

ARTÍCULO DE REVISIÓN
Las ROP GTPasas en
las interacciones
plantas-microorganismos

plantas-microorganismos

ARTÍCULO DE REVISIÓN

LAS ROP GTPASAS EN LAS INTERACCIONES PLANTAS-MICROORGANISMOS

Ivette García-Soto (1,2), Mario Serrano*(1)

(1) Centro de Ciencias Genómicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Morelos, México.

(2) Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Bioquímicas. Universidad Nacional Autónoma de México.

Autor de correspondencia E: serrano@cgc.unam.mx

Correo E: ivette.garcia@ibt.unam.mx

RESUMEN

Las plantas se encuentran en constante interacción con diversos microorganismos del medioambiente. La correcta detección y activación de la señalización inducida por los microorganismos en las plantas, conduce a la inducción de mecanismos moleculares que las ayudan a discernir entre las interacciones positivas o negativas. Las proteínas GTPasas pequeñas son parte de este mecanismo de transducción de señales. Durante la interacción planta-microorganismos las ROP GTPasas reciben señales de los receptores transmembranales y activan efectores moleculares que permiten a la planta establecer el tipo de relación que establecerán con los microorganismos. Estas proteínas son consideradas como interruptores moleculares y están involucradas en funciones celulares como tráfico vesicular, señalización, rearrreglo del citoesqueleto, transporte nuclear, crecimiento polar, expresión genética y regulación hormonal. En esta revisión, describimos la información más reciente sobre el mecanismo de acción de las ROPs GTPasas, así como su papel en las interacciones planta-microorganismos.

PALABRAS CLAVE

ROP GTPasas,
simbiosis,
patogénesis,
plantas

ABSTRACT

Plants are in constant interaction with multiple microorganisms in the environment. The proper perception and activation of microbe-induced signaling in plants leads to the induction of molecular mechanisms that help them to discriminate between positive and negative interactions. These signaling mechanisms are mediated by small GTPases. During plant-microorganism interactions, ROP GTPases receive signals from transmembrane receptors and activate molecular effectors that allow the plant to establish relationships with microorganisms. These proteins are considered as molecular switches and are involved in cellular functions such as vesicular trafficking, signaling, and rearrangement of the cytoskeleton. This review summarizes the latest information on the mechanism of action of ROPs GTPases as well as their role during plant-microorganism interactions.

KEYWORDS

ROP GTPases,
symbiosis,
pathogenesis,
plants

INTRODUCCIÓN

Las plantas son organismos sésiles en constante interacción con factores ambientales tanto bióticos como abióticos. La correcta detección de los estímulos externos conduce a respuestas que garantizan su sobrevivencia. Existen muchas moléculas en las plantas que participan en la detección de los estímulos, así como en la señalización que se desencadena para responder ante las perturbaciones del medioambiente. Entre estas moléculas se encuentran las GTPasas pequeñas, las cuales son proteínas que funcionan como interruptores moleculares que están involucradas en la transducción de señales, ya que conectan estímulos externos con la respuesta celular [1].

Las GTPasas pequeñas están presentes en todos los organismos eucariotas, desde las levaduras hasta los mamíferos y plantas superiores. El papel regulador de estas proteínas fue descubierto en 1982 durante el estudio de células humanas enfermas de

cáncer como consecuencia de una infección viral [2]. Las GTPasas pequeñas se agrupan principalmente en 5 superfamilias en levaduras y animales; están divididas en RAB, RAS, ARF, RHO y RAN (Fig. 1). Excepto por la superfamilia RAS, todas se encuentran en plantas. A su vez, la superfamilia RHO ha sido dividida en cuatro subfamilias: RHO, RAC, CDC42 y ROP (*Rho of plants*, también nombradas RAC). Específicamente, las proteínas de la subfamilia ROP solamente han sido encontradas en plantas (Fig. 1) [3].

Las proteínas ROP están presentes en todos los linajes de plantas, desde algas verdes hasta musgos, tales como *Physcomitrella patens*, así como en angiospermas, incluyendo monocotiledóneas y dicotiledóneas [4]. Las ROPs están involucradas en muchas funciones en las plantas, incluyendo tráfico vesicular, señalización, rearreglo del citoesqueleto, transporte nuclear, crecimiento polar, expresión genética, regulación hormonal, interacción planta-microorganismos, entre otras [1, 5].

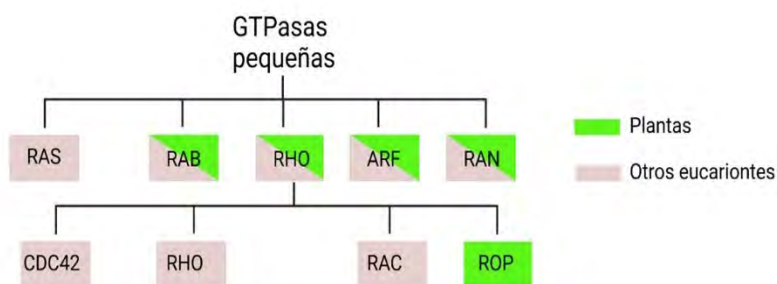


Figura 1. Las GTPasas pequeñas se subdividen en 5 superfamilias: RAB, RAS, ARF, RHO y RAN; todas están presentes en todos los organismos eucariotas, excepto las RAS, que no se encuentran en plantas. La superfamilia RHO se encuentra a su vez subdividida en 5 subfamilias; de éstas, las ROP constituyen una subfamilia única de plantas. Modificado de [3].

