

Evolución de la Fisiología Vegetal en los últimos 100 años

Ana María Ortuño Tomás, Licinio Díaz Expósito y José Antonio Del Río Conesa

Departamento de Biología Vegetal (Fisiología Vegetal), Universidad de Murcia.

aortuno@um.es, l.diazexpósito@um.es, jadelrio@um.es

INTRODUCCIÓN

Las plantas son los productores primarios del ecosistema terrestre, lo que significa que todos los alimentos que consumimos provienen directa o indirectamente de ellas. La capacidad de convertir la energía del sol en energía química ha permitido a las plantas ocupar un nicho completamente diferente pero muy compatible con el nuestro, al poder realizar la fotosíntesis. Como subproducto de este proceso metabólico, las plantas producen el oxígeno que los animales necesitamos para vivir. Además, las plantas son una fuente importante de muchos productos farmacéuticos, de madera y fibras, y también cada vez más de productos renovables que sustituyen a los plásticos y la energía derivada del petróleo, gracias a que han desarrollado un conjunto complejo de rutas metabólicas, que producen una amplia variedad de metabolitos primarios y secundarios.

Las plantas también se utilizan para producir compuestos de uso médico, como anticuerpos, proteínas humanas (por ejemplo, la insulina) e incluso vacunas. A estos compuestos se les conoce como “proteínas farmacéuticas de origen vegetal”. Estas vacunas comestibles no requieren manipulación estéril ni costosa pues son eficaces cuando se ingieren.

El nombre de Fisiología deriva del griego *physis* que significa función y *logos* que significa ciencia. Por tanto la Fisiología Vegetal es la ciencia que estudia cómo funcionan las plantas. La Fisiología Vegetal empezó a tomar cuerpo en 1800 cuando Frenchman J. Senebier editó su primera monografía en cinco volúmenes titulada “Plant Physiology”, en la que incluyó no solo sus propios resultados experimentales, sino también los de otros científicos en este campo, como M. Malpighi, que describió el flujo de sustancias en la planta (1775); St. Hales, que propuso que el agua y las sales minerales se transportaban por el xilema, mientras que otras sustancias lo hacían por el floema (1727); J. Priestley, que sentó las bases para el descubrimiento de la fotosíntesis (1771), entre otros.

La Fisiología Vegetal es una rama de las ciencias biológicas que estudia la vida de las plantas, cómo funcionan y cómo son capaces de utilizar la energía de la luz para, a partir de sustancias inorgánicas, sintetizar moléculas orgánicas con las que construir las complejas estructuras que forman el cuerpo de la planta. Investiga cómo son capaces de reproducirse, cómo se adaptan al ambiente particular de cada momento, cómo se integran dichos procesos durante el desarrollo y cómo pueden ser modulados por el medio ambiente, para poder completar su ciclo biológico. Por tanto, a nivel molecular, analiza los procesos fisicoquímicos que ocurren en las plantas, como son la síntesis, ensamblaje y reconstrucción de las proteínas, ácidos nucleicos, polisacáridos, lípidos y el resto de metabolitos primarios y secundarios, estudiando la energética y los mecanismos que regulan dichos procesos. A nivel celular, estudia la estructura y propiedades de las células, sus componentes y las relaciones entre las organelas. A nivel intercelular, los múltiples procesos implicados, como la fotosíntesis, respiración y las interacciones entre tejidos y órganos. A nivel de organismo estudia las funciones de coordinación e interacción entre órganos y los cambios que experimentan en los procesos de adaptación.

En los últimos 100 años se ha producido un vertiginoso aumento en la investigación sobre diversos aspectos de la Fisiología Vegetal, gracias al desarrollo de diversas técnicas analíticas como la cromatografía de gases y la líquida, la espectrometría de masas, la resonancia magnética nuclear (RMN), la microscopía óptica y electrónica, los cultivos *in vitro* de plantas, órganos y células, y las técnicas moleculares. Todo ello ha permitido profundizar en el conocimiento de las diversas ramas de esta ciencia. Los conocimientos adquiridos en los últimos años han facilitado el desarrollo de nuevas estrategias para aumentar la producción y mejorar la calidad de los productos agrícolas.

A continuación iremos enumerando el estado de conocimientos de algunas de las temáticas que trata la Fisiología Vegetal.

RELACIONES HÍDRICAS

El agua es esencial para la supervivencia, el crecimiento y la actividad metabólica de las plantas. Su estructura y propiedades influyen en todos los constituyentes celulares. Las relaciones hídricas en las plantas estudian, la absorción de agua a partir del suelo, su transporte a través de la planta y su pérdida, en forma de vapor de agua, hacia la atmósfera circundante por acción de la transpiración.

Gracias al desarrollo de diversos instrumentos como los psicrómetros, la cámara de presión y la sonda de presión o bomba de Scholander, se ha podido determinar el estado del agua en la planta, estimando los valores de potencial hídrico y sus componentes.

Un importante avance en el conocimiento sobre los movimientos del agua en las plantas fue el descubrimiento de las acuaporinas. Estas proteínas de membrana fueron descubiertas en los años 80, y su función es actuar como canales que facilitan la difusión del agua a través de membranas. En *Arabidopsis*, las acuaporinas están codificadas por más de 30 genes homólogos. En las plantas existen diferentes acuaporinas con una específica localización subcelular. Algunas son proteínas multifuncionales, pudiendo transportar, además del agua, CO₂ y NH₃.

