2004).

La síntesis de GAs ocurre en varios lugares, sin considerar la situación específica en semillas de cereales. En plántulas, la síntesis y presencia de altos contenidos de estas hormonas se detecta en hojas y yemas en activo crecimiento y en material adulto a nivel de frutos, y en menor medida en raíces. Sin embargo, formas activas de GAs no se encuentran en todos los órganos de síntesis, dado que sólo algunas fases de la síntesis pueden ocurrir en ellos. Distintos intermediarios se encuentran fluyendo por el floema, distribuyéndose a varios órganos de destino donde se completa la conversión a moléculas activas. El largo del fotoperíodo y condiciones de bajas temperaturas son determinantes en la conversión de

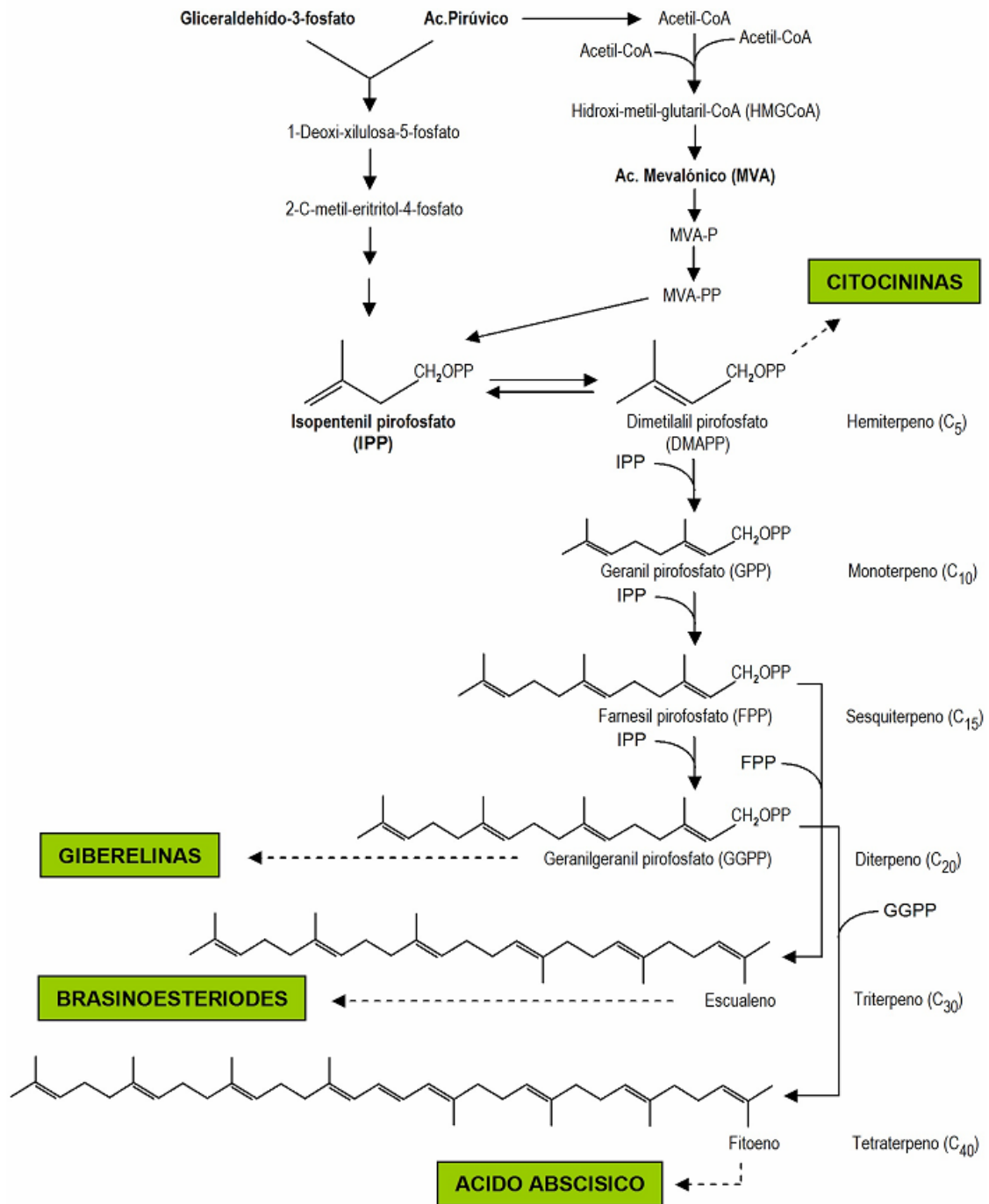


Fig.3. Vía de biosíntesis de terpenos. Se muestran las dos rutas para la síntesis del IPP: a partir de gliceraldehído-3-fosfato y piruvato (en cloroplastos) y la ruta del mevalonato (citosólica). Distintos precursores terpenoides dan origen a citocininas, giberelinas, brasinoesteroides y ácido abscísico.

intermediarios o GAs de formas inactivas a moléculas activas.

La degradación de GAs es causada por acción de varias oxidasas. El tipo 20-oxidasa convierte GA_{19} en GA_{20} y 3-oxidadas convierten GA_{20} en GA_5 . Una 2-oxidasa puede también funcionar en el catabolismo de GA_{20} para inactivar GA_{29} y GA_1 a GA_8 . Cabe destacar que existen interacciones de síntesis y degradación de GAs con otras hormonas, como el AIA. Se ha determinado que la presencia de AIA estimula la síntesis de GA_1 provocando consi-

