

LA HOMEOSTASIS DE LAS AUXINAS Y SU IMPORTANCIA EN EL DESARROLLO DE *ARABIDOPSIS THALIANA**

Adriana Garay-Arroyo^{1,2}, María de la Paz Sánchez¹, Berenice García-Ponce¹,
Elena R. Álvarez-Buylla¹, Crisanto Gutiérrez²

¹Laboratorio de Genética Molecular, Epigenética, Desarrollo y Evolución de Plantas, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, 3er Circuito Ext. Junto a J. Botánico, Ciudad Universitaria. UNAM. México D.F. 04510, México. ²Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CSIC-UAM), Nicolas Cabrera 1, Cantoblanco 28049, Madrid, España. Correo E: garay.adriana@gmail.com

RESUMEN

Las auxinas son hormonas que participan durante todo el ciclo de vida de las plantas y son particularmente interesantes ya que se distribuyen diferencialmente dentro de los tejidos lo que da lugar a diferentes procesos morfogénicos. Una pregunta relevante acerca de las mismas es: ¿cómo es que la misma molécula puede inducir proliferación, alargamiento y diferenciación en distintos momentos y tejidos durante el desarrollo? Los gradientes de auxinas se establecen, principalmente, por medio del transporte polar, la síntesis y la inactivación de formas bioactivas y la función de las mismas es el resultado de una regulación compleja que incluye: 1) La cantidad de auxina biológicamente activa dentro de los tejidos que esta dada por la expresión diferencial de los genes, tanto en tiempo como en espacio, que codifican para receptores, transportadores y aquellos que participan en la síntesis de las auxinas; 2) La capacidad de formar tanto homo como heterodímeros de las proteínas que participan en la vía de transducción de señales lo cual aumenta la combinatoria de las mismas y, por lo tanto, la regulación de la expresión genética en respuesta a auxinas; 3) La localización dinámica y polar dentro de la membrana plasmática de algunos de los transportadores de auxinas lo cual permite que el flujo de las mismas se ajuste a diferentes condiciones de crecimiento; 4) Finalmente, la cantidad libre de auxinas que se modifica por conjugación y por compartimentalización. La comprensión de como estos procesos se acoplan para dar una respuesta diferencial de células y tejidos es uno de los principales retos actuales en el desarrollo de las plantas.

ABSTRACT

Auxins are hormones involved during the life cycle of plants and they are especially interesting because they participate in multiple morphogenetic processes. One important question is, how the same molecule can induce proliferation, elongation and differentiation at different moments and tissues during development. In this respect, auxin gradients are established within the tissues mainly by polar transport and both synthesis and inactivation of the bioactive forms. Auxin function however, is the result of a complex regulation that includes: 1) Differential expression of genes encoding the enzymes involved in the synthesis of auxin, signalling proteins and transporters of this hormone; 2) Proteins that are involved in the signal transduction pathway; these proteins are capable of forming both homo and heterodimers which increases combinatorial formation and, therefore, the regulation of gene expression in response to auxin; 3) Some auxin carriers have dynamic and polar localization within the plasma membrane which allows flow of auxins to fit different growth conditions; 4) Finally, free auxin amount is modified by conjugation and compartmentalization. Understanding how these processes are coupled to give a differential response in cells and tissues, is one of the main challenges in the development of plants.

PALABRAS CLAVE:

Auxinas, *Arabidopsis thaliana*, morfogénesis, fitohormonas.

KEY WORDS:

Auxin, morphogenesis, *Arabidopsis thaliana*, phytohormones.

1. INTRODUCCIÓN

Las plantas, a diferencia de los animales, son organismos sésiles que han desarrollado mecanismos muy versátiles de plasticidad fenotípica para contender con las diferentes condiciones ambientales. El desarrollo y crecimiento de las plantas depende de factores externos e internos que varían constantemente y las hormonas, o fitohormonas, integran los estímulos externos para llevar a cabo las respuestas fisiológicas y de desarrollo. Las fitohormonas son sustancias de naturaleza química muy diversa que afectan la función de diferentes tipos celulares, tejidos u órganos. Actúan en concentraciones muy bajas y se sintetizan en diferentes lugares de la planta pudiendo ejercer su función en ese lugar o en algún otro (1). Existen diez fitohormonas caracterizadas hasta el momento: auxinas, citocininas (CK), giberelinas (GA), ácido abscísico (ABA), ácido salicílico (SA); poliaminas; ácido jasmónico (JA), brasinoesteroides (BR), etileno y estrigolactonas y algunas de éstas, como las auxinas, se han estudiado más extensivamente debido a su importancia durante el desarrollo vegetal.

Las auxinas participan en todos los procesos de desarrollo de las plantas (1) y, a nivel celular, intervienen en los procesos de división, elongación y diferenciación celular (2, 3). Una de las características más sobresalientes de esta fitohormona es que está distribuida diferencialmente entre células y tejidos; en algunos casos se acumula localmente en una célula o un grupo de células, en otros cambia su distribución entre células y, finalmente, también puede tener una distribución diferencial en los tejidos vegetales. Este gradiente de concentraciones de auxinas afecta diferentes procesos morfogénéticos, por lo que a esta hormona se le ha considerado como un "morfógeno" (1). La distribución diferencial de las auxinas o gradiente depende, principalmente, de su metabolismo y del transporte direccional célula-célula (1, 4, 5). Este gradiente de auxinas es percibido y procesado de manera diferente en cada tipo celular lo cual permite que se ejecuten variados programas de desarrollo tanto en el tiempo como en el espacio (6).

Los diferentes compuestos globalmente denominados auxinas, se caracterizan por su capacidad de provocar uno o varios fenómenos biológicos como son: inducir la elongación de tallos en bioensayos, promover la división celular en cultivos de callos en presencia de citocininas, y formar raíces adventicias en hojas y tallos cortados (7). El compuesto más abundante y fisiológicamente más importante, es el ácido 3-indol-acético (IAA)

que se encuentra en grandes cantidades en tejidos jóvenes tanto de la parte aérea como de la raíz en la planta modelo *Arabidopsis thaliana* (2, 3, 4). En esta revisión sintetizamos los principales resultados acerca del metabolismo, transporte, percepción y la vía de transducción de señales de las auxinas (principalmente del IAA), así como algunos ejemplos del papel de esta hormona en el desarrollo de *Arabidopsis thaliana* (*Arabidopsis* de aquí en adelante), ya que es el modelo experimental de plantas más estudiado.