La radiación solar proporciona la fuente de energía para la transpiración, siendo la evaporación del agua en la hoja la que establece el gradiente de potencial hídrico en la planta. La difusión del vapor de agua desde la hoja al aire se produce a través de la cutícula y del aparato estomático. De todas ellas, la ruta más importante en el intercambio de agua con la atmósfera, en magnitud, es la estomática. El conocimiento sobre los mecanismos que regulan la abertura estomática ha permitido establecer que este proceso está regulado por factores endógenos y ambientales.

Los estudios sobre las características anatómicas del xilema y la composición del fluido xilemático, han permitido establecer que, el agua y las sales minerales se transportan a larga distancia a través de esta ruta. En este sentido, Stout y Hoagland en 1939, realizaron un experimento que demostraba el transporte de minerales por el xilema, y la posibilidad de movimiento lateral de sustancias minerales entre el xilema y el floema.

El agua, con frecuencia, es un recurso limitante de la producción vegetal, y actualmente existe un interés considerable en determinar la eficiencia en el uso del agua en relación con la fotosíntesis y la productividad. La variación en las condiciones medioambientales puede llegar a imponer serias restricciones para el crecimiento y el desarrollo vegetal y, por tanto, conducir a situaciones de estrés. Las condiciones

adversas pueden deberse a la acción de los seres vivos o a variaciones en la disponibilidad y calidad del agua, en la temperatura, en la cantidad de luz que reciben, en el nivel de oxígeno del suelo, etc., es decir, a cambios físicos o químicos. Los estreses han ejercido una gran presión selectiva sobre las plantas a lo largo de la evolución, lo que ha provocado la aparición, mediante mecanismos de selección natural, de adaptaciones a los mismos.

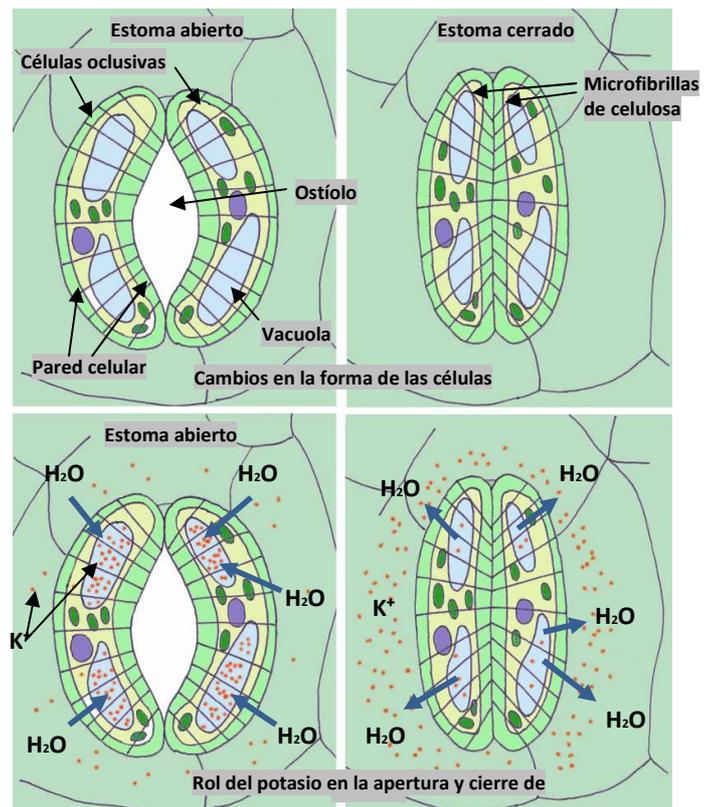


Figura 1. Apertura y cierre de estomas.

NUTRICIÓN MINERAL DE LAS PLANTAS

La nutrición mineral de las plantas es una de las ramas de la Fisiología Vegetal más antigua, y está relacionada con la adquisición de nutrientes minerales y sus funciones en las plantas. Dado que el interés práctico por la nutrición mineral de las plantas está íntimamente relacionado con la producción vegetal, las primeras aportaciones científicas sobre la nutrición mineral fueron realizadas a finales del siglo XVIII. Así, De Saussure (1767-1845) estudió tanto la fotosíntesis como la absorción de nutrientes, introduciendo el concepto de elemento esencial para el crecimiento de las plantas. En la misma época, J. B. Boussingault fue el descubridor de que las legumbres tienen la capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico. Julius von Sachs, famoso botánico alemán, en 1880 demostró, por primera vez, que las plantas

podían crecer y desarrollarse en soluciones nutritivas totalmente carentes de suelo, siendo éste el comienzo de los cultivos hidropónicos. Sin embargo, el establecimiento de la nutrición mineral de las plantas como disciplina científica surge a partir de las publicaciones de von Liebig, lo que condujo a un rápido aumento en el uso de fertilizantes minerales en la agricultura. Al final del siglo XIX, especialmente en Europa, grandes cantidades de nutrientes minerales esenciales para las plantas fueron usados en agricultura y en horticultura, para mejorar el crecimiento y la productividad de los cultivos. Las conclusiones de Liebig fueron que, los elementos minerales, tales como N, P, K, Ca, Mg, Si, Na y Fe eran totalmente esenciales para el crecimiento de las plantas. Posteriormente, se realizaron intensas investigaciones sobre la composición mineral de diferentes especies de plantas crecidas en diferentes suelos, haciendo posible una caracterización más precisa de la esencialidad de los elementos minerales, y una mejor comprensión de su papel en el metabolismo de las plantas.