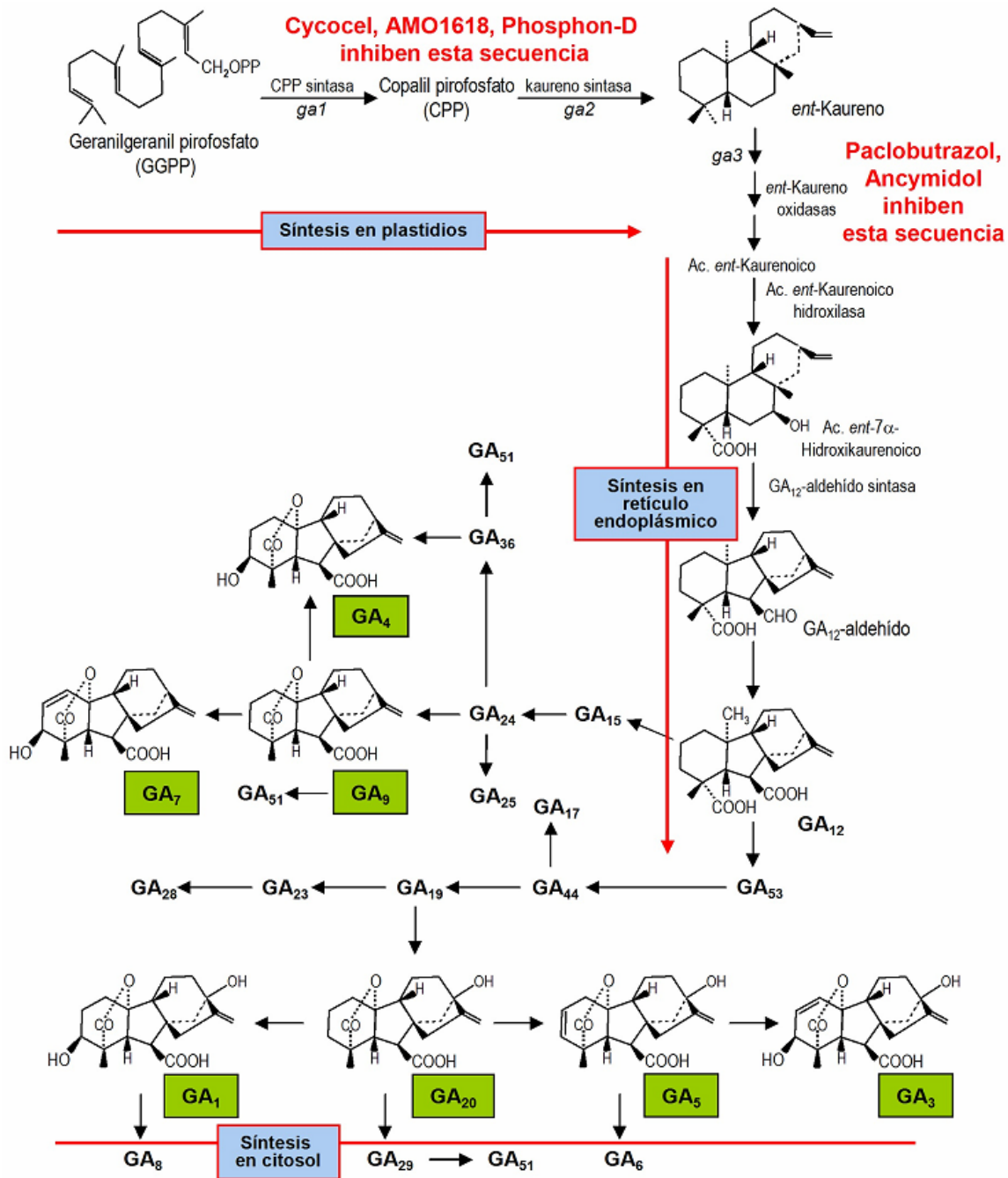


Fig. 4. Vía de biosíntesis de las principales giberelinas a partir de GGPP en tres etapas y diferentes sitios celulares. Se indican algunas enzimas que catalizan reacciones importantes como también algunos genes identificados en *Arabidopsis*. Las flechas rojas muestran el lugar de síntesis en la célula. Aquellas giberelinas con alta actividad biológica en plantas están enmarcadas en color verde.

güente crecimiento. Por otro lado, la auxina además puede inhibir la degradación de GA₁ a GA₈ (inactiva), de manera de poder mantener la acción de GA₁ estimulando respuestas de crecimiento (Thomas et al. 1999).

Antagonistas

Una buena parte del estudio de la síntesis y acción de las GAs sobre las plantas se desarrolló mediante el uso un grupo de compuestos sintéticos conocidos desde los años 60 deno-

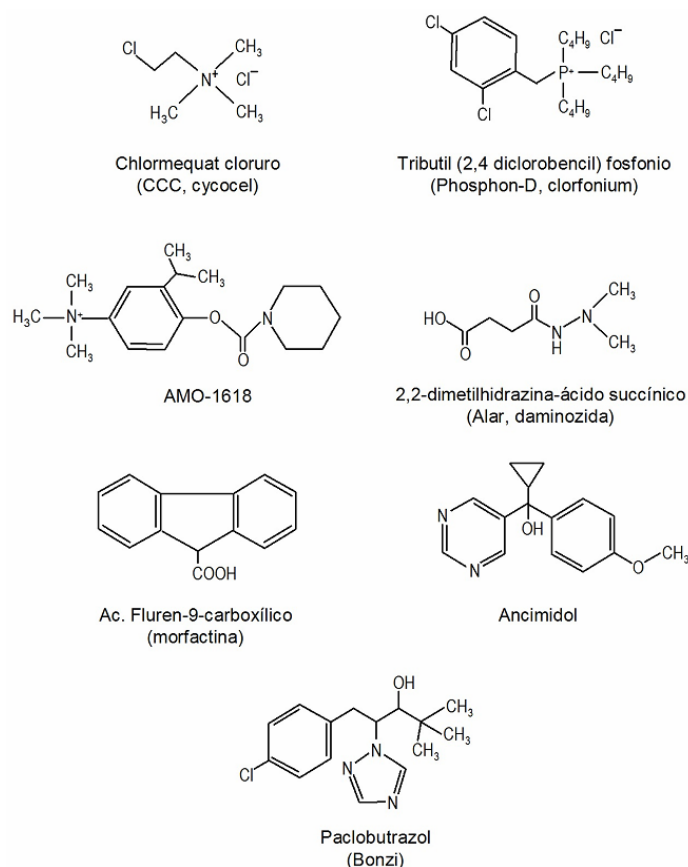


Fig. 5. Estructura de algunos inhibidores de la síntesis de giberelinas.

minados "retardadores de crecimiento". Estos compuestos de diferente constitución química (Chlormequat-Cl o Cycocel, AMO-1618, Phosphon-D, Ancymidol, Paclobutrazol, Uniconazole-P y otros; Fig. 5) impiden el desarrollo del ciclo de síntesis de Giberelinas en varios estadios (Fig. 4) causando reducción en el crecimiento principalmente por inhibición de la división celular a nivel de la región meristemática. Como resultado, las plantas son más cortas y más gruesas; pero no existe reducción del rendimiento de grano ni merma en el contenido de clorofila. Este efecto se revierte si se agrega GAs, aun conjuntamente con el compuesto inhibidor (Rademacher 2000). Con el uso de estos retardadores se logran dos propósitos: en cereales, por ejemplo, se evita pérdida de cosechas por la "tendidura" de la caña causada por el viento (irreversible en gramíneas); y por otro lado, se amplía la distribución de variedades de cultivo a zonas menos benignas. Varios de estos retardadores impiden la formación del anillo kaureno que es la estructura primaria de todas las GAs. Otros provocan bloqueos en etapas posteriores; paso de GA_{53} a GA_{19} , a GA_{20} , GA_1 y a GA_8 . Una vez minimizado el nivel de estos compuestos en los tejidos, la síntesis de GAs y sus efectos siguen adelante.

Efectos fisiológicos

- El efecto más notable de las GAs es inducir crecimiento en altura, en muchos casos atribuibles a GA_1 endógena. En el caso de plantas enanas, éstas sintetizan solo pequeñas cantidades de GA_1 , en cambio en variedades denominadas *nana* (muy enana), dicha síntesis mínima no se da al bloquearse la secuencia de síntesis antes de alcanzar la fase de GA_{12} -aldehído. Otras interrupciones ocurren entre GA_{20} y GA_1 . El aislamiento del "gene mendeliano para altura" demostró que éste codifica para la enzima GA_3 - β -hidroxilasa que convierte la GA_{20} inactiva en GA_1 activa. Técnicas químicas

cas modernas de detección han mostrado que plantas altas poseen GA₁ mientras que en enanas predomina GA₂₀ (Hedden & Kamiya 1997).

- GAs promueven el desarrollo súbito de inflorescencias y la floración en muchas plantas, particularmente en aquellas de día largo (PDL), aunque no en aquellas de día corto (DC), salvo algunas excepciones. En asociación con fitocromos, cumplen un papel en la inducción de la floración; en particular, aunque de manera no conocida, iniciando señales a genes meristemáticos del tipo AGAMOUS vinculados a la diferenciación de estructuras florales tales como pétalos, estambres, carpelos, etc. (Yu et al. 2004).
- Inducen la germinación en semillas en condiciones de dormancia (Peng & Harberd 2002).
- Están involucradas en la movilización de reservas en granos de cereales. En especial inducen la síntesis de α -amilasas y proteasas. Este proceso tiene gran utilidad en la manufactura de cerveza.
- Promueven el desarrollo de muchos frutos, inducen partenocarpia y tienen una aplicación especial en la producción de uvas "sin semilla" (Kato et al. 2000).

Mecanismos de acción

A nivel de la elongación en tallos: Estimulan fuertemente la división y elongación celular en la porción sub-apical de los tallos y también en el meristema intercalar. Los mecanismos de división y elongación de la pared no están aun bien aclarados a nivel celular, pero se asume que el efecto de "soltura" de la pared celular sería diferente a la ejercida por la auxina (o reguladores de este tipo), aunque sería un efecto complementario. Al respecto se ha reconocido un efecto específico causado por GAs y no auxina sobre la actividad de la enzima xiloglucano endotransglucosilasa (XET) la cual hidroliza xiloglucanos permitiendo nuevos arreglos de la pared (Jan et al 2004). A nivel génico, estudios en *Arabidopsis* han reconocido también la existencia de algunos factores represores de transcripción que bloquean el crecimiento en altura (RGA, GAI, SLR1). En presencia de GAs, estos represores son degradados, restableciéndose el crecimiento en forma normal (Thomas & Sun 2004). Recientemente, a través del mapeo genético de la mutante *gid1* de arroz que no responde a GAs, se ha identificado una proteína que actúa como receptor de GAs. *GID1* codifica una proteína tipo lipasa capaz de unir GA en forma específica y con gran afinidad. Además *GID1* puede interactuar con *SLR1* cuando GA está presente. Análisis genéticos definieron que la degradación de *SLR1* depende de *GID1*. Sobre-expresión de *GID1* en plantas transgénicas de arroz produjo plantas más largas, similar a una respuesta de sobredosis de GAs (Ueguchi-Tanaka et al. 2005). En resumen, el estatus normal de la planta es ser alta. Los reguladores negativos la hacen enana en ausencia de GAs pero la hormona bloquea al regulador negativo; de manera que, la negación de un regulador negativo ocasiona el efecto, en este caso, expresar la altura. Una respuesta parecida ocurre a nivel de internudos en el meristema intercalar de arroz donde GAs actúan como reguladoras del ciclo celular. En este sistema, las GAs incrementan la expresión de genes de proteínas quinasas específicas para ciclinas (CDKs) esenciales para entrar en mitosis. En el caso de arroz, el cual crece sumergido en agua, las condiciones de anoxia incrementan el contenido de etileno, que, a su vez, reduce el nivel endógeno de otra hormona, ácido abscísico (ABA). Al reducir el nivel de ABA, la acción de GAs es más intensa sobre el crecimiento (Fabian et al. 2000).