2. METABOLISMO DE LAS AUXINAS

Las auxinas se sintetizan en todos los tejidos de la planta siendo los más jóvenes, los de mayor actividad (2, 3, 4). Hay dos vías principales de síntesis: una dependiente de triptófano (Trp) que tiene cuatro ramificaciones cuyos nombres se derivan de uno de los intermediarios más importantes de cada una de las vías (Fig. 1): el 3-indol acetamida (IAM), el 3-indol acetaldoxima (IAOx), la triptamina (TAM), y la del ácido 3-indol pirúvico (IPA) y otra independiente de triptófano pero que se deriva de un precursor del mismo (2,8,9) (Fig. 1). La regulación de estas vías sintéticas depende de estímulos externos como son la luz, los nutrientes, la sequía, el frío o la herida (9, 10) y de factores internos como son otras hormonas (11). Además, la transcripción de los genes que sintetizan las enzimas que participan en estas vías está regulada espacialmente (2, 9) lo que sugiere una regulación dinámica de la síntesis del IAA en el tiempo y en el espacio.

No se sabe mucho del catabolismo de las auxinas y, hasta el momento, no se han descrito los genes responsables de la degradación del IAA pero se propone que el catabolismo ocurre a través de la oxidación enzimática del núcleo del indol del IAA (formando ox-IAA o los conjugados de ox-IAA) (2), o a través de la descarboxilación oxidativa tanto de la cadena como del núcleo del IAA (5) (Fig. 1B). La vía de la descarboxilación es importante para procesos de desarrollo como la maduración del fruto (12) y en la respuesta a estrés oxidativo (13).

Los niveles intracelulares de IAA también se regulan por la conjugación de esta hormona con azúcares, aminoácidos y péptidos (Fig. 1B) y, en algunos casos, la concentración de estos conjugados supera la concentración intracelular de auxinas libres (14). Se ha propuesto que estos conjugados pueden funcionar de múltiples maneras: como fuente de almacenamiento, de transporte, de desintoxicación, de protección contra degradación por oxidación y en el control