El término elemento mineral esencial fue propuesto por Arnon y Stout en 1934. El conocimiento de los macro y micronutrientes, junto con el desarrollo de diferentes soluciones nutritivas, como las de Hoagland y Arnon (1950), y de Hewitt (1966), permitieron el desarrollo de las técnicas de cultivo de plantas libres de suelo, y el desarrollo de las diversas variantes de cultivos hidropónicos y semi-hidropónicos, como los sistemas en película descendente o el aeropónico.

Desde el punto de vista fisiológico es importante conocer cómo se absorben y transportan los nutrientes minerales en las plantas. En los últimos años se ha producido un importante avance en el conocimiento de los transportadores de membrana para la mayoría de los elementos esenciales, a nivel de membrana plasmática, del tonoplasto, del cloroplasto y de la mitocondria, tanto para los transportadores de entrada y de salida. Además, se han caracterizado moléculas complejantes de metales, de diversa naturaleza, que favorecen la absorción y el transporte dentro de planta, como los ácidos orgánicos cítrico y málico, los fitosideróforos, las chaperonas, las fitoquelatinas y las metalotioneínas. Por otra parte, los estudios sobre composición de los fluidos xilemático y floemático, y el uso de trazadores radiactivos, han demostrado que los elementos minerales esenciales para las plantas se transportan, a larga distancia, a través del xilema, sin descartar la participación del floema en la recirculación de nutrientes minerales.

FOTOSÍNTESIS

La luz es la fuente primaria de energía para la vida sobre la Tierra. La biosfera en la que vivimos es un sistema cerrado y en equilibrio dinámico constante. Entre los organismos fotosintéticos, los vegetales son el grupo principal y más

abundante. La fotosíntesis es un proceso que distingue al reino vegetal y que determina las características de su estructura y su fisiología. El tipo de fotosíntesis que realizan los vegetales se caracteriza por la formación de oxígeno (O₂) como subproducto desprendido a la atmósfera. Este tipo de fotosíntesis se denomina fotosíntesis oxigénica.

Las primeras investigaciones sobre la fotosíntesis datan del siglo XVIII. En 1771 J. Priestley demostró que el O₂ consumido por los animales es producido por las plantas. J. Ingenhousz, en 1779, comprobó que la luz es necesaria para que las plantas verdes desarrollen su ciclo biológico. Posteriormente, Pelletier y J. Caventou, en 1818, aislaron los pigmentos verdes de las hojas y los denominaron clorofila. En 1845, J.R. Mayer propuso que la energía solar es transformada en la energía de los enlaces químicos durante la fotosíntesis. En 1922, O. Warburg realizó las primeras medidas cuantitativas de la fotosíntesis y estableció las bases para el posterior descubrimiento de la fotorrespiración. En 1936, H. Gaffron y K. Woll propusieron el concepto de los centros de reacción, donde tienen lugar las reacciones más importantes de la fase luminosa de la fotosíntesis.

En 1939, Robert Hill descubrió que los cloroplastos aislados de hojas son capaces de producir oxígeno, al ser iluminados en presencia de un adecuado compuesto químico aceptor artificial de electrones, tal como el ferricianuro. La ecuación de Hill fracciona la fotosíntesis en dos fases al mostrar que la liberación de oxígeno puede realizarse sin reducción del CO₂. También confirma que todo el oxígeno producido procede del agua y no del CO₂. En 1943, R. Emerson y colaboradores iluminaron cloroplastos aislados de *Chlorella* con luz de 680 nm. Vieron cómo en una primera fase, la actividad fotosintética aumentaba hasta un determinado momento en el que el sistema se satura y a partir de ahí la intensidad fotosintética cae. A esta caída se le llama "Efecto Emerson" o "Caída en el rojo" y ha permitido la posterior identificación de los centros de reacción de los fotosistemas. En 1951, L. Duysens demostró la transferencia de la energía de excitación entre pigmentos fotosintéticos.

La fotosíntesis es un proceso biológico complejo en el que se pueden distinguir dos fases bien diferenciadas, una primera, de absorción y conversión de energía, y otra segunda, de toma y asimilación de elementos constitutivos de la materia orgánica (carbono, nitrógeno y azufre). La energía luminosa es absorbida por biomoléculas fotosensibles y transformada en una forma de energía bioquímica estable. Ambas fases, la foto-absorción de energía y la foto-asimilación de los elementos esenciales, están perfectamente coordinadas e interrelacionadas. Actualmente se conocen gran parte de las reacciones de la fotosíntesis, los transportadores, los pigmentos, la composición de los centros de reacción y de los colectores de energía.

En la primera fase de conversión de energía luminosa en energía electroquímica, están implicados ciertos complejos pigmento-proteína denominados antenas (LHC, *Light Harvesting Complexes*). Éstos canalizan la energía hacia los centros de reacción de los fotosistemas, donde es transformada en una corriente de electrones entre moléculas óxido-reductoras. En 1960, R. Hill y F. Bendall propusieron el esquema Z para el transporte electrónico fotosintético. Estas reacciones de óxido-reducción producen, en último término, dos biomoléculas estables (NADPH y ATP) que serán utilizadas en la absorción de los elementos constitutivos de la materia orgánica.