Mecanismo de acción de las ROPs

Desde el punto de vista molecular, las ROPs funcionan como interruptores, ya que cuando unen GDP, se encuentran inactivas y en respuesta a ciertas señales específicas se unen a GTP, cambiando a un estado activo. Se plantea que el estado activo conduce a la relocalización e interacción con sus efectores, con lo que se inicia una cascada de señalización (Fig. 2) [6].

Las proteínas ROP presentan dos características fundamentales en su funcionamiento. En primer lugar, debido a su ineficiente hidrólisis de GTP, mantienen su forma activa unida a GTP por largos períodos de tiempo. En segundo lugar, la liberación de GDP es ineficiente y depende de actividad enzimática. Debido a estas características, los ciclos de activación/inactivación dependientes de la unión GTP/GDP están regulados en tiempo y espacio por factores intercambiadores de nucleótidos (*GDP/GTP Exchange Factors*: GEFs), que facilitan la liberación de GDP, y por proteínas activadoras de

GTPasa (*GTPase Activating Proteins*: GAPs) que potencian la hidrólisis de GTP [7]. Por otro lado, las ROPs también son reguladas por la familia de proteínas de los inhibidores de la disociación de nucleótidos de guanosina (*Guanosine Nucleotide dissociation inhibitors*: GDI), las cuales inhiben el intercambio de GDP por GTP, manteniendo una reserva de GTPasas inactivas en el citosol (Fig. 2) [5].

ROPs, relación estructura-función

Las proteínas ROP presentan un peso molecular entre 21-24 KDa. Estructuralmente están compuestas por un dominio N terminal catalítico (dominio G), por el cual interactúan con los efectores y nucleótidos, y un dominio C terminal, responsable de la localización subcelular (Fig. 3). El dominio N terminal consiste en cinco secuencias conservadas conocidas como cajas G (G1- G5), las cuales son responsables de la unión GTP/GDP y Mg^{++} , así como de la actividad hidrolítica GTPasa. También poseen un dominio C-terminal hipervariable (defi-

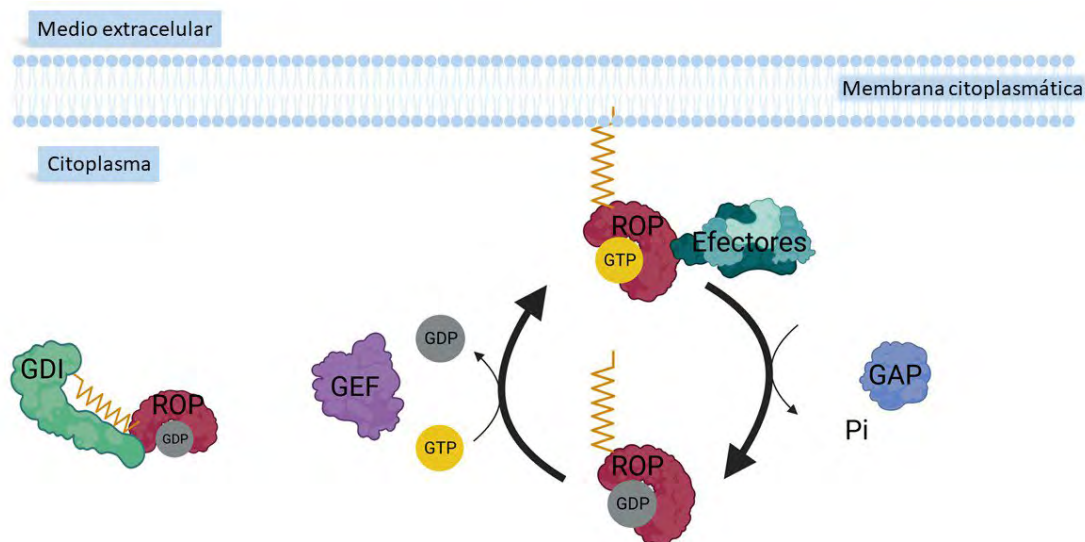


Figura 2. Ciclo regulador de las ROP GTPasas. Las ROPs alternan entre un estado activo unido a GTP y un estado inactivo unido a GDP. Esta acción está regulada por factores de intercambio de nucleótidos de guanina (GEF) que catalizan el intercambio de GDP por GTP, proteínas activadoras de GTPasas (GAP) que aumentan la velocidad de hidrólisis de GTP e inhibidores de la disociación de nucleótidos de guanosina (GDI) que inhiben el intercambio de GDP por GTP, manteniendo una reserva de GTPasas inactivas en el citosol. Creado con *BioRender.com*

nido así por ser la región menos conservada de la secuencia de aminoácidos) responsable de la localización subcelular (Fig. 3) [5]. Los dominios G2 y G3 son también conocidos como regiones *switch* I y II respectivamente y son las que contactan con el fosfato gamma (el grupo fosfato más alejado del azúcar ribosa) en la forma que une GTP. Esto conduce a cambios conformacionales que alteran la afinidad por proteínas regulatorias (GEF, GAP y GDI) y efectores moleculares (proteínas que son activadas por las ROPs) [5].