A nivel de la movilización de reservas en semillas al inicio del proceso de germinación. GAs endógenas o exógenas, aplicados en embriones en proceso de germinación, causan la producción de α -amilasas y otras enzimas hidrolíticas en las células de la capa de aleurona dispuesta por debajo de la cubierta seminal, encima del endosperma y embrión contiguo. Con ello se produce un proceso degradativo en las células del endosperma una

vez que el almidón se desdobra en sus azúcares simples que serán usados como fuente de energía por las células del embrión, ahora en desarrollo. En esta fase, el embrión requiere de energía pues aún es heterótrofo y no puede obtener su energía vía fotosíntesis (obviamente al no haber desarrollado todavía su maquinaria capaz de captar y transformar energía lumínica). En el proceso se sabe también que la nueva α -amilasa es sólo sintetizada en presencia de GAs. La secuencia de eventos conducentes por GAs desde la síntesis de α -amilasas en la capa de aleurona hasta su secreción al endosperma sería tentativamente la siguiente: GA proveniente del embrión es percibido primero por el receptor a nivel superficial iniciando señales como la activación de una proteína heterotrimérica G (Ueguchi-Tanaka 2000). Una señal de Ca^{+2} provocaría que el "receptor-GA activado" se ligue a un represor DELLA, el cual a su vez será transportado al núcleo y degradado. Con esto se puede transcribir y procesar el gene GAMYB, un factor de transcripción que reconocerá y activará promotores de genes de α -amilasas y otras enzimas hidrolíticas (Gubler et al. 2002, Ho et al. 2003). Estas son sintetizadas en el retículo endoplásmico, se acumulan en el Golgi (como vesículas) y luego son secretadas hacia el endosperma. En definitiva se asume que GAs, mediante proteólisis de los represores de señales transcripcionales DELLA, provocarían una de-represión, conducente a la transcripción de varios genes (Fu et al. 2002). Existen varios reguladores negativos de las señales inducidas por GA del tipo DELLA; entre ellos SLN1, SLR1, D8 y RHT en gramíneas y RGA, GAI, RGL1, RGL2 y RGL3 en *Arabidopsis*. Cuando son degradados se advierten otros efectos típicos de la acción de GAs como por ejemplo en *Arabidopsis*, un patrón de desarrollo radial, la formación de meristema axilar y mantención del meristema terminal (Fleet & Sun 2005). La degradación de proteínas DELLA causada por GAs ocurre a través de la vía de ubiquitina-proteosoma. La señal GAs induce la fosforilación de las proteínas DELLA que es reconocida por una ubiquitin-ligasa y después de ser conjugada es degradada por el proteosoma 26S, mientras la ubiquitina es reciclada (Itoh et al. 2003).

Usos comerciales

Transición de fase juvenil a adulta. Aunque de carácter fisiológico, la aplicación de GAs puede afectar la condición juvenil, pasando ésta a la fase adulta y viceversa. Por ejemplo, una estaca o esqueje con características juveniles inicia la formación de raíces, siendo por ello apta para la multiplicación vegetativa, mientras que con el paso a la fase adulta, esta propiedad se pierde casi totalmente. Según el tipo de especie, la aplicación de GAs puede llevar estas condiciones en un tipo determinado de explante en uno u otro sentido. De esta manera, es posible además lograr acelerar la entrada a la floración en condiciones muy tempranas sin que la planta haya completado su fase juvenil. GA_4 junto con GA_7 son usadas en la práctica para inducir la floración temprana en *Pinus* sp., *Taxus* de 4 meses y *Cupressus* de 2 años, lo que significa una gran alternativa en programas de mejoramiento genético a nivel forestal al contar de esta manera con ciclos reproductivos más cortos (Stuart & Cathey 1961).

Iniciación floral y determinación del sexo. Aplicaciones de GAs pueden reemplazar demandas específicas para florecer en plantas de día largo [PDL] (Gocal et al. 1999, King et al. 2003), por ejemplo, el requerimiento de un periodo de luz con más de 14 horas de luz o requerimientos de frío (semanas o meses a 5°C). Sería posible entonces omitir alguna de las condicionantes al aplicar GAs, pero en ningún caso ambas simultáneamente o secuencialmente para obtener flores en estaciones del año en que no se han satisfecho los requerimientos ambientales específicos de la especie. GAs inducen además la formación de elementos florales y adicionalmente pueden afectar la determinación sexual. GAs afectan los genes del tipo *AGL20*, los cuales inducen a otros genes del tipo *LEAFY*. Estos últimos desencadenan la acción de terceros como *AP1*, que regulan la formación de sépalos; *AP3* que afectan el desarrollo de pétalos y de estambres y de *AG* que regulan la conformación de carpelos. Ello determina que es posible modificar la estructura floral y conducir ésta a flores femeninas o masculinas (Yu et al. 2004). Lo anterior tiene importancia para el cruce-

miento (evitar autopolinización), y en el caso de individuos conteniendo mayoritariamente flores femeninas, un aumento en la productividad por superficie. Adicionalmente, en forma directa, con la aplicación de GAs se puede incrementar el tamaño de la inflorescencia en camelias.

Desarrollo del fruto. GAs pueden promover el desarrollo del fruto después de ocurrida la polinización en varias especies. El tamaño del fruto incide sobre su calidad y precio. Con aplicaciones de GA₄ y GA₇ se estimula el desarrollo de manzanos y, en algunos casos como en cítricos, es posible demorar la senescencia para poder así mantener los frutos más tiempo en el árbol o si están cosechados, extender el periodo de su comercialización (García-Martínez & Hedden 1997).

Partenocarpia. La partenocarpia es un proceso que ocurre naturalmente o artificialmente y consiste en el desarrollo del fruto sin formación previa de la semilla. En forma natural ocurre por una sobre producción endógena de hormonas, principalmente de auxina. Artificialmente se logra tratando las flores no polinizadas con ésta u otra hormona. Para el caso especial de la variedad de uva denominada "Sultanina", el efecto se induce por adición de GA₃, lo cual ya constituye una práctica comercial. GA₃ no es nocivo para la salud y su concentración se reduce substancialmente durante el desarrollo del fruto.

Germinación y malteado de cebada. Muchas semillas entran en estado de dormancia el cual implica un periodo de inactividad con imposibilidad para germinar por presencia de testas muy duras o falta de requerimientos de frío o de luz. La aplicación de GAs permite la activación de varias enzimas de tipo hidrolasas que dan cuenta parcial de este efecto, sacando con mayor rapidez a las semillas de esta fase (Peng et al. 2002). La evidencia más clara está en la germinación de semillas de cereales y elaboración de cerveza. En este proceso industrial se intenta maximizar la producción de enzimas hidrolíticas para que éstas degraden el almidón natural de la cebada durante la germinación controlada en el proceso de malteado. Los azúcares producidos (maltosa) serán luego desdoblados y fermentados por la levadura *Saccharomyces* para la producción de alcohol. Algunas variedades de difícil germinación necesitan la adición de GAs para acelerar este proceso y así producir una máxima cantidad de azúcares después del malteado.

Biotecnología: En la tecnología conducente a la regeneración de plantas *in vitro*, el cultivo de meristemas es una metodología ampliamente utilizada con el objeto de eliminar una serie de patógenos presentes en las plantas madres. Los meristemas de plantas en activo crecimiento pueden estar libres de patógenos en forma temporal. Al ser aislados y cultivados es posible inducir a partir de ellos la formación de raíces y plantas libre de tales enfermedades. Ello aumenta fuertemente la producción especialmente en plantas de propagación asexual (bulbos, tubérculos, estolones, y/o material multiplicado por estacas, etc.), en especial si se trata de plantas elite, escasas o de gran valor comercial o cultural. Lo mismo ocurre en la producción y comercialización de flores y plantas ornamentales. Además, actualmente los mercados exigen el comercio de plantas sanas. El rol de GAs en esta técnica es doble: primero los tejidos meristemáticos extraídos (explantes o ápices caulinares de mayor tamaño) requieren de GAs para poder crecer en esta primera fase, aunque ello requiere además de otras hormonas. En segundo lugar, es posible realizar un tratamiento previo con GAs a plantas madres con objeto de estimular previamente su crecimiento el cual, en condiciones de altas temperaturas y humedad, favorece la extracción de ápices igualmente libres de los patógenos.

Rendimientos en caña de azúcar. El azúcar de la caña (sucrosa) se acumula en la vacuola. Su contenido por planta a cosechar depende por lo tanto del tamaño que ésta pueda alcanzar. Aplicaciones de GAs estimulan la altura de la planta (mayor biomasa) así como el contenido de sucrosa.

CITOCININAS

Síntesis, degradación y transporte

Las citocininas son hormonas esenciales en el accionar de varios procesos vinculados al crecimiento y desarrollo de las plantas y relacionados a la acción de varios genes. Se trata de derivados de la base adenina que en su posición N6 muestra varias substituciones, no teniendo la adenina sola, efecto hormonal alguno. El reconocimiento que citocininas pudiesen corresponder a hormonas vegetales se inició con el descubrimiento de la kinetina en la época de los 50, siendo este un artefacto producto de la degradación del ADN en espermatidas de arenque sometidas al autoclavado (temperatura y presión). Su efecto hormonal fue visualizado rápidamente al inducirse, en compañía de auxina, diferentes tipos de morfogénesis en tejidos de tabaco y de otras especies bajo condiciones *in vitro*. Un alto nivel de citocinina vs. auxina provocaba la formación de brotes en tejidos derivados de explantes de médula, mientras que con niveles bajos de citocininas y/o conjuntamente niveles altos de auxina, se observaba la formación de masas celulares no organizadas (callos) y la formación de raíces con gradientes mayores de auxina (Skoog & Miller 1965). Posteriormente se descubrió la existencia natural de citocininas en diferentes especies (como también en procariontes) siendo la zeatina, inicialmente hallada en semillas de maíz (*Zea mays*) la más frecuente y abundante, junto a su ribósido (Letham 1973). Junto a la zeatina se detectaron otros compuestos de acción semejante en el endosperma líquido de coco o "agua de coco" (Caplin & Steward 1948).

Según su origen se pueden distinguir dos tipos de citocininas: aquellas naturales generadas por las plantas y otras artificiales, sintetizadas por el hombre. Todas las citocininas naturales se generan a partir de DMAPP (vía del ácido mevalónico, Fig. 3) y 5'-AMP (Fig. 6) y su síntesis acontece principalmente en la raíz, aunque también en el meristema apical y en semillas inmaduras (Kakimoto 2003a). La mayoría de las citocininas naturales y artificiales conservan la base adenina, aunque a las segundas se les ha ligado diversas moléculas, generándose así, por ejemplo, la benciladenina (BA) o la furfurilaminopurina (kinetina). Posteriormente fue sintetizado otro tipo totalmente diferente de estructura, sin la base adenina, con acción biológica idéntica a las citocininas como el tidiazurón (TDZ) (Fig. 7). Los reguladores sintéticos como BA, kinetina o TDZ, son más potentes que las hormonas naturales endógenas (zeatina, *trans*-zeatina o isopentiladenina), debido no sólo a sus particularidades específicas, sino también a que, salvo algunos reportes contrarios, las artificiales no pueden ser degradadas o metabolizadas por el tejido. TDZ es considerado uno de los inductores más potentes en la formación de nuevos brotes o embriones somáticos tanto en plantas leñosas como herbáceas (Huetteman & Preece 1993).

Adicionalmente, las citocininas naturales pueden existir como hormonas activas con la base de adenina libre o como formas conjugadas con azúcares, como la ribosa o ribosa 5-fosfato enlazadas al N9 de la base adenina (Fig. 6). En estos casos, las citocininas conjugadas muestran pérdida de actividad en ensayos biológicos.

Las citocininas se localizan en ambos sistemas conductores, floema y xilema y su presencia se considera como una posible señal vinculada con un déficit de nutrientes en el suelo. Experimentos con injerto de plantas, han tratado de demostrar el transporte de estas hormonas desde la raíz hacia las partes aéreas, aunque esta movilización ascendente aún no parece estar muy bien establecida. En cuanto a su degradación, las citocininas pueden ser inactivadas por *O*-glicosilación en el grupo hidroxilo terminal en citocininas tipo zeatina o por *N*-glicosidación en el N3 o N7 de la adenina. El primer efecto es reversible, considerándose esta forma como de reserva o almacenamiento. Además, las formas activas pueden ser degradadas por la acción de citocinin-oxidasas que reconvierten a varias en su base adenina o sus derivados.

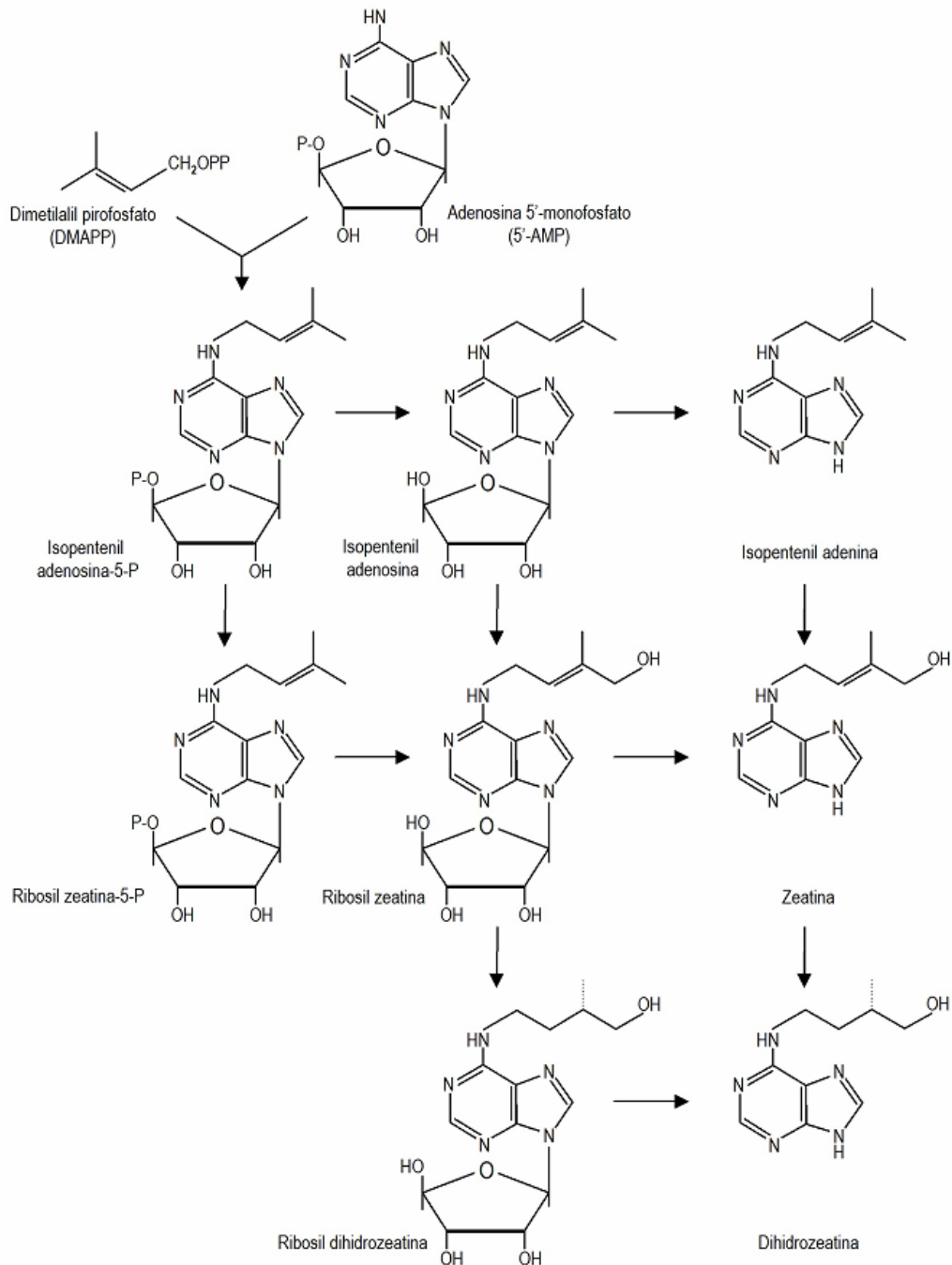


Fig. 6. Rutas de biosíntesis de citocininas a partir de DAMPP y 5'-AMP. Las reacciones muestran la defosforilación de los intermediarios nucleótidos y la formación de bases libres derivadas de adenina.