Todo este proceso metabólico se produce en las hojas, ya que están constituidas esencialmente por tejidos fotosintéticos, es decir, por células que tienen en su interior la maquinaria necesaria para la fotosíntesis. A nivel celular, esta maquinaria se localiza específica y exclusivamente en unos orgánulos subcelulares llamados cloroplastos. Los estudios de microscopía electrónica de transmisión y barrido han permitido caracterizar dicha organela. Estos orgánulos subcelulares están presentes en todas las células fotosintéticas eucariotas, desde las plantas superiores hasta las algas pluricelulares y unicelulares. Los cloroplastos contienen también un intrincado sistema de dobles membranas internas denominadas tilacoide que incluyen todo el aparato biomolecular necesario para llevar a cabo la primera fase de la fotosíntesis, es decir, son las membranas fotosintéticas donde se encuentran los 4 complejos proteínicos que funcionan hasta producir NADPH y ATP.

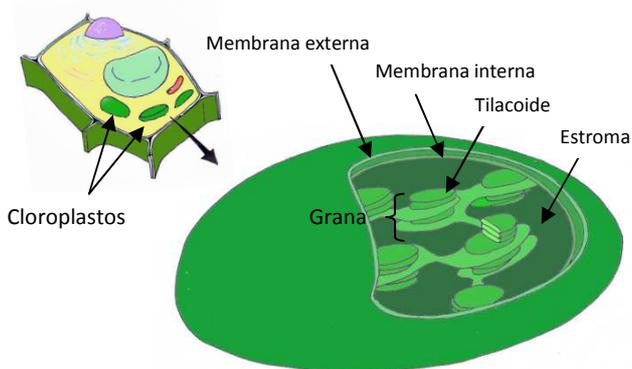


Figura 2. Estructura del cloroplasto.

Arnon y colaboradores, en 1954, descubrieron la síntesis de ATP asociada al proceso fotosintético, y en 1961, P. Mitchell elaboró la hipótesis quimiosmótica de síntesis de ATP asociada a la cadena de transporte electrónico. La ATP sintasa es el cuarto complejo enzimático ubicado en el tilacoide, que lleva a cabo la síntesis fotoinducida del ATP, después de producirse la cadena redox fotosintética, y está catalizada por el complejo enzimático ATP sintasa. Su composición se

conoce con bastante detalle por ser un enzima homólogo de la ATP sintasa mitocondrial asociada a la cadena respiratoria.

Los numerosos polipéptidos que integran estos 4 complejos proteínicos fotosintéticos están codificados por dos genomas: el ADN que existe dentro del cloroplasto, llamado ADN cloroplástico y el nuclear.

El segundo grupo de reacciones de la fotosíntesis es la asimilación fotosintética del CO_2 lo que va a permitir la producción de nueva biomasa vegetal, proceso clave para el mantenimiento de la biosfera. En 1956, M. Calvin y colaboradores identificaron las reacciones de reducción de CO_2 a carbohidratos (Ciclo de Calvin). El ciclo fotosintético de reducción del carbono se produce en tres fases bien diferenciadas: fijación del CO_2 o carboxilación, reducción a hidratos de carbono y regeneración de la ribulosa 1,5-difosfato (RuBP). A partir de los intermediarios del proceso, gliceraldehído 3-P y dihidroxiacetona-P (triosas-fosfato), se inicia la formación de los diferentes glúcidos presentes en las plantas, siendo los más comunes glucosa, fructosa, almidón y sacarosa.

Esta segunda fase de la fotosíntesis, denominada, por algunos autores, como la fase oscura, está regulada por luz, existiendo diversos mecanismos de control, como el nivel de ferredoxina reducida, la presencia de luz, la concentración de CO_2 y por algunos de los productos de las reacciones enzimáticas (reacciones reversibles).

Diferentes investigadores utilizaron la metodología de Calvin para el estudio de la asimilación del carbono en diferentes especies vegetales, y observaron diferencias en las primeras etapas del proceso de asimilación de CO_2 . Esto permitió, en 1960, que S.E. Karpilov, M.D. Hatch y C.R. Slack descubrieran el ciclo C_4 de asimilación de carbono, característico de las plantas C_4 en donde el metabolismo del carbono se produce en dos tipos de células diferentes, las del mesófilo y las de la vaina. Esta variante del proceso supone una serie de ventajas para las plantas que lo expresan, como el hecho de ser más eficaces que las C_3 para fijar CO_2 ; presentan tasas de carboxilación de la rubisco superiores a las C_3 ; son más eficaces en la utilización del nitrógeno y más eficaces en el uso del agua.

RESPIRACIÓN DE LAS PLANTAS

La respiración vegetal es el conjunto de reacciones mediante las cuales, los azúcares sintetizados durante la fotosíntesis son oxidados a CO_2 y H_2O , y la energía liberada, es transformada mayoritariamente en ATP. Además de estos compuestos, las plantas son capaces de usar otros sustratos respiratorios como las proteínas y los ácidos grasos. La

energía obtenida a través de la respiración, almacenada en forma de ATP, es utilizada para el crecimiento de los órganos vegetales y de la planta, el mantenimiento de las estructuras existentes, el transporte de metabolitos e iones, la regeneración de proteínas y los procesos de reparación. Además de la síntesis de ATP, la respiración genera toda una serie de compuestos de carbono intermedios, que son precursores de gran parte de los compuestos presentes en las plantas.

En el siglo pasado se han producido importantes avances en el conocimiento de los procesos respiratorios en las plantas. Así, en 1912, H. Wieland demostró el papel del oxígeno en los procesos oxidativos. Otto H. Warburg, utilizando el respirómetro, que lleva su nombre, demostró que la asimilación de oxígeno es inhibida por CO_2 . En 1925, D. Keilin descubre la citocromo oxidasa. En 1935, G. Embden, O. Meyerhov e I. Parnas, descubrieron los productos más importantes de la glicólisis. H.A. Krebs, en 1937, publica el ciclo del ácido cítrico o Ciclo de Krebs, en animales, y dos años después A.C. Ibbell demuestra la presencia de dicho ciclo en las plantas. En 1939, H.M. Kalcar y B.A. Belitzer, descubren la fosforilación oxidativa, o síntesis de ATP acoplada a la cadena de transporte electrónico mitocondrial.

El conjunto de reacciones que conforman la respiración comprende la glucólisis, la vía de oxidación de las pentosas fosfato, el ciclo de los ácidos tricarbónicos, la oxidación del poder reductor (NADH) y la fosforilación oxidativa de ADP para la génesis de ATP.

Hoy sabemos que la actividad respiratoria de las plantas está regulada por factores internos y externos. Así, cambios en la temperatura ambiental produce la modificación de la actividad respiratoria, ya que se ven afectadas las actividades enzimáticas de las diferentes etapas de la respiración. Otros factores como la luz, heridas, estrés hídrico, metales pesados, la composición del aire, y la presencia de patógenos, también pueden modificar la actividad respiratoria de los diversos órganos vegetales.

FIJACIÓN BIOLÓGICA DE NITRÓGENO

El nitrógeno es uno de los elementos más abundantes en la naturaleza, estando presente en la atmósfera, en el suelo y en los restos de los seres vivos. El nitrógeno gas o dinitrógeno (N_2) es relativamente inerte, pero puede reaccionar con otros compuestos y convertirse en productos asimilables por las plantas y por otros organismos. La fijación biológica del N_2 desempeña un papel muy importante en la economía del nitrógeno en la práctica agrícola, y sustituye parte de los fertilizantes nitrogenados que la planta necesita.

La fijación biológica de N_2 es llevada a cabo por organismos procariontes, que poseen el complejo multienzimático nitrogenasa. Éste cataliza la reducción altamente endergónica de N_2 atmosférico a amonio en presencia de Mg, ATP y un donador de electrones. La nitrogenasa es muy sensible al O_2 por lo que los organismos diazotrofos fijan N_2 en ambientes anaerobios o, alternativamente, deben desarrollar estrategias para evitar el daño irreversible del complejo nitrogenasa.

Algunos diazotrofos sólo fijan N_2 en asociaciones simbióticas, entre las que destacan las formadas entre rizobios y leguminosas. La formación de estas simbiosis implica el intercambio de señales entre la planta y las bacterias, que culmina con la formación de una estructura tumoral, normalmente localizada en la raíz, denominada nódulo, donde se localizan los bacteroides. El nódulo proporciona a la nitrogenasa un entorno donde la concentración de O_2 está regulada por una resistencia variable en el córtex y la presencia de leghemoglobina en la zona central. El funcionamiento del nódulo depende del suministro de carbono, en forma de sacarosa, por parte de la planta. La sacarosa es metabolizada hasta ácidos dicarboxílicos que sirven de fuente energética a los bacteroides. El amonio fijado por éstos, es excretado al citosol de la célula huésped, que lo incorpora en forma de amidas o ureidos, los cuales son exportados al resto de la planta, que puede satisfacer así su requerimiento de nitrógeno, en ausencia de nitrógeno mineral en el suelo.

CRECIMIENTO Y DESARROLLO VEGETAL

El crecimiento y desarrollo son dos procesos interrelacionados que ocurren simultáneamente durante la ontogenia de cualquier ser vivo. El crecimiento representa una combinación de procesos fisiológicos y bioquímicos, a través de los cuales, se produce un incremento irreversible de volumen y de masa, causado por una expansión de las células, tejidos y órganos.

Las plantas, a diferencia de los animales, pueden crecer durante toda su vida debido a que los tejidos meristemáticos (apical, lateral, intercalar, etc.) se mantienen activos en los centros de crecimiento. Sin embargo este crecimiento se puede interrumpir por un cambio en las condiciones ambientales, como la duración del día, descensos de temperatura, por periodos de latencia o dormancia genéticamente programados.

El crecimiento está acompañado por un desarrollo caracterizado por la formación de nuevos órganos, que simultáneamente sufren cambios de tamaño, forma y estructura, a la vez que van adquiriendo nuevas funciones. Esos cambios se reflejan a nivel celular y molecular

determinados por la transición entre diferentes programas genéticos, como por ejemplo la inducción floral después del crecimiento vegetativo. El desarrollo de las plantas es dividido en cuatro periodos: embriogénico (del cigoto a la semilla madura), juvenil (hasta la formación de los órganos vegetativos), reproductivo (periodo de formación de semillas y frutos), y el de senescencia (comienza cuando finaliza el crecimiento del fruto y finaliza con la muerte del órgano y/o la planta).

El inicio y la regulación de las rutas de desarrollo conlleva: la expresión de genes que codifican factores de transcripción, por las comunicaciones célula a célula en las que estarían implicadas las hormonas vegetales. El análisis de mutantes con defectos específicos en el desarrollo de los meristemas, ha permitido el aislamiento de genes que regulan su función y organización. Algunos de estos genes mantienen las células iniciales y otros dirigen la diferenciación de las células derivadas. Las interacciones entre los dos grupos de genes son necesarias para mantener la organización de los meristemas.

Las plantas controlan sus programas fisiológicos con ayuda de las hormonas vegetales. Esos compuestos presentan una gran variedad en su estructura química y son sintetizados por las plantas, a bajas concentraciones, en tejidos especializados, y transportados, a lo largo de la planta, hasta los centros donde alterarán los procesos fisiológicos esenciales, de forma cualitativa y cuantitativa.

Todos estos conocimientos que se tienen sobre los procesos de crecimiento y desarrollo, derivan de las primeras investigaciones realizadas al inicio del siglo pasado. Así, en 1903, G. Krebs demostró el papel de los factores ambientales sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas. En 1920, U.U. Garner y G.A. Allard descubrieron el fenómeno del fotoperiodismo. N.G. Holodnâi y F. Vent, en 1926, propusieron la teoría hormonal sobre los tropismos. En 1934, F. Kogl y otros investigadores determinaron la estructura química de la auxina (ácido indolil-3-acético). En 1937, L.M. Chailakhian propuso la teoría hormonal del desarrollo vegetal. En 1946, H. Bortwick y otros investigadores demostraron la inducción floral por luz roja. A. Lang, en 1956, demostró la implicación de las giberelinas en la floración. En 1958, L.M. Chailakhian lanzó la hipótesis sobre la naturaleza dual del florigeno. En 1959, V.O. Kazarian estudió la correlación entre los procesos de senescencia de las hojas y las raíces.

HORMONAS VEGETALES

Las hormonas son señales químicas que facilitan la comunicación entre las células y coordinan sus actividades. El control de la respuesta hormonal se lleva a cabo a través de

cambios en la concentración y sensibilidad de los tejidos a las hormonas.

Las funciones de las hormonas vegetales se solapan ampliamente, por lo que la regulación hormonal del desarrollo de las plantas, debe contemplarse desde la perspectiva de una interacción entre los distintos grupos de hormonas. Las células responden a las señales hormonales, mediante un sistema de acoplamiento estímulo respuesta, que requiere el reconocimiento de la hormona por un receptor, y la utilización subsecuente de una serie de moléculas capaces de transmitir la señal que activará la respuesta. El conjunto constituye la denominada cadena de transducción de la señal hormonal. Los principales grupos de hormonas vegetales incluyen a las auxinas, giberelinas, citoquininas, etileno, ácido abscísico, poliaminas, jasmonato y brasinoesteroides.

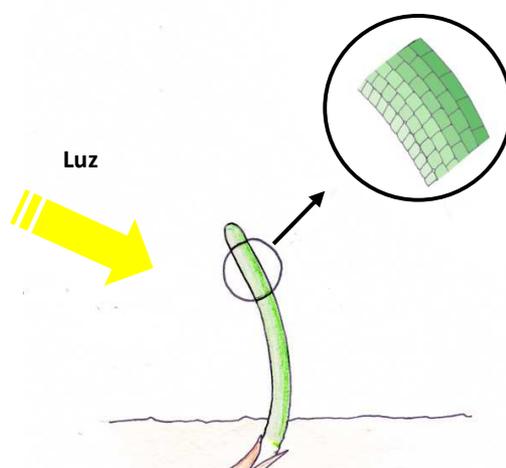


Figura 3. Fototropismo en coleótilo de avena.

Las observaciones sobre los tropismos permitieron el descubrimiento de las primeras hormonas vegetales, a las que se llamó auxinas. Su representante característico es el ácido indolil-3-acético (AIA), aunque existen otras auxinas naturales y sintéticas. La respuesta de la planta a la auxina depende de su concentración y de la sensibilidad de los tejidos frente a ella. El AIA es la hormona más importante implicada en la división celular, en la actividad del cambium y en la formación de nuevas raíces, al inducir verdaderos meristemas secundarios. Fisiológicamente, las auxinas desencadenan reacciones que estimulan el crecimiento vegetal e inhiben los procesos de senescencia. Tejidos ricos en auxinas estimulan el transporte de fotoasimilados condicionando la dominancia apical e inhibiendo el crecimiento de los brotes laterales. Está implicada en la formación de callos en los cultivos *in vitro* de tejidos vegetales, en el crecimiento de los frutos, en los tropismos y en las nastias.

Desde el punto de vista práctico, algunas auxinas sintéticas son utilizadas como herbicidas debido a su

capacidad para inhibir el crecimiento a altas concentraciones. Desde el punto de vista agronómico, son usadas para inducir el enraizamiento durante la propagación vegetativa y para inducir la partenocarpia en los frutos.

Las giberelinas (GAs) constituyen una amplia familia de diterpenos ácidos que regulan el crecimiento y desarrollo en los vegetales superiores. Fueron descubiertas por fitopatólogos japoneses que estudiaban en el arroz una enfermedad causada por el hongo *Gibberella fujikuroi*. En 1955, se aisló a partir del filtrado segregado por el hongo, el compuesto inductor del crecimiento desmedido del tallo, que se denominó ácido giberélico (giberelina A3 ó GA₃). Están implicadas tanto en la regulación del crecimiento de órganos vegetativos, en el control del crecimiento y desarrollo de numerosos frutos, adelanta la floración en plantas de día largo, determina cambios en el fotoperiodo, participa en la ruptura de la dormancia, y en la germinación de semillas. Así, durante la germinación de semilla de los cereales, las GAs regulan la expresión de α -amilasa, activando su transcripción en la capa de aleurona, para llevar a cabo la liberación de los azúcares inmovilizados en el endospermo de la semilla.

Las citoquininas son sustancias que promueven la división celular, y ejercen otras funciones reguladoras del desarrollo de las plantas, incluyendo la proliferación de yemas axilares, neoformación de órganos, desarrollo de cloroplastos y retraso en la senescencia. En la mayoría de estos procesos, las citoquininas actúan en concierto con otros estímulos hormonales y ambientales.

En relación al etileno, Cousins fue el primer investigador en sugerir la posibilidad de que fuera una sustancia volátil producida por los frutos maduros, la causante de que se acelerara la maduración de otros frutos próximos a ellos. Trabajos posteriores realizados en varios laboratorios llevaron a identificar esta sustancia como el etileno ($H_2C=CH_2$) y se la denominó hormona de la maduración. Neljubow (1901) comprobó que la emanación de etileno del gas de iluminación inducía en plántulas etioladas de guisante, la llamada "Respuesta triple": inhibición de la elongación; engrosamiento y cambio en la orientación del desarrollo del epicótilo.

El etileno afecta prácticamente a todas las etapas del desarrollo de las plantas, desde la germinación de las semillas hasta la senescencia, aunque muchos de estos procesos están regulados no sólo por los niveles de etileno sino también por el balance entre las distintas hormonas. Participa en germinación de semillas, diferenciación y desarrollo de tallos y raíces, crecimiento de plantas acuáticas, floración, abscisión de hojas y en maduración y senescencia de flores y frutos. Desde el punto de vista práctico, el etileno se utiliza para acelerar maduración y/o la desverdización de frutos.

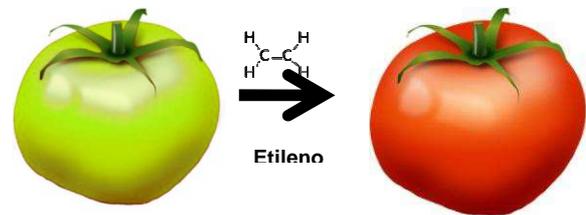


Figura 4. Efecto de etileno sobre la maduración de frutos climatéricos.

El ácido abscísico (ABA) es un regulador del desarrollo cuyos efectos están asociados a procesos relacionados con la inhibición del desarrollo, con las etapas finales del desarrollo de las plantas y con las respuestas a situaciones ambientales adversas. Se identificó y caracterizó químicamente por primera vez en 1963 por Adicot y colaboradores, cuando estudiaban el posible compuesto responsable de la abscisión de frutos jóvenes de algodón, y le denominaron "abscisina". En el mismo año Wareing descubrió una sustancia en las hojas de algunos árboles de hoja caduca, a la que denominó "dormina", que causaba inhibición del crecimiento e inducía al reposo. Pronto se vio que "dormina" y "abscisina" eran la misma sustancia y se denominó a este compuesto ácido abscísico (ABA).

Las poliaminas, el ácido jasmónico, y los brasinoestroides constituyen un grupo heterogéneo de compuestos, cuya aplicación produce efectos fisiológicos importantes en el crecimiento y el desarrollo de las plantas. Las poliaminas son un grupo de moléculas policatiónicas implicadas en procesos de morfogénesis, división celular, senescencia y estrés. Su actividad parece deberse a su capacidad antioxidante y estabilizadora de las membranas celulares. El ácido jasmónico afecta a diferentes procesos fisiológicos y participa en la transmisión de señales inducidas por las heridas y los patógenos. Los brasinoesteroides están implicados en el crecimiento, división, elongación y diferenciación celular, defensa contra patógenos, tolerancia frente al estrés y en la reproducción vegetal.

FOTOMORFOGÉNESIS, FOTOPERIODISMO Y VERNALIZACIÓN

El término fotomorfogénesis se refiere a los efectos determinantes que tiene la luz en el desarrollo vegetal y en el metabolismo celular. Las plantas reciben información de su ambiente luminoso gracias a la acción de tres grupos de fotorreceptores: los fitocromos (que perciben principalmente la luz roja y roja lejana), los criptocromos (fotorreceptores de luz azul) y los fotorreceptores de ultravioleta B. Los fitocromos son una familia de fotorreceptores codificados por genes divergentes, que poseen dos formas, Pr (forma en que son sintetizados) y Pfr. Se considera que Pfr es la forma activa que promueve la germinación de semillas al ser expuestas a la

luz, que mediatiza los cambios morfológicos y moleculares cuando las plántulas pasan de crecer en oscuridad a crecer con luz, y que inhibe el crecimiento del tallo y la dominancia apical, cuando no existen plantas vecinas cercanas. Los criptocromos cooperan con los fitocromos, al menos, en algunas de estas respuestas.

La ausencia de movilidad de las plantas y las características particulares de su desarrollo, hacen que la regulación del tiempo de floración sea de vital importancia para su éxito reproductivo. Después de una fase de crecimiento juvenil, durante la cual se forma el cuerpo vegetativo de la planta, la mayor parte de las especies dependen de factores ambientales que varían de forma regular a lo largo del año, como el fotoperiodo y las bajas temperaturas, para iniciar su desarrollo reproductivo. Se asegura así que la floración tenga lugar cuando las condiciones ambientales son las más propicias. La longitud del fotoperiodo se mide en las hojas mediante un mecanismo que depende de los fotorreceptores fitocromos y criptocromos. Las hojas generan una señal de naturaleza desconocida que se transmite al meristemo apical, donde se inicia el desarrollo floral. Entre las respuestas de las plantas reguladas por el fotoperiodo caben mencionar: floración, formación de tubérculos, inicio de la dormición, senescencia y la abscisión de hojas.