La asociación de ROPs con la membrana plasmática depende de una modificación lipídica post-traducciona que ocurre en la región hipervariable del C-terminal. Esta región puede encontrarse prenilada (incorporación de grupos lipídicos isoprenoides a las proteínas sintetizadas) o S-acilada (adición de una molécula lipídica de cadena larga sobre residuos de cisteína), según lo cual las ROPs se dividen en tipo I (preniladas) o tipo II (S-aciladas). La prenilación ocurre en los residuos de cisteína que son parte de los motivos CaaX o CaaL (C-Cys: a, residuo alifático; X, cualquier aminoácido; L, Leu). La S acilación ocurre en la cisteína de la secuencia GC-CG (-separación por 5 o 6 residuos de aminoácidos). Al parecer las ROP tipo II no están reguladas por GDIs debido a que no tienen prenilación, lo que es requerido para la interacción entre ROP y GDI [5].

Basado en la conservación estructural de las ROPs, se ha predicho que mutaciones puntuales en la lisina 1 (equivalente a G15 para las AtROPs1-7 y AtROP9; G17 en AtROP10 y AtROP11; G27 en AtROP8) o glutamina 3 (equivalente a Q64 para AtROPs1-7 y AtROP9; Q66 en AtROP10 y AtROP11; Q76 en AtROP8) resultan en la generación de mutantes constitutivamente activas (proteínas que siempre tienen unido GTP y siempre están activando a sus efectores), ya que la mutación en estas posiciones evita la hidrólisis de GTP. Mutaciones en Treonina 1 (equivalente a T20 para las AtROPs1-7 y AtROP9; T22 en AtROP10 y AtROP11; T32 en AtROP8) genera mutantes dominantes negativas (proteínas inactivas que siempre están unidas a GDP y por tanto son inactivas) pues se reduce la afinidad por nucleótidos y estabiliza la interacción con proteínas GEF que previenen la activación de ROPs [5]. En *Medicago truncatula*, cambios de la glicina 1 por valina en la secuencia GAVGKT, generan mutantes constitutivamente activas, y cambios de aspártico por alanina en la secuencia KLD del dominio G4 generan mutantes dominantes negativas [8] (Fig. 3). Estas versiones constitutivamente activas y dominantes negativas de las ROPs se conocen como mutantes de actividad y han sido ampliamente generadas para estudiar las funciones de estas proteínas en las plantas [8].

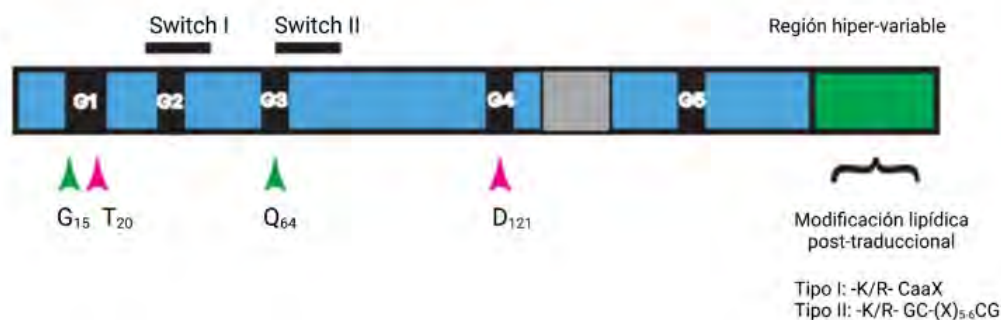


Figura 3. Motivos conservados en las ROP GTPasas. Las proteínas ROP GTPasas presentan un dominio N terminal catalítico (dominio G) y un dominio C terminal (Caja verde). El dominio G, consiste en cinco secuencias conservadas conocidas como cajas G (G1-G5), responsables de

la unión de GTP/GDP y Mg^{++} , así como de la actividad de GTPasa. Los dominios G2 y G3 son también conocidos como regiones "switch" I y II, respectivamente, y son las que contactan con el fosfato gama en la forma que une GTP. El dominio C terminal está compuesto por una región hipervariable donde ocurre una modificación lipídica post-traducciona. Tomado de [5].

Posibles activadores de la señalización mediada por ROPs

En levaduras y animales, las GTPasas están involucradas en diferentes vías de señalización a través de receptores con actividad cinasas, y regulan varios procesos como la reorganización del citoesqueleto. La actividad cinasa de estos receptores está directamente regulada por las proteínas G y están involucradas en la regulación de procesos celulares básicos, incluyendo la morfología celular, la división y el tráfico vesicular [1]. Ninguna de estas familias de receptores con actividad cinasa están presentes en plantas, ni tampoco están sus mecanismos de acción. Por ello se ha planteado la posibilidad de que en plantas la recepción de señales extracelulares sea percibida por receptores similares a cinasas [7]. Empleando el sistema de doble híbrido de levaduras se determinó la unión de receptores específicos de plantas con actividad cinasas, con la forma constitutivamente activa de proteínas ROP en modelos experimentales como *Arabidopsis* y *Medicago* [8, 9]. Estos receptores con actividad de cinasas pertenecen a la familia de receptores específicos de plantas parecidos a cinasas citoplasmáticas (*plant-specific receptor-like cytoplasmic kinases: RLCKs*). Los receptores RLCKs están agrupados en 10 clases diferentes. Se ha encontrado que los miembros de la clase RLCKs VI se unen a ROP y tienen actividad cinasa ROP dependiente [10]. Estudios realizados en *Solanum lycopersicum* (tomate) determinaron la interacción entre RLCK-ROPGEFs-ROP. También se ha planteado la posibilidad de interacción entre ROPs y Proteínas G heterotriméricas [7].