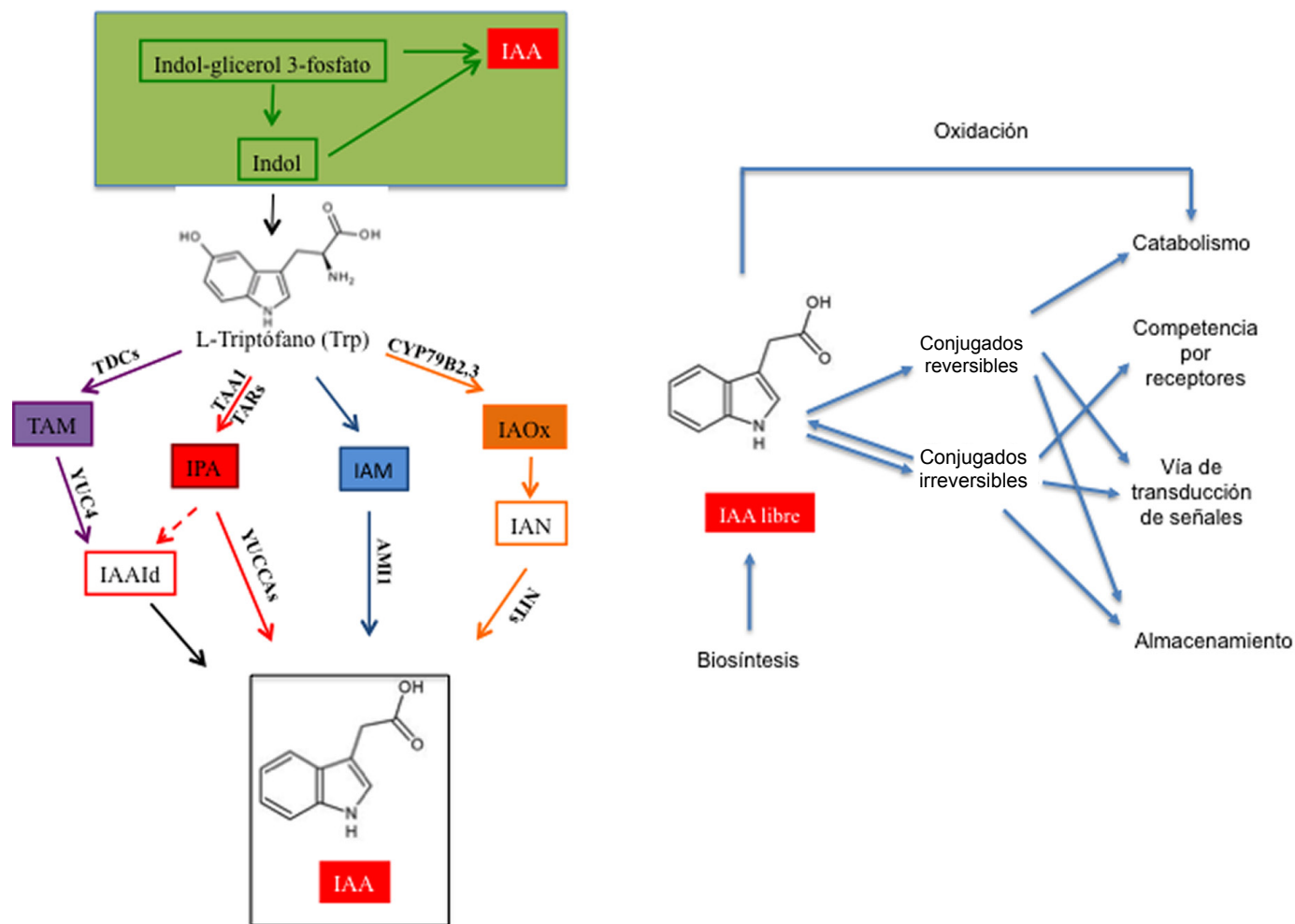


Figura 1. A) Vías de síntesis de IAA. Se muestran las cuatro vías dependientes de triptófano: en azul se presenta la vía de IAM (3-indol acetamida), en la cual participan las hidrolasas AMI1 que convierten el IAM a IAA; en anaranjado se presenta la vía IAOx (3-indol acetaldoxima), en esta vía participan las citocromo monooxigenasas (CYP79B2 y 3) para convertir el L-Triptófano en IAOx, en ésta vía se sugiere que las Nitrilasas (NITs) convierten el Indol-3-acetonitrilo (IAN) en IAA (35, 36); en rojo se presenta la vía de IPA (ácido 3-indol pirúvico), en la cual la triptófano aminotransferasa y las enzimas relacionadas 1 y 2 (TAA1 y TAR1 y 2) convierten el L-triptófano en IPA, el cual a su vez es convertido en IAA por YUCCA (YUC); en morado se presenta la vía TAM (triptamina), se sugiere que las triptófano descarboxilasas (TDCs) convierten el L-triptófano en TAM, el cual es convertido a Indol 3 acetaldehído (IAAId) mediante la acción de YUCCA 4 (YUC4) para generar IAA. Algunos autores indican que el IAAId es también un intermediario de la vía IPA, sin embargo hay controversias al respecto (2). **B) Vía de degradación y conjugación de IAA.** Las plantas usan diversos mecanismos para obtener IAA libre, además de la síntesis y la degradación (que se da principalmente por oxidación); esta la conjugación reversible que permite disponer de IAA libre de una manera rápida; en este caso funcionaría como un reservorio de IAA. Los conjugados pueden ser reversibles o irreversibles y afectar la unión a receptores por competencia y/o por la vía de transducción de señales.

de la homeostasis de la hormona (5, 9, 15). La formación e hidrólisis de estos conjugados está regulada durante el desarrollo y entre los diferentes tejidos de la planta y los conjugados más abundantes en *Arabidopsis* son los que se forman con aminoácidos (5, 6). Las formas conjugadas de IAA son generalmente inactivas, aunque se ha demostrado que algunas de estas formas son activas en bioensayos como es el caso del IAA-Trp (5) y otras son irreversibles, como es el caso de

IAA-Asp o el IAA-Glu (6). A pesar de que no se tiene claro hasta el momento la importancia biológica de estos compuestos se ha visto que, algunos de ellos como el IAA-Ala, inhiben la inducción del crecimiento del tallo y el inicio del crecimiento de las raíces mediado por IAA libre. Los conjugados podrían competir con la hormona libre por sitios en los receptores, en los transportadores y también podrían intervenir en el metabolismo, alterando el nivel de hormona biológicamente activa. Es

interesante que las enzimas involucradas en la síntesis y en la conjugación del IAA se localicen en diferentes compartimentos subcelulares (2) añadiendo otro nivel de complejidad a la acción de esta fitohormona.

Finalmente, el gradiente de concentraciones de auxinas afecta diferencialmente a los tejidos de las plantas: las auxinas promueven la elongación de los tallos en concentraciones de 10^{-6} - 10^{-5} M, mientras que, a estas mismas concentraciones, inhiben el crecimiento de la raíz (7). Esto puede deberse a múltiples factores, desde la percepción de la hormona hasta la inducción diferencial de genes mediada por la vía de transducción de señales. Interessantemente, se ha visto que la presencia ectópica de las auxinas es suficiente para modificar algunos programas de desarrollo.

3. TRANSPORTE DE AUXINAS

Existen dos maneras de transportar a las auxinas; uno rápido y de larga distancia, que se lleva a cabo por difusión en el floema y transporta a las auxinas de los órganos jóvenes de la parte aérea al resto de la planta y otro lento y de corta distancia que se da hacia adentro y hacia fuera de la célula y es llevado a cabo tanto por la acción de familias de transportadores de membrana como por difusión. El transporte de larga distancia es importante para todo el desarrollo de la planta y, mas específicamente, para el desarrollo de las raíces laterales y la ramificación del tallo, mientras que, el transporte de corta distancia es importante para múltiples procesos de desarrollo como son: la formación del eje embrionario, la respuesta a los tropismos, el desarrollo del tejido vascular, la filotaxia, la dominancia apical y la morfogénesis de la raíz, del fruto y de la flor (1, 16). Este último tipo de transporte (de corta distancia), se conoce como transporte polar o PAT por sus siglas en inglés Polar Auxin Transport (16).

El PAT requiere de la participación de varias familias de transportadores; estas proteínas están localizadas en las membranas y algunas meten (influjo; AUX y LAX) mientras que otras sacan (eflujo; PIN (PIN-FORMED) y ABCB (ATP-BINDING-CASSETTE B)) a las auxinas de la célula o de algún compartimento intracelular (1, 16).

Las proteínas AUX1/LAX pertenecen a una subfamilia de permeasas y actúan como simportadores de auxinas, gracias a un gradiente de protones (1, 16). AUX1 se localiza polarmente en las células del cilindro vascular de la raíz de *Arabidopsis* dándole direccionalidad al flujo de auxinas (18). Estos transportadores de influjo participan en diferentes procesos de desarrollo como son: el gravitropismo,

el fototropismo, la emergencia de raíces laterales y el desarrollo de pelos radicales (17, 18).

Existe otro transportador de influjo no específico de auxinas (NITRATE TRANSPORTER 1.1 (NRT1.1) que puede meter auxina a la célula en condiciones limitantes de nitrógeno (19).

Por otro lado, una de las dos familias que permiten el eflujo de las auxinas es la de las proteínas son los PIN (1, 16); en *Arabidopsis*, esta familia está constituida por ocho miembros, cinco de los cuáles se localizan en la membrana plasmática y determinan, en gran medida, la dirección y el flujo de las auxinas (Fig. 2) (1, 16). Dos de los otros tres PIN (PIN5 y PIN8) se localizan en el retículo endoplásmico y se ha demostrado que participan en la homeostasis de esta fitohormona (Fig. 2) (20, 21). Finalmente, se ha mostrado que PIN6 participa en la homeostasis de las auxinas y se infiere que se localiza en retículo endoplásmico, aunque no se ha demostrado experimentalmente (22). Recientemente, se han identificado otros transportadores de auxinas llamados PILS (PIN-Likes) que se cree funcionan en el transporte de IAA entre el citosol y el retículo endoplásmico (al igual que PIN5 y PIN8) participando en la homeostasis del IAA (Fig. 2) (2).

