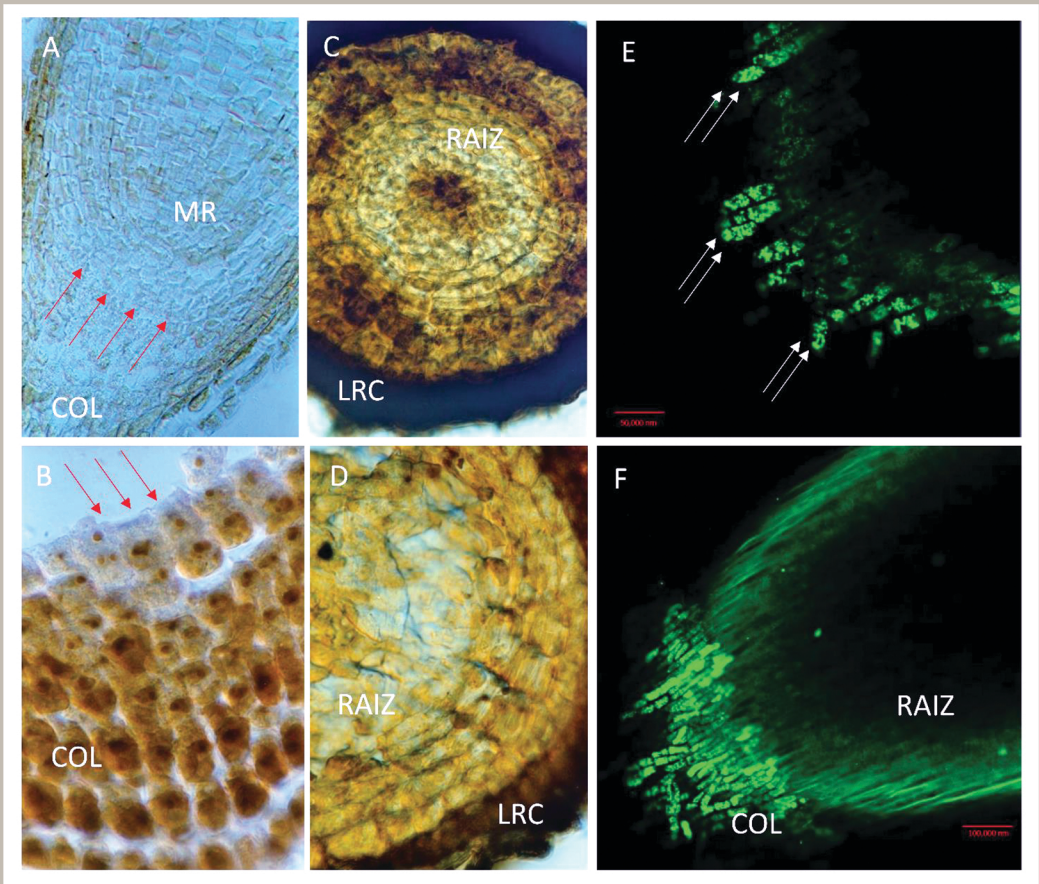


Aspectos moleculares del desarrollo de las angiospermas: Morfogénesis de la raíz



David Manuel Díaz Pontones

José Isaac Corona Carrillo

Aspectos moleculares del desarrollo de las angiospermas: Morfogénesis de la raíz

David Manuel Díaz Pontones
José Isaac Corona Carrillo





RECTOR GENERAL

Dr. Eduardo Abel Peñalosa Castro

SECRETARIO GENERAL

Dr. José Antonio De Los Reyes Heredia

UNIDAD IZTAPALAPA

RECTOR

Dr. Rodrigo Díaz Cruz

SECRETARIO

DR. Andrés Francisco Estrada Alexanders

DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE C. B. S.

Dra. Sara Lucía Camargo Ricalde

COORDINADOR DE EXTENSIÓN UNIVERSITARIA

Mtro. Federico Bañuelos Bárcena

JEFE DE LA SECCIÓN DE PRODUCCIÓN EDITORIAL

Lic. Adrian Felipe Valencia Llamas

*Aspectos Moleculares del Desarrollo de las Angiospermas:
Morfogénesis de la raíz*

Primera edición: 2019

© UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA-IZTAPALAPA

Av. San Rafael Atlixco No. 186, Col. Vicentina,
Iztapalapa, C. P. 09340, México, D. F.

ISBN: 978-607-28-1657-2

Impreso en México / Printed in Mexico

Índice

Prefacio	11
Introducción General	13
Lecturas sugeridas	16
Capítulo I. Manutención del meristemo	17
A. Estructura de la raíz	18
B. Nicho de células madre de la raíz	20
C. Control hormonal en el tamaño del meristemo apical de raíz	24
D. Control molecular en la especificación del meristemo apical de raíz	26
1. Acetilación de histonas	26
2. Metilación de las histonas	28
3. Dinámica entre eucromatina y heterocromatina	30
E. Zona de alargamiento y diferenciación celular	31
Lecturas sugeridas	34
Referencias bibliográficas	34
• Estructura de la raíz, nicho de células madre de la raíz y control hormonal en el tamaño de meristemo apical de la raíz	34
• Control molecular en la especificación del meristemo apical de raíz y zonas de alargamiento y diferenciación celular	39
Capítulo II. Caliptra	45
Introducción	46
A. Evolución y origen de la caliptra	47
B. Estructura de la caliptra	49
1. Manutención de las células madre y diferenciación de la caliptra	49
2. Influencia de la caliptra en la arquitectura de la raíz	55
3. Desprendimiento de la caliptra	57
4. Características de la caliptra y la rizosfera	61
C. Papel de la caliptra en la regulación de la dirección en el crecimiento	62
1. Percepción de la gravedad o gravitropismo	62
2. Transducción de la señal	66

3. Inducción del crecimiento diferencial en el tejido efector	72
4. Restauración del flujo simétrico de la auxina	76
Lecturas sugeridas	77
Referencias bibliográficas	77
• Evolución y estructura de la caliptra	77
• Papel de la caliptra en la regulación de la dirección del crecimiento	82
Capítulo III. Pelos radiculares	93
Introducción	94
A. Compromiso y decisión celular	96
1. Desarrollo, estructura y función del pelo radicular	96
2. Decisión del destino de las células en el desarrollo	100
a. Compromiso y vía de señalización	100
b. Determinación del pelo radicular y las condiciones ambientales	103
c. Mecanismos que subyacen en la plasticidad en la formación de los pelos radiculares	105
i. Metabolismo de los lípidos que influyen la cascada de señales de WER	106
ii. Control del compromiso celular a nivel cromatínico	107
iii. Cambios dependientes de las especies reactivas de oxígeno en la morfogénesis	109
iv. Control en el alargamiento del pelo radicular	110
v. El papel de las fitohormonas	112
vi. Deficiencias de hierro y la auxina	118
B. Crecimiento polar del pelo radicular	119
1. Transición del crecimiento difuso al polar en sitios específicos del tricoblasto	119
2. Crecimiento polar del pelo radicular	125
a. Crecimiento polar asociado a las especies reactivas de oxígeno	128
b. Alargamiento dependiente de pH	137
c. Transportadores de Ca ²⁺ y la homeostasis	139
Lecturas sugeridas	142
Referencias bibliográficas	142
• Compromiso y decisión celular	142
• Crecimiento polar del pelo radicular	159

Capítulo IV. Endodermis	181
Introducción	182
A. Formación de la endodermis en la raíz	183
1. Determinación de la endodermis	183
2. Respuesta de la endodermis	185
3. La endodermis: punto central en la regulación hormonal	188
B. Establecimiento de la polaridad celular y la Banda de Casparian	191
1.- La Endodermis como un regulador de la difusión de sustancias	191
2. Establecimiento de la polaridad y determinación del dominio de membrana plasmática en la formación de la Banda de Casparian	196
Lecturas sugeridas	203
Referencias bibliográficas	203
• Determinación y formación de la endodermis	203
• Establecimiento de la polaridad celular y de la banda de Casparian	207
Capítulo V. Cilindro vascular	211
A. Aspectos Generales	212
1. -Cilindro Central	212
2. Evolución del tejido de conducción	214
B. Xilema	215
1. Componentes de xilema	215
2. Auxina y citocinina en el establecimiento del xilema en el embrión y el desarrollo de la raíz	217
3. Moduladores de la señal de citocininas que regulan la formación del xilema	221
4. Regulación espacial de la citocinina	222
5. Frontera entre el xilema y el procambium	224
6. Determinación de la identidad del protoxilema-metaxilema en la raíz	225
B. Floema	228
1. Componentes de los tubos cribosos	228
2. Desarrollo del floema durante la embriogénesis	230

3. Influencia de la distribución asimétrica de la auxina	232
4. Características morfológicas del floema	233
5. Control genético de la red que regula la especificación del floema	234
6. Mecanismo molecular que induce la diferenciación del floema	236
7. Mecanismo de diferenciación de los elementos cribosos	237
D. Efectos sistémicos en la diferenciación del sistema vascular en la arquitectura de la raíz	241
Lecturas sugeridas	242
Referencias bibliográficas	242
• Aspectos generales y xilema	242
• Floema y efectos sistémicos en la diferenciación del sistema vascular en la arquitectura de la raíz	248
Capítulo. VI. Raíz lateral	255
Introducción	256
A. Especificación del sitio de generación de la raíz lateral	259
B. Las células fundadoras de la raíz lateral y el inicio en la formación de la LR	264
C.- Cruzando la endodermis	273
D. Paso del LRP a través de la corteza y la epidermis	275
Lecturas sugeridas	278
Referencias bibliográficas	278

Índice de figuras y tablas

I. Manutención del meristemo

Figura 1. Control hormonal del tamaño del meristemo	19
Figura 2. División asimétrica de las células madre de la corteza y la epidermis (CEI)	22
Figura 3. Control epigenético de la raíz	28

II. Caliptra

Figura 1. Ápice de la raíz	46
Figura 2. Relaciones filogenéticas en el origen de la raíz las plantas terrestres	48
Figura 3. Nicho de células madre en el ápice de la raíz	51

Figura 4. Modelo que muestra el mecanismo de manutención las células madre y la diferenciación de las células hijas	53
Figura 5. Percepción de la gravedad	63
Figura 6. Flujos de auxina y pH en una raíz graviestimulada	64
Figura 7. Transporte Polar de la Auxina	67
Figura 8. Transducción y transmisión de la señal gravitrópica	70
Figura 9. Respuesta al gravitropismo	73
Figura 10. Restauración del flujo de auxina polar y crecimiento gravitropico positivo	76
III. Pelos radiculares	
Figura 1. Formación del pelo radicular y la distribución en la epidermis de la raíz	98
Figura 2. Desarrollo del pelo radicular	
Estados consecutivos en la formación del pelo radicular	99
Figura 3. Compromiso dependiente de la posición celular en la epidermis de la raíz de <i>Arabidopsis</i>	101
Figura 4. La deficiencia nutricional provoca un mecanismo de retroalimentación para crear pelos radiculares adicionales	107
Figura 5. Regulación génica inducida por la auxina, RSL4 y la deficiencia de Pi	115
Figura 6. Vía de morfogénesis de los pelos radiculares y la integración de factores ambientales	116
Figura 7. Modelo que resume el mecanismo que especifica el sitio de crecimiento polar en el tricoblasto	122
Figura 8. Modelo que resume el crecimiento polar por la inducción de la auxina	124
Figura 9. Etapas en el crecimiento polar planar del pelo radicular	131
Tabla 1. Canales y Transportadores de Calcio	140
IV. Endodermis	
Figura 1. Zona de Maduración de la raíz	183
Figura 2. Vía de señalización en las zonas de desarrollo de la raíz de <i>Arabidopsis</i>	187
Figura 3. Modelo de la interacción de DELLA-SCL3	190

Figura 4. Efecto de la endodermis en el movimiento de agua y nutrimentos	195
Figura 5. Representación esquemática de la formación de la banda de Casparian	197
Figura 6. Deposición de la Banda de Casparian en la endodermis	200
V. Cilindro vascular	
Figura 1. Interacción en la inhibición mutua entre la auxina y la citocinina para la diferenciación y proliferación del procambium	219
Figura 2. Papel de la vía de señalización de la citocinina	220
Figura 3. Mecanismo molecular en la determinación del eje con dominio xilemático	224
Figura 4. Especificación del xilema	226
Figura 5. Patrón de establecimiento de sistema tisular vascular	231
Figura 6. Formación y diferenciación de los elementos del tubo criboso	240
VI. Raíz lateral	
Figura 1. Raíces laterales en monocotiledóneas	256
Figura 2. Regulación local y sistémica la inducción o emergencia de la raíz lateral debida a nutrimentos	259
Figura 3. Estados del desarrollo durante la formación de la raíz lateral en <i>Arabidopsis</i>	260
Figura 4. Zona de oscilación en la cantidad de auxina	264
Figura 5. Emergencia de la raíz lateral desde la región de curvatura de la raíz principal	267
Figura 6. Fases en la especificación de la raíz lateral	273

Prefacio

El presente volumen forma parte de una colección titulada “ASPECTOS MOLECULARES DEL DESARROLLO DE LAS ANGIOSPERMAS” que tiene como objetivo el proporcionar al alumno de la licenciatura en Biología Experimental y carreras afines que se imparten en la Universidad Autónoma Metropolitana, conceptos actualizados, especializados y de forma integrada sobre el desarrollo de los órganos vegetativos de las plantas, en particular en las angiospermas.

Los conceptos expuestos en los libros son una referencia que complementa lo impartido en las diversas asignaturas que componen los planes de estudio, y que le sirva al alumno interesado para poseer una plataforma conceptual actualizada y especializada sobre cada uno de los temas abordados en los diversos volúmenes. Se buscó que en cada uno de los temas que integran los libros de la serie se aborden aspectos de biología molecular, biología celular y cuando sea pertinente aspectos, bioquímicos y fisiológicos.

Los diversos volúmenes pueden ser estudiados en forma independiente por los lectores interesados, que cada uno de ellos posee la información necesaria para su completa comprensión. El alumno podrá tener una conocimiento integrado si su lectura se inicia con el volumen de “EMBRIOGÉNESIS Y ORIGEN DE LOS SISTEMA TISULARES” en que se describe los procesos de establecimiento de las estirpes celulares, iniciando desde la fecundación hasta el desarrollo de un embrión corazón/torpedo, en que quedan definidas las estirpes celulares que posteriormente se diferenciarán y generarán los tres órganos vegetativos: la raíz, el tallo y la hoja, abordando el desarrollo de cada órgano en un volumen distinto.

Introducción General

Las raíces poseen tres funciones principales: a) anclaje de la planta al sustrato, b) la producción de fitohormonas y otras señales y c) absorción de agua y nutrimentos. El anclaje provee estabilidad y es importante para todas las plantas. La producción de fitohormonas es muy activa en las raíces, de las cuales el resto de la planta depende de ellas para su desarrollo y crecimiento; entre estas hormonas están las citocininas y las giberelinas, sintetizadas en la zona meristemática. La dependencia de las fitohormonas de la raíz con el resto de la planta indica la alta integración en el crecimiento de la parte aérea de la planta y la raíz.

Para la planta es importante el equilibrio en el crecimiento entre la parte aérea y la raíz, lo que implica un balance entre la capacidad fotosintética por parte de las hojas, el soporte de este sistema foliar por el tallo, en que se suministra sacarosa como fuente energética, sustancias elaboradas como son diferentes aminoácidos, fitohormonas entre ellas la auxina y péptidos señal que sirven para mantener el desarrollo y crecimiento de la raíz; mientras que la raíz a su vez suministra agua, nutrimentos, fitohormonas y péptidos señal al resto de la planta para proporcionar así controlar un desarrollo y crecimiento equilibrado.

Las raíces poseen una alta capacidad de absorción de agua y nutrimentos debido a su gran superficie, las cuales adquiere por la alta ramificación en su sistema radicular, si se alineara a todas las raíces se alcanzarían varios cientos de metros de longitud. El arreglo del sistema radicular es una adaptación que han adquirido las plantas para cumplir las diversas funciones.

Además de las tres funciones antes mencionadas, las raíces son capaces de almacenar sustancias de reserva, que se acumulan previo a la época invernal, como sucede en el caso en la raíz tuberosa de los camotes. Las raíces son el lugar de la biosíntesis de precursores o metabolitos secundarios que sirven como parte del mecanismo de defensa. En las raíces de las leguminosas por ejemplo, la simbiosis con bacterias fijadoras de nitrógeno permite capturar el nitrógeno atmosférico, el que transforma y transloca como compuestos ricos en nitrógeno, tales como la glutamina

y asparagina o bases nitrogenadas. En otras plantas que no poseen esta asociación, la raíz transforma los nitratos y nitritos en aminos de amino ácidos y son exportados al resto de la planta. Otra función de la raíz se da bajo condiciones extremas, cuando se pierde la parte aérea, a partir de la raíz surge y crece un nuevo vástago, un ejemplo de ello es la maleza *Convolvulus arvensis* que crece en cultivos de importancia como el ajonjolí, arroz, avena, cacahuete, caña, cebada, cítricos, espárrago, frijol, frutales, garbanzo, girasol, hortalizas, linaza, maíz, mango, manzana, papa, plátano, soya, tomate y uva, esta planta es considerada una maleza muy agresiva pues invade los campos de cultivo de importancia económica, las raíces de esta planta se extienden a una gran profundidad en el suelo y son difíciles de extraer, por ello se dificulta el ser erradicado porque en la siguiente temporada de cultivo a partir de esas raíces surge una nueva planta. Por otra parte, las raíces de otras especies crecen en forma horizontal y a partir de ella surgen nuevos tallos. Otras raíces, surgen a la superficie y proveen oxígeno al resto de la planta, un ejemplo de ello son los manglares. Las raíces sirven de adhesión a otras plantas como las raíces de las epifitas.

Cuando germina el embrión, una de las primeras estructuras que protruyen de la semilla es la raíz primaria. En las dicotiledóneas, la raíz embrionaria, se convierte en la raíz principal y crece con un geotropismo positivo o en favor a la gravedad, a partir de la cual se generan nuevas raíces en forma lateral. En las Poaceae que incluye a los cereales y entre ellos el maíz, el trigo y el arroz, la raíz embrionaria crece sustentando los primeros requerimientos de la fase de embrión a plántula, pero es un órgano determinado y es sustituido por las raíces que se diferencian del hipocotilo/tallo de cada fitómero de la región nodal, lo que ocurre en una fase temprana del desarrollo de la planta.

En las plantas de talle alta, se requiere de un sistema de anclaje que sea capaz de soportar el peso del tallo con la gran cantidad de hojas, por lo que desarrollan un sistema en que la raíz principal crece en forma profunda en el suelo, este sistema posee una alta ramificación con raíces laterales, que sirven de anclaje, para la absorción de agua y nutrimentos; a este sistema se le denomina sistema axonomórfico. La profundidad y la superficie que alcanza este sistema, depende de varios factores ambientales como son la temperatura, la humedad y el tipo de suelo. Este sistema se encuentra en las

plantas maderables como los encinos, los pinos, las secuoyas del noroeste de Canadá y Estados Unidos o en el eucalipto regio de Australia, estos dos últimos pueden alcanzar una altura superior a los 100 m; en el mezquite (*Prosopis juliflora*) el sistema radicular puede alcanzar hasta los 53 metros de profundidad, caso que se observó en una mina en Arizona. Durante la construcción del canal de Suez, se encontró que las raíces de árboles de *Tamarix* y de *Acacia* poseían una profundidad de más de 30 metros. Las eudicotiledoneas que poseen ciclos de vida mayor a dos años o perenes, su sistema radicular presenta un crecimiento secundario para darle fortaleza a la raíz. El sistema axonomórfico se encuentra en plantas herbáceas como leguminosas de consumo común como el frijol, chícharos, habas; también se encuentra en las plantas de tabaco, rábano o la alfalfa y en esta última puede alcanzar una profundidad de 6 metros.

Por otra parte, el maíz, trigo, arroz y otros pastos, presentan un sistema radicular diferente, debido a que estas plantas son anuales, su talla es mucho menor que las maderables, no presentan un crecimiento secundario y el número de elementos vasculares esta preestablecido, con una conductividad que no se incrementa con el tiempo. La estrategia es generar un sistema radicular fibroso o fascicular. Durante la germinación protruye la raíz embrionaria que funciona durante un corto tiempo y rápidamente es sustituida en las fases postgerminativas por un sistema de raíces que se generan inicialmente de la placa nodal (región del embrión en donde termina la raíz, y se conecta el escutelo y los primordios foliares o plúmula). Conforme la planta crece, surgen más raíces a partir de la región nodular en la base de cada uno de los fitómeros del tallo, a las cuales se le conoce como raíces adventicias por no originarse de una raíz previa. Este sistema radicular, crece a poca profundidad, pero ocupa una gran superficie, permitiendo a la planta absorber rápidamente el agua de lluvia antes que se evapore o penetre a una mayor profundidad. La raíz del centeno, como ejemplo de este sistema radicular, las plantas de 4 meses de edad poseen un sistema radicular que ocupa un área de 640 m², lo que implica 130 veces la superficie de la parte aérea y solamente ocupa un volumen equivalente a 6 m³.

Dado el papel importante de la raíz en el crecimiento de la planta, y con ello el aporte de agua y nutrimentos requeridos para la producción de frutos

y semillas, ha cobrado un gran interés en la actualidad desde el punto de vista agronómico el conocer diversos aspectos que generan y/o modulan el desarrollo y crecimiento del sistema radicular, así como determinar los marcadores moleculares que rigen su morfogénesis y aquellos que estén involucrados en respuesta a condiciones abióticas, como son la cantidad de agua, deficiencia de nutrimentos, salinidad o respuesta ante sustancias tóxicas como metales como el cadmio o plomo. Por lo que, el presente libro explica diferentes aspectos de la estructura y desarrollo del sistema radicular, en que se abordan el desarrollo de la caliptra, la manutención y estructura del meristemo apical radicular, la zona de transición y su importancia, la zona de alargamiento y el compromiso de los diferentes tipos celulares, y como en la zona de maduración este compromiso dará una diferenciación para constituir los diferentes tejidos de una raíz funcional, además se explica el compromiso y desarrollo de una raíz lateral.

Lecturas sugeridas

Raven P.H., Evert R.F., *Eichhorn S. Biology of Plants*. Séptima edición. Freeman. USA. (2005). cap 24.

Mauseth J.D. *Botany: a introduction to Plant Biology*. 4° edición. Jones y Bartlett Pub. USA. (2009). cap: 7.

Villaseñor, J.L., Espinosa F.J., *Catálogo de malezas de México*. Universidad Nacional Autónoma de México. Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario. Fondo de Cultura Económica. (1998). México, D.F.

Capítulo I.

Manutención del meristemo

A. Estructura de la raíz

El desarrollo de un organismo multicelular requiere de la producción de una gran cantidad de células especializadas de diferentes tipos, además de los mecanismos para coordinar la diferenciación y crecimiento de cada una de ellas, lo cual llega a ser altamente sofisticado. Las células totipotenciales son la fuente de los diferentes tipos celulares. La regulación en el desarrollo y crecimiento de un órgano se establece con el balance en la capacidad de manutención/renovación de las células madre o iniciales y el compromiso/diferenciación de las mismas. El meristemo apical de la raíz (RAM) se establece durante la embriogénesis y, el desarrollo de este órgano es un proceso postembrionario y se deriva del reservorio de células totipotenciales. En el RAM, se encuentran cuatro grupos de células iniciales o madre, de las cuales se derivarán el tejido vascular, la corteza/endodermis, la epidermis/cofia lateral y las células iniciales de columna, las cuales rodean a las células centrales del centro quiescente (CQ).

El ápice de la raíz de *Arabidopsis thaliana* está compuesto de varias zonas: a) una región con la zona meristemática en que se encuentran las células madre de la raíz (SCN), estructurado en la parte central con células totipotenciales, al que se denomina centro quiescente (CQ); el cual está rodeado por un grupo de células en división o propiamente la denominada la región meristemática (MZ); b) la zona de transición (TZ) compuesta de células que están en la frontera de la zona anterior; c) la zona de alargamiento (EZ) donde ocurre la expansión y compromiso celular y d) la zona de maduración (MaZ) en donde se da la diferenciación de los sistemas tisulares, estas dos últimas zonas en conjunto se denomina zona de elongación o diferenciación (EDZ; Fig. 1A; Takatsuka y Umeda, 2014).

El SCN es la zona que orquesta el balance entre el número de células totipotenciales que conforman al nicho celular y las células que deberán posteriormente comprometerse y dar los diferentes tejidos del órgano, así, está conformado cuando menos por cuatro células en el centro quiescente, con ciclos celulares relativamente largos, en un estado de oxidación mayor al resto del ápice, condición que es determinante para especificar la totipotencialidad celular. Cuando se divide una célula madre en el CQ, una de las células hijas se mantiene en esta región, mientras que la otra

es desplazada a la periferia y rodea a las células totipotenciales centrales, conformando con ello el MZ, éstas células hijas poseen un ciclo celular más corto, pero aún mantienen la totipotencialidad (van den Berg *et al.*, 1997). Las células madre o iniciales del SCN, están continuamente en divisiones asimétricas produciendo células hijas que son desplazadas a la periferia e inician su compromiso celular (Scheres, 2007). Las células que se dividen del SCN se organizan en capas, en que la posición que ocupe la célula especifica el linaje celular y se encuentra restringido espacialmente. Cuando una célula pasa de la MZ a la TZ se inicia la endorreduplicación del material genético, en esta zona, la célula se expande simétricamente y en forma lenta. La importancia de la TZ no está bien entendida, pero está correlacionada a la endorreduplicación y al proceso de expansión (Adachi *et al.*, 2011; Takahashi *et al.*, 2013; Takatsuka y Umeda, 2014). En la EZ y MaZ se realizan dos procesos importantes, en la primera zona la célula se alarga e inicia el compromiso, mientras que se completa la diferenciación celular en la zona de maduración propiamente, el indicador morfológico de la MaZ es la presencia de los primeros pelos absorbentes. La restricción espacial resulta en un desarrollo por zonas a lo largo del eje longitudinal de la raíz (Fig.1 A).

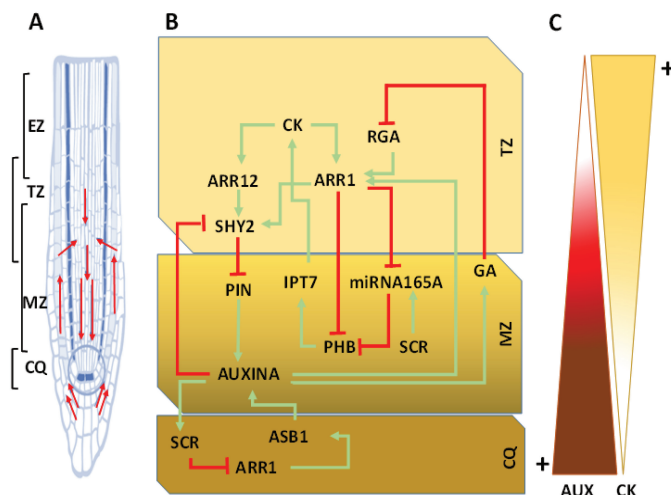


Figura 1. Dominios y control hormonal en el meristemo. A, El esquema muestra las diferentes zonas de la raíz, se representa con flechas rojas el flujo de auxina, la fitohormona proveniente de la parte apical del tallo es transportada hasta el ápice

de la raíz. Cuando se acumula en la parte central de la caliptra, los transportadores de auxina de este dominio cambian el sentido del flujo y lo dirigen en forma inversa a través de la caliptra lateral y la epidermis. La epidermis es el tejido inicial de respuesta a brasinoesteroides, mientras que la endodermis es el estrato celular de respuesta inicial a las giberelinas. B, esquema de activación génica en el meristemo en crecimiento, 5 días después de iniciada la embibición, la presencia de auxina en la zona meristemática dirigida por los PIN provoca la degradación de SHY2, y se incrementa la expresión de PIN y con ello la división celular; mientras, en la zona de transición, la cantidad de citocinina (CK) activa a *ARR12* y *ARR1*, este último es también regulado por las giberelinas (GA), fitohormona que a su vez es activada por las auxinas. El efecto de ARR es inhibir la expresión de PIN y con ello decrece el flujo de auxina e induce el inicio del compromiso celular. En el centro quiescente, *SCR* reprime la detección a las citocininas por la represión de *ARR1*, esta represión permite la actividad de ASB1 que a su vez facilita la síntesis *in situ* de la auxina, la auxina sintetizada en el CQ es transportada hacia la TZ, y ahí activa a las giberelinas. Una retroalimentación por las citocininas en la TZ, activa y refuerza la activación de *ARR12* y *ARR1*, la biosíntesis de citocinina en esta zona es activada por medio de IPT7 que es regulado positivamente por PHB; IPT7 refuerza la activación de *ARR1*, la actividad de ARR1 produce directamente la inactivación de *PHB* y la generación del miRNA165 en la endodermis inducido por *SCR* que regula negativamente a *PHB*. En el esquema C, en amarillo oscuro a claro se define el gradiente de las isoformas del factor de transcripción PLT. En colores de oscuro a claro se muestra el gradiente de las concentraciones de las fitohormonas auxina y citocinina en el meristemo. Símbolos: AUX; auxina; CQ, centro quiescente; CK, citocinina; GA, giberelinas; MZ, zona meristemática proximal; SCN, zona o nicho de células madre; EZ, zona de alargamiento; EDZ, zona de diferenciación; TZ, zona de transición; flecha en rojo flujo de auxina; flecha en verde, activación génica; línea roma roja, inactivación del gen; triángulo en rojo gradiente de auxina; triángulo amarillo gradiente de citocinina →, gradiente de AUX. Esquema modificado de Sozzani *et al.*, 2014.

B. Nicho de células madre de la raíz

La manutención y especificación de las células madre es el resultado de la convergencia de vías de señalamiento que integran una red de regulación en la que participan las fitohormonas, factores de transcripción y péptidos señal. La fitohormona auxina, induce a los genes *PLETHORA* (*PTL1-6*), familia de genes que codifican para factores de transcripción (Aida *et al.*, 2004), que contienen un dominio AP2 al igual que *WOX5* (ver más adelante); en la raíz *PTL1* y *PTL2* son genes que juegan un papel importante. La auxina mediante el transporte polar

de la fitohormona proveniente del tallo, se acumula en la parte distal de la raíz en el nicho de células madre de la raíz (Blilou *et al.*, 2005), que a su vez induce la biosíntesis de auxina *in situ* (Brady *et al.*, 2007; Stepanova *et al.*, 2008) provocando por lo tanto un sitio de acumulación y respuesta que es requerido para determinar el CQ (Blilou *et al.*, 2005; Krecek *et al.*, 2009). En el transporte polar de la auxina se encuentra involucrada la familia de transportadores de eflujo de auxina, los PINFORMED (PIN), y que está en relación al grado de expresión de los genes *PLT* (Galweiler *et al.*, 1998; Grieneisen *et al.*, 2007; Galinha *et al.*, 2007). La concentración de los factores PLT en el ápice de la raíz mantiene y especifica el nicho de células totipotenciales (SCN); en contraste, bajas concentraciones de PLT, inducen a la diferenciación de las células madre (Galinha *et al.*, 2007). Los altos niveles de PLT en el CQ se encuentran controlado por factores de crecimiento de la raíz (RGF) que actúan a dos niveles: en la transcripción y en la postranscripción (Matsuzaki *et al.*, 2010). El modelo propuesto implica que la auxina induce la expresión de genes para enzimas de modificación post-traduccionales del tipo *TYROSYLPROTEIN SULFOTRANSFERASE (TPST)*, la proteína TPST sulfata al péptido RGF y a su vez, regula positivamente a los genes *PLT*. La sulfatación de RGF1 en combinación con otras dos proteínas tirosin-sulfato: la fitosulfocinasa (PSK) y el péptido conteniendo una tirosina-sulfato PSY1, son suficientes para mantener a las células del CQ y la potencialidad en el crecimiento de la raíz (Matsubayashi *et al.*, 1996; Amano *et al.*, 2007), la manutención de la totipotencialidad celular se encuentra en el cruce de las vías de señalamiento entre las auxinas y los péptidos sulfatados.

Un mecanismo en paralelo para la manutención de las células totipotenciales involucra a la familia de genes de los factores de transcripción *GRAS*, entre ellos *SHORTROOT (SHR)* y *SCARECROW (SCR)*, además de algunos de sus genes blanco y proteínas de interacción (Sabatini *et al.*, 2003; Levesque *et al.*, 2006; Welch *et al.*, 2007; Sozzani *et al.*, 2010). *SHR* se expresa en la parte central de la raíz, donde se ubicará el cilindro vascular, el péptido producto del gen se mueve entre las capas celulares hacia las células madre o iniciales de la endodermis, que forma parte de la estirpe celular de la corteza/endodermis (CEI, ver figura 2A en la sección endodermis), de igual forma el péptido difunde hacia el CQ, donde induce la transcripción de *SCR*. En el CQ, *SCR* sustenta las funciones y la identidad de las células madre a través de una actividad autónoma (Sabatini *et al.*, 2003) y finalmente provoca la división asimétrica de las CEI y mantiene

la identidad del CQ (Helariutta *et al.*, 2000; Cui *et al.*, 2007, ver sección de endodermis). En adición, la vía SHR/SCR media la decisión del destino de las células madre por la modulación en la expresión de los genes del ciclo celular, como *CYCD6* y la división asimétrica (Fig. 2; Sozzani *et al.*, 2010). La actividad de *SHR* y *SCR* en el CQ, CEI y la endodermis es afectada por genes de la misma vía que están en la parte baja, como son *MAGPIE (MGP)* y *JACKDAW (JKD)*; Welch *et al.*, 2007). *SHR*, *SCR* y *JKD* poseen una influencia en el destino de CEI, la pérdida de función en los alelos de cada uno de los tres genes, provoca que en los mutantes muestren la pérdida en la identidad del CQ y defectos en el patrón radial de la raíz (Welch *et al.*, 2007). *SHR* y *SCR* regulan directamente la división asimétrica de las CEI a través de *CYCD6* (Sozzani *et al.*, 2010), este proceso está acompañado por otros factores, entre los que se encuentran *RETINOBLASTOMA (RBR)*; Wildwater *et al.*, 2005), el cual reprime la división de las células madre mediante la formación de un complejo proteico con *SHR* y *SCW*; a su vez *CYCD6* inhibe la actividad de *RBR* (Cruz-Ramírez *et al.*, 2012).

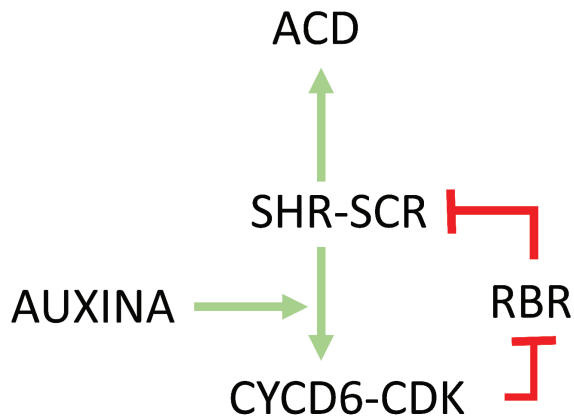


Figura 2. División asimétrica de las células madre de la corteza y la epidermis. La acción combinada de auxina, *SHR* y *SCR*, restringen la actividad de *ACD* en tiempo y espacio en la activación de la *CYCD6*. *CYCD6* en conjunto con la cinasa dependiente de ciclinas, a través de la fosforilación inhibe la actividad de *RBR*, que a su vez reprime a la división de *CEI*, mediante la formación de un tetrámero con *SHR* y *SCR*. Símbolos: *ACD* división asimétrica de las células madre; *CYCD6-CDK*, genes del ciclo celular ciclin-ciclincinasa; *RBR*, *RETINOBLASTOMA*; *SCR*, *SCARECROW*; *SHR*, *SHORTROOT*. Flecha verde, activación del gen; línea roma en rojo, inactivación del gen. Esquema modificado de Sozzani *et al.*, 2014.

Se ha demostrado que el efecto sobre la identidad del CQ y de las células madre por SCR, se debe a la represión en el compromiso/diferenciación que ejerce la citocinina, SCR suprime la expresión del regulador de respuesta a citocinina *ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATOR 1 (ARR1)* en el CQ (Sabatini *et al.*, 2003; Moubayidin *et al.*, 2013). Mientras el etileno regula la división en el CQ (Ortega-Martínez *et al.*, 2007), los brasinoesteroides (BR) alteran la expresión de reguladores en el SCN (González-García *et al.*, 2011; Hacham *et al.*, 2011).

Se ha mostrado que en el SCN, las células disminuyen la densidad de los plasmodesmos con las células vecinas en compromiso/diferenciación, lo que implica que el flujo de mensajes entre ambos dominios celulares disminuye, por lo que se ha propuesto que la producción y acumulación de una señal de corto alcance en el CQ ayuda a mantener la identidad de las células madre de este sitio (van den Berg *et al.*, 1997). Por el momento la identidad de la señal permanece elusiva, un candidato puede ser el producto del gen *WUSCHEL RELATED HOMEODOMAIN 5 (WOX5)* y/o sus blancos (Sarkar *et al.*, 2007). Se ha establecido que la acción combinada de los factores de transcripción PLT, SHR, SCR y WOX5 son esenciales para la especificación del CQ. La expresión de *WOX5* en el CQ y el gradiente radial en la cantidad del producto de éste gene es necesario para la manutención de la totipotencialidad y división celular, lo cual fue demostrado en el mutante *wox5*. En éste mutante se ve afectado la totipotencialidad y capacidad de división de las células madre del caliptrogeno contiguas al CQ y que formarán a la columnela (la columnela es el dominio de caliptra que detecta la gravedad), implicando que la manutención de las células madre próximas al CQ está acompañada por otros factores parcialmente redundantes a *WOX5*. El mecanismo molecular involucra a *WOX5*, al péptido CLAVATA-like 40 (CLE40) y a los receptores CRINKLY4 (ACR4) y CLAVATA 1 (CLV1; De Smet *et al.*, 2008; Stahl *et al.*, 2009; Stahl *et al.*, 2013). CLE40 actúa a través de los receptores ACR4 y CLV1 para excluir la expresión de *WOX5* fuera del CQ y caliptrogeno; por lo que CLE40 se expresa en las células en división a compromiso/diferenciación de la columnela, mientras que la expresión de *ACR4* y *CLV1* se da en las células vecinas y modulan negativamente la expresión de *WOX5* en el resto del SCN (Stahl *et al.*, 2013). Este patrón de expresión soporta la existencia de una vía de regulación de las células madre a distancia del CQ realizada por CLE40-WOX5-ACR4/CLV1 (para más detalles ver la Fig. 4 en la sección II.- Manutención de las células madre y diferenciación de la caliptra).

C. Control hormonal en el tamaño del meristemo apical de raíz

En el meristemo apical de la raíz, el balance entre la división celular y el compromiso/diferenciación celular se realiza a través de dos vías, una que involucra a las fitohormonas y la otra a las especies reactivas de oxígeno.

La citocinina (CK), auxina y giberelinas (GA) son los mayores efectores en el control del tamaño del meristemo radicular (Fig. 1B). El control hormonal en el tamaño es un proceso espacio-temporal gobernado por las proteínas AUX/IAA, SHORT HYPOCOTYL 2 (SHY2; Dello Ioio *et al.*, 2007; Dello Ioio *et al.*, 2008; Moubayidin *et al.*, 2010). La expresión de *SHY2* es máxima cuando se activan dos reguladores de la CK, *ARR1* y *ARR12*. Antes de los cinco días de la germinación, los niveles de CK son bajos y *ARR12* promueve los niveles basales de la expresión de *SHY2*. Los niveles de *ARR1* se mantienen bajos debido en parte a las GA, y así mantiene una cantidad sub-óptima de *SHY2*. Los bajos niveles de *SHY2* permiten la expresión de los genes de los PIN, el flujo de auxina y preponderando la división celular sobre el compromiso/diferenciación. En la parte distal del meristemo, o sea cerca de la frontera, las GA decrecen en cantidad y los niveles de CK aumentan, esto conlleva una represión en el flujo de auxina y un incremento en el compromiso/diferenciación con respecto a la división (Fig. 1B; Dello Ioio *et al.*, 2007, 2008; Moubayidin *et al.*, 2010).

La inducción en la biosíntesis de CK esta mediada por los factores de transcripción HDZIPIII, en particular *PHABULOSA* (*PHB*) y *PHAVOLUTA* (*PHV*; Dello Ioio *et al.*, 2012). *PHB* directamente activa al gen *IPT7*, que codifica para una enzima clave que participa en la biosíntesis de las CK; los doble mutante *phb phv* poseen raíces muy largas, las que se parecen a los mutantes en la biosíntesis de la CK. La CK reprime a *PHB* de una manera dependiente de *ARR1*, en forma directa y a través de los miRNA165/166 (Fig. 1B). Este módulo de regulación es robusto a los cambios ambientales. El balance entre la proliferación *vs* el compromiso/diferenciación ocurre en la TZ; la auxina parece ser una señal a gran distancia que coordina la actividad de las células madre en el meristemo de la raíz y el compromiso/diferenciación mediada por *ARR1* en la TZ (Moubayidin *et al.*, 2013). La producción de auxina en el CQ es suficiente para inducir a *ARR1* y la diferenciación celular en la TZ. *ARR1*

está reprimido en el CQ debido a la expresión exclusiva de *SCR* en este sitio, en el mutante *scr-4* se da la recuperación del tamaño del meristemo a las 24 horas, sugiriendo que *SCR* media el tamaño a través de *ARR1* en la TZ de una forma celular no-autónoma. En forma adicional, *SCR* modula la producción de auxina en el CQ a través de *ARR1* y del gen *ANTHRANILATE SYNTHASE BETA SUBUNIT 1 (ASB1)*; Fig. 1B). *SCR* ejerce un control a gran distancia sobre *ARR1* en la TZ y coordina la división celular de las células madre y la diferenciación celular (Moubayidin *et al.*, 2013). *SCR* activa a los miRNA165/166 que reprimen a *PHB*, por los que *SCR* también modula la producción de CK para controlar el tamaño del meristemo (Carlsbecker *et al.*, 2010).

Las GA regulan por otra parte el tamaño del meristemo de la raíz, promoviendo la división celular generando con ello un aumento en el número de células en la MZ. Bloqueando la biosíntesis de las GA disminuye la división celular y el tamaño del meristemo es pequeño (Ubeda-Tomas *et al.*, 2009). Las GA provocan la degradación de las proteínas DELLA, proteínas represoras, las cuales entre otras cosas inhiben la actividad mitótica en los meristemas de la raíz (Ubeda-Tomas *et al.*, 2009; Achard *et al.*, 2009). La endodermis es un tejido específico de respuesta a las GA, mutaciones que provocan la incapacidad en la degradación de DELLA en la endodermis provocan que se bloquee el crecimiento del meristemo de la raíz (Ubeda-Tomas *et al.*, 2009). Además, las GA controlan el crecimiento de la raíz por la regulación del grado de alargamiento de las células en la EZ de la raíz (Ubeda-Tomas *et al.*, 2008; Heo *et al.*, 2011; Band *et al.*, 2012). Existe un modelo en que se establece la interacción de la vía SCL/SHR a través de SCL3 que interactúa con DELLA (Ver Fig. 3 en la sección de Endodermis), estableciéndose una regulación a dos niveles: regulando la biosíntesis de las giberelinas o nivel de la respuesta inducida por la fitohormona en el alargamiento de la raíz (Zhang *et al.*, 2011).

Por su parte, los brasinoesteroides (BR) promueven la expansión celular y la proliferación. Los BR son requeridos para la progresión normal a través del ciclo celular (González-García *et al.*, 2011; Hacham *et al.*, 2011). La percepción de los BR en la protodermis de la raíz (estirpe celular que da origen a la epidermis) es suficiente para restaurar el tamaño del meristemo, la expresión del receptor para BR, BRI1 en la protodermis afecta la expresión génica en el CQ y del cilindro vascular (Hacham *et al.*, 2011). Un entrecruzamiento en las vías de los BR, las auxinas y la CK es importante en la regulación en

el tamaño del meristemo de la raíz. Mutaciones en *BREVIS RADIX (BRX)*, un regulador transcripcional específico de plantas, se requiere para la formación del sistema vascular, provocando la deficiencia en BR y reducción en el tamaño de la raíz (Mouchel *et al.*, 2006). *BRX* y *SHY2* actúan antagónicamente de tal forma que, en etapas tempranas del meristemo, la expresión de *BRX* es alta en la TZ y *SHY2* es baja a través del meristemo, permitiendo que *BRX* promueva la expresión de *PIN3* y con ello la división celular (Scacchi *et al.*, 2010). Conforme los niveles de CK se incrementan, la expresión de *SHY2* se incrementa mientras que la expresión de *BRX* disminuye, permitiendo la diferenciación celular. Así *BRX* media el crecimiento de la raíz en una manera espacio-temporal y es un punto de cruce de las señales de las auxinas, CK y BR.

Las especies reactivas de oxígeno (ERO) son componentes importantes en el control del tamaño del meristemo. La mutación de *UPBEAT1 (UPB1)*, el cual codifica para un factor de transcripción tipo bHLH, provoca raíces largas en comparación a las plantas silvestres. UPB1 se une al promotor de tres genes que codifican para la peroxidasas clase III que se expresan en la TZ. En el mutante *upb1*, la localización histoquímica de ERO presenta menos H_2O_2 y más superóxido (O_2^-) que los silvestres; por lo que se ha propuesto que *UPB1* media el gradiente opuesto de H_2O_2 de la zona de alargamiento y de O_2^- en la zona del meristemo y que media el paso de la proliferación al compromiso/diferenciación (Tsukagoshi *et al.*, 2010).

D. Control molecular en la especificación del meristemo apical de raíz

1. Acetilación de histonas

Una de las formas de control en la expresión génica se da a través de la exposición de los genes para ser transcritos, el empaquetamiento del DNA afecta la posibilidad de este proceso, por lo que las modificaciones a nivel de los nucleosomas es una forma de regulación epigenética. Entre las modificaciones que se dan en las histonas del nucleosoma esta la acetilación. La acetilación de las histonas, catalizada por la acetiltransferasa (HAT) correlaciona con la actividad transcripcional. En *Arabidopsis* se encuentran 4 fami-

lias de HAT: GNAT (GCN5-related N terminal acetyltransferase), MYST (MOZ, Ybt2, Sas2, Tip60-like), p300/CREB binding protein (CBP) y la familia TAFII250 (Pandey *et al.*, 2002). La familia mejor caracterizada es la GNAT, en particular GCN5 (Pandey *et al.*, 2002; Chen y Tian, 2007). GCN5 interacciona con ADA2a y ADA2b, y con la acetilasa de histonas H3 (Stockinger *et al.*, 2001; Mao *et al.*, 2006; Earley *et al.*, 2007). La acetilación en la lisina 14 de la histona H3 (H3K14) y la H3K27 es reducida en *loci* definidos en la mutante *gcn5* (Benhamed *et al.*, 2006), así el complejo GCN5 regula a un subgrupo de genes del genoma de *Arabidopsis* que representa aproximadamente el 5% (Vlachonasios *et al.*, 2003; Benhamed *et al.*, 2008). En el doble mutante de *GCN5* (también denominado HAG1) y *ADA2b*, reducen dramáticamente la expresión de *PLT1* y *PLT2*, resultando en la perturbación de la especificación del CQ y con ello un meristemo pequeño (Fig. 3A; Kornet y Scheres, 2009). La acetilación de las histonas controla la actividad de *PLT* y es fundamental para la establecer las zonas en la raíz. Sin embargo, la relación directa entre el complejo *GCN5* y *PTL* es algo ambiguo, ya que la acetilación de H3K9ac/K14ac se detecta en el promotor de *PLT2*, a pesar los niveles de acetilación son mantenidos en el mutante *adab2*, por lo que puede haber un mecanismo alternativo de acetilación. Además, el empleo de otras técnicas ha demostrado que GCN5 no está asociado a la funcionalidad de los genes *PLT* (Benhamed *et al.*, 2008). La expresión de *GCN5* y *ADA2b* se encuentra en la MZ, donde la expresión de *PLT* es más alta en el CQ y menor en la MZ, indicando que el gradiente en la expresión de *PLT* es regulado por factores vía abajo de *GCN5*. La acumulación de auxina en el CQ está involucrada en la expresión de *PLT*, el complejo GCN5 puede controlar la expresión de algunos factores relacionados a la auxina, tales como AUX/IAA y ARF, los cuales son los causantes de generar el gradiente en el ápice de la raíz. En condiciones que aumentan la cantidad de auxina, el factor de transcripción bZIP11 de tipo basic leucine zipper (bZIP) se une al promotor de los genes de respuesta a auxina y recluta a la maquinaria de acetilación de las histonas por medio de la interacción con ADA2b, tal vez impulsando la expresión de los genes de respuesta a auxina (Weiste y Dröge-Laser, 2014). Tal interacción explicaría la relación entre el complejo GCN5 y los factores relacionados a la auxina y la formación por consecuencia del gradiente en la expresión de *PLT* en el ápice de la raíz (Fig. 3A).

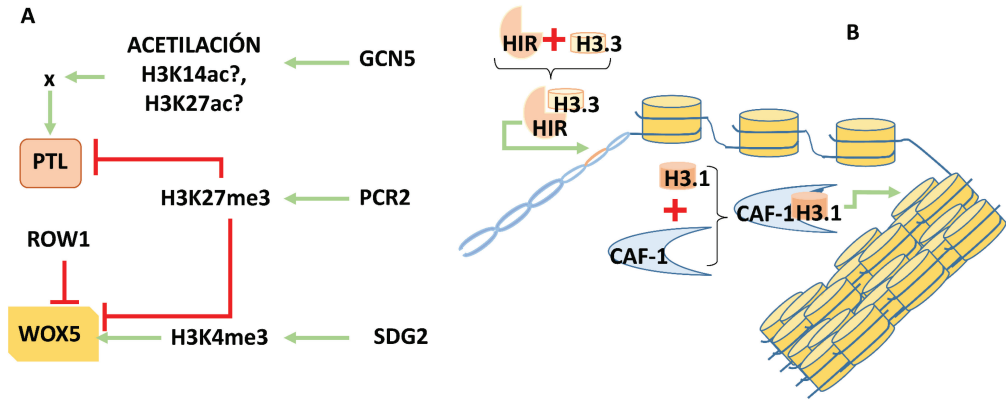


Figura 3. Control epigenético de la raíz. A, control de la expresión de *WOX5* y *PLT*. B, Transformación y empaquetamiento del DNA por las vía HIR o por CAF1. Símbolos: flecha en verde, activación del gen; línea roma roja, inactivación del gen. Figura modificada de Takatsuka *et al.*, 2015.

2. Metilación de las histonas.

Las proteínas de tipo Polycom (PcG) están altamente conservadas y en conjunto con el grupo de proteínas trithorax (*trxG*) funcionan como reguladores centrales de la identidad celular, manteniendo el balance entre la proliferación y la diferenciación (Schuettengruber y Cavalli, 2009). Las proteínas PcG forman complejos poliméricos, los cuales reprimen la transcripción de los genes blanco, las proteínas PcG son incorporadas a dos complejos polycom represivos (Polycomb Repressive Complex, PCR): el PCR1 y el PCR2. El mejor estudiado es el PCR2, media la trimetilación de la H3 en la K27 (H3K27me3; Fig. 3B). El componente central de PCR2 está compuesto por el dominio SET de la metiltransferasa H3K27, CURLY LEAF (*CLF*) y SWINGER (*SWN*), el último componente posee funciones que se superponen con *CLF*. En *Arabidopsis*, alrededor de 4400 genes son modificados en la H3K27me3 (Zhang *et al.*, 2007). La pérdida de la H3K27me3 en el mutante del complejo PCR2 causa múltiples defectos en el desarrollo tanto en la hoja como en el endospermo y en la transición de embrión a plántula. En la raíz, PCR2 está involucrado en el desarrollo, la pérdida de función de *CLF* incrementa la actividad del meristemo, generando una gran MZ y raíces largas. En el mutante *clf*, una capa extra de células indi-

ferenciadas se forma de las células madre de la columnela o caliptrógeno central, demostrando que la actividad mitótica es elevada en la MZ y el CQ y en el mutante la expresión de *WOX5* está sobrerregulado. *WOX5*, así como otros genes importantes del CQ y la MZ, tales como *PTL* y *AGAMOUS LIKE (AGL)* están asociados a la trimetilación en la H3K27 (Aichinger *et al.*, 2011). La mutación en *PICKLE (PKL)* un factor de remodelación de la cromatina provoca que los niveles de H3K27me3 estén substancialmente incrementados, sugiriendo una interacción antagonica entre PCR2 y PKL en la determinación de la zonación en la raíz. Sin embargo, la expresión de *PKL* se ubicada a través de la MZ y el CQ, mientras que *CLF* está altamente expresada en la MZ, pero pobremente en la EDZ (Aichinger *et al.*, 2011; Gu *et al.*, 2014). La sobreposición en los patrones de expresión indican que la zonación de la raíz está definida a través de la actividad recíproca, mejor que en los patrones de expresión de *PCR2* y *PKL*.

Las variantes en la di- o trimetilación de la H3K4 (H3K4me2 o H3K4me3) son abundantes en la eucromatina y están asociadas en general a la activación de la transcripción. Varias proteínas en *Arabidopsis* han mostrado actividad de TrxG-like en la acción de H3K4 metiltransferasa, entre ellas están las proteínas SET DOMAIN GROUP (SDG) como *ATX1*, *ATX2*, *ATX7* y *SDG2*. El crecimiento de la raíz en los mutantes *atx1* y *sdg2* está severamente afectado debido a una organización anormal en el CQ, con una reducida división celular en la MZ (Yao *et al.*, 2013; Napsucialy-Mendil *et al.*, 2014), la expresión de *PTL* en el mutante *sdg2* está minimizada, por lo que *SGD2* controla la H3K4me2/3 en el desarrollo de la raíz vía la regulación de la expresión de *PLT* (Yao *et al.*, 2013). En la MZ se expresan fuertemente *ATX1* y *SDG2*.

La H3K4me3 en la región promotora del gen *WOX5* es crucial para la expresión específica de *WOX5* en el CQ (Zhang *et al.*, 2015). *ROW1* es una proteína que contiene una región PHD con dos dominios, *BRCA1* en el extremo carboxiterminal y un dominio *RING*, y se expresa en la MZ, pero no en el CQ (Fig. 3A). En la MZ, *ROW1* se une a H3K4me3 en el promotor de *WOX5* para secuestrar la función promotora de H3K4me3. Sin embargo, en el CQ, la expresión de *ROW1* está ausente, así la H3K4me3 puede inducir la expresión de *WOX5* (Fig. 3A), consistente, el mutante *row1* causa la expresión ectópica de *WOX5* en el ápice de la raíz, con un fenotipo similar al de la sobreexpresión de *WOX5* con un abundante contenido de almidón en la columnela (Sarkar *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2015).

Las DNA metiltransferasa, excepto para DRM1, se expresan intensamente en el ápice de la raíz de *Arabidopsis* (Jullien *et al.*, 2012). Sin embargo, las mutaciones que pudieran ayudar al estudio de estas enzimas no han sido fructíferas. La pérdida de la DNA metiltransferasas permite el movimiento de transposones, que frecuentemente generan mutaciones en los genes y causan morfologías anormales, por lo que es difícil definir el efecto directo en la mutación en los genes en estudio o los efectos colaterales generados.

3. Dinámica entre eucromatina y heterocromatina

La estructura de la cromatina está controlada no solamente a nivel de las modificaciones de las histonas, también está controlada por la dinámica en las histonas, lo cual está regulado por las chaperonas (Fig. 3B). Evolutivamente las chaperonas de las histonas se han conservado. La chaperona con función anti-silenciamiento, ASF1 se une al dímero H3-H4 (English *et al.*, 2006; Natsume *et al.*, 2007) en el citoplasma y se encuentra involucrada en la importación del complejo al núcleo (Campos *et al.*, 2010). ASF1 entonces transfiere el complejo al sistema involucrado en el ensamblaje del nucleosoma. En *Arabidopsis* se encuentran dos genes que codifican para *ASF1* ortólogos. En mamíferos, dos vías distintas controlan la posición de la histona H3.1 o la variante H3.3. CAF1 (Chromatin Assembly Factor 1) consiste de tres subunidades p150, p60 y p48, que promueve la asociación del nucleosoma en una forma dependiente a la síntesis de DNA (Smith y Stillman, 1989; Gaillard *et al.*, 1996). En *Arabidopsis*, las proteínas del complejo formado por p150, p60 y p48 de mamíferos, se encuentra codificado por *FASCIATA1* (*FAS1*), *FASCIATA2* (*FAS2*) y *MULTICOPY SUPPRESSOR IRA1* (*MSI1*) respectivamente (Fig. 3B; Kaya *et al.*, 2001). Las plantas con defectos en los genes *ASF1*, *FAS1* y *FAS2* muestran anormalidades pleiotrópicas severas durante el ciclo de vida, mostrando con ello la importancia del papel de las chaperonas de las histonas en el desarrollo. La otra vía en el control de posición de la H3.3 se promueve por el complejo regulador de histonas (HIR complex), el cual es independiente de la síntesis de DNA (Fig. 3B; Ray-Gallet *et al.*, 2002; Tagami *et al.*, 2004). El complejo HIR esta constituido por HIRA (HISTONE REGULATOR A), UBN (UBINUCLEIN) y por CABIN1 (CAICINEURIN BINDING PROTEIN 1; Duc *et al.*, 2015; Ray-Gallet *et al.*, 2002; Tagami *et al.*, 2004).

En los mutantes de uno de los componentes de *CAF1*, *FAS1* y *FAS2*, las raíces crecen más lento en comparación con las plantas silvestres, este efecto es debido a la disminución en la actividad mitótica y la alteración en la organización del CQ (Leyser y Furner, 1992; Kaya et al., 2001; Ramírez-Parra y Gutiérrez, 2007). El patrón de expresión de *SCR*, gen fundamental en el establecimiento del CQ y de la simetría radial, las raíces de los mutantes *fas* no se mantiene la expresión de éste gen. Sin embargo, la relación entre *CAF1* y otros genes relacionados del CQ como *WOX5* y *PLT*, permanece sin conocerse.

E. Zona de alargamiento y diferenciación celular

Las células, después de varios ciclos celulares en la MZ, entran a la TZ y con ello se inicia el alargamiento celular (Fig. 1A). En la TZ, se realiza la endorreduplicación lo que acompaña el alargamiento de la célula; la endorreduplicación es un modo especial del ciclo celular en el que la replicación del DNA se repite sin que ocurra la mitosis y la citocinesis, por lo que, en cada célula la cantidad de DNA se incrementa (valor conocido como *c*). Con la endorreduplicación se inicia el alargamiento y el compromiso celular (Inzé y De Veylder, 2006; Kalve *et al.*, 2014), en que se ha demostrado la existencia de una relación entre ellos, aunque el mecanismo aún no se conoce. Sin embargo, se ha observado que existe una relación entre el control epigenético y la estabilidad del genoma, relación que se da al inicio del proceso de endorreduplicación.

Una vez que las células pasan de la TZ a la EZ, rápidamente se alargan y se diferencian para entrar a la MaZ (Fig. 1). Las células producidas en la MZ no son mayores de 10 μm de longitud en el eje de mayor expansión y en la EZ las células alcanzan una longitud de cientos de micrómetros. El incremento en volumen celular, como la división en MZ contribuyen en mayor medida al crecimiento de la raíz.

Como se mencionó anteriormente existen dos tipos de histonas H3 de plantas: la H3.1 y la H3.3. La diferencia entre ellas son los aminoácidos en la posición de 32, 41, 87 y 90, la secuencia para la H3.1 es T31, Y41, H87, L90; mientras que para la H3.3 es A31, F41, S87, A90 (Ingouff y Berger, 2010). A pesar de la gran similitud, ambos grupos poseen funciones distintas en el control de la estructura de la cromatina. H3.3 se incorpora en la cromatina en una fase diferente a la S del ciclo celular, y su deposición esta correlacionada con

la actividad de transcripción de los genes, sugiriendo por ello, que H3.3 se encuentra involucrada en la formación de la eucromatina (Mito *et al.*, 2005). A diferencia, la H3.1 se incorpora en la cromatina durante la replicación del DNA o fase S y esta histona está enriquecida en dimetilación en la Lys9, formando la H3K9me2, la cual está asociada al silenciamiento y la formación de la heterocromatina (Fig. 3B; Peters y Schübeler, 2005). El complejo CAF-1 juega un papel esencial en la incorporación de H3.1 durante la replicación del DNA. En las plantas, las subunidades CAF-1, FAS1 y FAS2, fueron identificadas en mutantes de *Arabidopsis* con una organización anormal del meristemo y en la endorreduplicación. En los mutantes *fas1* y *fas2* la poliploidia es mayor que en los silvestres, dando un aumento en el tamaño de las células epidérmicas en las hojas con un mayor número de tricomas (Exner *et al.*, 2006). En estos mutantes, ocurre un incremento en los niveles de expresión de los genes del *DNA-double-strand break (DSB)-induced genes*, con un aumento en la reparación del DNA (Schönrock *et al.*, 2006; Ramirez-Parra y Gutierrez, 2007). Existe un incremento pequeño, aunque significativo de *DSB* en el mutante *fas* en comparación al silvestre; *DSB* promueve tempranamente la endorreduplicación e induce que se detenga el ciclo celular entre la fase G2 a M (Adachi *et al.*, 2011), la baja estabilidad genómica puede resultar de la endorreduplicación temprana en los mutantes *fas*, lo cual sugiere que CAF-1 media la incorporación de H3.1 y con ello aumenta la estabilidad genómica y previene el daño al ADN. Los mutantes *fas1* y *fas2* poseen un meristemo radicular pequeño (Kaya *et al.*, 2001), indicando una rápida transición de la división a la endorreduplicación; si este es el caso, CAF-1 se encuentra involucrado en el control de la estabilidad del genoma en las raíces, ya que las mutantes *fas1* y *fas2* presentan un índice mitótico bajo (Ramirez-Parra y Gutierrez, 2007), la temprana transición a la endorreduplicación es una consecuencia de la baja actividad de las cinasas dependientes de ciclinas, las cuales inhiben la progresión de G2/M y promueven el inicio de la endorreduplicación (De Veylder *et al.*, 2011). En los mutantes *atx1-1*, el meristemo radicular es de pequeño tamaño e impide la transición a la fase de alargamiento, lo cual sugiere la posibilidad de que en los mutantes *fas1* y *fas2* poseen un daño en la división celular en la MZ, pero no es afectada la endorreduplicación. CAF-1 está asociado con el control del tamaño del meristemo de la raíz, en donde CAF-1 está activamente involucrado en el

control de la estabilidad del genoma en la MZ, donde la endorreducción está suprimida.

El crecimiento rápido en la EDZ requiere del rearrreglo de la pared celular, lo cual está controlado por proteínas como la xiloglucan endotransglucosidasa (XET), la endo-1-4- β -D-endoglucanasa (EGasa), expansinas (EXP) y la ATPasa de H⁺ (PM-H⁺-ATPasa o MHA; Geilfus *et al.*, 2011). La expresión en maíz de *ZmEXPB2* y *ZmXET1* se encuentra regulada por la acetilación de la H3K9, los genes *ZmHATB* que codifican para la acetiltransferasa de histonas (HAT) y *ZmEXP2* incrementan su expresión bajo condiciones de salinidad (Li *et al.*, 2014). El estrés salino sobrerregula la expresión de *ZmHATB* y *ZmGCN5*, HAT media la acetilación de H3K9 que es requerida para la inducción de *ZmEXPB2* y *ZmXET1* en la EDZ, permitiendo el alargamiento celular.

Lecturas sugeridas

Petricka J.J., Winter C.M., Benfey P.N. "Control of *Arabidopsis* root development." *Annual Review of Plant Biology*. (2012). 63:563-590.

Sozzani R., Iyer-Pascuzzi A. "Postembryonic control of root meristem growth and development." *Current Opinion in Plant Biology*. (2014). 17: 7-12.

Takatsuka H., Umeda M. "Epigenetic control of cell division and cell differentiation in the root apex." *Frontiers in Plant Science*. (2015). 6: 1178.

Ubeda-Tomas S, Beemster G.T., Bennett M.J. "Hormonal regulation of root growth: integrating local activities into global behaviour." *Trends in Plant Science*. (2012). 17:326-331.

Referencias bibliográficas

- Estructura de la raíz, nicho de células madre de la raíz y control hormonal en el tamaño de meristemo apical de la raíz

Adachi S., Minamisawa K., Okushima Y., Inagaki S., Yoshiyama K., Kondou Y., *et al.* "Programmed induction of endoreduplication by DNA double-strand breaks in *Arabidopsis*". *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA*. (2011). 108, 10004–10009. doi: 10.1073/pnas.1103584108.

Aida M., Beis D., Heidstra R., Willemsen V., Blilou I., Galinha C., Nussaume L., Noh Y.S., Amasino R., Scheres B. "The PLETHORA genes mediate patterning of the *Arabidopsis* root stem cell niche." *Cell*. (2004). 119:109-120.

Achard P., Gusti A., Cheminant S., Alioua M., Dhondt S., Coppens F., Beemster G.T., Genschik P. "Gibberellin signaling controls cell proliferation rate in *Arabidopsis*." *Current Biology*. (2009). 19:1188-1193.

Amano Y., Tsubouchi H., Shinohara H., Ogawa M., Matsubayashi Y. "Tyrosine-sulfated glycopeptide involved in cellular proliferation and expansion in *Arabidopsis*." *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA*. (2007). 104:18333-18338.

Band L.R., Ubeda-Tomas S., Dyson R.J., Middleton A.M., Hodgman T.C., Owen M.R., Jensen O.E., Bennett M.J., King J.R. "Growth-induced hormone dilution can explain the dynamics of plant root cell elongation." *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA*. (2012). 109:7577-7582.

- Blilou I., Xu J., Wildwater M., Willemsen V., Paponov I., Friml J., Heidstra R., Aida M., Palme K., Scheres B. "The PIN auxin efflux facilitator network controls growth and patterning in *Arabidopsis* roots." *Nature*. (2005). 433:39-44.
- Brady S.M., Orlando D.A., Lee J.Y., Wang J.Y., Koch J., Dinneny J.R., Mace D., Ohler U., Benfey P.N. "A high-resolution root spatiotemporal map reveals dominant expression patterns." *Science*. (2007). 318:801-806.
- Carlsbecker A., Lee J.Y., Roberts C.J., Dettmer J., Lehesranta S., Zhou J., Lindgren O., Moreno-Risueno M.A., Vaten A., Thitamadee S., *et al.* "Cell signalling by microRNA165/6 directs gene dose dependent root cell fate." *Nature*. (2010). 465:316-321.
- Cui H., Levesque M.P., Vernoux T., Jung J.W., Paquette A.J., Gallagher K.L., Wang J.Y., Blilou I., Scheres B., Benfey P.N. "An evolutionarily conserved mechanism delimiting SHR movement defines a single layer of endodermis in plants." *Science*. (2007). 316:421-425.
- Cruz-Ramírez A., Diaz-Trivino S., Blilou I., Grieneisen V.A., Sozzani R., Zammioudis C., Miskolczi P., Nieuwland J., Benjamins R., Dhonukshe P. *et al.* "A bistable circuit involving SCARECROW RETINOBLASTOMA integrates cues to inform asymmetric stem cell division." *Cell*. (2012). 150:1002-1015.
- Dello Ioio R., Galinha C., Fletcher A.G., Grigg S.P., Molnar A., Willemsen V., Scheres B., Sabatini S., Baulcombe D., Maini P.K. *et al.* "A PHABULOSA/cytokinin feedback loop controls root growth in *Arabidopsis*." *Current Biology*. (2012). 22:1699-1704.
- Dello Ioio R., Linhares F.S., Scacchi E., Casamitjana-Martinez E., Heidstra R., Costantino P., Sabatini S. "Cytokinins determine *Arabidopsis* root-meristem size by controlling cell differentiation." *Current Biology*. (2007). 17:678-682.
- Dello Ioio R., Nakamura K., Moubayidin L., Perilli S., Taniguchi M., Morita M.T., Aoyama T., Costantino P., Sabatini S. "A genetic framework for the control of cell division and differentiation in the root meristem." *Science*. (2008). 322:1380-1384.
- De Smet I., Vassileva V., De Rybel B., Levesque M.P., Grunewald W., Van Damme D., Van Noorden G., Naudts M., Van Isterdael G., De Clercq R., *et al.* "Receptor-like kinase ACR4 restricts formative cell divisions in the *Arabidopsis* root". *Science*. (2008). 322:594-597.

Galinha C., Hofhuis H., Luijten M., Willemsen V., Blilou I., Heidstra R., Scheres B. "PLETHORA proteins as dose-dependent master regulators of *Arabidopsis* root development." *Nature*. (2007). 449:1053-1057.

Galweiler L., Guan C., Muller A., Wisman E., Mendgen K., Yephremov A., Palme K. "Regulation of polar auxin transport by AtPIN1 in *Arabidopsis* vascular tissue." *Science*. (1998). 282:2226-2230.

González-García M.P., Vilarrasa-Blasi J., Zhiponova M., Divol F., Mora-García S., Russinova E., Cano-Delgado A.I. "Brassinosteroids control meristem size by promoting cell cycle progression in *Arabidopsis* roots." *Development*. (2011). 138:849-859.

Grieneisen V.A., Xu J., Maree A.F., Hogeweg P., Scheres B. "Auxin transport is sufficient to generate a maximum and gradient guiding root growth." *Nature*. (2007). 449:1008-1013.

Hacham Y., Holland N., Butterfield C., Ubeda-Tomas S., Bennett M.J., Chory J., Savaldi-Goldstein S. "Brassinosteroid perception in the epidermis controls root meristem size." *Development*. (2011). 138:839-848.

Helariutta Y., Fukaki H., Wysocka-Diller J., Nakajima K., Jung J., Sena G., Hauser M.T., Benfey P.N. "The SHORT-ROOT gene controls radial patterning of the *Arabidopsis* root through radial signaling." *Cell*. (2000). 101:555-567.

Heo J.O., Chang K.S., Kim I.A., Lee M.H., Lee S.A., Song S.K., Lee M.M., Lim J. "Funneling of gibberellin signaling by the GRAS transcription regulator scarecrow-like 3 in the *Arabidopsis* root." *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA*. (2011). 108:2166-2171.

Krecek P., Skupa P., Libus J., Naramoto S., Tejos R., Friml J., Zazimalova E. "The PIN-FORMED (PIN) protein family of auxin transporters." *Genome Biology*. (2009). 10:249.

Levesque M.P., Vernoux T., Busch W., Cui H., Wang J.Y., Blilou I., Hassan H., Nakajima K., Matsumoto N., Lohmann J.U. *et al.* "Whole genome analysis of the SHORT-ROOT developmental pathway in *Arabidopsis*." *PLoS Biology*. (2006). 4:e143.

Matsubayashi Y., Sakagami Y. "Phytosulfokine, sulfated peptides that induce the proliferation of single mesophyll cells of *Asparagus officinalis* L." *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA*. (1996). 93: 7623-7627.

- Matsuzaki Y., Ogawa-Ohnishi M., Mori A., Matsubayashi Y. "Secreted peptide signals required for maintenance of root stem cell niche in *Arabidopsis*." *Science*. (2010). 329:1065-1067.
- Moubayidin L., Di Mambro R., Sozzani R., Pacifici E., Salvi E., Terpstra I., Bao D., van Dijken A., Dello Ioio R., Perilli S. *et al.* "Spatial coordination between stem cell activity and cell differentiation in the root meristem." *Developmental Cell*. (2013). 26:405-415.
- Moubayidin L., Perilli S., Dello Ioio R., Di Mambro R., Costantino P., Sabatini S. "The rate of cell differentiation controls the *Arabidopsis* root meristem growth phase." *Current Biology*. (2010). 20(12):1138-43.
- Mouchel C.F., Osmont K.S., Hardtke C.S. "BRX mediates feedback between brassinosteroid levels and auxin signalling in root growth." *Nature*. (2006). 443:458-461.
- Ortega-Martínez O., Pernas M., Carol R.J., Dolan L. "Ethylene modulates stem cell division in the *Arabidopsis thaliana* root." *Science*. (2007). 317:507-510.
- Sabatini S., Heidstra R., Wildwater M., Scheres B. "SCARECROW is involved in positioning the stem cell niche in the *Arabidopsis* root meristem." *Genes and Development*. (2003). 17:354-358.
- Sarkar A.K., Luijten M., Miyashima S., Lenhard M., Hashimoto T., Nakajima K., Scheres B., Heidstra R., Laux T. "Conserved factors regulate signalling in *Arabidopsis thaliana* shoot and root stem cell organizers." *Nature*. (2007). 446:811-814.
- Scacchi E., Salinas P., Gujas B., Santuari L., Krogan N., Ragni L., Berleth T., Hardtke C.S. "Spatio-temporal sequence of crossregulatory events in root meristem growth." *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA*. (2010). 107:22734-22739.
- Scheres B. "Stem-cell niches: nursery rhymes across kingdoms. Nature Reviews." *Molecular Cell Biology*. (2007). 8:345-354.
- Sozzani R., Cui H., Moreno-Risueno M.A., Busch W., Van Norman J.M., Vernoux T., Brady S.M., Dewitte W., Murray J.A., Benfey P.N. "Spatiotemporal regulation of cell-cycle genes by SHORTROOT links patterning and growth." *Nature*. (2010). 466:128-132.

Stahl Y., Grabowski S., Bleckmann A., Kuhnemuth R., Weidtkamp-Peters S., Pinto K.G., Kirschner G.K., Schmid J.B., Wink R.H., Hulsewede A. *et al.* "Moderation of *Arabidopsis* root stemness by CLAVATA1 and ARABIDOPSIS CRINKLY4 receptor kinase complexes." *Current Biology*. (2013). 23:362-371.

Stahl Y., Wink R.H., Ingram G.C., Simon R. "A signaling module controlling the stem cell niche in *Arabidopsis* root meristems." *Current Biology*. (2009). 19:909-914.

Stepanova A.N., Robertson-Hoyt J., Yun J., Benavente L.M., Xie D.Y., Dolezal K., Schlereth A., Jurgens G., Alonso J.M. "TAA1-mediated auxin biosynthesis is essential for hormone crosstalk and plant development." *Cell*. (2008). 133:177-191.

Takahashi N., Kajihara T., Okamura C., Kim Y., Katagiri Y., Okushima Y., *et al.* "Cytokinins control endocycle onset by promoting the expression of an APC/C activator in *Arabidopsis* roots." *Current Biology*. (2013). 23: 1812–1817. doi:10.1016/j.cub.2013.07.051.

Takatsuka H., Umeda M. "Hormonal control of cell division and elongation along differentiation trajectories in roots." *Journal of Experimental Botany*. (2014). 65:2633–2643. doi: 10.1093/jxb/ert485.

Tsakagoshi H., Busch W., Benfey P.N. "Transcriptional regulation of ROS controls transition from proliferation to differentiation in the root." *Cell*. (2010). 143:606-616.

Ubeda-Tomas S., Federici F., Casimiro I., Beemster G.T., Bhalerao R., Swarup R., Doerner P., Haseloff J., Bennett M.J. "Gibberellin signaling in the endodermis controls *Arabidopsis* root meristem size." *Current Biology*. (2009). 19:1194-1199.

Ubeda-Tomas S., Swarup R., Coates J., Swarup K., Laplaze L., Beemster G.T., Hedden P., Bhalerao R., Bennett M.J. "Root growth in *Arabidopsis* requires gibberellin/DELTA signalling in the endodermis." *Nature Cell Biology*. (2008). 10: 625-628.

van den Berg C., Willemsen V., Hendriks G., Weisbeek P., Scheres B. "Short-range control of cell differentiation in the *Arabidopsis* root meristem." *Nature*. (1997). 390(6657):287-289.

Welch D., Hassan H., Blilou I., Immink R., Heidstra R., Scheres B. *Arabidopsis* JACKDAW MAGPIE zinc finger proteins delimit asymmetric cell division and stabilize tissue boundaries by restricting SHORT-ROOT action. *Genes and Development*. (2007). 21:2196-2204.

Wildwater M., Campilho A., Perez-Perez J.M., Heidstra R., Blilou I., Kor-thout H., Chatterjee J., Mariconti L., Gruissem W., Scheres B. "The *RETINOBLASTOMA-RELATED* gene regulates stem cell maintenance in *Arabidopsis* roots." *Cell*. (2005). 123:1337-1349.

- **Control molecular en la especificación del meristemo apical de raíz y zonas de alargamiento y diferenciación celular**

Aichinger E., Villar C.B., Di Mambro R., Sabatini S., Köhler C. "The CHD3 chromatin remodeler PICKLE and polycomb group proteins antagonistically regulate meristem activity in the *Arabidopsis* root." *The Plant Cell*. (2011). 23: 1047–1060. doi:10.1105/tpc.111.083352.

Adachi S., Minamisawa K., Okushima Y., Inagaki S., Yoshiyama K., Kondou Y. *et al.* "Programmed induction of endoreduplication by DNA double-strand breaks in *Arabidopsis*." *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA*. (2011). 108: 10004–10009. doi: 10.1073/pnas.1103584108.

Benhamed M., Bertrand C., Servet C., Zhou D.X. "*Arabidopsis* GCN5, HD1, and TAF1/HAF2 interact to regulate histone acetylation required for light-responsive gene expression." *The Plant Cell*. (2006). 18: 2893–2903. doi: 10.1105/tpc.106.043489.

Benhamed M., Martin-Magniette M.L., Taconnat L., Bitton F., Servet C., De Clercq R., *et al.* "Genome-scale *Arabidopsis* promoter array identifies targets of the histone acetyltransferase GCN5." *The Plant Journal*. (2008). 56: 493–504. doi: 10.1111/j.1365-313X.2008.03606.x.

Campos E.I., Fillingham J., Li G., Zheng H., Voigt P., Kuo W.H., *et al.* "The program for processing newly synthesized histones H3.1 and H4." *Nature Structural and Molecular Biology*. (2010). 17: 1343–1351. doi:10.1038/nsmb.1911.

Chen Z.J., Tian L. "Roles of dynamic and reversible histone acetylation in plant development and polyploidy." *Biochimica et Biophysica Acta*. (2007). 1769: 295–307. doi: 10.1016/j.bbaexp.2007.04.007.

De Veylder L., Larkin J.C., Schnittger A. “Molecular control and function of endoreplication in development and physiology.” *Trends in Plant Science*. (2011). 16: 624–634. doi:10.1016/j.tplants.2011.07.001.

Duc C., Benoit M., LeGoff S., Simon L., Poulet A., Cotterell S., *et al.* “The histone chaperone complex HIR maintains nucleosome occupancy and counterbalances impaired histone deposition in CAF-1 complex mutants.” *The Plant Journal*. (2015). 81: 707–722. doi:10.1111/tpj.12758.

Earley K.W., Shook M.S., Brower-Toland B., Hicks L., Pikaard C.S. “In vitro specificities of *Arabidopsis* co-activator histone acetyltransferases: implications for histone hyperacetylation in gene activation.” *The Plant Journal*. (2007). 52: 615–626. doi:10.1111/j.1365-313X.2007.03264.x.

English C.M., Adkins M.W., Carson J.J., Churchill M.E. Tyler J.K. “Structural basis for the histone chaperone activity of Asf1.” *Cell*. (2006). 127: 495–508. doi:10.1016/j.cell.2006.08.047.

Exner V., Taranto P., Schönrock N., Gruissem W., Hennig L. Chromatin assembly factor CAF-1 is required for cellular differentiation during plant development. *Development*. (2006). 133: 4163–4172. doi:10.1242/dev.02599

Gaillard P.H., Martini E.M., Kaufman P.D., Stillman B., Moustacchi E., Almouzni, G. “Chromatin assembly coupled to DNA repair: a new role for chromatin assembly factor I.” *Cell*. (1996). 86: 887–896. doi:10.1016/S0092-8674(00)80164-6.

Geilfus C.M., Zörb C., Neuhaus C., Hansen T., Lüthen H., Mühling, K.H. “Differential transcript expression of wall-loosening candidates in leaves of maize cultivars differing in salt resistance.” *Journal of Plant Growth Regulation*. (2011). 30: 387–395. doi:10.1371/journal.pone.0118406

Gu X., Xu T., He Y. “A histone H3 lysine-27 methyltransferase complex represses lateral root formation in *Arabidopsis thaliana*.” *Molecular Plant*. (2014). 7: 977–988. doi:10.1093/mp/ssu035

Ingouff M., Berger F. “Histone 3 variants in plants.” *Chromosoma*. (2010). 119, 27–33. doi:10.1007/s00412-009-0237-1.

Inzé D., De Veylder L. “Cell cycle regulation in plant development.” *Annual Review of Genetics*. (2006). 40:77–105. doi: 10.1146/annurev.genet.40.110405.090431.

- Jullien P.E., Susaki D., Yelagandula R., Higashiyama T., Berger F. “DNA methylation dynamics during sexual reproduction in *Arabidopsis thaliana*.” *Current Biology*. (2012). 22: 1825–1830. doi:10.1016/j.cub.2012.07.061
- Kalve S., De Vos D., Beemster G.T. “Leaf development: a cellular perspective.” *Frontiers in Plant Science*. (2014). 5:362. doi:10.3389/fpls.2014.00362.
- Kaya H., Shibahara K.I., Taoka K.I., Iwabuchi M., Stillman B., Araki T. FASCIATA genes for chromatin assembly factor-1 in *Arabidopsis* maintain the cellular organization of apical meristems. *Cell*. (2001). 104: 131–142. doi: 10.1016/S0092-8674(01)00197-0.
- Kornet N., Scheres B. “Members of the GCN5 histone acetyltransferase complex regulate PLETHORA-mediated root stem cell niche maintenance and transit amplifying cell proliferation in *Arabidopsis*.” *The Plant Cell*. (2009). 21: 1070–1079. doi:10.1105/tpc.108.065300.
- Leyser H.M.O., Furner I.J. “Characterization of three shoot apical meristem mutants of *Arabidopsis thaliana*.” *Development*. (1992). 116: 397–403.
- Li H., Yan S., Zhao L., Tan J., Zhang Q., Gao F., *et al.* Histone acetylation associated up-regulation of the cell wall related genes is involved in salt stress induced maize roots welling.” *BioMed Central Plant Biology*. (2014). 14:105. doi:10.1186/1471-2229-14-105.
- Mao Y., Pavangadkar K.A., Thomashow M.F., Triezenberg S.J. “Physical and functional interactions of *Arabidopsis* ADA2 transcriptional coactivator proteins with the acetyltransferase GCN5 and with the cold-induced transcription factor CBF1.” *Biochimica et Biophysica Acta*. (2006). 1759: 69–79. doi:10.1016/j.bbaexp.2006.02.006.
- Mito Y., Henikoff J.G., Henikoff S. “Genome-scale profiling of histone H3.3 replacement patterns.” *Nature Genetics*. (2005). 37: 1090–1097. doi:10.1038/ng1637.
- Napsucially-Mendivil S., Alvarez-Venegas R., Shishkova S., Dubrovsky J.G. “*Arabidopsis* homolog of trithorax1 (ATX1) is required for cell production, patterning, and morphogenesis in root development.” *Journal of Experimental Botany*. (2014). 65: 6373–6384. doi:10.1093/jxb/eru355.

Natsume R., Eitoku M., Akai Y., Sano N., Horikoshi M., Senda T. "Structure and function of the histone chaperone CIA/ASF1 complexed with histones H3 and H4." *Nature*. (2007). 446: 338–341. doi:10.1038/nature05613.

Pandey R., Müller A., Napoli C.A., Selinger D.A., Pikaard C.S., Richards E.J., *et al.* "Analysis of histone acetyltransferase and histone deacetylase families of *Arabidopsis thaliana* suggests functional diversification of chromatin modification among multicellular eukaryotes." *Nucleic Acids Research*. (2002). 30: 5036– 5055. doi:10.1093/nar/gkf660.

Peters A.H., Schübeler D. "Methylation of histones: playing memory with DNA." *Current Opinion in Cell Biology*. (2005). 17: 230–238. doi:10.1016/j.ceb.2005.02.006.

Ramirez-Parra E., Gutierrez C. "E2F regulates FASCIATA1, a chromatin assembly gene whose loss switches on the endocycle and activates gene expression by changing the epigenetic status." *Plant Physiology*. (2007). 144: 105–120. doi: 10.1104/pp.106.094979.

Ray-Gallet D., Quivy J.P., Scamps C., Martini E.M., Lipinski M., Almouzni G. "HIRA is critical for a nucleosome assembly pathway independent of DNA synthesis." *Molecular Cell*. (2002). 9:1091–1100. doi:10.1016/S1097-2765(02)00526-9.

Sarkar A.K., Luijten M., Miyashima S., Lenhard M., Hashimoto, T., Nakajima K., *et al.* "Conserved factors regulate signaling *Arabidopsis thaliana* shoot and root stem cell organizers." *Nature*. (2007). 446, 811–814. doi:10.1038/nature05703.

Schönrock N., Exner V., Probst A., Gruissem W., Hennig L. "Functional genomic analysis of CAF-1 mutants in *Arabidopsis thaliana*." *The Journal of Biological Chemistry*. (2006). 281: 9560–9568. doi:10.1074/jbc.M513426200.

Schuettengruber B., Cavalli G. "Recruitment of polycomb group complexes and their role in the dynamic regulation of cell fate choice." *Development*. (2009). 136, 3531–3542. doi:10.1242/dev.033902.

Smith S., Stillman B. "Purification and characterization of CAF-I, a human cell factor required for chromatin assembly during DNA replication *in vitro*." *Cell*. (1989). 58: 15–25. doi:10.1016/0092-8674(89)90398-X.

Stockinger E.J., Mao Y., Regier M.K., Triezenberg S.J., Thomashow M. F. “Transcriptional adaptor and histone acetyltransferase proteins in *Arabidopsis* and their interactions with CBF1, a transcriptional activator involved in cold-regulated gene expression.” *Nucleic Acids Research*. (2001). 29: 1524–1533. doi:10.1093/nar/29.7.1524.

Tagami H., Ray-Gallet D., Almouzni, G., Nakatani Y. “Histone H3.1 and H3.3 complexes mediate nucleosome assembly pathways dependent or independent of DNA synthesis.” *Cell*. (2004). 116: 51–61. doi:10.1016/S0092-8674(03)01064-X.

Vlachonasios K.E., Thomashow M.F., Triezenberg S.J. “Disruption mutations of ADA2 and GCN5 transcriptional adaptor genes dramatically affect *Arabidopsis* growth, development, and gene expression.” *The Plant Cell*. (2003). 15, 626–638. doi:10.1105/tpc.007922.

Weiste C., Dröge-Laser W. “The *Arabidopsis* transcription factor bZIP11 activates auxin-mediated transcription by recruiting the histone acetylation machinery.” *Nature Communications*. (2014). 5: 3883. doi:10.1038/ncomms4883.

Yao X., Feng H., Yu Y., Dong A., Shen W.H. “SDG2-mediated H3K4 methylation is required for proper *Arabidopsis* root growth and development.” *PLoS ONE*. (2013). 8:e56537. doi:10.1371/journal.pone.0056537.

Zhang X., Germann S., Blus B.J., Khorasanizadeh S., Gaudin V., Jacobsen S.E. “The *Arabidopsis* LHP1 protein colocalizes with histone H3Lys27 trimethylation.” *Nature Structural and Molecular Biology*. (2007). 14:869–871. doi:10.1038/nsmb1283.

Zhang Y., Jiao Y., Liu Z., Zhu Y.X. “ROW1 maintains quiescent centre identity by confining *WOX5* expression to specific cells.” *Nature Communications*. (2015). 6:6003. doi:10.1038/ncomms7003.

Zhang Z-L.; Ogawa M., Fleeta C.M., Zentella R., Hua J., Heo J-O., Limc J., Kamiyab Y., Yamaguchi S., Suna T-P. “SCARECROW-LIKE 3 promotes gibberellin signaling by antagonizing master growth repressor DELLA in *Arabidopsis*.” *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA*. (2011). 108(5): 2160–2165. doi:10.1073/pnas.1012232108.

Capítulo II. Caliptra

Introducción

Darwin fue el primero que observó y propuso que el ápice de la raíz era un órgano sensor y que el crecimiento se da en esa estructura. En la actualidad se sabe que lo que Darwin observó es el crecimiento de la caliptra o cofia. La caliptra posee la función de protección del meristemo apical de la raíz, recibe y transmite señales ambientales para el crecimiento de todo el órgano (Fig. 1).

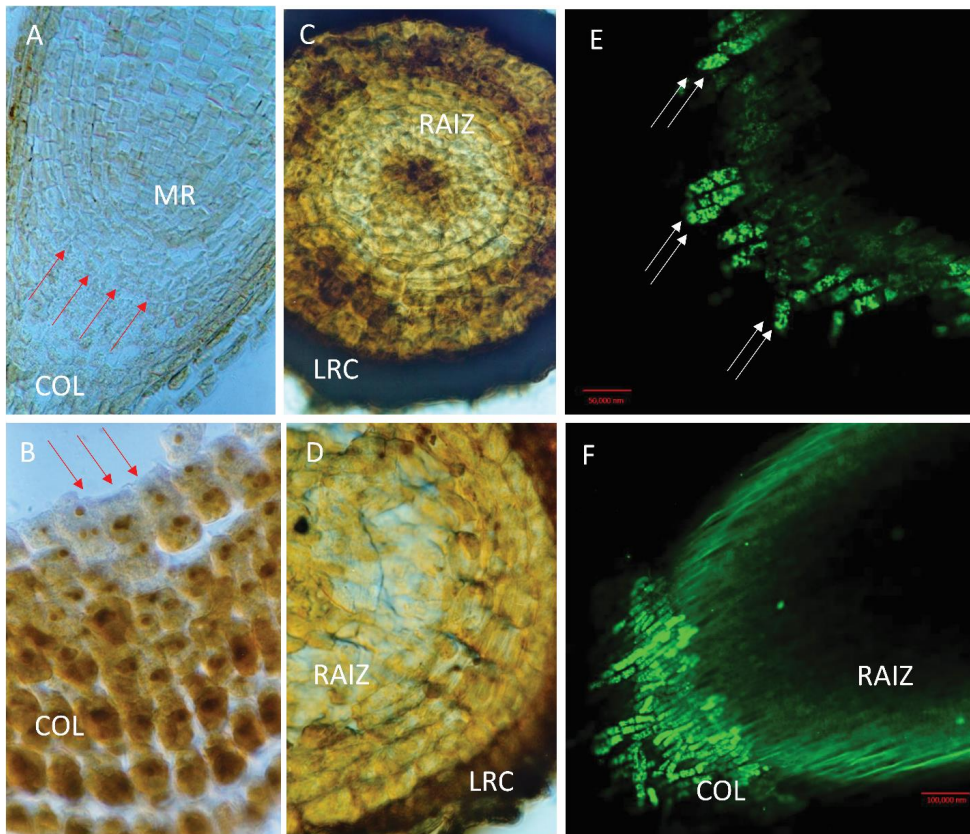


Figura 1. Ápice de la raíz. A-D, ápice de la raíz de *Ipomoea purpurea* mediante técnicas histoquímicas que detectan la hidrólisis de ATP; E y F, ápice de la raíz de maíz, la fluorescencia en las células de la cofia indican la presencia de mitocondrias activas (usando MITORED como fluorógeno). Símbolos; COL, columnela; LRC, células de la cofia lateral; MR, meristemo radicular; →, mitocondrias; flecha roja, caliptrógeno.

La funcionalidad de la cofia se debe a su ubicación en el ápice de la raíz, para mantenerla activa continuamente se da la generación de nuevas células debido al desgaste incesante que sufre esta estructura por efecto de la fricción con las partículas del suelo (Barlow, 2003; Fendrych *et al.*, 2014), por lo que se requiere sustituir las células del borde de la estructura que se pierden con el tiempo. Además, la caliptra debe de proteger únicamente la parte apical de la raíz, por lo que se restringe su crecimiento para evitar que la raíz sea cubierta en su totalidad. En las monocotiledóneas y leguminosas en cierto momento del desarrollo se pierde la asociación entre las células en el borde de la caliptra, liberando células vivas al medio que le rodea o rizosfera (Hamamoto *et al.*, 2006). En otros modelos como *Arabidopsis thaliana*, en las células del borde de la caliptra se da una muerte celular programada que mantiene una población pequeña de células vivas en el margen (Durand *et al.*, 2009; Fendrych *et al.*, 2014).

El desarrollo particular de la cofia se realiza en unos pocos días, en un contexto espacial y temporal restringido, en donde la división, la amplificación, la diferenciación celular y la muerte celular programada (PCD) están altamente reguladas.

A. Evolución y origen de la caliptra

La colonización a los hábitats terrestres se realizó aproximadamente hace 500 millones de años, las plantas tuvieron que adaptarse a la pérdida de agua en un medio seco (Becker y Marin, 2009). Con el propósito de obtener la cantidad de agua perdida en este medio, se desarrollaron órganos especializados para la obtención de agua y nutrimentos del suelo. Las primeras plantas terrestres, tales como los musgos desarrollaron rizoides, estructuras con una función de anclaje del organismo al suelo, de absorción de agua y minerales. La competencia por la luz indujo la selección de plantas con una mayor talla, lo cual a su vez generó un nuevo problema, una mayor necesidad de agua y solutos, que implicó la generación de un sistema de transporte eficiente, que conllevó a desarrollar un órgano capaz de una absorción masiva de agua y nutrimentos. La formación de esta raíz se da por la acción de células madre en el ápice del órgano (Prigge y Benzanilla, 2010). La generación y proceso evolutivo que ocurre en las células madre en el ápice de

la raíz para establecer la raíz y con ello la cofia, requirió adaptaciones específicas para protegerlas de factores externos provenientes del suelo que las rodeaba, y que las dañaba durante el crecimiento. Con pocas excepciones, las plantas que poseen una raíz poseen una caliptra.

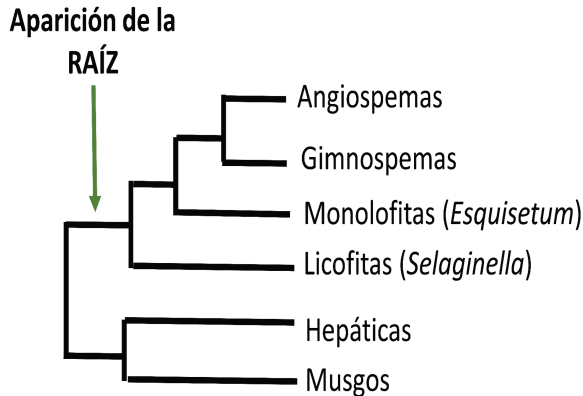


Figura 2. Relaciones filogenéticas en el origen de la raíz de las plantas terrestres. En el esquema se señala el punto en que evolutivamente aparece la raíz entre los organismos terrestres. La figura es una modificación de los datos de Prigge y Bezanilla, 2010; von Guttenber, 1966; Sitte *et al.*, 1998; Haberland, 1904; Rost, 2011).

Las plantas del género *Selaginella* han desarrollado meristemas radiculares más complejos con grupos de células madre específicas en las cuales la producción y el crecimiento de la raíz está coordinado (Barlow, 1994; Prigge y Bezanilla, 2010). En las Monolofitas como *Esquisetum* o cola de caballo y en los helechos como *Dennstaedtia*, la raíz incluyendo a la cofia se deriva de una única célula apical que es la fundadora del meristemo, denominada célula apical. Esta célula apical posee la forma tetraédrica y bajo la división celular que se da en diferentes planos, genera una estructura tridimensional que establece el principio de la morfología de la raíz. El análisis de la división celular en el ápice radicular en los helechos, presenta diferentes linajes celulares (Piekarska-Stachowiak y Nakielski, 2013). En esa estructura se expresa un ortólogo del factor de transcripción *WUSCHEL* que se expresa en todas las células del linaje generado de la célula apical, con excepción de las células que darán origen a la caliptra, indicando un programa distintivo entre las capas (Nardmann y Werr, 2012).

En las angiospermas, como algunas especies del género *Brassica* que muestran un meristemo cerrado, se forman los diferentes linajes celulares a partir de células madre específicas, las cuales al final todas se comprometen y diferencian, la cofia es una estructura que se forma en capas celulares. En las leguminosas como en *Pisum* poseen un meristemo abierto, en que siempre se mantiene un nicho de células totipotenciales, con una menor diferencia en las células madre que dan origen a la caliptra (Haberland, 1904; von Guttenber, 1966; Sitte *et al.*, 1998; Priegge y Bezanilla, 2010; Rost, 2011). Existe una gran variedad en la organización de la caliptra, siendo un órgano conservado en la evolución de las plantas terrestres (Fig. 2)

B. Estructura de la caliptra

1. *Manutención de las células madre y diferenciación de la caliptra*

En la caliptra de *Arabidopsis* pueden distinguirse dos tipos tisulares, la columnella (COL) en la parte central y la caliptra periférica (Lateral Root Cap, LRC; Fig. 3; Dolan *et al.*, 1993). Las células de la COL se localizan distantes a las células del centro quiescente (Fig. 1A, 1B); las células de la COL son voluminosas, arregladas en hileras y en ellas se encuentran los estatolitos, los cuales son plastidios que contienen almidones y que por su mayor masa sedimentan de acuerdo a la gravedad; estos estatolitos forman parte del mecanismo de detección de la gravedad por la caliptra (Strohm *et al.*, 2012). La LRC se encuentran en la periferia de la COL (Fig. 1A, 1C y 1D), estas células producen mucilago que sirve de lubricante que disminuye la fricción con el suelo durante el crecimiento de la raíz.

En las dicotiledóneas, existen en las raíces dos regiones meristemáticas contiguas con células madre: el meristemo de la raíz, que da origen a la estructura propia de la raíz: corteza y cilindro central; y el caliptrógeno, que se encuentra adosado al meristemo radicular y lo rodea en la parte apical, originará la epidermis de la raíz y a la cofia en las dicotiledóneas. Las células de la COL y de LRC se producen por diferentes grupos de células meristemáticas del caliptrógeno.

Las células madre del caliptrógeno en el dominio central se encuentra conformando una placa celular en el borde inferior del CQ (Fig. 1A, 1B, 1F y

3). La división celular en el caliptrógeno genera nuevas células, un número constante de células producto de la división se mantiene en el sitio y retienen la capacidad totipotencial manteniendo la población de células madre, mientras que las otras células hijas en la posición central y distal a ésta división se comprometen y diferencian para formar la COL (Fig. 3; Wenzel y Rost, 2001). Mientras que las células hijas del caliptrógeno que se ubican en una posición periférica se dividen y dan origen a las LRC, como en el caso de los cereales (Wang *et al.*, 2014).

En *Arabidopsis* las células de la LRC se forman a partir de una célula inicial precursora del caliptrógeno lateral. Sin embargo, en las dicotiledóneas a diferencia de las monocotiledóneas, la epidermis y la LRC (EPI/LRC) se originan de una célula madre común, la cual derivada del dominio lateral del caliptrógeno. Las células madre laterales del caliptrógeno forman un anillo que rodea a las células madre centrales que forman la placa que dan origen a la COL (Fig. 3). En contraste a las células madre de la COL, las células madre de la EPI/LRC presentan dos divisiones en diferente plano. La primera división es anticlinal y da origen a dos células hijas, una de ellas queda como célula inicial o reservorio de células de la EPI/LRC, mientras que la otra célula hija más lejana de la zona meristemática cambia el plano de división y se divide periclinalmente por segunda vez, generando nuevamente dos células: la célula madre de la epidermis en la parte interna, mientras que la célula en la posición más externa generará a la célula madre de LRC (Fig. 3; Wenzel y Rost, 2002; Willemsen *et al.*, 2008), ambas células iniciales se dividen consecutivamente en el plano anticlinal para generar las células hijas que se comprometerán y diferenciarán en cada una de las dos estructuras (Wenzel y Rost, 2002).

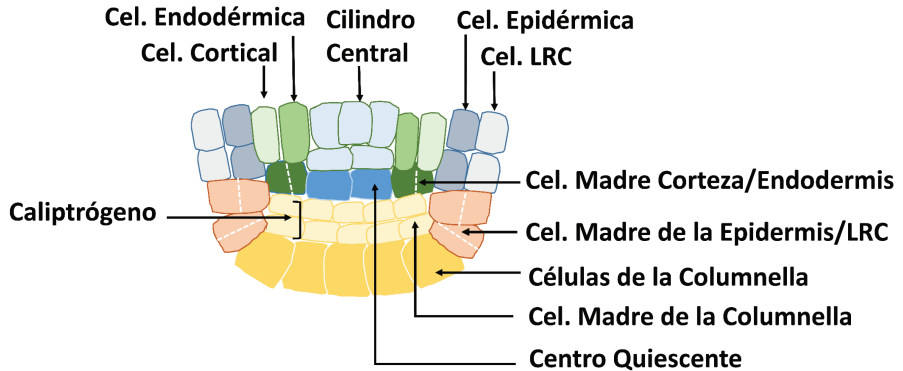


Figura 3. Nicho de células madre en el ápice de la raíz. Detalles del nicho celular en el ápice de la raíz de *Arabidopsis*. Se muestra en diferentes colores las células madre que dan origen a la raíz, a la columnella y la parte distal de la caliptra; se muestra el plano de división de las células del caliptrógeno que darán origen a la epidermis de la raíz y las de la cofia lateral. Dos divisiones formativas ocurren en la célula del caliptrógeno lateral para dar origen a la EPI y a la LRC en líneas discontinuas. Símbolos: COL, columnela; COR, células corticales; END, endodermis; EPI, epidermis.

La división de la célula madre de la COL, por su parte, se coordina con la división periclinal de la célula inicial de la EPI/LRC, de forma tal que existe una coherencia en la formación de la caliptra (Wenzel y Rost, 2001), lo que permite generar una morfología estructurada en hileras de células o en capas bien definidas (Fig. 3). Conforme se dan varios ciclos de división celular, las células más viejas son desplazadas hacia la periferia. Mientras que la capacidad de división de las células madre de la COL está restringida a un número menor de ciclos, las células madre de la EPI/LRC siguen dividiéndose anticlinalmente generando a las células de la epidermis y de la LRC, las cuales se comprometen y se alargan (Camilho *et al.*, 2006). La capa de células de la LRC más vieja ocupa la parte externa de la cofia, la posición se establece conforme se dan varios ciclos de división celular y éstas células son desplazadas al borde del ápice de la estructura, de ahí nuevamente son desplazadas hacia la zona de alargamiento, y son vecinas de las células epidérmicas de la raíz en expansión. La expansión de las células epidérmicas es la señal mecánica que induce la muerte celular programada de las células maduras de la LRC (Fendrych *et al.*, 2014). Por su parte, las células de la COL

conforme se dan varias divisiones celulares son desplazadas en la región central de la cofia hacia la parte más distal al caliptrógeno, estas células son las más viejas de la columnella, son separadas de la estructura y entran en el procesos de muerte celular programada (PCD; del Campillo *et al.*, 2004).

Varios factores de transcripción controlan el balance entre la manutención de las células madre de la cofia y su diferenciación, entre los que se encuentran los factores NAC [(NO APICAL MERISTEM (NAM), ARABIDOPSIS TRANSCRIPTION ACTIVATOR FACTOR (ATAF)] y CUC (CUP-SHAPE COTYLEDON). Especialmente FEZ un factor tipo NAC promueve la división que forma a las células madre de la EPI/LRC y de la COL (Fig. 4; Willemsen *et al.*, 2008). En el mutante *fes* la división que forma a la célula madre de la EPI, se realiza en forma similar como ocurre en el silvestre, sin embargo, la división de la célula madre de la COL y de la LRC se presenta con una menor frecuencia (Willemsen *et al.*, 2008). SOMBRERO (SMB) otro factor de transcripción de tipo NAC, promueve la diferenciación de células jóvenes de la caliptra; en el mutante *smb* existen estratos adicionales de la COL y la LRC, pero no entran en diferenciación (Willemsen *et al.*, 2008). Una vía de retroalimentación se ha propuesto, en donde FEZ activa la expresión de *SMB* en la célula hija en diferenciación después de que ocurre la división de la célula madre, a su vez *SMB* reprime la expresión de *FEZ* previniendo una próxima división de la célula hija comprometida y subsecuente pasa a la diferenciación y la maduración de la LRC (Fig. 4; Willemsen *et al.*, 2008; Bennett *et al.*, 2010).

Otros dos factores de transcripción NAC, BEARSKIN1 (BRN1) y BRN2 están implicados en la regulación del compromiso a COL (Fig. 4). En el doble mutante la COL madura, pero falla en desprender a las células en la parte distal, sugiriendo que los genes *BRN* son redundantes entre sí en la separación entre célula a célula en los estratos maduros externos de la cofia; por su parte, en el triple mutante *smb brn1 brn2*, la COL aparece desorganizada, por lo que se confirma la función redundante de *SMB* y en el control de la maduración de la caliptra (Bennet *et al.*, 2010). En la caliptra se expresa el gen *CELLULASE3 (CEL3)* y *CEL5*, que codifican para enzimas que están involucradas en el compromiso celular para COL (del Campillo *et al.*, 2004), estas enzimas son intensamente reguladas negativamente en el mutante *smb brn1 brn2*, lo cual está asociado a una regulación transcripcional asociada al complejo de remodelación de la pared celular (Bennet *et al.*, 2010).

En *Arabidopsis*, la proteína RETINOBLASTOMA-RELATED (RBR) se encuentra involucrada en el control de la salida del ciclo celular y diferenciación de las células hijas de la COL (Fig. 4). La reducción en la raíz de los niveles de RBR provoca un incremento en los estratos de células madre indiferenciadas de la COL (Wildwater *et al.*, 2005; Cruz-Ramírez *et al.*, 2013). La co-eliminación de *FEZ* y *RBR* resulta en un rescate parcial de lo que ocurre solo con la pérdida de función de *RBR*, por lo que la actividad de *FEZ* se encuentra involucrada en la producción del fenotipo, sin que se conozca a fondo el mecanismo mediante el cual *RBR* reprime a *FEZ* en las células madre de la COL (Bennet *et al.*, 2014).

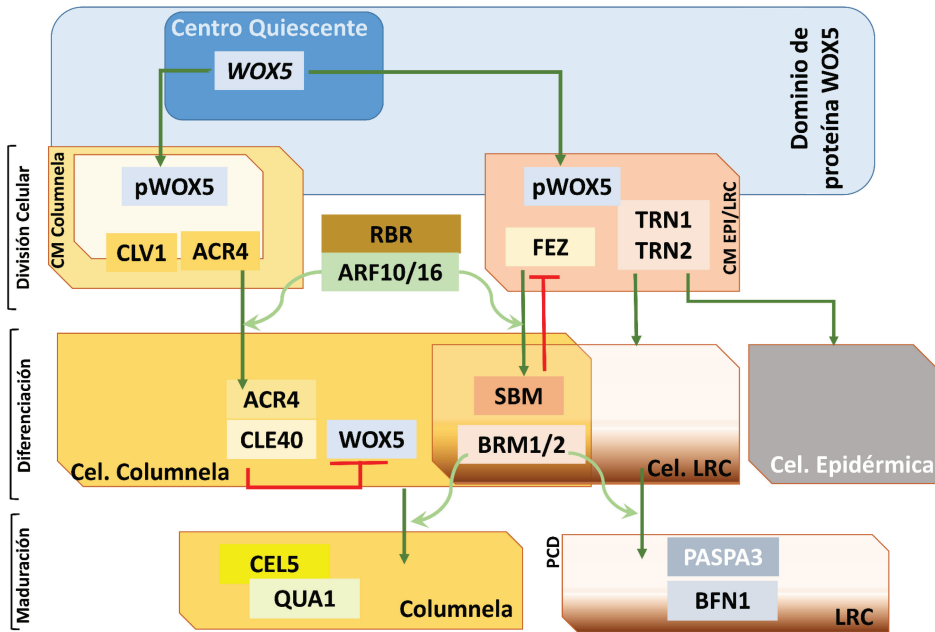


Figura 4. Modelo que muestra el mecanismo de mantenimiento las células madre y la diferenciación de las células hijas. El esquema muestra la coordinación entre la zona de influencia del centro quiescente, las células madre de la columnella y las células madre de la epidermis/cofia lateral y la relación relación entre componentes que regulan la inducción, compromiso y diferenciación de las células de la caliptra. Símbolos: CM, célula madre; EPI, epidermis; LRC, cofia lateral; PCD, muerte celular programada; los nombres de los factores involucrados se encuentran en texto. Flechas en verde; activación génica; línea roma roja, inactivación del gen.

En la vía de señalización, a nivel del efecto de *RBR* en el control de división de las células madre de la COL se encuentran los factores de respuesta a auxina *ARF10* y *ARF16* (Fig. 4). La pérdida combinada de la función de *ARF10* y *ARF16* provoca una caliptra desorganizada con estratos extra de células parecidas a las células madre de COL (Wang *et al.*, 2005); una situación similar a la eliminación de *RBR*, en que *FEZ* contribuye al fenotipo del mutante a *rf20 arf16*, en los cuales *FEZ* se sobrexprea ligeramente, en que la forma de regulación de *FEZ* por estos ARF no se conoce (Bennet *et al.*, 2014). La mutación combinada de *SMB*, *RBR* y *ARF10/16* muestra fenotipos aditivos en la diferenciación de la COL y la LRC, sugiriendo que *RBR* y ARF contribuyen al control de la vía de diferenciación de la caliptra (Bannet *et al.*, 2014).

Mediante la técnica de ablandamiento con un rayo laser que daña microdominios del CQ, se induce a las células madre del caliptrógeno a diferenciarse, por lo que, señales derivadas del CQ previenen la diferenciación del caliptrógeno (van den Berg *et al.*, 1997). En el CQ se expresa *WUSCHEL-RELATED HOMEODOMAIN 5* (*WOX5*) que codifica para un factor de transcripción. Se ha propuesto que la proteína derivada de la expresión de *WOX5* posee capacidad de moverse y mantiene un dominio de células sin diferenciar (Fig. 4; Sarkar *et al.*, 2007). Se ha demostrado que *WOX5* controla la actividad de las células madre de la COL vía *SMB* (Bennet *et al.*, 2014). *SMB* se expresa ectópicamente en los mutantes *wox5*, pero es eliminada la expresión de *SMB* a las 24 h cuando se induce la expresión sistémica de *WOX5*; además, la inducción de la expresión de *WOX5* provoca que las células madre no entren en diferenciación, y las células ya comprometidas/diferenciadas se desdiferencian y entran en ciclos de división. La expresión errónea de *WOX5* solo afecta la expresión de *SMB* en la COL y no en las células LRC (Bennett *et al.*, 2014). *WOX5* probablemente controla a las células madre de la COL en una forma celular no-autónoma.

En el mecanismo de manutención de las células madre de la caliptra, se encuentra involucrado la percepción de señales a través de receptores tipo cinasa (RLK; Wierzbica y Tax, 2013). Existen más de 600 genes de *RKL* en el genoma de *Arabidopsis*, uno de estos genes es *ARABIDOPSIS CRINKLY4* (*ACR4*) el cual se expresa en las células madre de la COL, de la LRC y sus descendientes (Fig. 4). El mutante *acr4* posee defectos en la diferenciación de la COL, con estratos extras de células madre (De Smet *et al.*, 2008). Varios péptidos son probablen-

te ligandos del receptor RLK; en el mutante del péptido CLE40, un miembro de la familia de ligandos CLAVATA3/EMBRYO SURROUNDING REGION (CLE) posee un fenotipo similar al del mutante *acr4*, si al mutante *cle40* se la proporciona exógenamente el péptido CLE40 se induce prematuramente la diferenciación de las células madre de la COL (Stahl *et al.*, 2013); la insensibilidad de los mutantes *acr4* a la aplicación de CLE40 y la expansión en la expresión *WOX5* en *acr4* y *cle40* sugiere un modelo en el que CLE40 activa a ACR4 para restringir la expresión de *WOX5*, lo que permite la diferenciación celular para formar la COL (Fig. 4; Stahl *et al.*, 2013). Los mutantes *clv2* muestran una acumulación de células madre indiferenciadas de la COL. La expresión de *ACR4* y *CLV1* se sobreponen espacialmente, los receptores tipo RLK puede físicamente interactuar, de forma tal que se pueden formar homo o heterodímeros entre ellos, que son requeridos para diferentes funciones en diferentes sitios para promover la diferenciación (Stahl *et al.*, 2013).

Un cruce entre las vías de respuesta a las fitohormonas, procesos de señalamiento y regulación transcripcional controlan la manutención de la totipotencialidad de las células madre en la caliptra y su diferenciación a COL y LRC (Fig. 4).

2. Influencia de la caliptra en la arquitectura de la raíz

Conforme pasa el tiempo, la raíz aumenta en complejidad, en que se debe de incluir el inicio del desarrollo de las raíces laterales, su emergencia y crecimiento (Robbins y Dinneny, 2015). A pesar de la ubicación apical de la caliptra en la raíz principal, ésta posee una influencia sobre la formación de las raíces laterales.

La caliptra expresa el gen *IBR3* que codifica para una proteína involucrada en la conversión del ácido indol 3-butírico un precursor en la vía de biosíntesis de la auxina. *IBR3* y otros parálogos en *Arabidopsis* muestran una sobreposición en su expresión en las zonas de las células de LRC, sugiriendo que la conversión a auxina se realiza en esa zona y la acumulación local puede jugar un papel importante para marcar los sitios de emergencia de la futura raíz lateral (De Rybel *et al.*, 2012). Las fluctuaciones oscilatorias de la auxina en las células de la LRC, inducen una respuesta en los tejidos de la raíz adyacentes a ésta, una de las respuesta coadyuva a influenciar al polo

xilemático en el periciclo para adquirir un pre-compromiso de la ramificación radicular (Moreno-Risueno *et al.*, 2010). No todos los sitios de pre-compromiso en la ramificación llegan a ser raíces laterales, pero la amplitud de la oscilación determina la frecuencia y espaciamiento de la posición de los sitios de la emergencia de la raíz lateral (Xuan *et al.*, 2015, para más detalle ver la sección de raíz lateral).

Bajo condiciones controladas de laboratorio, las raíces laterales se forman predominantemente en los sitios de la raíz que están en contacto con una superficie húmeda, un fenómeno determinado como hidromarca (Robbins y Dinneny *et al.*, 2015). No se conoce completamente el mecanismo, pero la biosíntesis local de auxina vía la enzima TRYPTOPHAN AMINOTRANSFERASE OF ARABIDOPSIS1 (*TAA1*) está implícita en este proceso (Bao *et al.*, 2014). *TAA1* se expresa en las células de la LRC y de la epidermis, en condiciones experimentales el contacto con una película húmeda induce la sobreexpresión de *TAA1*. Los mutantes *taa1* con pérdida de la función muestran una reducción significativa en el hidromarca (hydropatterning), lo que sugiere que *TAA1* media la síntesis de auxina que es necesaria para inducir la formación de la raíz lateral hacia una superficie húmeda. La expresión local de *TAA1* en el mutante *taa1* es capaz de restaurar los defectos en la hidromarca, y parece ser que la localización específica de *TAA1* que media la biosíntesis de auxina es requerida para esta respuesta (Bao *et al.*, 2014).

Además de la humedad, la disposición de macromoléculas solubles tales como fosfato, determina la arquitectura de la raíz. La deficiencia de fosfato provoca una disminución del crecimiento de la raíz primaria concomitante con el aumento en el número de raíces laterales (Williamson *et al.*, 2001). *LOW PHOSPHATE ROOT1 (LPR1)* se ha identificado como un locus cuantitativo de característica (QTL, quantitative trait locus) explicando la variación en los ecotipos de *Arabidopsis* en respuesta a la diferente cantidad de fosfato disponible (Reymond *et al.*, 2006). *LPR1* es un gen que codifica para una proteína con actividad oxidasa multicobre y el QTL puede ser explicado por una expresión diferencial de *LPR1* en la caliptra de los diferentes ecotipos de *Arabidopsis*. *LPR2* y *LPR1* son responsables de regular los fenotipos en suelos deficientes de fosfatos (Svistonoff *et al.*, 2007), por lo que la caliptra puede jugar un papel en determinar y reaccionar ante las deficiencias de fosfatos e influenciar el desarrollo del sistema radicular.

3. Desprendimiento de la caliptra

Durante el desarrollo de las plantas, los órganos siguen dos principios opuestos en el crecimiento: el determinado *vs* el indeterminado. En el crecimiento indeterminado, los meristemas de la raíz o del tallo continuamente producen nuevas células, manteniendo una cantidad de células madre o totipotenciales, mientras que el resto de las células son desplazadas fuera del meristemo, se comprometen y diferencian, con ello se da la formación y crecimiento de los órganos. En contraste, el crecimiento determinado se da en órganos laterales como las hojas, la flor y en las raíces embrionarias de los cereales; durante el desarrollo embrionario se establece el meristemo con un número definido de células totipotenciales, las cuales después de una serie de rondas de división, todas las células se comprometen, sin que se mantenga un grupo de células madre, de forma tal que el grupo de células iniciales poseen una actividad límite de proliferación; lo que conduce a que el tamaño del órgano sea establecido y determinado por el número de células original, limitando la vida a un periodo definido, y que generalmente la vida media es corta (Tsukaya, 2003). La caliptra sin embargo, no cumple estrictamente con una de las dos clases, las células madre en el caliptrógeno en el dominio de la COL y LRC continuamente se dividen y producen nuevas células de una forma semejante a un crecimiento indeterminado; mientras que en la caliptra se encuentra el mismo número de células diferenciadas que determinan el tamaño del órgano (Barlow, 2003). La caliptra muestra una homeostasis en la cual el número de células viejas son renovadas por un número similar de células nuevas.

El crecimiento de la raíz empuja a la caliptra contra el suelo, ejerciendo un fuerte estrés mecánico, el recambio de células proporciona beneficios para la caliptra y el organismo; la vida corta de las células de la caliptra y la velocidad de proliferación están coordinadas para mantener las dimensiones de la caliptra y la posición en el ápice de la raíz en crecimiento. En contraste a la epidermis de la raíz que cubre totalmente al órgano, las células de la cofia solamente cubren el ápice en donde se encuentra el meristemo apical radicular (Fig. 1A), de forma tal que en las dicotiledoneas cuando las células madre de la EPI/LRC se dividen periclinalmente, se forma una nuevo módulo epidérmico y uno de caliptra lateral; en el caso de la epidermis,

estas nuevas células cubren la superficie del órgano en crecimiento y en el caso de la LRC reestablecen a las células que se pierden en la LRC (Wenzel y Rost, 2001). La asociación entre las células a través de su estirpe celular no permite su migración en forma independiente, las células madre de la caliptra crean nuevas células continuamente en coordinación con las células madre del meristemo de la raíz. Conforme las células son desplazadas a la periferia como ocurre en las cucurbitáceas, las leguminosas y los cereales, se disuelven las láminas medias entre las paredes celulares de células vecinas, causando la liberación de células vivas en el borde de la caliptra hacia la rizósfera (Driouich *et al.*, 2007). Las células sueltas del borde de la caliptra varía en número, de decenas a miles por caliptra, dependiendo de la edad y la especie (Hamamoto *et al.*, 2006). En *Arabidopsis*, las células de la LRC entran en una muerte celular programada y una rápida autólisis, proceso que ocurre en el borde o superficie de la caliptra a la altura de la zona de alargamiento de la raíz (Fendrych *et al.*, 2014). Existe un segundo sitio de muerte celular programada, se realiza en la LCR más próximas a las células de la COL en la parte más alejada del caliptrogeno y se da en grupos de células que se separan en paquete y poseen una vida muy corta una vez separadas del resto de la caliptra (Vicré *et al.*, 2005). La caliptra en *Arabidopsis* emplea ambos mecanismos para regular la cantidad y disposición de los estratos de la caliptra. Existe un mecanismo altamente controlado entre el nacimiento, desprendimiento y muerte de las células que permita mantener una caliptra organizada y de un tamaño constante.

El factor de transcripción BRN1 y BRN2, controla la expresión de varios genes involucrados en la remodelación de la pared celular (Fig. 4). *CEL5* codifica para una β -1-4 endoglucanasa en la caliptra, la pérdida de función en el mutante *cel5* muestra una pequeña disminución aunque significativa en la capacidad de desprendimiento de células (del Campillo *et al.*, 2004). Mutantes con defectos en la biosíntesis de xiloglucanos, celulosa o pectinas componentes de la pared celular han sido estudiados, sin embargo, solo los mutantes deficientes en la homogalacturan glucosil transferasa, codificada por *QUASIMODO1* (*QUA1*) y la metil transferasa *QUA2* muestran una alteración en el desprendimiento de las células del borde de la caliptra; en los mutantes *qua1* o *qua2* en lugar del desprendimiento en paquete de células, se realza en forma de células individuales (Durand *et al.*, 2009).

El desprendimiento de las células de la COL es un proceso conspicuo y éste es único de la raíz de *Arabidopsis*. Se ha demostrado que el proceso de desprendimiento de las células involucra es un mecanismo controlado de desarrollo e involucra una estricta regulación en la muerte celular programada (PCD) que se realiza en las células de la LRC (Fig. 4; Frendrych *et al.*, 2014). Uno de los primeros marcadores moleculares de que indica que se ha iniciado el proceso de PCD, es la expresión de los genes que codifican para las enzimas hidrolíticas, que incluyen a BIFUNCTIONAL NUCLEASE1 (BFN1) y la PASP3 (SAPONIN-LIKE ASPARTYL PROTEASE-ENCODING). La pérdida del vigor celular se da rápidamente en forma altamente ordenada, se inicia con una acidificación del citoplasma, seguida por una desintegración de la membrana plasmática unos minutos después y finalmente con el colapso de la vacuola (Frendrych *et al.*, 2014). El proceso que se da en de PCD de las células de la LRC se ha caracterizado como la “muerte celular vacuolar” (van Doorn *et al.*, 2011). La acidificación precede a la desintegración de las membranas plasmática y del tonoplasto, lo cual se ha demostrado que es necesario y suficiente para realizar efectivamente los eventos subsecuentes (Frendrych *et al.*, 2014). Esta forma de PCD contrasta con el modelo preestablecido de que el colapso de la vacuola provoca la acidificación del citoplasma y precede a la disgregación de la membrana plasmática (Hara-Nishimura y Hatsugai, 2011; van Doorn *et al.*, 2011). La acidificación del citoplasma dispara varios procesos que contribuyen a la iniciación de la PCD; el mecanismo fino de cómo se da esta acidificación no está establecido claramente, pero a un pH ácido se activan proteasas que están asociadas a la muerte celular en *Arabidopsis*, como la METACASPASE9 (MC9) y la ICE-like semejante a la de los mamíferos (Furlong *et al.*, 1997; Watanabe y Lam, 2011).

La nucleasa BFN1 es un candidato para la ejecución de la PCD asociado a la senescencia (Pérez-Amador *et al.*, 2000) y otros procesos en plantas (Farage-Barhom *et al.*, 2008). La expresión de *BFN1* y *PASP3* es dependiente de la promoción de la diferenciación por el factor de transcripción SMB, la expresión y el consecuente proceso de PCD son las últimas etapas en el desarrollo de la cofia (Frendrych *et al.*, 2014). En el mutante *smb* con pérdida de función, las células LRC que se encuentran a la altura de la región de alargamiento de la raíz son incapaces de inducir regularmente la PCD; la pérdida de la función de *SMB* posee consecuencias severas para las LRC, en

los mutantes viables de *smb* las LRC pueden alcanzar tres veces la longitud promedio en comparación a las células de la caliptra de los silvestres. El efecto combinado en el mutante *smb* de la incapacidad de la PCD y el incremento del tamaño celular, provoca un tamaño doble de la caliptra, sin que el meristemo se vea afectado.

En el mutante *smb* las LRC se mueren, pero lo realizan en una forma aberrante; *BFN1* y *PASP3* no se expresan y las LRC de *smb* no se autodegradan después de que están muertas; por lo que la superficie de la raíz está cubierta de cadáveres celulares (Frendrych *et al.*, 2014). En el fenotipo de *smb* es más intenso el efecto en las LRC cuando se somete a la deshidratación en comparación a lo que ocurre en el mutante *bfn1*, sugiriendo que diferentes enzimas hidrolíticas orquestan la remoción de las células cadáver. El tratamiento con drogas que provocan la reducción de la expansión celular no alteran la PCD en el silvestre; sin embargo, en el mutante *smb* provoca un aumento significativo en la sobrevivencia de las LRC, por lo que la PCD en *smb* es fundamentalmente diferente a los silvestres (Frendrych *et al.*, 2014), por lo que se sugiere que la PCD en *smb* es una consecuencia pasiva al estrés ejercido por la expansión de la epidermis en la zona de alargamiento de la raíz en lugar de un proceso activo controlado de la PCD.

SMB confiere un grado de diferenciación a las LRC que es necesario para prepararla para la inducción y ejecución de la PCD (Fig. 4). Las características de las LRC son suficientes para inducir el proceso ectópicamente de la PCD; el mutante *tornado* (*trn*) posee un defecto en la proteína de membrana semejante a tetraspamina que genera que las células epidérmicas adquieran las características de la LRC (Cnops *et al.*, 2000). La inducción de características de una célula LRC ubicada en la epidermis de la raíz es suficiente para inducir la expresión de *PASP3* seguido de la PCD similar a lo que ocurre normalmente en la LRC (Frendrych *et al.*, 2014).

El tiempo de ejecución de la PCD en las LRC y la autólisis celular parece ser crucial para facilitar el crecimiento de la raíz. La longitud de las células epidérmicas y la longitud de la raíz se reducen un 20% en los mutantes *smb*, esta reducción se produce por las LRC vivas o por la falta del procesamiento de los cadáveres de ellas en la zona de alargamiento de la raíz que obstruyen la expansión en esta zona (Frendrych *et al.*, 2014). Lo que demuestra que

el crecimiento del órgano completo y su arquitectura depende de la regulación de la PCD que se da en la caliptra en *Arabidopsis thaliana*.

4. Características de la caliptra y la rizosfera

La rizosfera es la capa de suelo que rodea y que influencia a la raíz. La actividad fisiológica y secretora de las células de la raíz tiene un efecto indirecto en la condición biótica o abiótica de la rizosfera. La caliptra secreta activamente un polímero denominado mucílago (Wen *et al.*, 2007; Cai *et al.*, 2013). La secreción del mucílago provee a la raíz de un lubricante que facilita el crecimiento de la raíz entre las partículas del suelo (McKenzie *et al.*, 2013). En los pastos, los rizodepositos contiene alrededor del 25% de carbón secretado por la raíz y que en gran parte es producto de esta secreción (Jones *et al.*, 2009).

En los productos de secreción de la caliptra, se encuentran metabolitos secundarios, los cuales influyen a la comunidad microbiótica que existe en la rizosfera, afectando a ambos patógenos o simbioses (Bais *et al.*, 2006). Las células del borde de la caliptra en el caso del chícharo, han mostrado que están involucradas en la defensa local contra oomicetes patógenos por medio de la secreción de fenoles antimicrobianos (Cammesan *et al.*, 2011). El bloqueo de la secreción de proteínas por medio de la belfeldrina A o por la degradación enzimática de proteínas extracelulares, incrementa la infección por hongos (Wen *et al.*, 2007). El pH del suelo y la disponibilidad de nutrientes se modifican por secreción de iones y queladores desde la cofia (Hinsinger *et al.*, 2009; Tsednee *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2015). El estilo de vida de las plantas está influenciado por la actividad de la rizosfera en relación al desprendimiento de las células del borde de la caliptra, el proceso de PCD y degradación de la superficie de la raíz. Las plantas que no poseen células del borde no son capaces de asociarse a la mayoría de los hongos y bacterias simbióticas, por lo que se ha especulado que existe una correlación entre la producción de células de borde de la caliptra y la capacidad de formar asociaciones entre los microorganismos, como los fijadores de nitrógeno (Hamamoto *et al.*, 2006).

C. Papel de la caliptra en la regulación de la dirección en el crecimiento

Las plantas se adaptan a señales ambientales tales como la luz, agua, temperatura, nutrimentos y la gravedad, que modifican su crecimiento. La respuesta de la planta con un crecimiento direccional por efecto de un factor externo se denomina tropismo. El primero en estudiar estos tropismos fue Charles Darwin y su hijo Christopher, quienes describen el crecimiento de los coleóptilos por efecto de la luz.

Desde el momento que la raíz embrionaria protruye durante la germinación, este órgano inmediatamente se orienta para crecer en el suelo con un gravitropismo positivo, de forma tal que pueda realizar sus funciones como anclaje, absorción de agua y nutrimentos.

La gravedad es detectada por la raíz en la columnella de la caliptra, pero la respuesta gravitacional se da en la zona de alargamiento de la raíz. Existe una separación física entre la zona de detección y la zona de respuesta a la gravedad. El gravitropismo en la raíz puede ser dividido en fases distintas tanto espacial como temporalmente: percepción de la gravedad, generación y movilización de la señal desde la COL, inducción del crecimiento diferencial en el tejido efector y reestablecimiento de los flujos de fitohormonas (Swarup y Bennet, 2009).

1. Percepción de la gravedad o gravitropismo

La caliptra es el sitio de la percepción de la gravedad, su participación se determinó mediante la disección de la caliptra, en que el efecto en el crecimiento de la raíz fue indiferente a la gravedad, a lo que se denominó raíces agravitópicas (Barlow, 1974; Blancaflor y Masson, 2003; Morita y Tasaka, 2004). Estudios en que se daña selectivamente a diferentes células de la caliptra, demostraron que las células de la columnella son la zona de detección de la gravedad (Blancaflor *et al.*, 1998; Tsugeki y Fedoroff, 1999; Tanaka *et al.*, 2002). En *Arabidopsis*, existen normalmente cuatro estratos de células de la columnella denominadas S1 a S4, de las cuales la S1 y la S2 son las más importantes en la detección del gravitropismo (Blancaflor *et al.*, 1998). Las células de la columnella contienen filas de amiloplastos y son *per se* los que cumplen la función en la detección de la gravedad, lo cual postula la

hipótesis del almidón-estatólitos (Fig. 5; Haberlandt, 1900; Němec, 1900). La sedimentación de los amiloplastos por efecto de la gravedad se transduce en una cascada de señales en la COL, la que a su vez genera una señal que es transmitida a la zona de alargamiento de la raíz que es el tejido de respuesta o de gravirrespuesta (Leitz *et al.*, 2009; Band *et al.*, 2012a; Baldwin *et al.*, 2013; Blancaflor, 2013; Swarup *et al.*, 2013).

Se han propuesto modelos alternativos a la hipótesis del almidón-estatólito. La hipótesis de la presión del protoplasto se basa en los cambios de presión ejercido por el citoplasma sobre la membrana plasmática en respuesta al estímulo gravitacional (Wayne *et al.*, 1990; Wayne y Staves, 1996), de forma tal, que también explica el efecto agravitrópico en los mutantes con defectos en los granos de almidón (Kiss y Sack, 1989; Kiss *et al.*, 1996; MacCleery y Kiss, 1999; Fitzelle y Kiss, 2001; Band *et al.*, 2012a). Se ha propuesto que evolutivamente las plantas han generado múltiples mecanismos de detección de la gravedad (Barlow, 1995), en donde se ha observado que la hipótesis del almidón-estatólitos y la presión del protoplasto operan conjuntamente (Fig. 5; Perbal, 1999). Adicionalmente, se ha propuesto la existencia de micrositios que detectan la gravedad en la caliptra fuera de la columnella (Wolverton *et al.*, 2012a, 2012b).

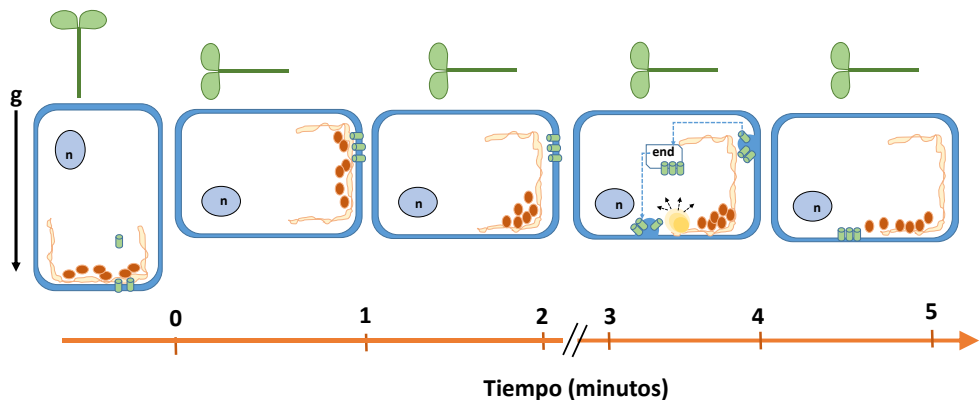


Figura 5. Percepción de la gravedad. En *Arabidopsis* al tiempo 0, las raíces crecen verticalmente, cuando se giran 90° se dan los siguientes eventos: a los 10 segundos, los estatólitos (círculos café) se encuentran en la parte lateral de la célula, que correspondería a la cara basal en la posición vertical al tiempo 0; entre los 10 segundos a los 3 minutos, primero el núcleo (n) con una mayor densidad, seguido por los estatólitos que se desplazan hacia la nueva cara inferior; posteriormente los estató-

litos se distribuyen uniformemente en esta cara basal; la presión de los estatolitos sobre las membranas del retículo endoplasmático (end) y la membrana plasmática pueden activar canales mecanosensores y liberar señales (cilindros verdes), entre ellas, el ión Ca^{2+} del retículo endoplásmico (círculo amarillo que muestra el gradiente mediante las flechas). La figura es una adaptación de los datos publicados por Leitz *et al.*, 2009; modificada de la de Sato *et al.*, 2015.

Una vez que se detecta la gravedad en las células centrales de la columella, se da un cambio en el pH en el citoplasma variando de 7.2 a 7.6, mientras que en los mutantes *pgm* que no poseen almidón no se da este cambio (Fasano *et al.*, 2001). Por lo que existe una relación directa entre el cambio de pH y la sedimentación de los estatolitos (Fig. 6; Scott y Allen, 1999; Fasano *et al.*, 2001; Hou *et al.*, 2004), en apoyo a lo anterior, el uso de agentes acidificantes y/o alcalinizantes alteran la respuesta de la gravedad. Los mutantes *arg1* son agrivotropicos, la respuesta a la gravedad, en los que se determinó que el cambio del pH esta asociado al efecto en la dirección de la gravedad (Fig. 6; Boonsirichai *et al.*, 2003).

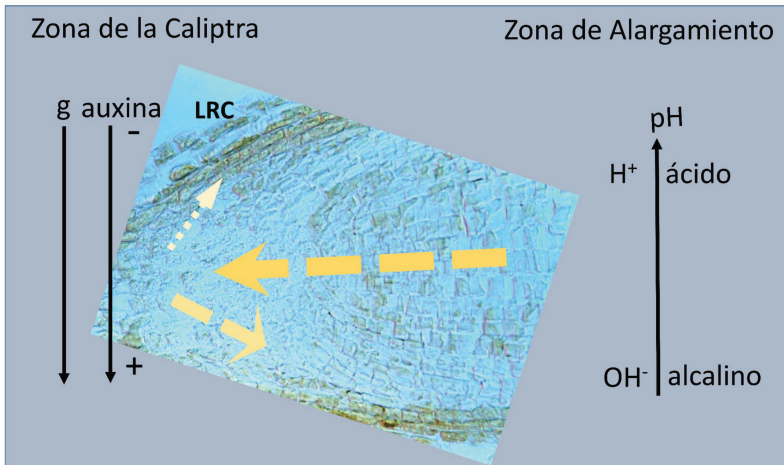


Figura 6. Flujo de auxina y cambio del pH en una raíz graviestimulada. El flujo de auxina (flechas amarillas) se da por la relocalización de los PIN3 y PIN7 lo cual ocurre a los 2 minutos después de iniciar el graviestimulo, por consecuencia se genera un gradiente de auxina lateral y un gradiente de pH, con la parte superior más ácida, mientras que la porción inferior es más alcalina en la raíz graviestimulada. Figura modificada de Sato *et al.*, 2015, y de los datos de Monshaussen *et al.*, 2011.

Se ha especulado en relación de la forma en que la señal física generada por la sedimentación del estatolito puede a su vez generar una señal fisiológica móvil. Se ha propuesto la existencia de una interacción entre la sedimentación de los amiloplastos y las proteínas del retículo endoplásmico o de la membrana plasmática (Fig. 5), lo cual se encuentra basado en las observaciones de los rizoides del alga *Chara*. Los rizoides son células sencillas, poseen percepción a la gravedad y generan una señal como respuesta. Los estatolitos de *Chara* contienen cristales de sulfato de bario, los cuales son capaces de detectar la gravedad si se encuentran depositados sobre sitios específicos de la membrana plasmática o sitios sensibles a la gravedad (Limbach *et al.*, 2005). Se ha sugerido que no es la presión que ejerce el estatolito sobre la membrana la que genera la señal, en su lugar se ha propuesto una interacción tipo receptor-ligando entre la membrana del estatolito y la membrana en que es depositado el estatolito lo que dispara la señal de percepción (Braum y Limback, 2006). Los defectos en el gravitropismo de los mutantes carentes de granos de almidón en la caliptra se pueden rescatar en condiciones de hipergravedad (Fitzelle y Kiss, 2001), lo que implica que en las plantas ocurre el mismo mecanismo de percepción de la gravedad. Esta evidencia es confirmada por el complejo de proteínas TOC (translocon of outer membrane chloroplast) que forma parte de un sistema de receptores-ligandos (Stanga *et al.*, 2009). El complejo TOC es importante para la incorporación de proteínas del cloroplasto que se codifican en el núcleo y presumiblemente de forma similar en el amiloplasto. *MAR1* y *MAR2* codifican para componentes del complejo TOC. Mutaciones en *TOC132* aumentan los defectos gravitrópicos en los mutantes sin almidones (Strohm *et al.*, 2014), lo que sugiere que los plastidios y con ello los estatolitos, pueden funcionar como transductores de la gravedad, facilitando la interacción entre una proteína que actúa en forma de ligando en la membrana externa del amiloplasto y una proteína receptora en la membrana plasmática o del retículo endoplásmico (Stanga *et al.*, 2009).

Un nuevo actor en el mecanismo de percepción son los canales iónicos mecanorreceptores los que pueden estar involucrados en la percepción de la gravedad (Sievers, 1991; Perbal y Driss-Ecole, 2003). Estos canales iónicos pueden ser activados por la fuerza que ejerce la sedimentación el estatolito en las membranas blanco; mediante microscopía electrónica se muestra

que la sedimentación de los amiloplastos deforma la membrana del retículo endoplásmico (Leitz *et al.*, 2009). Inhibidores de los canales iónicos mecanosensores inhiben el gravitropismo (Caldwell *et al.*, 1998), sin embargo, estudios genéticos no han aportado evidencia al respecto (Nakagawa *et al.*, 2007; Haswell *et al.*, 2008), sin que esto sea concluyente, los canales mecanosensores pueden estar implícitos en este proceso.

Se encuentra información contradictoria en el papel de la actina en el gravitropismo en la raíz (Blancaflor y Hasenstein, 1997; Staves, 1997; Yamamoto y Kiss, 2002; Friedman *et al.*, 2003; Hou *et al.*, 2003, 2004; Palmieri y Kiss, 2005; Mancuso *et al.*, 2006). Se ha llegado a la conclusión que la actina actúa como un regulador positivo en el gravitropismo, la disgregación de los microfilamentos por efecto de la sedimentación de los estatolitos permite la sedimentación en los sáculos del retículo endoplásmico cortical y con ello aumentar la deformación en la membrana de este organelo. Proteínas clave involucradas en estados tempranos en la percepción de la gravedad, tales como ARG1 (Boonsirichai *et al.*, 2003) y el homólogo en el chícharo de MAR2 que forma parte del complejo TOC (Jouhet y Gray, 2009) pueden unirse a la actina, esto implica una asociación entre los estatolitos y el citoesqueleto en la percepción de la gravedad; lo cual encuentra soporte por la asociación de la actina con CHUP1 (CHLOROPAST UNUSUAL POSITIONING1), una proteína en la membrana externa del cloroplasto (Oikawa *et al.*, 2003; Schmidt von Braun y Schleiff, 2008).

2. Transducción de la señal

La gravedad es percibida en las células de la columnella, pero la zona de respuesta a la gravedad es la zona de alargamiento de la raíz. Una vez que son detectados los cambios en la gravedad en las células centrales de la columnella se genera una señal, la cual es transferida a la zona de alargamiento en donde se da la respuesta (Went, 1926; Cholodny, 1927). Se ha demostrado mediante un enfoque farmacológico, genético y de biología celular que la señal generada es la auxina. Con el uso de reporteros inducidos por la auxina, el DR5, IAA2 o el sensor DII 28 (Brunoud *et al.*, 2012) se ha demostrado una acumulación diferencial entre la parte inferior y la superior de la raíz graviestimulada o puesta en posición horizontal (Fig. 6; Ottensschläger *et al.*, 2003; Swarup y Bennett, 2009; Band *et al.*, 2012a).

El ácido indol 3-acético (IAA), la auxina de mayor acción en plantas superiores, es un ácido débil; la IAA dependiendo del pH apoplastico puede estar en su forma iónica (IAA⁻), la que no difunde a través de la membrana plasmática. Sin embargo, conforme el pH del apoplasto se acidifica, entra un balance entre la forma iónica (IAA⁻) y la forma no iónica (IAAH). La auxina puede ser movilizada entre una célula a otra célula en forma direccional, el movimiento de la auxina está acorde a la explicación en el modelo de transporte polar de la auxina (Rubery y Shelldrake, 1974; Raven, 1975) que propone la existencia de transportadores especializados de influjo y eflujo de auxina, con una localización dentro de la célula en forma asimétrica, lo que provee la base para el movimiento direccional de la auxina. Desde el punto de vista molecular y de la biología celular se confirma que el transporte es mediado y facilitado por los transportadores de eflujo e influjo de la auxina (Fig. 7; Bennet *et al.*, 2006; Gälweiler *et al.*, 1998; Swarup *et al.*, 2014).

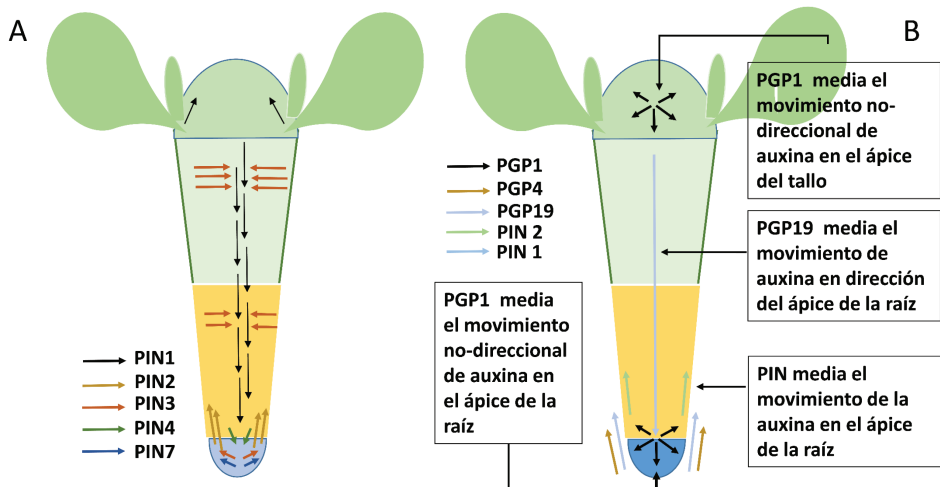


Figura 7. Transporte Polar de la Auxina. El transporte de auxina se establece por la distribución polarizada de los transportadores de influjo y de eflujo, en donde PIN y los transportadores ABC son los actores principales. A, la ubicación de los PIN determina la dirección basal del movimiento de la auxina. La dirección tisular específica de la auxina se da por la redistribución de los diferentes PIN en forma polar, en que PIN1 media el transporte vertical en sentido del ápice del tallo al ápice de la raíz en el embrión/plántula. En el ápice de la raíz la posición del transportador de influjo AUX1 hace que la dirección del movimiento de la auxina se redirija y sea drenada en dirección inversa (basipetala) a través del PIN2, PIN4 lo cual ayuda a la concen-

tración de la auxina en la región apical de la cofia. Una difusión lateral de la auxina se realiza a través de PIN3 en la corteza de la raíz. B, Entre las proteínas de transporte de auxina están las proteínas PGP dependientes de ATP o transportadores ABCB, las cuales cooperan con los PIN. Tanto en el ápice del tallo o de la raíz, la posición de estos transportadores permite una distribución de la auxina con una direccionalidad a partir de un punto focal y con ello la formación de un gradiente a partir de este punto, por ejemplo PGP4 regula los niveles de auxina en la elongación de los tricoblastos. Figura modificada de Blilou *et al.*, 2005.

Los transportadores de influjo de la auxina se encuentran codificados por una pequeña familia de genes que comprende a cuatro miembros (*AUX1* y los genes *LAX* o *AUX1-like*). *AUX1* se expresa en la columnella, la caliptra lateral y las células epidérmicas, tejidos que se encuentran involucrados en la percepción, transmisión y respuesta de la gravedad (Swarup *et al.*, 2001, 2004, 2005, 2014). La mutación del gen *AUX1* resulta en raíces agravitópicas, lo que demuestra la participación de la auxina en el gravitropismo radicular (Bennet *et al.*, 1996; Swarup y Peret, 2012; Swarup *et al.*, 2014) y ha permitido realizar un mapa de los tejidos que requieren el transporte de auxina durante el gravitropismo de la raíz (Swarup *et al.*, 2014). Se ha demostrado que la auxina se moviliza vía las células de la caliptra lateral a las células de la zona de alargamiento, lo cual es una evidencia directa de que la auxina es la principal señal en el gravitropismo y está asociada a la señal entre al sitio de la percepción de la gravedad al sitio de respuesta de la gravedad.

AUX1 es importante para el gravitropismo, la dirección del movimiento de la auxina está determinada por la distribución asimétrica de los transportadores de eflujo de auxina, los cuales están codificados por la familia de genes *PINFORMED* (*PIN*; Grunewald y Friml, 2010). Varios transportadores de eflujo se han localizado en el ápice de la raíz (Grunewald y Friml, 2010; Swarup *et al.*, 2014), de ellos, PIN3, PIN4 y PIN7 se localizan en las células de la caliptra, mientras que PIN2 se expresa en las células de la caliptra lateral, las células de la epidermis y de la corteza de la raíz (Luschnig *et al.*, 1998; Müller *et al.*, 1998; Friml *et al.*, 2002a, 2002b). Sobre un estímulo gravitrópico, PIN3 es relocalizado dentro de 2 minutos a la cara lateral de las células de la columnela, y provee un mecanismo para la creación de un gradiente de auxina entre la parte superior y la inferior de la raíz graviestimulada (Friml *et al.*, 2002b); sin embargo, el mutante *pin3* muestra solamente ligeros defec-

tos gravitrópicos (Friml *et al.*, 2002b). Se ha mostrado que PIN7 se encuentra localizado asimétricamente en las células de la columnella en respuesta al estímulo de gravedad, el doble mutante *pin3 pin7* es significativamente más agravitrópico que los mutante *pin3* o *pin7*, lo cual implica cierta redundancia entre ellos. Usando un sensor de auxina, DII-Venus, en combinación con un enfoque de modelaje matemático, indican que la asimetría en la cantidad de la auxina entre la parte inferior y superior de la raíz se genera en pocos minutos después del estímulo gravitrópico (Band *et al.*, 2012a). La reorientación de PIN3 y PIN7 en la membrana plasmática de las células de la columnella facilita el establecimiento de los gradientes laterales de auxina a través de la caliptra con una graviestimulación. Una vez que la simetría de la auxina es iniciada por PIN3 y PIN7, la auxina es transportada por AUX1/PIN2 en una dirección hacia el tallo a través de la LRC a las células de la epidermis en la zona de alargamiento de la raíz (Figs. 7 y 8).

La direccionalidad en el movimiento de la auxina se realiza por la ubicación asimétrica de PIN2. En la caliptra lateral (LRC), PIN2 se ubica en la cara de las células que ven hacia el tallo, de esa forma se canaliza a la auxina hacia la zona de alargamiento de la raíz. En la porción distal de la zona de alargamiento de la raíz, PIN2 se localiza de igual forma en la cara que ve hacia el tallo en las células epidérmicas, pero en las células corticales se localiza en la cara inferior que ve hacia el ápice de la raíz, lo cual crea un circuito de reflujo de auxina que retroalimenta al ápice de la raíz con auxina (Fig. 7A; Blilou *et al.*, 2005).

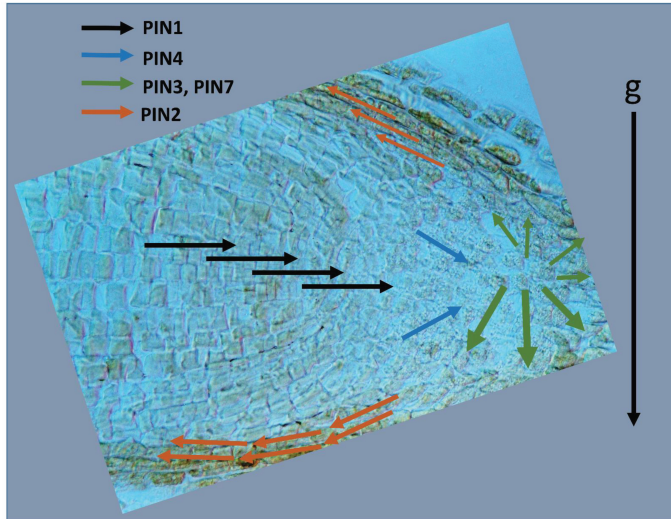


Figura 8. Transducción y transmisión de la señal gravitropica. La figura muestra a los transportadores de auxina y su redistribución bajo un estímulo gravitropico. AUX1 y PIN2 producen un flujo polar de la auxina desde el tallo al ápice de la raíz (flechas negras), el flujo se distribuye y concentra sobre la columella por medio de PIN4. PIN3 y PIN7 distribuyen la auxina hacia el borde de la caliptra, con un mayor flujo en la parte basal de la raíz y por ello una mayor acumulación. PIN2 y AUX1 transportan a la auxina polarmente a través de las células de la LRC a la epidermis en la zona de alargamiento de la raíz. Figura modificada de Sato *et al.*, 2015.

La localización y abundancia de los PIN en las membranas plasmáticas está altamente controlado. Tratamientos con el inhibidor del tráfico vesicular, la brefeldina A (BFA) afecta el reciclamiento de PIN y causa defectos severos en desarrollo asociados a la auxina (Geldner *et al.*, 2004). Tratamientos con TENIN1 (TE1) un modulador del tráfico causa la acumulación de varias proteínas de la membrana plasmática, incluyendo a PIN2, un compartimento pre-vascular, y resulta en una raíz agravitropica (Paudyal *et al.*, 2014). El péptido de secreción GOLVEN (GLV) se ha demostrado que afecta el transporte de la auxina por medio de la distribución del PIN2 en la membrana plasmática (Whitford *et al.*, 2012). La auxina en sí misma es clave en regular la abundancia de PIN en la membrana plasmática, mostrando que la auxina promueve el propio eflujo por la regulación del recambio de PIN2 (Abas *et al.*, 2006). Se ha observado un incremento en el grado de endocitosis y degradación de PIN2 en la cara supe-

rior de las raíces graviestimuladas comparada con el lado inferior. La distribución diferencial de PIN2 entre las caras superior e inferior de las células de la raíz graviestimulada es crucial para la manutención de la asimetría iniciada por PIN3; así, la simple sustitución de un aminoácido del alelo de *wav6-52* en PIN2 provoca que PIN2 sea resistente a la degradación, resultando en una raíz agravitrópica. En conjunto con la auxina, las giberelinas (GA) puede regular la distribución de los PIN. Altas cantidades de GA resulta en mayor cantidad de proteínas PIN en la membrana plasmática, mientras que bajas cantidades de GA induce la internalización de los transportadores PIN.

Las modificaciones post-transcripcionales tales como la fosforilación, regulan la localización polar de PIN y con ello en la respuesta gravitrópica. La serin-treonin cinasa PINOID (PID) regula el gravitropismo de la raíz afectando la localización de PIN2 en la membrana plasmática (Sukumar *et al.*, 2009; Huang *et al.*, 2010). Cambios en el estatus de fosforilación de PIN3 afectan la regulación del transportador, incluyendo al gravitropismo (Ganguly *et al.*, 2012). La familia de cinasas de proteínas, D6 PROTEIN KINASE (D6PK) puede regular el gravitropismo a través de la fosforilación de los PIN (Barbosa *et al.*, 2014). D6PK es un miembro de cinasas unidas a membrana plasmática y la auxina puede promover la fosforilación por D6PK y la internalización desde la membrana plasmática a una endomembrana, por lo que la abundancia de los PIN en la membrana plasmática es regulada por modificaciones post-traduccionales como es la fosforilación (Barbosa *et al.*, 2014).

Además, otras vías se han propuesto para regular la cantidad de PIN en la membrana plasmática. La vía dependiente de ROP GTPasa se ha implicado en la localización de PIN2. La mutación en la ROP6-GTPasa y su efector RIC1, al igual que la familia de factores de intercambio de nucleótidos de guanina DHR2-Dock, como SPIKE1 (SPK1) afecta la supresión mediada por auxina en la internalización de PIN2 y la localización de PIN2 en la membrana plasmática (Lin *et al.*, 2012). La vía de señalamiento inducida por la auxina a través de SPK1 activa a la Rho GTPasa la cual regula la abundancia de PIN2 en la membrana plasmática (Lin *et al.*, 2012). Existe evidencia del papel en la regulación del reciclamiento de PIN2 mediante la fosfolipasa D ξ 2, una mutación en el gen *PHOSPHOLIPASE D ξ 2* o tratamiento con el inhibidor PLD 1 butanol afecta el reciclamiento de PIN2 y reduce el gravitropismo (Li y Xue, 2007). La manutención de la distribución polar de los PIN en la membrana plasmática

ca es dependiente de las condiciones existentes entre la pared celular y la membrana plasmática (Feraru *et al.*, 2011).

Así, se ha demostrado que la regulación del tráfico de los PIN es crucial en el fino control de la ubicación de la auxina, creando los gradientes de esta fitohormona. A pesar de la importancia de PIN2 en proveer una direccionalidad en el transporte de la auxina durante el gravitropismo, los mutantes *pin2* solamente presenta un ligero agravitropismo (Chen *et al.*, 1998; Luschnig *et al.*, 1998; Blakeslee *et al.*, 2007). Dos miembros de la familia de transportadores de eflujo de auxina p-glucoproteína (PGP), *AtPGP1* y *AtPGP19* se expresan también en la zona de alargamiento de la raíz (Blakeslee *et al.*, 2007). Una doble mutante *pgp1pgp19* no provoca fenotipos severos agravitrópicos, el triple mutante *pin2pgp1pgp19* presenta un fenotipo agravitrópico severo (Blakeslee *et al.*, 2007), por lo que ambas familias PIN y PGP de transportadores de eflujo de auxina son requeridos para el gravitropismo de la raíz (Fig. 7B).

Además de los PIN, los cuales proveen una direccionalidad en el movimiento de la auxina, las proteínas AUX/LAX son importantes para mantener los gradientes de auxina y para la contribución del patrón de la distribución de la auxina en el ápice de la raíz (Band *et al.*, 2014). Se ha demostrado la existencia de un incremento en el pH en la superficie de las células del lado inferior de la raíz graviestimulada en las plantas silvestres, pero esto no ocurre en las raíces de los mutantes *aux1*. Una implicación de estos resultados es que el incremento del pH apoplastico resulta que la auxina se encuentre en una forma iónica (IAA⁻), la cual no es permeable a través de la membrana plasmática por lo que el transporte requiere el uso a través de un transportador de eflujo AUX1, en que se ha demostrado que este transportador incorpora 15 veces más auxina que simplemente el proceso de difusión (Swarup *et al.*, 2005; Kramer y Bennett, 2006). La expresión de *AUX1* y la ubicación del producto en la epidermis en conjunto con PIN2 minimizan el efecto de una difusión radial de la auxina lo cual genera un flujo polar desde el ápice de la raíz hacia la parte superior más cercana al tallo (Swarup *et al.*, 2005).

3. Inducción del crecimiento diferencial en el tejido efector

La respuesta a la gravedad se da en la zona de alargamiento de la raíz, la epidermis representa el sitio primario de respuesta, la expresión del dominio

represor de la respuesta a la auxina *axr3*, bloquea la respuesta de la fitohormona específicamente en la epidermis y con ello la pérdida de la capacidad de respuesta a la gravedad (Swarup *et al.*, 2005).

En la zona de alargamiento se establece un gradiente de auxina por efecto diferencial en la cantidad de fitohormona transportada desde el ápice de la raíz. La concentración mayor de auxina en la parte inferior de la raíz provoca una inhibición del crecimiento; mientras que una menor concentración en la parte superior induce los mecanismos de alargamiento. Se debe de tomar en cuenta, que la raíz posee una sensibilidad diferencial a la del tallo a la fitohormona, por ello la ventana de concentración de la auxina que induce una respuesta es menor. El papel crucial de las células epidérmicas en el alargamiento se da por una acumulación de 10 a 20 veces de la auxina en este tejido en comparación de los demás a su alrededor (Swarup *et al.*, 2005), de forma tal que la auxina es la señal principal del efecto gravitropico y lo realiza a través de la epidermis.

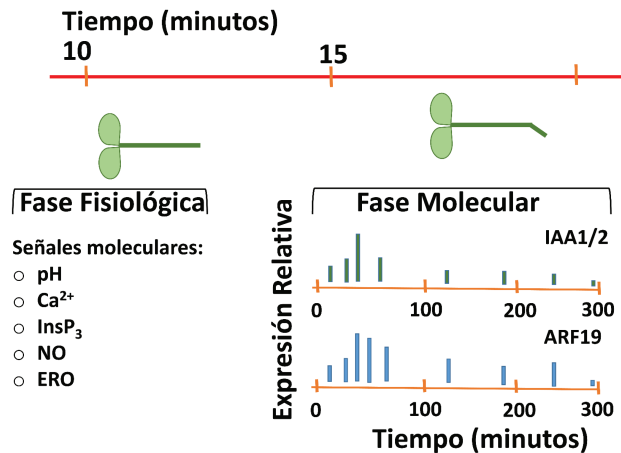


Figura 9. Respuesta al Gravitropismo. El pH y varias moléculas, como el Ca²⁺, las especies reactivas de oxígeno (ERO), el óxido nítrico (NO) y el inositolfosfato 1,4,5 trifosfato (InsP₃) sirven como señales de la respuesta en el crecimiento diferencial inducido por la gravedad, seguida de esta fase inicial el cambio en la expresión de los genes inducibles por auxinas se detecta a los 15 minutos (Band *et al.*, 2012a).

La concentración adecuada de auxina, activa la concentración de Ca²⁺ en forma oscilatoria, lo cual promueve cambios del pH apoplástico en ambos

lados de zona de alargamiento de la raíz graviestimulada. La acidificación de la pared celular dependiente de Ca^{2+} puede incrementar el alargamiento de las células epidérmicas en la parte superior de la raíz graviestimulada, mientras que la alcalinización apoplástica en el lado inferior reduce el alargamiento celular (Fig. 6 y 9; Ishikawa y Evans, 1993; Mullen *et al.*, 1998). La curvatura de la raíz se inicia a los 10 minutos de haber sido graviestimulada; debido a este tiempo tan corto, se ha sugerido la fase inicial de la respuesta a la gravedad no implica la síntesis *de novo* de proteínas (Swarup y Péret, 2012). Los cambios de pH detectados por sondas fluorescentes observadas con microscopía confocal, ocurren dentro de pocos minutos del estímulo y es dependiente de la AUX1. Sin embargo, el máximo de la expresión de varios genes inducibles por la auxina tales como *IAA1*, *IAA2* y *ARF19* se observa a los 15 minutos del estímulo (Band *et al.*, 2012a; Brunoud *et al.*, 2012), lo cual se da posterior al inicio de la curvatura de la raíz (Fig. 9).

La respuesta inicial de la raíz en los primeros 10 minutos, aunque no se conoce con profundidad, está involucrado ABP1 (AUXIN BINDING PROTEIN1); la función de ABP1 promueve el crecimiento diferencial por la supresión de la endocitosis sensible a auxina que esta mediada a través de clatrina, aunque el efecto de ABP1 es débil y complicado, a pesar de que se ha reportado que los mutantes knock-out *abp1* producen embriones letales, los mutantes heterocigóticos *abp1* son agravitrópicos (Effendi *et al.*, 2011).

Además de la señal inducida por la auxina en el gravitropismo, existen otras señales como la del Ca^{2+} , inositol 1, 4, 5 trifosfato (InsP), óxido nítrico y las especies reactivas de oxígeno (ERO), las cuales están involucradas en la respuesta inicial dentro de los primeros 10 minutos (Fig. 9). El gradiente de Ca^{2+} establecido entre la cara superior e inferior de la raíz graviestimulada (Lee *et al.*, 1984) y su importancia, se demuestra con el uso de queladores de Ca^{2+} , lo cual provoca la pérdida de la respuesta a la gravedad (Lee *et al.*, 1983). La aplicación de auxina en el ápice de la raíz, conlleva una ola de Ca^{2+} que se extiende en dirección del tallo, lo cual es afectada cuando se usan bloqueadores de los canales de Ca^{2+} (Monshausen *et al.*, 2011), por lo que la auxina induce la acumulación citosólica del Ca^{2+} a través de los canales que a su vez activan la conductancia de H^+/OH^- en la membrana plasmática, la activación de la ATPasa de H^+ por efecto de la auxina, resulta con la acidificación del apoplasto, el cambio en el pH promueve el ablandamiento/relajación de la

pared celular (Cosgrove, 1998, 2000, 2005, Nishitani y Vissenberg, 2007; Maris *et al.*, 2009, 2011).

El uso de U73122, un inhibidor de la biosíntesis de InsP3, resulta en la atenuación de la respuesta a la gravedad (Andreeva *et al.*, 2010); la concentración de InsP3 presenta una oscilación y aumenta en la parte inferior de los tallos del maíz, avena y *Arabidopsis* por la inducción de un graviestímulo (Perera *et al.*, 1999; 2001, 2006), sugiriendo un mecanismo semejante en la raíz.

El óxido nítrico (NO) en una raíz graviestimulada se acumula en la parte inferior (Hu *et al.*, 2005), lo cual interfiere con el transporte de la auxina (Fernández-Marcos *et al.*, 2011). La acumulación diferencial puede ser bloqueada con el tratamiento el inhibidor del transporte polar de auxina NPA (1-N-naphthylphthalamic acid), y se restituye con la aplicación asimétrica de ésta fitohormona, no se sabe cómo el NO participa en el gravitropismo, pero puede ser que la señal se encuentre mediada por GMPc (Hu *et al.*, 2005). Se ha propuesto que el NO directamente modifica a proteínas clave en la respuesta, provocando la nitrosilación de ellas (Durner y Klessing, 1999; Terrile *et al.*, 2012) o por elevación de los niveles de GMPc (Durner *et al.*, 1998).

La acumulación de ERO media el entrecruzamiento de los componentes de la pared celular, el uso de ACC (1-aminocyclopropane 1-carboxylic acid) detiene el alargamiento de las células epidérmicas de la raíz de *Arabidopsis*, por lo que se ha especulado que el grado de relajación entre los componentes que constituyen la pared celular entre las células de ambos lados de la raíz graviestimulada debe estar implicado.

La mutación en los componentes involucrados en la señal de la auxina produce raíces agravitrópicas, la auxina es percibida en las células por un miembro de la familia de receptores TIR1/AFB los que poseen una caja FOX que facilita la degradación la proteína AUX/IAA a través de la vía de ubiquitinación-proteosoma, como resultado, los factores ARF son desreprimidos y con ello, se activa la expresión de los genes inducibles por la auxina. En *Arabidopsis*, AUX/IAA y ARF son parte de una gran familia de genes con 29 y 23 miembros respectivamente, la inducción por la auxina depende del balance dinámico entre las dos clases de proteínas. Dentro de los genes ARF: ARF7 y ARF19 son los más importantes para la respuesta a la gravedad, mientras que AXR2, AXR3, SLR1 y SHY2 son las proteínas claves del tipo AUX/IAA que

median la respuesta a la gravedad. La respuesta de la auxina involucra la expresión diferencial de los genes en la cara superior e inferior de la raíz graviestimulada, bajo la inducción de la auxina a través de ARF7 y AFR19 se encuentran los genes *AtXTH18* y *AtXTH19* que codifican para una xiloglucan endotransglucosidasas/hidrolasas, enzimas que se activan a pH ácidos y provocan el ablandamiento de la pared celular (Swarup *et al.*, 2013).

4. Restauración del flujo simétrico de la auxina

Una vez que se ha reestablecido el crecimiento gravitrópico, es necesario reestablecer un flujo polar simétrico de la auxina en la raíz. Se ha estimado que la asimetría en las cantidades de auxina persisten durante aproximadamente 100 minutos o hasta que la raíz graviestimulada alcanza una curvatura de 40° (Band *et al.*, 2012a), en ese ángulo, la morfología de las células centrales de la columnella se modifica, los estatolitos por su densidad son removidos del sitio en que se encuentran previamente (cara lateral de la células), se relocalizan en la parte basal de la célula con el cambio del ángulo de crecimiento (Band *et al.*, 2012a), con esta relocalización del estatolito induce una relocalización de los PIN3/PIN7 (Fig. 10).

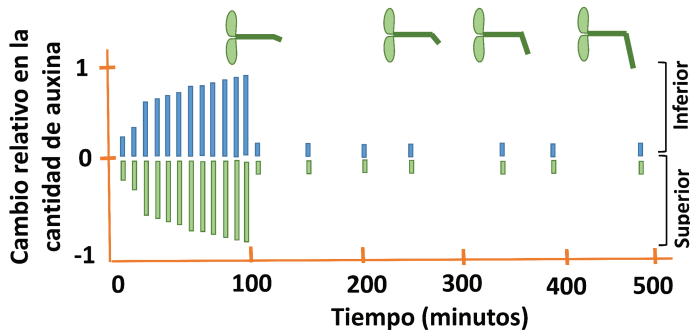


Figura 10. Restauración del flujo polar de auxina y crecimiento gravitrópico positivo. Cuando la raíz alcanza un ángulo de 40°, aproximadamente 100 minutos de ponerla en posición horizontal, los gradientes de auxina en la raíz se reestablecen poco a poco, hasta que la que alcanza la posición vertical.

Lecturas sugeridas

Kumpf R.P., Nowack M.K. The root cap: a short story of life and death. *Journal of Experimental Botany*. (2015). 19: 5651-5662.

Sato E.M., Hijazi H., Bennet M.J., Vissenberg K., Swarup R. New insights into root gravitropic signalling. *Journal of Experimental Botany*. (2015). 66(8): 2155-2165.

Referencias bibliográficas

- Evolución y estructura de la caliptra

Bais H.P., Weir T.L., Perry L.G., Gilroy S., Vivanco J.M. “The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms.” *Annual Review of Plant Biology*. (2006). 57, 233–266.

Bao Y., Aggarwal P., Robbins N.E.I., *et al.* “Plant roots use a patterning mechanism to position lateral root branches toward available water.” *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. (2014). 111, 9319–9324.

Barlow P.W. “Evolution of structural initial cells in apical meristems of plants.” *Journal of Theoretical Biology*. (1994). 169, 163–177.

Barlow P.W. The root cap: cell dynamics, cell differentiation and cap function. *Journal of Plant Growth Regulation*. (2003). 21, 261–286.

Becker B., Marin B. “Streptophyte algae and the origin of embryophytes. *Annals of Botany*. (2009). 103, 999–1004.

Bennett T., van den Toorn A., Sanchez-Perez G.F., Campilho A., Willemsen V., Snel B., Scheres B. “SOMBRERO, BEARSKIN1, and BEARSKIN2 regulate root cap maturation in *Arabidopsis*.” *The Plant Cell*. (2010). 22, 640–654.

Bennett T., van den Toorn A., Willemsen V., Scheres B. “Precise control of plant stem cell activity through parallel regulatory inputs.” *Development*. (2014). 141, 4055–4064.

Cai M., Wang N., Xing C., Wang F., Wu K., Du X. “Immobilization of aluminum with mucilage secreted by root cap and root border cells is related to aluminum resistance in *Glycine max* L.” *Environmental Science and Pollution Research International*. (2013). 20, 8924–8933.

Campilho A., Garcia B., van den Toorn H., van Wijk H., Campilho A., Scheres B. "Time-lapse analysis of stem-cell divisions in the *Arabidopsis thaliana* root meristem." *The Plant Journal*. (2006). 48, 619–627.

Cannesan M.A., Gangneux C., Lanoue A., Giron D., Laval K., Hawes M., Driouich A., Vicré-Gibouin M. "Association between border cell responses and localized root infection by pathogenic *Aphanomyces euteiches*." *Annals of Botany*. (2011). 108, 459–469.

Cnops G., Wang X., Linstead P., Van Montagu M., Van Lijsebettens M., Dolan L. "TORNADO1 and TORNADO2 are required for the specification of radial and circumferential pattern in the *Arabidopsis* root." *Development*. (2000). 127, 3385–3394.

Cruz-Ramírez A., Díaz-Triviño S., Wachsman G., *et al.* "A SCARECROW-RETINOBLASTOMA protein network controls protective quiescence in the *Arabidopsis* root stem cell organizer." *PLoS Biology*. (2013). 11, e1001724.

De Rybel B., Audenaert D., Xuan W., *et al.* "A role for the root cap in root branching revealed by the non-auxin probe naxillin." *Nature Chemical Biology*. (2012). 8, 798–805.

De Smet I., Vassileva V., De Rybel B., *et al.* "Receptor-like kinase ACR4 restricts formative cell divisions in the *Arabidopsis* root." *Science*. (2008). 322, 594–597.

del Campillo E., Abdel-Aziz A., Crawford D., Patterson S.E. "Root cap specific expression of an endo- β -1,4-d-glucanase (cellulase): a new marker to study root development in *Arabidopsis*." *Plant Molecular Biology*. (2004). 56, 309–323.

Dolan L., Janmaat K., Willemsen V., Linstead P., Poethig S., Roberts K., Scheres B. "Cellular organisation of the *Arabidopsis thaliana* root." *Development*. (1993). 119, 71–84.

Driouich A., Durand C., Vicré-Gibouin M. "Formation and separation of root border cells." *Trends in Plant Science*. (2007). 12, 14–19.

Durand C., Vicré-Gibouin M., Follet-Gueye M.L., Duponchel L., Moreau M., Lerouge P., Driouich A. "The organization pattern of root borderlike cells of *Arabidopsis* is dependent on cell wall homogalacturonan." *Plant Physiology*. (2009). 150, 1411–1421.

- Farage-Barhom S., Burd S., Sonogo L., Perl-Treves R., Lers A. “Expression analysis of the BFN1 nuclease gene promoter during senescence, abscission, and programmed cell death-related processes.” *Journal of Experimental Botany*. (2008). 59, 3247–3258.
- Fendrych M., Van Hautegeem T., Van Durme M., *et al.* “Programmed cell death controlled by ANAC033/SOMBRERO determines root cap organ size in *Arabidopsis*.” *Current Biology*. (2014). 24, 931–940.
- Furlong I.J., Ascaso R., Lopez Rivas A-, Collins M.K.L. “Intracellular acidification induces apoptosis by stimulating ICE-like protease activity.” *Journal of Cell Science*. (1997). 110, 653–661.
- Hamamoto L., Hawes M.C., Rost T.L. “The production and release of living root cap border cells is a function of root apical meristem type in dicotyledonous angiosperm plants. *Annals of Botany*. (2006). 97, 917–923.
- Hara-Nishimura I., Hatsugai N. “The role of vacuole in plant cell death.” *Cell Death and Differentiation*. (2011). 18, 1298–1304.
- Hinsinger P., Bengough A.G., Vetterlein D., Young I.M. Rhizosphere: biophysics, biogeochemistry and ecological relevance. *Plant and Soil*. (2009). 321, 117–152.
- Jones D., Nguyen C., Finlay D.R. “Carbon flow in the rhizosphere: carbon trading at the soil-root interface.” *Plant and Soil*. (2009). 321, 5–33.
- Li S., Pan X.X., Berry J.O, *et al.* “OsSEC24, a functional SEC24-like protein in rice, improves tolerance to iron deficiency and high pH by enhancing H⁺ secretion mediated by PM-H⁺-ATPase.” *Plant Science*. (2015). 233, 61–71.
- McKenzie B.M., Mullins C.E., Tisdall J.M., Bengough A.G. “Root-soil friction: quantification provides evidence for measurable benefits for manipulation of root-tip traits.” *Plant, Cell & Environment*. (2013). 36, 1085–1092.
- Moreno-Risueno M.A., Van Norman J.M., Moreno A., Zhang J., Ahnert S.E., Benfey P.N. “Oscillating gene expression determines competence for periodic *Arabidopsis* root branching.” *Science*. (2010). 329, 1306–1311.
- Nardmann J., Werr W. “The invention of WUS-like stem cell promoting functions in plants predates leptosporangiate ferns.” *Plant Molecular Biology*. (2012). 78, 123–134.

Pérez-Amador M.A., Abler M.L., De Rocher E.J., Thompson D.M., van Hoof A., LeBrasseur N.D., Lers A., Green P.J. Identification of BFN1, a bifunctional nuclease induced during leaf and stem senescence in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*. (2000). 122, 169–180.

Piekarska-Stachowiak A., Nakielski J. “The simulation model of growth and cell divisions for the root apex with an apical cell in application to *Azolla pinnata*.” *Planta*. (2013). 238, 1051–1064.

Prigge M.J., Bezanilla M. “Evolutionary crossroads in developmental biology: *Physcomitrella patens*.” *Development*. (2010). 137, 3535–3543.

Reymond M., Svistoonoff S., Loudet O., Nussaume L., Desnos T. “Identification of QTL controlling root growth response to phosphate starvation in *Arabidopsis thaliana*.” *Plant, Cell & Environment*. (2006). 29, 115–125.

Robbins N.E., Dinneny J.R. “The divining root: moisture-driven responses of roots at the micro- and macro-scale.” *Journal of Experimental Botany*. (2015). 66, 2145–2154.

Rost T.L. “The organization of roots of dicotyledonous plants and the positions of control points.” *Annals of Botany*. (2011). 107, 1213–1222.

Sarkar A.K., Luijten M., Miyashima S., Lenhard M., Hashimoto T., Nakajima K., Scheres B., Heidstra R., Laux T. “Conserved factors regulate signalling in *Arabidopsis thaliana* shoot and root stem cell organizers.” *Nature*. (2007). 446, 811–814.

Stahl Y., Grabowski S., Bleckmann A., *et al.* “Moderation of *Arabidopsis* root stemness by CLAVATA1 and ARABIDOPSIS CRINKLY4 receptor kinase complexes.” *Current Biology*. (2013). 23, 362–371.

Strohm A.K., Baldwin K.L., Masson P.H. “Molecular mechanisms of root gravity sensing and signal transduction.” *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*. (2012). 1, 276–285.

Svistoonoff S., Creff A., Reymond M., Sigoillot-Claude C., Ricaud L., Blanchet A., Nussaume L., Desnos T. “Root tip contact with low-phosphate media reprograms plant root architecture.” *Nature Genetics*. (2007). 39, 792–796.

- Tsednee M., Mak Y.W., Chen Y.R., Yeh K.C. "A sensitive LC-ESI-QTOF-MS method reveals novel phytosiderophores and phytosiderophore-iron complexes in barley." *New Phytologist*. (2012). 195, 951–961.
- Tsugeki R., Fedoroff N.V. "Genetic ablation of root cap cells in *Arabidopsis*." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (1999). 96, 12941–12946.
- Tsukaya H. "Organ shape and size: a lesson from studies of leaf morphogenesis." *Current Opinion in Plant Biology*. (2003). 6, 57–62.
- van den Berg C., Willemsen V., Hendriks G., Weisbeek P., Scheres B. "Short-range control of cell differentiation in the *Arabidopsis* root meristem." *Nature*. (1997). 390, 287–289.
- van Doorn W.G., Beers E.P., Dangl J.L., *et al.* "Morphological classification of plant cell deaths." *Cell Death & Differentiation*. (2011). 18, 1241–1246.
- Vicré M., Santaella C., Blanchet S., Gateau A., Driouich A. "Root border-like cells of *Arabidopsis*. Microscopical characterization and role in the interaction with rhizobacteria." *Plant Physiology*. (2005). 138, 998–1008.
- Wang J.W., Wang L.J., Mao Y.B., Cai W.J., Xue H.W., Chen X.Y. "Control of root cap formation by MicroRNA-targeted auxin response factors in *Arabidopsis*." *The Plant Cell*. (2005). 17, 2204–2216.
- Watanabe N., Lam E. "Calcium-dependent activation and autolysis of *Arabidopsis* metacaspase 2d." *Journal of Biological Chemistry*. (2011). 286, 10027–10040.
- Wen F., Curlango-Rivera G., Hawes M.C. "Proteins among the polysaccharides: a new perspective on root cap slime." *Plant Signaling & Behavior* (2007). 2, 410–412.
- Wenzel C.L., Rost T.L. "Cell division patterns of the protoderm and root cap in the "closed" root apical meristem of *Arabidopsis thaliana*." *Protoplasma*. (2001). 218: 203–213.
- Wierzba M.P., Tax F.E. "Notes from the underground: receptor-like kinases in *Arabidopsis* root development." *Journal of Integrative Plant Biology*. (2013). 55, 1224–1237.
- Wildwater M., Campilho A., Perez-Perez J.M., *et al.* "The *RETINOBLASTOMA-RELATED* gene regulates stem cell maintenance in *Arabidopsis* roots." *Cell*. (2005). 123, 1337–1349.

Williamson L.C., Ribrioux S.P.C.P., Fitter A.H., Leyser H.M.O. "Phosphate availability regulates root system architecture in *Arabidopsis*." *Plant Physiology*. (2001). 126, 875–882.

Willemsen V., Bauch M., Bennett T., Campilho A., Wolkenfelt H., Xu J., Hasehoff J., Scheres B. "The NAC domain transcription factors FEZ and SOMBRERO control the orientation of cell division plane in *Arabidopsis* root stem cells." *Developmental Cell*. (2008). 15, 913–922.

Xuan W., Audenaert D., Parizot B., *et al.* "Root cap-derived auxin pre-patterns the longitudinal axis of the *Arabidopsis* root." *Current Biology*. (2015). 25, 1381–1388.

- **Papel de la caliptra en la regulación de la dirección del crecimiento**

Andreeva Z., Barton D., Armour W.J., Li M.Y., Liao L.F., McKellar H.L., Pethybridge K.A., Marc J. "Inhibition of phospholipase C disrupts cytoskeletal organization and gravitropic growth in *Arabidopsis* roots." *Planta*. (2010). 232, 1263–1279.

Baldwin K.L., Strohm A.K., Masson P.H. "Gravity sensing and signal transduction in vascular plant primary roots." *American Journal of Botany*. (2013). 100, 126–142.

Band L.R., Wells D.M., Fozard J.A., *et al.* "Systems analysis of auxin transport in the *Arabidopsis* root apex." *The Plant Cell*. (2014). 26, 862–875.

Band L.R., Wells D.M., Larrieu A., *et al.* "Root gravitropism is regulated by a transient lateral auxin gradient controlled by a tipping-point mechanism." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2012). 109, 4668–4673.

Barbosa I.C., Zourelidou M., Willige B.C., Weller B., Schwechheimer C. "D6 PROTEIN KINASE activates auxin transport-dependent growth and PIN-FORMED phosphorylation at the plasma membrane." *Developmental Cell*. (2014). 29, 674–685.

Barlow P.W. "Regeneration of the cap of primary roots of *Zea mays*." *New Phytologist*. (1974). 73, 937–954.

Barlow P.W. "Gravity perception in plants: a multiplicity of systems derived by evolution?" *Plant Cell and Environment*. (1995). 18, 951–962.

- Bennett M.J., Marchant A., Green H.G., May S.T., Ward S.P., Millner P.A., Walker A.R., Schulz B., Feldmann K.A. “*Arabidopsis* AUX1 gene: a permease-like regulator of root gravitropism.” *Science*. (1996). 273, 948–950.
- Blakeslee J.J., Bandyopadhyay A., Lee O.R., *et al.* “Interactions among PIN-FORMED and P-glycoprotein auxin transporters in *Arabidopsis*.” *The Plant Cell*. (2007). 19, 131–147.
- Blancaflor E.B. “Regulation of plant gravity sensing and signaling by the actin cytoskeleton.” *American Journal of Botany*. (2013). 100, 143–152.
- Blancaflor E.B., Fasano J.M., Gilroy S. “Mapping the functional roles of cap cells in the response of *Arabidopsis* primary roots to gravity.” *Plant Physiology*. (1998). 116, 213–222.
- Blancaflor E.B., Hasenstein K.H. “The organization of the actin cytoskeleton in vertical and graviresponding primary roots of maize.” *Plant Physiology*. (1997). 113, 1447–1455.
- Blancaflor E.B., Masson P.H. “Plant gravitropism. Unraveling the ups and downs of a complex process.” *Plant Physiology*. (2003). 133, 1677–1690.
- Blilou I., Xu J., Wildwater M., Willemsen V., Paponov I., Friml J., Heidstra R., Aida M., Palme K., Scheres B. “The PIN auxin efflux facilitator network controls growth and patterning in *Arabidopsis* roots.” *Nature*. (2005). 433, 39–44.
- Boonsirichai K., Sedbrook J.C., Chen R., Gilroy S., Masson P.H. “ALTERED RESPONSE TO GRAVITY is a peripheral membrane protein that modulates gravity-induced cytoplasmic alkalization and lateral auxin transport in plant statocytes.” *The Plant Cell*. (2003). 15, 2612–2625.
- Braun M., Limbach C. “Rhizoids and protonemata of characean algae: model cells for research on polarized growth and plant gravity sensing.” *Protoplasma*. (2006). 229, 133–142.
- Brunoud G., Wells D.M., Oliva M., *et al.* “A novel sensor to map auxin response and distribution at high spatio-temporal resolution.” *Nature*. (2012). 482, 103–106.
- Caldwell R.A., Clemo H.F., Baumgarten C.M. “Using gadolinium to identify stretch-activated channels: technical considerations.” *American Journal of Physiology*. (1998). 275, C619–C621.

Chen R., Hilson P., Sedbrook J., Rosen E., Caspar T., Masson P.H. "The *Arabidopsis thaliana* AGRAVITROPIC 1 gene encodes a component of the polar-auxin-transport efflux carrier." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA.* (1998). 95, 15112–15117.

Cholodny N. "Wuchshormone und Tropismen bei den Pflanzen." *Biologisches Zentralblatt.* (1927). 47, 604–626.

Cosgrove D.J. "Cell wall loosening by expansins." *Plant Physiology.* (1998). 118, 333–339.

Cosgrove D.J. "Loosening of plant cell walls by expansins." *Nature.* (2000). 407, 321–326.

Cosgrove D.J. "Growth of the plant cell wall." *Nature Reviews Molecular Cell Biology.* (2005). 6, 850–861.

Durner J., Klessig D.F. "Nitric oxide as a signal in plants." *Current Opinion in Plant Biology.* (1999). 2, 369–374.

Durner J., Wendehenne D., Klessig D.F. "Defense gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP, and cyclic ADP-ribose." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA.* (1998). 95, 10328–10333.

Effendi Y., Rietz S., Fischer U., Scherer G.F. "The heterozygous *abp1/ABP1* insertional mutant has defects in functions requiring polar auxin transport and in regulation of early auxin-regulated genes." *The Plant Journal.* (2011). 65, 282–294.

Fasano J.M., Swanson S.J., Blancaflor E.B., Dowd P.E., Kao T.H., Gilroy S. "Changes in root cap pH are required for the gravity response of the *Arabidopsis* root." *The Plant Cell.* (2001). 13, 907–921.

Feraru E., Feraru M.I., Kleine-Vehn J., Martinière A., Mouille G.S., Vernhettes S., Runions J., Friml J. "PIN polarity maintenance by the cell wall in *Arabidopsis*." *Current Biology.* (2011). 21, 338–343.

Fernández-Marcos M., Sanz M., Lewis D.R., Muday G.K., Lorenzo O. "Nitric oxide causes root apical meristem defects and growth inhibition while reducing PIN-FORMED 1 (PIN1)-dependent acropetal auxin transport." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA.* (2011). 108, 18506–18511.

- Fitzelle K.J., Kiss J.Z. "Restoration of gravitropic sensitivity in starchdeficient mutants of *Arabidopsis* by hypergravity." *Journal of Experimental Botany*. (2001). 52, 265–275.
- Friedman H., Vos J.W., Hepler P.K., Meir S., Halevy A.H., Philosoph-Hadas S. "The role of actin filaments in the gravitropic response of snapdragon flowering shoots." *Planta*. (2003). 216, 1034–1042.
- Friml J., Benková E., Blilou I., *et al.* "AtPIN4 mediates sink-driven auxin gradients and root patterning in *Arabidopsis*." *Cell*. (2002a). 108, 661–673.
- Friml J., Wisniewska J., Benkova E., Mendgen K., Palme K. "Lateral relocation of auxin efflux regulator PIN3 mediates tropism in *Arabidopsis*." *Nature*. (2002b). 415, 806–809.
- Gälweiler L., Guan C., Müller A., Wisman E., Mendgen K., Yephremov A., Palme K. "Regulation of polar auxin transport by AtPIN1 in *Arabidopsis* vascular tissue." *Science*. (1998). 282, 2226–2230.
- Ganguly A., Lee S.H., Cho H.T. "Functional identification of the phosphorylation sites of *Arabidopsis* PIN-FORMED3 for its subcellular localization and biological role." *The Plant Journal*. (2012). 71, 810–823.
- Geldner N., Richter S., Vieten A., Marquardt S., Torres-Ruiz R.A., Mayer U., Jürgens G. "Partial loss-of-function alleles reveal a role for GNOM in auxin transport-related, post-embryonic development of *Arabidopsis*." *Development*. (2004). 131, 389–400.
- Gray W.M., Kepinski S., Rouse D., Leyser O., Estelle M. "Auxin regulates SCF(TIR1)-dependent degradation of AUX/IAA proteins." *Nature*. (2001). 414, 271–276.
- Grunewald W., Friml J. The march of the PINs: developmental plasticity by dynamic polar targeting in plant cells. *The EMBO Journal*. (2010). 29, 2700–2714.
- Haberlandt G. Über die Perzeption des geotropischen Reizes. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*. (1900). 18, 261–272.
- Haswell E.S., Peyronnet R., Barbier-Brygoo H., Meyerowitz E.M., Frachisse J.M. "Two MscS homologs provide mechanosensitive channel activities in the *Arabidopsis* root." *Current Biology*. (2008). 18, 730–734.

Hou G., Kramer V.L., Wang Y.S., Chen R., Perbal G., Gilroy S., Blancaflor E.B. "The promotion of gravitropism in *Arabidopsis* roots upon actin disruption is coupled with the extended alkalization of the columella cytoplasm and a persistent lateral auxin gradient." *The Plant Journal*. (2004). 39, 113–125.

Hou G., Mohamalawari D.R., Blancaflor E.B. "Enhanced of roots with a disrupted cap actin cytoskeleton." *Plant Physiology*. (2003). 131, 1360–1373.

Hu X., Neill S.J., Tang Z., Cai W. "Nitric oxide mediates gravitropic bending in soybean roots." *Plant Physiology*. (2005). 137, 663–670.

Huang F., Zago M.K., Abas L., van Marion A., Galván-Ampudia C.S., Offringa R. "Phosphorylation of conserved PIN motifs directs *Arabidopsis* PIN1 polarity and auxin transport." *The Plant Cell*. (2010). 22,1129–1142.

Ishikawa H., Evans M.L. "The role of the distal elongation zone in the response of maize roots to auxin and gravity." *Plant Physiology*. (1993). 102, 1203–1210.

Jouhet J., Gray J.C. "Interaction of actin and the chloroplast protein import apparatus." *Journal of Biological Chemistry*. (2009). 284, 19132–19141.

Kiss J.Z., Sack F.D. "Reduced gravitropic sensitivity in roots of a starch-deficient mutant of *Nicotiana glauca*." *Planta*. (1989). 180, 123–130.

Kiss J.Z., Wright J.B., Caspar T. "Gravitropism in roots of intermediate-starch mutants of *Arabidopsis*." *Physiologia Plantarum* (1996). 97,237–244.

Kramer E.M., Bennett M.J. "Auxin transport: a field in flux." *Trends in Plant Science*. (2006). 11, 382–386.

Lee J.S., Mulkey T.J., Evans M.L. "Gravity-induced polar transport of calcium across root tips of maize." *Plant Physiology*. (1983). 73, 874–876.

Lee J.S., Mulkey T.J., Evans M.L. "Inhibition of polar calcium movement and gravitropism in roots treated with auxin-transport inhibitors." *Planta*. (1984). 160, 536–543.

Leitz G., Kang B.H., Schoenwaelder M.E, Staehelin L.A. "Statolith sedimentation kinetics and force transduction to the cortical endoplasmic reticulum in gravity-sensing *Arabidopsis* columella cells." *The Plant Cell*. (2009). 21, 843–860.

Li G, Xue HW. "*Arabidopsis* PLDzeta2 regulates vesicle trafficking and is required for auxin response." *The Plant Cell*. (2007). 19, 281–295.

- Limbach C., Hauslage J., Schäfer C., Braun M. "How to activate a plant gravireceptor. Early mechanisms of gravity sensing studied in characean rhizoids during parabolic flights." *Plant Physiology*. (2005). 139, 1030–1040.
- Lin D., Nagawa S., Chen J., *et al.* "A ROP GTPase-dependent auxin signaling pathway regulates the subcellular distribution of PIN2 in *Arabidopsis* roots." *Current Biology*. (2012). 22, 1319–1325.
- Luschnig C., Gaxiola R.A., Grisafi P., Fink G.R. "EIR1, a root specific protein involved in auxin transport, is required for gravitropism in *Arabidopsis thaliana*." *Genes and Development*. (1998). 12, 2175–2187.
- MacCleery S.A., Kiss J.Z. "Plastid sedimentation kinetics in roots of wild-type and starch-deficient mutants of *Arabidopsis*." *Plant Physiology*. (1999). 120, 183–192.
- Mancuso S., Barlow P.W., Volkmann D., Baluska F. "Actin turnover-mediated gravity response in maize root apices: gravitropism of decapped roots implicates gravisensing outside of the root cap." *Plant Signaling and Behavior*. (2006). 1, 52–58.
- Maris A., Kaewthai N., Eklöf J.M., Miller J.G., Brumer H., Fry S.C., Verbelen J.P., Vissenberg K. "Differences in enzymic properties of five recombinant xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase (XTH) proteins of *Arabidopsis thaliana*." *Journal of Experimental Botany*. (2011). 62, 261–271.
- Maris A., Suslov D., Fry S.C., Verbelen J.P., Vissenberg K. "Enzymic characterization of two recombinant xyloglucan endotransglucosylase/ hydrolase (XTH) proteins of *Arabidopsis* and their effect on root growth and cell wall extension." *Journal of Experimental Botany*. (2009). 60, 3959–3972.
- Monshausen G.B., Miller N.D., Murphy A.S., Gilroy S. "Dynamics of auxin-dependent Ca²⁺ and pH signaling in root growth revealed by integrating high-resolution imaging with automated computer vision-based analysis." *The Plant Journal*. (2011). 65, 309–318.
- Morita M.T., Tasaka M. "Gravity sensing and signaling." *Current Opinion in Plant Biology*. (2004). 7, 712–718.
- Mullen J.L., Ishikawa H., Evans M.L. "Analysis of changes in relative elemental growth rate patterns in the elongation zone of *Arabidopsis* roots upon gravistimulation." *Planta*. (1998). 206, 598–603.

Müller A., Guan C., Gälweiler L., Tänzler P., Huijser P., Marchant A., Parry G., Bennett M., Wisman E., Palme K. "AtPIN2 defines a locus of *Arabidopsis* for root gravitropism control." *EMBO Journal*. (1998). 17, 6903–6911.

Nakagawa Y., Katagiri T., Shinozaki K., *et al.* "*Arabidopsis* plasma membrane protein crucial for Ca²⁺ influx and touch sensing in roots." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2007). 104, 3639–3644.

Němec B. "Über die Wahrnehmung des Schwerkraftreizes bei den Pflanzen." *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*. (1900). 18, 241–245.

Nishitani K., Vissenberg K. "Roles of the XTH family in the expanding cell. In: Verbelen J, Vissenberg K, eds. The expanding cell." *Plant Cell Monographs*. Berlin: Springer. (2007). 89–116.

Oikawa K., Kasahara M., Kiyosue T., Kagawa T., Suetsugu N., Takahashi F., Kanegae T., Niwa Y., Kadota A., Wada M. "Chloroplast unusual positioning is essential for proper chloroplast positioning." *The Plant Cell*. (2003). 15, 2805–2815.

Ottenschläger I., Wolff P., Wolverton C., Bhalerao R.P., Sandberg G., Ishikawa H., Evans M., Palme K. "Gravity-regulated differential auxin transport from columella to lateral root cap cells." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2003). 100, 2987–2991.

Palmieri M., Kiss J.Z. "Disruption of the F-actin cytoskeleton limits statolith movement in *Arabidopsis hypocotyls*." *Journal of Experimental Botany*. (2005). 56, 2539–2550.

Paudyal R., Jamaluddin A., Warren J.P., Doyle S.M., Robert S., Warriner S.L., Baker A. "Trafficking modulator TENin1 inhibits endocytosis, causes endomembrane protein accumulation at the pre-vacuolar compartment and impairs gravitropic response in *Arabidopsis thaliana*." *Biochemical Journal*. (2014). 460, 177–185.

Perbal G. "Gravisensing in roots." *Advances in Space Research*. (1999). 24, 723–729.

Perbal G., Driss-Ecole D. "Mechanotransduction in gravisensing cells." *Trends in Plant Science*. (2003). 8, 498–504.

Perera I.Y., Heilmann I., Boss W.F. "Transient and sustained increases in inositol 1,4,5-trisphosphate precede the differential growth response in gravis-

- timulated maize pulvini." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (1999). 96, 5838–5843.
- Perera I.Y., Heilmann I., Chang S.C., Boss W.F., Kaufman P.B. "A role for inositol 1,4,5-trisphosphate in gravitropic signaling and the retention of cold-perceived gravistimulation of oat shoot pulvini." *Plant Physiology*. (2001). 125, 1499–507.
- Perera I.Y., Hung C.Y., Brady S., Muday G.K., Boss W.F. "A universal role for inositol 1,4,5-trisphosphate-mediated signaling in plant gravitropism." *Plant Physiology*. (2006). 140, 746–760.
- Raven J.A. "Transport of indole-3-acetic acid in plant cells in relation to pH and electrical potential gradients, and its significance for polar IAA transport." *New Phytologist*. (1975). 74, 163–172.
- Rubery P.H., Sheldrake A.R. "Carrier-mediated auxin transport." *Planta*. (1974). 118, 101–121.
- Schmidt von Braun S., Schleiff E. "The chloroplast outer membrane protein CHUP1 interacts with actin and profilin." *Planta*. (2008). 227, 1151–1159.
- Scott A.C., Allen N.S. "Changes in cytosolic pH within *Arabidopsis* root columella cells play a key role in the early signaling pathway for root gravitropism." *Plant Physiology*. (1999). 121, 1291–1298.
- Sievers A. "Gravity sensing mechanisms in plant cells." *ASGSB Bulletin*. (1991). 4, 43–50.
- Stanga J.P., Boonsirichai K., Sedbrook J.C., Otegui M.S., Masson P.H. "A role for the TOC complex in *Arabidopsis* root gravitropism." *Plant Physiology*. (2009). 149, 1896–1905.
- Staves M.P. "Cytoplasmic streaming and gravity sensing in *Chara* internodal cells." *Planta*. (1997). 203, S79–84.
- Strohm A.K., Barrett-Wilt G.A., Masson P-H. "A functional TOC complex contributes to gravity signal transduction in *Arabidopsis*." *Frontiers in Plant Science*. (2014). 5, 148.
- Swarup R., Bennett M.J. "Root gravitropism." *Annual Plant Reviews*. (2009). 37, 157–174.

Swarup R., Friml J., Marchant A., Ljung K., Sandberg G., Palme K., Bennett M.J. "Localization of the auxin permease AUX1 suggests two functionally distinct hormone transport pathways operate in the *Arabidopsis* root apex." *Genes and Development*. (2001). 15, 2648–2653.

Swarup R., Kargul J., Marchant A., *et al.* "Structure–function analysis of the presumptive *Arabidopsis* auxin permease AUX1." *The Plant Cell*. (2004). 16, 3069–3083.

Swarup R., Kramer E.M., Perry P., Knox K., Leyser H.M., Haseloff J., Beemster G.T., Bhalerao R., Bennett M.J. "Root gravitropism requires lateral root cap and epidermal cells for transport and response to a mobile auxin signal." *Nature Cell Biology*. (2005). 7, 1057–1065.

Swarup R., Péret B. "AUX/LAX family of auxin influx carriers—an overview." *Frontiers in Plant Science*. (2012). 3, 225.

Swarup R., Wells D., Bennett M.J. "Root gravitropism. In: Eshel A, Beeckman T, eds. The hidden half, 4th edn." *Boca Raton, FL: CRC Press*. (2013). 19–34.

Swarup R., Wells D., Bennett M.J. "Auxin transport: providing plants with a new sense of direction." *The Biochemist*. (2014). 36, 12–15.

Tanaka A., Kobayashi Y., Hase Y., Watanabe H. "Positional effect of inactivation on root gravitropism using heavy-ion microbeams." *Journal of Experimental Botany*. (2002). 53, 683–687.

Terrile M.C., Paris R., Calderón-Villalobos L.I., Iglesias M.J., Lamattina L., Estelle M., Casalongué C.A. "Nitric oxide influences auxin signaling through S-nitrosylation of the *Arabidopsis* TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE 1 auxin receptor." *The Plant Journal*. (2012). 70, 492–500.

Tsugeki R., Fedoroff N.V. "Genetic ablation of root cap cells in *Arabidopsis*." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (1999). 96, 12941–12946.

Wang L., Chu H., Li Z., Wang J., Li J., Qiao Y., Fu Y., Mou T., Chen C., Xu J., "Origin and development of the root cap in rice." *Plant Physiology*. (2014). 166: 603-613.

Wayne R., Staves M.P., Leopold A.C. "Gravity-dependent polarity of cytoplasmic streaming in *Nitellopsis*." *Protoplasma*. (1990). 155, 43–57.

“Wayne R., Staves MP. “A down to earth model of gravisensing or Newton’s Law of Gravitation from the apple’s perspective.” *Physiologia Plantarum*. (1996). 98, 917–921.

Went F. “On growth-accelerating substances in the coleoptile of *Avena sativa*.” *Proceedings of the Koninklijke Nederlandse Academie van Wetenschappen*. (1926). 30, 10–19.

Whitford R., Fernandez A., Tejos R., *et al.* “GOLVEN secretory peptides regulate auxin carrier turnover during plant gravitropic responses.” *Developmental Cell*. (2012). 22, 678–685.

Wolverton C., Ishikawa H., Evans M.L. “The kinetics of root gravitropism: dual motors and sensors.” *Journal of Plant Growth Regulation*. (2002a). 21, 102–112.

Wolverton C., Mullen J.L., Ishikawa H., Evans M.L. “Root gravitropism in response to a signal originating outside of the cap.” *Planta*. (2002b). 215, 153–157.

Yamamoto K., Kiss J.Z. “Disruption of the actin cytoskeleton results in the promotion of gravitropism in inflorescence stems and hypocotyls of *Arabidopsis*.” *Plant Physiology*. (2002). 128, 669–681.

Capítulo III. Pelos radiculares

Introducción

El desarrollo de un organismo multicelular requiere la especificación de los tipos de tejidos que difieren entre sí en forma, tamaño, composición, función y características metabólicas específicas. Para compensar su estado sésil, las plantas exhiben un alto grado de plasticidad, que se refleja en el tamaño, patrón de organización y diferenciación que les permite aclimatarse/adaptarse a las condiciones ambientales variables. Un amplio contenido de información es integrado por la planta para la toma de decisión para ajustar el crecimiento y lograr el mejor funcionamiento ante las características ambientales preponderantes en ese momento. La respuesta de la planta a los cambios ambientales es sistémica; la información detectada en la parte aérea de la planta se transfiere a la raíz para orquestar la respuesta de este órgano, de forma inversa, la raíz envía señales al resto de la planta de los factores sensados por ella. De esta forma la raíz puede orquestar su respuesta ante condiciones ambientales cambiantes, y por ello, la raíz se encuentra ante una variedad enorme de señales que alteran la expresión génica y disparan las respuestas para aclimatarse.

La raíz consiste de diferentes tipos celulares que se originan de las células madre localizadas en el meristemo, las cuales pasan a través de fases consecutivas de desarrollo antes de completar su diferenciación y adquirir una función especializada. Las diferentes zonas que componen a la raíz: meristemática, de transición, de alargamiento y de maduración se encuentran establecidas con base en las características de actividad celular (Verbelen *et al.*, 2006).

La zona meristemática se caracteriza por un alto índice de división celular y manutención de un número de células madre o iniciales como reservorio celular. Cuando las células hijas son desplazadas fuera del meristemo, pasan a una zona de transición, en la cual la célula cambia de programa génico que le permite pasar de ser una célula totipotencial con alta capacidad de división a ser una célula con capacidad de compromiso, que se caracteriza por ser una célula poliploide.

Después, la célula pasa a la zona de alargamiento en donde transforma la citoarquitectura que se caracteriza por tener una gran vacuola central, el citoesqueleto se polariza y ocurre una remodelación de la pared celular. Durante la remodelación de la pared celular, las microfibrillas de celulosa se

ensamblan perpendicularmente al eje de expansión, creando planos de menor resistencia que permiten un mecanismo de crecimiento anisotrópico, que dirige el alargamiento sobre el eje longitudinal, en lugar la expansión celular homogénea (Anderson *et al.*, 2010). El depósito ordenado de las microfibrillas de celulosa, se da por la adecuada ubicación de las enzimas que la sintetizan, la celulosa sintasa, la cual se localiza en un dominio pre-establecido en la membrana plasmática, al cual arriban las vesículas de secreción que contienen a la sintasa y diversos componentes de la pared celular, el movimiento de las vesículas se da a través del citoesqueleto, la conducción final de las vesículas a la membrana plasmática se realiza a través de los microtubulos corticales y la proteína POM [POM2/Cellulose Synthase interacting I (CSI1); Paredez *et al.*, 2006; Bringmann *et al.*, 2012a].

En la zona de alargamiento de la raíz, se da un crecimiento anisotrópico difuso, en el que predomina la expansión sobre uno de sus ejes celulares y resulta en un incremento en el volumen celular; este proceso está pre-determinado por la modificación específica y drástica de la pared celular. Los cambios estructurales de la pared celular incluyen cambios en la transcripción de enzimas remodeladoras de la pared celular, entre ellas están las peroxidasa clase III, las cuales producen especies reactivas de oxígeno (ERO) que son requeridas para la relajación de la pared celular; las xiloglucan endo-transglucosidasas/hidrolasas (XTH) que participan en la hidrólisis de enlaces y transferencia de oligosacáridos entre polímeros y remodela a los xiloglucanos, y con ello, se da el relajación de la pared celular (Cosgrove, 2000; Van Sand *et al.*, 2007; Wilson *et al.*, 2015), por lo que la reorientación de las microfibrillas de celulosa perpendicularmente al eje longitudinal de expansión y la relajación de los enlaces entre los componentes de la pared, generan una disminución en la fuerza de tensión de la estructura, que favorece la expansión cuando aumenta la fuerza de turgencia de la célula. En combinación, en micrositios diferentes, la pared celular se rigidiza mediante el cambio en la composición y el entrecruzamiento covalente entre los componentes de la pared celular. Los micrositios se van ampliando conforme la célula ingresa a la zona de maduración, en donde el crecimiento cesa.

Las células comprometidas en la zona de alargamiento se diferencian y constituyen la zona de maduración. Así por ejemplo, las células proto-dérmicas ubicadas en la parte externa de la raíz, expresan marcadores

distintivos que la comprometen para formar el sistema tisular dérmico en la zona de alargamiento que definirá el tipo celular dérmica que formará en la zona de maduración. La primera característica externa de la zona de maduración de una raíz es la epidermis diferenciada, la cual consiste de una capa monoestratificada de células altamente empaquetadas con paredes celulares muy delgadas, que a diferencia del resto de la epidermis del organismo, la epidermis de la raíz no genera una cutícula, la falta de esta estructura facilita la difusión de agua y nutrientes a través de ella. La captura de agua y nutrientes es facilitada por los pelos radiculares, células epidérmicas modificadas en forma tubular que incrementan la superficie de absorción y por ello la capacidad de captura. Los pelos radiculares poseen una vida media muy corta y son rápidamente sustituidos por nuevos pelos radiculares a partir de nuevas células derivadas del meristemo conforme la raíz crece.

A. Compromiso y decisión celular

1. Desarrollo, estructura y función del pelo radicular

El pelo radicular está constituido por células simples que absorben agua y nutrientes desde el suelo y los transfieren al resto de la raíz. Los pelos radiculares, también denominados pelos absorbentes son estructuras tubulares que crecen en dirección al suelo (Fig. 1). Debido a su crecimiento polar, los pelos radiculares se extienden radialmente, generando pequeñas zonas de absorción. Los pelos radiculares además, están involucrados en procesos simbióticos con una variedad de microorganismos que facilitan la solubilización y captura de nutrientes desde el suelo, o bien, es el punto de inicio para generar una endosimbiosis para la fijación de nitrógeno, como la que se establece entre las raíces de las leguminosas y las especies de *Rhizobium* fijadoras de nitrógeno (Oldroyd, 2001; Oldroyd y Dixon, 2014).

La morfogénesis del pelo radicular (RH) está determinada por un patrón genético establecido, el cual es modulado por la percepción y generación de señales derivadas de las condiciones ambientales, entre las que están las señales que se originan por las condiciones edáficas, que se integran a las señales sistémicas para orquestrar el desarrollo y la respuesta fisiológica de la raíz.

El RH se forma de un grupo de células epidérmicas especializadas que se derivan de una célula madre pluripotencial, en la que restringe su capacidad de compromiso, denominada tricoblasto (Leavitt, 1904), los cuales se encuentran en un arreglo específico en la epidermis. Debido a su vida muy corta, los tricoblastos son generalmente longitudinalmente más cortos que el resto de células epidérmicas denominadas atricoblastos o células que no forman un pelo absorbente; los tricoblastos además poseen un citoplasma más denso y con una vacuola central pequeña o con un menor número de vacuolas (Grierson *et al.*, 2014), la diferencia entre los dos tipos celulares se observa antes de la diferenciación del RH. Se encuentran tres diferentes patrones de distribución de los RH (Fig. 1; Leavitt, 1904; Dolan y Costa, 2001; Marzec *et al.*, 2014). En las especies que presentan el patrón de tipo I, cualquier célula puede generar al tricoblasto y con ello el RH, como es el caso del arroz en que los pelos radiculares se desarrollan de forma azarosa; la proporción variable de células que pueden ser transformadas en tricoblastos le permite una respuesta plástica a condiciones ambientales cambiantes (Cormack, 1947). En el patrón de tipo II, las células se dividen en forma asimétrica, de modo que las células más grandes se expanden y se diferencian en células epidérmicas, mientras que la célula más pequeña se compromete para ser un tricoblasto, este patrón se encuentra en los pastos como *Brachypodium*. Por otra parte, el patrón de tipo III, el cual se encuentra en la familia Brassicaceae, como *Arabidopsis*, y familias cercanas como Capparaceae, Tovariceae y Resedaceae, los RH se organizan en filas de células tricoblasto que son alternas a filas de células atricoblastos (Bünning, 1951; Pemberton *et al.*, 2001).

En el inicio del desarrollo del RH la vía involucrada depende de la posición celular, la cual especifica las características del tricoblasto. La manipulación de la posición celular por la técnica de ablandamiento tisular mediante un láser, la cual altera la posición pero no el linaje celular, permitió definir los factores que inducen las características de la célula proto/epidérmica en *Arabidopsis* (Berger *et al.*, 1998). En esta especie, la epidermis se arregla en filas de 16 células iniciales, el parénquima subyacente que constituyen a la corteza está formado por un anillo de 8 células. En la zona de maduración la epidermis contiene a los dos tipos celulares: los tricoblastos que se encuentran en contacto con dos células corticales subyacentes, posición que

se ha denominado posición H, la cual es una característica requerida para la especificación del tricoblasto y la formación del RH; mientras las células epidérmicas que están en contacto solamente con una célula cortical subyacente, denominada posición N, no es capaz de transformarse en RH, quedando por lo tanto como atricoblastos (Fig. 3; Dolan *et al.*, 1994).

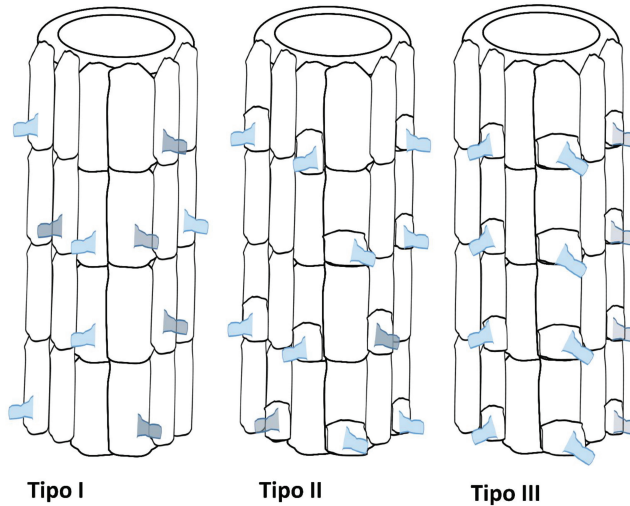


Figura 1. Formación del pelo radicular y la distribución en la epidermis de la raíz. En la base de la zona de maduración de la raíz, los tricoblastos inician el crecimiento polar planar. Se distinguen 3 patrones de distribución de los pelos radicales que son dependientes de la especie. En el Tipo I, cualquier célula protodérmica puede comprometerse y diferenciarse para formar un pelo radicular; el Tipo II, los pelos radicales se derivan de la célula más pequeña provenientes de una división asimétrica, mientras que la célula más grande se mantiene como un atricoblasto; el Tipo III, se caracteriza por filas alternativas de células tipo tricoblasto y de células tipo atricoblasto. Figura modificada de Salazar-Henao *et al.*, 2016.

El patrón en el desarrollo está establecido desde los estados tempranos de la embriogénesis, en el momento que se inicia el compromiso de la protodermis. En el embrión globular se expresa el factor de transcripción *GLABRA2* (*GL2*) necesario para la especificación de las características epidérmicas o atricoblasticas (Lin y Schiefelbein, 2001), el dimorfismo entre tricoblasto y atricoblasto se da en la zona de alargamiento próxima a la zona meriste-

mática, mucho antes que se da la formación del pelo radicular (Dolan *et al.*, 1994; Rerie *et al.*, 1994).

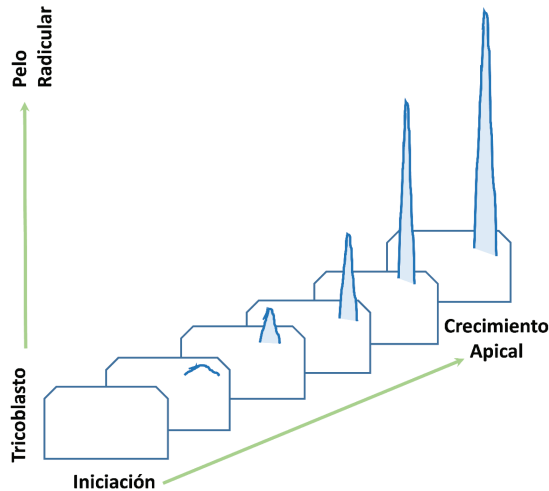


Figura 2. Desarrollo del pelo radicular. Estados consecutivos en la formación del pelo radicular. La iniciación comienza con la detección de la posición de la célula con respecto a las células corticales vecinas; aquellas que limitan entre dos células parenquimatosas se pueden comprometer como tricoblastos y se diferencian en pelos radiculares; mientras que las células más largas y que limitan solamente con una célula del parénquima cortical se mantienen como atricoblasto y formará el resto de la epidermis. En el tricoblasto, la cara lateral externa en su parte basal (región más cercana al ápice de la raíz) se inicia la formación de una protuberancia, a partir de la cual se da el alargamiento unidireccional o crecimiento polar planar. Figura modificada de Salazar-Henao *et al.*, 2016.

El desarrollo del RH se da en dos fases discretas: la iniciación del desarrollo y el crecimiento apical de la célula (Fig. 2; Dolan *et al.*, 1994; Grierson *et al.*, 2014). Posteriormente al compromiso o especificación protodérmica (posición H), un patrón génico diferencial es asignado a cada una de las células: tricoblastos *vs* atricoblastos, que les permite obtener características morfológicas que las diferencia. En el tricoblasto, el establecimiento del crecimiento polar en que la auxina media el proceso, se denomina determinación planar de la polaridad, la cual provoca la expansión anisotrópica

en la cara basal externa del tricoblasto (Nakamura *et al.*, 2012; Balcerowicz *et al.*, 2015). La pared celular se ablanda permitiendo un cambio estructural en una pequeña área en forma de disco y que se establece previamente a que termine el alargamiento celular. Subsecuentemente, en ese dominio se forma una pequeña protuberancia o yema (Fig. 2), que involucra la acumulación de proteínas tipo ROB, filamentos de actina, retículo endoplásmico y la acidificación simultáneamente del apoplasto. Una vez que se forma la yema, se inicia muy rápidamente el crecimiento del ápice con la formación de una estructura tubular, sustentada por la exocitosis de componentes de pared celular y aumento de la superficie de la membrana plasmática en ese sitio. El crecimiento del apice se da una vez el tricoblasto cesa de alargarse y es gobernado por el establecimiento de un gradiente de calcio, con una alta dinámica del citoesqueleto y la polarización celular. La duración y velocidad del crecimiento apical define el tamaño final en el RH; en *Arabidopsis*, la longitud del RH puede alcanzar 1 mm o más (Grierson *et al.*, 2014).

2. Decisión del destino de las células en el desarrollo

a. Compromiso y vía de señalización

La diferenciación de las células derivadas de las células protodérmicas se regula por varias señales a través de factores de transcripción (Fig. 3). Los RH son regulados negativamente por un complejo de regulación que comprende a un factor MYB de transcripción tipo R2R3 denominado WEREWOLF (WER), GLABRA3 (GL3) una proteína bHLH (basic hélix-loop-helix protein), su parólogo ENHANCER OF GLABRA3 (EGL3) y una pequeña proteína con un dominio WD40 repetido e involucrado en la interacción proteína-proteína denominada PROTEIN TRANSPARENT TESTA GLABRA 1 (TTG1; Galway *et al.*, 1994; Walker *et al.*, 1999; Payne *et al.*, 2000; Esch *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2003).

La actividad del complejo GLE3-EGL3/TTG1 depende de la abundancia relativa del factor de transcripción WEREWOLF (WER) y de CAPRICE (CPC) que actúan en forma opuesta (Wada *et al.*, 1997; Lee y Schiefelbein, 1999). La reducción en la cantidad de WER, permite que GLE3-EGL3/TTG1 formen complejo con la proteína MYB, CAPRICE (CPC) o sus parólogos funcionales ENHANCER OF TRY AND CPC1 (ETC1) o ETC3 o TRYPTICHON (TRY) en los tricoblastos (Fig. 3; Lee y Schiefelbein, 2002; Wada *et al.*, 2002; Bernhardt *et*

al., 2003; Kirik *et al.*, 2004; Koshino-Kimura *et al.*, 2005; Ryu *et al.*, 2005; Simon *et al.*, 2007; Schiefelbein *et al.*, 2014). En los atricoblastos, los trímeros GLE1/GLE3/TTG1, o los dímeros GLE3/TTG1 y GLE1/GLE3 regulan diferencialmente a genes en la parte baja de la vía (Pesch *et al.*, 2015). *TRY* es activado por GLE3/TTG1, el cual es contrarrestado por GLE1; *CPC* es activado por GL1/GL3 y es inhibido por TTG1. Así, *CPC*, *ETC1* y *TRY* son inducidos en la célula atricoblasto y migran a la célula vecina o tricoblasto y competitivamente inhiben la unión de *WER* a GLE3-EGL3 (Fig. 3; Lee y Schiefelbein, 2002; Kurata *et al.*, 2005; Kang *et al.*, 2013).

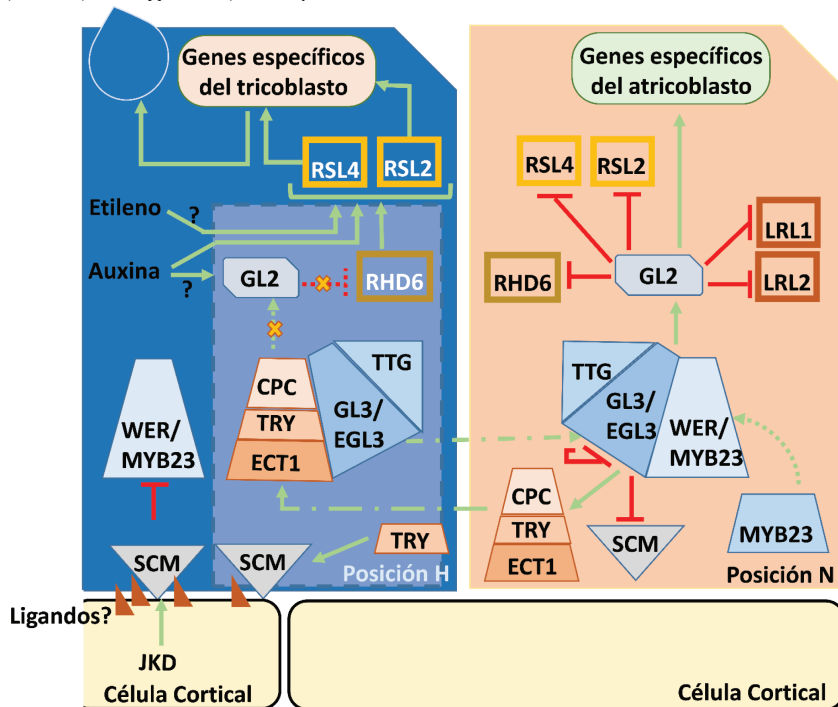


Figura 3. Compromiso dependiente de la posición celular en la epidermis de la raíz de *Arabidopsis*. La detección de la posición de la célula en relación a las células vecinas del parénquima cortical establecen la posición H (Hair) o N (Non-Hair), lo cual activa un patrón de transcripción diferencial en cada una de ellas. Las flechas indican activación transcripcional, las flechas punteadas indican movimiento intercelular de componentes y las líneas rojas indican represión transcripcional, las x sobre una flecha indica que esta vía está inhibida. La figura es una modificación de Balcerowicz *et al.*, 2015; Salazar-Henao, 2016.

En el tricoblasto, la expresión de *WER* se reduce por una señal de posición inducida por JACKDAW (JKD) una proteína con dedos de zinc, señal que proviene de las células corticales adyacentes (Kwak y Schiefelbein, 2007; Hassan *et al.*, 2010), esta señal se encuentra vía arriba en la vía de señalización. Este factor induce una señal, la cual no ha sido identificado (Fulton *et al.*, 2009; Bai *et al.*, 2013; Trehin *et al.*, 2013), pero se acumula en las células en posición H, lugar de compromiso del tricoblasto. La señal es percibida en la célula H mediante la unión al receptor rico en regiones repetidas de leucina tipo cinasa SCRAMBLED (SCM; leucine-rich repeat receptor-like kinase; Kwak *et al.*, 2005). SCM es parte de una vía de retroalimentación, donde su acumulación en las células en posición H está inducida por el factor de transcripción TRY en el tricoblasto, y es negativamente regulado en las células en posición N por el complejo WER/GLE-EGL3/TTG1 (Fig. 3; Kwak y Schiefelbein, 2008). El dominio cinasa de SCM está inactivo (Chevalier *et al.*, 2005) pero es necesario para establecer el patrón adecuado del pelo radicular (Kwak *et al.*, 2014). La represión de *WER* en las células de la posición H requiere de TORNADO1, una proteína específica de plantas con dominios repetidos de leucina con una actividad tipo inhibidor de ribonucleasa (leucine-rich repeat ribonuclease inhibitor-like domain; Kwak *et al.*, 2015).

En la célula en posición H, el complejo GLE3/TTG1 con CPC-TYR-ETC1 reprime la expresión de *GL2* y la célula por lo tanto, cambia de programa génico y se compromete/diferencia para formar un pelo radicular. La asignación de las características se refuerza por la migración de CPC desde las células en posición N a las de la posición H y por el movimiento en dirección opuesta de GL3/EGL3 (Fig. 3), lo que genera un sistema de soporte mutuo (Grierson *et al.*, 2014; Savage *et al.*, 2008; Benítez y Alvarez-Buylla, 2010).

Varios mecanismos soportan las características de diferenciación de las células vecinas, la activación del complejo que promueve la expresión de un parólogo funcional de *WER*, *MYB23*, establece una retroalimentación positiva en las células N (Kang *et al.*, 2009). Una retroalimentación negativa entre los complejos activadores y la expresión de *SCM* existe en las células N (Kwak y Schiefelbein, 2008). En el mutante *try*, pero no en el mutante *cpc*, se reduce la cantidad de proteína SCM, implicando una retroalimentación positiva vía TRY en la acumulación preferencial de SCM en los tricoblastos (Kwak y Schiefelbein, 2014). La activación del complejo promueve la expre-

sión positiva de los reguladores *GL2* y de los inhibidores *CPC*, *ETC1* y *TRY* en los atricoblastos (Schiefelbein *et al.*, 2014).

b. Determinación del pelo radicular y las condiciones ambientales

La longitud y la abundancia de los HR es inducida por condiciones ambientales, esto asegura la adquisición óptima de nutrimentos y agua del suelo. Las diferentes características de los nutrimentos limitan el crecimiento de la planta, en particular los que poseen poca solubilidad y limitada movilidad como son los fosfatos (Pi), Mn, Fe y Zn (Ma *et al.*, 2001; Müller y Schmidt, 2004; Yang *et al.*, 2008).

La detección adecuada de las condiciones edáficas por la raíz induce cambios en la morfogénesis del RH y la homeostasis, en particular la deficiencia de Pi produce efectos drásticos en el desarrollo y crecimiento de la planta. La señal generada por la deficiencia de Pi (PSR, Pi starvation response) genera mecanismos de adquisición del Pi y el reciclamiento del Pi interno, que implica cambios metabólicos, fisiológicos y morfológicos, lo cual permite una aclimatación multifacética. Los módulos que regulan el PSR controlan la reprogramación del metabolismo de carbohidratos y lípidos para promover el uso de Pi interno, el control del influjo a través de la regulación dinámica de los transportadores de alta afinidad de Pi y un incremento en la cantidad en la rizósfera favorecido por la excreción de enzimas como son las fosfatasas ácidas purpuras (purple acid phosphatases) y RNAsas liberan el Pi del suelo. Los cambios en la arquitectura de la raíz, comprende el alargamiento restringido de la raíz primaria, el incremento en la densidad de las raíces laterales, la formación y densidad de los pelos radiculares, que en conjunto incrementan el área de absorción en particular en suelos deficientes de Pi. Las respuestas coordinadas entre el tallo y la raíz involucran el tráfico de señales sistémicas, como son los azúcares, miRNA y fitohormonas a través del tejido vascular (Lin *et al.*, 2014). Las respuestas morfológicas de la raíz son controladas por las concentraciones locales del Pi (Ticconi *et al.*, 2004; Thibaud *et al.*, 2010), por la integración de señales locales y sistémicas inducidas ante la deficiencia. Las señales a larga distancia pueden influenciar algunas o todas las respuestas de la morfogénesis radicular.

En plantas con deficiencias de Pi, la longitud del RH se incrementa dos veces y la abundancia aumenta en comparación con las plantas crecidas con cantidades suficientes o solo limitantes de Pi (Ma *et al.*, 2001). No todas las

variedades de *Arabidopsis* muestran la misma respuesta a la deficiencia de Pi en cuanto a la densidad o longitud de los RH, indicando que las diferentes ascensiones poseen estrategias diferentes para suplir la deficiencia de Pi (Stetter *et al.*, 2015). La poliploidia posee un efecto positivo en la longitud y densidad del pelo radicular en condiciones de deficiencia de Pi, pero no contribuye al fenotipo del mismo. Los cambios en la densidad y la longitud del RH no están siempre acoplados entre sí, indicando la existencia de vías parcialmente separadas en el control entre ambos procesos. La deficiencia de Pi incrementa la densidad a costa del alargamiento celular del RH, así la longitud de las células epidérmicas de la raíz está determinada por las señales de posición que lo determinan. Mutantes que poseen defectos en la expresión de *scm*, el cual es requerido para la percepción de la señal (Kwak *et al.*, 2005), o de *wer*, los que normalmente indican la señal posicional (Song *et al.*, 2011) forman células pequeñas en comparación al de las silvestres (Savage *et al.*, 2013).

Las células corticales parcialmente determinan la probabilidad de la decisión de la célula N, una señal débil retrasa en el atricoblasto el momento de la toma de decisión, reduce el tiempo para que la célula se alargue, resultando en una célula corta, parecida al tricoblasto (Savage *et al.*, 2013), así, la reducción en intensidad de la señal, como ocurre en la deficiencia de Pi, retarda la decisión en el compromiso celular y con ello aumenta el tiempo en que puede tomarse una determinación, a costa del tiempo entre el compromiso a la de formación del RH (Savage *et al.*, 2013).

En los genotipos que no perciben las señales de los pelos radiculares en la posición N en deficiencia de Pi, el mecanismo implicado es la reducción en la longitud del RH y se induce en contra parte una mayor densidad de pelos radiculares (Savage *et al.*, 2013). Por lo que la posición es un gran determinante en reprimir la formación ectópica de pelos radiculares e impedir que surjan en ese lugar pelos radiculares, y es necesario señales externas para activar mecanismos adicionales para inducir la formación del pelo radicular en la posición N. La deficiencia de Pi reduce la intensidad de las señales provenientes de las células corticales o compromete la detección o la transducción de la señal, lo que restringe el alargamiento de las células y por ello el surgimiento de pelos radiculares en la posición N (Savage *et al.*, 2013).

El contacto de los ápices de los pelos radiculares con un medio sin Pi es suficiente para restringir su alargamiento (Ward *et al.*, 2008). El Fe es requerido para el crecimiento de la raíz cuando existen bajas concentraciones de Pi, así, la restricción en el alargamiento es un fenómeno adaptativo y es parte integral de la respuesta a la deficiencia de Pi (Müller *et al.*, 2015).

El depósito de Fe y calosa puede comprometer la comunicación simplástica en el nicho de células madre y restringir el alargamiento celular. En este proceso está involucrada la expresión de *LOW PHOSPHATE ROOT 1 (LPR1)*, que codifica para una ferroxidasa localizada en la pared celular, que se expresa específicamente en el meristemo radicular y en la zona de alargamiento, además se requiere de la expresión de *PHOSPHATE DEFICIENCY RESPONSE 2 (PRD2)* un tipo de ATPasa P5, que se ubica en el retículo endoplásmico, necesaria para la expresión adecuada de *SCARECROW* (Ticconi *et al.*, 2009; Müller *et al.*, 2015). Se ha mostrado que el mutante *prd2* posee una respuesta altamente sensible a Pi y Fe (Ticconi *et al.*, 2009). Por lo que, la oxidación del Fe y el subsecuente depósito en el apoplasto del óxido de hierro y de la calosa en los estratos interiores de la pared celular de los ápices de las raíces privadas de Pi, reduce la comunicación entre las células epidérmicas y las corticales, disminuyendo la señal líder de posición, acortando a las células epidérmicas y subsecuentemente aumentando la frecuencia de pelos radiculares (Salazar-Henao *et al.*, 2016).

c. Mecanismos que subyacen en la plasticidad en la formación de los pelos radiculares

La privación de Fe, Mn o Pi induce la formación de los pelos radiculares en la posición normalmente ocupada por los atricoblastos (Perry *et al.*, 2007), lo que indica la existencia de mecanismos que inducen la formación ectópica de los pelos radiculares en respuesta a un nutrimento inmóvil útil para la planta. Debido a que en el inicio en la vía de compromiso se encuentran *WER* y *CPC*, cualquier cambio que perturbe la competición entre ambos alterará la decisión celular en un inicio de la diferenciación epidérmica, por lo que es importante definir las señales que se integran a la cascada inducida por *WER* y que son moduladas por condiciones ambientales.

i. Metabolismo de los lípidos que influyen la cascada de señales de WER

Durante el compromiso de los pelos radicales, las proteínas MYB R3 parálogas de CPC, como ETC1, ETC3 y TRY aparentemente juegan un papel similar pero no son completamente redundantes (Schiefelbein *et al.*, 2009; Tominaga-Wada y Wada, 2014), presentando funciones aditivas entre CPC, ETC1 y TRY cuando las plantas están sujetas a deficiencia de Pi, que incluye pero no limita el papel en el transporte de Fe y Zn, el metabolismo de lípidos y la adquisición, captura y almacenamiento de Pi (Chen y Schmidt, 2015). La regulación del metabolismo de los lípidos (LM) está relacionado a la interacción entre las señales de los lípidos y la diferenciación de los pelos radicales. En respuesta a la deficiencia de Pi, las plantas emplean una vía metabólica en la cual los fosfolípidos (PL) son hidrolizados y reemplazados por glucolípidos para liberar Pi, proceso que se ha denominado “remodelación de los lípidos de membrana plasmática” (Nakamura *et al.*, 2009; 2014). Mutantes con defectos en la expresión de los genes involucrados en la remodelación de los lípidos, exhiben un fenotipo característico asociado a la deficiencia de Pi (Chandrika *et al.*, 2013), indicando la interrelación entre la diferenciación de los pelos radicales y el LM bajo condiciones de deficiencia de Pi. Los cambios provocados en el LM afectan la actividad biológica de varios interlocutores que están involucrados en el compromiso celular (Fig. 4). La interrelación entre WER y el ácido fosfatídico (PA) modula la formación y alargamiento del pelo radicular (Yao *et al.*, 2013). En los atricoblastos, la unión al PA relocaliza a WER en el núcleo (Yao *et al.*, 2013) lo que promueve la expresión de *GL2*, el cual a su vez regula negativamente la expresión del gen de la fosfolipasa $D\zeta 1$ (*PLD\zeta 1*) que originan al PA (Ohashi *et al.*, 2003). En deficiencias de Pi, la generación de PA debido a la actividad de *PLD\zeta 2* es fuertemente inducida (Li *et al.*, 2006; Chen y Schmidt, 2015). En los tricoblastos, los altos niveles de CPC, en comparación a los atricoblastos, contrarrestan la acción de WER y libera de la represión a *PLD\zeta 1*. Los atricoblastos expuestos a una deficiencia de Pi, el incremento de CPC (y sus parálogos) aumentan la actividad de *PLD\zeta 1* y los niveles de PA que sustentan la formación de los pelos radicales. Mutantes con defectos en las lipasas *PLD\zeta 1* y *PLD\zeta 2* forman pocos pelos radicales cuando son crecidas en medio deficientes en Pi (Li *et al.*, 2006). La inducción de *PLD\zeta* por la deprivación de Pi es dependiente de la funcionalidad de CPC, lo que establece una retroalimentación que pro-

mueve el compromiso celular por la producción continua de PA (Fig. 4; Chen y Schmidt, 2015).

ii. Control del compromiso celular a nivel cromatínico

La estructura de la cromatina es crucial en las estrategias de aclimatación en las plantas. El mutante con defectos en *ACTIN-RELATED PROTEIN 6 (ARP6)*, un componente del complejo de remodelación de la cromatina SWR1 (Deal *et al.*, 2005) está involucrado en la disposición de los dímeros de las histonas H2A.Z/H2B, que alteran la estructura de la cromatina provocando el plegamiento intramolecular (Fan *et al.*, 2002). En *Arabidopsis*, los defectos en la expresión de *ARP6* resultan en la incorrecta disposición de H2A.Z y una activación constitutiva de los genes inducibles por deficiencia de Pi. Los mutantes *arp6* forman pelos radiculares largos y de alta densidad en la raíz en condiciones de ausencia de Pi (Smith *et al.*, 2010), por lo que la unión de elementos regulatorios trans promueven a este grupo de PSR.

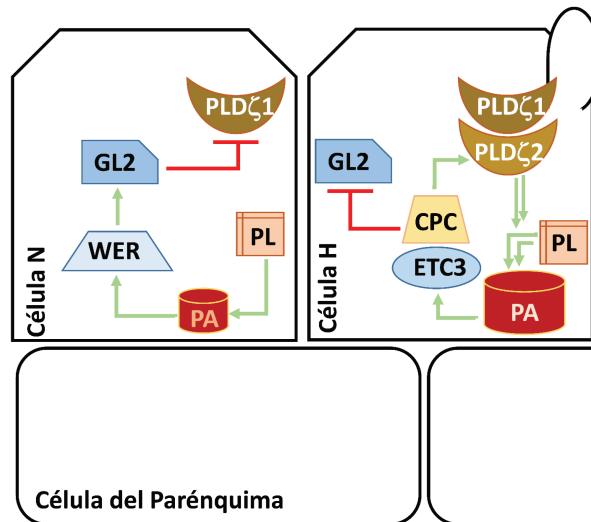


Figura 4. La deficiencia nutricional provoca un mecanismo de retroalimentación para crear pelos radiculares adicionales. Bajo condiciones nutricionales normales, en las células atricoblasto (Célula N) que no formarán pelos radiculares, la unión de WER a PA promueve la translocación de WER al núcleo y con ello promueve la expresión de GL2. PA se produce por la actividad de la PLDζ. En las células que formarán pelos radiculares (Célula H), CPC compete con WER para unirse a PA (y/o por

otros lípidos) y regula positivamente la expresión de *PLD ζ 2*, que apoya la formación de los pelos radiculares. En deficiencia de Pi, se incrementa la expresión de *PLD ζ 2* y los parálogos de *CPC*, *ETC3*, induciendo el compromiso celular para formar el pelo radicular. Bajo la deficiencia de Pi, CPC también provoca la expresión de *PLD ζ 2*, incrementando la cantidad de PA y refuerza el mecanismo de retroalimentación. Las flechas indican una regulación positiva, mientras que las líneas romas denotan una represión. Figura modificada de Salazar-Henao *et al.*, 2016.

La participación de las proteínas con un homeodominio (PHD) como ALFIN-LIKE 6 (AL6) son esenciales para el alargamiento del pelo radicular en condiciones de deficiencia de Pi (Chandrika *et al.*, 2013). AL6 se puede unir a la lisina 4 trimetilada de la histona 3 (H3K4me3), generando una plataforma para la asociación de reguladores *trans* (Sims y Reinberg, 2006; Lee *et al.*, 2009). Los mutantes homocigóticos *al6*, muestran una expresión reducida de los genes inducidos por deficiencia de Pi, incluyendo a *ECT1* y los genes involucrados en la remodelación de los lípidos de la membrana; lo cual sugiere que AL6 afecta los procesos tempranos inducidos por la deficiencia del Pi en la morfogénesis del pelo radicular y probablemente este involucrado para el control post-transcripcional de las proteínas que dictan el compromiso celular o bien la regulación post-traducciona de tales proteínas vía las interacciones lípidos-proteína.

La desacetilasa de histonas se ha involucrado en la formación de los pelos radiculares. La sobreexpresión del gen de la desacetilasa *HDA18* debilita el compromiso entre tricoblasto *vs* atricoblasto en *Arabidopsis*, permitiendo la formación ectópica de los pelos radiculares (Xu *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2013); cuando se altera la expresión de *HDA6* afecta la expresión de *ETC1* y *GL2*, el efecto se realiza por medio de la unión de la proteína a las histonas en la región de los promotores de estos genes y subsecuentemente causa un cambio en el estatus de acetilación (Li *et al.*, 2015). Mutaciones en *HDA6* permiten la formación ectópica de pelos radiculares, indicando que la regulación a nivel de la cromatina afecta las etapas tempranas de la morfología de los pelos radiculares (Li *et al.*, 2015). El grado en la expresión de *HDA19* afecta el alargamiento y la densidad del pelo radicular, lo cual es más pronunciado en deficiencias de Pi (Chen *et al.*, 2015), así, la sobreexpresión de *HDA19* presenta un incremento dramático en la formación ectópica de los pelos radiculares, lo que afecta el grado de acetilación de las histonas, el in-

crecimiento de la actividad de HDA19 resulta en una señal débil, de la misma forma que se induce con deficiencia de Pi (Chen *et al.*, 2015).

iii. Cambios dependientes de las especies reactivas de oxígeno en la morfogénesis

Las condiciones ambientales generan cambios en los niveles de las especies reactivas de oxígeno que causan cambios homeostáticos para su control, abriendo una ruta a través de la cual los nutrimentos pueden ser detectados y la señal por medio de la transducción genera los cambios respectivos en la expresión génica. La regulación espacial en la producción y la distribución de los ERO es de importancia para el desarrollo del pelos radiculares, se ha observado que afecta los flujos de Ca^{2+} y las propiedades de la pared celular durante la expansión polarizada de la célula (Takeda *et al.*, 2008; Monshausen *et al.*, 2007).

El factor de transcripción tipo bHLH, UPBEAT1 (UPB1), controla la generación y el balance entre dos especies de ERO: H_2O_2 y $\text{O}_2^{\circ-}$ por la regulación de las peroxidasas clase III y las NADPHoxidasa, las que controlan la transición de la fase proliferativa a la de diferenciación durante la formación del pelo absorbente (Tsukagoshi *et al.*, 2010). La subunidad PTF1 del complejo Mediator (Mediator complex) puede estar implicado en el control del balance de las ERO, regulando la expresión de las peroxidasas clase III; el mutante *pft1* compromete la homeostasis de éstas especies lo que conduce a una reducción en el tamaño y densidad de los pelos radiculares, indicando la participación de las ERO en la iniciación y alargamiento de los pelos radiculares (Sundaravelpandian *et al.*, 2013). En los mutantes con defectos en *SUPERCENTIPEDE1 (SCN1)*, la proteína que genera una inhibición de la disociación del GDP de la Rho GTPasa (Rho GTPase GDP dissociation inhibitor), provoca que la producción de ERO no está centrada en una sola zona y los tricoblastos producen múltiples ramificaciones en un solo punto (Carol *et al.*, 2005). Por lo que, además de la cantidad, la ubicación de los ERO es determinante en la morfogénesis de los pelos radiculares.

La homeostasis de las ERO está asociada a señales nutricionales, la producción de ERO es un evento temprano durante la deprivación de K^+ (Shin y Schachtman, 2004), y la generación está asociada a la expresión diferencial de las peroxidasas y genes involucrados en la captura de K^+ . El mutante *root*

hair defective 2 (rhd2), posee defectos en la NADPH oxidasa y los pelos radiculares “explotan” durante la transición al crecimiento apical, mientras que los genes responsables del transporte K^+ se encuentran comprometidos (Foreman *et al.*, 2003; Shin y Schachtman, 2004). Altas concentraciones de Mg^{2+} también comprometen la acumulación local de ERO en el ápice y con ello el alargamiento de los pelos radiculares, en el mutante *rhd2* suplementado con Mg^{2+} no se encuentra una dependencia en el alargamiento con este elemento (Niu *et al.*, 2014). La concentración y la distribución de las ERO decrece en respuesta a deficiencias de Pi y estos cambios están asociados con la deficiencia de Pi que induce una extenuación del meristemo (Chacón-López *et al.*, 2011), así, el mutante *low phosphorus insensitive 4 (lpi4)* crecido en deficiencia de Pi muestra un menor decremento en la cantidad máxima del peróxido de hidrógeno que el silvestre y el mutante es incapaz de generar la atenuación del crecimiento de la raíz primaria, efecto que es típico en las plantas con deficiencia de Pi (Chacón-López *et al.*, 2011). Mutantes hipersensibles a la deprivación de Pi, como es el mutante *hsp7 (hypersensitive to Pi starvation)* acumula altas concentraciones de H_2O_2 (Kang *et al.*, 2014). Los cambios en la distribución de ERO inducidas por la deprivación nutricional son específicos (Shin *et al.*, 2005); por lo que la homeostasis juega un papel clave en mediar la respuesta al régimen nutricional que afecta la iniciación, alargamiento y forma de los pelos radiculares.

iv. Control en el alargamiento del pelo radicular

La longitud de los pelos radiculares está determinada por la duración del crecimiento en el ápice (Knox *et al.*, 2003). La deficiencia de Pi aumenta el tiempo en el crecimiento del pelo radicular y está correlacionada con la intensidad de un pulso traduccional del factor de transcripción bHLH ROOT HAIR DEFECTIVE 6-LIKE4 (*RSL4*; Yi *et al.*, 2010; Datta *et al.*, 2015); *RSL4* es un blanco directo de ROOT HAIR DEFECTIVE 6 (*RDH6*), un factor de transcripción de la subfamilia VIIIc de bHLH, que promueve el desarrollo en etapas tempranas del pelo radicular (Fig. 3), en este punto convergen las vías internas y ambientales (Masucci y Schiefelbein, 1996). *RSL4* se expresa en los tricoblastos de *Arabidopsis* en la zona de alargamiento de la raíz en el dominio contiguo e inmediato al crecimiento polar del pelo radicular, y controla a un grupo de genes que codifican para proteínas requeridas en la morfogé-

nesis de esta estructura (Yi *et al.*, 2010; Datta *et al.*, 2015). RSL4 es degradado rápidamente en el inicio del alargamiento del pelo radicular; la deficiencia nutricional incrementa significativamente la síntesis y la vida media de RSL4 (Datta *et al.*, 2015) y la función de RSL4 es aparentemente conservada evolutivamente (Stetter *et al.*, 2015; Han *et al.*, 2016). Las proteínas RSL son reguladores positivos en la formación de los pelos radiculares, se ha encontrado que estos factores son necesarios en el desarrollo de rizoides y células caulonemales de hongos como *Physcomitrella patens* (Jaug *et al.*, 2011; Menand *et al.*, 2007a; 2007b). El factor de la subfamilia XI de los factores de transcripción tipo bHLH, LOTUS JAPONICUS ROOTHAIRLESS1-LIKE (LRL) está involucrado en la morfogénesis de los pelos radiculares, y se encuentra involucrado en la respuesta a deficiencia de Pi (Yi *et al.*, 2005). En *Physcomitrella*, *PpLRL1* y *PpLRL2* se encuentran en condiciones de deficiencia de Pi en la transición del cloronema al caulonema (Tam *et al.*, 2015); los genes *RSL* y *LRL* son parte de un grupo de “genes de respuesta de la raíz” que evolucionaron desde el periodo Silúrico y que están asociados a la deficiencia de Pi y que funcionan para proveer Pi al organismo (Menand *et al.*, 2007a, 2007b). *RSL1*, *RSL2*, *LRL1*, *LRL2* y *RHD6* son blancos directos de *GL2*, el cual afecta negativamente su expresión (Lin *et al.*, 2015). *RSL2* es responsable de la respuesta a deficiencia de Pi (Lan *et al.*, 2012a) y está asociado a *GL2* en la percepción de la información ambiental. Dos blancos parálogos funcionales de *GL2* son *RSL4* y *LRL3*, que están asociados a la respuesta a señales ambientales, indicando la existencia de cierta redundancia que puede explicar el reclutamiento de esos genes para respuestas específicas a diferentes condiciones ambientales.

El alargamiento de los pelos radiculares es dependiente de los fosfoinosítidos, una familia de compuestos de los fosfolípidos de la membrana plasmática que contienen un fosfatidil inositol como cabeza polar y que están involucrados además en los eventos de señalización celular (Xue *et al.*, 2009). El fosfatidil inositol 3 fosfato [PtdIns(3)P] es requerido para el alargamiento de los pelos radiculares (Lee *et al.*, 2008). En la organización de la secreción polar de componentes de la pared celular durante el alargamiento de los pelos radiculares, se requiere de la expresión de *ROOT HAIR DEFECTIVE 4* el cual codifica para la fosfatasa del fosfatidilinositol 4 fosfato, la cual es específica para formar el PtdIns(4)P, los mutantes *rdh4-1* desarrollan pelos

radiculares cortos con una formación al azar en las protuberancias o inicio del pelo radicular (Thole y Nielsen, 2008). La enzima tipo B, fosfatidil inositol 5-cinasa (PIP5K) actúa como un factor cuantitativo para el alargamiento del pelo radicular en respuesta a deficiencia de Pi (Kusano *et al.*, 2008), esta cinasa produce el fosfatidilinositol 4,5 bifosfato [PtdIns (4,5)P₂] que es necesario para reorganizar a los microfilamentos de actina del citoesqueleto (Boss y Im, 2012). Mutantes con defectos en *PIP5K3* y *PIP5K4* producen pelos radiculares cortos y los doble mutante de estos genes pierden la capacidad de responder a las deficiencias de Pi (Wada *et al.*, 2015); ambos genes son regulados positivamente cuando existe una deficiencia de Pi, por lo que se ha sugerido que el gen *PIP5K* juega un papel importante en la transducción de la señal ante la deficiencia de Pi durante el alargamiento del pelo radicular (Wada *et al.*, 2015).

v. El papel de las fitohormonas

Las fitohormonas son importantes en la determinación y alargamiento del RH. En particular el etileno, la auxina y los brasinosteroides (BR) poseen una influencia directa en la determinación. El etileno juega un papel en el desarrollo del RH y en la respuesta ante la deficiencia de Pi (Kazan, 2015, Nagarajan *et al.*, 2011). Estudios farmacológicos con inhibidores de la biosíntesis de los BR por medio de aminoetoxivinilglicina (AVG) eliminan la formación del pelo radicular (Masucci y Schiefelbein, 1994, Tanimoto *et al.*, 1995).

El incremento en la concentración del ácido aminociclopropano-1-carboxil (ACC), un precursor del etileno, induce la presencia ectópica de una mayor cantidad de pelos radiculares (Tanimoto *et al.*, 1995). La mutación recesiva en el gen *CONSTITUTIVE TRIPLE RESPONSE1 (CTR1)*, el cual codifica para una proteína cianasa tipo Raf (Raf-like protein kinase) regula negativamente la señal del etileno (Huang *et al.*, 2003), esta proteína actúa mediante la unión al receptor al etileno (Dolan *et al.*, 1994), por lo que la mutación causa el desarrollo ectópico de pelos radiculares.

Por otra parte, la auxina es un regulador clave en la formación de los pelos radiculares (Grebe *et al.*, 2002; Masucci y Schiefelbein, 1996; Balcerowicz *et al.*, 2015). Se requiere una distribución diferencial de la fitohormona para el establecimiento correcto de la polaridad planar y la selección del sitio

de iniciación durante el desarrollo de los pelos radiculares. La auxina es un modulador de la forma y el tamaño del pelo radicular. Se ha establecido que la expresión del transportador de flujo de la auxina AUX1 se encuentra en los atricoblastos, mientras que existe una mínima o nula expresión en los tricoblastos (Jones *et al.*, 2009; Ikeda *et al.*, 2009). Se propone que las células que no se comprometen para formar a los pelos radiculares (NRH) proporcionan los requerimientos de la fitohormona a los pelos radiculares (Fig. 7); en las raíces de los mutantes *wer*, en los que las células epidérmicas se transforman en RH, AUX1 esta ausente en la epidermis y los pelos radiculares son más cortos que los del silvestre; los pelos radiculares de los mutantes *wer* pueden ser restituidos a la longitud normal por la administración exógena de auxina, asumiendo por lo tanto que se requiere suplementar de la fitohormona al RH desde las células NRH para la propio alargamiento del pelo radicular (Jones *et al.*, 2009). En el mutante *osaux1*, los pelos radiculares son más cortos que los silvestres (Yu *et al.*, 2015), en contraste, el ortólogo en *Arabidopsis* de *OsAUX1* se expresa en los RH pero no en los NRH, probablemente refleja el patrón diferencial de los pelos radiculares entre el arroz y *Arabidopsis* (Yu *et al.*, 2015).

La aplicación exógena de auxina, en forma del ácido indol-3 acético (IAA) o 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) parece que no tiene efecto en el destino de las células epidérmicas y no se forma ectópicamente un pelo radicular (Masucci y Schiefelbein, 1996; Pitts *et al.*, 1998). La auxina induce la producción de etileno en las raíces (Abeles *et al.*, 1992). ACC y IAA son capaces de reestablecer la formación de los pelos radiculares en los mutantes *rhđ6* que inicialmente no los forma. Se ha demostrado que la auxina y el etileno poseen efectos sobrepuestos en la mayoría de los genes regulados por RHD6 (Bruex *et al.*, 2012) y por ello es requerida la interacción de la auxina/etileno (Vanstraelen y Benková, 2012; Muday *et al.*, 2012; Robles *et al.*, 2013; Lee y Cho, 2013).

El etileno promueve la morfogénesis de los pelos radiculares en el punto en donde lo realiza la auxina, por abajo del punto que lo hace *RHD6* (Fig. 3; Masucci y Sciefelbein, 1996, Bruex *et al.*, 2012). La reversión de la mutación *rhđ6* mediada por la IAA es debida a la acción del factor de transcripción tipo bHLH ROOT HAIR DEFECTIVE 6-LIKE 4 (*RSL4*), *RDH6* induce directamente a *RSL4*, el cual se sabe que forma el primer componente de respuesta a la

auxina en la vía de señalización para la formación del pelo radicular (Fig. 3; Yi *et al.*, 2010). La proteína RSL4 se acumula 2 horas antes de la iniciación y alcanza un máximo durante los estados tempranos del desarrollo del pelo radicular, posteriormente la cantidad declina por el mecanismo en que se involucra a la ubiquitina-proteosoma 26S durante el crecimiento apical de la estructura (Datta *et al.*, 2015). El silenciamiento mediado de *RSL4* a través de los *siRNA* provoca pelos radiculares cortos y con menor densidad. En adición, *RSL2* un componente muy cercano de *RSL4*, es también regulado por RHD6 y la auxina, la pérdida de función en el doble mutante *rsl2-1 rsl3-1* no posee pelos radiculares (Yi *et al.*, 2010). La expresión de *RHD6* y su blanco RSL4 se incrementa por la acción de la auxina en las plantas silvestres, pero no en la doble mutante *rsl2 rsl4* (Yi *et al.*, 2010). La auxina actúa primariamente vía *RSL4*, sin embargo, solo 34 de los 90 genes que están asociados a la respuesta a la auxina están afectados en el mutante *rsl4* (Bruex *et al.*, 2012; Yi *et al.*, 2010), indicando que la auxina puede actuar vía diferentes rutas en la morfogénesis del pelo radicular (Fig. 5).

El tratamiento con fitohormonas o inhibidores hormonales provocan la pérdida ectópica de los RH, la interferencia en la vía de señalamiento inducida por la auxina resulta en una fuerte reducción en la formación de los RH. La estabilización del complejo AUX/IAA (y los correspondientes mutantes *axr2* y *axr3*) no forman pelos radiculares (Wilson *et al.*, 1990; Leyser *et al.*, 1996; Knox *et al.*, 2003). No se han demostrado genes vía arriba de *RSL4* que sean blancos directos de las vías de auxina o el etileno. Los primeros estudios indican que la expresión de *GL2* no está regulada por la auxina o por el etileno (Masicci y Schiefelbein, 1996). Parece que RSL4 controla los genes inducibles de respuesta a auxina y genes indiferentes a la fitohormona, indicando rutas paralelas, pero no separadas para promover el alargamiento del pelo radicular.

En la región reguladora de los genes de respuesta a fitohormonas, existe una secuencia de nucleótidos que son reconocidos por factores de transcripción asociados a cada una de las fitohormonas para inducir su transcripción. En el caso de la auxina estas regiones se denominan elementos de respuesta a auxina, secuencia reconocida por los factores de respuesta a auxina o ARF (Ulmasov *et al.*, 1995). En el caso del etileno, los factores reconocen a la secuencia de nucleótidos o caja GCC y al elemento potenciador de respuesta a etileno o EREE (ethylene-responsive enhancer element; Ohme-Takagi y

Shinshi, 1990; Itzhaki *et al.*, 1994). En la etapa temprana del compromiso y la formación del RH, se han demostrado que el blanco específico para los factores de respuesta a auxina ARF es la secuencia TGTCTC (Ulmasov *et al.*, 1995, 1997; 1999a, 1999b), los cuales regulan la transcripción de genes mediada por la auxina después de que se ha degradado AUX/IAA asociada al ARF.

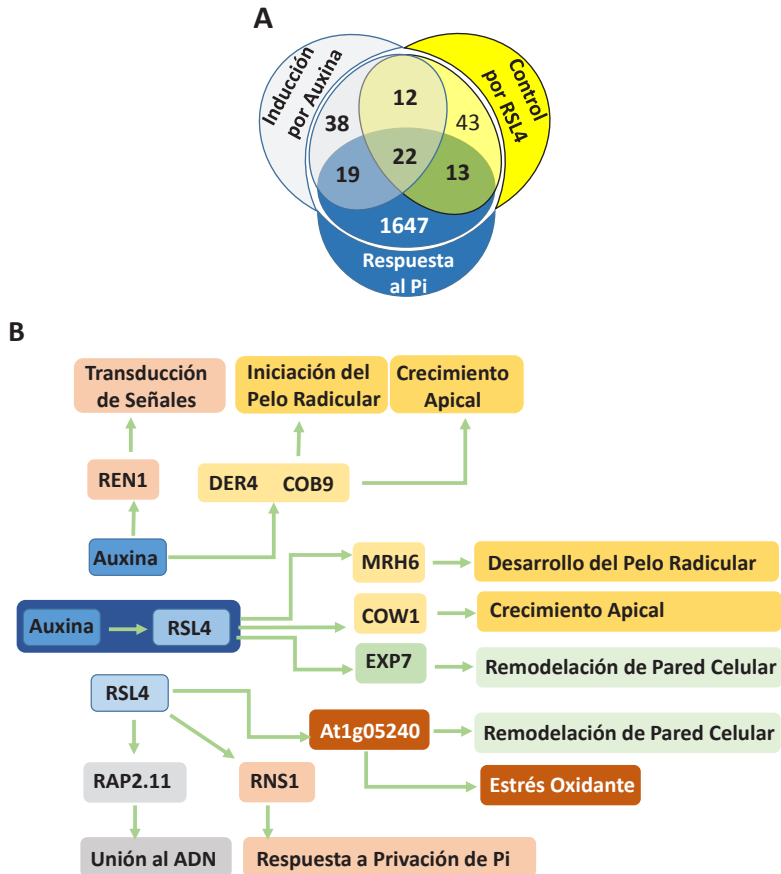


Figura 5. Regulación génica inducida por la auxina, RSL4 y la deficiencia de Pi. A, se muestra la relación de genes inducibles por la auxina, RSL4 y deficiencia de Pi o la interacción entre ellos; B, algunos de los genes inducibles por auxina y/o RSL4 y el efecto en la morfogénesis. Figura modificada de Salazar-Henao *et al.*, 2016 de los datos originales de Lan *et al.*, 2012b; Yi *et al.*, 2010; Bruex *et al.*, 2012.

La mutación en *TRH1*, el cual codifica para un miembro de la familia de proteínas de transportadores de K^+ o KT/KUP/HAK, causa una distorsión en la distribución de la auxina en el ápice de la raíz debido a la desregulación en la expresión del transportador de la auxina *PIN1* (Rigas *et al.*, 2013). El mutante *tiny root hair 1 (trh1)* es defectuoso en la transición para el crecimiento del pelo radicular (Rigas *et al.*, 2013). *TRH1* actúa como punto nodal en la transducción de la información ambiental dentro de la vía de la auxina. *TRH1* actúa independientemente en la especificación de los genes del pelo radicular y de *RHD6*, y la expresión de *TRH1* es independiente de *RSL4* (Yi *et al.*, 2010), sugiriendo que *TRH1* probablemente actúa arriba de *RSL4* en la vía de inducción por condiciones ambientales (Fig. 6). Los mutantes *trh1* pueden ser rescatados aplicando concentraciones bajas de Pi (Müller y Schmidt, 2004), indicando que el incremento en la respuesta a la auxina por la deficiencia de Pi conlleva una incorrecta distribución de la fitohormona. De forma similar, los mutantes insensibles a auxina *axr1* y *axr2*, no forman pelos radiculares en condiciones controladas, cuando se crece en un medio deficiente en Pi son indistinguibles al de las raíces de la planta silvestre (Schmidt y Schikora, 2001), lo cual sugiere dos explicaciones alternativas: una de ellas es que un incremento en la actividad de genes inducibles por la auxina compensa los defectos en el fenotipo por deficiencias de Pi en genes que no son dependientes inicialmente de la señal de la auxina o bien, que la deficiencia de Pi puede impactar la parte baja de la vía de señalamiento de la auxina (Fig. 6).

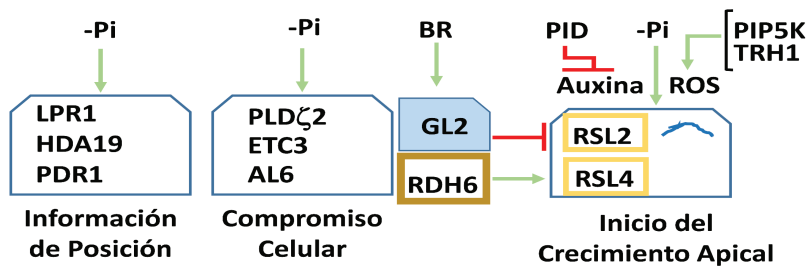


Figura 6. Vía de morfogénesis de los pelos radiculares y la integración de factores ambientales. Señales externas como la deficiencia de Pi (-Pi), se transduce en una señal que afecta al desarrollo del pelo radicular en diferentes etapas. En la iniciación del pelo radicular, la deficiencia de Pi afecta la expresión de los genes de in-

formación de posición y compromiso celular a través de la actividad de los factores de transcripción que afectan directamente el destino del pelo radicular. En otras etapas, la deficiencia nutricional afecta el alargamiento del pelo radicular. Los factores ambientales inducen señales mediadas por las fitohormonas como auxina, brasinoesteroides (BR) y etileno. Figura modificada de Salazar-Henao *et al.*, 2016.

Los brasinoesteroides (BR) son fitohormonas que determinan las características de las células epidérmicas. Los BR son reguladores claves de la expresión y patrón de *WER*, actúan en la parte superior de la vía induciendo factores de transcripción que determinan el compromiso de las células epidérmicas (Kuppusamy *et al.*, 2009). La cantidad de los brasinoesteroides se perciben por el receptor BRI1 en la membrana plasmática (Li y Chory, 1997). La percepción de la señal proveniente de los BR a través del receptor, induce una transducción de la señal que provoca la inactivación de una cinasa tipo GSK3, denominada BRASINOSTEROID INSENSITIVE 2 (BIN2), la forma inactiva de la enzima se acumula en el núcleo y regula la transcripción génica (Yang *et al.*, 2011) permitiendo que factores nucleares sin fosforilar induzcan la respuesta a los brasinoesteroides. BIN2 se une directamente a *WER*, *EGL3* y *TTG1*, y es capaz de fosforilar a los dos últimos. La forma fosforilada de *TTG1* inhibe la formación del complejo *WER/GLE3-EGL3/TTG1* y subsecuentemente la transcripción de *GL2*; mientras que la fosforilación de *EGL3* (el cual es transcrito exclusivamente en las células H) permite del transporte intra- e intercelular (de las células H a las células N) de *EGL3* en conjunto con *GLE3* (Bernhardt *et al.*, 2005; Cheng *et al.*, 2014). Los BR son componentes importantes en el destino celular, donde promueven el compromiso de las células de la epidermis radicular en la posición N. Una baja señal derivada de los BR reduce los niveles de CPC y por ende reduce el número de pelos radicales en la posición H (Kuppusamy *et al.*, 2009). Sin embargo, existen aún preguntas que deben de ser contestadas y el conocimiento es indispensables para incluir a esta fitohormona en el desarrollo del pelo radicular: ¿la sensibilidad de los BR es diferente entre las células en posición H y las N? debido a que BRI1 se expresa en forma similar en ambos tipos celulares (Fridman *et al.*, 2014), sin que existan estudios de la densidad de la proteína en las membranas de ambas células tanto espacial como temporal; se desconoce la vía múltiple de las etapas de inhibición de la cinasa BIN2 una vez se active la transfosforilación de BRI1 y BAK1, componentes de recepción y transducción de la señal del brasinoesteroides en estos dos tipos celulares.

La estrigolactona (SL) está involucrada en la formación de los pelos radiculares, su papel principal es la de modular el desarrollo permitiendo asegurar una competitividad en suelos limitado en recursos (Brewer *et al.*, 2013). La SL incrementa la longitud y densidad de los pelos radiculares, en condiciones de deficiencia de Pi promueve la formación de raíces laterales (Kapulnik *et al.*, 2011), probablemente su acción se realice a través de la modulación de los transportadores de auxina (Koltai *et al.*, 2010; Ruyter-Spira *et al.*, 2011). Se ha determinado que la expresión, la localización polar y la endocitosis de los transportadores de eflujo de auxina PIN2 se ven afectados por la SL (Pandya-Kumar *et al.*, 2014).

vi. Deficiencias de fierro y la auxina

Mientras que la deficiencia de Pi aumenta la respuesta a la auxina en las células de la raíz de *Arabidopsis* (Lan *et al.*, 2012b; López-Bucio *et al.*, 2002; Pérez-Torres *et al.*, 2008), la deficiencia de Fe muestra un decremento en la respuesta a la auxina (Lan *et al.*, 2012b). La deficiencia de Fe causa que se formen pelos radiculares ramificados, lo cual ha sido interpretado como una alternativa al aumento en la longitud de la estructura, pero que provoca un aumento en la superficie de absorción (Müller y Schmidt, 2004), fenómeno que es típico en *Arabidopsis*. A diferencia, la deficiencia de Fe en otras especies como en el girasol, el tomate o el pepino, provoca pelos radiculares normales pero se aumenta la densidad de los mismos (Landsberg, 1996; Li y Schmidt, 2010; Schikora y Schmidt, 2002). En *Arabidopsis* los mutantes *axr1*, *axr2* y *aux1* poseen defectos en la organización de los filamentos de actina o transporte de las vesículas (como en el mutante *tip1*), en los cuales se producen pelos radiculares ramificados (Guimil y Dunand, 2007). Los mutantes crecidos en deficiencia de Pi y libre de Fe no se rescata el fenotipo de *axr1* y *axr2*, indicando que la auxina es requerida para inducir el fenotipo típico en la deficiencia de Fe (Schmidt y Schikora, 2001).

Los mutantes de la *UBIQUITIN-CONJUGATING ENZYME 13A (UBC13A)* no forman pelos radiculares ramificados ante la deficiencia de Fe (Li y Schmidt, 2010). *UBC13* codifica para las dos únicas enzimas que cataliza la ubiquitinación de la lisina 63 (K63), por lo que no se induce la degradación por el proteosoma, lo cual contrasta con las ubiquitinas que funcionan sobre la K48 (Hofmann y Pickart, 1999). En el genoma de *Arabidopsis* se han encontrado

dos proteínas con alta similitud, la UBC13A y la UBC13B (Wen *et al.*, 2006); la doble mutante *ubc13a ubc13b* forma pocos pelos radiculares y cortos comparado con el silvestre, y el fenotipo es parecido a los mutantes deficientes en auxina como *thr1* (Li y Schmidt, 2010; Wen *et al.*, 2014; Vicente-Agullo *et al.*, 2004; Pitts *et al.*, 1998). En el doble mutante *ubc13a ubc13b* se incrementa la cantidad de las proteínas Aux/IAA, comprometiendo la activación de los genes de respuesta a la auxina (Wen *et al.*, 2014; Guilfoyle *et al.*, 1998), sin que se conozca el mecanismo involucrado. RGLG es la única ligasa E3 que interacciona con UBC13 (Yin *et al.*, 2007), la doble mutante *rglg1 rglg2* muestra pelos radiculares constitutivamente ramificados independiente del suministro de Fe, y estos mutantes son parcialmente defectuosos en la respuesta en la deficiencia de Fe (Li y Schmidt, 2010; Pan y Schmidt, 2014; Pan *et al.*, 2015), y el fenotipo de estos mutantes se rescata por la eliminación de Pi del medio (Li y Schmidt, 2010). Se ha demostrado que el recambio proteolítico de PIN2 está mediado por RGLG, vía la ubiquitinación de la K63, alterando la cantidad de auxina disponible en las raíces de *Arabidopsis* (Leitner *et al.*, 2012). Los mutantes *rglg1 rglg2* muestran baja cantidad y respuesta a la auxina (Yi *et al.*, 2007). La deficiencia de Fe genera que las proteínas RGLG sean reclutadas al núcleo a través de UBC13, lo cual se requiere y está asociado a la reparación del ADN o de la estabilidad del genoma (Pan y Schmidt, 2014).

B. Crecimiento polar del pelo radicular

1. Transición del crecimiento difuso al polar en sitios específicos del tricoblasto

En *Arabidopsis*, la iniciación del pelo radicular se da con el establecimiento de la polaridad dentro de las células epidérmicas y la subsecuente determinación del sitio en la parte basal del tricoblasto (Carol y Dolan, 2002). Antes de que el pelo radicular emerja, las proteínas RHO GTPasa (RAC/ROP) se encuentran localizadas en forma polar en la membrana plasmática en la parte basal del tricoblasto, y permanecen ahí durante la formación de la protuberancia y posteriormente el crecimiento del pelo radicular, lo que indica la importancia de las GTPasas en el periodo que abarca desde la determinación del crecimiento unidireccional o polar hasta que cesa el crecimiento (Molendijk *et al.*, 2001; Jones *et al.*, 2002). La mutación en las proteínas que interaccionan con

ROP, tales como RHOGDI1/SCN1, resulta en una deslocalización en la polaridad de las ROP o la aparición de zonas adicionales de acumulación de ROP en el tricoblasto, lo cual produce sitios alterados o adicionales de iniciación de los pelos radiculares (Carol *et al.*, 2005). La acumulación polar de las ROP provoca la acidificación del apoplasto en sitios específicos en los que se formará la futura protuberancia, mientras que en el citosol aumenta el pH. Al amortiguar el pH externo, se detiene reversiblemente la iniciación de la protuberancia, indicando que la acidificación en esos micrositios juega un papel en el ablandamiento/relajamiento de la pared celular, afectando las expansinas (Bibikova *et al.*, 1998; Cho y Cosgrove, 2002) y las xiloglucan endotransglucosidasas/hidrolasas (XTH; Vissenberg *et al.*, 2001). Los mutantes que pierden la función en las expansinas o la XTH poseen defectos en la formación de los pelos radiculares. La expresión de dos genes de las expansinas en *Arabidopsis* (*AtEXP7* y *AtEXP18*) está asociada a los eventos tempranos en la formación de los pelos radiculares y ocurren antes de la protuberancia en la pared celular (Cho y Cosgrove, 2002). La auxina induce a *EXPA7*, el cual es uno de los 83 genes regulados por *RSL4*, por ello *RSL4* es el regulador de la transcripción de genes necesarios para la formación de la protuberancia en la epidermis (Fig. 7B; Yi *et al.*, 2010), lo cual se ha observado además en los pelos radiculares del maíz y de la cebada (Baluška *et al.*, 2000; Kwasniewski y Szarejko, 2006). La actividad de la endotransglucosidasa se da antes de que aparezca la formación de la protuberancia (Vissenberg *et al.*, 2001). El ablandamiento localizado de la pared celular es un paso clave en la formación de la protuberancia, lo cual se demuestra en la cruce de los mutantes *rhd6* con *prc1-1* (mutante en el gen de la celulosa sintasa *CESA6*, que produce la disminución de la celulosa; Fagard *et al.*, 2000), en donde los requerimientos de *RHD6* durante la iniciación del pelo radicular son reducidos. Esto provoca una pared celular laxa, debido a una disminución en el contenido de celulosa, lo cual mimetiza el relajamiento de la pared celular por efecto de las expansinas y de las XTH durante las etapas tempranas de la formación del pelo radicular (Singh *et al.*, 2008). La formación de la protuberancia en la base del tricoblasto es el resultado del ablandamiento/relajación de la pared celular y la expansión derivada del aumento de la presión de turgencia en el sitio, como lo confirma el mutante *reb1/rhd1* (root epidermal bulger) que contiene pelos radiculares anormales, provocado por la alteración en los cambios locales en la composición de la

pared celular y con ello en el proceso de ablandamiento/relajación (Fig. 9A; Baskin *et al.*, 1992; Andème-Onzighi *et al.*, 2002).

La determinación específica del sitio en que se iniciará la protuberancia en la parte basal se ha determinado en los mutantes *axr2-1* y *rdh6*, los cuales presentan pelos radiculares en una posición desplazada del tricoblasto (más cercana al tallo) y la localización errónea de los pelos radiculares en el mutante *rdh6* puede ser rescatada por la auxina o los precursores de etileno (Masucci y Schiefelbein, 1994), lo cual lo confirman los mutantes en respuesta al etileno *etr* y *eto* (Masucci y Schiefelbein, 1996). La auxina provee información posicional para la ubicación de ROP que se realiza a través de la actividad de AUX1, EIN2 y GNOM (Fischer *et al.*, 2006), de forma tal que la formación del pelo radicular se da en el sitio de máxima concentración (Fig. 7 y 8; Sabatini *et al.*, 1999; Grebe *et al.*, 2002; Ikeda *et al.*, 2009).

CTR1, el cual participa en la decisión de compromiso celular, es un interlocutor clave de la inducción mediada por la auxina en el crecimiento polar planar durante la iniciación del pelo radicular (Ikeda *et al.*, 2009). CTR1 inhibe la biosíntesis de la auxina de manera dependiente de la concentración a través de la regulación negativa de *WEI2* y *WEI7*, genes claves en la vía biosintética de la auxina y de *EIN2* (Fig. 7A y 8). Para generar la información posicional de auxina, es necesaria en las células en posición N la localización uniforme en la membrana plasmática de AUX1, mediante la regulación positiva de *GNOM*, y la localización apical de PIN2 y en las células en posición H una menor proporción de PIN2 (Fig. 8). El resultado es un gradiente a gran distancia de la auxina originado en el ápice de la raíz (Ikeda *et al.*, 2009; ver caliptra), y con un gradiente de la auxina intracelular en las células N, con la mayor concentración con respecto a las células H, con una diferencia de concentración de auxina de 10 veces entre ambas células (Jones *et al.*, 2009). La acumulación/localización diferencial de AUX1 y PIN2 en las células N, con una alta abundancia y distribución uniforme de PIN2, a diferencia de las células H que no presentan AUX y menos del 30% de PIN2, es la razón que en parte induce la expresión diferencial de genes que determinan el compromiso (Fig. 8; Löffke *et al.*, 2015).

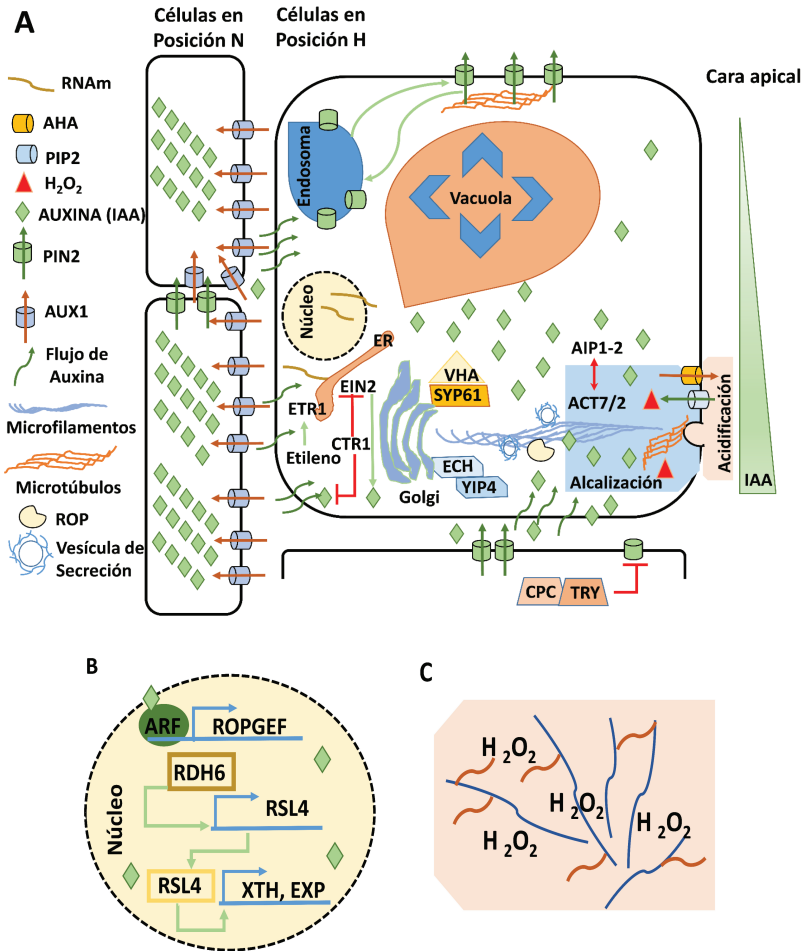


Figura 7. Modelo que resume el mecanismo que especifica el sitio de crecimiento polar en el tricoblasto. A, Marcadores y participantes en la determinación del sitio de incitación del crecimiento polar; B, efecto de la auxina y la transcripción de genes en el núcleo; C, Cambio estructurales en la pared celular. Los nombres de las proteínas involucradas se encuentran en texto. Figura modificada de Balcerowicz *et al.*, 2015.

En las células N, WER/MYB23 regula negativamente el recambio de PIN2, mientras que en las células H, CPC/TRY afecta positivamente el recambio de PIN2 y la degradación de éstos en la vacuola. Aunque es elusivo como este gradiente está relacionado a la acumulación polarizada de la ROP GTPasa en

la parte basal del tricoblasto, se ha predicho por medio de modelos matemáticos, que el gradiente de auxina esta relacionado a la localización en forma polar de la GTPasa (Payne y Grierson, 2009).

Se ha propuesto que un sistema sensor de la auxina controla la ubicación de las ROP GTPasa durante la expansión en las hojas de *Arabidopsis*, por lo que se supone que en el pelo radicular ocurre lo mismo (Chen y Yang, 2014). En apariencia, no existe una diferencia en la distribución de la actina F en la parte basal en comparación a la apical del tricoblasto (Kiefer *et al.*, 2014) y la disrupción de los microfilamentos de actina no provoca cambios en la formación de la protuberancia y con ello la secreción de las vesículas (Ciamporová *et al.*, 2003), sin embargo, la interacción de ACTIN7 (ACT7) con el modulador negativo ACTIN-INTERACTING PROTEIN 1-2 (AIP1-2) está relacionado con la ubicación polar de ROP; la expresión de AIP1-2 está enriquecida en las células precursoras del pelo radicular y está bajo el control de WER, y es sensible al tratamiento de auxina y etileno, lo cual hace que AIP1-2 sea un modulador dependiente del gradiente de auxina en la polarización por ACT7 (Fig. 7A). Exactamente como la posición de ROP es inducida por ACT7 y AIP1-2 permanece sin describirse, la localización temprana de ROP no se ve afectada por la desestabilización a corto tiempo de los microfilamentos de actina (Molendijk *et al.*, 2001), indicando que su efecto es de una manera indirecta. La inhibición por la brefeldina A (BFA) en la actividad enzimática del factor de intercambio GNOM Arf GDP/GTP (GEF; que controla el intercambio de GDP por GTP para activar a las ROP) y el efecto en la temprana localización de ROP en la membrana plasmática en el sitio de iniciación de la protuberancia (Fig. 9A; Molendijk *et al.*, 2001), implica que la iniciación del pelo radicular se da por un mecanismo dependiente de GEF e independiente del tráfico a través de actina, tal como sería la secreción de un reservorio interno y con ello la localización polar de ROP. Los microtubulos ayudan a definir la iniciación del pelo radicular, una reorientación en la dirección de la disposición longitudinal se ha detectado en los tricoblasto en elongación justo antes de la iniciación del pelo radicular (Pietra *et al.*, 2013). SABER y CLASP interaccionan y son requeridas para formar el arreglo específico localizando en sitio de iniciación o determinación del pelo radicular (Pietra *et al.*, 2013). La localización de ROP y su actividad son determinantes claves en la formación de la protuberancia en la iniciación del pelo radicular (Fig. 9A). Las Rho GTPasas son interruptores que controlan una amplia variedad de compo-

nentes en la transducción de señales (Etienne-Manneville y Hall, 2002), y son miembros de una clada en plantas, RAC/ROP, los cuales juegan un importante papel en la regulación del crecimiento y el establecimiento de la polaridad, la respuesta a fitohormonas y al estrés, desarrollo y reproducción (Nibau *et al.*, 2006, Yang y Fu, 2007; Kost, 2008). La ROP2 activa a la NADPHoxidasa y con ello se da la producción de ERO, los cuales controlan el crecimiento polar del pelo radicular por la alteración de la estructura de la pared celular, además funcionan como señales intracelulares y de tráfico membranar (Foreman *et al.*, 2003; Carol *et al.*, 2005; Jones *et al.*, 2007; Duan *et al.*, 2010; Boisson-Dernier *et al.*, 2013). El receptor tipo cinasa (CrRKL) FERONIA (FER) coprecipita con ROP2 en una forma dependiente del nucleótido de guanina (Duan *et al.*, 2010). Los mutantes *fer* poseen pelos radiculares colapsados, rotos o pequeños (Duan *et al.*, 2010), lo cual hace de ROP2-FER un marcador en la determinación de sitio de iniciación del pelo radicular (Fig. 7A).

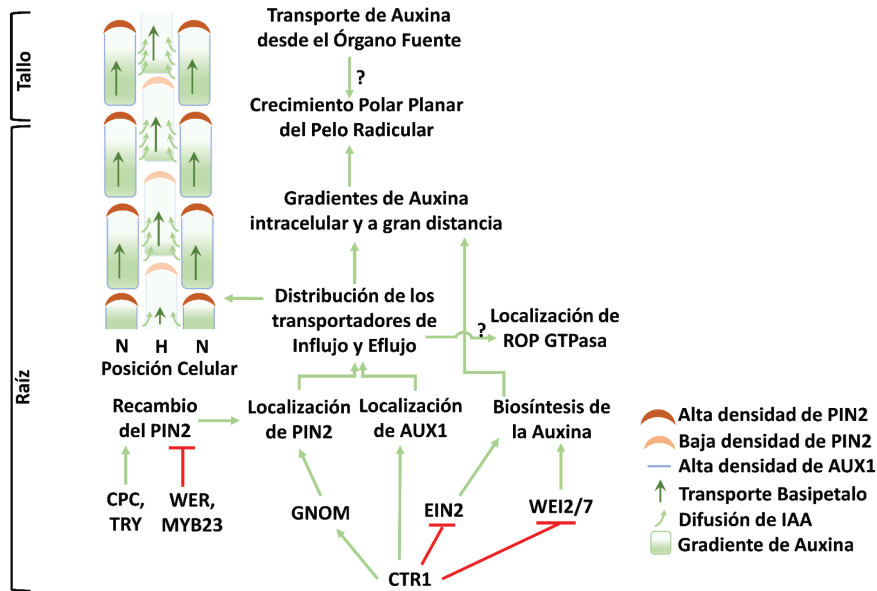


Figura 8. Modelo que resume el crecimiento polar por la inducción de la auxina. El gradiente de auxina se esquematiza de mayor a menor cantidad en color verde a blanco, Símbolos: flechas verdes indican activación del gen o efecto positivo en la proteína; línea roja roma producen represión del gen. La figura es una modificación de Balcewicz *et al.*, 2015.

En los mutantes *echidna* (*ech*) y *yip* (Gendre *et al.*, 2011; 2013; Boutté *et al.*, 2013) los cuales presentan un desperfecto en el tráfico de la red Trans-Golgi (TNG), muestran una incapacidad de producir la protuberancia inicial del pelo radicular; en el mutante *echidna* la localización de ROP es normal, indicando que ECH actúa por debajo de ROP y sugiere que la deposición de ciertas vesículas de secreción son requeridas para la formación de la protuberancia en el inicio del pelo radicular. Se sabe que ECHIDNA regula la secreción de polisacáridos de la pared celular a través de la interacción con las proteínas de interacción YPT/RAB GTPasa 4a y 4b (YIP4a, YIP4b; YPT/RAB GTPase interacting proteins 4a and 4b) y la regulación de componentes de TGN VHA-a1 y SYP61 (Fig. 7A; Gender *et al.*, 2013). Cuando se produce la protuberancia en la iniciación del pelo absorbente, se da la transición al crecimiento apical con la acumulación de vesículas de secreción en la parte apical de la protuberancia.

2. Crecimiento polar del pelo radicular

El crecimiento polar o unidireccional se presenta en el pelo absorbente y el polen. El crecimiento polar está dirigido por señales específicas, tales como el gradiente de los nutrimentos y por pequeños péptidos de atracción, así el péptido LEURE1, un péptido rico en cisteína, el cual es secretado por las sinérgidas del óvulo, atraen al tubo polínico y es percibido por MDS1-NIK1/2 (Male Discovered 1- MDIS1 Interacting receptor like kinase 1/2) y por PRK6 (Pollen specific Receptor like kinase 6; Takeuchi y Higashiyama, 2016; Wang *et al.*, 2016) que son receptores tipo cinasa presentes en la membrana plasmática que poseen un dominio rico en secuencias repetidas de leucinas (LRR) y con un dominio citosólico con actividad de cinasa. La unión del péptido LAURE1 a PRK6 desencadena una cadena de eventos, entre los que participan ROPGEF9, ROPGEF12, ROPGEF13 y la ROP1 (Takeuchi y Higashiyama, 2016) que inducen el crecimiento polar apical de la estructura. Por otra parte, se conoce poco sobre los mecanismos moleculares del crecimiento polar del pelo radicular. La forma, longitud y densidad en los pelos absorbentes está fuertemente inducido por condiciones ambientales, como el estado hídrico, la cantidad de CO o CO₂ en el suelo (Guo *et al.*, 2009; Kwasniewski *et al.*, 2015; Niu *et al.*, 2011), el gradiente de nutrimentos de menor movilidad como es el Pi, Fe, Mg o de elementos que están en cantidades muy bajas en el suelo, como el vanadio o boro (Yi *et al.*, 2010, Martin-Rejano *et al.*, 2011; Niu *et al.*, 2014; Lin *et al.*, 2015).

El crecimiento polar es consecuencia de señales endógenas asociadas a las fitohormonas como la auxina y el etileno (Lee y Cho, 2013; Velasquez *et al.*, 2006), en donde la auxina activa a los factores de transcripción clase I bHLH, el *RSL4* (Root Hair Defective 6-like 4), que modula la expresión de genes vía abajo en el alargamiento del pelo radicular (Fig. 7B; Yi *et al.*, 2010; Datta *et al.*, 2015). El alargamiento apical del pelo radicular (Fig. 9B y 9C), se caracteriza por crear un gradiente de Ca^{2+} citoplasmático ($_{\text{cit}}\text{Ca}^{2+}$) asociado a la producción de especies reactivas de oxígeno en el apoplasto ($_{\text{apo}}\text{ERO}$; Konrad *et al.*, 2011; Gilroy *et al.*, 2014). Los altos niveles de $_{\text{cit}}\text{Ca}^{2+}$ en la zona apical induce la producción de $_{\text{apo}}\text{ERO}$, en una reacción catalizada por la NADPH oxidasa (NOX). Altos niveles de ERO transitorios elevan la concentración de $_{\text{cit}}\text{Ca}^{2+}$ (Duan *et al.*, 2014), por un mecanismo aun no conocido. La NOXC en el pelo radicular (Bibikova *et al.*, 2008; Foreman *et al.*, 2003; Monshausen *et al.*, 2007, 2008) y la NOXH/NOXJ en el tubo polínico (Wu *et al.*, 2010; Boisson-Dernier *et al.*, 2013) están relacionadas a los niveles de $_{\text{cit}}\text{Ca}^{2+}$, en que los ERO afectan los canales de la membrana plasmática de Ca^{2+} (CaC). Por ejemplo, una ráfaga de ERO es necesaria para que el tubo polínico se rompa y se liberen las células espermáticas (Duan *et al.*, 2014). El crecimiento oscilatorio está asociado a cambios en el pH que están regulados por diferentes isoformas de la ATPasa de H^+ de la membrana plasmática (AHA; Falhof *et al.*, 2015) y por las permeasas catión H^+ /anión OH^- e intercambiadores antisentido (antiporter) $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$. *AHA2* se expresa en los pelos absorbentes y se cree que es la responsable del bombeo de los H^+ al apoplasto, en donde está involucrada en la relajación/ablandamiento y extensión de la pared celular (Fig. 7C). El pH por lo tanto, impacta al complejo de remodelación de la pared celular en que están involucradas otras enzimas modificadoras de pared celular y su actividad es dependiente de la ATPasa de H^+ (Bibikova *et al.*, 1998). Por lo que la oscilación de ERO, Ca^{2+} y pH están acoplados a la relajación de la pared celular que permite disminuir la presión de pared, para que el aumento de la presión de turgencia favorezca el alargamiento del pelo radicular (Swanson *et al.*, 2011; Braidwood *et al.*, 2014, Spartz *et al.*, 2014, Wolf y Höfte, 2014). En el pelo radicular, el máximo en la fluctuación en la concentración de $_{\text{apo}}\text{ERO}$ y $_{\text{apo/cit}}\Delta\text{pH}$ preceden por 7 a 8 segundos al máximo en el crecimiento polar, mientras que el retraso en las oscilaciones del $_{\text{cit}}\text{Ca}^{2+}$ es de 5 a 6 segundos con respecto al crecimiento celular (Fig. 9D; Monshausen *et al.*, 2007, 2008). En el

caso del tubo polínico, la oscilación en la concentración del ${}_{\text{cit}}\text{Ca}^{2+}$ se da con un retraso de 11 segundos relativo al alargamiento celular (Pierson *et al.*, 1994). El crecimiento polar es precedido y tal vez temporalmente reprimido por altos niveles de ${}_{\text{cit}}\text{Ca}^{2+}$ y subsecuentemente por los ${}_{\text{apo}}\text{ERO}$ y por un pH alcalino. No es claro como la oscilación en los gradientes de ${}_{\text{cit}}\text{Ca}^{2+}$, ERO y ${}_{\text{apo}}\Delta\text{pH}$ se mantienen durante el crecimiento polar (Wudick y Feijó, 2014).

Durante el alargamiento de la zona apical del RH es necesario sintetizar nueva pared celular y para ello es necesario la secreción e incorporación de nuevos componentes en la región apical de crecimiento (Altartouri y Geitmann, 2015). El alargamiento unidireccional del pelo radicular, al igual que el tubo polínico, está asociado a los gradientes de Ca^{2+} que dirigen la secreción polar de los componentes de pared celular por medio del rearrreglo de los microfilamentos de actina del citoesqueleto y que dirigen del movimiento de las vesículas de secreción al sitio de síntesis de nueva pared celular (Fig. 7A y 9E; Fan *et al.*, 2004; Sanders *et al.*, 2002; Rounds y Bezanilla, 2013; Huang *et al.*, 2015). Por su parte, *ROOT HAIR DEFECTIVE 4* que codifica para una fosfatidil inositol 4 fosfato fosfatasa es requerida para organizar la secreción polarizada durante el desarrollo del RH (Salazar-Henao *et al.*, 2016). El alargamiento del pelo radicular es dependiente de los fosfoinosítidos, familia de fosfolípidos, que contiene a un inositol fosfato en la cabeza polar y juegan un papel importante en las vías de señalización (Salazar-Henao *et al.*, 2016; Xue *et al.*, 2009). El fosfatidi inositol 3 fosfato [PtdIns(3)P] es fundamental para el inicio y la expansión del pelo radicular (Lee *et al.*, 2008). Las fosfatidilinositol fosfato 5 cinasa (PIP5K) tipo B son enzimas clave en el alargamiento del RH en respuesta de deficiencias de Pi en *Arabidopsis* (Fig. 6; Kusano *et al.*, 2008). Los mutantes que poseen defectos en *PIP5K4* y *PIP5K3* (que en condiciones normales producen PtdIns(4,5) P_2 y PtdIns(3,5) P_2 respectivamente) generan RH cortos. Por lo que la producción del fosfatidilinositol 4,5-bifosfato [PtdIns(4,5) P_2] es un mensajero secundario que se localiza en el sitio de iniciación en el ápice durante el alargamiento temprano y desaparece antes que se complete el alargamiento del pelo radicular (Oude Weernik *et al.*, 2004). Esto refleja el reclutamiento y/o la regulación de PIP5K4 por ROP. Mientras por otra parte, el PtdIns(3,5) P_2 y con ello la PIP5K3 son uno de los factores que interviene principalmente en permitir la iniciación del RH, más que en la expansión celular (Kusano *et al.*, 2008). Se ha descrito que antes de que aparezca la actividad

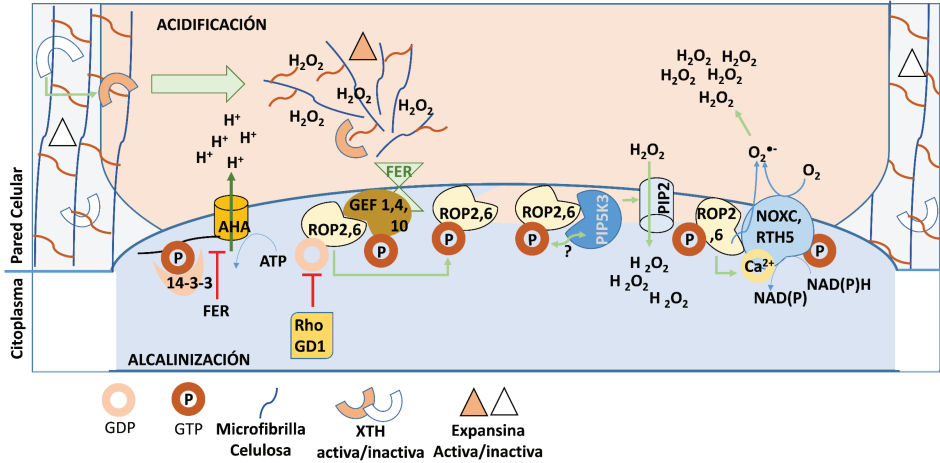
de PIP5K3, el $\text{PtdIns}(4,5)\text{P}_2$ modula la función de varias proteínas reguladoras de la actina y a reguladores de la maquinaria de exocitosis en la membrana plasmática por medio de una interacción directa con proteínas blanco y puede actuar también como un sustrato para la producción de mensajeros secundarios (Kusano et al 2008; Boss y Im, 2012; Krishnamoorthy *et al.*, 2014).

En seguida se describe el crecimiento polar asociándolo a diversos efectores, como son las especies reactivas de oxígeno, el efecto del pH, los transportadores del Ca^{2+} y la homeostasis de este ión (Fig. 9).

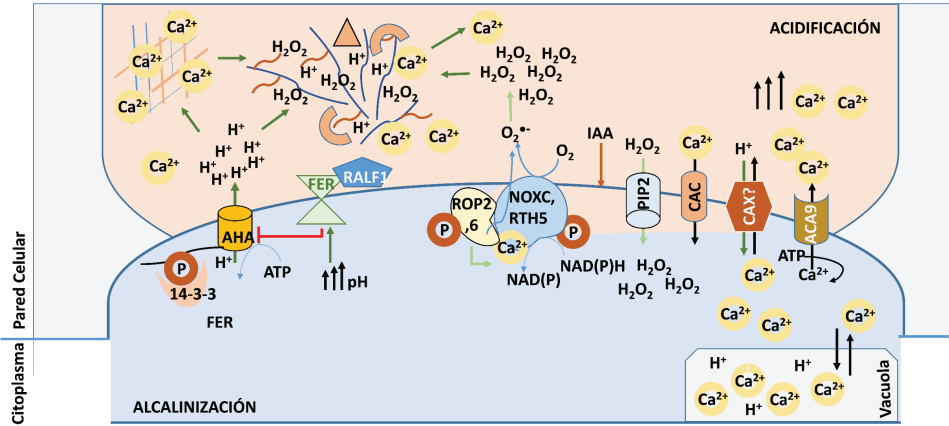
a. Crecimiento polar asociado a las especies reactivas de oxígeno

Las ERO se producen en compartimentos internos como las mitocondrias, cloroplastos y peroxisomas (Foyer y Noctor *et al.*, 2003; Overmyer *et al.*, 2003; Yu *et al.*, 2013; Wagner *et al.*, 2015), sin embargo, las que se generan y encuentran en el apoplasto son las que tienen un efecto sobre el crecimiento de los pelos radiculares o el tubo polínico. El singulete del oxígeno ($^1\text{O}_2$) es un estado excitado del oxígeno con una vida media de muy corta, alrededor de los 100 ns, y puede viajar a pequeñas distancias que no sobrepasan a los 100 nm (Niedre *et al.*, 2002), por lo que solamente puede reaccionar con moléculas que estén muy cerca del lugar de producción (Triantaphylidès y Havaux, 2009). El radical superóxido ($\text{O}_2^{\circ-}$) es un ion muy inestable que es incapaz de difundir a través de las membranas. En contraste el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) es relativamente estable, con una vida media de aproximadamente 1 ms, puede ser transportado a través de las acuaporinas de las membranas, el H_2O_2 reacciona selectivamente con residuos de cisteína de proteínas, como las que están involucradas en las vías de señalización, las peroxirredoxinas, tiorredoxinas y los receptores ricos en cisteína tipo cinasa (Paulsen y Carroll, 2010), su concentración está finamente controlada por los sistemas antioxidantes (Schwarzländer *et al.*, 2008), por lo que esto hace del H_2O_2 una buena molécula de señalización cuando su concentración es baja y se encuentra en un rango fisiológico y no tóxico.

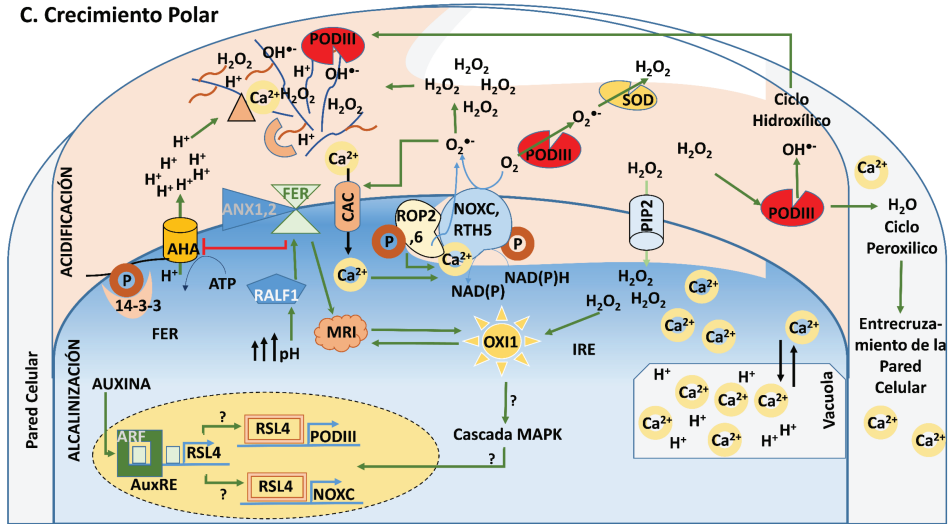
A. Formación de la Protuberancia



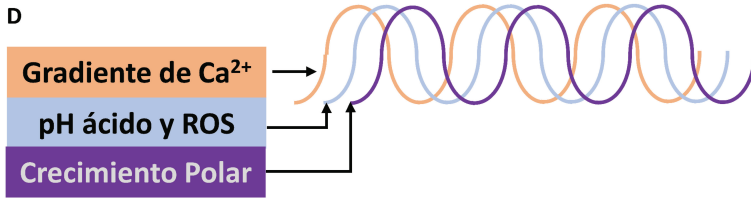
B. Iniciación del Crecimiento Polar



C. Crecimiento Polar



D



E

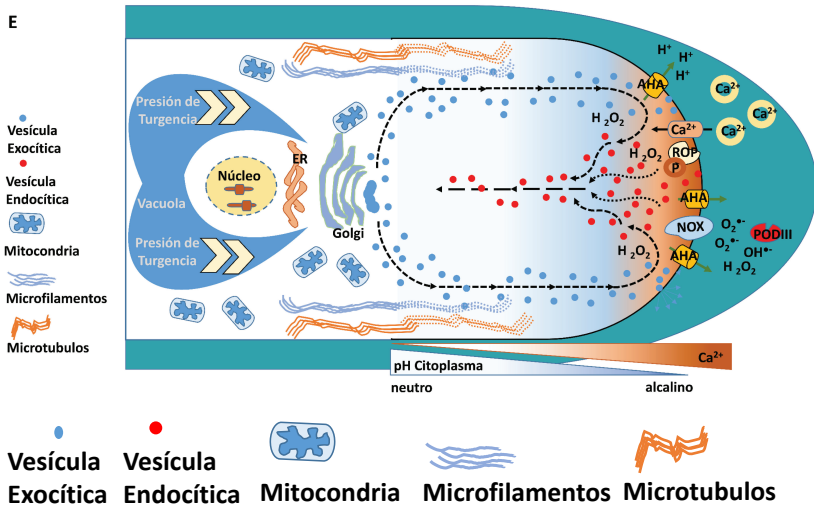


Figura 9. Etapas en el crecimiento polar planar del pelo radicular. A, iniciación de la formación de la protuberancia; B y C, etapas tempranas del alargamiento del pelo radicular mostrando diferentes aspectos temporales, estructurales y los componentes que participan en el proceso; D, oscilación en el pulso de calcio, cambio de pH, cantidad de ERO y el crecimiento del pelo radicular. E, Citoarquitectura de pelo radicular en crecimiento, en el ápice las vesículas de secreción que se originan en el TGN (Red Trans-Golgi) se fusionan con la membrana plasmática, liberando al apoplasto componentes de la nueva pared celular que se forma en el ápice del pelo radicular; en la parte media del ápice se realiza la endocitosis, las vesículas son movilizadas a la base del pelo radicular y se forma un circuito del movimiento de vesicular y el citoesqueleto asociado con una estructura de fuente invertida; la proteína ROP se localizan principalmente en el ápice, así como la NADPH oxidasa para la producción de superóxido, los canales de hiperpolarización de Ca^{2+} dependientes de ATP los cuales están involucrados en la formación del gradiente de calcio; los microtúbulos corticales corren en el sentido de alargamiento del pelo radicular y dirigen la dirección del crecimiento, mientras que los microfilamentos de actina están involucrados principalmente en movimiento de las vesículas. La figura es una modificación de Cárdenas, 2009, Ishida *et al.*, 2008; Balcerowicz *et al.*, 2015; Mendrinna y Pearsson, 2015; Mangano *et al.*, 2016.

Múltiples enzimas, como la amino oxidasa, oxalato oxidasa, lipoxigenasa entre otras, contribuyen a la acumulación de apoERO (Passardi *et al.*, 2004; Cona *et al.*, 2006); sin embargo, la mayoría de los apoERO se producen por la NADH oxidasa (NOX), que en las plantas se conoce como RBOH (RESPIRATORY BURST OXIDASE HOMOLOG); en adición se debe de considerar a las peroxidasas clase III (apoPODIII). Otras especies reactivas, tales como el óxido nítrico (N_2O°), dióxido nítrico (NO°), tetróxido dinitrogeno (N_2O_4) y el ácido nítrico (HNO_2), pueden también jugar un papel en el crecimiento unidireccional (Lombardo y Lamattina, 2012; Domingos *et al.*, 2015).

La proteína NOX posee seis dominios transmembranales, con una región reguladora en el extremo aminoterminal que incluye un reconocimiento a la proteína GTPasa Rho de plantas (ROP), una secuencia de reconocimiento para dos EF (EF-hand) y varios sitios de fosforilación (Takeda *et al.*, 2008); mientras en su extremo carboxiterminal posee un dominio FAD/NADPH. Todas las NOX producen un ion superóxido que es producido del lado de apoplasto, el cual es convertido químicamente o enzimáticamente por la superóxidodismutasa (SOD) en oxígeno y H_2O_2 . En *Arabidopsis thaliana* la producción del superóxido se da por la actividad de las AtNOXA-J que está

asociadas a varios procesos de desarrollo y respuesta a estrés (Torres y Dangel, 2005; Müller *et al.*, 2009; Dubiella *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2013; Xie *et al.*, 2014); en el crecimiento polar, la expansión del tubo polínico está asociado a la AtNOXH y AtNOXJ (Boisson-Dernier *et al.*, 2013; Kaya *et al.*, 2014; Lassig *et al.*, 2014), mientras que la expansión en el pelo radicular esta involucrada la AtNOXC, denominada RHD2 (ROOT HAIR DEFECTIVE2; Foreman *et al.*, 2003; Takeda *et al.*, 2008). En monocotiledóneas, se ha encontrada a la NOX denominada RTH5 en maíz, con una alta similitud en la secuencia a la AtNOXH y AtNOXJ, que está involucrada en la transición de la protrusión al crecimiento del pelo radicular (Fig. 9; Nestler *et al.*, 2014).

Las proteínas NOX contienen varias secuencias en el extremo aminoterminal para los EF-hands que a su vez son activados por el Ca^{2+} y sitios de fosforilación de proteínas mediada por Ca^{2+} . Las modificaciones por Ca^{2+} y la fosforilación provocan un efecto conjunto en la actividad de la NOX (Wong *et al.*, 2007; Kimura *et al.*, 2012; Takahashi *et al.*, 2012); la mutación en los dominios EF-hand de la NOXC y NOXH/NOXJ suprime parcial o totalmente la producción de ERO (Kaya *et al.*, 2014). Para la fosforilación se requiere de los residuos de serina en el extremo aminoterminal de varias NOX, en la NOXC se requiere la Ser318/Ser322 (Kobayashi *et al.*, 2007; Nühse *et al.*, 2007; Takeda *et al.*, 2008; Sirichandra *et al.*, 2009; Dubiella *et al.*, 2013; Gao *et al.*, 2013). En las NOXH y NOXJ se conserva la Ser318 pero la Ser322 es reemplazada con una treonina, la cual es un residuo potencial de ser fosforilado, lo cual sugiere la existencia de sitios comunes y en donde convergen la activación que es mediados por Ca^{2+} y fosforilación para la NOXC y la NOXH/NOXJ en el tubo polínico y el pelo radicular.

Poco se conoce de la regulación transcripcional de la NOXC y la NOXH/NOXJ durante el crecimiento polar; en el pelo radicular, la *RSL4* que es un componente vía por debajo del programa morfogénico de *RDH6/RSL1*, es un regulador maestro del crecimiento (Datta *et al.*, 2015). *RSL4* se activa por deficiencia de Pi exógeno y por altas concentraciones de auxina endógena (Yi *et al.*, 2010; Datta *et al.*, 2015), *RSL4* controla la expresión de genes específicos del pelo radicular, entre estos se incluyen a proteínas propias de la pared celular como las extensinas, proteínas ricas en prolina y de enzimas de pared celular, como las expansinas, las apo PODIII, pectin-liasas, xiloglucan endotransglucosidasas/hidrolasas (XTH). Es posible que *RSL4* active directa

o indirectamente la transcripción de los genes *NOXC* durante el crecimiento polar del pelo radicular. Se especula que la deficiencia de Pi y la auxina sobrerregulan la expresión de *RSL4* para inducir el crecimiento polar mediado por las ERO (Fig. 6, 9C), pero ésto debe ser confirmado (Yi *et al.*, 2010; Datta *et al.*, 2015). El modulo auxina-RSL es conservado durante la evolución como un regulador maestro en el crecimiento polar y se deriva de las primeras plantas terrestres que data de más de 500 millones de años (Pires *et al.*, 2013; Proust *et al.*, 2016). Aunque no es totalmente claro si el modulo auxina-RSL controla el alargamiento celular por inducción de las ERO en las primeras plantas terrestres. En el tubo polínico, no se ha descrito hasta ahora un factor central que juegue un papel central del crecimiento polar asociado a la producción de ERO mediado por las NOXH/NOXJ.

En adición a las NOX, las ${}_{\text{apo}}\text{PODIII}$ poseen un impacto directo en los niveles de las ${}_{\text{apo}}\text{ERO}$ (Fig. 9B y 9C) y pueden ser moduladas positivamente por el Ca^{2+} (Plieth y Vollbehr, 2012). Dependiendo de las condiciones microambientales y de los sustratos, las POD pueden realizar el ciclo peroxidativo, el hidroxílico y la reducción del O_2 (Passardi *et al.*, 2004). En el ciclo peroxidativo, las PODIII usan el H_2O_2 como un oxidante para convertir los fenoles de las paredes celulares y los aminoácidos aromáticos de las proteínas estructurales en radicales libres que pueden subsecuentemente asociarse entre si para formar uniones covalentes; en el ciclo hidroxílico, el ${}_{\text{apo}}\text{H}_2\text{O}_2$ y el O_2 es convertido por la ${}_{\text{apo}}\text{PODIII}$ en radicales, incluyendo al radical hidroxilo ($^{\circ}\text{OH}$) que hidrolizan a los carbohidratos en una forma no-enzimática (Dunand *et al.*, 2007). En adición, las ${}_{\text{apo}}\text{PODIII}$ generan $\text{O}_2^{\cdot-}$ por la reducción del O_2 que subsecuentemente puede ser dismutado a ${}_{\text{apo}}\text{H}_2\text{O}_2$, así de esta forma las ${}_{\text{apo}}\text{PODIII}$ pueden modular las pozas de ${}_{\text{apo}}\text{H}_2\text{O}_2$ (Francoz *et al.*, 2015). Un incremento en la concentración del ${}_{\text{apo}}\text{H}_2\text{O}_2$ permite el aumento en la rigidez de la pared celular por la formación de puentes intramoleculares, lo cual aumenta la rigidez de la pared celular e inmediatamente detiene el crecimiento polar (Monshausen *et al.*, 2007); de forma tal que la ${}_{\text{apo}}\text{PODIII}$ puede funcionar además de pro-oxidante, como un componente de entrecruzamiento de componentes de la pared celular bajo su ciclo peroxidativo.

La composición de la pared celular del pelo radicular y del tubo polínico es diferente a las demás paredes celulares (Gu y Nielsen, 2013), en los pelos radiculares las paredes celulares están compuestas de una mayor propor-

ción de xiloglucanos/celulosa, pectinas y O-glucoproteínas (Galway *et al.*, 2011; Velasquez *et al.*, 2011; Peña *et al.*, 2012); mientras que en el tubo polínico las paredes celulares contienen xiloglucanos/celulosa, calosa y glucoproteínas y están enriquecidas en pectinas y (Dardelle *et al.*, 2010). Las deficiencias en algunos de estos componentes en las paredes celulares inhiben el crecimiento polar, indicando que participan en la regulación de la elongación en los pelos radiculares o el tubo polínico (Bernhardt y Tierney, 2000; Favery *et al.*, 2001; Pang *et al.*, 2010; Ringli, 2010; Park *et al.*, 2011; Velasquez *et al.*, 2011; Zabolina *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2014). En particular las proteínas ricas en hidroxiprolina (HRGP) del tipo EXT (Velasquez *et al.*, 2011) y las proteínas ricas en prolina (Bernhardt y Tierney, 2000) son entrelazadas entre si covalentemente a través de las tirosinas mediada por la actividad de una ^{apo}PODIII no identificada, que facilita la formación de una red de glucoproteínas (Cannon *et al.*, 2008), proceso que se ha estudiado en el pelo radicular en crecimiento (Velasquez *et al.*, 2015). Recientemente se ha caracterizaron dos peroxidasas, la PER44 y la PER75, que su expresión es reprimida en condiciones de baja gravedad. Los mutantes *per44* y *per75* exhiben ruptura apical y otros defectos que no se dan en condiciones normales (Kwon *et al.*, 2015); la inhibición específica de las ^{apo}PODIII por medio del SHAM (ácido salicilhidroxámico) reprime dramáticamente el crecimiento del pelo radicular, y el tratamiento con SHAM en los mutantes *per45* y *per75* provoca la ruptura del pelo radicular, posiblemente debido al alto relajamiento de la pared celular, que es incapaz de contrarrestar la presión de turgencia que se da en la expansión celular (Kwon *et al.*, 2015). Se ha establecido que algunas ^{apo}PODIII están asociadas a la rigidez de la pared celular mientras que otras impactan en la relajación de la misma durante el desarrollo en las plantas (Passardi *et al.*, 2006; Jin *et al.*, 2011; Pedreira *et al.*, 2011, Herrero *et al.*, 2013, Kunieda *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2013; Shigeto *et al.*, 2013; Corona-Carrillo *et al.*, 2014; Manzano *et al.*, 2014; Kärkönen y Kuchitsu, 2015). La producción de ERO por las ^{apo}PODIII mediante su ciclo hidroxílico, aumenta la ruptura de los carbohidratos de la pared celular y actúa ablandando la pared, lo cual promueve el crecimiento (Fry, 1998; Schopfer *et al.*, 2002; Dunand *et al.*, 2007; Macpherson *et al.*, 2008) y es independientemente de la señal de Ca²⁺. No es claro cómo dos efectos opuestos sobre la pared celular están mediados y regulados por las ^{apo}PODIII en los ciclos oscilatorios de los pelos radiculares, pero se ha propues-

to un modelo en que los dos tipos de actividad se encuentran localizados en microdominios diferentes en el pelo radicular en crecimiento (Fig. 9C).

Las ERO poseen un impacto directo en el estado redox de las proteínas ricas en residuos de cisteína, como los receptores ricos en cisteína tipo cinasa (CRK; Chen, 2001). CRK representa una de las subfamilias más grandes de los receptores RLK (Receptor Like Kinases), con 44 miembros en *Arabidopsis thaliana* (Wrzaczek *et al.*, 2010). El dominio extracelular de los CRK contiene tres residuos de cisteína altamente conservados (C-X8-C-X2-C) que forman puentes disulfuro entre ellos y son blancos potenciales de los reguladores redox de grupos tiol (sulfhidrilos; Gutscher *et al.*, 2009). Los CRK pueden censar a las $_{apo}$ ERO, amplificar la señal inicial y controlar una gran variedad de aspectos del desarrollo en las plantas (Bourdais *et al.*, 2015).

Es posible que el crecimiento polar sea regulado por los mecanismos involucrados en los cambios oscilatorios del pH, los cuales están controlados por la activación/desactivación de la bomba de H^+ (AHA), los canales permeables intercambiadores de catión(H^+)/anión(OH^-), los transportadores antisentido del tipo CAX (Ca^{2+}/H^+). La oscilación de los flujos en $_{apo}H^+$ produce la acidificación o alcalinización temporal del apoplasto en el ápice, lo que activa o reprime la actividad del ciclo oxidativo de las $_{apo}$ PODIII. La activación/inactivación de otras enzimas de remodelación de la pared celular también se ven afectadas por el cambio del pH como las expansinas del pelo radicular, entre las que se encuentran la EXP7, EXP12, EXP18, la ZmEXPB1 en el maíz o en caso del tubo polínico la ZmEXPB11; la pectin metiltransferasa, PME1 y PME48 en tubos polínicos; la RHS14 (Roor Hair Specific 14) una pectato liasa específica de pelos radiculares o la pectatos liasa en el tubo polínico; la XHT, XHT12, XHT26 en los pelos radiculares y la XHT29 y XHT30 en el tubo polínico, las cuales están involucradas en la relajación/ablandamiento o entrecruzamiento en la pared celular. La regulación de crecimiento polar es consistente con el cambio del pH en microambientes; la incapacidad de crecimiento y el rompimiento del pelo radicular en un medio alcalino (pH 8), en comparación a lo que ocurre a un pH 4.5 en el alargamiento incontrolado acoplado a la debilidad de la pared celular (Monshausen *et al.*, 2007).

En forma específica las PME, que realizan la desmetilesterificación de los carboxilos, en específico de los pectatos, afecta la viscosidad de la pared ce-

lular y la dinámica del Ca^{2+} . La actividad de las PME produce la exposición de los grupos carboxílicos de las pectinas que pueden formar puentes iónicos entre ellas a través del Ca^{2+} , lo cual causa la rigidez de los pectatos en el tubo polínico (Bosch y Hepler, 2004; Palin y Geitmann, 2012). Inhibidores de la actividad de la PME (PMEI) retardan la desmetilesterificación, previniendo el entrecruzamiento de las pectinas en el ápice del tubo polínico (Röckel *et al.*, 2008; Wolf *et al.*, 2009).

Las ERO producto de las NOX y las $\text{apo}^{\text{PODIII}}$ también generan efectos intracelulares, en el pelo radicular y el tubo polínico están asociadas a la vía de señalamiento en el crecimiento polar (Monshausen *et al.*, 2007). No se conoce con precisión como las apo^{ERO} son introducidas y conducidas a los diferentes compartimentos celulares; se postula que el $\text{apo}^{\text{H}_2\text{O}_2}$ es activamente transportado a través de las acuaporinas del tipo PIP (Plasma membrane Intrinsic Proteins; Dynowski *et al.*, 2008; Hooijmaijers *et al.*, 2012), en forma similar al transporte del $\text{apo}^{\text{H}_2\text{O}_2}$ en la hifa de *Botrytis cinera* (An *et al.*, 2015). *In vitro*, el reconocimiento de los patógenos induce el aumento de PIP1;4 para provocar el influjo de $\text{apo}^{\text{H}_2\text{O}_2}$ (Tian *et al.*, 2016). El transporte de H_2O_2 por varias proteínas AtPIP, entre las que están PIP2;4 y PIP2;7 se expresan y localizan en el pelo radicular, en el mutante *pip2;4* posee pelos radiculares más largos en comparación con el silvestre cuando se crecen en medios deficientes de Pi (Lin *et al.*, 2011).

Se requiere de ERO para mediar los eventos en el alargamiento del pelo radicular, la OXI1 (OXIDATIVE STREES INDUCIBLE 1) es una proteína que pertenece a un familia de cinasas AGC (protein kinase A/protein kinase G/protein kinase C family); OXI1 (también denominado AGC2-1; At3g25250) conecta la ráfaga de la señal oxidante con procesos de respuesta vía abajo (Anthony *et al.*, 2004; Rentel *et al.*, 2004); por lo que se ha postulado que OXI1 activa a MARIS (MRI), un miembro de la subfamilia VIII de receptores tipo cinasa citoplásmica que se presenta en el pelo radicular y el tubo polínico en crecimiento. OXI1 actúa en la vía de señalización por debajo de FERONIA (FER) un receptor tipo cinasa (CrRLK) y de ANXUR1/ANXUR2 (ANX1/ANX2; Boisson-Dernier *et al.*, 2015). En hoja, OXI1, que toma el relevo en la señal de los ERO, fosforila a las cinasas MAPK (mitogen-activated protein kinase) MAPK3, MAPK4 y MAPK6 que activan a genes de respuesta ERO (Moon *et al.*, 2003). La actividad de cinasa de OXI1 sobre las MAPK es inducida por

H_2O_2 , en el mecanismo que estimula el crecimiento (Rentel *et al.*, 2004); varios mutantes en la cascada de señales de las MAPK exhiben defectos en el crecimiento del pelo radicular (Nakagami *et al.*, 2006; Qiu *et al.*, 2008; Beck *et al.*, 2010), por lo que varios componentes de la cascada de señalamiento son reguladores positivos del crecimiento apical del pelo radicular. En contraste, el mutante *mapk6wb/ire* desarrolla pelos radiculares extralargos, sugiriendo que MAPK6 es un regulador negativo en el alargamiento del pelo radicular (López-Bucio *et al.*, 2013). IRE (Incomplet Root Hair Elongation; Oyama *et al.*, 2002) es una cinasa AGC (like OXI1) que promueve el crecimiento del pelo radicular. Es incierto cómo estos componentes de la cascada de las MAPK están asociados a la activación del ${}_{apo}H_2O_2$ -OXI1, pero se han reportado la asociación cuando se ha generado o bien una herida o el daño de la pared celular o el ataque de los patógenos. En adición, otras señales como el ión Ca^{2+} , las fitohormonas como auxina y etileno o el estatus nutricional, como deficiencia en Pi pueden estar ligados a la respuesta mediada por MAPK.

b.- Alargamiento dependiente del pH

En un estudio dinámico en que se correlaciona el crecimiento y el pH extracelular, se demostró que la acidificación apoplástica acelera el crecimiento, a pH 4.5 se da un crecimiento incontrolado que puede llegar a la ruptura del pelo radicular, mientras que en un medio neutro a alcalino el crecimiento es lento, a un pH 8 se detiene completamente (Monshausen *et al.*, 2007; Gjetting *et al.*, 2012). El crecimiento de los pelos radiculares en el mutante *noxC (rhad2-1)*; Takeda *et al.*, 2008) es rescatado por un incremento en el pH apoplástico de 5 a 6; este mutante muestra niveles reducidos en ${}_{apo}ERO$, pero los niveles son normales en el gradiente de Ca^{2+} en el ápice (Monshausen *et al.*, 2007), por lo que fisiológicamente, los niveles de ERO no son absolutamente críticos para el desarrollo del pelo absorbente o bien los canales de Ca^{2+} se necesitan para generar un gradiente local en el ápice, no es claro como el cambio del pH de ácido a uno menos ácido es capaz de rescatar las acciones inducidas por Ca^{2+} y el crecimiento polar. El pH apoplástico está regulado por el flujo de H^+ generado por la AHA, la cual es regulada a su vez por la liberación del Ca^{2+} almacenado en la pared celular (Fig. 9A). La AHA es un miembro de la subfamilia tipo P de transportadores tipo ATPasas de H^+ , genera tres tipos de gradientes: químicos de H^+ , de pH y eléctrico a través de la membrana plasmática; por lo que forma parte de la homeostasis

celular (Haruta *et al.*, 2015). De las 11 proteínas funcionales AHA en *Arabidopsis thaliana* (Palmgren, 2001; Haruta *et al.*, 2015), *AHA1* y *AHA2* son las isoformas que se expresan en mayor medida; así, el mutante *aha2* muestra una reducción en la expansión del hipocótilo. Una variedad de condiciones ambientales que regulan el crecimiento inducen la autoinhibición de RLK, que en condiciones normales fosforilan a la AHA (Falhof *et al.*, 2015). Dependiendo del residuo fosforilado, algunas de ellas son capaces de activar o reprimir la actividad de la AHA (Fuglsang *et al.*, 2014; Haruta *et al.*, 2014). FERONIA (FER) un tipo de CrRLK1L (*Catharantus roseus* Receptor-Like Kinase) se une a RALF1 (Rapid Alkalinization Factor 1), la unión entre FER-RALF1 inhibe el crecimiento del pelo radicular por la fosforilación de la Ser-899 en la AHA2 por una cinasa desconocida (Haruta *et al.*, 2014). FER forma un complejo proteínico con ROP-GEF1 (Guanine nucleotide Exchange Factor ROP) en donde ROP-GEF4 o ROP-GEF10 pueden ser componentes adicionales del complejo, los cuales reclutan y activan a las RHO GTPasa, como la ROP2 de plantas (Duan *et al.*, 2010). La forma activa de ROP2 y posiblemente ROP6, aumenta la actividad de NOXC (Fig. 9A; Foreman *et al.*, 2003; Takeda *et al.*, 2008; Oda *et al.*, 2010). En una forma similar en el tubo polínico, se espera que las proteínas CrRLK1L presentes, ANXUR1 y ANXUR2 recluten a ROP1 por un ROPGEF desconocido (los mejores candidatos son ROPGEF8, ROPGEF9; ROPGEF12 o ROPGEF13) e interaccionen con los receptores PRK6. ROP1 se puede unir a NOXH/NOXJ y promover la producción de ERO en los tubos polínicos. En adición, las proteínas activas ROP1 y ROP2 son dirigidas a la membrana plasmática en el ápice de la célula y posee un impacto en la dinámica de los microfilamentos de actina y el tráfico de las vesículas. La regulación de la dinámica de la actina F controla el crecimiento en el tubo polínico por medio de la interacción ROP y las proteínas RIC que contienen una secuencia (motif) CRIB (Gu *et al.*, 2003, 2005); en el pelo radicular, efectores similares pueden estar regulando la homeostasis del tráfico de las vesículas (Fig. 7 y 9E). Un módulo de señalización conformado por CrRLK1L-NOX-GEF-ROP se ha propuesto como un sistema conservado que controla la expansión celular en las plantas (Fig. 9A a 9C y 9D; Nissen *et al.*, 2016). CAP1 (_{cit}Ca²⁺-Associated Protein Kinase) otro miembro de la familia CrRLK1L está asociado a la regulación del crecimiento del pelo radicular mediante la manutención de los gradientes de Ca²⁺ (Bai *et al.*, 2014), CAP1 se encuentra en el tonoplasto

de pelo radicular, y es responsable de mantener el pH citoplasmático por la modulación de los niveles de ${}_{\text{cit}}\text{NH}_4^+$, censando los niveles de ${}_{\text{cit}}\text{NH}_4^+$ y regulando los niveles de ${}_{\text{cit}}\text{Ca}^{2+}$ en la homeostasis celular y el pH del citoplasma (Bai *et al.*, 2014).

c. Transportadores de Ca^{2+} y la homeostasis

Como las ERO los iones Ca^{2+} actúan como mensajeros secundarios en varios procesos de transducción de las señales, incluyendo el crecimiento polar. El Ca^{2+} puede ser transportado desde fuentes externas a la célula, como el que se encuentra almacenado en las pectinas y las arabinogalactan-proteínas de la pared celular (Tian *et al.*, 2006; Lamport y Várnai, 2013). La acidificación del apoplasto controlado por la AHA puede provocar una liberación del Ca^{2+} asociado a componentes de la pared celular (Fig. 9B); además el Ca^{2+} puede ser liberado desde compartimentos intracelulares, como es el retículo endoplásmico y/o la vacuola (Fig. 9B). Poco se sabe de los CaC de la membrana plasmática que pueden transportar y aumentar la cantidad del Ca^{2+} en el ápice del pelo radicular, aunque una mayor información se dispone en el tubo polínico.

Cinco tipos de sistemas de transporte de Ca^{2+} se han caracterizado en células vegetales (Tabla 1). Miembros específicos de esas familias se expresan en el pelo radicular o el tubo polínico. Un flujo activo de Ca^{2+} es requerido para restaurar las bajas concentraciones de Ca^{2+} (alrededor de 100 a 200 nM) después de que se generó un evento de señalización. La remoción del Ca^{2+} del citosol al apoplasto o a los compartimentos intracelulares, se da por medio de un transporte activo en contra de un gradiente electroquímico. La inhibición de ACA (un autoinhibidor del tipo PIIB Ca^{2+} -ATPasa) también como el intercambiador de calcio antisentido $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ (CAX) son los mejores candidatos para generar este movimiento. ACA y CAX se encuentran en las endomembranas, de forma que contribuyen a balancear la poza de ${}_{\text{cit}}\text{Ca}^{2+}$ después de los eventos de transducción de señales. Se han encontrado 10 bombas de tipo ACA en *Arabidopsis*, solamente el ACA9 se encuentra en la membrana del tubo polínico, y genera un profundo impacto en la homeostasis del Ca^{2+} y producción de semillas (Schjøtt *et al.*, 2004), mientras que ACA13, se expresa en las células papilares del estigma y exporta Ca^{2+} para sustentar la germinación del polen compatible (Iwano *et al.*, 2014), no se ha encontrado un ACA

en el pelo radicular. En el caso de los intercambiadores antisentido CAX, el contra-ion es el H^+ , que genera la fuerza motriz para movilizar al Ca^{2+} , de los que se codifican en el genoma de *Arabidopsis*, solamente *CAX4* y *CAX9* se expresan en el tubo polínico (Pina *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2008), sugiriendo su papel en el crecimiento de esta estructura, no se han descrito miembros de CAX en el pelo radicular. Se ha postulado que las ERO median la activación de varios CAX desde el apoplasto (Foreman *et al.*, 2003; Takeda *et al.*, 2008; Duran *et al.*, 2014), sin que se conozca el mecanismo. El canal SKOR (Shaker-like Stellar K^+ Outward Rectifier) un canal permeable a K^+ en respuesta a H_2O_2 - Ca^{2+} (García-Mata *et al.*, 2010) y el ANNI estimulado por ERO (Laohavisit *et al.*, 2012) pueden estar asociados al crecimiento apical.

TABLA 1. Canales y Transportadores de Calcio.

- **Canales Voltage Dependientes.** En esta categoría están incluidos los canales de Ca^{2+} activados por la despolarización, entre los que están TCP1. TCP1 no son selectivos y se ubican en los pelos radiculares, en el resto de la raíz, las células guardianes, el tallo y los cotiledones. TCP1 que se localiza en el tonoplasto (Dadacz-Narloch *et al.*, 2013), aunque se ha ubicado además en la membrana plasmática (Hashimoto *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2005). TCP1 posee dos poros, cada uno consistente de seis dominios transmembranales (S1-S12) y una región de puente o linker entre los dos poros ubicados entre S6 y S7; posee dos motivos o secuencias EF-hands requeridas para la respuesta de los canales a cambios fisiológicos a la concentración de Ca^{2+} (Palmgren, 2001; Sondergaard *et al.*, 2004). Bajo el estrés salino los ápices de las raíces disparan ráfagas de Ca^{2+} que oscilan en el tiempo, y depende del funcionamiento de TCP1, por lo que se postula que TCP1 es importante en la transmisión de señales mediada por el Ca^{2+} a larga distancia (Hedrich y Marten, 2011). Las anexinas (ANN), se han descrito en tallo y pelos radiculares, son proteínas que unen Ca^{2+} y fosfolípidos (Richards *et al.*, 2014). ANN posee un dominio central compuesto de cuatro a ocho homólogos repetidos de aproximadamente 70 aminoácidos que poseen una secuencia conservada de unión al Ca^{2+} y a la membrana plasmática. Cuando el Ca^{2+} incrementa, se relocaliza en la membrana plasmática y ahí, las ANN son capaces de formar un probable canal voltaje dependiente (voltage-gated channels). En *Arabidopsis*, la familia comprende a 8 miembros (ANN1-8). ANN1 es un transportador permeable a Ca^{2+} sensible a ERO en raíces, es el punto de confluencia entre ERO y Ca^{2+} (Huh *et al.*, 2010; Laohavisit *et al.*, 2012). ANN1 muestra una actividad de peroxidasa (Konopka-Postupolska *et al.*, 2009; Fuglsang *et al.*, 2014), no se conoce el mecanismo mediante el cual ANN1 transporta el Ca^{2+} o el disparo mediado por el Ca^{2+} a ciertos estímulos, por ejemplo a ERO.
- **Canales de entrada activados por Nucleotidos cíclicos (CNGC).** Son activados por la unión del cAMP (cyclic Adenosin Mono Phosphate) o cGMP (cyclic Guanosin Mono Phosphate); los canales poseen seis dominios transmembranales que conforman un poro entre el dominio 5 y 6; en el extremo carboxiterminal se encuentra una secuencia reguladora que une al nucleotido cíclico, que está parcialmente sobrepuesto a una secuencia que une a la calmodulina, por lo que existe una interacción entre ambos dominios (Tian *et al.*, 2006; López-Bucio *et al.*, 2013). No se conocen inhibidores específicos para estos canales. El canal CNGC16 es selectivo al Ca^{2+} (Tunc-Ozdemir *et al.*, 2013), CNGC7, CNGC8 CNGC18 poseen una selectividad por Ca^{2+} y K^+ (Chang *et al.*, 2007; Frietsch *et al.*, 2007; Gao *et al.*, 2013, 2016, Tunc-Ozdemir *et al.*, 2013); el canal

CNGC10 transporta selectivamente al Ca^{2+} , K^+ o Mg^+ (Li *et al.*, 2005; Christopher *et al.*, 2007), mientras que CNGC14 se desconoce su selectividad (Shih *et al.*, 2015).

- **Canales permeables a Ca^{2+} osmorreguladores.** Los canales permeables a Ca^{2+} osmorreguladores en plantas mejor caracterizados son los OSCA1 (hyperosmolarity induced Ca^{2+} increase1) y GSC1 (calcium permeable stress-gate cation channel 1 o OSCA1.2). En *Arabidopsis thaliana* existen 15 miembros de la familia OSCA, donde OSCA1 es un canal hiperosmolar no selectivo a cationes que transporta Ca^{2+} (Yuan *et al.*, 2014). OSCA se ha ubicado en hoja, flor, raíz, células guardianes y en el carpelo/pistilo, los que están asociados a el estrés osmótico (Hou *et al.*, 2014). OSCA1.5 y OSCA2.4 se ha encontrado en los pelos radiculares, óvulos y células guardianes, sin que se conozca el ion transportado. La familia de canales mecanosensores permeables a Ca^{2+} MAC (Mid1-Complementing Activity) perciben la tensión y señales osmóticas (Kurusu *et al.*, 2012, 2013). MCA1 y MCA2 son selectivos a Ca^{2+} , se encuentran en cotiledones, hojas, raíces y tallos (Nakagawa *et al.*, 2007; Yamanaoka *et al.*, 2010; Nakano *et al.*, 2011; Furuichi *et al.*, 2012; Kurusu *et al.*, 2013; Shigematsu *et al.*, 2014). Un canal mecanosensor, el MSL8 está ligado al crecimiento del tubo polínico (Hamilton *et al.*, 2015), es selectivo a Cl^- y está asociado a la osmolaridad durante la hidratación y germinación de polen (Hamilton *et al.*, 2015).
- **Receptores tipo Glutamato (Glutamate-Like Receptors, GLR).** Los receptores tipo Glutamato son canales catiónicos no selectivos. Los GLR poseen cuatro dominios transmembranales de igual forma que los LBD (Ligand Binding Domain) y se han propuesto que *in vivo* forman tetrámeros. El aspártico, glicina o la serina son los agonistas del glutámico, los cuales se unen a dominio LBD y abren al GLR al transporte del catión. En *Arabidopsis* existen 20 probables GLR (Roy *et al.*, 2008) y varios de ellos se expresan abundantemente en los granos de polen. La inhibición con CNQX (6-ciano-7 nitroquinoxalina-2,3-diona) actúa como un antagonista del Glu, bloqueando la unión del Glu a su sitio (Michard *et al.*, 2009). Dos de ellos se encuentran en el desarrollo del tubo polínico y crecimiento polar; GRL1.2 y GRL3.7 (Michard *et al.*, 2011).

Lecturas sugeridas

Balcerowicz D., Schoenaers S., Vissenberg K. "Cell fate determination and the switch from diffuse growth to planar polarity in *Arabidopsis* root epidermal cell." *Frontiers in Plant Science*. (2015). 6: 1163.

Cárdenas L. "New findings in the mechanisms regulating polar growth in root hair cells." *Plant Signaling Behavior*. (2009). 4(1): 4-8.

Ishida T., Kurata T., Okada K., Wada T. "A genetic regulatory network in the development of trichomes and root hairs." *Annual Review of Plant Biology*. (2008). 59(3):365-386.

Grebe, M. "The patterning of epidermal hairs in *Arabidopsis*—updated." *Current Opinion in Plant Biology*. (2012). 15, 31-37.

Grierson C., Nielsen E., Ketelaar T., Schiefelbein J. "Root Hair." *The Arabidopsis Book*. (2014). e0172. doi:10.1199/tab.0172.

Mangano S., Juárez S.P., Estevéz J.M. "ROS Regulation of polar-growth in plant cells." *Plant Physiology*. (2016). doi: 10.1104/pp.16.00191.

Salazar-Henao J.E., Vélz-Bermúdez I.C., Schmidt W. "The regulatios and plasticity hair patterning and morphogenesis." *Development*. (2016). 143: 1848-1858.

Referencias bibliográficas

- **Compromiso y decisión celular**

Abeles F.B., Morgan P.W., Saltveit M.E. "Ethylene in Plant Biology". San Diego, CA. *Academic Press*. (1992).

Anderson C.T., Carroll A., Akhmetova L., Somerville C. "Real-time imaging of cellulose reorientation during cell wall expansion in *Arabidopsis* roots." *Plant Physiology*. (2010). 152, 787–796. doi:10.1104/pp.109.150128.

Bai Y., Vaddepalli P., Fulton L., Bhasin H., Hülskamp M., Schneitz, K. "ANGUS-TIFOLIA is a central component of tissue morphogenesis mediated by the atypical receptor-like kinase STRUBBELIG." *BioMed Central Plant Biology*. (2013). 13:16. doi:10.1186/1471-2229-13-16.

- Benítez M., Alvarez-Buylla E.R. “Dynamic-module redundancy confers robustness to the gene regulatory network involved in hair patterning of *Arabidopsis* epidermis.” *Biosystems*. (2010). 102, 11-15.
- Berger F., Hung C.Y., Dolan L., Schiefelbein J. “Control of cell division in the root epidermis of *Arabidopsis thaliana*.” *Developmental Biology*. (1998). 194, 235-245.
- Bernhardt C., Lee M.M., Gonzalez A., Zhang F., Lloyd A., Schiefelbein J. “The bHLH genes *GLABRA3* (*GL3*) and *ENHANCER OF GLABRA3* (*EGL3*) specify epidermal cell fate in the *Arabidopsis* root.” *Development*. (2003). 130, 6431–6439. doi:10.1242/dev.00880.
- Bernhardt C., Zhao M., Gonzalez A., Lloyd A., Schiefelbein J. “The bHLH genes *GL3* and *EGL3* participate in an intercellular regulatory circuit that controls cell patterning in the *Arabidopsis* root epidermis.” *Development* (2005). 132, 291–298. doi:10.1242/dev.01565.
- Boss W.F., Im Y.J. “Phosphoinositide signaling.” *Annual Review of Plant Biology*. (2012). 63, 409-429.
- Brewer P.B., Koltai H., Beveridge C.A. “Diverse roles of strigolactones in plant development.” *Molecular Plant*. (2013). 6, 18-28.
- Bringmann M., Landrein B., Schudoma C., Hamant O., Hauser M.T., Persson S. “Cracking the elusive alignment hypothesis: the microtubule-cellulose synthase nexus unraveled.” *Trends in Plant Science*. (2012a). 17, 666–674. doi: 10.1016/j.tplants.2012.06.003.
- Bruex A., Kainkaryam R.M., Wieckowski Y., Kang Y.H., Bernhardt C., Xia Y., *et al.* “A gene regulatory network for root epidermis cell differentiation in *Arabidopsis*.” *PLoS Genetics*. (2012). 8:e1002446. doi:10.1371/journal.pgen.1002446.
- Bünning E. “Über die Differenzierungsvorgänge in der Cruciferen wurzel.” *Planta*. (1951). 39, 126-153.
- Chacón-López A., Ibarra-Laclette E., Sánchez-Calderón L., Gutiérrez-Alanis D., Herrera-Estrella L. “Global expression pattern comparison between low phosphorus insensitive 4 and WT *Arabidopsis* reveals an important role of reactive oxygen species and jasmonic acid in the root tip response to phosphate starvation.” *Plant Signaling and Behavior*. (2011). 6, 382-392.

Chandrika N.N., Sundaravelpandian K., Yu S.M., Schmidt W. "ALFIN-LIKE 6 is involved in root hair elongation during phosphate deficiency in *Arabidopsis*." *The New Phytologist*. (2013). 198, 709-720.

Chen C.Y., Schmidt W. "The paralogous R3 MYB proteins CAPRICE, and ENHANCER OF TRY AND CPC1 play pleiotropic and partly non-redundant roles in the phosphate starvation response of *Arabidopsis* roots." *Journal of Experimental Botany*. (2015). 66, 4821-4834.

Chen J., Yang Z. "Novel ABP1-TMK auxin sensing system controls ROP GTPase-mediated interdigitated cell expansion in *Arabidopsis*." *Small GTPases*. (2014). 5, e28711.doi:10.4161/sgtp.29711.

Cheng Y., Zhu W., Chen Y., Ito S., Asami T., Wang X. "Brassinosteroids control root epidermal cell fate via direct regulation of a MYBbHLH-WD40 complex by GSK3-like kinases." *eLife*. (2014). 3, e02525.

Chevalier D., Batoux M., Fulton L., Pfister K., Yadav R.K., Schellenberg M., et al. "STRUBBELIG defines a receptor kinase-mediated signaling pathway regulating organ development in *Arabidopsis*." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2005). 102, 9074-9079.doi:10.1073/pnas.0503526102.

Cormack R.G.H. "A comparative study of developing epidermal cells in white mustard and tomato roots." *American Journal of Botany*. (1947). 34, 310-314.

Cosgrove D.J. "Loosening of plant cell walls by expansins." *Nature*. (2000). 407, 321-326.doi:10.1038/35030000.

Datta S., Prescott H., Dolan L. "Intensity of a pulse of RSL4 transcription factors at anthesis determines *Arabidopsis* root hair cell size." *Nature Plants*. (2015). 1, 15138.doi:10.1038/NPLANTS.2015.138.

Deal R. B., Kandasamy M. K., McKinney E. C., Meagher R. B. "The nuclear actin-related protein ARP6 is a pleiotropic developmental regulator required for the maintenance of FLOWERING LOCUS C expression and repression of flowering in *Arabidopsis*." *The Plant Cell*. (2005). 17, 2633-2646.

Dolan L., Costa S. "Evolution and genetics of root hair stripes in the root epidermis." *Journal of Experimental Botany*. (2001). 52, 413-417.

Dolan L., Duckett C.M., Grierson C., Linstead P., Schneider K., Lawson E., Dean C., Poethig S., Roberts K. "Clonal relationships and cell patterning in the root epidermis of *Arabidopsis*." *Development*. (1994). 120, 2465-2474.

Dolan, L., Janmaat, K., Willemsen, V., Linstead, P., Poethig, S., Roberts, K., *et al.* "Cellular organization of the *Arabidopsis thaliana* root." *Development*. (1993). 119, 71-84.

Esch J.J., Chen M., Sanders M., Hillestad M., Ndkium S., Idelkope B., *et al.* "A contradictory GLABRA3 allele helps define gene interactions controlling trichome development in *Arabidopsis*." *Development*. (2003). 130, 5885- 5894. doi:10.1242/dev.00812.

Fan J. Y., Gordon F., Luger K., Hansen J.C., Tremethick D.J. "The essential histone variant H2A.Z regulates the equilibrium between different chromatin conformational states." *Nature Structural Biology*. (2002). 9, 172-176.

Foreman J., Demidchik V., Bothwell J.H.F., Mylona P., Miedema H., Torres M.A., Linstead P., Costa S., Brownlee C., Jones J.D., *et al.* "Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth." *Nature*. (2003). 422, 442-446.

Fridman Y., Elkouby L., Holland N., Vragovic K., Elbaum, R., Savaldi-Goldsstein S. "Root growth is modulated by differential hormonal sensitivity in neighboring cells." *Genes and Development*. (2014). 28, 912-920. doi: 10.1101/gad.239335.114.

Fulton L., Batoux M., Vaddepalli P., Yadav R.K., Busch W., Andersen S.U., *et al.* "DETORQUEO, QUIRKY, and ZERZAUST represent novel components involved in organ development mediated by the receptor-like kinase STRUBBELIG in *Arabidopsis thaliana*." *PLoS Genetics*. (2009). 5:e1000355. doi: 10.1371/journal.pgen.1000355.

Galway, M.E., Masucci, J.D., Lloyd, A.M., Walbot, V., Davis, R.W., Schiefelbein, J.W. The "TTG gene is required to specify epidermal cell fate and cell patterning in the *Arabidopsis* root". *Developmental Biology*. (1994). 166, 740-754. doi: 10.1006/dbio.1994.1352.

Grebe M., Friml J., Swarup R., Ljung K., Sandberg G., Terlou M., Palme K., Bennett M.J., Scheres B. "Cell polarity signaling in *Arabidopsis* involves a BFA-sensitive auxin influx pathway." *Current Biology*. (2002). 12, 329-334.

Grierson C., Nielsen E., Ketelaarc T., Schiefelbein J. "Root hairs." *Arabidopsis Book*. (2014). 12, e0172.

Guilfoyle T.J., Ulmasov T., Hagen G. "The ARF family of transcription factors and their role in plant hormone-responsive transcription." *Cellular and Molecular Life Sciences*. (1998). 54, 619-627.

Guimil S., Dunand C. "Cell growth and differentiation in *Arabidopsis* epidermal cells." *Journal of Experimental Botany*. (2007). 58, 3829-3840.

Han Y., Xin M., Huang K., Xu Y., Liu Z., Hu Z., Yao Y., Peng H., Ni Z., Sun Q. "Altered expression of TaRSL4 gene by genome interplay shapes hair length in allopolyploid wheat." *The New Phytologist*. (2016). 209, 721-732.

Hassan H., Scheres B., Blilou I. "JACKDAW controls epidermal patterning in the *Arabidopsis* root meristem through a non-cell-autonomous mechanism." *Development*. (2010). 137, 1523-1529.

Hofmann R.M., Pickart C.M. "Noncanonical MMS2-encoded ubiquitin-conjugating enzyme functions in assembly of novel polyubiquitin chains for DNA repair." *Cell*. (1999). 96, 645-653.

Huang Y., Li H., Hutchison C.E., Laskey J., Kieber J.J. "Biochemical and functional analysis of CTR1, a protein kinase that negatively regulates ethylene signaling in *Arabidopsis*." *The Plant Journal*. (2003). 33, 221-233. doi:10.1046/j.1365-313X.2003.01620.x

Ikeda Y., Men S.Z., Fischer U., Stepanova A.N., Alonso J.M., Ljung K., Grebe M. "Local auxin biosynthesis modulates gradient-directed planar polarity in *Arabidopsis*." *Nature Cell Biology*. (2009). 11, 731-770.

Itzhaki H., Maxson J.M., Woodson W.R. "An ethylene-responsive enhancer element is involved in the senescence-related expression of the carnation glutathione-S-transferase (GST1) gene. *Arabidopsis*." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (1994). 91, 8925-8929. doi:10.1073/pnas.91.19.8925.

- Jones, A.R., Kramer E.M., Knox K., Swarup R., Bennett M.J., Lazarus C.M., Leyser H.M.O., Grierson C.S. "Auxin transport through non-hair cells sustains root-hair development." *Nature Cell Biology*. (2009). 11, 78-84.
- Kang Y.H., Kirik V., Huelskamp M., Nam K.H., Hagely K., Lee M.M., Schiefelbein J. "The MYB23 gene provides a positive feedback loop for cell fate specification in the *Arabidopsis* root epidermis." *The Plant Cell*. (2009). 21, 1080-1094.
- Kang Y.H., Song S.K., Schiefelbein J., Lee M.M. "Nuclear trapping controls the position-dependent localization of CAPRICE in the root epidermis of *Arabidopsis*." *Plant physiology*. (2013). 163, 193-204.doi:10.110.
- Kang J., Yu H., Tian C., Zhou W., Li C., Jiao Y., Liu D. "Suppression of photosynthetic gene expression in roots is required for sustained root growth under phosphate deficiency." *Plant physiology*. (2014). 165, 1156-1170.
- Kapulnik Y., Resnick N., Mayzlish-Gati E., Kaplan Y., Wininger S., Hershenhorn J., Koltai H. "Strigolactones interact with ethylene and auxin in regulating root-hair elongation in *Arabidopsis*." *Journal of Experimental Botany*. (2011). 62, 2915-2924.
- Kazan K. "Diverse roles of jasmonates and ethylene in abiotic stress tolerance." *Trends in Plant Science*. (2015). 20, 219-229.
- Kirik V., Simon M., Huelskamp M., Schiefelbein J. "The *ENHANCER OF TRY AND CPC1* gene acts redundantly with *TRIPTYCHON* and *CAPRICE* in trichome and root hair cell patterning in *Arabidopsis*." *Developmental Biology*. (2004). 268, 506-513. doi: 10.1016/j.ydbio.2003.12.037.
- Knox K., Grierson C.S., Leyser O. "AXR3 and SHY2 interact to regulate root hair development." *Development*. (2003). 130, 5769-5777.doi: 10.1242/dev.00659.
- Koltai H., LekKala S.P., Bhattacharya C., Mayzlish-Gati E., Resnick N., Wininger S., Dor E., Yoneyama K., Yoneyama K., Hershenhorn J. *et al.* "A tomato strigolactone-impaired mutant displays aberrant shoot morphology and plant interactions." *Journal of Experimental Botany*. (2010). 61, 1739-1749.
- Koshino-Kimura Y., Wada T., Tachibana T., Tsugeki R., Ishiguro S., Okada K. "Regulation of *CAPRICE* transcription by *MYB* proteins for root epidermis differentiation in *Arabidopsis*." *Plant and Cell Physiology*. (2005). 46, 817-826. doi: 10.1093/pcp/pci096.

Kuppusamy K.T., Chen A.Y., Nemhauser J.L. "Steroids are required for epidermal cell fate establishment in *Arabidopsis* roots." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2009). 106, 8073-8076.

Kurata T., Ishida T., Kawabata-Awai C., Noguchi M., Hattori S., Sano R., *et al.* "Cell-to-cell movement of the CAPRICE protein in *Arabidopsis* root epidermal cell differentiation." *Development*. (2005). 132, 5387-5398. doi: 10.1242/dev.02139.

Kusano H., Testerink C., Vermeer J.E.M., Tsuge T., Shimada H., Oka A., Munnik T., Aoyama T. "The *Arabidopsis* phosphatidylinositol phosphate 5-Kinase PIP5K3 is a key regulator of root hair tip growth." *The Plant Cell*. (2008). 20, 367-380.

Kwak S.H., Schiefelbein J. "The role of the SCRAMBLED receptor-like kinase in patterning the *Arabidopsis* root epidermis." *Developmental Biology*. (2007). 302, 118-131. doi: 10.1016/j.ydbio.2006.09.009.

Kwak S.H., Schiefelbein J. "A feedback mechanism controlling SCRAMBLED receptor accumulation and cell-type pattern in *Arabidopsis*." *Current Biology*. (2008). 18, 1949-1954.

Kwak S.H., Schiefelbein J. "TRIPTYCHON, not CAPRICE, participates in feedback regulation of SCM expression in the *Arabidopsis* root epidermis." *Plant Signaling and Behavior*. (2014). 9, e973815. doi:10.4161/15592324.2014.973815.

Kwak S.H., Shen R., Schiefelbein, J. "Positional signaling mediated by a receptor-like kinase in *Arabidopsis*." *Science*. (2005). 307, 1111-1113.

Kwak S.H., Song S.K., Lee M.M., Schiefelbein J. "TORNADO1 regulates root epidermal patterning through the *WEREWOLF* pathway in *Arabidopsis thaliana*". *Plant Signaling and Behavior*. (2015). 10, e1103407.

Lan P., Li W., Schmidt W. "Complementary proteome and transcriptome profiling in phosphate-deficient *Arabidopsis* roots reveals multiple levels of gene regulation". *Molecular and Cellular Proteomics*. (2012a). 11, 1156-1166.

Lan P., Li W.F., Wen T.N., Schmidt W. "Quantitative phosphoproteome profiling of iron-deficient *Arabidopsis* roots". *Plant Physiology*. (2012b). 159, 403-417.

- Landsberg E.C. "Hormonal regulation of iron-stress response in sunflower roots: A morphological and cytological investigation." *Protoplasma*. (1996). 194, 69-80.
- Leavitt R.G. "Trichomes of the root in vascular cryptogams and angiosperms." *Proceedings of the Boston Society of Natural History*. (1904). 31, 273-313.
- Lee Y., Bak G., Choi Y., Chuang W.I., Cho H.T., Lee Y. "Roles of phosphatidylinositol 3-kinase in root hair growth." *Plant Physiology*. (2008). 147, 624-635.
- Lee R.D.W., Cho H.T. "Auxin, the organizer of the hormonal/environmental signals for root hair growth." *Frontiers in Plant Science*. (2013). 4, 448.
- Lee W.Y., Lee D., Chung W.I., Kwon C.S. "*Arabidopsis* ING and -like protein families localize to the nucleus and bind to H3K4me3/2 via plant homeodomain fingers." *The Plant Journal*. (2009). 58, 511-524.
- Lee M.M., Schiefelbein J. "WEREWOLF, a MYB-related protein in *Arabidopsis*, is a position-dependent regulator of epidermal cell patterning." *Cell*. (1999). 99, 473-483. doi:10.1016/S0092-8674(00)81536-6.
- Lee M.M., Schiefelbein J. "Cell pattern in the *Arabidopsis* root epidermis determined by lateral inhibition with feed back." *The Plant Cell*. (2002). 14, 611-618. doi:10.1105/tpc.010434.
- Leitner J., Petrasek J., Tomanov K., Retzer K., Parezova M., Korbei B., Bachmair A., Zazimalova E., Luschnig C. "Lysine63-linked ubiquitylation of PIN2 auxin carrier protein governs hormonally controlled adaptation of *Arabidopsis* root growth." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2012). 109, 8322-8327.
- Leyser H.M., Pickett F.B., Dharmasiri S., Estelle M. "Mutations in the *AXR3* gene of *Arabidopsis* result in altered auxin response including ectopic expression from the *SAUR-AC1* promoter." *The Plant Journal*. (1996). 10, 403-413. doi: 10.1046/j.1365-313x.1996.10030403.x
- Li D.X., Chen W.Q., Xu Z.H., Bai S.N. "HISTONE DEACETYLASE6-defective mutants show increased expression and acetylation of ENHANCER OF TRIPTYCHON AND CAPRICE1 and GLABRA2 with small but significant effects on root epidermis cellular pattern." *Plant Physiology*. (2015). 168, 1448-1458.

- Li J., Chory J. "A putative leucine-rich repeat receptor kinase involved in brassinosteroid signal transduction." *Cell*. (1997). 90, 929–938.doi:10.1016/S0092-8674(00)80357-8
- Li M., Qin C., Welti, R., Wang X. "Double knockouts of phospholipases D ζ 1 and D ζ 2 in *Arabidopsis* affect root elongation during phosphate-limited growth but do not affect root hair patterning." *Plant Physiology*. (2006). 140, 761-770.
- Li W., Schmidt W. "A lysine-63-linked ubiquitin chain-forming conjugase, UBC13, promotes the developmental responses to iron deficiency in *Arabidopsis* roots." *The Plant Journal*. (2010). 62, 330-343.
- Lin W.Y., Huang T.K., Leong S.J., Chiou, T.J. "Long-distance call from phosphate: systemic regulation of phosphate starvation responses." *Journal of Experimental Botany*. (2014). 65, 1817-1827.
- Lin Q., Ohashi Y., Kato M., Tsuge T., Gu H., Qu L.J., et al. "GLABRA2 directly suppresses basic helix-loop-helix transcription factor genes with diverse functions in root hair development." *The Plant Cell*. (2015). 27, 2894–2906.doi: 10.1105/tpc.15.00607.
- Lin Y., Schiefelbein J. "Embryonic control of epidermal cell patterning in the root and hypocotyl of *Arabidopsis*." *Development*. (2001). 128, 3697–3705.
- Liu C., Li L.C., Chen W.Q., Chen X., Xu Z.H., Bai S.N. "HDA18 affects cell fate in *Arabidopsis* root epidermis via histone acetylation at four kinase genes." *The Plant Cell*. (2013). 25, 257-269.
- López-Bucio J., Hernández-Abreu E., Sánchez-Calderón L., Nieto-Jacobo M.F., Simpson J., Herrera-Estrella L. "Phosphate availability alters architecture and causes changes in hormone sensitivity in the *Arabidopsis* root system." *Plant Physiology*. (2002). 129, 244-256.
- Ma Z., Bielenberg D.G., Brown K.M., Lynch J.P. "Regulation of root hair density by phosphorus availability in *Arabidopsis thaliana*." *Plant Cell and Environment*. (2001). 24, 459-467.
- Marzec M., Melzer M., Szarejko I. "The evolutionary context of root epidermis cell patterning in grasses (Poaceae)." *Plant Signaling and Behavior*. (2014). 9, e27972.

- Masucci J.D., Schiefelbein J.W. "The *rh6* mutation of *Arabidopsis thaliana* alters root-hair initiation through an auxin and ethylene-associated process." *Plant Physiology*. (1994). 106, 1335–1346.
- Masucci J.D., Schiefelbein J.W. "Hormones act downstream of TTG and GL2 to promote root hair out growth during epidermis development in the *Arabidopsis* root." *The Plant Cell*. (1996). 8, 1505–1517.doi:10.1105/tpc.8. 9.1505.
- Menand B., Calder G., Dolan L. "Both chloronemal and caulonemal cells expand by tip growth in the moss *Physcomitrella patens*." *Journal of Experimental Botany*. (2007a). 58, 1843-1849.
- Menand B., Yi K., Jouannic S., Hoffmann L., Ryan E., Linstead P., *et al.* "An ancient mechanism controls the development of cells with a rooting function in land plants." *Science*. (2007b). 316, 1477–1480.doi:10.1126/ science.1142618.
- Monshausen G.B., Bibikova T.N., Messerli M.A., Shi C., Gilroy S. "Oscillations in extracellular pH and reactive oxygen species modulate tip growth of *Arabidopsis* root hairs." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2007). 104, 20996-21001.
- Muday G.K., Rahman A., Binder B.M. "Auxin and ethylene: collaborators or competitors?" *Trends in Plant Sciences*. (2012). 17, 181-195.
- Müller M., Schmidt W. "Environmentally induced plasticity of root hair development in *Arabidopsis*." *Plant Physiology*. (2004). 134, 409-419.
- Müller J., Toev T., Heisters M., Teller J., Moore K.L., Hause G., Dinesh D.C., Bürstenbinder K., Abel S. "Iron-dependent callose deposition adjusts root meristem maintenance to phosphate availability." *Developmental cell*. (2015). 33,216-230.
- Nagarajan V. K., Jain A., Poling M. D., Lewis A. J., Raghothama K. G., Smith A. P. "*Arabidopsis* Pht1;5 mobilizes phosphate between source and sink organs and influences the interaction between phosphate homeostasis and ethylene signaling." *Plant Physiology*. (2011). 156: 1149-1163.
- Nakamura Y., Koizumi R., Shui G., Shimojima M., Wenk M.R., Ito T., Ohta H. "*Arabidopsis* lipins mediate eukaryotic pathway of lipid metabolism and cope critically with phosphate starvation." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2009). 106, 20978-20983.

Nakamura M., Kiefer C.S., Grebe M. "Planar polarity, tissue polarity and planar morphogenesis in plants." *Current Opinion in Plant Biology*. (2012). 15, 593-600.

Nakamura Y., Teo N.Z.W., Shui G.H., Chua C.H.L., Cheong W.F., Parameswaran S., Koizumi R., Ohta H., Wenk M.R., Ito T. "Transcriptomic and lipidomic profiles of glycerolipids during *Arabidopsis* flower development." *The New Phytologist*. (2014). 203, 310-322.

Niu Y., Chai R., Liu L., Jin G., Liu M., Tang C., Zhang Y. "Magnesium availability regulates the development of root hairs in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh" *Plant, Cell and Environment*. (2014). 37, 2795-2813.

Ohashi Y., Oka A., Rodrigues-Pousada R., Possenti M., Ruberti I., Morelli G., Aoyama T. "Modulation of phospholipid signaling by GLABRA2 in root-hair pattern formation." *Science*. (2003). 300, 1427-1430.

Ohme-Takagi M., Shinshi H. "Structure and expression of a tobacco β -1,3-glucanase gene." *Plant Molecular Biology*. (1990). 15, 941-946.doi:10.1007/BF00039434.

Oldroyd G.E.D., Dixon R. "Biotechnological solutions to the nitrogen problem." *Current Opinion in Biotechnology*. (2014). 26, 19-24.

Pan I.C., Schmidt W. "Functional implications of K63-linked ubiquitination in the iron deficiency response of *Arabidopsis* roots." *Frontiers in Plant Science*. (2014). 4, 542.

Pan I.C., Tsai H.H., Cheng Y.T., Wen T.N., Buckhout T.J., Schmidt W. "Post-transcriptional coordination of the *Arabidopsis* iron deficiency response is partially dependent on the E3 ligases RING DOMAIN LIGASE1 (RGLG1) and RING DOMAIN LIGASE2 (RGLG2)." *Molecular and Cellular Proteomics*. (2015). 14, 2733-2752.

Pandya-Kumar N., Shema R., Kumar M., Mayzlish-Gati E., Levy D., Zemach H., Belausov E., Wininger S., Abu-Abied M., Kapulnik Y. *et al.* "Strigolactone analog GR24 triggers changes in PIN2 polarity, vesicle trafficking and actin filament architecture." *The New Phytologist*. (2014). 202, 1184-1196.

Paredez A.R., Somerville C.R., Ehrhardt D.W. "Visualization of cellulose synthase demonstrates functional association with microtubules." *Science*. (2006). 312, 1491-1495.doi:10.1126/science.1126551.

- Payne C.T., Zhang F., Lloyd A.M. "GL3 encodes a bHLH protein that regulates trichome development in *Arabidopsis* through interaction with GL1 and TTG1." *Genetics* (2000). 156, 1349–1362.
- Pemberton L.M.S., Tsai S.L., Lovell P.H., Harris P.J. "Epidermal patterning in seedling roots of eudicotyledons." *Annals of Botany*. (2001). 87, 649-654.
- Pérez-Torres C.A., Lopez-Bucio J., Cruz-Ramirez A., Ibarra-Laclette E., Dharmasiri S., Estelle M., Herrera-Estrella L. "Phosphate availability alters lateral root development in *Arabidopsis* by modulating auxin sensitivity via a mechanism involving the TIR1 auxin receptor." *The Plant Cell*. (2008). 20, 3258-3272.
- Pesch M., Schultheiß I., Klopffleisch K., Uhrig J.F., Koelg M., Clemen C.S., *et al.* "TRANSPARENT TESTA GLABRA1 and GLABRA1 compete for binding to GLABRA3 in *Arabidopsis*." *Plant Physiology*. (2015). 168, 584–597.doi: 10.1104/pp.15.00328.
- Perry P., Linke B., Schmidt W. "Reprogramming of root epidermal cells in response to nutrient deficiency." *Biochemical Society Transactions*. (2007). 35, 161-163.
- Pitts R.J., Cernac A., Estelle M. "Auxin and ethylene promote root hair elongation in *Arabidopsis*." *The Plant Journal*. (1998). 16, 553–560. doi:10.1046/j.1365-313x.1998.00321.x.
- Rerie, W.G., Feldmann K.A., Marks M.D. "The GLABRA2 gene encodes a homeodomain protein required for normal trichome development in *Arabidopsis*." *Genes and Development*. (1994). 8, 1388–1399.doi:10.1101/gad.8.12.1388
- Rigas S., Ditegou F.A., Ljung K., Daras G., Tietz O., Palme K., Hatzopoulos P. "Root gravitropism and root hair development constitute coupled developmental responses regulated by auxin homeostasis in the *Arabidopsis* root apex." *The New Phytologist*. (2013). 197, 1130-1141.
- Robles L., Stepanova A., Alonso J. "Molecular mechanisms of ethylene–auxin interaction." *Molecular Plant*. (2013). 6, 1734-1737.
- Ruyter-Spira C., Kohlen W., Charnikhova T., van Zeijl A., van Bezouwen L., de Ruijter N., Cardoso C., Lopez-Raez J.A., Matusova R., Bours R. *et al.* "Physiological effects of the synthetic strigolactone analog GR24 on root system

architecture in *Arabidopsis*: another belowground role for strigolactones?" *Plant Physiology*. (2011). 155, 721-734.

Ryu K.H., Kang Y.H., Park Y.H., Hwang I., Schiefelbein J., Lee M.M. "The WE-REWOLF MYB protein directly regulates CAPRICE transcription during cell fate specification in the *Arabidopsis* root epidermis." *Development*. (2005). 132, 4765-4775. doi:10.1242/dev.02055.

Savage N.S., Walker T., Wieckowski Y., Schiefelbein J., Dolan L., Monk N.A.M. "A mutual support mechanism through intercellular movement of CAPRICE and GLABRA3 can pattern the *Arabidopsis* root epidermis." *PLoS Biology*. (2008). 6, e235.

Savage N., Yang T.J.W., Chen, C.Y., Lin K.L., Monk N.A.M., Schmidt W. "Positional signaling and expression of ENHANCER OF TRY AND CPC1 are tuned to increase root hair density in response to phosphate deficiency in *Arabidopsis thaliana*." *PLoS ONE*. (2013). 8, e75452.

Schiefelbein J., Kwak S.H., Wieckowski Y., Barron C., Bruex A. "The gene regulatory network for root epidermal cell-type pattern formation in *Arabidopsis*." *Journal of Experimental Botany*. (2009). 60, 1515-1521.

Schiefelbein J., Huang L., Zheng X. "Regulation of epidermal cell fate in *Arabidopsis* roots: the importance of multiple feedback loops." *Frontiers in Plant Sciences*. (2014). 5, 47. doi: 10.3389/fpls.2014.00047.

Schikora A., Schmidt W. "Formation of transfer cells and H⁺-ATPase expression in tomato roots under P and Fe deficiency." *Planta*. (2002). 215, 304-311.

Schmidt W., Schikora A. "Different pathways are involved in phosphate and iron stress-induced alterations of root epidermal cell development." *Plant Physiology*. (2001). 125, 2078-2084.

Shin R., Schachtman D.P. "Hydrogen peroxide mediates plant root cell response to nutrient deprivation." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2004). 101, 8827-8832.

Simon M., Lee M.M., Lin Y., Gish L., Schiefelbein J. "Distinct and overlapping roles of single repeat MYB genes in root epidermal patterning" *Developmental Biology*. (2007). 311, 566-578. doi:10.1016/j.ydbio.2007.09.001.

- Sims R.J., Reinberg D. "Histone H3 Lys 4 methylation: caught in a bind?" *Genes and Development*. (2006). 20, 2779-2786.
- Smith A.P., Jain A., Deal R.B., Nagarajan V.K., Poling M.D., Raghothama K.G., Meagher R.B. "Histone H2A.Z regulates the expression of several classes of phosphate starvation response genes but not as a transcriptional activator." *Plant Physiology*. (2010). 152, 217-225.
- Song S.K., Ryu K.H., Kang Y.H., Song J.H., Cho Y.H., Yoo S.D., Schiefelbein J., Lee, M.M. "Cell fate in the *Arabidopsis* root epidermis is determined by competition between WEREWOLF and CAPRICE." *Plant Physiology*. (2011). 157, 1196-1208.
- Stetter M.G., Schmid K., Ludewig U. "Uncovering genes and ploidy involved in the high diversity in root hair density, length and response to local scarce phosphate in *Arabidopsis thaliana*." *PLoS ONE*. (2015). 10, e0120604.
- Sundaravelpandian K., Chandrika N.N.P., Tsai Y.H., Schmidt W. "PFT1-controlled ROS balance is critical for multiple stages of root hair development in *Arabidopsis*." *Plant Signaling and Behavior*. (2013). 8, e24066.
- Takeda S., Gapper C., Kaya H., Bell E., Kuchitsu K., Dolan L. "Local positive feedback regulation determines cell shape in root hair cells." *Science*. (2008). 319, 1241-1244.
- Tam T.H.Y., Catarino B., Dolan L. "Conserved regulatory mechanism controls the development of cells with rooting functions in land plants." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2015). 112, E3959-E3968.
- Tanimoto M., Roberts K., Dolan L. "Ethylene is a positive regulator of root hair development in *Arabidopsis thaliana*." *The Plant Journal*. (1995). 8, 943-948. doi: 10.1046/j.1365-313X.1995.8060943.x.
- Thibaud M.C., Arrighi, J.F., Bayle V., Chiarenza S., Creff A., Bustos R., Paz-Ares J., Poirier Y., Nussaume L. "Dissection of local and systemic transcriptional responses to phosphate starvation in *Arabidopsis*." *The Plant Journal*. (2010). 64, 775-789.
- Thole J. M., Nielsen E. "Phosphoinositides in plants: novel functions in membrane trafficking." *Current Opinion in Plant Biology*. (2008). 11, 620-631.

Ticconi C.A., Delatorre C. A., Lahner, B., Salt, D. E., Abel, S. “*Arabidopsis pdr2* reveals a phosphate-sensitive checkpoint in root development.” *The Plant Journal*. (2004). 37, 801-814.

Ticconi C.A., Lucero R.D., Sakhonwasee S., Adamson A.W., Creff A., Nussau-me L., Desnos T., Abel S. “ER-resident proteins PDR2 and LPR1 mediate the developmental response of root meristems to phosphate availability.”, *USA*. (2009). 106, 14174-14179.

Tominaga-Wada R., Wada T. “Regulation of root hair cell differentiation by R3 MYB transcription factors in tomato and *Arabidopsis*.” *Frontiers in Plant Sciences*. (2014). 5, 91.

Trehin C., Schrempp S., Chauvet A., Berne-Dedieu A., Thierry A.M., Faure J.E., *et al.* “QUIRKY interacts with STRUBBELIG and PAL OF QUIRKY to regulate cell growth anisotropy during *Arabidopsis* gynoecium development.” *Development*. (2013). 140, 4807–4817.doi:10.1242/dev.091868.

Tsakagoshi H., Busch W., Benfey P. N. “Transcriptional regulation of ROS controls transition from proliferation to differentiation in the root.” *Cell*. (2010). 143, 606-616.

Ulmasov T., Hagen G., Guilfoyle T.J. “ARF1, a transcription factor that binds to auxin response elements.” *Science*. (1997). 276, 1865–1868.doi: 10.1126/science.276.5320.1865.

Ulmasov T., Hagen G., Guilfoyle T.J. “Activation and repression of transcription by auxin-response factors.” *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (1999a). 96, 5844–5849.doi:10.1073/pnas.96.10.5844.

Ulmasov T., Hagen G., Guilfoyle T.J. “Dimerization and DNA binding of auxin response factors.” *The Plant Journal*. (1999b). 19, 309–319.doi:10.1046/j.1365-313X.1999.00538.x.

Ulmasov T., Liu Z.B., Hagen G., Guilfoyle T.J. “Composite structure of auxin response elements.” *The Plant Cell*. (1995). 7, 1611–1623.doi:10.2307/3870023.

Van Sandt V.S.T., Suslov D., Verbelen J.P., Vissenberg K. “Xyloglucan endo-transglucosylase activity loosens a plant cell wall.” *Annals of Botany*. (2007). 100, 1467–1473.doi:10.1093/aob/mcm248.

- Vanstraelen M., Benková E. “Hormonal interactions in the regulation of plant development.” *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. (2012). 28, 463-487.
- Verbelen J.P., De Cnodder T., Le J., Vissenberg K., Baluška F. “The root apex of *Arabidopsis thaliana* consists of four distinct zones of growth activities: meristematic zone, transition zone, fast elongation zone and growth terminating zone.” *Plant Signal Behavior*. (2006). 1, 296-304. doi:10.4161/psb.1.6.3511.
- Vicente-Agullo F., Rigas S., Desbrosses G., Dolan L., Hatzopoulos P., Grabov A. “Potassium carrier TRH1 is required for auxin transport in *Arabidopsis* roots.” *The Plant Journal*. (2004). 40, 523-535.
- Wada T., Kurata T., Tominaga R., Koshino-Kimura Y., Tachibana T., Goto K., *et al.* “Role of a positive regulator of root hair development, CAPRICE, in *Arabidopsis* root epidermal cell differentiation.” *Development*. (2002). 129, 5409-5419. doi: 10.1242/dev.00111.
- Wada Y., Kusano H., Tsuge T., Aoyama T. “Phosphatidylinositol phosphate 5-kinase genes respond to phosphate deficiency for root hair elongation in *Arabidopsis thaliana*.” *Plant Journal* (2015). 81, 426-437.
- Wada T., Tachibana T., Shimura Y., Okada K. “Epidermal cell differentiation in *Arabidopsis* determined by a MYB homolog, CPC.” *Science*. (1997). 277, 1113-1116. doi:10.1126/science.277.5329.1113.
- Walker A.R., Davison P.A., Bolognesi-Winfield A.C., James C.M., Srinivasan N., Blundell T.L., *et al.* “The *TRANSPARENT TESTA GLABRA1* locus, which regulates trichome differentiation and anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis*, encodes a WD40 repeat protein.” *The Plant Cell*. (1999). 11, 1337-1349. doi:10.1105/tpc.11.7.1337.
- Ward J.T., Lahner B., Yakubova E., Salt D.E., Raghothama K.G. “The effect of iron on the primary root elongation of *Arabidopsis* during phosphate deficiency.” *Plant Physiology*. (2008). 147, 1181-1191.
- Wen R., Newton L., Li G., Wang H., Xiao W. “*Arabidopsis thaliana* UBC13: implication of error-free DNA damage tolerance and Lys63-linked polyubiquitylation in plants.” *Plant Molecular Biology*. (2006). 61, 241-253.
- Wen R., Wang S., Xiang D., Venglat P., Shi X., Zang Y., Datla R., Xiao W., Wang H. “UBC13, an E2 enzyme for Lys63-linked ubiquitination, functions in root

development by affecting auxin signaling and Aux/IAA protein stability." *The Plant Journal*. (2014). 80, 424-436.

Wilson A.K., Pickett F.B., Turner J.C., Estelle M. "A dominant mutation in *Arabidopsis* confers resistance to auxin, ethylene and abscisic acid." *Molecular and General Genetics*. (1990). 222, 377-383.doi:10.1007/BF00633843.

Wilson M.H., Holman T.J., Sørensen I., Cancho-Sanchez E., Wells D.M., Swarup R., *et al.* "Multi-omics analysis identifies genes mediating the extension of cell walls in the *Arabidopsis thaliana* root elongation zone." *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. (2015). 3:10. doi:10.3389/fcell.2015.00010.

Xu C.R., Liu C., Wang Y.L., Li L.C., Chen W.Q., Xu Z.H., Bai S.N. "Histone acetylation affects expression of cellular patterning genes in the *Arabidopsis* root epidermis." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2005). 102, 14469-14474.

Xue H.W., Chen X., Mei Y. "Function and regulation of phospholipid signalling in plants." *The Biochemical Journal*. (2009). 421, 145-156.

Yang T.J.W., Perry P.J., Ciani S., Pandian S., Schmidt W. "Manganese deficiency alters the patterning and development of root hairs in *Arabidopsis*." *Journal of Experimental Botany*. (2008). 59, 3453-3464.

Yang C.J., Zhang C., Lu Y.N., Jin J.Q., Wang X.L. "The mechanisms of brassinosteroids action: from signal transduction to plant development." *Molecular Plant*. (2011). 4, 588-600.doi:10.1093/mp/ssr020.

Yao H., Wang G., Guo L., Wang X. "Phosphatidic acid interacts with a MYB transcription factor and regulates its nuclear localization and function in *Arabidopsis*." *The Plant Cell*. (2013). 25, 5030-5042.

Yi K., Wu Z., Zhou J., Du L., Guo L., Wu Y., Wu P. "OsPTF1, a novel transcription factor involved in tolerance to phosphate starvation in rice." *Plant Physiology*. (2005). 138, 2087-2096.

Yi K., Menand B., Bell E., Dolan L. "A basic helix-loop-helix transcription factor controls cell growth and size in root hairs." *Nature Genetics*. (2010). 42, 264-269.doi:10.1038/ng.529.

Yin X.J., Volk S., Ljung K., Mehlmer N., Dolezal K., Ditengou F., Hanano S., Davis S.J., Schmelzer E., Sandberg G. *et al.* "Ubiquitin lysine 63 chain forming ligases regulate apical dominance in *Arabidopsis*." *The Plant Cell*. (2007). 19, 1898-1911.

Yu C., Sun C., Shen C., Wang S., Liu F., Liu Y., Chen Y., Li C., Qian Q., Aryal B., *et al.* "The auxin transporter, OsAUX1, is involved in primary root and root hair elongation and in Cd stress responses in rice (*Oryza sativa* L.)" *The Plant Journal*. (2015). 83, 818-830.

Zhang F., Gonzalez A., Zhao M., Payne C.T., Lloyd A. "A network of redundant bHLH proteins functions in all TTG1 dependent pathways of *Arabidopsis*." *Development*. (2003). 130, 4859–4869.doi:10.1242/dev.00681.

- **Crecimiento polar del pelo radicular**

Altartouri B., Geitmann A. "Understanding plant cell morphogenesis requires real-time monitoring of cell wall polymers." *Current Opinion in Plant Biology*. (2015). 23: 76-82.

An B., Li B., Li H., Zhang Z., Qin G., Tian S. "Aquaporin8 regulates cellular development and reactive oxygen species production, a critical component of virulence in *Botrytis cinerea*." *New Phytologist*. (2015). 209:1668-1680.

Andème-Onzighi C., Sivaguru M., Judy-March J., Baskin T.I., Driouich A. "The reb1-1 mutation of *Arabidopsis* alters the morphology of trichoblasts, the expression of arabinogalactan-proteins and the organization of cortical microtubules." *Plant Physiology*. (2002). 215, 949–958.doi:10.1007/s00425-002-0836-z.

Anthony R.G., Henriques R., Helfer A., Mészáros T., Rios G., Testerink C., Munik T., Deák M., Koncz C., Bögre L. "A protein kinase target of a PDK1 signalling pathway is involved in root hair growth in *Arabidopsis*." *The EMBO Journal*. (2004). 23: 572-581

Bai L., Ma X., Zhang G., Song S., Zhou Y., Gao L., Miao Y., Song C.P. "A Receptor-Like Kinase mediates ammonium homeostasis and is important for the polar growth of root hairs in *Arabidopsis*." *The Plant Cell*. (2014). 26(4): 1497-1511.

Baluška F., Salaj J., Mathur J., Braun M., Jasper F., Šamaj J., *et al.* "Root hair formation: F-actin-dependent tip growth is initiated by local assembly of profilin-supported F-actin mesh works accumulated within expansin-en-

riched bulges." *Developmental Biology*. (2000). 227,618–632.doi:10.1006/dbio.2000.9908.

Baskin T.I., Betzner A.S., Hoggart R., Cork A., Williamson R.E. "Root morphology mutants in *Arabidopsis thaliana*." *Australian Journal of Plant Physiology*. (1992). 19, 427–437.doi:10.1071/PP9920427.

Beck M., Komis G., Müller J., Menzel D., Šamaj J. "Arabidopsis homologs of nucleus-and phragmoplast-localized kinase 2 and 3 and mitogen-activated protein kinase 4 are essential for microtubule organization." *The Plant Cell*. (2010). 22: 755-771.

Bernhardt C., Tierney M.L. "Expression of AtPRP3, a proline-rich structural cell wall protein from *Arabidopsis*, is regulated by cell-type-specific developmental pathways involved in root hair formation." *Plant Physiology*. (2000). 122: 705-714.

Bibikova T.N., Jacob T., Dahse I., Gilroy S. "Localized changes in apoplastic and cytoplasmic pH are associated with root hair development in *Arabidopsis thaliana*." *Development*. (1998). 125: 2925-2934.

Boisson-Dernier A., Franck C.M., Lituiev D.S., Grossniklaus U. "Receptor-like cytoplasmic kinase MARIS functions downstream of CrRLK1L-dependent signaling during tip growth." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2015). 112: 12211-12216.

Boisson-Dernier A., Lituiev D.S., Nestorova A., Franck C.M., Thirugnanarajah S., Grossniklaus U. "ANXUR receptor-like kinases coordinate cell wall integrity with growth at the pollen tube tip via NADPH oxidases." *PLoS Biology*. (2013). 11: e1001719.

Bosch M., Hepler P.K. "Pectin methylesterases and pectin dynamics in pollen tubes." *The Plant Cell*. (2005). 17: 3219-26.

Boss, W.F., Im Y.J. "Phosphoinositide signaling." *Annual Review of Plant Biology*. (2012). 63, 409–429. doi:10.1146/annurev-arplant-042110-103840.

Bourdais G., Burdiak P., Gauthier A., Nitsch L., Salojärvi J., Rayapuram C., *et al.* "Large-scale phenomics identifies primary and fine-tuning roles for CRKs in

- responses related to oxidative stress.” *PLoS Genetics*. (2015). 11(7): e1005373. doi:10.1371/journal.pgen.1005373.
- Boutté Y., Jonsson K., McFarlane H.E., Johnson E., Gendre D., Swarup R., *et al.* “ECHIDNA-mediated post-golgi trafficking of auxin carriers for differential cell elongation.” *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2013). 110, 16259–16264. doi: 10.1073/pnas.1309057110.
- Braidwood L., Breuer C., Sugimoto K. “My body is a cage: mechanisms and modulation of plant cell growth.” *New Phytologist*. (2014). 201: 388-402.
- Cannon M.C., Terneus K., Hall Q., Tan L., Wang Y., Wegenhart B.L., Chen L., Lamport D.T., Chen Y., Kieliszewski M.J. “Self-assembly of the plant cell wall requires an extensin scaffold.” *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2008). 105: 2226-2231.
- Carol R.J., Dolan L. "Building a hair: tip growth in *Arabidopsis thaliana* root hairs." *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*. (2002). 357:815–821. doi: 10.1098/rstb.2002.1092.
- Carol R.J., Takeda S., Linstead P., Durrant M.C., Kakesova H., Derbyshire P., *et al.* “A Rho GDP dissociation inhibitor spatially regulates growth in root hair cells.” *Nature*. (2005). 438, 1013–1016. doi:10.1038/nature04198.
- Chang F., Yan A., Zhao L.N., Wu W.H., Yang Z. “A putative calcium-permeable cyclic nucleotide-gated channel, CNGC18, regulates polarized pollen tube growth.” *Journal of Integrative Plant Biology*. (2007). 49: 1261-1270.
- Chen Z. “A superfamily of proteins with novel cysteine-rich repeats.” *Plant Physiology*. (2001). 126: 473-476.
- Chen J., Yang Z. “Novel ABP1-TMK auxin sensing system controls ROP GTPase-mediated interdigitated cell expansion in *Arabidopsis*.” *Small GTPases*. (2014). 5, e28711. doi:10.4161/sgtp.29711.
- Cho H.T., Cosgrove D.J. “Regulation of root hair initiation and expansion in gene expression in *Arabidopsis*.” *The Plant Cell*. (2002). 14, 3237–3253. doi: 10.1105/tpc.006437.
- Christopher DA, Borsics T, Yuen CY, Ullmer W, Andème-Ondzighi C, Andres MA, Kang B-H, Staehelin LA. “The cyclic nucleotide gated cation channel

AtCNGC10 traffics from the ER via Golgi vesicles to the plasma membrane of *Arabidopsis* root and leaf cells." *BMC Plant Biology*. (2007). 7: 48.

Ciamporová M., Dekánková K., Hanacková Z., Peters P., Ovecka M., Baluška F. "Structural aspects of bulge formation during root hair initiation." *Plant Soil*. (2003). 255, 1–7. doi:10.1023/A:1026151000063.

Cona A., Rea G., Angelini R., Federico R., Tavladoraki P. "Functions of amine oxidases in plant development and defence." *Trends in Plant Sciences*. (2006). 11: 80-88.

Corona-Carrillo J.I., Flores-Ponce M., ChávezNájera G., Díaz-Pontones D.M. "Peroxidase activity in scutella of maize in association with anatomical changes during germination and grain storage." *SpringerPlus*. (2014). 3:399. doi:10.1186/ 219318013399.

Cosgrove, D.J. "Loosening of plant cell walls by expansins." *Nature*. (2000). 407, 321–326. doi:10.1038/35030000.

Dadacz-Narloch B., Kimura S., Kurusu T., Farmer E.E., Becker D., Kuchitsu K., Hedrich R. "On the cellular site of two-pore channel TPC1 action in the Poaceae." *New Phytologist*. (2013). 200: 663-674.

Dardelle F., Lehner A., Ramdani Y., Bardor M., Lerouge P., Driouich A., Mollet J.C. "Biochemical and immunocytological characterizations of *Arabidopsis* pollen tube cell wall." *Plant Physiology*. (2010). 153: 1563-1576.

Datta S., Prescott H., Dolan L. "Intensity of a pulse of RSL4 transcription factor synthesis determines *Arabidopsis* root hair cell size." *Nature Plants*. (2015). 1: 15138.

Domingos P., Prado A.M., Wong A., Gehring C., Feijo J.A. "Nitric oxide: a multitasked signaling gas in plants." *Molecular Plant*. (2015). 8: 506-520.

Duan Q., Kita D., Johnson E.A., Aggarwal M., Gates L., Wu H.M., Cheung A.Y. "Reactive oxygen species mediate pollen tube rupture to release sperm for fertilization in *Arabidopsis*." *Nature Communications*. (2014). 5: 3129. doi:10.1038/ncomms4129.

Duan Q., Kita D., Li C., Cheung A.Y., Wu H.M. "FERONIA receptor-like kinase regulates RHO GTPase signaling of root hair development." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2010). 107: 17821-17826.

- Dubiella U., Seybold H., Durian G., Komander E., Lassig R., Witte C.P., Schulze W.X., Romeis T. "Calcium-dependent protein kinase/NADPH oxidase activation circuit is required for rapid defense signal propagation." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2013). 110: 8744-8749.
- Dunand C., Grèvecoeur M., Penel C. "Distribution of superoxide and hydrogen peroxide in *Arabidopsis* root and their influence on root development: possible interaction with peroxidases." *New Phytologist*. (2007). 174: 332-341.
- Dynowski M., Schaaf G., Loque D., Moran O., Ludewig U. "Plant plasma membrane water channels conduct the signaling molecule H₂O₂." *The Biochemical Journal*. (2008). 414: 53-61.
- Etienne-Manneville S., Hall A. "Rho GTPases in cell biology." *Nature*. (2002). 420, 629-635. doi:10.1038/nature01148.
- Fagard M., Desnos T., Desprez T., Goubet F., Refrégier G., Mouille G., *et al.* "*PROCUSTE1* encodes a cellulose synthase required for normal cell elongation specifically in roots and dark-grown hypocotyls of *Arabidopsis*." *The Plant Cell*. (2000). 12, 2409-2424. doi:10.2307/3871238.
- Falhof J., Pedersen J.T., Fuglsang A.T., Palmgren M. "Plasma membrane H⁺-ATPase regulation in the center of plant physiology." *Molecular Plant*. (2015). 9:323-337.
- Fan X., Hou J., Chen X., Chaudhry F., Staiger C.J., Ren H. "Identification and characterization of a Ca²⁺-dependent actin filament severing protein from lily pollen." *Plant Physiology*. (2004). 136: 3979-3989.
- Favery B., Ryan E., Foreman J., Linstead P., Boudonck K., Steer M., Shaw P., Dolan L. "KOJAK encodes a cellulose synthase-like protein required for root hair cell morphogenesis in *Arabidopsis*." *Genes and Development*. (2001). 15: 79-89.
- Fischer U., Ikeda Y., Ljung K., Serralbo O., Singh M., Heidstra R., *et al.* "Vectorial information for *Arabidopsis* planar polarity is mediated by combined *AUX1*, *EIN2* and *GNOM* activity." *Current Biology*. (2006). 16, 2143-2149. doi: 10.1016/j.cub.2006.08.091.
- Foreman, J., Demidchik V., Bothwell J.H., Mylona P., Miedema H., Torres M.A., *et al.* "Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth." *Nature*. (2003). 422, 442-446. doi:10.1038/nature01485

Foyer C.H., Noctor G. "Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria." *Physiologia Plantarum*. (2003). 119: 355-364.

Francoz E., Ranocha P., Nguyen-Kim H., Jamet E., Burlat V., Dunand C. "Roles of cell wall peroxidases in plant development." *Phytochemistry*. (2015). 112: 15-21.

Frietsch S., Wang Y.F., Sladek C., Poulsen L.R., Romanowsky S.M., Schroeder J.I., Harper J.F. "A cyclic nucleotide-gated channel is essential for polarized tip growth of pollen." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2007). 104: 14531-14536.

Fry S.C. "Oxidative scission of plant cell wall polysaccharides by ascorbate-induced hydroxyl radicals." *The Biochemical Journal*. (1998). 332 (Pt 2): 507-515.

Fuglsang A.T., Kristensen A., Cuin T.A., Schulze W.X., Persson J., Thuesen K.H., Ytting C.K., Oehlenschläger C.B., Mahmood K., Sondergaard T.E., *et al.* "Receptor kinase-mediated control of primary active proton pumping at the plasma membrane." *The Plant Journal*. (2014). 80: 951-964.

Furuichi T., Iida H., Sokabe M., Tatsumi H. "Expression of *Arabidopsis* MCA1 enhanced mechano sensitive channel activity in the *Xenopus laevis* oocyte plasma membrane." *Plant Signaling and Behavior*. (2012). 7: 1022-1026. doi:10.4161/psb.20783.

Galway M.E., Eng R.C., Schiefelbein J.W., Wasteneys G.O. "Root hair-specific disruption of cellulose and xyloglucan in AtCGLD3 mutants, and factors affecting the post-rupture resumption of mutant root hair growth." *Planta*. (2011). 233: 985-999.

Gao Q.F., Fei C.F., Dong J.Y., Gu L.L., Wang Y.F. "*Arabidopsis* CNGC18 Is a Ca²⁺-Permeable Channel." *Molecular Plant*. (2013). 7: 739-744.

Gao Q-F, Gu L-L, Wang H-Q, Fei C-F, Fang X, Hussain J, Suna S-J, Dong J-Y, Liu H, Wang Y-F. "Cyclic nucleotide-gated channel 18 is an essential Ca²⁺ channel in pollen tube tips for pollen tube guidance to ovules in *Arabidopsis*." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2016). 113:3096-3101.

- Garcia-Mata C., Wang J., Gajdanowicz P., Gonzalez W., Hills A., Donald N., Riedelsberger J., Amtmann A., Dreyer I., Blatt M.R. "A minimal cysteine motif required to activate the SKOR K⁺ channel of *Arabidopsis* by the reactive oxygen species H₂O₂". *Journal of Biological Chemistry*. (2010). 285: 29286-29294.
- Gendre D., McFarlane H.E., Johnson E., Mouille G., Sjödin A., Oh J., *et al.* "Trans-Golgi network localized ECHIDNA/Ypt interacting protein complex is required for the secretion of cell wall polysaccharides in *Arabidopsis*." *The Plant Cell*. (2013). 25, 2633–2646.doi:10.1105/tpc.113.112482.
- Gendre D., Oh J., Boutté Y., Best J.G., Samuels L., Nilsson, R., *et al.* "Conserved *Arabidopsis* ECHIDNA protein mediates *trans-Golgi*- network trafficking and cell elongation." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2011). 108, 8048–8053.doi:10.1073/pnas.1018371108.
- Gilroy S, Suzuki N, Miller G, Choi W-G, Toyota M, Devireddy AR, Mittler R. "A tidal wave of signals: calcium and ROS at the forefront of rapid systemic signaling." *Trends in Plant Sciences*. (2014) 19: 623-630.
- Gjetting SK, Ytting CK, Schulz A, Fuglsang AT. "Live imaging of intra- and extracellular pH in plants using pHusion, a novel genetically encoded biosensor." *Journal of Experimental Botany*. (2012) 63: 3207-3218
- Grebe M., Friml J., Swarup R., Ljung K., Sandberg G., Terlou M., *et al.* "Cell polarity signaling in *Arabidopsis* involves a BFA-sensitive auxin influx pathway." *Current Biology*. (2002). 12, 329–334.doi:10.1016/S0960-9822(02)00654-1.
- Gu F., Nielsen E. "Targeting and regulation of cell wall synthesis during tip growth in plants." *Journal of Integrative Plant Biology*. (2013). 55: 835-846.
- Gu Y., Vernoud V., Fu Y., Yang Z. "ROP GTPase regulation of pollen tube growth through the dynamics of tip-localized F-actin." *Journal of Experimental Botany*. (2003). 54: 93-101.
- Gu Y., Fu Y., Dowd P., Li S., Vernoud V., Gilroy S., Yang Z. "A Rho family GTPase controls actin dynamics and tip growth via two counteracting downstream pathways in pollen tubes." *The Journal of Cell Biology*. (2005). 169:1 27-38.
- Guo KM, Babourina O, Christopher DA, Borsics T, Rengel Z. "The cyclic nucleotide-gated channel, AtCNGC10, influences salt tolerance in *Arabidopsis*." *Physiologia Plantarum*. (2008). 134: 499-507

Guo K., Koi W.W., Yang Z.M. "Carbon monoxide promotes root hair development in tomato." *Plant Cell and Environment*. (2009). 32, 1033-1045.

Gutscher M, Sobotta MC, Wabnitz GH, Ballikaya S, Meyer AJ, Samstag Y, Dick TP. "Proximity-based protein thiol oxidation by H₂O₂-scavenging peroxidases." *The Journal of Biological Chemistry*. (2009). 284: 31532-31540.

Hamilton E., Jensen G.S., Makshev G., Katims A., Shero A.M., Haswell E.S. "Mechanosensitive channel MSL8 regulates osmotic forces during pollen hydration and germination." *Science*. (2015). 350: 438-441.

Haruta M., Gray W.M., Sussman M.R. "Regulation of the plasma membrane proton pump (H⁺-ATPase) by phosphorylation." *Current Opinion in Plant Biology*. (2015). 28: 68-75.

Haruta M., Sabat G., Stecker K., Minkoff B.B., Sussman M.R. "A peptide hormone and its receptor protein kinase regulate plant cell expansion." *Science*. (2014). 343: 408-411.

Hashimoto K., Saito M., Matsuoka H., Lida K., Lida H. "Functional analysis of a rice putative voltage-dependent Ca²⁺ channel, OsTPC1, expressed in yeast cells lacking its homologous gene GCH1." *Plant and Cell Physiology*. (2004). 45, 496-500.

Hedrich R., Marten I. "TPC1-SV channels gain shape." *Molecular Plant*. (2011). 4: 428-441.

Herrero J., Fernández-Pérez F., Yebra T., Novo-Uzal E., Pomar F., Pedreño M.Á., Cuello J., Guéra A., Esteban-Carrasco A., Zapata J.M. "Bioinformatic and functional characterization of the basic peroxidase 72 from *Arabidopsis thaliana* involved in lignin biosynthesis." *Planta*. (2013). 237: 1599-1612.

Hooijmaijers C., Rhee J.Y., Kwak K.J., Chung G.C., Horie T., Katsuhara M., Kang H. "Hydrogen peroxide permeability of plasma membrane aquaporins of *Arabidopsis thaliana*." *Journal of Plant Research*. (2012). 125: 147-153.

Hou C., Tian W., Kleist T., He K., Garcia V., Bai F., Hao Y., Luan S., Li L. "DUF221 proteins are a family of osmosensitive calcium permeable cation channels conserved across eukaryotes." *Cell Research*. (2014). 24: 632-635.

- Huang S., Qu X., Zhang R. "Plant villins: Versatile actin regulatory proteins." *Journal of Integrative Plant Biology*. (2015). 57: 40-49.
- Huh S.M., Noh E.K., Kim H.G., Jeon B.W., Bae K., Hu H.C., Kwak J.M., Park O.K. "Arabidopsis annexins AnnAt1 and AnnAt4 interact with each other and regulate drought and salt stress responses." *Plant and Cell Physiology*. (2010) 51: 1499-1514
- Ikeda Y., Men S., Fischer U., Stepanova A.N., Alonso J.M., Ljung K., *et al.* "Local auxin biosynthesis modulates gradient-directed planar polarity in *Arabidopsis*." *Nature Cell Biology*. (2009). 11, 731–738.doi:10.1038/ncb1879.
- Iwano M., Igarashi M., Tarutani Y., Kaothien-Nakayama P., Nakayama H., Moriyama H., Yakabe R., Entani T., Shimosato-Asano H., Ueki M., Tamiya G., Takayama M. "A pollen coat-inducible autoinhibited Ca²⁺-ATPase expressed in stigmatic papilla cells is required for compatible pollination in the Brassicaceae." *The Plant Cell*. (2014). 26: 636-649.
- Jang G, Dolan L. "Auxin promotes the transition from chloronema to caulonema in moss protonema by positively regulating PpRSL1 and PpRSL2 in *Physcomitrella patens*." *New Phytologist*. (2011) 192: 319-327.
- Jin J., Hewezi T., Baum T.J. "Arabidopsis peroxidase AtPRX53 influences cell elongation and susceptibility to *Heterodera schachtii*." *Plant Signaling and Behavior*. (2011). 6: 1778-1786.
- Jones A.R., Kramer E.M., Knox K., Swarup R., Bennett M.J., Lazarus C.M., *et al.* "Auxin transport through non-hair cells sustains root-hair development." *Nature Cell Biology*. (2009). 11, 78–84.doi:10.1038/ncb1815
- Jones M.A., Raymond M.J., Yang Z., Smirnov N. "NADPH oxidase- dependent reactive oxygen species formation required for root hair growth depends on ROP GTPase." *Journal of Experimental Botany*. (2007). 58, 1261–1270. doi:10.1093/jxb/erl279.
- Jones M.A., Shen J.J., Fu Y., Li L., Yang Z., Grierson C.S. "The *Arabidopsis* Rop2 GTPase is a positive regulator of both root-hair initiation and tip growth." *The Plant Cell*. (2002). 14, 763–776.doi:10.1105/tpc.010359.

Kärkönen A, Kuchitsu K. "Reactive oxygen species in cell wall metabolism and development in plants." *Phytochemistry*. (2015). 112:22-32

Kaya H., Nakajima R., Iwano M., Kanaoka M.M., Kimura S., Takeda S., Kawarazaki T., Senzaki E., Hamamura Y., Higashiyama T. "Ca²⁺-activated reactive oxygen species production by *Arabidopsis* RbohH and RbohJ is essential for proper pollen tube tip growth." *The Plant Cell*. (2014). 26: 1069-1080.

Kiefer C.S., Claes A.R., Nzayisenga J.C., Pietra S., Stanislas T., Hüser A., *et al.* "Arabidopsis AIP1-2 restricted by WER-mediated patterning modulates planar polarity." *Development*. (2014). 142, 151-161. doi:10.1242/dev.111013.

Kimura S., Kaya H., Kawarazaki T., Hiraoka G., Senzaki E., Michikawa M., Kuchitsu K. "Protein phosphorylation is a prerequisite for the Ca²⁺-dependent activation of *Arabidopsis* NADPH oxidases and may function as a trigger for the positive feedback regulation of Ca²⁺ and reactive oxygen species." *Biochimica et Biophysica Acta-Molecular Cell Research*. (2012). 1823: 398-405.

Kobayashi M., Ohura I., Kawakita K., Yokota N., Fujiwara M., Shimamoto K., Doke N., Yoshioka H. "Calcium-dependent protein kinases regulate the production of reactive oxygen species by potato NADPH oxidase." *The Plant Cell*. (2007). 19: 1065-1080.

Konopka-Postupolska D., Clark G., Goch G., Debski J., Floras K., Cantero A., Fijolek B., Roux S., Hennig J. "The role of annexin 1 in drought stress in *Arabidopsis*." *Plant Physiology*. (2009). 150: 1394-1410.

Konrad KR, Wudick MM, Feijó JA. "Calcium regulation of tip growth: new genes for old mechanisms." *Current Opinion in Plant Biology*. (2011) 14:721-730.

Kost B. "Spatial control of Rho (Rac-Rop) signaling in tip-growing plant cells." *Trends in Cell Biology*. (2008). 18, 119-127. doi:10.1016/j.tcb.2008.01.003.

Krishnamoorthy P., Sanchez-Rodriguez C., Heilmann I., Persson S. "Regulatory roles of phosphoinositides in membrane trafficking and their potential impact on cell-wall synthesis and remodelling." *Annals of Botany*. (2014). 114, 1049- 1057. doi:10.1093/aob/mcu055 .

Kunieda T., Shimada T., Kondo M., Nishimura M., Nishitani K., Hara-Nishimura I. "Spatiotemporal secretion of PEROXIDASE36 is required for seed coat mucilage extrusion in *Arabidopsis*." *The Plant Cell*. (2013). 25: 1355-1367.

- Kusano, H., Testerink C., Vermeer J.E., Tsuge T., Shimada H., Oka A., *et al.* "The *Arabidopsis* phosphatidylinositol phosphate 5-kinase PIP5K3 is a key regulator of root hair tip growth." *The Plant Cell*. (2008). 20, 367–380. doi: 10.1105/tpc.107.056119.
- Kurusu T, Kuchitsu K, Nakano M, Nakayama Y, Iida H. "Plant mechanosensing and Ca²⁺ transport." *Trends in Plant Sciences*. (2013). 18: 227-233. doi: 10.1016/j.tplants.2012.12.002.
- Kurusu T., Nishikawa D., Yamazaki Y., Gotoh M., Nakano M., Hamada H., Yamanaka T., Iida K., Nakagawa Y., Saji H. "Plasma membrane protein OsmCA1 is involved in regulation of hypo-osmotic shock-induced Ca²⁺ influx and modulates generation of reactive oxygen species in cultured rice cells." *BMC Plant Biology*. (2012). 12: 11 doi.org/10.1186/1471-2229-12-11.
- Kwasniewski M., Daszkowska-Golec A., Janiak A., Chwialkowska K., Nowakowska U., Sablok G., Szarejko I. "Transcriptome analysis reveals the role of the root hairs as environmental sensors to maintain plant functions under water-deficiency conditions." *Journal of Experimental Botany*. (2015). 67: 1079-94.
- Kwasniewski M., Szarejko I. "Molecular cloning and characterization of expansin gene related to root hair formation in barley." *Plant Physiology*. (2006). 141, 1149–1158. doi:10.1104/pp.106.078626.
- Kwon T., Sparks J.A., Nakashima J., Allen S.N., Tang Y., Blancaflor E.B. "Transcriptional response of *Arabidopsis* seedlings during spaceflight reveals peroxidase and cell wall remodeling genes associated with root hair development." *American Journal of Botany*. (2015). 102: 21-35. doi:10.3732/ajb.1400458.
- Lampart D.T., Várnai P. "Periplasmic arabinogalactan glycoproteins act as a calcium capacitor that regulates plant growth and development." *New Phytologist*. (2013). 197: 58-64.
- Laohavisit A., Shang Z., Rubio L., Cuin T.A., Véry A.A., Wang A., Mortimer J.C., Macpherson N., Coxon K.M., Battey N.H. "*Arabidopsis* annexin1 mediates the radical-activated plasma membrane Ca²⁺- and K⁺-permeable conductance in root cells." *The Plant Cell*. (2012). 24: 1522-1533.

Lässig R., Gutermuth T., Bey T.D., Konrad K.R., Romeis T. "Pollen tube NAD(P) H oxidases act as a speed control to dampen growth rate oscillations during polarized cell growth." *The Plant Journal*. (2014). 78: 94-106.

Lee R.D.W, Cho H.T. "Auxin, the organizer of the hormonal/environmental signals for root hair growth." *Frontiers in Plant Sciences*. (2013). 4: 448. doi: 10.3389/fpls.2013.00448.

Lee Y., Rubio M.C., Alassimone J., Geldner N. "A mechanism for localized lignin deposition in the endodermis." *Cell*. (2013). 153: 402-412.

Li X, Borsics T, Harrington HM, Christopher DA. "*Arabidopsis* AtCNGC10 rescues potassium channel mutants of *E. coli*, yeast and *Arabidopsis* and is regulated by calcium/calmodulin and cyclic GMP in *E. coli*." *Functional Plant Biology*. (2005). 32: 643-653.

Lin C.Y., Huang L.Y., Chi W.C., Huang T.L., Kakimoto T., Tsai C.R., Huang H.J. "Pathways involved in vanadate-induced root hair formation in *Arabidopsis*." *Physiologia Plantarum*. (2015). 153: 137-148.

Lin W.D., Liao Y.Y., Yang T.J., Pan C.Y., Buckhout T.J., Schmidt W. "Coexpression-based clustering of *Arabidopsis* root genes predicts functional modules in early phosphate deficiency signaling." *Plant Physiology*. (2011). 155: 1383-1402.

Löfke C., Scheuring D., Dünser K., Schöller M., Luschning C., Kleine-Vehn J. "Tricho- and atrichoblast cell files show distinct PIN2 auxin efflux carrier exploitations and are jointly required for defined auxin-dependent root organ growth." *Journal of Experimental Botany*. (2015). 66, 5103-5112. doi:10.1093/jxb/erv282.

Lombardo M.C., Lamattina L. "Nitric oxide is essential for vesicle formation and trafficking in *Arabidopsis* root hair growth." *Journal of Experimental Botany*. (2012). 63: 4875-4885.

López-Bucio J., Dubrovsky J., Raya-González J., Ugartechea-Chirino Y., López-Bucio J., de Luna-Valdez L., Ramos-Vega M., León P., Guevara-García A. "*Arabidopsis thaliana* mitogen-activated protein kinase 6 is involved in seed formation and modulation of primary and lateral root development." *Journal of Experimental Botany*. (2013). 65:169-183.

- Macpherson N., Takeda S., Shang Z., Dark A., Mortimer J.C., Brownlee C., Dolan L., Davies J.M. "NADPH oxidase involvement in cellular integrity." *Planta*. (2008). 227: 1415-1418.
- Manzano C., Pallero M., Casimiro I., De Rybel B., Orman-Ligeza B., Van Isterdael G., Beeckman T., Draye X., Casero P., del Pozo J.C. "The emerging role of reactive oxygen species signalling during lateral root development." *Plant Physiology*. (2014). 165: 1105-1119.
- Martin-Rejano E.M., Camacho-Cristobal J.J., Herrera-Rodriguez M.B., Rexach J., Navarro-Gochicoa M.T., Gonzalez-Fontes A. "Auxin and ethylene are involved in the responses of root system architecture to low boron supply in *Arabidopsis* seedlings." *Physiologia Plantarum*. (2011). 142: 170-178.
- Masucci J.D., Schiefelbein J.W. "The *rhd6* mutation of *Arabidopsis thaliana* alters root-hair initiation through an auxin and ethylene-associated process." *Plant Physiology*. (1994). 106, 1335-1346.
- Masucci J.D., Schiefelbein J.W. "Hormones act down stream of TTG and GL2 to promote root hair outgrowth during epidermis development in the *Arabidopsis* root." *The Plant Cell*. (1996). 8, 1505-1517. doi:10.1105/tpc.8.9.1505.
- Mendrinna A., Persson S. "Root hair growth: it's a one way street." *F1000Prime Reports*. (2015). 7:23. doi:10.12703/P7-23.
- Michard E., Alves F., Feijó J.A. "The role of ion fluxes in polarized cell growth and morphogenesis: the pollen tube as an experimental paradigm." *The International Journal of Developmental Biology*. (2009). 53: 1609.
- Michard E., Lima P.T., Borges F., Silva A.C., Portes M.T., Carvalho J.E., Gilliam M., Liu L.H., Obermeyer G., Feijó J.A. "Glutamate receptor-like genes form Ca²⁺ channels in pollen tubes and are regulated by pistil D-serine." *Science*. (2011). 332: 434-437.
- Molendijk A.J., Bischoff F., Rajendrakumar C.S.V., Friml J., Braun M., Gilroy S., *et al.* "*Arabidopsis thaliana* Rop GTPases are localized to tips of root hairs and control polar growth." *EMBO Journal*. (2001). 20, 2779-2788. doi: 10.1093/emboj/20.11.2779.
- Monshausen G., Bibikova T., Messerli M., Shi C., Gilroy S. "Oscillations in extracellular pH and reactive oxygen species modulate tip growth of *Arabidop-*

sis root hairs." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2007). 104: 20996-21001.

Monshausen G.B., Messerli M.A., Gilroy S. "Imaging of the Yellow Cameleon 3.6 indicator reveals that elevations in cytosolic Ca^{2+} follow oscillating increases in growth in root hairs of *Arabidopsis*." *Plant Physiology*. (2008). 147: 1690-1698.

Moon H., Lee B., Choi G., Shin D., Prasad D.T., Lee O., Kwak S.S., Kim D.H., Nam J., Bahk J. "NDP kinase 2 interacts with two oxidative stress-activated MAPKs to regulate cellular redox state and enhances multiple stress tolerance in transgenic plants." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2003). 100: 358-363.

Müller K., Carstens A.C., Linkies A., Torres M.A., Leubner-Metzger G. "The NADPH-oxidase AtrbohB plays a role in *Arabidopsis* seed after-ripening." *New Phytologist*. (2009). 184: 885-897.

Nakagawa Y., Katagiri T., Shinozaki K., Qi Z., Tatsumi H., Furuichi T., *et al.* "*Arabidopsis* plasma membrane protein crucial for Ca^{2+} influx and touch sensing in roots." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2007). 104, 3639-3644. doi: 10.1073/pnas.0607703104.

Nakagami H., Soukupová H., Schikora A., Zárský V., Hirt H. "A mitogen-activated protein kinase kinase mediates reactive oxygen species homeostasis in *Arabidopsis*." *Journal of Biological Chemistry*. (2006). 281: 38697-38704.

Nakano M., Iida K., Nyunoya H., Iida H. "Determination of structural regions important for Ca^{2+} uptake activity in *Arabidopsis* MCA1 and MCA2 expressed in yeast." *Plant and Cell Physiology*. (2011). 52: 1915-1930.

Nestler J., Liu S., Wen T.J., Paschold A., Marcon C., Tang H.M., Li D., Li L., Mealey R.B., Sakai H., Bruce W., Schnable P.S., Hochholdinger F. "*Roothairless5*, which functions in maize (*Zea mays* L.) root hair initiation and elongation encodes a monocot-specific NADPH oxidase." *The Plant Journal*. (2014). 79: 729-740.

Nibau C., Wu H.M., Cheung A.Y. "RAC/ROP GTPases: 'hubs' for signal integration and diversification in plants." *Trends in Plant Sciences*. (2006). 11, 309-315. doi: 10.1016/j.tplants.2006.04.003.

- Niedre M., Patterson M.S., Wilson B.C. "Direct near-infrared luminescence detection of singlet oxygen generated by photodynamic therapy in cells *in vitro* and tissues *in vivo*." *Photochemistry and Photobiology*. (2002). 75: 382-391.
- Nissen K.S., Willats W.G., Malinovsky F.G. "Understanding CrRLK1L Function: Cell Walls and Growth Control." *Trends in Plant Sciences*. (2016). 15: 310-316.
- Niu Y., Jin G.L., Chai R.S., Wang H., Zhang Y. "Responses of root hair development to elevated CO₂." *Plant Signaling and Behavior*. (2011). 6: 1414-1417.
- Niu Y., Chai R., Liu L., Jin G., Liu M., Tang C., Zhang Y. "Magnesium availability regulates the development of root hairs in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh". *Plant Cell and Environment*. (2014). 37: 2795-2813.
- Nühse T.S., Bottrill A.R., Jones A.M., Peck S.C. "Quantitative phosphoproteomic analysis of plasma membrane proteins reveals regulatory mechanisms of plant innate immune responses." *The Plant Journal*. (2007). 51: 931-940.
- Oda T., Hashimoto H., Kuwabara N., Akashi S., Hayashi K., Kojima C., Wong H.L., Kawasaki T., Shimamoto K., Sato M. "Structure of the N-terminal regulatory domain of a plant NADPH oxidase and its functional implications." *Journal of Biological Chemistry*. (2010). 285: 1435-1445.
- Oldroyd G.E. "Dissecting symbiosis: developments in Nod factor signal transduction." *Annals of Botany*. (2001). 87: 709-718.
- Oldroyd G.E., Dixon R. "Biotechnological solutions to the nitrogen problem." *Current Opinion in Biotechnology*. (2014). 26: 19-24.
- Oude Weernink P.A., Schmidt M., Jakobs K.H. "Regulation and cellular roles of phosphoinositide 5-kinases." *European Journal of Pharmacology*. (2004). 500, 87-99. doi: 10.1016/j.ejphar.2004.07.014.
- Overmyer K., Brosché M., Kangasjärvi J. "Reactive oxygen species and hormonal control of cell death." *Trends in Plant Sciences*. (2003). 8:335-342.
- Oyama T., Shimura Y., Okada K. "The *IRE* gene encodes a protein kinase homologue and modulates root hair growth in *Arabidopsis*." *The Plant Journal*. (2002). 30: 289-299.
- Palin R, Geitmann A. "The role of pectin in plant morphogenesis." *Biosystems*. (2012). 109: 397-402.

Palmgren M.G. "Plant plasma membrane H⁺-ATPases: powerhouses for nutrient uptake." *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. (2001). 52: 817-845.

Pang C.Y., Wang H., Pang Y., Xu C., Jiao Y., Qin Y.M., Western T.L., Yu S.X., Zhu Y. "Comparative proteomics indicates that biosynthesis of pectic precursors is important for cotton fiber and *Arabidopsis* root hair elongation." *Molecular and Cellular Proteomics*. (2010). 9: 2019-2033.

Park S., Szumlanski A.L., Gu F., Guo F., Nielsen E. "A role for CSLD3 during cell-wall synthesis in apical plasma membranes of tip-growing root-hair cells." *Nature Cell Biology*. (2011). 13: 973-980.

Passardi F., Penel C., Dunand C. "Performing the paradoxical: how plant peroxidases modify the cell wall." *Trends in Plant Sciences*. (2004). 9:534-540.

Passardi F., Tognolli M., De Meyer M., Penel C., Dunand C. "Two cell wall associated peroxidases from *Arabidopsis* influence root elongation." *Planta*. (2006). 223: 965-974.

Paulsen C.E., Carroll K.S. "Orchestrating redox signaling networks through regulatory cysteines witches." *American Chemical Society Chemical Biology*. (2010). 5:47-62.

Payne R.J.H., Grierson C.S. A theoretical model for ROP localisation by auxin in *Arabidopsis* root hair cells." *PLOS One*. (2009). 4:e8337. doi: 10.1371/journal.pone.0008337.

Pedreira J., Herrera M.T., Zarra I., Revilla G. "The overexpression of *AtPrx37*, an apoplastic peroxidase, reduces growth in *Arabidopsis*." *Physiologia Plantarum*. (2011). 141: 177-187.

Peña M.J., Kong Y., York W.S., O'Neill M.A. "A galacturonic acid-containing xyloglucan is involved in *Arabidopsis* root hair tip growth." *The Plant Cell*. (2012). 24: 4511-4524.

Pierson E.S., Miller D.D., Callaham D.A., Shipley A.M., Rivers B.A., Cresti M., Hepler P.K. "Pollen tube growth is coupled to the extracellular calcium ion flux and the intracellular calcium gradient: effect of BAPTA-type buffers and hypertonic media." *The Plant Cell*. (1994). 6:1815-1828.

- Pietra S., Gustavsson A., Kiefer C., Kalmbach L., Hörstedt P., Ikeda I., *et al.* "Arabidopsis SABRE and CLASP interact to stabilize cell division plane orientation and planar polarity." *Nature Communications*. (2013). 4, 2779. doi: 10.1038/ncomms3779.
- Plieth C., Vollbehr S. "Calcium promotes activity and confers heat stability on plant peroxidases." *Plant Signaling and Behavior*. (2012). 7: 650-660.
- Pina C., Pinto F., Feijó J.A., Becker J.D. "Gene family analysis of the Arabidopsis pollen transcriptome reveals biological implications for cell growth, division control, and gene expression regulation." *Plant Physiology*. (2005). 138: 744-756.
- Pires N.D., Yi K., Breuninger H., Catarino B., Menand B., Dolan L. "Recruitment and remodeling of an ancient gene regulatory network during land plant evolution." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2013). 110: 9571-9576.
- Proust H., Honkanen S., Jones V.A., Morieri G., Prescott H., Kelly S., Ishizaki K., Kohchi T., Dolan L. "RSL class I genes controlled the development of epidermal structures in the common ancestor of land plants." *Current Biology*. (2016). 26: 93-99.
- Qiu J.L., Zhou L., Yun B.W., Nielsen H.B., Fiil B.K., Petersen K., MacKinlay J., Loake G.J., Mundy J., Morris P.C. "Arabidopsis mitogen-activated protein kinase kinases MKK1 and MKK2 have overlapping functions in defense signaling mediated by MEKK1, MPK4, and MKS1." *Plant Physiology*. (2008). 148: 212-222.
- Rentel M.C., Lecourieux D., Ouaked F., Usher S.L., Petersen L., Okamoto H., Knight H., Peck S.C., Grierson C.S., Hirt H. "OXI1 kinase is necessary for oxidative burst-mediated signalling in Arabidopsis." *Nature*. (2004). 427: 858-861.
- Richards S.L., Laohavisit A., Mortimer J.C., Shabala L., Swarbreck S.M., Shabala S., Davies J.M. "Annexin 1 regulates the H₂O₂-induced calcium signature in Arabidopsis thaliana roots." *The Plant Journal*. (2014) 77: 136-145.
- Ringli C. "The hydroxyproline-rich glycoprotein domain of the Arabidopsis LRX1 requires Tyr for function but not for insolubilization in the cell wall." *The Plant Journal*. (2010). 63: 662-669.

- Röckel N., Wolf S., Kost B., Rausch T., Greiner S. "Elaborate spatial patterning of cell-wall PME and PME1 at the pollen tube tip involves PME1 endocytosis, and reflects the distribution of esterified and de-esterified pectins." *The Plant Journal*. (2008). 53, 133-143.
- Rounds C.M., Bezanilla M. "Growth mechanisms in tip-growing plant cells." *Annual Review of Plant Biology*. (2013). 64: 243-265.
- Roy S.J., Gilliham M., Berger B., Essah P., Cheffings C., Miller A., Davenport R., Liu L.H., Skynner M., Davies J. "Investigating glutamate receptor-like gene co-expression in *Arabidopsis thaliana*." *Plant Cell and Environment*. (2008). 31: 861-871.
- Sabatini S., Beis D., Wolkenfelt H., Murfett J., Guilfoyle T., Malamy J., *et al.* "An auxin-dependent distal organizer of pattern and polarity in the *Arabidopsis* root." *Cell*. (1999). 99, 463-472. doi:10.1016/S0092-8674(00)81535-4.
- Sanders D., Pelloux J., Brownlee C., Harper J.F. "Calcium at the crossroads of signaling." *The Plant Cell*. (2002). 14: Suppl: S401-417.
- Schiøtt M., Romanowsky S.M., Bækgaard L., Jakobsen M.K., Palmgren M.G., Harper J.F. "A plant plasma membrane Ca^{2+} pump is required for normal pollen tube growth and fertilization." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2004). 101: 9502-9507.
- Schopfer P., Liskay A., Bechtold M., Frahry G., Wagner A. "Evidence that hydroxyl radicals mediate auxin-induced extension growth." *Planta*. (2002). 214: 821-828.
- Schwarzländer M., Fricker M.D., Müller C., Marty L., Brach T., Novak J., Sweetlove L.J., Hell R., Meyer A.J. "Confocal imaging of glutathione redox potential in living plant cells." *Journal of Microscopy*. (2008). 231: 299-316.
- Shigematsu H., Iida K., Nakano M., Chaudhuri P., Iida H., Nagayama K. "Structural characterization of the mechanosensitive channel candidate MCA2 from *Arabidopsis thaliana*." *PLoS ONE*. (2014). 9:e87724. doi:10.1371/journal.pone.0087724
- Shigeto J., Kiyonaga Y., Fujita K., Kondo R., Tsutsumi Y. "Putative cationic cell-wall-bound peroxidase homologues in *Arabidopsis*, AtPrx2, AtPrx25, and AtPrx71, are involved in lignification." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. (2013). 61: 3781-3788.

- Shih H.W., DePew C.L., Miller N.D., Monshausen G.B. "The Cyclic Nucleotide-Gated Channel CNGC14 Regulates Root Gravitropism in *Arabidopsis thaliana*." *Current Biology*. (2015). 25: 3119-3125.
- Shin R., Berg R. H., Schachtman, D. P. (2005). "Reactive oxygen species and root hairs in *Arabidopsis* root response to nitrogen, phosphorus and potassium deficiency." *Plant and Cell Physiology*. 46, 1350-1357.
- Singh S.K., Fischer U., Singh M., Grebe M., Marchant A. "Insight into the early steps of root hair formation revealed by the procuste 1 cellulose synthase mutant of *Arabidopsis thaliana*." *BMC Plant Biology*. (2008). 8:57. doi: 10.1186/1471-2229-8-57.
- Sirichandra C., Gu D., Hu H.C., Davanture M., Lee S., Djaoui M., Valot B., Zivy M., Leung J., Merlot S. "Phosphorylation of the *Arabidopsis* AtrbohF NADPH oxidase by OST1 protein kinase." *Federation of European Biochemical Societies Letters*. (2009). 583: 2982-2986.
- Sondergaard T.E., Schulz A., Palmgren M.G. "Energization of transport processes in plants. Roles of the plasma membrane H⁺-ATPase." *Plant Physiology*. (2004). 136: 2475-2482.
- Spartz A.K., Ren H., Park M.Y., Grandt K.N., Lee S.H., Murphy A.S., Sussman M.R., Overvoorde P.J., Gray W.M. "SAUR inhibition of PP2C-D phosphatases activates plasma membrane H⁺-ATPases to promote cell expansion in *Arabidopsis*." *The Plant Cell*. (2014). 26: 2129-2142.
- Swanson SJ, Choi W-G, Chanoca A, Gilroy S. "In vivo imaging of Ca²⁺, pH, and reactive oxygen species using fluorescent probes in plants." *Annual Review of Plant Biology*. (2011). 62: 273-297.
- Takahashi S., Kimura S., Kaya H., Iizuka A., Wong H.L., Shimamoto K., Kuchitsu K. "Reactive oxygen species production and activation mechanism of the rice NADPH oxidase OsRbohB." *Journal of Biochemistry*. (2012). 152: 37-43.
- Takeda S., Gapper C., Kaya H., Bell E., Kuchitsu K., Dolan L. "Local positive feedback regulation determines cell shape in root hair cells." *Science*. (2008). 319: 1241-1244.
- Takeuchi H., Higashiyama T. "Tip-localized receptors control pollen tube growth and LURE sensing in *Arabidopsis*." *Nature*. (2016). 531:245-248.

Tian G.W., Chen M.H., Zaltsman A., Citovsky V. "Pollen-specific pectin methyltransferase involved in pollen tube growth." *Developmental Biology*. (2006). 294: 83-91.

Tian S., Wang X., Li P., Wang H., Ji H., Xie J., Qiu Q., Shen D., Dong H. "Plant aquaporin AtPIP1;4 links apoplastic H₂O₂ induction to disease immunity pathways." *Plant Physiology*. (2016). 171(3):1635-50. doi: 10.1104/pp.15.01237.

Torres M.A., Dangl J.L. "Functions of the respiratory burst oxidase in biotic interactions, abiotic stress and development." *Current Opinion in Plant Biology*. (2005). 8: 397-403.

Triantaphylidès C., Havaux M. "Singlet oxygen in plants: production, detoxification and signaling." *Trends in Plant Sciences*. (2009). 14: 219-228. doi: 10.1016/j.tplants.2009.01.008.

Tunc-Ozdemir M., Rato C., Brown E., Rogers S., Mooneyham A., Frietsch S., Myers C.T., Poulsen L.R., Malho R., Harper J.F. "Cyclic nucleotide gated channels 7 and 8 are essential for male reproductive fertility." *PLoS One*. (2013). 8: e55277.

Velasquez S.M., Klein-Vein J., Estevez J.M. "Auxin and cellular elongation." *Plant Physiology*. (2016). 170: 1206–1215.

Velasquez S.M., Marzol E., Borassi C., Pol-Fachin L., Ricardi M.M., Mangano S., Denita J.S., Salgado S.J., Gloazzo D.J., Marcus S.E. "Low sugar is not always good: Impact of specific O-glycan defects on tip growth in *Arabidopsis*." *Plant Physiology*. (2015). 168: 808-813.

Velasquez S.M., Ricardi M.M., Dorosz J.G., Fernandez P.V., Nadra A.D., Pol-Fachin L., Egelund J., Gille S., Harholt J., Ciancia M., Verli H., Pauly M., Bacic A., Olsen C.E., Ulvskov P., Petersen B.L., Somerville C., Iusem N.D., Estevez J.M. "O-Glycosylated cell wall proteins are essential in root hair growth." *Science*. (2011). 332: 1401-1403.

Vissenberg K., Fry S.C., Verbelen, J.P. "Root hair initiation is coupled to a highly localized increase of xyloglucan endotransglycosylase action in *Arabidopsis* roots." *Plant Physiology*. (2001). 127, 1125–1135. doi:10.1104/pp.010295.

Wagner S, Nietzel T, Aller I, Costa A, Fricker MD, Meyer AJ, Schwarzländer M. "Analysis of plant mitochondrial function using fluorescent protein sen-

- sors." *Methods in Molecular Biology* 241-252. En: James Whelan and Monika W. Murcha (eds.), *Plant mitochondria: Methods and protocols, methods in molecular Biology*, (2015) vol. 1305. doi: 10.1007/978-1-4939-2639-8_17.
- Wang C., Li S., Ng S., Zhang B., Zhou Y., Whelan J., Wu P., Shou H. "Mutation in xyloglucan 6-xylosyltransferase results in abnormal root hair development in *Oryza sativa*." *Journal of Experimental Botany*. (2014). 65: 4149-4157.
- Wang T., Liang L., Xue Y., Jia P.F., Chen W., Zhang M.X., Wang Y.C., Li H.J., