

Capítulo XVI

Hormonas y Reguladores del Crecimiento: Etileno, Ácido Abscísico, Brasinoesteroides, Poliaminas, Ácido Salicílico y Ácido Jasmónico

Miguel Jordán¹ y José Casaretto²

ETILENO

Etileno es la única hormona vegetal gaseosa, simple y pequeña, presente en angiospermas y gimnospermas aunque también en bacterias y hongos además de musgos, hepáticas, helechos y otros organismos. Siendo un gas puede moverse rápidamente por los tejidos, no tanto por transporte sino por difusión. Su efecto además se inicia con cantidades mínimas, las cuales ya provocan respuestas.

El hecho que la hormona etileno haya resultado ser un gas, es con respecto a la formulación de las otras hormonas "no gaseosas" un hecho sorprendente, además dado que los mínimos niveles que implican un efecto; son comúnmente menores a 1.0 ppm (1.0 μL^{-1}). Independientemente, algunos fenómenos afines al efecto de gases sobre plantas habían ido aconteciendo por comienzos del Siglo XX. En parques residenciales de Europa, se observaba la caída particular de las hojas de sólo algunos árboles dispuestos en algunos sitios de parques próximos al iluminado y desde E.E.U.U., se hacía referencia también a la caída total de hojas en cultivos de rosas en desarrollo bajo condiciones de invernadero. En ambos casos estaba involucrado el combustible distribuido que emanaba de una tubería defectuosa que contenía gas urbano para alumbrado de los faroles y calefacción de esa época. En general, el etileno se encuentra como subproducto de la combustión de petroquímicos. Esto condujo a reconocer experimentalmente, aún a comienzos de siglo que, varios gases como el etileno, podían inducir varias respuestas en plantas, al poder afectar los patrones de crecimiento y germinación, aunque este último, no como una hormona vegetal. Sin embargo a partir de los 1980s se descifra totalmente su ciclo de síntesis, enzimas y diferentes factores bióticos y abióticos que afectan dicho proceso y etileno es reconocido como otra hormona vegetal. Se asume que estaría relacionado con la acción de auxina dado que en presencia de ésta, etileno incrementa sus efectos más allá que el generado por la propia auxina, aun-

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

que se admite que por su forma gaseosa, puede llegar a zonas adyacentes más rápidamente donde la auxina no puede acceder.

Síntesis, degradación y transporte

La biosíntesis de etileno fue dilucidada por S.F. Yang, quien en 1979 describió lo que se conoce como el ciclo de la metionina o de Yang. Este ciclo se inicia justamente en la metionina que se asocia a la adenosina conformando la S-adenosilmetionina (AdoMet). El paso siguiente es la conversión de este intermediario en ACC (ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico) el cual se desdobra en etileno con liberación de CO₂ (Fig. 1). De la conversión de AdoMet a ACC se libera 5 metil-tio-adenosina la cual se disocia en adenina y ribosa (metil-tio-ribosa) pasando por varias reacciones a constituir nuevamente metionina, para continuar el ciclo. Este ciclo metabólico es importante pues recicla la metionina, un aminoácido no abundante, como fuente de azufre. Las reacciones pueden estar separadas espacialmente; en condiciones de inundación (condiciones anaeróbicas) el ACC se genera en la raíz y se transporta vía xilema, a través de la corriente transpiratoria hacia la parte aérea, donde se transforma en etileno y donde manifiesta su acción (Bradford & Yang 1980). Las tres reacciones principales están obviamente gobernadas por las enzimas AdoMet-sintetasa para la síntesis de AdoMet; la ACC-sintasa para el ACC y la ACC-oxidasa para el etileno, siendo esta última una reacción aeróbica. Varios factores sin embargo pueden acelerar o frenar estas interconversiones. Se ha determinado que AIA puede inducir la síntesis de etileno al promover la síntesis de ACC-sintasa. La síntesis y actividad de esta enzima también es estimulada por factores abióticos como inundación, sequía y daño mecánico por heladas o heridas (por ejemplo granizo) o durante algunas etapas de desarrollo como cierto grado de madurez de frutos. En el caso de la ACC-oxidasa, la condición aeróbica y el fenómeno de maduración, pero no temperaturas superiores a 35°C, estimulan la conversión a etileno. Aumentos de ACC, ACC-oxidasa y etileno se han observado en varios frutos un par de días después de su cosecha, sin embargo las reacciones de síntesis también pueden ser incrementadas bajo algunas situaciones de estrés. Así en tomate, bajo condiciones de anaerobiosis (suelos inundados de agua), la síntesis de ACC se torna muy intensa en raíces y la conversión a etileno ocurre una vez que este es transportado a la parte aérea (pecíolos) y donde la condición aeróbica permite la acción de la ACC-oxidasa (Yang 1987). Quizás el punto más limitante en la producción de etileno es la ACC-sintasa. Recientemente, el análisis de mutantes de *Arabidopsis* ha revelado un nuevo proceso a nivel molecular para el control de la actividad de esta enzima (Chae & Kieber 2005). Las dos clases de ACC-sintasas que existen en *Arabidopsis* contienen un dominio carboxilo-terminal que sería sujeto a fosforilaciones por proteínas quinasas. Tales modificaciones bloquearían la formación de un complejo entre las ACC-sintasas y un regulador negativo de éstas (ETO1), el cual las marcaría para ser degradadas por el sistema del proteasoma 26 (Wang et al. 2004).

La degradación de etileno ocurre en forma gradual pasando a óxido de etileno, ácido oxálico y CO₂. Por otro lado, no todo el ACC es convertido a etileno, sino que parte de él se conjuga a N-malonil ACC (Fig. 1).

Efectos fisiológicos.

Expansión celular. Etileno regula la expansión celular en hojas y la expansión lateral en plántulas en germinación con inhibición de la elongación del epicotilo y radícula, causando también un incremento en la curvatura a nivel de la porción cotiledonar, lo que en conjunto se conoce como el efecto de la "triple respuesta". La expansión celular lateral se asume es un efecto del etileno sobre alineamiento a nivel de microtúbulos lo cual afecta la deposición de nuevas microfibrillas de celulosa durante el crecimiento. La expansión puede asociarse de alguna manera a la formación de aerénquima en raíces y tallos de plantas de hábito acuático (órganos sumergidos) como una respuesta adicional a la anoxia.

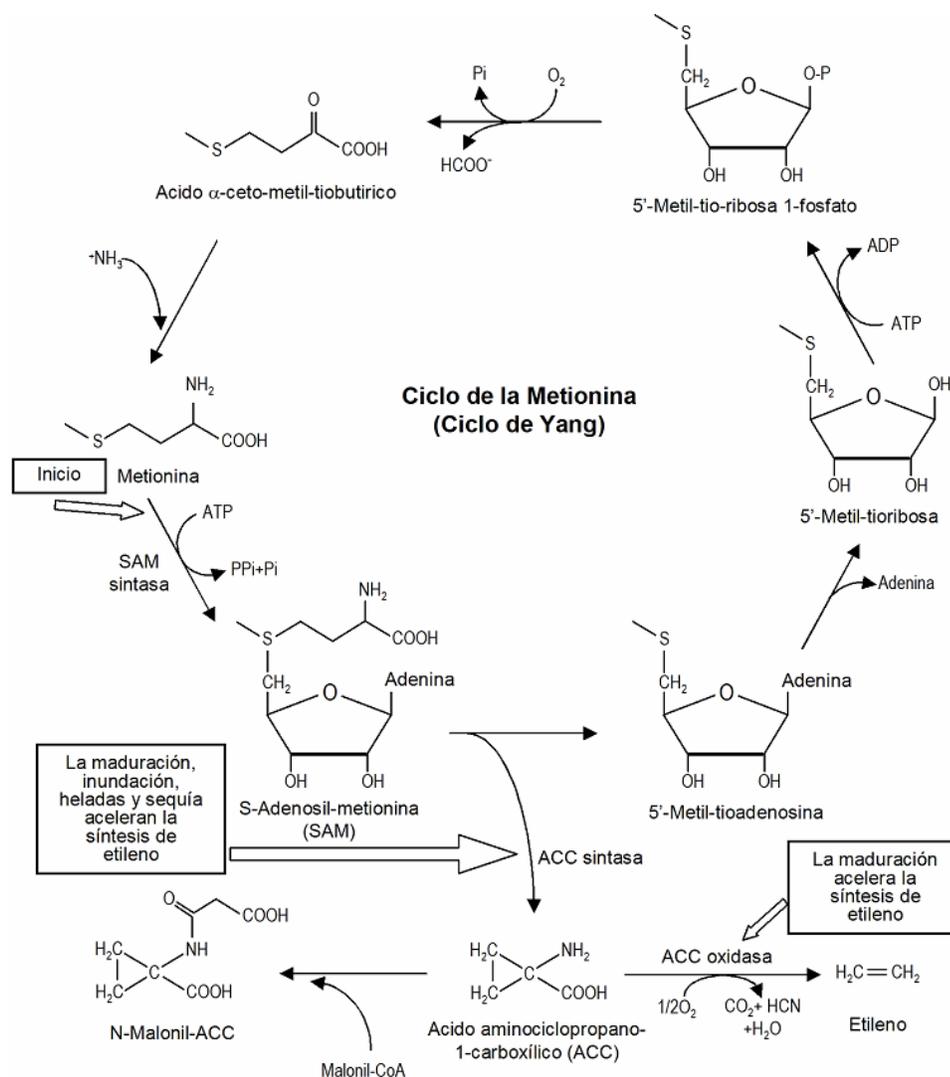


Fig. 1. Biosíntesis del etileno y ciclo de Yang.

Epinastia. Este efecto se observa en varias plantas herbáceas e implica un cambio de ángulo de las ramas o brotes de manera que aparecen en una forma más horizontal, o aun inclinadas hacia abajo. Como un ejemplo, en el caso del tomate, esta respuesta se debe a un mayor crecimiento por elongación de la porción adaxial superior del pecíolo respecto a la abaxial inferior. Ello se manifiesta muy significativamente bajo condiciones de anaerobiosis o de inundación del suelo.

Quiebre de la dormancia en semillas y yemas. Se ha visto que etileno tiene efectos sobre la germinación en varias especies. Por ejemplo, al interrumpir la dormancia en maní, o la dormancia impuesta por altas temperaturas (termodormancia) en semillas de lechuga o durante la germinación de trébol, se observa gran liberación de etileno. En el caso de tubérculos de papa o de otras especies, etileno es capaz de inducir la brotación de material en receso vegetativo.

Inducción de floración. Especialmente en *Ananas* (ananás o piña) se usa etileno a nivel comercial para inducir no sólo la floración sino también para sincronizarla, de manera que posteriormente el tamaño y grado de madurez de la fruta resulta más homogéneo, facilitándose la cosecha que queda reducida a una sola recolección. En plantaciones de gran su-

perficie, aplicaciones de etileno secuenciadas por sitio permiten la maduración y cosecha diferida de la fruta por sitios con mejor aprovechamiento de la mano de obra.

Maduración de frutos. Los efectos más conocidos del etileno son a nivel de la maduración de frutos. Con el avance de la madurez ocurre la transformación del almidón en azúcares, ablandamiento y degradación de paredes celulares junto a desarrollo de aromas, sabores y colores. En breve también se denota un aumento global de la respiración con alta producción de CO₂. Aunque este efecto es inicialmente lento, la producción de etileno se “retroalimenta”, es decir, los niveles endógenos auto-generan un mayor incremento de su síntesis rápidamente y en forma exponencial. El aumento explosivo del nivel de producción de etileno en algunas frutas se denomina climaterio. El fenómeno ocurre solamente en algunas especies; entre los frutos climatéricos se puede citar a banana, manzana, tomate, paltas, kiwi, melón, pera, higo, durazno, nectarín, mango, y otros; a diferencia de aquellos que, como cítricos (naranja, limón), cerezas, frutillas y uvas, el nivel de etileno permanece estable (frutos no climatéricos). En estos el etileno no es requerido para la maduración de sus frutos; sin embargo aplicaciones a cítricos provocan un efecto de amarillamiento, con pérdida de clorofila en el flavedo, lo que da una apariencia de mayor madurez. Se ha determinado que en frutos climatéricos puede producirse un nivel de etileno superior a 300 nl/g/h, al mismo tiempo que se desencadena una rápida liberación de CO₂, previo al proceso siguiente, la senescencia, conducente a la degradación de los frutos (Giovannoni 2001).

Aceleración de la senescencia y caída de hojas y de flores. La aplicación de etileno o alternativamente una reducción de hormonas promotoras del crecimiento (auxinas, citocininas) a nivel de hojas provoca inicialmente clorosis y formación de un tejido de abscisión a nivel de la base del pecíolo de las hojas, bastando 1.0 mg/l de etileno para provocar la clorosis en hojas de rosas. La presencia de etileno provoca la activación de genes de síntesis de celulosa, que, junto a una mayor secreción y presencia de otras enzimas degenerativas de la pared, dan como resultado la abscisión y posterior defoliación. En flores con aplicaciones de etileno se observa un efecto similar. En general, existe un aumento de RNAsas con cambios del perfil electroforético de proteínas de menor peso molecular. Otras respuestas del etileno están vinculadas a la promoción del enraizamiento en algunas especies, pero no se trata de un efecto generalizado.

Mecanismos de acción

En plantas mutantes de *Arabidopsis* que son insensibles al etileno se ha determinado a nivel de membranas de retículo endoplásmico y plasmalema a un receptor proteico de Etileno denominado ETR1 de 79-kDa con dominio transmembrana en forma de dímero. Aparte de ETR1, se han identificado otras proteínas que actuarían como receptores a nivel de membrana como ETR2, ERS1, ERS2 y EIN4. ETR1 tiene un dominio de unión a etileno y es activo cuando etileno no está presente. El receptor ETR se dimeriza (por presencia de una proteína RAN citosólica mediante enlaces disulfuro y con fijación de un ión de Cu⁺²) iniciando así señales de fosforilación y transferencia del fosfato desde el dominio histidina al dominio receptor anexo de ETR. Luego ETR interactúa con otra quinasa (CTR1) presente en el citosol y la activación de ésta inicia una cascada de MAP quinasas que culmina con la desactivación de la proteína de transmembrana EIN2. Cuando etileno es percibido, el receptor ETR se inactiva desacoplándose la interacción entre ETR y CTR1. La desactivación de la cascada de quinasas resulta en una proteína EIN2 activa la cual regula la activación de factores de transcripción EIN3 y EIL1, los que finalmente inducen la expresión de genes específicos de respuesta al etileno. Es importante mencionar que todas las respuestas a etileno comparten la ruta de transducción de señales desde los receptores hasta EIN2. A partir de este punto, diversas rutas de señalización regularían distintas respuestas a etileno (Chen et al. 2005).