Posibles efectores de ROPs

Una vez que las ROPs detectan las señales extracelulares a través de los receptores transmembranales,

se activan e interactúan con sus efectores. Se han planteado posibles efectores de ROP que están involucrados en la dinámica de los filamentos de actina; entre ellos se encuentra la subunidad PIR del complejo homólogo en plantas al complejo WAVE de levaduras y animales, cuya interacción con ROP induce la polimerización del filamento de actina. Diferentes estudios sugieren que el mecanismo por el cual las ROPs regulan la organización de la actina es mediante la fosforilación y supresión del factor ADF (Actin Depolymerizing Factor) que participa en la despolimerización de la actina [5]. Otros posibles efectores pueden ser las forminas en plantas, las cuales, en levaduras y animales, inducen la polimerización de la actina [5]. Entre los posibles efectores de ROPs se ha sugerido a la enzima fosfatidil inositol monofosfato cinasa, la cual está involucrada en la señalización dependiente de Ca^{++} , y la fosfolipasa D [5]. Por otro lado, se ha planteado la posible interacción de ROPs con la subunidad UDP-glucosa transferasa del complejo enzimático calosa sintasa, así como con las MAP cinasas [7]. También se han estudiado los efectores de las proteínas reguladoras de ROPs como la interacción de SPK1 (un ROPGEF) con proteínas ROPs en *Arabidopsis* [5]. Al parecer, SPK1 es responsable de la activación de ROP2, ROP6 y ROP4, ya que en plantas de *A. thaliana* mutantes dominantes negativas de SPK1 los niveles de AtROP2, AtROP6 y AtROP4 activas son inferiores comparados con los de la planta silvestre [11].

Otros posibles interactores de las proteínas ROPs son las proteínas RIC (*Rop-interacting CRIB-motif containing proteins*) [11]. Estas proteínas están involucradas en varias funciones celulares ya que son proteínas de unión a elementos del citoesqueleto como los microtúbulos [5]. Las proteínas RIC3 y RIC4 de *A. thaliana* se han propuesto como efectores

res de ROP y se ha visto que median la regulación de los filamentos de actina en el tubo polínico. Se ha planteado que ROP6 interactúa con RIC1, que a su vez interactúa con KTN1, una proteína involucrada en el corte de los microtúbulos y que permite el ordenamiento de los microtúbulos corticales y la expansión celular. En *A. thaliana* la auxina regula corriente arriba de AtROP6 y AtROP2 para controlar este proceso [11].

Las proteínas ROPs también interactúan con las proteínas RIP (*ROP Interacting Partner*), las cuales se asocian con cinesinas involucradas en la desestabilización de los microtúbulos. La proteína RIP ICR1 interactúa con el componente exocítico SEC3 y parece ser un vínculo entre la activación de ROP y la fusión de vesículas con la membrana plasmática [12]. Estos investigadores también propusieron que las proteínas RISAP se asocian con RAC5 (ROP) en *Nicotiana benthamiana* mediante ensayos de *pull down* y ensayo de doble híbrido en levaduras. Dichas proteínas presentan un dominio que se une al dominio GTD (*Globular Tail Domain*) de la miosina XI plasmática [12].

En *Oryza sativa*, la proteína RAC1 (una proteína ROP) activa a RBOH (*Respiratory Burst Oxidase Homologs*) en una ruta que es iniciada por la detección de quitina. En la ruta propuesta, la quitina es detectada por OsCERK1, que es un receptor similar a receptores con actividad cinasa, que forma un complejo con la proteína OsCEBiP (una proteína que une quitina). En presencia de quitina, OsCERK1 fosforila y activa a OsRACGEF, que a su vez activa a OsRAC1, quien activa a NADPH y participa en la biosíntesis de lignina y en la producción de especies reactivas del oxígeno. Sin embargo, cabe resaltar que la mayoría de estos posibles efectores necesitan ser esclarecidos ya que los procedimientos experimentales no son lo suficientemente contundentes y se basan en los efectores de Rho GTPasas en los modelos animales y fúngicos.