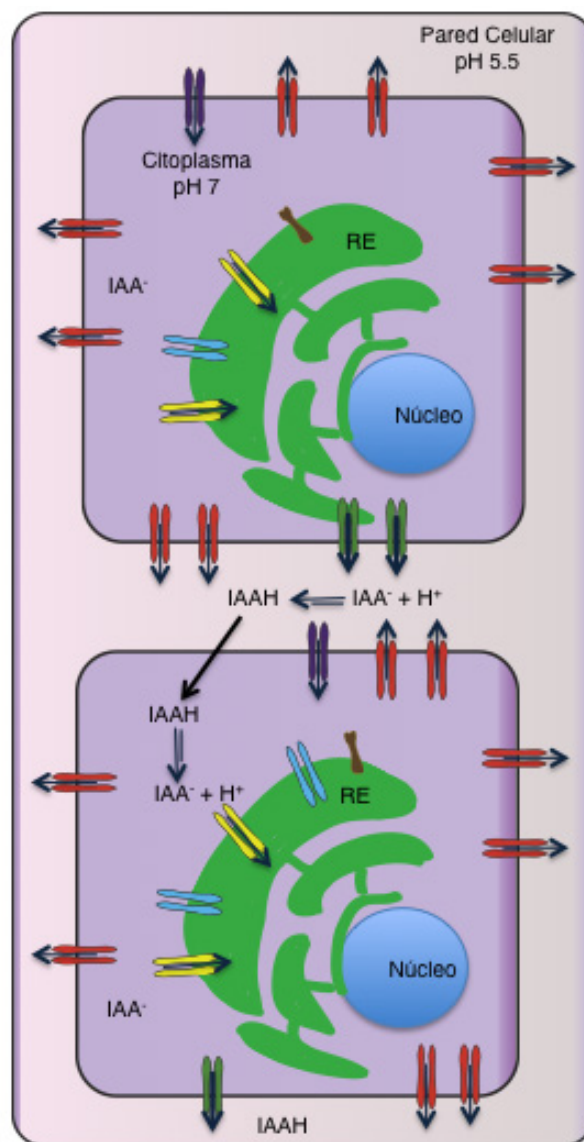
Aún cuando los PINs se secretan de manera uniforme a la membrana plasmática se localizan polarmente dentro de la misma y se ha propuesto que la endocitosis y el reciclamiento son los encargados de establecer esta polaridad (3). La localización polar de algunos de los PINs también depende del estado de fosforilación de estas proteínas; cuando éstas están fosforiladas se dirigen a la parte apical de la célula y cuando no están fosforiladas se localizan en la parte basal (1). Se han caracterizado diferentes proteínas cinasas (como PINOID; PID) y proteínas fosfatasa (como PROTEIN PHOSPHATASE 2A (PP2A)) que participan en la localización polar de los PINs (23).

Se ha reportado que las auxinas regulan de diferentes maneras a los PINs; por un lado afectan positivamente su transcripción (24) pero también pueden afectar de manera negativa la acumulación de algunas proteínas PIN si se encuentran en altas concentraciones y cuando se trata a las plantas con auxinas por períodos prolongados de tiempo (24). También se ha visto que las auxinas inhiben la endocitosis de los PINs y estabilizan a estas proteínas en la membrana plasmática de manera transitoria (1). Esta regulación a diferentes niveles sugiere una regulación fina entre las auxinas y sus transportadores de eflujo lo cual enfatiza la importancia del transporte en la función biológica de las auxinas.

El transportador de cationes, TINY ROOT HAIR 1 (TRH1) transporta potasio y auxinas además de

Figura 2. Transporte de las auxinas. Las diferencias de pH entre el citoplasma y la pared celular permiten el transporte del IAA debido a que es un ácido débil. En citoplasma (pH~7), el IAA está en forma aniónica (IAA^-), mientras que en el apoplasto (pH~5) el IAA está protonado en forma de IAAH , el cual puede transitar a través de la membrana plasmática hasta el citoplasma. El transporte del IAA de manera específica se da a través de los transportadores de eflujo (PIN 1, 2, 3, 4 y 7 (verde) y ABCB (rojo)) y a través de los transportadores de influjo (AUX1/LAX (Morado)) que se localizan dentro de la membrana plasmática. Para el transporte en el retículo endoplásmico participan PIN5 (amarillo), PIN6 y 8 (Azul) y PILs (Café).

-  Transportadores de eflujo PIN1,2,3,4 y 7
-  Transportadores de eflujo ABCB
-  Transportadores de influjo AUX1/LAX
-  PIN6 y 8
-  PIN5
-  PILs



funcionar como una proteína que regula la localización de PIN1 en la membrana plasmática (25).

La otra familia de transportadores de eflujo del IAA son los llamados transportadores ABCB que pertenecen a la familia de proteínas con *cassette* ABC, también conocidos como "multidrug resistant proteins" o "P-glycoproteins" (MDR-PGPs) (Fig. 2). Estas proteínas no se localizan polarmente en la membrana plasmática pero algunas de ellas, como ABCB19, co-localizan con PIN1 e incrementan la especificidad y el transporte de auxinas (1). Las ABCB funcionan, principalmente, en mantener el flujo de larga distancia y en el movimiento de las auxinas hacia afuera de los tejidos apicales (26).

Finalmente, hay un flujo de auxinas que se cree se debe al gradiente de pH que se establece entre el apoplasto y el interior de la célula. Las auxinas son ácidos pequeños y débiles ($\text{pK}_a = 4.75$) que se pueden protonar ($\text{IAA}^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{IAAH}$) en un

ambiente ácido (pH 5.0-5.5) como es el que existe en el apoplasto. La auxina protonada (IAAH) puede difundir a través de la membrana plasmática y la pared celular y, la diferencia de pH, favorece su difusión hacia el interior de la célula (1,2). En el citosol hay un pH de aproximadamente 7.0 lo cual favorece que las auxinas estén como anión (IAA^-) y que no puedan difundir libremente por lo que requieren de transportadores específicos de salida de la célula (Fig. 2) (1,2).

4. RECEPTORES Y SEÑALIZACIÓN DE LAS AUXINAS

Las auxinas son percibidas por dos tipos de familias de proteínas que funcionan como receptores: unas se localizan tanto en la membrana plasmática como en el retículo endoplásmico (ABP1; AUXIN BINDING PROTEIN 1) y otras que se localizan en

el núcleo (TIR1/auxin-signaling F box proteins (AFBs)) (2, 3, 6). Dentro de la familia de los ABP, ABP1 es una proteína esencial ya que su mutación es letal en la etapa embrionaria (4); este transportador es importante durante la división y elongación celular y durante el desarrollo embrionario (revisado en 3,6). Por otro lado, los receptores TIR/AFBs están involucrados en procesos como el alargamiento del hipocotilo y la formación de las raíces laterales (27) y se ha demostrado que TIR1 y AFB2 son reguladores positivos de la respuesta a auxinas mientras que AFB4 es un regulador negativo (27).