Los niveles de factores como EIN3 son regulados por ubiquitinación y degradación por el

proteosoma 26S. Los genes blanco de EIN3/EIL1 son genes que también codifican para factores de transcripción. EIN3/EIL1 reconocen "elementos de respuesta primarios" (PERE) presentes en los promotores de genes ERBP (Solano et al. 1998). A su vez, los factores de transcripción EREBPs reconocen cajas GCC en genes de respuesta final a etileno. Un EREBP, ERF1, por ejemplo, está involucrado en regular genes de defensa de la planta y está regulado también por otros reguladores hormonales como ácido jasmónico. Es decir, varios EREBPs pueden actuar como puntos de contacto de señales reguladas por otras hormonas o etapas del desarrollo de la planta (Wang et al. 2002).

Antagonistas.

Inhibidores de la síntesis de etileno son el AVG (aminoetoxivinilglicina) y el AOA (ácido aminooxiacético) que bloquean la conversión de AdoMet a ACC, mientras que el ión Co^{+2} bloquea la ACC-oxidasa. Por otro lado, el ión plata (Ag^+) inhibe fuertemente la acción de etileno, anulando sus efectos como se ha demostrado en la preservación de pétalos de varias especies florales. Otros ejemplos son compuestos volátiles que compiten por el sitio del receptor de etileno, anulando igualmente su acción en forma inespecífica y no bien determinada; altos niveles de CO_2 bajo condiciones de almacenamiento parece igualmente reducir el nivel de etileno.

Usos comerciales y aplicaciones

Maduración de frutos. Se ha visto la gran conveniencia de aplicar etileno a frutos de varias especies para incrementar significativamente su tamaño; así pueden ser cosechados antes y ser enviados a zonas de consumo con mejores precios de temporada. La posibilidad de contar con etileno en formas solubles en agua (ác. 2-cloroetilfosfórico o Ethephon o Ethrel[®]) facilita la dosificación y aplicación de este gas y por otro lado evita peligro por contaminación a otros cultivos. A pesar de las ventajas anteriores, la alta productividad de algunos cultivos implica sin embargo la necesidad de programar la recolección o cosecha en forma simultánea (con igual demanda de mano de obra), generando una repentina sobreoferta en el mercado con consiguiente baja de precios. Adicionalmente se deben considerar pérdidas por partidas con sobre-madurez o conjuntamente por efectos de contaminación microbiana. Cabe destacar aquí, que a través de la ingeniería genética se ha podido lograr una detención parcial del efecto de madurez permitiendo mantener frutos sin madurar más tiempo en el mercado, con reducción de costos de almacenamiento. Ejemplos destacados son referidos a tomates que expresan genes antisentido de ACC-sintasa o de AAC-oxidasa, de manera de minimizar o anular en lo posible la producción endógena de ambas enzimas precursoras y de etileno (Oeller et al. 1991). Dichos tomates con ACC-oxidasa antisentido crecen normalmente, acumulan licopeno pero muestran reducción notable en la producción de etileno, frenándose su maduración a pesar de ser almacenados a temperaturas normales. Ello implicó poder conservar los frutos en un grado de "madurez estable" por un tiempo permitiendo ampliar el periodo de su comercialización. Al mismo tiempo, la mejor condición de los tejidos retrasa o evita la contaminación con hongos y otorga un mayor aprovechamiento en términos productivos. Además, con la aplicación de etileno en forma programada, el sector productivo logró entregar al mercado volúmenes definidos de frutos almacenados en frigoríficos, regulando así oferta y demanda, con mejores precios a nivel de productor/consumidor. En forma parecida existen plantas de tomate que expresan poligalacturonasa (PG)-antisentido (con reducida degradación de pared celular durante la maduración), de características semejantes.

Regulación de floración. Los mecanismos conducentes al control de la floración y madurez en frutas son sin duda los de mayor importancia en lo referido a aspectos productivos y comerciales. Por un lado la sincronía en la inducción floral referida a piñas o a mango, ambos cultivos de gran relevancia en zonas tropicales, y la inducción floral por etileno de varias especies de Bromeliaceas como ornamentales, son labores culturales bien establecidas.

En algunos cultivos que presentan flores femeninas y masculinas, el etileno afecta la diferenciación floral y gatilla la formación de flores femeninas. Con ello el número de plantas productivas y el rendimiento por hectárea aumenta. Tradicionalmente este efecto es conocido en algunas Cucurbitáceas.

Germinación. Al quebrar la dormancia, es posible inducir o promover la germinación de semillas de algunas especies con etileno.

ACIDO ABSCISICO

La fitohormona ácido abscísico (ABA) fue identificada en los 1960s tras estudios realizados sobre la abscisión de frutos y la dormancia de yemas. El grupo liderado por F. Addicott aisló compuestos que provocaban la abscisión de frutos de algodón y en 1963 identificó una de ellas, abscisina II, como ABA. Poco después otro grupo de investigación liderado por P. Wareing aisló una sustancia de hojas de *Acer pseudoplatanus* que promovía latencia de yemas. Esta, llamada dormina, también fue identificada como ABA. Desde entonces, ABA ha sido implicada en múltiples procesos fisiológicos como regulación de crecimiento, dormancia de semillas, germinación, senescencia, división celular, control de la apertura de estomas y respuestas a estreses ambientales como sequía, salinidad, baja temperatura, ataque por patógenos y radiación ultravioleta (Addicott & Carns 1983, Leung & Giraudat 1998, Assmann & Shimazaki 1999).

Síntesis, degradación y transporte

ABA es un compuesto que existe naturalmente en plantas inferiores (algas, musgos e incluso algunos hongos) y superiores. Es un sesquiterpenoide (15 carbonos) y sus rutas biosintética y catabólica han sido esclarecidas principalmente por la caracterización bioquímica de mutantes *aba* de *Arabidopsis* y *viviparous* (*vp*) de maíz. Las mutantes *vp* de maíz, por ejemplo, tienen un fenotipo albino (no acumulan antocianinas en la aleurona del grano), niveles bajos de ABA, las semillas no son dormantes y son plantas sensibles a falta de agua y con apariencia marchita (Milborrow 2001, Nambara & Marion-Poll 2005).

Como cualquier terpenoide, ABA deriva de un precursor común de 5 carbonos, el isopentenil pirofosfato (IPP; Fig. 3 del Capítulo 15). Hasta hace pocos años se pensaba que el IPP se sintetizaba desde solamente del ácido mevalónico como ocurre en otros organismos, sin embargo, en bacterias y plantas se ha descubierto que la mayoría de los isoprenos plastídicos, incluyendo carotenos, derivarían del IPP sintetizado a partir del intermediario 2-C-metil-eritrol-4-fosfato (MEP) (Rodríguez-Concepción & Boronat 2002). ABA es sintetizado desde un precursor carotenoide C40 el cual es escindido por una enzima localizada en plastidios (Zeevaart 1999). El primer tetraterpeno es el fitoeno el cual es convertido en licopeno por la acción de varias desaturasas (Fig. 2). Luego la formación de anillos cíclicos e hidroxilación genera zeaxantina. La primera reacción más específica a la biosíntesis de ABA es catalizada por la zeaxantina epoxidasa (ZEP) que produce violaxantina. ZEP ha sido caracterizada en varias especies y la falta de ella causa una severa reducción en los niveles de ABA. La acción de isomerasas convierten violaxantina a neoxantina y ambos intermediarios se consideran sustratos de la enzima 9-*cis*-epoxicarotenoide dioxigenasa (NCED) localizada en cloroplastos y que genera xantoxina, un producto de 15 carbonos. Esta reacción se considera como el primer compromiso para la síntesis de ABA. En todas las especies estudiadas, NCED pertenece a una familia multigénica, siendo *VP14* de maíz el primer gen *NCED* clonado. La xantoxina es luego convertida a ABA en dos reacciones que ocurren en el citosol, lo que sugiere que la xantoxina es transportada fuera de los plastidios por un mecanismo aún desconocido. Una deshidrogenasa/reductasa de cadena corta (SDR) codificada por el gen *aba2* de *Arabidopsis* cataliza el primer paso para formar ABA aldehído y la ABA

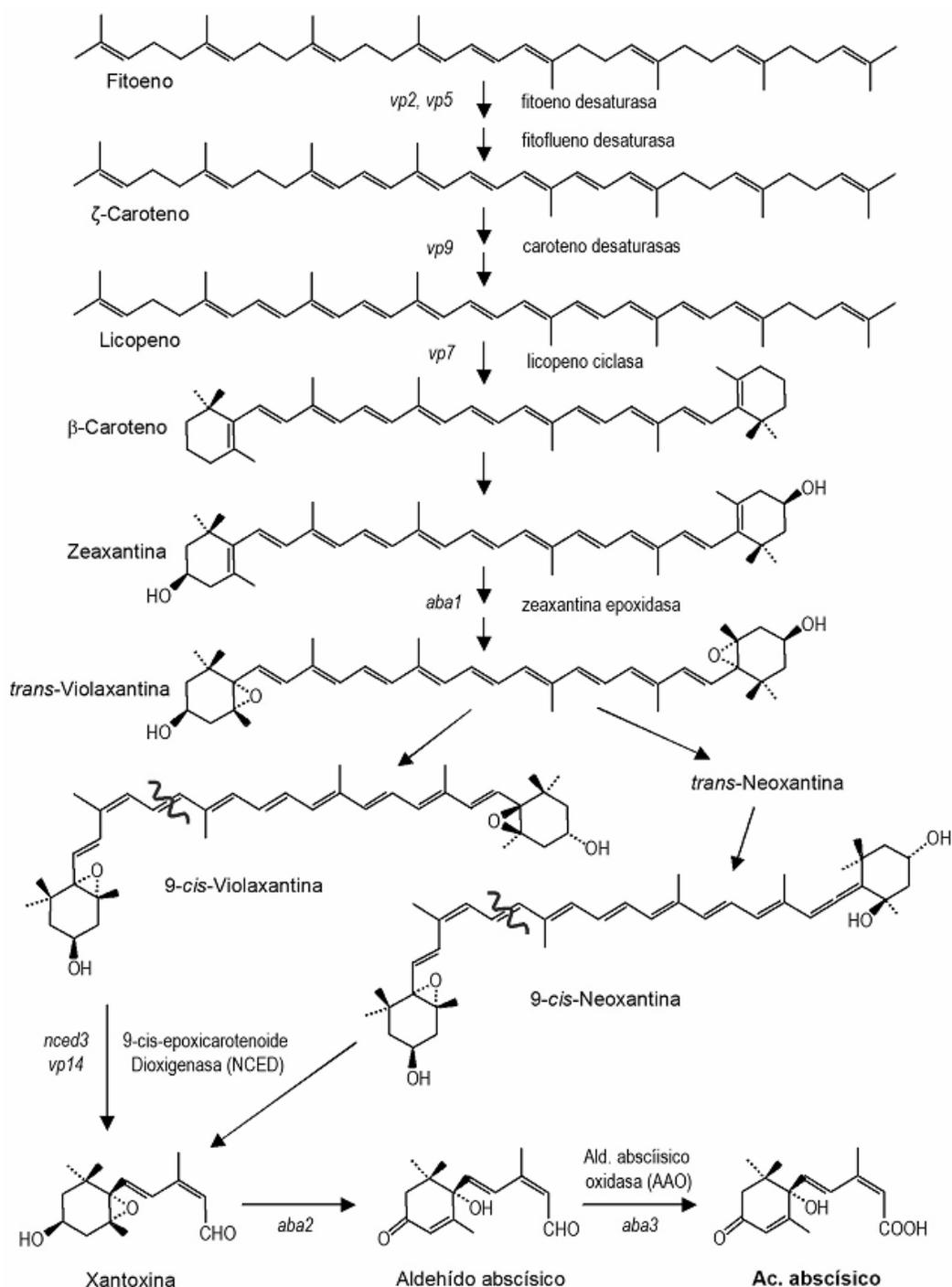


Fig. 2. Vía de biosíntesis del ácido abscísico a partir de fitoeno. La ruta hasta *cis*-violaxantina y *cis*-neoxantina ocurre en cloroplastos y el resto en el citosol. Se indican los nombres de las enzimas conocidas y algunas mutantes de *Arabidopsis* (*aba*) y maíz (*vp*).

aldehído oxidasa (AAO) cataliza el último paso en la producción de ABA.

ABA es sintetizado en casi cualquier célula vegetal y puede ser movilizado por toda la planta por el xilema y floema (Sauter et al. 2001). Sin embargo, el examen de algunas enzimas claves ha revelado que ABA es sintetizado preferentemente en tejidos vasculares en plantas no sometidas a estrés. Precursores de ABA o la hormona misma pueden luego ser transportados a otros tejidos. Otros lugares de síntesis que se relacionan con la acción de

ABA son los embriones y las células guarda (oclusivas) de los estomas. Las concentraciones típicas de ABA son entre 0,01 y 1,0 mg/L, pero estos niveles pueden incrementarse hasta 50 veces bajo estrés hídrico. En plantas no estresadas ABA se encuentra preferentemente en semillas, ovarios y frutos (Nambara & Marion-Poll 2005).

Los niveles endógenos de la hormona son determinados por el balance entre síntesis y degradación, procesos que son notablemente afectados por factores ambientales como estrés hídrico, luz y otras fitohormonas y durante distintos períodos de desarrollo de la planta. En semillas en desarrollo, los niveles de ABA aumentan considerablemente durante la embriogénesis tardía provocando la acumulación de proteínas de reserva y luego declinan al alcanzar la desecación. En tejidos vegetativos sometidos a sequía, los niveles de ABA incrementan varias veces en sólo horas y luego decrecen durante la rehidratación (Zeevaart 1999). Con respecto a la biosíntesis, se ha propuesto que NCED sería la enzima reguladora más importante ya que su expresión se correlaciona muy bien con el contenido endógeno de ABA y su sobre-expresión confiere una acumulación significativa de ABA (Schwartz et al. 2003). Por otro lado, la ABA-8-hidroxilasa es sin duda la enzima encargada del proceso regulador catabólico más importante (Cutler & Krochko 1999). Además de estos dos pasos reguladores elementales, otras enzimas también tienen un papel en la regulación de los niveles de ABA. En particular, la expresión los genes *NCED*, *AAO/ABA3* y *ZEP*, pero no *SDR1/ABA2* es inducida por deshidratación en *Arabidopsis*. Por otro lado, *SDR1/ABA2*, *AAO/ABA3* y *ZEP* son regulados por azúcares, lo que agrega otro mecanismo de regulación de síntesis de ABA, especialmente importante durante el desarrollo de semillas (Xiong & Zhu 2003).