Las ROPs en las interacciones benéficas plantas-microorganismos

El papel de las ROP GTPasas durante la interacción plantas-microorganismos fue establecido desde hace 25 años. Las ROP GTPasas están involucradas tanto en interacciones positivas como negativas con los microorganismos [1]. Se ha propuesto que en la interacción leguminosas-rhizobios, las ROP GTPasas modulan la actividad de los filamentos de actina para permitir la entrada y el acomodamiento de las bacterias en el interior celular. Varios autores han sugerido que al igual que las proteínas de la familia

Rho en hongos y en mamíferos, las ROP GTPasas regulan la organización y la dinámica de los filamentos de actina y microtúbulos de las plantas [13, 14]. Un ejemplo de esto consiste en la propuesta realizada por [14], donde al estudiar plantas de *L. japonicus* silenciadas *rop6* observaron defectos en la reorganización de los filamentos de actina y en la colonización de los rhizobios. En este mismo modelo experimental, se observó que en plantas de *L. japonicus*, silenciadas *rop3* el número de nódulos estaba afectado, demostrando que *ROP3* está implicado en la simbiosis fijadora de nitrógeno [15]. También en *Medicago truncatula* [8] demostraron que ROP10 es necesario para la nodulación. Las ROP GTPasas también han sido estudiadas durante la interacción planta-micorrizas arbusculares. En *Medicago truncatula*, plantas deficientes en la expresión de ROP9, mejoran la penetración del hongo micorrízico arbuscular *Glomus intraradices*. Estas evidencias demuestran que algunas ROP ayudan en la penetración de los microorganismos beneficiosos en el tejido vegetal, mientras que otras la impiden.

Papel de ROPs en la patogénesis

Las proteínas RAC/ROPs están involucradas en diferentes funciones celulares como la reorganización del citoesqueleto, la polaridad celular, la síntesis de pared celular, en la respuesta a patógenos, el ciclo celular y la diferenciación [16]. Se cree que las RAC/ROPs están involucradas en la respuesta a patógenos a través de un incremento en la producción de especies reactivas del oxígeno, mediante su interacción con RBOH, la cual es una enzima implicada en la producción de especies reactivas del oxígeno. Otras vías en las que se ha planteado que están involucradas las ROPs durante la patogénesis es la activación de las MAPKs, y la síntesis de lignina y calosa para impedir la penetración del patógeno [17]. Sin embargo, también se ha planteado que las RAC/ROPs pueden tener un papel dual en la respuesta a patógenos, regulándola tanto de manera positiva como negativa [18].

El papel de las proteínas RAC/ROP durante la patogénesis ha sido estudiado principalmente en *Oryza sativa* (arroz), *Hordeum vulgare* (cebada), *Nicotiana tabacum* (tabaco) y *Arabidopsis thaliana*; de estos modelos, *O. sativa* ha sido el más estudiado. En arroz existen 7 RAC/ROPs, cuyo papel en la patogénesis fue evaluado por [19] mediante silenciamiento génico (el silenciamiento génico mediado por RNAi, se refiere al proceso que promueve la degradación del RNAm, así como la reducción de sus niveles de traducción). Estos investigadores silen-