Efectos fisiológicos

Promueven la división celular. La aplicación de citocininas estimula la progresión del ciclo celular. En primer lugar, a nivel de la fase G1, citocininas más otras hormonas (auxinas) inducen la acumulación de ciclinas y por tanto promueven un nuevo ciclo celular (Smith & Atkins 2002). Citocininas también estimularían la entrada a la fase M, probablemente por activación de una fosfatasa.

Provocan la iniciación de brotes, organogénesis y androgénesis. Las citocininas cau-

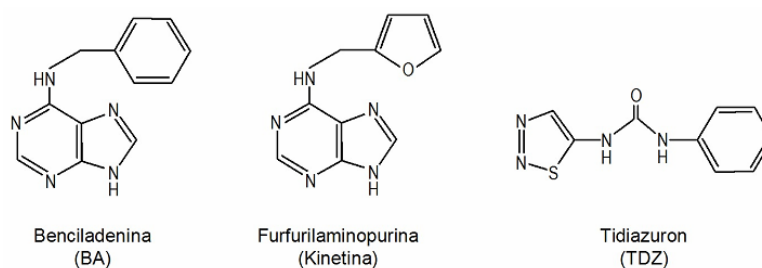


Figura 7. Estructura de algunas citocininas sintéticas.

san una dominancia apical reducida o anulada, con brotación y crecimiento de yemas axilares. Pueden iniciar brotes adventicios en porciones de las hojas, venas y pecíolos intactos (Howell et al. 2003). Son las hormonas claves para inducir la formación de novo de brotes en diversos explantes *in vitro* (hojas, raíces, medula, cotiledones). Junto a auxinas, promueven la producción de tejidos no organizados denominados callos, de los cuales es también posible inducir la formación de brotes y/o raíces (Skoog & Miller 1965), como también de embriones somáticos conducentes a plantas. Gran parte de las respuestas de totipotencia celular, de morfogénesis *in vitro* y de regeneración de plantas, ocurre en presencia de niveles apropiados de citocininas vs. auxinas (Coenen & Lomax 1997). Otra expresión de la acción de citocininas *in vitro* es la obtención de individuos haploides derivados de microsporas (polen) los cuales en presencia de niveles adecuados de citocininas y auxinas, cambian su programa fijado filogenéticamente, de manera que de una célula, inicialmente con función de reproductiva (microspora), se organiza alternativamente un embrión gametofítico conducentes a la formación de un individuos con la mitad de la dotación cromosomal. Este fenómeno se denomina androgénesis y deriva en la formación de plantas genéticamente idénticas al genotipo del polen del cual proceden (plantas hijas del polen); las cuales son de invaluable utilidad en programas de mejoramiento genético.

Demoran o retrasan la senescencia. Uno de los efectos de las citocininas es retardar la senescencia de las hojas, provocando que las hojas permanezcan más tiempo verdes por mayor contenido de clorofila y funcionales. Las citocininas permiten el desarrollo de cloroplastos (con formación de granas) en oscuridad, reemplazando parcialmente la demanda de luz. Una mayor permanencia de clorofilas activas implica para la hoja y la planta la conservación de la síntesis de proteínas y consiguiente transcripción de varios genes. Esto se ha demostrado con la expresión de varias bandas de proteínas que no son visualizadas cuando el tejido envejece. La presencia de citocininas provoca un efecto "sumidero" (sink) en el transporte de varias "materias primas" (por ejemplo aminoácidos) hacia los tejidos donde se encuentra la hormona y donde estos recursos serán usados para la síntesis de nuevas proteínas. Experimentos clásicos con un aminoácido radioactivo que no puede ser biodegradado, el ácido aminoisobutírico, demostraron que este se mueve hacia el sitio de aplicación de una citocinina, indicando que la producción de proteínas trae una consiguiente detención del proceso de senescencia comparado con el resto de los tejidos sin la hormona.

Activan yemas laterales en dormancia. La sobreproducción de citocininas resulta en una dominancia apical fuertemente reducida y en plantas la generación de internudos más cortos.

Intensifican la expresión de "demanda" en el transporte de savia elaborada a nivel del floema. Algunos estudios han sugerido que niveles muy bajos de nitrógeno en el suelo (NO_3 ó NH_4) resulta en una reducción del nivel de citocininas. Lo contrario, un incremento del N en el suelo provoca un aumento del nivel de citocininas, lo que a su vez conlleva a una regulación positiva de genes que involucrados en respuesta a esta hormona, como los genes *ARRs* tipo A (*A-ARRs*).

Mecanismos de acción

Las citocininas son las hormonas vegetales de la cual existe menor información en cuanto a biosíntesis, metabolismo y transducción de señales. Sin embargo, recientemente se han descrito algunos mecanismos de acción. Las citocininas se encuentran tanto en el apoplasto como en el simplasto, de manera que se asume la existencia de transportadores específicos a este nivel. Se ha demostrado que estas hormonas son primero percibidas por proteínas histidina-quinasa y que la transducción de la señal por ellas provoca una fosforilación en su porción conservada y con transferencia del grupo fosforilo a un regulador de respuesta más distante, regula a su vez regula la cascada de señales río abajo (Kakimoto 2003b) (Fig. 7). La primera de estas proteínas tipo histidina-quinasa fue identificada en *Arabidopsis*, citokinin-quinasa (CKI1), la que al ser sobre expresada en *Arabidopsis* produce efectos típicos asociados a citocininas en ausencia de estas hormonas (Kakimoto 2003b). Recientemente se han descubierto otros receptores tipo histidina-quinasa más genuinos y específicos que el anterior mencionado, denominados CRE1/WOL/AHK4, AHK2 y AHK3, las que iniciarían la transferencia del fosfato a nivel intracelular y que actuarían como las tres proteínas receptoras de membrana en el modelo de *Arabidopsis* (Yamada et al 2001; Sheen 2002). En esta especie se han continuado los estudios sobre la acción de citocininas debido a que su genotipo está bien conocido. Existen 22 genes involucrados en respuestas reguladoras para genes del tipo *ARR*. Entre ellos se distinguen los grupos, *ARR* tipo A (*A-ARR*) y *ARR* tipo B (*B-ARR*), cada uno con 11 miembros. Estudios recientes indican que las citocininas ligadas a los 3 receptores de membrana activarían primero los genes *B-ARR*, los que inmediatamente activarían los *A-ARRs*. La activación ocurriría primero a través de la fosforilación de unas proteínas AHPs (proteínas HPT), las que a su vez transfieren el grupo fosforilo a los *A-ARRs* y *B-ARRs* en el núcleo. Estos provocarían finalmente la activación transcripcional de otros genes blanco, produciéndose los efectos específicos de citocininas (Aoyama & Oka 2003; Heyl & Schmulling 2003; Hutchison & Kieber 2002).

Usos comerciales

Propagación y regeneración de tejidos. Debido a que los efectos de las citocininas en plantas están relacionados principalmente en la capacidad de estimular la división y la diferenciación celular junto a otros reguladores de crecimiento (auxinas), se les utiliza en la propagación clonal de material ornamental o forestal, de calidad superior y en la regeneración masiva de plantas elite. Por ejemplo, en viveros especializados, donde la propagación de plantas *in vitro* es una actividad permanente, su uso está vinculado con la inducción de la organogénesis, especialmente la formación caulinar, de nuevos brotes adventicios y de embriones somáticos. En diversas coníferas, ha sido posible masificar la producción de brotes con aplicaciones de citocininas a cotiledones en estadios tempranos de germinación de semillas, lo cual permite obtener plantas por vía asexual después del enraizamiento de dichos brotes. En todas aquellas plantas donde se manifiesta la "totipotencia celular", ya sea en condiciones *in vivo* o *in vitro*, las citocininas contribuyen considerablemente en la manifestación y eficiencia de dicho proceso.