Una vez que las auxinas entran en la célula, desencadenan una serie de procesos que terminan en la regulación de la expresión de genes blanco de respuesta a auxinas (1, 2, 6). Esta vía de señalización involucra a dos familias de proteínas: las Auxin/INDOLE-3-ACETIC ACID (Aux/IAA) y las Auxin Response Factor (ARF). En *Arabidopsis*, ambas familias son multigénicas existiendo 29 Aux/IAA y 23 ARF (6). Los miembros de estas dos familias forman dímeros con una alta afinidad con miembros de las dos familias (1) y la auxina es la responsable de regular estas interacciones proteicas de dos maneras. Por un lado, regula de manera positiva la transcripción de los genes que codifican para las proteínas represoras IAA y, por otro lado, promueve la degradación de estos represores Aux/IAA mediante la ubiquitinación y proteólisis de los mismos (1, 2, 6). El mecanismo propuesto para la degradación de las Aux/IAA es el siguiente: en condiciones de baja concentración de la hormona, las proteínas represoras Aux/IAA forman dímeros con las proteínas ARF e impiden su acción como factores transcripcionales (1, 2, 6). Una vez que se incrementa la concentración de IAA (Kd ~20–80 nM), esta fitohormona se une a alguno de los cuatro receptores nucleares (TIR1/AFB) que son proteínas con caja F que, junto con otras proteínas (ASK1, CUL1 y RBX), forman un complejo de ubiquitinación ($SCF^{TIR1/AFB}$) que reconoce -y degrada- a los represores de la vía de las auxinas (Aux/IAA) vía el proteosoma 26S (1) (Fig. 3). Una vez que los ARFs están libres por no estar unidos a sus represores Aux/IAA, forman homodímeros estables que activan o reprimen la expresión de los genes blanco uniéndose a la caja Auxin Response Element (ARE) de los mismos (1, 2, 6).

Las proteínas de estas dos familias tienen una estructura con cuatro dominios. En el caso de las Aux/IAA el primer dominio, en el extremo amino terminal, tiene un motivo denominado EAR (1) que es esencial para su papel represor. El dominio II

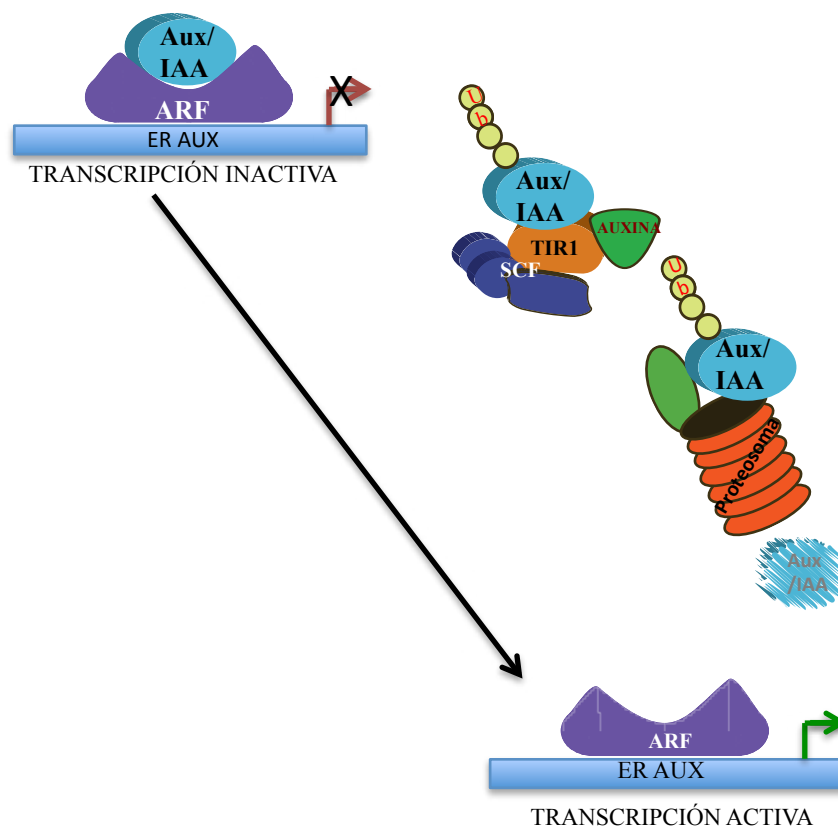
es esencial para la degradación de estas proteínas mediada por las auxinas (1, 2, 6) y los últimos dos dominios (III y IV) son esenciales para las interacciones proteína-proteína, tanto con los ARFs como con otras proteínas que funcionan como reguladores transcripcionales (1, 2, 6).

Los ARFs poseen un dominio de unión a DNA pero algunos de ellos (ARF3, ARF13 y ARF17) carecen del dominio carboxilo terminal que es importante para las interacciones proteína-proteína y, por lo tanto, no están regulados por la cantidad de auxinas presentes en la célula (28). Los ARFs pueden ser tanto activadores como represores de la transcripción; si presentan una región a la mitad de la proteína que sea rica en Glu/Ser/Leu (QSL) actúan como activadores, mientras que si presentan un dominio rico en Ser/Pro/Gli actúan como represores (1). Al igual que las proteínas Aux/IAA, los dominios III y IV son los importantes para que se lleven a cabo las interacciones protéicas y son los responsables de las interacciones dentro y entre familias (1, 2, 6). Curiosamente sólo 5 de los miembros de esta familia tienen el dominio de activación por lo que, la mayor parte de los ARFs, funcionan como represores.

Genes blanco de las auxinas

Los genes inducidos por la hormona IAA se dividen en aquéllos de respuesta temprana (que se inducen entre los 5 y 60 minutos del tratamiento con la hormona) y aquéllos de respuesta tardía. Los genes de respuesta temprana son: SAUR (Small Auxin Up RNA), GH3, LBD (LOB domain) y los Aux/IAA. Los SAUR son genes cuyos transcritos tienen una vida corta y no está clara cual es su función (28); los GH3 codifican para enzimas que conjugan al IAA con aminoácidos con lo cual funcionan como reguladores negativos de los niveles de auxina libre (3) y, finalmente, los Aux/IAA son casi todos regulados positivamente por esta fitohormona y ayudan en la respuesta intracelular a la misma. Éstas moléculas son también proteínas de vida corta, y sus niveles de inducción por auxinas varía entre cada miembro de las diferentes familias. Recientemente, ha habido un incremento en los datos de los genes que responden a auxinas debido a los análisis de microarreglos de respuesta de genes a diferentes condiciones ambientales y se ha descrito que hay cientos de genes involucrados en la respuesta a auxinas. Aunque se desconoce la función exacta de muchos de estos genes, varios de ellos están involucrados en la conjugación, en la degradación de la auxina o en disminuir la señal inducida por esta hormona (29).