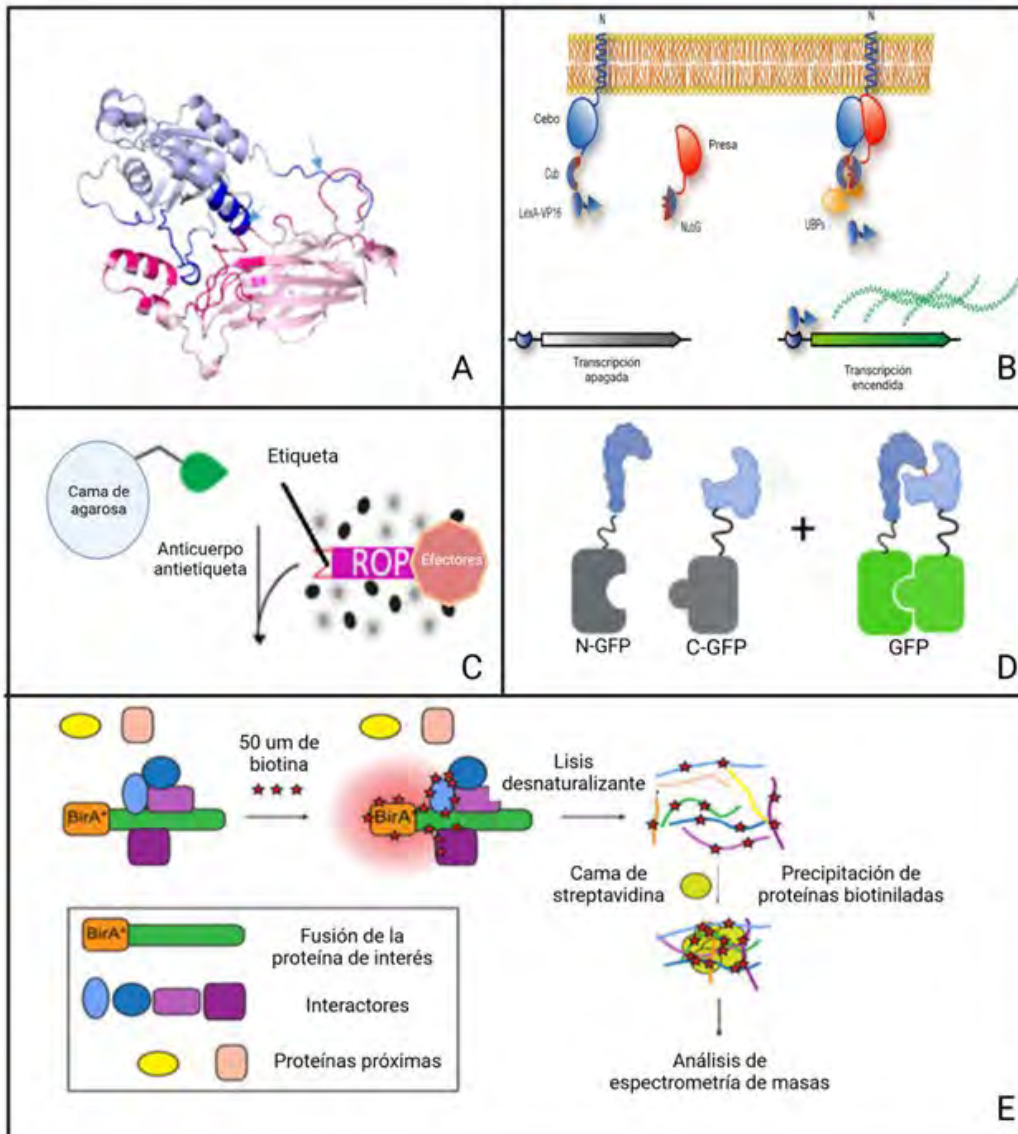


Figura 4. Técnicas empleadas en el estudio de los interactores de las ROP GTPasas. La determinación de los interactores de las ROPs se ha efectuado a través de estudios *in silico* de las ROPs con efectores predichos de los modelos animales y levaduras (A). Además, se han empleado técnicas heterólogas como el sistema de dos híbridos en levadura (B) o el *pull down* (C) para confirmar interacciones predichas o para atrapar nuevos interactores. Sin embargo, las técnicas de microscopía como el BIFC (D) han permitido corroborar *in vivo* algunos de los efectores identificados empleando las técnicas anteriores. Una de las técnicas actuales más prometedoras en la identificación *in vivo* de interactores de ROP pudiera ser el BioID (E), que consiste en la fusión traduccional de una ligasa de biotina con el gen de interés. Dicha ligasa adiciona biotina a todas las proteínas que se acercan a no más de 10 nm de distancia de la proteína de interés. Las proteínas biotiniladas son posteriormente purificadas y enviadas a espectrometría de masas para su futura identificación. Modificado de (DUALhunter Kit; Firat-Karalar & Stearns). Creado con *BioRender.com*

viadas a espectrometría de masas para su futura identificación. Modificado de (DUALhunter Kit; Firat-Karalar & Stearns). Creado con *BioRender.com*

ciaron diferentes miembros de RAC/ROP, y determinaron que las plantas silenciadas *rac5* y *rac4* eran menos susceptibles a patógenos, mientras que silenciadas *rac1* incrementan la susceptibilidad frente *Magnaporthe grisea*. Estos resultados sugieren la posibilidad de la existencia de un papel dual de las proteínas ROP en la patogénesis. Un hecho similar se reportó en cebada donde el silenciamiento de *RACB* incrementó la resistencia a *Blumeria graminis* porque se redujo el establecimiento del haustorio en las células epidérmicas [16]. En este sentido, se ha propuesto que *RACB* interactúa con un péptido denominado *ROPIP1* (*ROP-interactive peptide 1*) y codificado por *B. graminis*, que al interactuar con *RACB*, “manipula” la reorganiza-

ción de los microtúbulos corticales y, de esta manera, favorece la entrada del patógeno [20].

Entre las proteínas RAC/ROP de arroz, *RAC1* ha sido la más estudiada. Varios investigadores [19, 21, 22] han propuesto que la sobreexpresión de la forma constitutivamente activa de esta proteína incrementa la susceptibilidad de *O. sativa* a *Magnaporthe grisea*. Por otro lado, la sobreexpresión de una versión dominante negativa de *AtRAC11/ROP1* en hojas de papa disminuye la infección por *P. infestans* [16]. Nosotros hemos determinado que al sobre expresar una ROP se reprimen mecanismos de defensa que llevan a un incremento de la susceptibilidad de *A. thaliana* frente a varios patógenos (García-Soto *et al.*, datos no publicados). Estos

resultados sugieren que las ROP GTPasas pueden regular la respuesta inmune en planta.

Perspectivas en el estudio de las ROP GTPasas


La mayoría de los estudios realizados con las proteínas ROP se han realizado sobre el fondo genético de plantas silvestres y expresando versiones de ROP constitutivamente activas o dominantes negativas. Teniendo en cuenta que la regulación de proteínas ROP por proteínas de las familias GEF, GAP y GDI es muy fina, y generalmente con igual estequiometría [7], es probable que la sobreexpresión de dichas proteínas pueda desequilibrar la regulación del resto de las proteínas ROP expresadas. Sin embargo, muchas veces la generación de mutantes de pérdida de función conduce a la no detección de fenotipos asociados [18]. Esto se debe a que las ROP GTPasas son una familia de proteínas con alto grado de conservación en secuencia y estructura por lo que, ante la carencia de una, otras pueden ejercer su función (redundancia funcional) [23]. Por ello, la generación de mutantes de actividad continúa siendo una de las mejores estrategias para el estudio de esta familia proteica.