La vernalización es el proceso por el cual se promueve la floración tras un tratamiento frío dado a la semilla hidratada o a una planta en crecimiento. La respuesta a la vernalización podría tener lugar a nivel celular, sin embargo, su efecto sólo es observable en el meristemo apical, único órgano de la planta con capacidad para desarrollar una flor. La caracterización de variantes genéticas para el tiempo de floración está permitiendo identificar los determinantes genéticos responsables de estas respuestas y conocer los mecanismos moleculares responsables. Este mismo enfoque ha permitido identificar qué genes regulan la iniciación del meristemo floral y la identidad de los órganos florales durante el desarrollo de la flor.

LA BIOTECNOLOGÍA VEGETAL COMO HERRAMIENTA DE LA FISIOLÓGÍA VEGETAL

El desarrollo de las técnicas de cultivo *in vitro* y de la ingeniería genética de plantas ha dado origen a lo que hoy conocemos como Biotecnología Vegetal. En los últimos años, la Biotecnología Vegetal ha permitido, no sólo la mejora genética de las plantas, sino también conocer muchos de los genes implicados en los procesos de crecimiento y desarrollo vegetal, investigar los mecanismos que controlan su desarrollo y sus respuestas a factores de estrés biótico y abiótico.

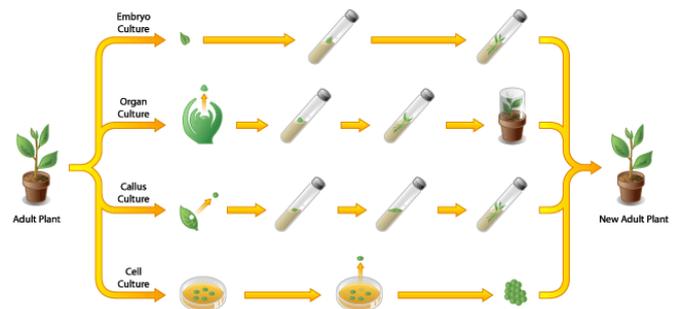


Figura 5. Distintas variantes de las técnicas de cultivo *in vitro* de plantas.

Todos estos avances científicos han sido posibles gracias al conocimiento del mecanismo de infección de las plantas por *Agrobacterium tumefaciens*, lo que ha sido esencial para la obtención de plantas transgénicas, y al desarrollo de genes marcadores que permiten reconocer y seleccionar las células transformadas. El primer gen marcador que se introdujo en células vegetales fue el gen de resistencia al antibiótico kanamicina. Esto permitió seleccionar las células transformadas y regenerar, a partir de ellas, plantas enteras, en medios de cultivo que contenía este antibiótico. El desarrollo de nuevos genes marcadores ha permitido disponer de dos alternativas para obtener plantas transgénicas: los genes marcadores de selección y los informadores.

Los marcadores de selección solo permiten el desarrollo de las células transformadas, al ser resistentes, por ejemplo, a un antibiótico o un herbicida. El gen marcador de selección más utilizado es el de la neomicina fosfotransferasa (*nptII*) que confiere resistencia a antibióticos como la kanamicina. Por otra parte, los marcadores informadores permiten distinguir las células transformadas de las no transformadas. Generalmente, los genes marcadores informadores codifican enzimas, de manera que cuando, el sustrato apropiado se añade al medio con las células vegetales, se produce una reacción en las células transformadas que permite identificarlas fácilmente. El más utilizado ha sido el gen de la β -glucuronidasa (*uidA*), aislado de *Escherichia coli*.

Para evitar el uso de *Agrobacterium* como medio de transformación, se han desarrollado técnicas de transformación genética directa, que introduce el DNA foráneo en el genoma de las células vegetales por métodos físicos. Los métodos físicos de transformación suelen ser muy útiles para realizar experimentos de expresión transitoria. Esta es la expresión del DNA foráneo que no se integra en el genoma de la célula vegetal pero que se expresa durante unos días antes de ser degradado por el ataque de nucleasas. Este tipo de experimentos permite realizar investigaciones sobre promotores, por ejemplo, sin necesidad de regenerar plantas transgénicas. Las células vegetales se pueden

transformar al dispararles microproyectiles, a alta velocidad, que tienen aglomerado el DNA foráneo. Este método de transformación fue publicado en 1987 por Klein y colaboradores, aplicándolo a la transformación de células gramíneas, como el trigo.

Los avances obtenidos en la producción de plantas transgénicas han permitido obtener individuos con mayor tolerancia a plagas y enfermedades, resistencia a herbicidas, mejora de la calidad nutritiva (retraso en el reblandecimiento del fruto, alteración en el contenido de ácidos grasos) y androesterilidad.

REFERENCIAS

Biochemistry and Molecular Biology of Plants (2015). B.B. Buchanan, W. Gruissem and R.L. Jones (Eds.). Wiley (2nd Edition).

Fisiología Vegetal (2006). L. Taiz y E. Zeiger. Ed. Universitat Jaume-I.

Fundamentos de Fisiología Vegetal (2008). 2ª ed. J. Azcón-Bieto y M. Talón. Ed. Interamericana. MacGraw-Hill.

Plant Biology (2010). Smith A.M. *et al.*, Ed. Garland Science

Plant Cell Biology (2009). R. Wayne. Ed. Elsevier.

Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action (2004). P.J. Davies. Ed. Kluwer Academic Publishers.

Plant Physiology (2014). L. Taiz, E. Zeiger, I.M. Moller and A. Murphy. Ed. Sinauer.

Plant growth and development: hormones and environment (2002). Srivastava, Lalit M. Ed. Academic Press.

The Molecular Life of Plants (2013). R. Jones, Oughan, H. Thomas y S. Waaland. ed. Wiley.