Control de la senescencia. Por otro lado, debido a que las citocininas retardan la senescencia, proceso que implica clorosis por degradación de la clorofila, y dado que permiten la manutención de la síntesis de proteínas, junto a carbohidratos y otros compuestos orgánicos, es posible usar dicha hormona para dilatar y mantener la vida de flores con hojas. Lo anterior es relevante en la producción de flores de corte, material que con estas características implican una ganancia comercial adicional, especialmente se considera la demandas en el mercado de exportación.

Generación de variedades o genotipos nuevos. La inserción por transformación de genes que causan sobreproducción de citocininas, como el gen *IPT*, permite obtener de manera más extendida las características de retardo de senescencia. Por ejemplo, en tomates se

obtiene un periodo más largo de crecimiento (demora en la senescencia), mayor formación de yemas y brotes conducentes a flores y frutos, con mayor productividad, plantas con más vigor, con mayor contenido de clorofila y por tanto de mayor eficiencia. Si bien lo anterior corresponde a biotecnologías especializadas de laboratorio, efectos parecidos son posibles de obtener mediante aplicación de la hormona en forma externa. Obviamente, el efecto será particular respecto a dosis, especies, variedades, estadios y otras condiciones culturales impuestas al cultivo elegido. En combinación con giberelinas, las citocininas actuarían promoviendo también el crecimiento de algunos frutos.

RESUMEN

Las auxinas son un grupo de hormonas que regulan muchos aspectos del desarrollo y crecimiento en plantas. La más abundante es el ácido indolacético. Su síntesis ocurre mayormente en meristemos apicales y tejidos jóvenes de donde son transportadas al resto de la planta. El gradiente de concentración de éstas reprime el desarrollo de brotes axilares hacia la base del tallo. Entre las principales funciones, las auxinas promueven la elongación celular, inhiben el crecimiento de raíces primarias, median la respuesta a tropismos, reprimen la abscisión de órganos e inducen el desarrollo floral y de frutos. Aunque con modo de acción distinto, las giberelinas también son una familia de hormonas que regulan positivamente el crecimiento de la planta, especialmente la elongación de tallos. También promueven la movilización de reservas y germinación de semillas, así como el desarrollo floral y de frutos. Por otro lado, las citocininas son hormonas que estimulan la división celular, activan la brotación de yemas, inducen organogénesis y retardan la senescencia.

A pesar de la simplicidad de la estructura de los compuestos hormonales de plantas descritos más arriba, no ha sido igualmente fácil conocer los múltiples mecanismos que promueven las diversas respuestas fisiológicas a nivel celular y de organismo. En algunos casos, las respuestas son evidentemente simples como el hecho que IAA protona rápidamente paredes celulares con el consiguiente "soltamiento" de microfibrillas favoreciendo la elongación, acción que también pueden realizar compuestos análogos de diferente estructura molecular. Por otro lado, menos simple aparece la función a nivel de señales nucleares codificantes de ARNs específicos del tipo SAUR, que ocurren a mayor plazo, vinculados a algunas respuestas gravitropicas. Lo anterior es sólo un ejemplo de la variedad de respuestas desencadenadas por IAA y sus análogos a nivel celular que puede diferir aún más cuando se encuentra en presencia de otros reguladores. Además hay que considerar la sensibilidad del tejido donde se encuentra la hormona. Una pregunta básica es ¿porqué los óptimos de crecimiento de tallos en cuanto a su concentración endógena de auxina son del orden de 10.000 veces o más los óptimos de concentración de IAA que favorecen el crecimiento en raíces? ¿En qué consiste dicha diferente sensibilidad? Y, con respecto a la presencia de otros reguladores junto a auxina, cómo es el caso con las citocininas, ¿cual es la combinación de señales para que sólo niveles diferentes entre ellos determinen el tipo de respuesta morfogénica a generar, ya sea conducentes a la formación de raíces o alternativamente brotes, a pesar que se puede considerar una tercera alternativa consistente en mantener infinitamente a las células parenquimáticas en constante proliferación, "sin nunca diferenciar" en los órganos mencionados?

La siguiente incógnita es por qué existen tantas respuestas frente a la misma hormona en la planta? y ¿por qué las plantas en su evolución, considerando tantas formas de vida y diversa longevidad asumen todas evolucionar controlando su desarrollo (crecimiento más diferenciación) con un número tan reducido de reguladores endógenos? De seguro, los descubrimientos en biología vegetal irán gradualmente dando una explicación a cada interrogante y sobre muchas otras respuestas fisiológicas con mecanismos aún poco conocidos.

Preguntas y Problemas

1. ¿Qué hace posible que AIA y otros reguladores de crecimiento de diferente estructura actúen y provoquen efectos similares en las plantas?
2. ¿Qué mecanismo hace posible el transporte basipétalo del AIA?
3. En relación a niveles de auxina en los diferentes órganos de la planta, ¿qué hace que ocurra dominancia apical?
4. ¿Qué es polaridad y de qué manera IAA se encuentra envuelto?
5. ¿Por qué serían más estables en los tejidos los reguladores tipo auxina no naturales como ANA, MCPA y 2,4-D respecto al IAA, y por qué sus efectos son más pronunciados o intensos que IAA a iguales niveles de concentración (μM)?
6. ¿Cómo puede Ud. demostrar que las respuestas de crecimiento en coleótilos no se deben a un fenómeno de irritabilidad sino a la presencia de un compuesto químico y en especial de IAA?
7. Indique algunos de los precursores de las vías de síntesis del IAA y el nombre que se le ha dado a éstas.
8. ¿Cómo se explican la respuesta gravitrópica de las raíces?
9. ¿Cómo es que la presencia o niveles adecuados de AIA evitan la caída de las hojas y niveles altos desencadenan su caída?
10. ¿Indique qué es partenocarpia y de qué manera se visualizó el efecto de crecimiento provocado por la presencia de IAA en las semillas en desarrollo de varias plantas?
11. ¿Cómo fueron descubiertas las giberelinas y su acción hormonal??
12. ¿Qué explicación daría al encontrarse un número tan elevado de moléculas afines a la estructura "gibano" en las plantas y durante su ontogenia?
13. ¿Qué acción y efectos específicos son observados en semillas de cereales cuando se someten a tratamientos con giberelinas?
14. ¿Qué efectos provocan giberelinas respecto a la transición entre la fase juvenil y adulta de una planta?
15. ¿Qué función cumplen giberelinas respecto a las demandas de frío y/o de fotoperiodo de lagunas plantas respecto al crecimiento del tallo e inducción de la floración?
16. ¿Qué acción tendrían giberelinas respecto al fenómeno de elongación celular a nivel de la pared celular?
17. ¿Qué acción desarrollan las "antigiberelinas" en las plantas?
18. ¿A que nivel actuarían las giberelinas promoviendo la división celular?
19. ¿Qué son los mutantes insensibles a las GAs?
20. ¿Qué es partenocarpia y como afectan las GAs en ese proceso?
21. ¿Cómo fueron descubiertas las citocininas como hormonas en plantas?
22. ¿Qué características estructurales son comunes en casi la totalidad de las citocininas?
23. ¿De qué manera las citocininas, junto con los reguladores tipo auxinas desencadenan diferentes tipos de morfogénesis en plantas?
24. ¿Qué efectos provoca una alta concentración de citocinina en una hoja senescente?
25. ¿Qué efectos generales se pueden observar en plantas transgénicas que muestran sobreproducción de citocininas?
26. ¿Explique la causa de la enfermedad del "Tumor de la Agalla del Cuello"?
27. ¿Cómo influyen las citocininas el desarrollo de cloroplastos?
28. ¿Cuáles son los precursores comunes de las citocininas naturales en plantas?
29. ¿Cuáles son los órganos que evidencian una mayor síntesis de citocininas?
30. ¿De qué manera y por cuáles tejidos se realiza el transporte de citocininas en las plantas?

Lecturas Generales

- AZCÓN-BIETO J & M TALON. 1996. Fisiología y Bioquímica Vegetal. Edígrafos, Madrid, pp. 285-299.
- BUCHANAN B, W GRUISSEM & RL JONES. 2000. Biochemistry and Molecular Biology of

- Plants. Ediciones ASPB, Baltimore, MD, pp. 800-900.
- DAVIES PJ. 1995. Plant hormones. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- FLEET CM & TP SUN. 2005. A DELLAcate balance: the role of gibberellin in plant morphogenesis. *Current Opinions in Plant Biology* 8: 77-85.
- OLSZEWSKI N, TP SUN & F GUBLER. 2002. Gibberellin signaling: biosynthesis, catabolism, and response pathways. *Plant Cell* 14: S61-S80.
- SALISBURY F & C ROSS. 1994. Fisiología Vegetal. Editorial Iberoamericana. México.
- SUN TP & F GUBLER. 2004. Molecular mechanism of gibberellin signaling in plants, *Annu. Rev. Plant Biol.* 55: 197-223.
- TAIZ L & E ZEIGER. 2006. Plant Physiology. Cuarta edición. Sinauer Associates Inc. Editores, Sunderland, MA.
- WOODWARD AW & B BARTEL. 2005. Auxin: regulation, action and interaction. *Annals of Botany* 95: 707-735.

Literatura Citada

- ABEL S & A THEOLOGIS. 1996. Early genes and auxin action. *Plant Physiology* 111: 9-17.
- AOYAMA T & A OKA. 2003. Cytokinin signal transduction in plant cells. *J Plant Research* 116: 221-231.
- AUER CA. 2002. Discoveries and Dilemmas Concerning Cytokinin Metabolism. *J Plant Growth Regulation* 21: 24-31.
- BAK S, FE TAX, KA FELDMANN, DW GALBRAITH & R FEYEREISEN. 2001. CYP83B1, a cytochrome P450 at the metabolic branch point in auxin and indole glucosinolate biosynthesis in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* 13: 101-111.
- BARTEL B, S LECLERE, M MAGIDIN & BK ZOLMAN. 2001. Inputs to the active indole-3-acetic acid pool: de novo synthesis, conjugate hydrolysis, and indole-3-butyric acid β -oxidation. *Journal of Plant Growth Regulation* 20: 198-216.
- BHALERAO RP, J EKLÖF, K LJUNG, A MARCHANT, M BENNETT & G SANDBERG. 2002. Shoot-derived auxin is essential for early lateral root emergence in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Journal* 29: 325-332.
- BLILOU I, J XU, M WILDWATER, V WILLEMSSEN, I PAPONOV, J FRIML, R HEIDSTRA, M AIDA, K PALME & B SCHERES. 2005. The PIN auxin efflux facilitator network controls growth and patterning in *Arabidopsis* roots. *Nature* 433: 39-44.
- CAPLIN SM & FC STEWARD. 1948. Effect of coconut milk on the growth of the explants from carrot root. *Science* 108: 655-657.
- COENEN C & TL LOMAX. 1997. Auxin-cytokinin interactions in higher plants: old problems and new tools. *Trends Plant Science* 2: 351-356.
- DHARMASIRI N, S DHARMASIRI & M ESTELLE. 2005a. The F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature* 435: 441-445.
- DHARMASIRI N, S DHARMASIRI, D WEIJERS, E LECHNER, M YAMADA, L HOBBIE, JS EHRISMANN, G JURGENS & M ESTELLE. 2005b. Plant development is regulated by a family of auxin receptor F box proteins. *Developmental Cell* 9:109-19.
- ESMON CA, V ULLAS, V PEDMALE & E LISCUM. 2005. Plant tropisms: providing the power of movement to a sessile organism. *Int. J. Dev. Biol.* 49: 665-674.
- FABIAN T, R LORBIECKE, M UMEDA & M SAUTER. 2000. The cell cycle genes *cycA1;1* and *cdc2Os-3* are coordinately regulated by gibberellin in *planta*. *Planta* 211: 376-383.
- FLEET CM & TP SUN (2005) A DELLAcate balance: the role of gibberellin in plant morphogenesis. *Current Opinions in Plant Biology* 8: 77-85.
- FOS M, K PROANO, F NUEZ & JL GARCIA-MARTINEZ. 2001. Role of gibberellins in parthenocarpic fruit development induced by the genetic system *pat-3/pat-4* in tomato. *Physiologia Plantarum* 111: 545-550.
- FRIML J, A VIETEN, M SAUER, D WEIJERS, H SCHWARZ, T HAMANN, R OFFRINGA & G JÜRGENS. 2003. Efflux-dependent auxin gradients establish the apical-basal axis of *Arabidopsis*. *Nature* 426: 147-153.
- FU X, DE RICHARDS, T AIT-ALI, LW HYNES, H OUGHAM, J PENG & NP HARBERD. 2002. Gibberellin-mediated proteasome-dependent degradation of the barley DELLA protein SLN1 repressor. *Plant Cell* 14: 3191-3200.
- GARCÍA-MARTÍNEZ JL & P HEDDEN. 1997. Gibberellins and fruit development. En: *Phytochemistry of Fruit and Vegetables*. FA Tomás-Barberán & RJ Robins Eds, Clarendon Press, Oxford, UK. pp 263-

285.

- GELDNER N, J FRIML, YD STIERHOF, G JÜRGENS & K PALME. 2001. Auxin transport inhibitors block PIN1 cycling and vesicle trafficking. *Nature* 413: 425–428.
- GOCAL GF, AT POOLE, F GUBLER, RJ WATTS, C BLUNDELL & RW KING. 1999. Long-day up-regulation of a GAMYB gene during *Lolium temulentum* inflorescence formation. *Plant Physiology* 119: 1271–1278.
- GUBLER F, PM CHANDLER, RG WHITE, DJ LLEWELLYN & JV JACOBSEN. 2002. Gibberellin signaling in barley aleurone cells. Control of SLN1 and GAMYB expression. *Plant Physiology* 129: 191–200.
- HAGER A. 2003. Role of the plasma membrane H⁺-ATPase in auxin-induced elongation growth: historical and new aspects. *Journal of Plant Research* 116: 483–505.
- HEDDEN P & Y KAMIYA. 1997. Gibberellin biosynthesis: enzymes, genes and their regulation, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48 (1997), pp. 431–460.
- HEDDEN P & AL PHILLIPS. 2000. Gibberellin metabolism: new insights revealed by the genes, *Trends Plant Sci.* 5: 523–530.
- HEYL A & T SCHMULLING. 2003. Cytokinin signal perception and transduction. *Current Opinion Plant Biology* 6: 480–488.
- HO THD, A GÓMEZ-CADENAS, R ZENTELLA & JA CASARETTO. 2003. Crosstalk between gibberellin and abscisic acid in cereal aleurone. *Journal of Plant Growth Regulation* 22: 185–194.
- HOU G, VL KRAMER, YS WANG, R CHEN, G PERBAL, S GILROY & EB BLANCAFLOR. 2004. The promotion of gravitropism in *Arabidopsis* roots upon actin disruption is coupled with the extended alkalization of the columella cytoplasm and a persistent lateral auxin gradient. *Plant Journal* 39: 113–125.
- HOWELL SH, LALL S & P CHE. 2003. Cytokinins and shoot development. *Trends Plant Science* 8: 453–459.
- HUETTEMAN CA & J PREECE. 1993. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 33:105–119.
- HULL AK, R VIJ & JL CELENZA. 2000. *Arabidopsis* cytochrome P450s that catalyze the first step of tryptophan-dependent indole-3-acetic acid biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA* 97: 2379–2384.
- HUTCHISON CE & KIEBER JJ. 2002. Cytokinin signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 14 Suppl: S47–S59.
- ITOH H, M MATSUOKA & CM STEBER. 2003. A role for the ubiquitin–26S-proteasome pathway in gibberellin signaling, *Trends Plant Science* 8: 492–497.
- JAN A, G YANG, H NAKAMURA, H ICHIKAWA, H KITANO, M MATSUOKA, H MATSUMOTO H & S KOMATSU. 2004. Characterization of a xyloglucan endotransglucosylase gene that is up-regulated by gibberellin in rice. *Plant Physiology* 136: 3670–3681.
- JENIK PD & MK BARTON. 2005. Surge and destroy: the role of auxin in plant embryogenesis. *Development* 132: 3577–3585.
- JONES AM. 1994. Auxin-binding proteins. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 45: 393–420.
- KAKIMOTO T. 2003a. Biosynthesis of cytokinins. *J Plant Research* 116: 233–239.
- KAKIMOTO T. 2003b. Perception and signal transduction of cytokinins. *Annual Review of Plant Biology* 54: 605–207.
- KATO K, H OHARA, E TAKAHASHI, H MATSUI & M NAKAYAMA. 2000. Endogenous gibberellin-induced parthenocarpy in grape berries. *Acta Horticulturae* 514: 69–74.
- KEPINSKI S & O LEYSER. 2005. The *Arabidopsis* F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature* 435: 446–451.
- KING RW & LT EVANS. 2003. Gibberellins and flowering of grasses and cereals: Prizing open the lid of the “Florigen” black box. *Annu. Rev. Plant. Biol.* 54: 307–328.
- LETHAM DS. 1973. Cytokinins from *Zea mays*. *Phytochemistry* 12: 2445–2455.
- Li Y, G Hagen & TJ Guilfoyle. 1991. An Auxin-Responsive Promoter Is Differentially Induced by Auxin Gradients during Tropisms. *Plant Cell* 3: 1167–1175.
- LISCUM E & REED JW. 2002. Genetics of Aux/IAA and ARF action in plant growth and development. *Plant Molecular Biology* 49: 387–400.
- LJUNG K, AK HULL, M KOWALCZYK, A MARCHANT, J CELENZA, JD COHEN & G SANDBERG. 2002. Biosynthesis, conjugation, catabolism and homeostasis of indole-3-acetic acid in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molecular Biology* 50: 309–332.
- LOMAX TL, GK MUDAY & PH RUBERY. 1995. Auxin transport. In: Davies PJ, ed. *Plant hormones*. Dordrecht: Kluwer, 509–530.
- LUDWIG-MÜLLER J & JD COHEN. 2002. Identification and quantification of three active auxins in different tissues of *Tropaeolum majus*. *Physiologia Plantarum* 115: 320–329.