Entre los mayores retos del estudio de las ROPs ha estado la identificación de sus interactores en diferentes procesos celulares. Muchos esfuerzos se han realizado para ello, desde aproximaciones *in silico*, modelos heterólogos (dos híbridos en levaduras), *pull-down* y técnicas de microscopía de fluorescencia (FRET: *fluorescence resonance energy transfer* y BIFC: *bimolecular fluorescence complementation*) (Fig. 4) [24 – 27]. Aunque todas ellas han aportado conocimiento sobre los interactores que hoy en día se conocen, aún hay muchas limitaciones que impiden la identificación *in vivo* de proteínas interactoras de las ROPs. Una de las técnicas más revolucionarias, que podría aportar muchas luces en la determinación del interactoma de las ROP, es la denominada BioID (*Proximity-dependent Biotin Identification*). Esta técnica fue estandarizada y empleada por primera vez en plantas en 2017 [28] y consiste en la fusión traduccional de una ligasa de biotina con el gen de interés. Dicha ligasa adiciona

biotina a todas las proteínas que se acerquen a no más de 10 nm de distancia de la proteína de interés. Las proteínas biotiniladas son posteriormente purificadas y enviadas a espectrometría de masas para su futura identificación (Fig. 4).

La identificación del interactoma de las ROPs aportaría grandes conocimientos a disímiles mecanismos de señalización en la célula. Además, conociendo los interactores en determinadas condiciones (por ejemplo, durante la interacción planta-patógeno) se podrían generar biosensores (herramientas moleculares que suelen combinar un componente de naturaleza biológica y otro físico-químico; por ejemplo, los glucómetros para medir la glucosa en la sangre) con amplias aplicaciones biotecnológicas (puesta en marcha de tecnologías que utilizan sistemas viológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos).

CONCLUSIÓN

El papel de las ROP GTPasas durante la interacción planta-microorganismo ha sido ampliamente documentada en las últimas décadas. Sin embargo, aún queda mucho por estudiar en cuanto al mecanismo de acción de estas proteínas, su activación y efectores. El conocimiento que se genere respecto al funcionamiento de estos interruptores moleculares podría conducir hacia importantes campos de acción para determinar proteínas blanco que ayuden a mitigar las enfermedades en las plantas, o que, por el contrario, favorezca la interacción de las plantas con microorganismos benéficos. Esto podría abrir nuevas puertas al camino de la agricultura ecológicamente amigable y contribuiría a mejorar la seguridad alimentaria. 

AGRADECIMIENTOS

M. Serrano agradece el apoyo brindado por el proyecto PAPIIT-UNAM IN203023. I.G.S. es estudiante de Doctorado del Programa de Ciencias Bioquímicas de la UNAM, con apoyo de beca de CONAHCyT No. 856458.

REFERENCIAS

1. Rivero C, Traubenik S, Zanetti ME, Blanco FA. Small GTPases in plant biotic interactions. *Small GTPases* [Internet]. 2019;10(5):350–60 Available from: <https://doi.org/10.1080/21541248.2017.1333557>
2. Cooper GM. Cellular transforming genes. *Science* (80-) [Internet]. 1982 [cited 2023 Apr 17];217(4562):801–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6285471/>

3. Engelhardt S, Trutzenberg A, Hüchelhoven R. Regulation and Functions of ROP GTPases in Plant-Microbe Interactions [Internet]. Vol. 9, Cells. NLM (Medline); 2020 [cited 2022 Apr 11]. Available from: [/pmc/articles/PMC7565977/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37565977/)
4. Yalovsky S. Protein lipid modifications and the regulation of ROP GTPase function. *J Exp Bot* [Internet]. 2015 Mar 1 [cited 2023 May 1];66(6):1617–24. Available from: <https://academic.oup.com/jxb/article-lookup/doi/10.1093/jxb/erv057>
5. Feiguelman G, Fu Y, Yalovsky S. ROP GTPases structure-function and signaling pathways. Vol. 176, *Plant Physiology*. 2018. 57–79 p
6. Bishop AL, Hall A. Rho GTPases and their effector proteins. *Biochem J*. 2000;348(2):241–55
7. Berken A. ROPs in the spotlight of plant signal transduction. *Cell Mol Life Sci*. 2006;63(21):2446–59
8. Lei MJ, Wang Q, Li X, Chen A, Luo L, Xie Y, et al. The small Gtpase ROP10 of medicago truncatula is required for both tip growth of root hairs and nod factor-induced root hair deformation. *Plant Cell* [Internet]. 2015 [cited 2023 May 1];27(3):806–22. Available from: [/pmc/articles/PMC4558664/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/264558664/)
9. Duan Q, Kita D, Li C, Cheung AY, Wu HM. FERONIA receptor-like kinase regulates RHO GTPase signaling of root hair development. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2010 Oct 12 [cited 2023 May 7];107(41):17821–6. Available from: [www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1005366107](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1005366107/)
10. Molendijk AJ, Ruperti B, Singh MK, Dovzhenko A, Ditengou FA, Milia M, et al. A cysteine-rich receptor-like kinase NCRK and a pathogen-induced protein kinase RBK1 are Rop GTPase interactors. *Plant J* [Internet]. 2008 Mar [cited 2023 May 7];53(6):909–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18088316/>
11. Ren H, Dang X, Cai X, Yu P, Li Y, Zhang S, et al. Spatio-temporal orientation of microtubules controls conical cell shape in Arabidopsis thaliana petals. Oppenheimer D, editor. *PLOS Genet* [Internet]. 2017 Jun 23 [cited 2023 May 7];13(6):e1006851. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pgen.1006851>
12. Stephan O, Cottier S, Fahlén S, Montes-Rodriguez A, Sun J, Magnus Eklund D, et al. RISAP is a TGN-Associated RAC5 effector regulating membrane traffic during polar cell growth in tobacco. *Plant Cell* [Internet]. 2014 [cited 2023 May 7];26(11):4426–47. Available from: [/pmc/articles/PMC4277221/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24277221/)
13. Hoefle C, Mccollum C, Hüchelhoven R. Barley ROP-Interactive Partner-a organizes into RAC1- and MICROTUBULE-ASSOCIATED ROP-GTPASE ACTIVATING PROTEIN 1-dependent membrane domains. 2020;1–12
14. Liu J, Liu M, Qiu L, Xie F. SPIKE1 Activates the GTPase ROP6 to Guide the Polarized Growth of Infection Threads in Lotus japonicus. *Plant Cell*. 2020;tpc.00109.2020
15. García-Soto I, Boussageon R, Cruz-Farfán YM, Castro-Chilpa JD, Hernández-Cerezo LX, Bustos-Zagal V, et al. The Lotus japonicus ROP3 Is Involved in the Establishment of the Nitrogen-Fixing Symbiosis but Not of the Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis. *Front Plant Sci* [Internet]. 2021 Nov 12 [cited 2022 Feb 12];12:2618. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2021.696450/full>
16. Zhang Z, Yang F, Na R, Zhang X, Yang S, Gao J, et al. AtROP1 negatively regulates potato resistance to via NADPH oxidase-mediated accumulation of H₂O₂. *BMC Plant Biol*. 2014;14(1):1–14
17. Kawano Y, Chen L, Shimamoto K. The function of rac small GTPase and associated proteins in rice innate immunity. *Rice*. 2010;3(2–3):112–21
18. Kawasaki T, Koita H, Nakatsubo T, Hasegawa K, Wakabayashi K, Takahashi H, et al. Cinnamoyl-CoA reductase, a key in lignin biosynthesis, is an effector of small GTPase Rac in defense signaling in rice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(1):230–5
19. Chen L, Shiotani K, Togashi T, Miki D, Aoyama M, Wong HL, et al. Analysis of the

Rac/Rop small gtpase family in rice: Expression, subcellular localization and role in disease resistance. *Plant Cell Physiol.* 2010;51(4):585–95

20. Nottensteiner M, Zechmann B, Mccollum C, Hüchelhoven R. RESEARCH PAPER A barley powdery mildew fungus non-autonomous retrotransposon encodes a peptide that supports penetration success on barley. 2018;69(15):3745–58

21. Ono E, Wong HL, Kawasaki T, Hasegawa M, Kodama O, Shimamoto K. Essential role of the small GTPase Rac in disease resistance of rice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98(2):759–64

22. Kawasaki T, Henmi K, Ono E, Hatakeyama S, Iwano M, Satoh H, et al. The small GTP-binding protein Rac is a regulator of cell death in plants. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96(19):10922–6

23. Rong D, Zhao S, Tang W, Luo N, He H, Wang Z, et al. ROP signaling regulates spatial pattern of cell division and specification of meristem notch. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2022 Nov 22 [cited 2023 May 7];119(47):e2117803119. Available from: <http://www.pnas.org/lookup/suppl/doi:10.1073/pnas.2117803119/-/DCSupplemental>

24. Ke D, Li X, Han Y, Cheng L, Yuan H, Wang L. ROP6 is involved in root hair deformation induced by Nod factors in *Lotus japonicus*. *Plant Physiol Biochem* [Internet]. 2016;108:488–98. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.08.015>

25. Wong HL, Pinontoan R, Hayashi K, Tabata R, Yaeno T, Hasegawa K, et al. Regulation of Rice NADPH Oxidase by Binding of Rac GTPase to Its N-Terminal Extension. 2007;19(December):4022–34

26. Akamatsu A, Wong HL, Fujiwara M, Okuda J, Nishide K, Uno K, et al. An OsCEBiP/OsCERK1-OsRacGEF1-OsRac1 module is an essential early component of chitin-induced rice immunity. *Cell Host Microbe* [Internet]. 2013;13(4):465–76. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2013.03.007>

27. Gracia-Soto I. Identificación del interactoma de proteínas ROP durante el rearrreglo del citoesqueleto en *lotus japonicus* ante la endosimbiosis bacteriana. Universidad Nacional Autónoma de México; 2019

28. Lin Q, Zhou Z, Luo W, Fang M, Li M, Li H. Screening of proximal and interacting proteins in rice protoplasts by proximity-dependent biotinylation. *Front Plant Sci.* 2017;8(May):1–10