La ruta catabólica más importante convierte a ABA en 8'-hidroxi-ABA y ácido faseico, un producto de oxidación temprana que mantiene alguna actividad similar a ABA. ABA es totalmente inactivado cuando el ácido faseico es convertido a ácido dihidrofaseico. Otros pasos catabólicos incluyen conjugación, hidroxilación y reducción, siendo ABA-glucosil-éster es el conjugado más abundante. Algunas formas inactivas pueden ser transportadas por el tejido vascular, pero la mayoría son acumuladas en vacuolas (Cutler & Krochko 1999).

Efectos fisiológicos

ABA controla muchos aspectos importantes del desarrollo de la planta, incluyendo la síntesis de proteínas y lípidos de almacén en semillas, la adquisición de la tolerancia de semillas a la desecación y la inhibición de la transición a germinación y crecimiento reproductivo. ABA también estimula respuestas a estreses ambientales como el cierre estomático inducido por sequía o estrés osmótico, la inducción de tolerancia a sequía, salinidad, hipoxia, bajas temperaturas y respuestas a heridas y patógenos (Leung & Giraudat 1998, Yamaguchi-Shinozaki & Shinozaki 2005).

Control del cierre estomático. La exposición de las plantas a condiciones de sequía o salinidad resulta en un déficit de agua a nivel celular lo que ocasiona un aumento de los niveles de ABA. Esta acumulación de ABA ocasiona cierre de los estomas lo que limita la pérdida de agua a través de la transpiración de las hojas y disminuyendo así los requerimientos hídricos de la planta. El cierre de los estomas inducido por ABA es una respuesta rápida que puede detectarse en pocos minutos. Las células oclusivas estomáticas parecen percibir incrementos de la hormona en la superficie exterior de la membrana plasmática ocasionando que se active una cascada de señales. Entre estos eventos están: (1) la apertura de canales de Ca^{+2} y despolarización temporal de la membrana; (2) esta despolarización temporal promueve la apertura de canales de Cl^- ; (3) inhibición de canales de K^+ de entrada; (4) inhibición de bombas de protones-ATPasas; (5) el flujo neto de cargas negativas se traduce en una despolarización de la membrana e incremento del pH citosólico; (6) apertura de canales de K^+ de salida; (7) la pérdida de estos iones ocasiona disminución de la turgencia de las células guarda y por ende cierre de los estomas (Fan et al. 2004).

Desarrollo embrionario y de semilla. El desarrollo de la semilla incluye un período temprano de rápida división celular en el endosperma y durante la embriogénesis y una etapa tardía durante la cual la división celular cesa y la semilla se hace tolerante a desecación, perdiendo hasta un 90% de su contenido de agua. El ABA endógeno empieza a acumularse antes de esta segunda fase y luego disminuye cuando la semilla ya está seca. Los procesos regulados por ABA durante el desarrollo de la semilla incluyen la inducción de la dormancia de la semilla (para prevenir que germine en circunstancias no favorables), la acumulación de reservas (síntesis de proteínas y lípidos de reserva) y la adquisición de tolerancia a la desecación. Estos dos últimos eventos están asociados con la expresión de genes específicos del tejido, entre ellos los llamados genes *lea* (por *late embryogenesis abundant*), los cuales se piensa que contribuyen a la mejorar la tolerancia a la desecación del embrión. Estas proteínas LEA poseen varias secuencias aminoacídicas que pueden formar α -hélices y proporcionan un carácter hidrofílico a las proteínas y por esta propiedad se piensa que ayudarían a mantener la integridad estructural de membranas y proteínas y a controlar el balance hídrico de la célula (Filkenstein et al. 2002).

Varias evidencias indican que ABA no sólo promueve dormancia, sino también inhibe la germinación precoz de semillas. Embriones de mutantes de maíz que no sintetizan ABA (*vp*) exhiben viviparí o germinación precoz cuando aún están unidas a la planta madre (McCarty 1995) y semillas de *Arabidopsis* mutantes que tampoco sintetizan ABA (*aba*) no siguen dormancia. Asimismo, mutantes de *Arabidopsis* insensibles a ABA (*abi*) también exhiben una notable disminución de dormancia (Filkenstein et al. 2002).

Un efecto de ABA bien definido es el antagonismo de la acción de GAs sobre la movilización de reservas durante la germinación, en especial en cereales. Específicamente, ABA reprime la síntesis de α -amilasas inducida por GA que degradarán el almidón presente en el endospermo. Al inicio de la maduración de la semilla, el represor VP1, mediador de varias respuestas a ABA en semillas, reduce la expresión de genes inducidos por GAs, lo que resulta en poca sensibilidad a GA. Mutantes *vp1* de maíz son vivíparos independiente de su contenido de GA, lo que sugiere que VP1 actúa después de la señal de ABA o GA en controlar la transición de maduración a germinación (Lovegrove & Hooley 2000). Por otro lado, ABA también es antagonista de la acción de GA al retardar el proceso de muerte celular programada de las células de la capa de aleurona (Fath et al. 2000).

Tolerancia a estrés ambiental. ABA también induce la rusticidad a condiciones ambientales adversas como suelos salinos, pobres en agua o a las bajas temperaturas. Similar a lo que ocurre en estomas, ABA estimula la entrada de iones de K^+ a las raíces favoreciendo la entrada de agua y la retención de ella en esos tejidos. Este proceso también se realiza a través de la regulación de canales iónicos en la membrana plasmática de células radiculares. Además, ABA causa una disminución de la resistencia del pasaje de agua a través del apoplasto y membranas, incrementando así el flujo de agua en el tejido radicular. Un mecanismo que también ayuda a este proceso es la regulación de canales de agua o acuaporinas, aunque no se ha establecido alguna relación con una acción de ABA. Al igual a lo que ocurre en semillas, varios genes de tipo *lea*, incluyendo genes *rab* (*responsive to ABA*) y *dhn* (deshidrininas) también pueden ser expresados en tejidos vegetativos bajo condiciones de estrés hídrico, osmótico o con tratamientos con ABA exógeno, lo que sugiere que la hormona también podría conferir algún nivel de tolerancia a una deficiencia hídrica en estos tejidos (Busk & Pages 1998).

Inhibición del crecimiento. ABA es considerada en general como una hormona inhibidora del crecimiento vegetal. ABA es capaz de inhibir la elongación de tallos más que de raíces, aunque en muy pocos casos esto puede ocurrir lo contrario. Este efecto es poco visible en plantas enanas. Se postula que el mecanismo por el cual ABA inhibe el crecimiento de tallos es a través de un bloqueo de bombas de protones activada por auxinas, notándose una disminución de la acidificación de la pared celular y consiguiente elongación celular. Este efec-

to inhibitorio de ABA también es contrarrestado por giberelinas.

Latencia de yemas. La latencia de yemas es una adaptación importante que muchas plantas, en especial especies leñosas, han adquirido en climas fríos, como una forma de proteger los nuevos meristemas al paralizar temporalmente su crecimiento. No se ha podido comprobar hasta ahora alguna relación entre el contenido de ABA con el grado de latencia de yemas, sin embargo el tratamiento de yemas vegetativas con ABA las convierte en yemas hibernantes.

Senescencia y abscisión. ABA es capaz de inducir senescencia en hojas independiente de etileno, provocando clorosis del tejido fotosintético, aún cuando uno de los efectos de ABA es promover la síntesis de etileno (Hung & Kao 2004). En algunos casos ABA también provoca la abscisión de hojas, flores y frutos. Niveles mayores de ABA se encuentran en las bases de los ovarios/frutos, especialmente durante la época de caída de frutos.

Mecanismos de acción

Percepción. Por varios años ha habido evidencias indirectas que sugieren que habría múltiples tipos de receptores para ABA. El sitio de acción de la hormona ha sido investigado probando respuestas celulares en células guarda, donde la percepción de ABA dentro y fuera de la célula han sido eficaces en causar cierre estomático (Assmann & Shimazaki 1999). Otra evidencia sugiere localización plasmática del supuesto receptor el cual estaría formando un complejo ligado a proteínas G y fosfolipasa D (Ritchie & Gilroy 2000). Se ha descrito una proteína quinasa rica en leucinas ligada a membrana, RPK1, que es capaz de mediar respuestas a ABA en *Arabidopsis*. Mutantes de esta proteína exhiben poca sensibilidad a ABA, lo que sugiere que RPK1 formaría parte de un complejo receptor (Osakabe et al. 2005). Recientemente también se ha identificado una proteína capaz de unir ARN que funcionaría como receptor de ABA. Esta proteína, codificada por el gen *fca*, tiene gran afinidad por ABA y al unir la hormona causa un retraso de la transición al estadio floral (Razem et al. 2006). Sin embargo, esta proteína no parece mediar todos los efectos que involucra ABA.

Mensajeros secundarios en señales de ABA. Varios componentes de vías de transducción de señales de ABA han sido identificados en plantas y la mayoría de ellos son capaces de mediar respuestas a estrés. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que algunas respuestas a estreses ambientales pueden involucrar rutas que son independientes de ABA (Yamaguchi-Shinozaki & Shinozaki 2005). Ca^{+2} es un intermediario de muchas señales en plantas. Una de las primeras respuestas a ABA en células guardas es el incremento de Ca^{+2} citosólico, el cual puede ser liberado de compartimentos internos por inositol 1,4,5-trifosfato (IP_3). IP_3 es producto de la actividad de fosfolipasa C, y defectos en el metabolismo de fosfoinositol resulta en hipersensibilidad hacia ABA y estreses abióticos (Xiong et al. 2001). El ácido fosfatídico, producto de la fosfolipasa D, también es mediador del control del cierre estomático y expresión génica por ABA. La señal de Ca^{+2} posiblemente es relevada por proteínas quinasas y proteínas fosfatasa. Una proteína quinasa dependiente de Ca^{+2} (CDPK) es capaz de fosforilar la proteína de un canal de ingreso de K^+ . Una forma mutante de otra proteína quinasa activada por ABA, AAPK, aislada de células guarda, es capaz de interferir con el cierre estomático inducido por ABA. Dos mutantes semidominantes de *Arabidopsis*, *abi1-1* y *abi2-1*, con poca capacidad de responder a ABA, codifican proteínas fosfatasa tipo 2C y son capaces de bloquear la activación de canales rectificadores de K^+ por ABA (Fedoroff 2002). Sin embargo, se debe tomar en cuenta que no todos los genes inducidos por ABA pueden expresarse en células guarda, lo que sugiere que existen varias vías de respuesta a estímulos de ABA y que las células estomáticas no proveen una completa visión de la señalización de ABA en la planta.

La transmisión de señales inducidas por estrés a la maquinaria transcripcional también in-

volucra cascadas de fosforilación. Genes inducidos por condiciones de estrés o ABA incluyen CDPKs, miembros de MAP quinasas, y quinasas de tipo SNF1 (Himmelbach et al. 2003). Varias mutantes con respuesta defectuosa a ABA han sido aisladas, la mayoría en *Arabidopsis*. Algunos *loci* que han sido clonados codifican para factores de transcripción, proteínas de unión a ARN, proteínas quinasas y fosfatasas, enzimas del metabolismo de fosfoinositoles y una subunidad de una farnesil transferasa (Finkelstein et al. 2002). Muchos de ellos como *ABI1*, *ABI2*, *ERA1*, *ABH1*, *HYL1*, *GCA1* y *GCA2* afectan muchos aspectos del crecimiento vegetativo regulado por ABA, elongación celular o regulación estomática.

Regulación génica. Análisis genético de mutantes *abi* de *Arabidopsis* han servido para identificar factores de transcripción involucrados en señales mediadas por ABA. Los genes *ABI3*, *ABI4* y *ABI5* codifican reguladores transcripcionales que pertenecen al grupo de dominios B3, APETALA 2 y bZIP, respectivamente. Investigaciones con mutantes para estos genes sugieren que estos tres factores de transcripción regulan la expresión génica específica de semilla mediada por ABA y en menor grado en tejidos vegetativos jóvenes. Algunas de estas mutaciones son pleitrópicas, pero ninguno de estos genes parecen ser requeridos para todas las respuestas a ABA (Finkelstein et al. 2002). Por otro lado, la identificación de varias proteínas capaces de unir ARN ha revelado un potencial mecanismo de control post-transcripcional. Las mutantes *sad1*, *abh1* y *hyl1* de *Arabidopsis* muestran hipersensibilidad hacia ABA en ensayos de germinación como también en la expresión de ciertos genes que responden a ABA y en algunos casos en cierre estomático (Fedoroff 2002). Estudios con promotores de genes inducidos por ABA han revelado elementos en *cis* denominados ABRE (por ABA response element) o "cajas ACGT" que actúan en pares o acoplados a otros elementos *cis*. Unos elementos de promotor llamados DRE podrían actuar como elementos acoplados a ABREs para conferir inducción de un gen por señales dependientes o independientes de ABA (Yamaguchi-Shinozaki & Shinozaki 2005). Actualmente se conoce un grupo de factores de transcripción de tipo bZIP homólogos a *ABI5* que reconocen específicamente los ABREs y que actúan como mediadores de señales de ABA en *Arabidopsis*, arroz y cebada. Todos ellos han sido correlacionados con la expresión génica inducida por ABA, estrés hídrico o salino en semillas y plántulas. (Casaretto & Ho 2003, Kang et al. 2002, Kagaya et al. 2002). Además, el regulador transcripcional VP1 (maíz) o su heterólogo *ABI3* (*Arabidopsis*), cuya expresión está restringida a tejidos de semilla, están involucrados en mediar la inducción de genes regulados por ABA. Las mutantes *vp1* y *abi3* son pocos sensibles a ABA y las semillas no acumulan muchas proteínas LEA y otras de reserva (Finkelstein et al. 2002). Se ha demostrado que la acción de VP1/*ABI3* ocurre a través de la interacción con factores de transcripción como *ABI5* (Casaretto & Ho 2003, Finkelstein et al. 2002). Otros factores de transcripción capaces también de mediar respuestas a ABA y/o estrés son miembros de las familias MYB, MYC, HD-Zip y NAC (Himmelbach et al. 2003, Yamaguchi-Shinozaki & Shinozaki 2005).

Usos comerciales

No existen muchas aplicaciones prácticas para el ABA debido a los distintos efectos que puede causar en las plantas, en especial la inhibición de crecimiento y debido al escaso conocimiento de sus efectos en la fisiología y procesos bioquímicos. Sin embargo, muchas de las investigaciones para mejorar la tolerancia de cultivos contra estreses, pretenden incrementar la capacidad de las plantas de acumular ABA o optimizar la respuesta de ellas cuando están sometidos a condiciones adversas. Debido a que ABA ejerce muchos efectos fisiológicos en algodón, una de las aplicaciones de esta hormona es como defoliante de esta planta. A nivel biotecnológico donde su uso cumple un rol único fundamental, es en la inducción de embriones de células en suspensión derivadas de masas embrionales (de reciente polinización), en el proceso denominado "poliembriogénesis somática", atingente exclusivamente al tipo de morfogénesis y respuestas de coníferas, bajo condiciones *in vitro* (Durzan 1988, Stasolla et al. 2002). Con ello se ha logrado la multiplicación de material élite de coníferas de gran valor comercial y productivo.

OTROS REGULADORES DE CRECIMIENTO

BRASINOESTEROIDES

En los años 70 se descubrió que extractos de polen de nabo (*Brassica napus*) promovían la elongación de internudos en plántulas de poroto (fríjol). De aproximadamente 40 Kg de polen de *B. napus* se pudieron aislar 4 mg de un compuesto cristalino activo inductor de crecimiento, lo cual llevó al aislamiento e identificación del primer compuesto esteroidal de carácter hormonal, la brasinolida (BL) en 1979, castasterona (CS) en 1982 y posteriormente muchos otros compuestos afines. Para el año 2003 se habían determinado alrededor de 60 brasinoesteroides (BRs) en diversas especies vegetales terrestres y marinas. Diferentes BRs fueron encontrados en brotes apicales y tejidos vegetativos activos de plantas jóvenes como también en semillas de un gran número de especies herbáceas y arbustivas (Bajguz & Tretyu 2003). Una serie de trabajos paralelos evidenciaron un conjunto de efectos estimulados por estos compuestos; entre ellos, activación de bombas de protones, reorientación de microfibrillas de celulosa, xilogénesis, la generación de tejido embriogénico y la producción de etileno. De allí que a partir de Mandava (1988), se empezó a considerar a los BRs como otro grupo de hormonas vegetales endógenas, únicos de tipo esteroidal y esenciales para el crecimiento normal de las plantas.

Síntesis

En *Arabidopsis*, un número de mutaciones han identificado señales que afectan el programa fotomorfogénico de crecimiento. A través del uso más reciente de mutantes incapaces de catalizar una etapa en la síntesis de un BR, o que han revertido a su fenotipo normal después de la aplicación de BRs, se ha podido aclarar la mayoría de los pasos en la biosíntesis de estas hormonas y su función sobre la morfogénesis. Las mutantes deficientes en la síntesis de BRs se caracterizan porque los hipocotilos no crecen etiolados en oscuridad, es decir, exhiben varios grados de "des-etiolación" (*det*). Otros nombres que se han usado para describir tal fenotipo son *cpd* (por constitutive photomorphogenic and dwarfism) y *dwf* (por dwarf o "enano"), ya que estas plantas son de crecimiento muy reducido cuando crecen bajo luz (Shimada et al. 2003). Algunos ejemplos son *dwf1/dim*, *dwf4*, *dwf5*, *dwf7*, *det2*, *cpd* (Fig. 3).

Las BRs más comunes y abundantes corresponden a castasterona (CS), brasinolida (BL), tifasterol (TY) y teasterona (TE), entre otras. La estructura básica de un BR natural está constituida por varios anillos, existiendo formas con 27, 28 y 29 carbonos. La síntesis de los esteroides en plantas ocurre a partir del cicloartenol, derivado del esqualeno, el cual proviene del farnesil-pirofosfato (Fig. 3 del Capítulo 15). Entre los varios compuestos esteroides intermediarios, derivados del cicloarteno y precursores de BRs en plantas se pueden mencionar el obtusifoliol, colesterol, sitosterol y campesterol. El más importante de ellos es el campesterol que se transforma inicialmente a campestanol iniciando dos vías de conversión (oxidaciones C6 "temprana y tardía") siendo ciclos simultáneos de retroalimentación. Como resultante al final del ciclo, la CS origina la BL (Fig. 3). Por otro lado, la pérdida de la actividad de BRs y su catabolismo son eventos menos conocidos a la fecha. En pocas especies se han descrito procesos degradativos tales como epimerización, hidroxilación, metilación, oxidación, sulfonación y la conjugación con glucosa o ácidos grasos (Fujioka & Yokota 2003).

Efectos fisiológicos

Crecimiento, Diferenciación, Morfogénesis. BRs provocan crecimiento por elongación de epicotilos, hipocotilos y pedúnculos en dicotiledóneas, mientras que en monocotiledóneas se expresa en coleoptilos y mesocotilos. Otros efectos de crecimiento relacionados corresponden a la reorientación transversal de microtúbulos, producción de metabolitos se-

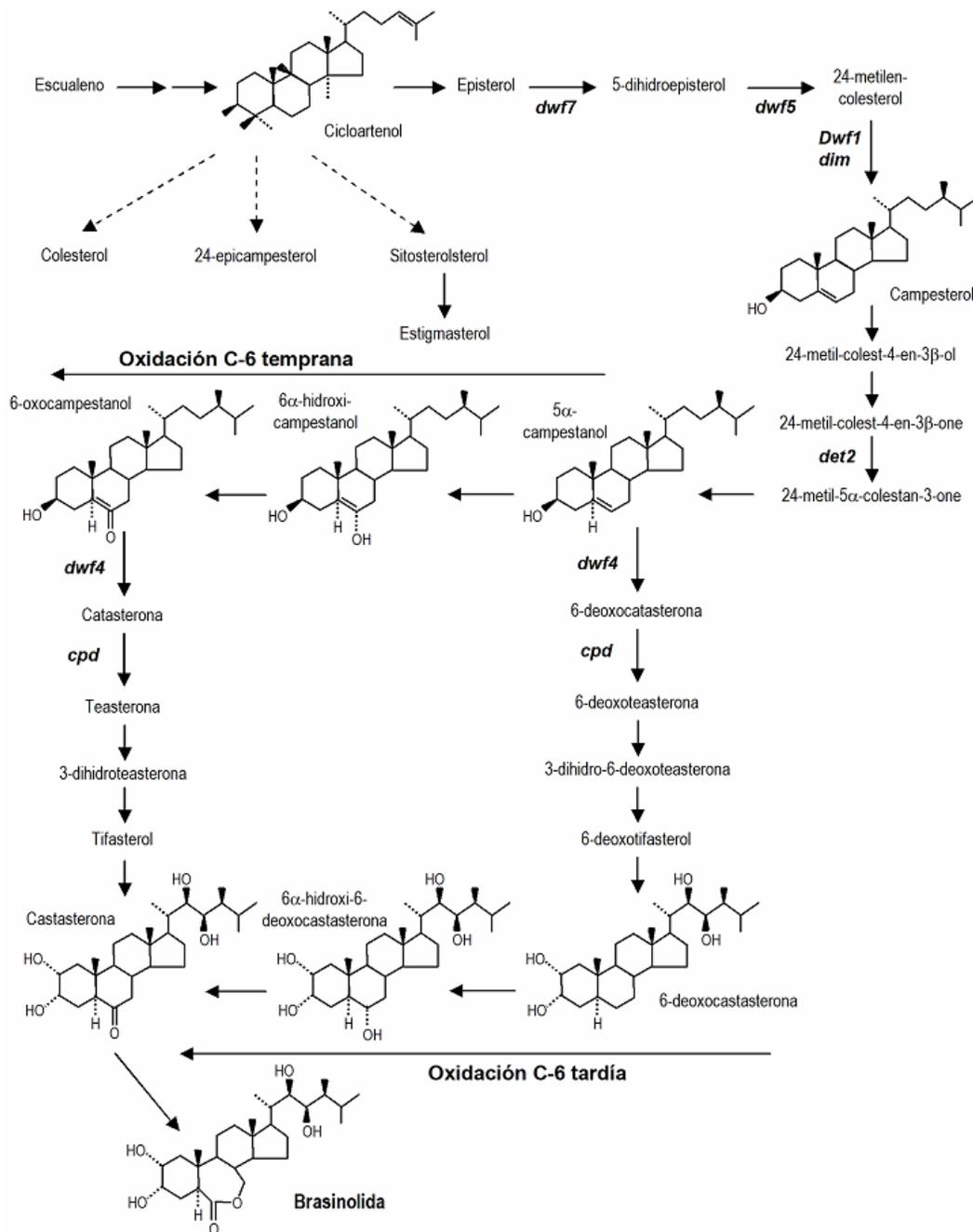


Fig. 3. Biosíntesis de los principales brasinoesteroides. Algunos genes identificados en *Arabidopsis* están indicados así como los pasos de oxidaciones C-6 temprana y tardía.

cundarios, crecimiento del tubo polínico, inclinación y enrollamiento de las hojas. Básicamente, en ausencia de IAA, BRs pueden inducir además crecimiento por división celular y elongación vinculando también el mecanismo de extrusión de protones, aunque se postulan mecanismos de activación diferentes a las atribuidas a auxinas y citocininas (Gaudinova et al. 1995). En forma sinérgica con auxina, BRs promueven un incremento de la curvatura gravitrópica en maíz (Kim et al. 2000), inducen la proliferación de callo *in vitro* y la inducción de raíces adventicias. La aplicación de BRs promueve también la germinación en mutantes de *Arabidopsis* insensibles y/o deficitarios en la biosíntesis de GAs. Ambos, GAs y BRs, regularían los genes relacionados para la codificación de enzimas de tipo xyloglucano endotransglicosilasa (XET) asociadas al ablandamiento de la pared celular, previa elongación celular en internodos. Por otro lado, los BRs promoverían la acumulación de citocininas

endógenas estimulando la regeneración de brotes adventicios en hipocotilos de coliflor, en cotiledones de pimentón y en callos de *Spartina* bajo condiciones *in vitro*. Igualmente, en cladodios de *Opuntia ficus-indica*, dos análogos de BRs provocan un aumento en el número de yemas vegetativas conducentes a una mayor cantidad de cladodios cosechables, de mayor peso fresco y mayor precocidad (Cortés et al. 2003). En relación a efectos asociados a etileno, BRs pueden acelerar la madurez y senescencia aumentando la productividad de algunos cultivos. Así, aplicaciones de BRs sobre el pericarpio de tomate, aceleran la madurez del fruto con producción de etileno, licopeno y reducción de clorofila (Vardhini & Rao 2002). BRs promueven también la dormancia de semillas (Steber & McCourt 2001).

Tolerancia a estrés biótico y abiótico. Junto a la gama de respuestas celulares y morfológicas atribuidas exclusivamente a BRs, también se han encontrado respuestas frente a fenómenos de estrés biótico y abiótico. Entre ellos se ha encontrado mayor resistencia de cultivos a heladas, calor, sequía, sales; una mayor tolerancia a herbicidas y a enfermedades. Recientemente se ha informado que la aplicación de varios BRs en semillas de arroz reduce el impacto del estrés salino sobre el crecimiento, mientras aumenta la actividad de la nitrato reductasa (Anuradha & Rao 2003). También en algunas variedades de sorgo, se mejora la condición y tolerancia de plántulas frente al estrés osmótico (Vardhini & Rao 2003). Para *Nicotiana tabacum* se ha descrito una mayor resistencia al ataque del virus del mosaico (TMV), a la bacteria *Pseudomonas syringae* y al hongo *Oidium sp.* (Nakashita et al. 2003), sin involucrarse la biosíntesis de ácido salicílico, considerada como molécula elicitora de respuestas de defensa. En particular, en *Arabidopsis*, a través de la fusión de los dominios de transmembrana del receptor BRI1 con el dominio serina/treonina de la quinasa XA21 (receptor para resistencia de enfermedades), se ha demostrado que este receptor quimérico inicia la defensa en el callo de arroz después de tratado con BRs, indicando que el dominio extracelular de BRI1 percibe BRs y sugiriendo un mecanismo general de señalización para los receptores quinasa en plantas (He et al. 2000). En la actualidad se han ensayado también hormonas sexuales animales de carácter esteroidal los cuales también pueden tener un efecto inductivo, como se señala para la floración de crisantemo, siendo este efecto aún mayor en comparación con algunos BRs vegetales (Biswas et al. 1967).

Aumento de la productividad en cultivos. Varios efectos promotores en cultivos han sido descritos sobre la aplicación de BRs y varias patentes sobre su empleo han sido registradas. Se ha citado un aumento del peso fresco en rábano, cebolla, trigo y racimos de uva, incremento del tamaño en plantas de soya y maíz y mayor producción en poroto (fríjol). Al aumentar también la cuaja en tomates, peras, duraznos, limones, kaki y manzanas, los BRs indirectamente logran reducir la caída de frutos. En lo que respecta a la propagación vegetativa de algunos cultivos comerciales, se ha indicado también que BRs pueden aumentar el porcentaje de estacas enraizadas e incrementar la viabilidad de éstas, en particular en estacas de *Picea abies* y en patrones de injerto de manzana (Pullman et al. 2003). Igualmente, Bieberach et al. (2000) indican a través del uso de dos BRs sintéticos se ha podido mejorar la eficiencia en la micropropagación de algunos cultivos; entre ellos de yuca (*Manihot esculenta*), ñame (*Dioscorea alata*) y piña/ananas (*Annanas comusus*).

Modo de acción

Usando mutantes de *Arabidopsis* deficientes e insensibles a BRs ha sido posible detectar que algunos efectos inducidos por giberelinas (GAs) también están directamente asociados a la acción de BRs (Mandava 1988). Más recientemente, se han descubierto receptores y la acción de este grupo de hormonas a nivel génico. Plantas con defectos en la síntesis de BRs se han encontrado para *Arabidopsis*, arveja, tomate y arroz (Fujioka & Yokota 2003). A partir de estos mutantes, ha sido posible visualizar varias características importantes como escasa altura, robustez, hojas más cortas y redondas e intensamente verde oscuras, plantas de desarrollo más prolongado y/o de fertilidad reducida, con esterilidad masculina y/o simplemente estériles y se han descrito varios posibles mecanismos de acción (Sasse 1999,

Yin et al. 2005). En procesos de división celular, BRs actuarían en la fase temprana de la mitosis generando un aumento de transcriptos de *CYM* y de la histona *H4* y de genes marcadores de las fases M y S del ciclo celular (Miyazawa et al. 2003). Se ha descrito que la aplicación de BRs provocaría la inducción temprana de 93 genes, entre ellos, factores de transcripción, genes de citocromo P450, de un gene asociado a la elongación (*TCH4*) además un receptor quinasa de transmembrana, *BR11* que codifica al propio receptor de BL (Goda et al. 2004).