Figura 3. Degradación de los represores transcripcionales Aux/IAA. Aux/IAA normalmente reprime la acción de los ARF, cuando se incrementa la concentración de auxinas, ésta se une a los receptores TIR1/AFB para formar el complejo de degradación SCF^{TIR1/AFB} lo que promueve la degradación de Aux/IAA vía el proteosoma. De esta manera quedan libres los ARF para regular la transcripción de los genes que tienen en sus regiones reguladoras Elementos de Respuesta a Auxinas (ARE por sus siglas en inglés Auxin Response Elements).



5. OTROS TIPOS DE AUXINAS

La auxina biológica más activa que se conoce es el IAA aunque ya se han identificado otras formas de auxinas presentes en plantas como son el ácido indol-3-butírico (IBA), el ácido fenilacético (PAA) y la forma clorada del IAA en chícharo (4-Cl-IAA) (3, 7). Después del descubrimiento del IAA, se han sintetizado muchos compuestos que tienen actividad de auxinas y que han sido utilizados como herbicidas (ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético (2,4,5-T), ácido 4-amino-3,5,6-tricloro-2-picolínico (picloram) y ácido 2-metoxi, 3,6-dicloro benzoico (dicamba)) o como enraizadores en cultivos de tejidos (como el ácido α -naftalenacético (α -NAA)). Estos compuestos han resultado muy útiles debido al hecho de que son más estables (2,4-D y α -NAA), tienen mayor difusión hacia dentro de las células (α -NAA) o a que se metabolizan mas lentamente (2,4-D) que el IAA (2, 3, 6, 7) aunque es importante notar que son muy tóxicos para el ser humano.

6. LAS AUXINAS DURANTE EL DESARROLLO DE ARABIDOPSIS THALIANA

El IAA es fundamental para diversos procesos morfogénéticos y casi todos los tejidos de la planta

tienen la capacidad para sintetizarlo en diferentes momentos, por lo que, durante el desarrollo, pueden funcionar como vertedero o como fuente de esta hormona (2). Durante el desarrollo embrionario, se forma un gradiente de auxinas después de la primera división celular que permite el establecimiento de la célula apical, del nicho de células troncales de la raíz y de la polaridad del embrión. En el desarrollo post-embrionario las auxinas participan en el establecimiento y la formación de las hojas, las flores y las raíces (Fig. 4). Durante la formación de las hojas, la auxina presente en el meristemo apical, es redirigida hacia los primordios. En las hojas, las auxinas inducen la formación y el desarrollo del tejido vascular (2, 6). La distribución regular de las hojas como el de las flores a lo largo de la planta o filotaxis, está determinado por los máximos de auxinas dado por la localización polar de transportadores como PIN1 y AUX1; estos máximos van a dar lugar a los primordios de estos órganos (31). En raíz, la localización de los PINs establece un flujo circular de distribución del IAA que ayuda a determinar las diferentes zonas de crecimiento de la raíz (24) (Fig. 4). En la zona de proliferación hay una alta concentración de auxinas que tiene que disminuir para que las células transiten a la zona de diferenciación (30). Además, esta distribución de los PINs puede cambiar dependiendo de diferentes

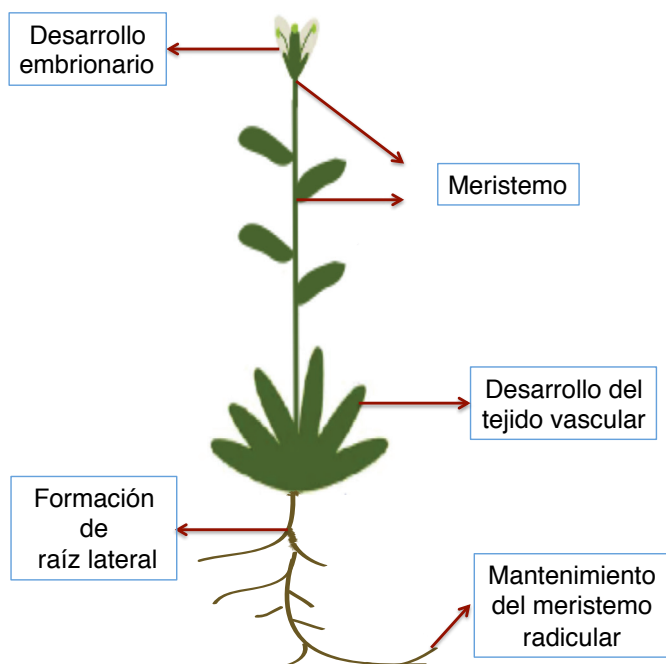


Figura 4. Las auxinas afectan diversos procesos del desarrollo de *Arabidopsis thaliana*.

condiciones ambientales. En condiciones normales PIN3 y PIN7 se localizan alrededor de todas las células de la columela y, en condiciones de gravitropismo, PIN3 se relocaliza hacia la parte basal de las células modulando el flujo de auxinas y, por lo tanto, la respuesta fisiológica (1) ayudando a que se reoriente la raíz.