- MALONEK S, C BOMKE, E BORNBERG-BAUER, MC ROJAS, P HEDDEN, P HOPKINS & B TUDZYNSKI. 2005. Distribution of gibberellin biosynthetic genes and gibberellin production in the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Phytochemistry* 66: 1296-1311.
- NORMANLY J, P GRISAFI, GR FINK & B BARTEL. 1997. *Arabidopsis* mutants resistant to the auxin effects of indole-3-acetonitrile are defective in the nitrilase encoded by the NIT1 gene. *The Plant Cell* 9: 1781-1790.
- NORMANLY J. 1997. Auxin metabolism. *Physiologia Plantarum* 100: 431-442.
- OUYANG J, X SHAO & J LI. 2000. Indole-3-glycerol phosphate, a branchpoint of indole-3-acetic acid biosynthesis from the tryptophan biosynthetic pathway in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Journal* 24: 327-333.
- PAPONOV IA, DW TEALE, M TREBAR, I BLILOU & K PALME. 2005. The PIN auxin efflux facilitators: evolutionary and functional perspectives. *Trends in Plant Science* 10: 170-177.
- PENG J & NP HARBERD. 2002. The role of GA-mediated signaling in the control of seed germination. *Curr Opin Plant Biol.* 5: 376-381.
- PFLUGER J & P ZAMBRYSKI. 2004. The role of SEUSS in auxin response and floral organ patterning. *Development* 131: 4697-4707.
- POLLMANN S, D NEU & EW WEILER. 2003. Molecular cloning and characterization of an amidase from *Arabidopsis thaliana* capable of converting indole-3-acetamide into the plant growth hormone, indole-3-acetic acid. *Phytochemistry* 62: 293-300.
- RADEMACHER W. 2000. Growth retardants: effects on gibberellin biosynthesis and other metabolic pathways. *Ann. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol.* 50: 502-531.
- RAMPEY RA, S LECLERE, M KOWALCZYK, K LJUNG, G SANDBERG & B BARTEL. 2004. A family of auxin-conjugate hydrolases that contributes to free indole-3-acetic acid levels during *Arabidopsis* germination. *Plant Physiology* 135: 978-988.
- RASHOTTE AM, J POUPART, CS WADDELL & GK MUDAY. 2003. Transport of the two natural auxins, indole-3-butyric acid and indole-3-acetic acid, in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 133: 761-772.
- SAKAMOTO T, K MIURA, H ITOH, T TATSUMI, M UEGUCHI-TANAKA, K ISHIYAMA, M KOBAYASHI, GK AGRAWAL, S TAKEDA, K ABE, A MIYAO, H HIROCHIKA, H KITANO, M ASHIKARI & M MATSUOKA. 2004. An overview of gibberellin metabolism enzyme genes and their related mutants in rice, *Plant Physiol.* 134: 1642-1653.
- SHEEN J. 2002. Phosphorelay and transcription control in cytokinin signal transduction. *Science* 296: 1650-1652.
- SKOOG F & CO MILLER. 1965. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. In: *Molecular and Cellular Aspects of Development.*, E. Bell ed., Harper and Row, New York, pp. 481-494.
- SMITH PM & CA ATKINS. 2002. Purine biosynthesis. Big in cell division, even bigger in nitrogen assimilation. *Plant Physiology* 128: 793-802.
- STASWICK PE, B SERBAN, M ROWE, I TIRYAKI, MT MALDONADO, MC MALDONADO & W SUZA. 2005. Characterization of an *Arabidopsis* enzyme family that conjugates amino acids to indole-3-acetic acid. *Plant Cell* 17: 616-627.
- STUART NW & HM CATHEY. 1961. Applied Aspects of the Gibberellins. *Annual Review of Plant Physiology* 12: 369-394.
- SWARUP R, J KARGUL, A MARCHANT, D ZADIK, A RAHMAN, R MILLS, A YEMM, S MAY, L WILLIAMS, P MILLNER, S TSURUMI, I MOORE, R NAPIER, ID KERR & MJ BENNETT. 2004. Structure-function analysis of the presumptive *Arabidopsis* auxin permease AUX1. *The Plant Cell* 16: 3069-3083.
- TAMURA S. 1990. Historical aspects of gibberellins. En: *Gibberellins*. Takahashi N, BO Phinney & J Macmillan Eds. Springer-Verlag, New York. pp 1-8.
- THIMANN KV. 1977. Hormone action in the whole life of plants. Amherst: University of Massachusetts Press.
- THOMAS SG, AL PHILLIPS, & P HEDDEN. 1999. Molecular cloning and functional expression of gibberellin 2-oxidases, multifunctional enzymes involved in gibberellin deactivation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 4698-4703.
- THOMAS SG & TP SUN. 2004. Update on gibberellin signaling. A tale of the tall and the short. *Plant Physiol.* 135: 668-676.
- UEGUCHI-TANAKA M, M ASHIKARI, M NAKAJIMA, H ITOH, E KATOH, M KOBAYASHI, TY CHOW, YI HSING, H KITANO, I YAMAGUCHI & M MATSUOKA. 2005. GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF1 encodes a soluble receptor for gibberellin. *Nature* 437: 693-698.
- UEGUCHI-TANAKA M, Y FUJISAWA, M KOBAYASHI, M ASHIKARI, Y IWASAKI, H KITANO & M MATSUOKA. 2000. Rice dwarf mutant *d1*, which is defective in the alpha subunit of the heterotrimeric G protein, affects gibberellin signal transduction. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 11638-11643.
- VAN DOORN WG & AD STEAD. 1997. Abscission of flowers and floral parts. *Journal of Experimental*

Botany 48, 821–837.

WENT FW & KV THIMANN. 1937. Phytohormones. New York: The Macmillan Company.

Woodward AW & B Bartel. 2005. Auxin: regulation, action and interaction. *Annals of Botany* 95: 707-735.

YAMADA H, T SUZUKI, K TERADA, K TAKEI, K ISHIKAWA, K MIWA, T YAMASHINO & T MIZUNO. 2001. The *Arabidopsis* AHK4 histidin kinase is a cytokinin-binding receptor that transduces cytokinin signals across the membrane. *Plant Cell Physiology* 42: 1017-1023.

YU H, T ITO, Y ZHAO, J PENG, P KUMAR & EM MEYEROWITZ. 2004. Floral homeotic genes are targets of gibberellin signaling in flower development. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 101: 7827-32.

ZHAO Y, AK HULL, NR GUPTA, KA GOSS, J ALONSO, JR ECKER, J NORMANLY, J CHORY & JL CELENZA. 2002. Trp-dependent auxin biosynthesis in *Arabidopsis*: involvement of cytochrome P450s CYP79B2 and CYP79B3. *Genes and Development* 16: 3100–3112.