En lo referente a procesos de elongación la BL parece regular igualmente la expresión de genes vinculados al ciclo celular influenciado por quinastas, pero con un efecto más lento que el provocado por IAA (con un desfase de unos 45 minutos). En gramíneas se ha detectado que BRs aparecen como esenciales para los arreglos celulares vinculados con la elongación polar de células en hojas y tallo. El efecto de elongación estaría asociado a la expresión del gen *BRU1* que codifica a una enzima XET (endotransglicosilasa) la cual contiene una secuencia homóloga a una enzima que ocasiona ablandamiento de la pared celular (Uozu et al. 2000). Su acción sería diferente a la provocada por auxina, sino más bien actuaría sobre la re-orientación de los microtúbulos corticales. BRU1 también está vinculada con la formación de xilema produciendo nuevos xiloglucanos. BRs pueden también estimular la expresión del gen de la extensina *AtExt1* en *Arabidopsis*. Finalmente, BRs estimulan la elongación causando la expresión del gen *SAUR-AC1*, el cual también es inducido por auxina (Goda et al. 2004).

POLIAMINAS

Las poliaminas son compuestos alifáticos nitrogenados de bajo peso molecular que tienen varios efectos sobre el crecimiento, la división y la diferenciación celular a bajas concentraciones y están presentes en bacterias, animales y plantas. En plantas normalmente se encuentran en niveles algo más altos que las hormonas clásicas. Sin embargo, se les considera también reguladores del crecimiento de las plantas o a veces como mediadores de la acción de otras hormonas. Debido a su carácter policatiónico, las poliaminas tienen la facilidad de unirse a moléculas con carga negativa como grupos fosfato de ácidos nucleicos, con algunas proteínas, con fosfolípidos o componentes de pared como polisacáridos de tipo pectina.

Síntesis

Las poliaminas son sintetizadas a partir de tres aminoácidos básicos a través de reacciones de descarboxilación. La arginina, lisina y ornitina proveen la base carbonada, mientras que la metionina contribuye con un grupo aminopropilo (Fig. 4). La poliamina más pequeña, la putrescina (que contiene dos grupos amino) se forma desde la arginina a través de un intermediario (la agmatina) y por la acción de la arginina descarboxilasa o desde la ornitina por la acción de la ornitina descarboxilasa. La espermidina (con tres grupos amino) y la espermina (con cuatro grupos amino) se forman a partir de la putrescina con la adición de grupos aminopropilo otorgados por la *S*-adenosil metionina, que también es precursor de la hormona etileno. Estas reacciones son catalizadas por las espermidina sintasa y espermina sintasa, respectivamente (Kakkar & Sawhney 2002). La cadaverina (con dos grupos amino) es una poliamina menos abundante y se forma a partir de la lisina también por una reacción de descarboxilación que ocurre principalmente en cloroplastos. Siendo las poliaminas compuestos que contienen grupos nitrogenados, sus rutas de biosíntesis también interactúan con otras vías como las de prolina, urea y en la formación de alcaloides. Los niveles endógenos de las poliaminas también son regulados por su catabolismo el cual ocurre por oxidaciones catalizadas por diamino oxidasas y poliamino oxidasas las que comúnmente están asociadas a la pared celular. Comúnmente también se encuentran asociadas a compuestos

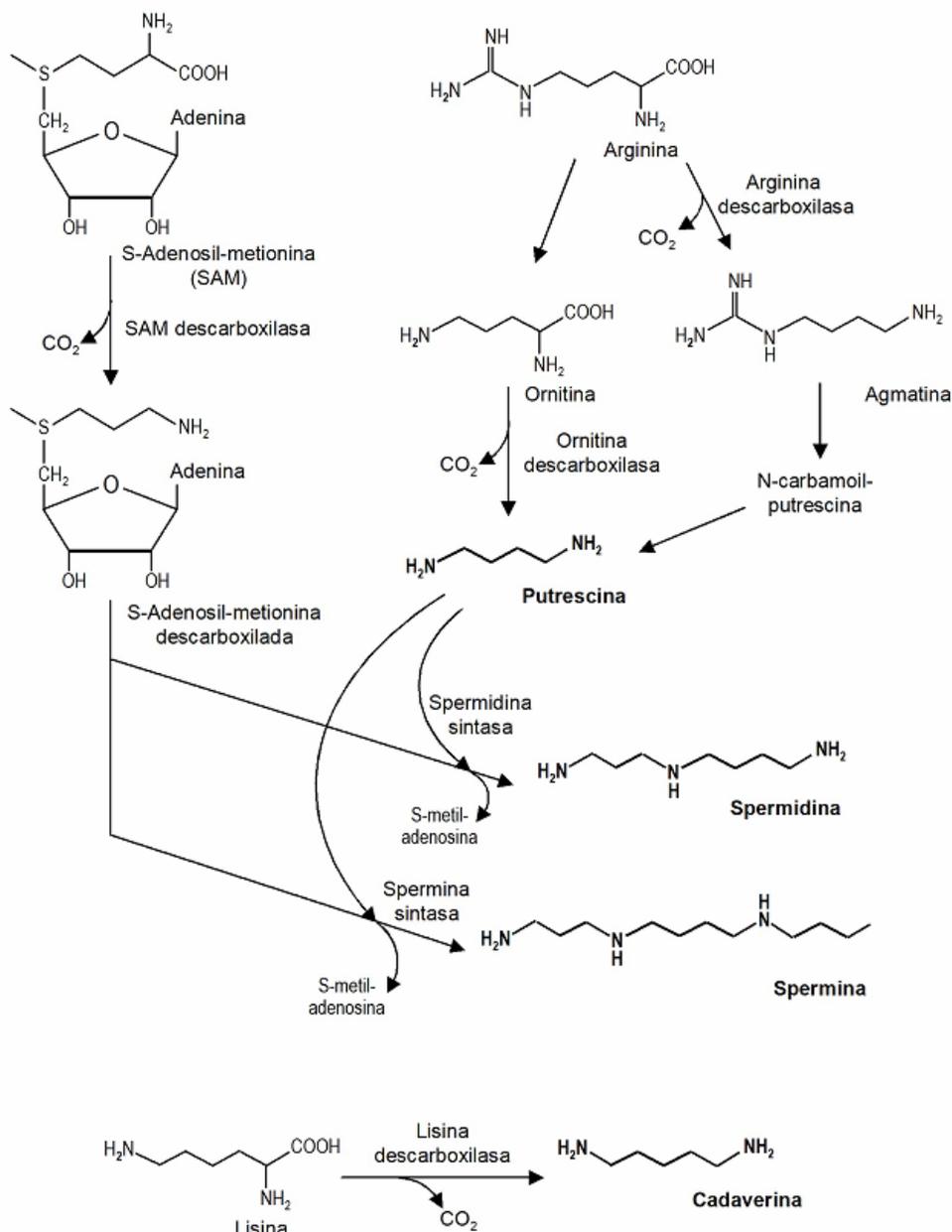


Fig. 4. Biosíntesis de las poliaminas.

de pared o conjugadas con ácidos hidroxinámicos (Bagni & Tassoni 2000).

Efectos fisiológicos

Se han descrito varias funciones biológicas de las poliaminas, entre ellas:

- Regulan procesos de división y proliferación celular, desarrollo floral, rizogénesis, embriogénesis, senescencia y maduración de algunos frutos (Pandey et al. 2000, Imai et al. 2004). Se piensa que el balance entre formas libres y conjugadas balance es crítico para diferentes papeles que puedan tener en procesos relacionados con desarrollo. Con la manipulación de la S-adenosil metionina descarboxilasa (SAMD, la cual genera el donador del grupo metilo para la formación de la espermidina y espermina), se han

logrado líneas transgénicas de papa con niveles reducidos de poliaminas totales en aquellas líneas transformadas con el antisentido del gen de la SAMD y con fenotipos que incluyen tallos y raíces cortos, tubérculos de menor tamaño y floración ausente. Por otro lado, sobre-expresión del mismo gen en tubérculos sólo provoca plantas con mayor número de tubérculos pero más pequeños que una planta normal (Pedros et al. 1999). En cuanto a respuestas morfogénicas, altos niveles de espermidina (endógenos o adicionados) están asociados a la formación de embriones somáticos en *Dactylis glomerata in vitro* (Li & Burritt 2003) y en la ginogénesis con desarrollo de embriones haploides en cebolla (Geoffriau et al. 2006), la restitución del potencial morfogénico con regeneración de plantas de arroz (Bajaj & Rajam 1995), la diferenciación de yemas florales en tabaco (Kaur-Sawhney et al. 1988) y, junto a putrescina, a la inducción de brotes adventicios en *Torenia* (Tanimoto et al. 1994). Por otro lado, espermina aparece retardando la senescencia foliar en diversas especies de rosas (Shweta & Nagar 2003) pudiendo también favorecer la morfogénesis caulinar en *Cucumis sativus* (Zhu & Chen 2005).

- Actúan como fuente o reserva de nitrógeno.
- Alteran la expresión génica o generan cambios conformacionales en el ADN.
- Son capaces de variar la fluidez de membranas.
- Las poliaminas también han sido implicadas en varias respuestas a estrés en plantas (Walters 2003). En algunos casos este papel fisiológico ha sido discutido debido a que no se ha podido definir una relación causal de la acumulación de alguna de ellas por algún tipo de estrés. Sin embargo, últimamente la manipulación genética del metabolismo de poliaminas ha podido determinar que estos compuestos son capaces de conferir tolerancia a sequía y a otras formas de estreses ambientales. Por ejemplo, sobre-expresión del gen que codifica a la enzima que sintetiza putrescina en plantas de arroz, genera no sólo elevados niveles de esta diamina, sino también pequeños incrementos de espermidina y espermina y confiere al cultivo tolerancia a condiciones de déficit hídrico (Capell et al. 2004).

ACIDO JASMONICO

El ácido jasmónico (JA), moléculas relacionadas y sus derivados, todos llamados jasmonatos (JAs), son compuestos de origen lipídico de estructura molecular similar a la de las prostaglandinas en animales. Actúan como moléculas señal de las respuestas de las plantas a diversas situaciones de estrés (heridas, ataque por patógenos y plagas, exposición a sequía y ozono) y participan en diversos procesos del crecimiento y desarrollo (Creelman & Mullet 1997, Farmer et al. 2003). Durante los 1980s, JA y algunos de sus derivados fueron inicialmente descubiertos como inhibidores del crecimiento y promotores de senescencia en varias especies vegetales, tanto en monocotiledóneas como en dicotiledóneas. En cereales por ejemplo, el JA inhibe el crecimiento tanto de raíces como coleoptilos. A partir de entonces, análisis químicos en plantas han determinado la existencia de varios estereoisómeros de JA (Creelman & Mullet 1997).

Síntesis

La ruta de biosíntesis, también llamada ruta de los octadecanoides, ha sido estudiada extensamente, llegándose a conocer hoy en día varias enzimas implicadas en diversos pasos de la misma (Berger 2002, Agrawal et al. 2004). Los jasmonatos son formados a partir de los ácidos grasos no saturados linoleico y linolénico que se liberan desde los fosfolípidos de las membranas celulares por la acción de lipasas. El ácido linolénico, por una serie de pasos que incluyen lipoxidación, ciclización y β -oxidación se transforma en el ácido (+)-7-isojasmónico el cual se isomeriza en condiciones naturales en ácido (-)-jasmónico (Fig. 5). Entre estos pasos, vale distinguir la acción de la enzima aleno oxido sintetasa (AOS), la

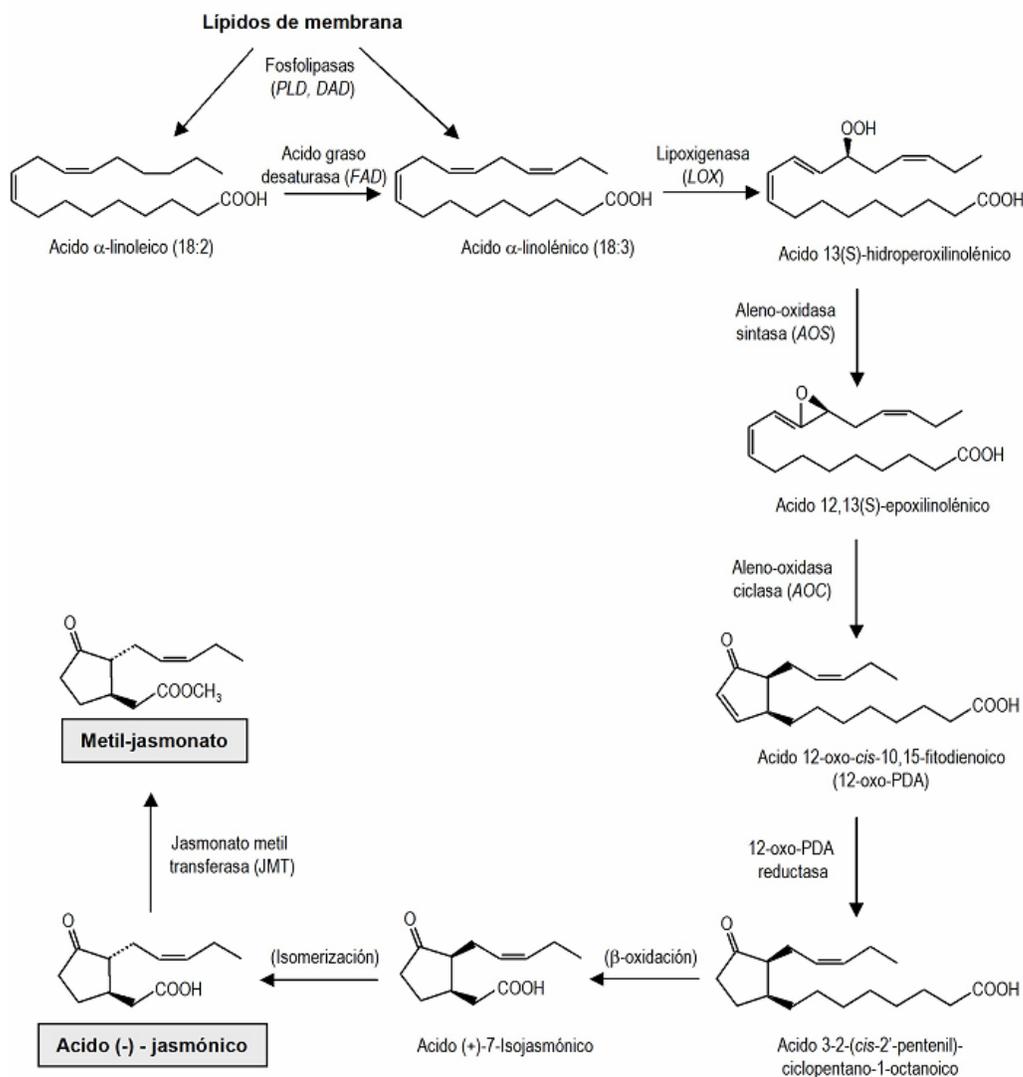


Fig. 5. Biosíntesis del jasmonato. Ruta de los ácidos octadienoicos (18:3) que describe la formación de ácido jasmónico y metil jasmonato a partir de fosfolípidos de membrana.

cual cataliza el primer paso limitante de esta ruta comprometiendo al ácido linolénico en la síntesis de JA (Schaller et al. 2005).

Los JAs pueden esterificarse con grupos metilo para formar metil-jasmonatos los cuales son altamente volátiles. Aunque las formas más abundantes son el ácido(-)-jasmónico y el ácido (-)-metil-jasmónico, los isómeros (+)-7-isojasmonato y meti-(+)-7-isojasmonato también están presentes en ciertas especies (Creelman & Mullet 1997). Los JAs pueden sintetizarse en toda la planta, pero tienen mayor actividad en tejidos en crecimiento como ápices de tallos, raíces, hojas jóvenes y frutos inmaduros. Finalmente, los JAs pueden glicosilarse formando ésteres a nivel de su grupo carboxilo y también pueden ser catabolizados por hidroxilación hasta ácido dihidrojasmónico (Schaller et al. 2005, Liechti & Farmer 2006).

Efectos fisiológicos

En algunos casos la aplicación exógena de JA produce efectos semejantes a los producidos por ABA (Creelman & Mullet 1997, Schillmiller & Howe 2005):

- En semillas, inhiben su germinación y crecimiento. Inhiben la producción de α -

galactosidasa en semillas de arvejas. Al igual que el ABA, se piensa que JA tiene un papel regulador en la post-germinación de estas semillas.

- Promueven el cierre de estomas en condiciones de estrés.
- Inhiben la elongación de las raíces, pero promueven la formación de raíces adventicias.
- Su ausencia afecta el desarrollo normal del polen e inhiben la germinación del mismo.
- Promueven la degradación de la clorofila.
- Promueven la senescencia y abscisión de hojas.
- Promueven la biosíntesis del etileno. Actúan sobre la ACC oxidasa, por lo que también promueven la maduración y coloración de frutos.
- Pueden aumentar la resistencia de las plantas al ataque por insectos. En hojas de papa y tomate activan la expresión de genes que codifican para la biosíntesis de inhibidores de proteinasas, en cebada, soja y fríjol las lipooxigenasas y la fenilalanina-amonio-liasa (PAL) y chalcona sintetasa. Todas estas enzimas intervienen en la síntesis de compuestos de defensa de vegetales contra patógenos y herbívoros.

Modos de acción

Los JAs cumplen un papel significativo en las respuestas a estrés que involucren daño en la membrana plasmática. No fue antes de los 1990s que los JAs fueron descubiertos como componentes de la ruta de transducción de señales involucrados en mecanismos de defensa de las plantas contra insectos o en respuestas a daño mecánico. Las primeras observaciones realizadas en plantas de tomate demostraron que no sólo la planta que los produce responde al estrés, sino también en plantas vecinas, esto debido a la presencia del éster volátil metil-jasmonato. Plantas sanas expuestas a metil-jasmonato son capaces de acumular inhibidores de proteinasas de manera similar a las plantas dañadas por insectos, lo que sugiere que el metil-jasmonato volátil se transmitía por el aire (Ryan 2000). Más tarde se logró descifrar que, al menos en la familia Solanaceae, el ataque de órganos foliares por herbívoros causaba que un polipéptido de 18 aminoácidos, la sistemina, sea liberado y transportado por el floema a otras hojas donde una lipasa de membrana induciría un incremento del ácido graso precursor del JA y éste a su vez induciría la expresión de genes que codifican a proteínas de defensa como los inhibidores de proteinasas ya mencionados (Wasternack et al. 2006). La producción de sistemina una vez ocurrido el daño estaría siendo inducida por corrientes eléctricas (Peña-Cortés 2000). Debido a que no se ha logrado identificar sistemina en la mayoría de otras familias, se piensa que en éstas la inducción de JA ocurriría en forma más directa.

Los mecanismos de cómo la señal por JA es transmitida no son bien entendidos. Usando *Arabidopsis* se han realizado varios escrutinios para descubrir mutantes en componentes de la ruta de señalización por JA. Estos han identificado plantas que exhiben mayor (*joe*), menor (*coi*, *jar*, *jin*, *jue*, *jai*) o sensibilidad a la hormona o una respuesta constitutiva (*cev*, *cet*, *cex*) (Berger 2002, Devoto & Turner 2005). La mayoría de los mutantes insensibles a JA fueron aislados por su incapacidad de detener el crecimiento radicular en presencia de la hormona u otros compuestos con similar acción. Por otro lado, los mutantes con respuestas constitutivas a JA manifiestan un crecimiento reducido tanto de la raíz como de la parte aérea de la planta y una expresión constitutiva de varios genes regulados por JA (Xu et al. 2001). Entre los mutantes insensibles a JA, cabe destacar a *coi1* (por coronatine insensitive), cuyo locus codifica a una proteína con dominio F-box involucrada en la degradación de proteínas por el proteosoma, lo que sugiere a este mecanismo como una forma de regulación de la señalización de JA (Xu et al. 2002). El mutante *mpk4* también es insensible a JAs, y presenta reducida expresión por MEJA de los genes *PDF1.2* y *THI2.1* que codifican para una defensina y tionina, respectivamente. No obstante, esta mutante expresa en forma constitutiva genes de defensa PR (relacionados con patogénesis) y que normalmente son inducidos por ácido salicílico (SA) (Petersen et al. 2000). Este y otros ejemplos han permitido descifrar en parte que la ruta de señales por JA interactúa con ruta de SA y otras hormonas. Por ejemplo, el factor de transcripción WRKY70 también define el antagonismo

entre la señalización de defensas mediadas por SA y JA. La sobre-expresión de este factor incrementa la resistencia de *Arabidopsis* a patógenos virulentos, induce genes relacionados con la patogénesis regulados por SA, pero a la vez reprime los genes de respuesta a JA (Li et al. 2004). Otros ejemplos donde la activación de genes por JA en la respuesta a herida han sido descritos en tomate y papa (Doares et al. 1995, Harms et al. 1998).

También existen ejemplos de antagonismo o de cooperación entre las rutas de señalización de JA con etileno, ABA y SA en la regulación de respuestas de defensa tras la infección por un patógeno, o respuestas por heridas (Rojo et al. 2003). A pesar que el JA y etileno cooperan en la activación de la expresión de genes de defensa frente a patógenos o exposición a ozono, ambas señales hormonales pueden ser antagónicas en respuesta a heridas provocadas por fitófagos o daño mecánico (Rojo et al. 2003). Durante el estudio de las respuestas a herida en especies solanáceas se ha observado y discutido sobre la participación de JA y ABA. Aunque se requiere percepción de ABA para la inducción por herida de genes que codifican para inhibidores de proteinasas, la señal primaria en la percepción del daño mecánico podría estar dirigida por JA (Birkenmeier & Ryan 1998).

ACIDO SALICILICO

El ácido salicílico (SA) es un compuesto fenólico simple que deriva del aminoácido fenilalanina. El SA y algunos de sus derivados como el ácido acetyl salicílico (o aspirina), son mejor conocidos en medicina por sus propiedades analgésicas. La importancia del SA como regulador del crecimiento en plantas está reducida a pocos procesos. En algunos casos su presencia afecta la síntesis de otros reguladores de crecimiento los cuales afectan directamente algún proceso fisiológico. Por ejemplo SA reduce la síntesis de etileno y en algunas especies esto origina un retardo de la senescencia de flores o inducción de la floración (Martínez et al. 2004).

Biosíntesis del SA

Aunque desde tiempo se ha sugerido que SA es sintetizado a partir de la fenilalanina, esta ruta biosintética parece no poder dar cuenta de todo el SA que se encuentran en tejidos vegetales. Se ha sugerido rutas alternativas para la formación de SA basado además en los modelos que se han encontrado en algunas bacterias. Por ejemplo existen bacterias que sintetizan SA vía el ácido corísmico: las enzimas isocorismato sintasa (ICS) y la isocorismato piruvato liasa (IPL) pueden catalizar la formación de SA en sólo dos pasos desde isocorismato. Sobre-expresión de estas dos enzimas en *Arabidopsis* es capaz de aumentar los niveles de SA en la planta (Verberne et al. 2000). Además la existencia de una ruta similar ha sido descrita para *Arabidopsis* (Wildermuth et al. 2001). El gen *SID2* que codifica para una isocorismato sintasa cloroplástica en *Arabidopsis* es inducido en tejidos infectado con patógenos. Esta y otras evidencias sugieren que al menos en *Arabidopsis* existe esta ruta adicional para la síntesis de SA que involucra a los ácidos corísmico e isocorísmico (Fig. 6).

Funciones del SA

Una función reguladora muy especial del SA fue descubierta cuando se estudiaba el fenómeno de termogénesis en flores de especies de la familia Araceae. Previamente se conocía que este fenómeno estaba relacionado al proceso de respiración resistente a cianuro que involucra a la oxidasa alternativa. Hace varias décadas se postuló la hipótesis de una señal química o "calorígeno" que se movilizaba desde la flor masculina hacia el resto de la inflorescencia y muy posteriormente se evidenció que SA era capaz de inducir la oxidasa alternativa y la producción de calor en una planta del género *Arum* (Raskin et al. 1987; Vanderstraeten et al. 1995). La producción de calor tendría como función atraer polinizadores

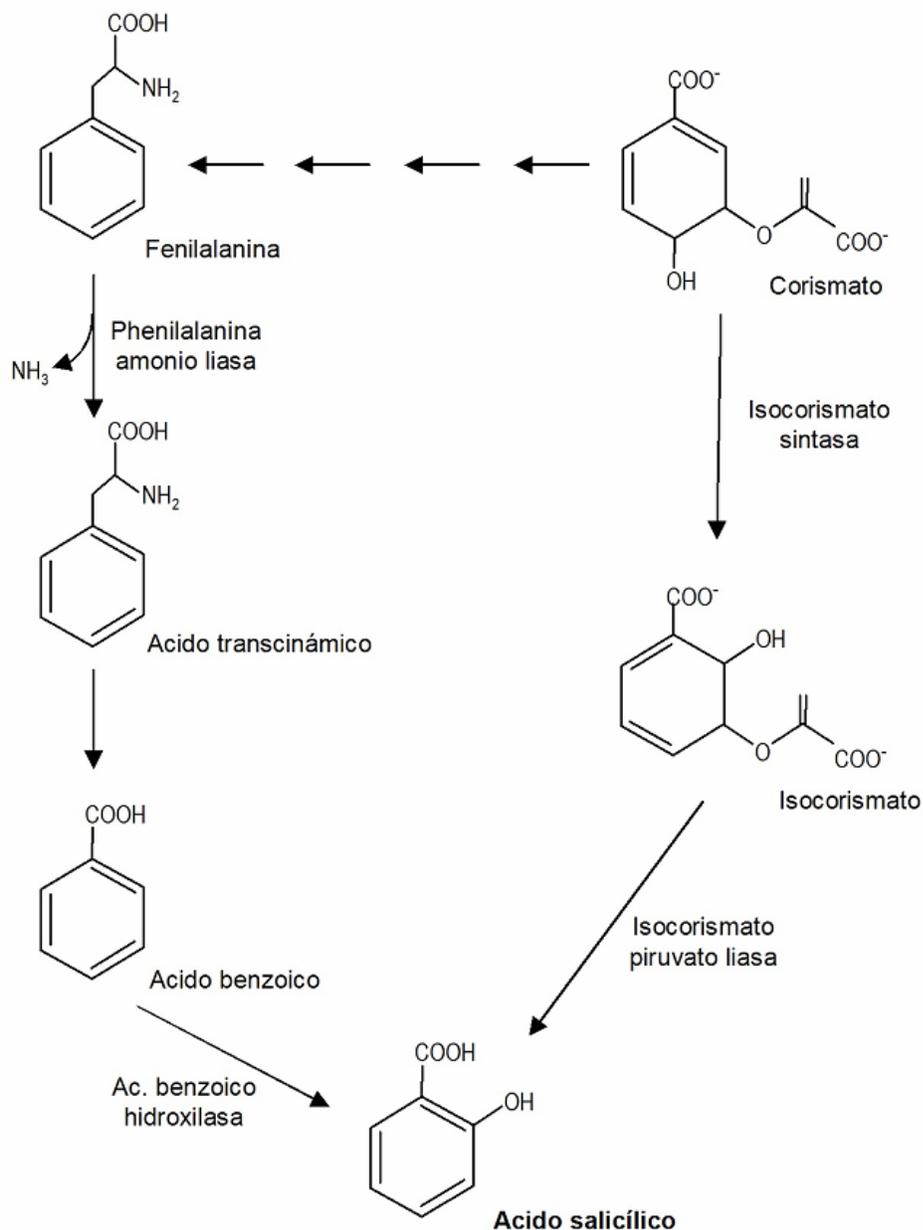


Fig. 6. Vías de biosíntesis del ácido salicílico.

en este género de flores.

Acaso el papel más estudiado del SA es su participación como molécula señal en defensas locales y regulación de la respuesta sistémica adquirida que se ejecuta en las plantas después de ser atacada por patógenos (Shah 2003, Dong 2004). Se ha determinado que incrementos de los niveles del SA en plantas invadidas por bacterias u hongos son necesarios para la manifestación de síntomas del ataque biótico y además coincide con la expresión de genes considerados de defensa que codifican para las llamadas proteínas relacionadas con patogenicidad o PR. Esta correlación y función de la hormona fueron demostradas además con la aplicación de agentes que bloquean la síntesis de SA o la expresión de genes que codifican para enzimas que degradan SA (Delaney et al. 1994, Wildermuth et al. 2001). Más aún, la aplicación de SA exógenamente es capaz no sólo de inducir la expresión de ge-

nes *PR*, sino también de conferir mayor resistencia contra patógenos. La acumulación local de SA en el sitio de infección generaría la movilización de una señal sistémica, probablemente metil-salicilato, la cual induce una respuesta sistémica adquirida responsable de la expresión de genes de resistencia en lugares distantes (Dempsey et al. 1999). La regulación de la expresión génica mediada por SA involucra la proteína NPR1/NIM1 la cual forma complejos con factores de transcripción llamados TGA (de tipo bZIP) para regular promotores de genes *PR*. A su vez, la regulación de NPR1 a nivel de expresión es controlada por factores de transcripción de la clase WRKY (Yu et al. 2001, Dong 2004).

RESUMEN

Entre todas las fitohormonas, el etileno, ácido abscísico (ABA) y ácido jasmónico (JA), tratadas en este capítulo, se caracterizan por actuar como reguladores "negativos" de crecimiento en vegetales, debido a que generalmente reprimen el crecimiento de órganos y aceleran tanto los procesos de senescencia y abscisión como los de floración y maduración de frutos. El etileno es la única hormona gaseosa y cumple un papel importante en la abscisión de hojas y flores y en la maduración de frutos. El ABA está involucrado en la adquisición de tolerancia a desecación y en evitar la germinación precoz de semillas. También es responsable del cierre de estomas causado por déficit hídrico. Los brasinoesteroides (BRs), de naturaleza terpenoide, es un grupo de compuestos que últimamente han demostrado participar en múltiples procesos fisiológicos. Tienen efectos parecidos a los de las auxinas, estando implicados en el crecimiento de órganos y morfogénesis.

Otras sustancias que eventualmente son consideradas como fitohormonas son las poliaminas, los jasmonatos y el ácido salicílico (SA), entre otros. Las poliaminas son compuestos catiónicos con varios grupos amino. A diferencia de hormonas clásicas, éstos se encuentran generalmente en concentraciones más elevadas. Están implicados en la estimulación de la división celular y del desarrollo de algunos frutos y en el retraso de la senescencia. El JA y sus derivados como el metil jasmonato, tienen un papel en el crecimiento de raíces, la maduración de frutos y senescencia, y en mecanismos de defensa. El SA cumple un papel en la transmisión de señales. Su actividad fisiológica más relevante ha sido demostrada como señal que interviene en la inducción de la resistencia sistémica adquirida, un efecto de respuesta de tipo inmunológica ante una infección por patógenos.

Una particularidad de los reguladores descritos en este capítulo es que todos ellos están relacionados con mecanismos de respuesta de las plantas tanto a estrés abiótico como biótico. En la actualidad se reconoce estos productos químicamente muy distintos que tienen acción hormonal en la planta y cuya función a nivel de la célula ha sido posible de reconocer solo con el progreso en el conocimiento de la biología molecular y la disponibilidad de mutantes. Si bien distintos, se estima por otro lado que existirían varias interrelaciones entre ellos conducentes a una respuesta específica. Por ejemplo, para el caso de ataques de insectos herbívoros en las plantas, se postula la existencia de una cascada de eventos en que participan algunas de estas hormonas a través de una señalización también sistémica. En solanáceas se ha descrito que, provocada una herida, se produciría una señal eléctrica la cual conduce a la síntesis del péptido sistemina, el cual induciría la acumulación de ABA. El ABA a su vez generaría señales para la producción de JA lo cual implica finalmente la activación de defensas mediante la producción de inhibidores de proteinasas. Existen muchos otros ejemplos que evidencian la articulación de las señales de respuesta de estas sustancias cuando la planta tiene que responder a un estímulo. Tanto JA, SA, etileno y ABA están involucrados, de alguna forma, en mediar respuesta tanto al ataque por patógenos y plagas como a daño mecánico. Adicionalmente BRs y poliaminas también han sido identificados en algunos casos como factores capaces de incrementar la tolerancia a estreses ambientales.

Preguntas y Problemas

1. ¿Por qué se considera el etileno una hormona natural?
2. ¿Qué efectos provoca etileno a nivel celular?
3. ¿Qué es el denominado "triple efecto" observado en plántulas de arveja?
4. ¿En qué se distinguen los frutos climatéricos de aquellos no climatéricos?
5. En muchas plantas cuyas raíces se encuentran en condiciones de anegamiento y anaerobiosis por varios días se manifiesta la caída de hojas. ¿Qué sustancia incrementa su síntesis a nivel de las raíces está vinculada a este efecto?
6. ¿Qué ventajas evidencia el empleo de etileno en varios cultivos frutales y ornamentales?
7. ¿Qué efecto desencadena la fijación de etileno en el receptor ETR1 sobre el regulador ETR1?
8. ¿Cómo se evidenció o puede usted demostrar que ABA deriva de un tetraterpeno y no directamente de un sesquiterpeno?
9. ¿Qué órganos de la planta son los mayores productores de ABA?
10. ¿Cuál es el papel del ABA en la abscisión de órganos en plantas?
11. ¿Cuál es el papel del ABA en la dormancia de yemas?
12. ¿Qué efectos antagónicos presenta el ABA frente a la acción de otros reguladores hormonales?
13. ¿Qué sucede cuando la síntesis de ABA se ve impedida en semillas?
14. Discuta los posibles efectos que causaría la sobre-expresión del gen *NCED* en plantas de tomate.
15. ¿Qué vías de transducción de señales importantes para la tolerancia a estrés son mediadas por ABA?
16. ¿Cómo ABA afecta el cierre de los estomas cuando existe déficit hídrico?
17. ¿Cómo afectan los brasinoesteroides el crecimiento de plántulas en la luz versus en oscuridad?
18. ¿Cómo se compara el efecto de los brasinoesteroides sobre el crecimiento y elongación de plantas con el de las auxinas y giberelinas?
19. ¿Qué niveles hormonales se verían afectados en una planta donde la expresión de los genes que codifican a la SAM sintasa y SAM descarboxilasa es manipulada genéticamente?
20. ¿Cuál es la función del ácido salicílico en la termogénesis en flores del género *Arum*?
21. La salicilato hidroxilasa es una enzima bacteriana codificada por el gen *NahG* y convierte al ácido salicílico en catecol. ¿Cómo se afectaría la resistencia a patógenos de una planta transgénica que expresa el gen *NahG*?
22. ¿Qué se entiende por resistencia sistémica adquirida?
23. ¿Cómo es regulada la expresión de genes PR por los ácidos jasmónico y salicílico?
24. ¿Cuál sería la secuencia de señales en respuesta al ataque por larvas de insectos en una solanácea? ¿Y en maíz?
25. ¿Con qué hormona o compuesto trataría usted a una planta de tomate para incrementar su resistencia contra larvas de *Spodoptera exigua*? ¿Y contra *Pseudomonas syringae*?

Lecturas Generales

- CHEN YF, N ETHERIDGE & E SCHALLER. 2005. Ethylene signal transduction. *Annals of Botany* 95: 901-915.
- MCCOURT P. 1999. Genetic analysis of hormone signaling. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50:219-243.
- FINKELSTEIN RR & CD ROCK. 2002. Abscisic acid biosynthesis and response. In: *American Society of Plant Biologists (eds) Vol. 45: 1-48. The Arabidopsis Book, www.aspb.org/publications/arabidopsis/*
- LEUNG J & J GIRAUDAT. 1998. Abscisic acid signal transduction. *Annual Review of Plant*

- Physiology and Plant Molecular Biology 49: 199-222.
- TAIZ L & E ZEIGER. 2006. Plant Physiology. Cuarta edición. Sinauer Associates Inc., Sunderland, MA, U.S.A.
- BISHOP GJ & C KONZC. 2002. Brassinosteroids and plant steroid hormone signaling. The Plant Cell 14 (Suplement): 97-110.
- CLOUSE SD & JM SASSE. 1998. Brassinosteroids: Essential regulators of plant growth and development. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 49: 427-451.
- FUJIOKA S & T YOKOTA. 2003. Biosynthesis and metabolism of Brassinosteroids. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 54: 137-164.
- WANG ZY & JX HE. 2004. Brassinosteroid signal transduction -choices of signals and receptors. Trends in Plant Science 9: 91-96.

Literatura Citada

- ADDICOTT FT & HR CARNS. 1983. Abscisic Acid. Praeger Scientific. New York, U.S.A.
- AGRAWAL GK, S TAMOGAMI, O HAN, H IWAHASHI & R RAKWAL. 2004. Rice octadecanoid pathway. Biochemical and Biophysics Research Communication 317: 1-15.
- ANURADHA S & SRR RAO. 2003. Application of brassinosteroids to rice seeds (*Oryza sativa* L.) reduced the impact of salt stress on growth, prevented photosynthetic pigment loss and increased nitrate reductase activity. Plant Growth Regulation 40: 29-32.
- ASSMANN SM & KI SHIMAZAKI. 1999. The Multisensory Guard Cell. Stomatal responses to blue light and abscisic acid. Plant Physiology 119: 809-816.
- BAGNI N & A TASSONI. 2000. Biosynthesis, oxidation and conjugation of aliphatic polyamines in higher plants. Amino Acids 20: 301-317.
- BAJAJ S & MV RAJAM. 1995. Efficient plant regeneration from long-term callus cultures of rice by spermidine. Plant Cell Reports 14: 717-720
- BAJGUZ A & A TRETYN. 2003. The chemical characteristic and distribution of brassinosteroids in plants. Phytochemistry 62: 1027-1046.
- BERGER S. 2002. Jasmonate-related mutants of Arabidopsis as tools for studying stress signaling. Planta 214: 497-504.
- BIEBERACH CY, B LEÓN, OT CENTURIÓN, JA RAMIREZ, E GROS & L GALAGOVSKY. 2000. Estudios preliminares sobre el efecto de dos brassinosteroides sintéticos sobre el crecimiento *in vitro* de yuca, ñame y piña. Anales de la Asociación Química Argentina 88: 1-7.
- BIRKENMEIER GF & CA RYAN. 1998. Wound signaling in tomato plants. Evidence that ABA is not a primary signal for defense gene activation. Plant Physiology 117: 687-693.
- BISWAS PK, KB PAUL & JHM HENDERSON. 1967. Effects of steroids on Chrysanthemum in relation to growth and flowering. Nature 213: 917-918.
- BRADFORD, KJ & SF YANG. 1980. Xylem transport of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, an ethylene precursor, in water-logged tomato plants. Plant Physiology 65:322-326.
- BUSK PK & M PAGES. 1998. Regulation of abscisic acid-induced transcription. Plant Molecular Biology 37: 425-435.
- CAPELL T, L BASSIE & P CHRISTOU. 2004. Modulation of the polyamine biosynthetic pathway in transgenic rice confers tolerance to drought stress. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 101: 9909-9914.
- CASARETTO J & TH HO. 2003. The transcription factors HvABI5 and HvVP1 are required for the abscisic acid induction of gene expression in barley aleurone cells. Plant Cell 15: 271-284.
- CHAE HS & JJ KIEBER. 2005. Eto brute? Role of ACS turnover in regulating ethylene biosynthesis. Trends in Plant Science 10: 291-296.
- CHEN YF, N ETHERIDGE & E SCHALLER. 2005. Ethylene signal transduction. Annals of Botany 95: 901-915.
- CORTÉS PA, T TERRAZAS, TC LEON & A LARQUE-SAAVEDRA. 2003. Brassinosteroid effects on the precocity and yield of cladodes of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* L. Mill). Scientia Horticulturae 97: 65-73.
- CREELMAN RA & JE MULLET. 1997. Biosynthesis and action of jasmonates in plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 48: 355-381.
- CUTLER AJ & JE KROCHKO. 1999. Formation and breakdown of ABA. Trends in Plant Science 4: 472-478.

- DELANEY TP, S UKNES, B VERNOOIJ, L FRIEDRICH, K WEYMANN, D NEGROTTO, T GAFFNEY, M GUTRELLA, H KESSMANN, E WARD & J RYALS. 1994. A central role of salicylic acid in plant disease resistance. *Science* 266: 1247-1250.
- DEMPSEY DA, J SHAH & DF KLESSIG. 1999. Salicylic acid and disease resistance in plants. *Critical Reviews in Plant Science* 18: 547-575.
- DEVOTO A & JG TURNER. 2005. Jasmonate-regulated Arabidopsis stress signalling network. *Physiologia Plantarum* 123: 161-172.
- DOARES SH, J NARVAEZ-VASQUEZ, A CONCONI & CA RYAN. 1995. Salicylic acid inhibits synthesis of proteinase inhibitors in tomato leaves induced by systemin and jasmonic acid. *Plant Physiology* 108: 1741-1746.
- DONG X. 2004. NPR1, all things considered. *Current Opinion in Plant Biology* 7: 547-552.
- DURZAN DJ. 1988. Process control in somatic polyembryogenesis. En: JE Hällgren (ed) *Molecular Genetics of Forest Trees*: 147-186. Frans Kempe Symp., Swedish Univ. Ag. Sci., Umea, Sweden.
- FAN LM, Z ZHAO & SM ASSMANN. 2004. Guard cells: a dynamic signaling model. *Current Opinion in Plant Biology* 7: 537-546
- FARMER EE, E ALMERAS & V KRISHNAMURTHY. 2003. Jasmonates and related oxylipins in plant responses to pathogenesis and herbivory. *Current Opinion in Plant Biology* 6: 372-378.
- FATH A, P BETHKE, J LONSDALE, R MEZA-ROMERO & R JONES. 2000. Programmed cell death in cereal aleurone. *Plant Molecular Biology* 44: 255-266.
- FEDOROFF NV. 2002. Cross-talk in abscisic acid signaling. *Science STKE* 2002: RE10.
- FINKELSTEIN RR, SS GAMPALA & CD ROCK. 2002. Abscisic acid signaling in seeds and seedlings. *Plant Cell* 14: S15-45.
- FUJIOKA S & T. YOKOTA. 2003. Biosynthesis and metabolism of brassinosteroids. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 54: 137-164.
- GAUDINOVA A, H SUSSENBKOVA, M VOJTECHOVA, M KAMINEK, J EDER & L HOHOUT. 1995. Different effects of two brassinosteroids on growth, auxin and cytokinin content in tobacco callus tissue. *Plant Growth Regulation* 17: 121-126.
- GEOFFRIAU E, R KAHANE & J MARTIN-TANGUY. 2006. Polyamines are involved in the gynogenesis process in onion. *Physiologia Plantarum* 127: 119-129.
- GIOVANNONI J. 2001. Molecular biology of fruit maturation and ripening. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 52:725-749.
- GODA H, S SHINICHIRO, T ASAMI, S FUJIOKA, Y SHIMADA & S YOSHIDA. 2004. Comprehensive comparison of auxin-regulated and brassinosteroid-regulated genes in Arabidopsis. *Plant Physiology* 134: 1555-1573.
- HARMS K, II RAMIREZ, & H PEÑA-CORTES. 1998. Inhibition of wound-induced accumulation of allene oxide synthase transcripts in flax leaves by aspirin and salicylic acid. *Plant Physiology* 118: 1057-1065.
- HE Z, ZY WANG, J LI, Q ZHU, C LAMB, P RONALD & J CHORY. 2000. Perception of brassinosteroids by the extracellular domain of the receptor kinase BRI1. *Science* 288: 2360-2363.
- HIMMELBACH A, Y YANG & E GRILL. 2003. Relay and control of abscisic acid signaling. *Current Opinion in Plant Biology* 6: 470-479.
- HUNG KT & CH KAO. 2004. Hydrogen peroxide is necessary for abscisic acid-induced senescence of rice leaves. *Journal of Plant Physiology* 161: 1347-1357.
- IMAI A, T MATSUYAMA, Y HANZAWA, T AKIYAMA, M TAMAOKI, H SAJI, Y SHIRANO, T KATO, H HAYASHI, D SHIBATA, S TABATA, Y KOMEDA & T TAKAHASHI. 2004. Spermidine synthase genes are essential for survival of Arabidopsis. *Plant Physiology* 135: 1565-1573.
- KAGAYA Y, T HOBBO, M MURATA, A BAN & T HATTORI. 2002. Abscisic acid-induced transcription is mediated by phosphorylation of an abscisic acid response element binding factor, TRAB1. *Plant Cell* 14: 3177-3189.
- KAKKAR RK & VK SAWHNEY. 2002. Polyamine research in plants – a changing perspective. *Physiologia Plantarum* 116: 281-292.
- KANG JY, HI CHOI, MY IM, SY KIM. 2002. Arabidopsis basic leucine zipper proteins that mediate stress-responsive abscisic acid signaling. *Plant Cell* 14: 343-357.
- KAUR-SAWHNEY R, AF TIBURCIO & AW GALSTON. 1988. Spermidine and flower bud differentiation in thin-layer explants of tobacco. *Planta* 173: 282-284.
- KIM SK, CC SOO, EJ LEE, WS CHUNG, YS KIM, S HWANG & JS LEE. 2000. Involvement of brassinosteroids in the gravitropic response of primary root of maize. *Plant Physiology* 123: 997-1004.
- LEUNG J & J GIRAUDAT. 1998. Abscisic acid signal transduction. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 49: 199-222.
- LI J, G BRADER & T PALVA. 2004. The WRKY70 transcription factor: a node of convergence for jasmonate-mediated and salicylate-mediated signals in plant defense. *Plant Cell* 16: 319-331.

- LI ZL & DJ BURRITT. 2003. Changes in endogenous polyamines during the formation of somatic embryos from isogenic lines of *Dactylis glomerata* L. with different regenerative capacities. *Plant Growth Regulation* 40: 65-74.
- LIECHTI R & EE FARMER. 2006. Jasmonate biochemical pathway. *Science STKE* 14 (322): cm3.
- LOVEGROVE A & R HOOLEY. 2000. Gibberellin and abscisic acid signalling in aleurone. *Trends in Plant Science* 5: 102-110.
- MANDAVA NB. 1988. Plant growth-promoting brassinosteroids. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 39: 23-52.
- MARTINEZ C, E PONS, G PRATS & J LEON. 2004. Salicylic acid regulates flowering time and links defence responses and reproductive development. *Plant Journal* 37: 209-17.
- MCCARTY DR. 1995. Genetic control and integration of maturation and germination pathways in seed development. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 46: 71-93.
- MILBORROW BV. 2001. The pathway of biosynthesis of abscisic acid in vascular plants: a review of the present state of knowledge of ABA biosynthesis. *Journal of Experimental Botany* 52: 1145-1164.
- MIYAZAWA Y, N NAKAJIMA, T ABE, A SAKAI, S FUJIOKA, S KAWANO, T KROIWA & S YAMADA. 2003. Activation of cell proliferation by brassinolide application in tobacco BY-2 cells: effects of brassinolide on cell multiplication, cell-cycle-related gene expression and organellar DNA contents. *Journal of Experimental Botany* 54: 2669-2678.
- NAKASHITA H, M YASUDA, T NITTA, T ASAMI, S FUJIOKA, Y ARAI, K SEKIMATA, S TAKATSUTO, I YAMAGUCHI & S YOSHIDA. 2003. Brassinosteroids functions in a broad range of disease resistance in tobacco and rice. *Plant Journal* 33: 887-898.
- NAMBARA E & A MARION-POLL. 2005. Abscisic acid biosynthesis and catabolism. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 56: 165-185.
- NEMHAUSER JL, TC MOCKLER & J CHORY. 2004. Interdependency of brassinosteroid and auxin signaling in *Arabidopsis*. *PLoS Biology* 2: e258
- OELLER P, L MIN-WONG, L TAYLOR, D PIKE & A THEOLOGIS. 1991. Reversible inhibition of tomato fruit senescence by antisense RNA. *Science* 254:437-439.
- OSAKABE Y, K MARUYAMA, M SEKI, M SATOU, K SHINOZAKI & K YAMAGUCHI-SHINOZAKI. 2005. Leucine-rich repeat receptor-like kinase1 is a key membrane-bound regulator of abscisic acid early signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 17: 1105-1119.
- PANDEY S, SA RANADE, PK NAGAR & N KUMAR. 2000. Role of polyamines and ethylene as modulators of plant senescence. *Journal of Bioscience* 25: 291-299.
- PEDROS AR, MR MACLEOD, HA ROSS, D MCRAE, AF TIBURCIO, HV DAVIES & MA TAYLOR. 1999. Manipulation of S-adenosylmethionine decarboxylase activity in potato tubers. An increase in activity leads to an increase in tuber number and a change in tuber size distribution. *Planta* 209: 153-160.
- PEÑA-CORTÉS H. 2000. Acido Jasmónico. En: LP Barrueto-Cid (eds) *Introdução aos Hormônios Vegetais*: 131-157. EMBRAPA, Brasília, Brasil.
- PETERSEN M, P BRODERSEN, H NAESTED, E ANDREASSON, U LINDHART, B JOHANSEN, HB NIELSEN, M LACY, MJ AUSTIN, JE PARKER, SB SHARMA, DF KLESSIG, R MARTIENSSON, O MATTSSON, AB JENSEN & J MUNDY. 2000. *Arabidopsis* Map kinase 4 negatively regulates systemic acquired resistance. *Cell* 103: 1111-1120.
- PULLMAN GS, Y ZHANG & BH PHAN. 2003. Brassinolide improves embryogenic tissue initiation in conifers and rice. *Plant Cell Reports* 22: 96-104.
- RASKIN I, A EHMANN, WR MELANDER & BJD MEEUSE. 1987. Salicylic acid: a natural inducer of heat production in *Arum* lilies. *Science* 237: 1602-2602.
- RAZEM FA, A EL-KEREAMY, S ABRAMS & RD HILL. 2006. The RNA-binding protein FCA is an abscisic acid receptor. *Nature* 439: 290-294.
- RITCHIE S & S GILROY. 2000. Abscisic acid stimulation of phospholipase D in the barley aleurone is G-protein-mediated and localized to the plasma membrane. *Plant Physiology* 124: 693-702.
- RODRÍGUEZ-CONCEPCIÓN M & A BORONAT. 2002. Elucidation of the methylerythritol phosphate pathway for isoprenoid biosynthesis in bacteria and plastids. A metabolic milestone achieved through genomics. *Plant Physiology* 130: 1079-1089.
- ROJO E, R SOLANO & JJ SANCHEZ-SERRANO. 2003. Interactions between signaling compounds involved in plant defense. *Journal of Plant Growth Regulation* 22: 82-98.
- RYAN CA. 2000. The systemin signaling pathway: differential activation of plant defensive genes. *Biochimica et Biophysica Acta* 1477: 112-121.
- SASSE JM. 1999. Physiological actions of brassinosteroids. In: Sakurai A, T Yokota & SD Clouse (eds) *Brassinosteroids: Steroidal plant hormones*: 137-161. Springer-Verlag, Tokyo, Japan.
- SAUTER A, WJ DAVIES & W HARTUNG. 2001. The long-distance abscisic acid signal in the droughted

- plant: the fate of the hormone on its way from root to shoot. *Journal of Experimental Botany* 52: 1991-1997.
- SCHALLER F, A SCHALLER & A STINTZI. 2005. Biosynthesis and metabolism of jasmonates. *Journal of Plant Growth Regulation* 23: 179-199.
- SCHILMILLER AL & GA HOWE GA. 2005. Systemic signaling in the wound response. *Current Opinion in Plant Biology* 8:369-77.
- SCHWARTZ SH X QIN & J ZEEVAART. 2003. Elucidation of the indirect pathway of abscisic acid biosynthesis by mutants, genes, & enzymes. *Plant Physiology* 131: 1591-1601.
- SHAH J. 2003. The salicylic acid loop in plant defense. *Current Opinion in Plant Biology* 6: 365-371.
- SHIMADA Y, H GODA, A NAKAMURA, S TAKATSUTO, S FUJIOKA & S YOSHIDA. 2003. Organ-specific expression of brassinosteroid-biosynthetic genes and distribution of endogenous brassinosteroids in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 131: 287-297.
- SHWETA S & PK NAGAR. 2003. The effect of polyamines on leaf senescence in two diverse rose species. *Plant Growth Regulation* 39: 155-160
- SOLANO R, A STEPANOVA, Q CHAO & JR ECKER. 1998. Nuclear events in ethylene signaling: A transcriptional cascade mediated by ETHYLENE-INSENSITIVE3 and ETHYLENE-RESPONSE-FACTOR1. *Genes and Development* 12:3703-3714.
- STASOLLA C, L KONG, EC YEUNG & TA THORPE. 2002. Maturation of somatic embryos in conifers: morphogenesis, physiology, biochemistry, and molecular biology. *In Vitro Cellular and Development Biology - Plant* 38: 93-105.
- STEBER CM & P MCCOURT. 2001. A role for brassinosteroids in germination in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 125: 763-769.
- TANIMOTO S, Y MATSUBARA & N ISHIOKA. 1994. Significance of spermidine in the initiation of adventitious buds in stem segments of *Torenia*. *Plant Cell Physiology* 35: 1071-1077.
- UOZU S, M TANAKA-UEGUCHI, H KITANO, K HATTORI & M MATSUOKA. 2000. Characterization of *XET*-related genes in rice. *Plant Physiology* 122: 853-860.
- VANDERSTRAETEN D, L CHAERLE, G SHARKOV, H LAMBERS & M VAN MONTAGU. 1995. Salicylic-acid enhances the activity of the alternative pathway of respiration in tobacco-leaves and induces thermogenicity. *Planta* 196: 412-419.
- VARDHINI BV & SSR RAO. 2002. Acceleration of ripening of tomato pericarp discs by brassinosteroids. *Phytochemistry* 16: 843-847.
- VARDHINI BV & SSR RAO. 2003. Amelioration of osmotic stress by brassinosteroids on seed germination and seedling growth of three varieties of sorghum. *Plant Growth Regulation* 41: 25-31.
- VERBERNE MC, R VERPOORTE, JF BOL, J MERCADO-BLANCO & HJ LINTHORST. 2000. Overproduction of salicylic acid in plants by bacterial transgenes enhances pathogen resistance. *Nature Biotechnology* 18: 779-783.
- WALTERS DR. 2003. Polyamines and plant disease. *Phytochemistry* 64: 97-107.
- WANG KLC, H LI & JR ECKER. 2002. Ethylene biosynthesis and signaling networks. *Plant Cell* 14: S131-S151.
- WANG KLC, H YOSHIDA, C LURIN & JR ECKER. 2004. Regulation of ethylene gas biosynthesis by the *Arabidopsis* ETO1 protein. *Nature* 428: 945-950.
- WASTERACK C, I STENZEL, B HAUSE, G HAUSE, C KUTTER, H MAUCHER, J NEUMERKEL, I FEUSSNER & O MIERSCH. 2006. The wound response in tomato - role of jasmonic acid. *Journal of Plant Physiology* 163: 297-306.
- WILDERMUTH MC, J DEWDNEY, G WU & FM AUSUBEL. 2001. Isochorismate synthase is required to synthesize salicylic acid for plant defense. *Nature* 414: 562-565.
- XIONG L & JK ZHU. 2003. Regulation of abscisic acid biosynthesis. *Plant Physiology* 133: 29-36.
- XIONG L, BH LEE, M ISHITANI, H LEE, C ZHANG & JK ZHU. 2001. FIERY1 encoding an inositol polyphosphate 1-phosphatase is a negative regulator of abscisic acid and stress signaling in *Arabidopsis*. *Genes and Development* 15: 1971-1984.
- XU L, F LIU, E LECHNER, P GENSCHIK, WL CROSBY, H MA, W PENG, D HUANG & D XIE. 2002. The SCF(COI1) ubiquitin-ligase complexes are required for jasmonate response in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 14: 1919-1935.
- XU L, F LIU, Z WANG, W PENG, R HUANG, D HUANG & D XIE. 2001. An *Arabidopsis* mutant *cex1* exhibits constant accumulation of jasmonate-regulated AtVSP, Thi2.1 and PDF1.2. *FEBS Letters* 494: 161-164.
- YAMAGUCHI-SHINOZAKI K & K SHINOZAKI. 2005. Organization of cis-acting regulatory elements in osmotic- and cold-stress-responsive promoters. *Trends in Plant Science* 10: 88-94.
- YANG SF. 1987. The role of ethylene and ethylene synthesis in fruit ripening. En: Thomson WW, EA Nothnagel & RC Huffaker (eds) *Plant Senescence: Its Biochemistry and Physiology*: 156-166. American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD, U.S.A.

- YIN Y, D VAFEDOS, Y TAO, S YOSHIDA, T ASAMI & J CHORY. 2005. A new class of transcription factors mediates brassinosteroid-regulated gene expression in Arabidopsis receptors to directly activate target genes. *Cell* 120: 249-259.
- YU D, C CHEN & Z CHEN. 2001. Evidence for an important role of WRKY DNA binding proteins in the regulation of NPR1 gene expression. *Plant Cell* 13: 1527-1539.
- ZEEVAART JAD. 1999. Abscisic acid metabolism and its regulation. En: Hooykaas PJ, MA Hall & R Libbenga (eds). *Biochemistry and molecular biology of plant hormones*: 189-207. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.
- ZHU C & Z CHEN. 2005. Role of polyamines in adventitious shoot morphogenesis from cotyledons of cucumber *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 81: 45-53.