Las raíces de *Arabidopsis* presenta una estructura simple que comprende la epidermis, el cortex, la endodermis que rodea al periciclo y mas adentro la vasculatura. El periciclo se compone de dos tipos de células, las que están enfrente de las células del floema que son células diferenciadas y las células enfrente del xilema que son células meristemáticas. De forma interesante, el desarrollo de las raíces laterales, que se distribuyen a la derecha e izquierda de la raíz principal de forma alternada, está controlado por un reloj interno que genera la expresión periódica de genes, algunos de los cuales son importantes en la señalización de las auxinas como *LBD16* (*LATERAL ORGAN BOUNDARIES DOMAIN 16*) y *ARF7* (32). Mas importante aún, las oscilaciones en la respuesta a las auxinas en las células del protoxilema de la zona que se le ha llamado de oscilación, inducen que las células meristemáticas aledañas al periciclo queden pre-determinadas como células fundadoras de raíces laterales en etapas posteriores del desarrollo de la raíz principal (33). Estos máximos de la hormona en la fila de células del periciclo que lleva a

la iniciación de las raíces laterales, pueden estar dados por un conjunto de eventos que incluyen: la producción local de auxinas, un transporte polar desde las células de la endodermis en el que PIN3 y AUX1 participan y por el transporte a larga distancia que viene desde la parte aérea y/o la punta de la raíz (34)

6. CONCLUSIONES

La participación de las auxinas en diferentes procesos de desarrollo es muy compleja y todavía no queda claro como una misma hormona puede lograr respuestas tan diversas. Sin embargo, se sabe que las diferentes respuestas van a estar determinadas por la concentración de las auxinas, la percepción, el transporte, la sensibilidad del tipo celular y/o tejido y el estado de desarrollo de la planta. A continuación enumeramos varios puntos de control que determinan la cantidad de hormona biológicamente activa en diferentes tejidos y la respuesta a las mismas:

- 1) La cantidad de la hormona biológicamente activa está regulada por el metabolismo (síntesis y degradación) y por la conjugación. La vía de síntesis de L-Trp se localiza en los plástidos, mientras que las vías de síntesis de L-Trp a IAA se localizan en el citoplasma (2). Además, como se indicó anteriormente, los genes que codifican para las enzimas que participan en la síntesis de auxinas se regulan diferencialmente en los tejidos. Por otro lado, se ha visto que en diferentes especies de plantas, los tejidos tienen distintos perfiles de conjugados de IAA; en musgos, estos conjugados son menos abundantes que en plantas vasculares, sugiriendo la participación de los mismos en la complejidad de las plantas vasculares.
- 2) El transporte polar de las auxinas es fundamental para formar diferentes patrones de desarrollo dentro de la planta. En toda la raíz de *Arabidopsis* se sintetiza IAA, sin embargo hay un pico de síntesis en el centro quiescente (CQ). Esto, aunado al transporte polar ápico-basal, genera un gradiente de auxinas que es fundamental para los procesos de proliferación y diferenciación en este órgano.
- 3) La presencia de múltiples sitios de percepción de las auxinas (membrana plasmática, citoplasma y retículo endoplásmico) nos sugiere la versatilidad de la hormona al poder ejecutar diferentes respuestas de desarrollo dependiendo del tipo de receptor utilizado.
- 4) Puede existir especificidad en la sensibilidad y/o respuesta a las auxinas de los diferentes tejidos

dependiendo de la combinatoria que forman las proteínas que participan en la vía de transducción de señales. Se pueden formar tanto homo- como heterodímeros entre los Aux/IAA (29) y los ARFs (23) ampliando la respuesta en la vía de transducción de señales de las auxinas y, por lo tanto, la respuesta biológica.

- 5) La interacción con otras hormonas. A través del estudio de mutantes de pérdida de función se ha demostrado que la acción de las auxinas en ciertos tejidos depende de su interacción con otras hormonas. En el meristemo de la raíz niveles elevados de auxinas mantiene la actividad meristemática promoviendo la división celular; sin embargo, en la zona de diferenciación las CKs reprimen el transporte y la señalización de las auxinas bajando sus niveles y permitiendo que en esta zona se lleve a cabo la diferenciación. Asimismo, las auxinas regulan la biosíntesis de GA y en conjunto, estas dos hormonas afectan

de manera determinante el crecimiento de la planta. Finalmente, se han reportado interacciones de las auxinas con otras hormonas como BR, ABA y etileno. Estas interacciones también contribuyen a la regulación de las respuestas de las auxinas.

El gran reto en el conocimiento de la función de las auxinas en el desarrollo de las plantas, será integrar con modelos dinámicos toda esta información y tratar de entender como emergen los gradientes de esta hormona y como las distintas concentraciones de auxinas se traducen en diferentes procesos morfogénicos.

Apoyos: CONACyT: 180098, 81542, 167705, 152649, 105678 y DGAPAUNAM: IN203214-3, IN229009-3, IB201212, IN203113, IN203814. UC Mexus: ECO-IE415, ECO-IE416.

Investigación financiada por proyecto BFU2012-34821 (MINECO) a C.G. y una ayuda institucional de la fundación Ramón Aceres al CBMSO. 

REFERENCIAS

- Vanneste S, Friml J (2009) Auxin: a trigger for change in plant development. *Cell* 136:1005-1016.
- Ljung K (2013) Auxin metabolism and homeostasis during plant development. *Development* 140:943-950.
- Sauer M, Robert S, Kleine-Vehn J (2013) Auxin: simply complicated. *J Exp Bot* 64:2565-2577.
- Tanaka H, Dhonukshe P, Brewer PB, Friml J (2006) Spatiotemporal asymmetric auxin distribution: a means to coordinate plant development. *Cell Mol Life Sci* 63:2738-2754.
- Normanly J (2010) Approaching cellular and molecular resolution of auxin biosynthesis and metabolism. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2:a001594:1-19.
- Finet C, Jaillais Y (2012) Auxology: when auxin meets plant evo-devo. *Dev Biol* 369:19-31.
- Taiz L, Zeiger E (2002) *Fisiología Vegetal* (volumen 2) Synauer Associates Inc Barcelona, España ISBN 978-84-8021-601-2. 1338 pp.
- Tomas A, Perrot-Rechenmann C (2010) Recent progress in auxin biology. *C R Biol* 333:297-306.
- Woodward AW, Bartel B (2005) Auxin: regulation, action, and interaction. *Ann Bot* 95:707-735.
- Tao Y, Ferrer JL, Ljung K, Pojer F, Hong F, Long JA, Li L, Moreno JE, Bowman ME, Ivans LJ, Cheng Y, Lim J, Zhao Y, Ballaré CL, Sandberg G, Noel JP, Chory J (2008) Rapid synthesis of auxin via a new tryptophan-dependent pathway is required for shade avoidance in plants. *Cell* 133:164-176.
- Stepanova AN, Robertson-Hoyt J, Yun J, Benavente LM, Xie DY, Dolezal K, Schlereth A, Jürgens G, Alonso JM (2008) TAA1-mediated auxin biosynthesis is essential for hormone crosstalk and plant development. *Cell* 133:177-191.
- Purgatto E, Lajolo FM, do Nascimento JR, Cordenunsi BR (2001) Inhibition of beta-amylase activity, starch degradation and sucrose formation by indole-3-acetic acid during banana ripening. *Planta* 212:823-828.
- Chaoui A, El Ferjani E (2005) Effects of cadmium and copper on antioxidant capacities, lignification and auxin degradation in leaves of pea (*Pisum sativum* L.) seedlings. *C R Biol* 328:23-31.
- Normanly J (1997) Auxin metabolism. *Physiol Plant* 100:431-442.
- Bajguz A, Piotrowska A (2009) Conjugates of auxin and cytokinin. *Phytochemistry* 70:957-969.

16. Robert HS, Friml J (2009) Auxin and other signals on the move in plants. *Nat Chem Biol* 5:325-332.
17. Swarup R, Péret B (2012) AUX/LAX family of auxin influx carriers-an overview. *Front Plant Sci* 3:1-11.
18. Swarup R, Wells D, Bennett MJ (2013) Root gravitropism In: *Roots: The Hidden half IV* Edition. Editor: Eshel A & Beeckman T CRC Press. Londres, Inglaterra. 848pp.
19. Krouk G, Lacombe B, Bielach A, Perrine-Walker F, Malinska K, Mounier E, Hoyerova K, Tillard P, Leon S, Ljung K, Zazimalova E, Benkova E, Nacry P, Gojon A (2010) Nitrate-regulated auxin transport by NRT1.1 defines a mechanism for nutrient sensing in plants. *Dev Cell* 18:927-937.
20. Mravec J, Skůpa P, Bailly A, Hoyerová K, Krecek P, Bielach A, Petrášek J, Zhang J, Gaykova V, Stierhof YD, Dobrev PI, Schwarzerová K, Rolčík J, Seifertová D, Luschnig C, Benková E, Zazimalová E, Geisler M, Friml J (2009) Subcellular homeostasis of phytohormone auxin is mediated by the ER-localized PIN5 transporter. *Nature* 459:1136-1140.
21. Ding Z, Wang B, Moreno I, Dupláková N, Simon S, Carraro N, Reemmer J, Pěňčík A, Chen X, Tejos R, Skůpa P, Pollmann S, Mravec J, Petrášek J, Zazimalová E, Honys D, Rolčík J, Murphy A, Orellana A, Geisler M, Friml J (2012) ER-localized auxin transporter PIN8 regulates auxin homeostasis and male gametophyte development in Arabidopsis. *Nat Commun* 3:1-9.
22. Cazzonelli CI, Vanstraelen M, Simon S, Yin K, Carron-Arthur A, Nisar N, Tarle G, Cuttriss AJ, Searle IR, Benkova E, Mathesius U, Masle J, Friml J, Pogson BJ (2013) Role of the Arabidopsis PIN6 auxin transporter in auxin homeostasis and auxin-mediated development. *PLoS One*. 8:e70069 1-14.
23. Löffke C, Luschnig C, Kleine-Vehn J (2013) Posttranslational modification and trafficking of PIN auxin efflux carriers. *Mech Dev* 130:82-94.
24. Vieten A, Vanneste S, Wisniewska J, Benková E, Benjamins R, Beeckman T, Luschnig C, Friml J (2005) Functional redundancy of PIN proteins is accompanied by auxin-dependent cross-regulation of PIN expression. *Development* 132:4521-4531.
25. Rigas S, Ditengou FA, Ljung K, Daras G, Tietz O, Palme K, Hatzopoulos P (2013) Root gravitropism and root hair development constitute coupled developmental responses regulated by auxin homeostasis in the Arabidopsis root apex. *New Phytol* 197:1130-1141.
26. Bandyopadhyay A, Blakeslee JJ, Lee OR, Mravec J, Sauer M, Titapiwatanakun B, Makam SN, Bouchard R, Geisler M, Martinoia E, Friml J, Peer WA, Murphy AS (2007) Interactions of PIN and PGP auxin transport mechanisms. *Biochem Soc Trans* 35:137-141.
27. Greenham K, Santner A, Castillejo C, Mooney S, Sairanen I, Ljung K, Estelle M. (2011) The AFB4 auxin receptor is a negative regulator of auxin signaling in seedlings. *Curr Biol*. 21:520-525.
28. Paponov IA, Teale W, Lang D, Paponov M, Reski R, Rensing SA, Palme K (2009) The evolution of nuclear auxin signaling. *BMC Evol Biol* 9:1-16.
29. Bargmann BO, Vanneste S, Krouk G, Nawy T, Efroni I, Shani E, Choe G, Friml J, Bergmann DC, Estelle M, Birnbaum KD (2013) A map of cell type-specific auxin responses. *Mol Syst Biol* 9:1-13.
30. Garay-Arroyo A, De La Paz Sánchez M, García-Ponce B, Azpeitia E, Alvarez-Buylla ER (2012) Hormone symphony during root growth and development. *Dev Dyn* 241:1867-1885.
31. Reinhardt D, Pesce ER, Stieger P, Mandel T, Baltensperger K, Bennett M, Traas J, Friml J & Kuhlemeier C. (2003) Regulation of phyllotaxis by polar auxin transport. *Nature* 426: 255-260.
32. Moreno-Risueño MA, Van Norman JM, Moreno A, Zhang J, Shnert SE, Benfey PN (2010) Oscillating Gene Expression Determines Competence for Periodic Arabidopsis Root Branching. *Science* 329: 1306-1311.
33. Lavenus J, Goh T, Roberts I, Guyomarc'h S, Lucas M, De Smet I, Fukaki H, Beeckman T, Bennett M, Laplace L (2013) Lateral root development in Arabidopsis: fifty shades of auxin. *Trends in Plant Science* 18: 450-458.
34. Laskowski M (2013) Lateral root initiation is a probabilistic event whose frequency is set by fluctuating levels of auxin response. *J Exp Bot* 64: 2609-2017.
35. Park WJ, Kriebbaum V, Möller A, Piotrowski M, Meeley RB, Gierl A, Glawischmig E (2003) The Nitrilase ZmNIT2 converts indole-3-acetonitrile to indole-3-acetic acid. *Plant Physiol* 133:794-802.
36. Normanly J, Grisafi P, Fink GR, Bartel B (1997) Arabidopsis mutants resistant to the auxin effects of indole-3-acetonitrile are defective in the nitrilase encoded by the NIT1 gene. *Plant Cell* 9:1781-90.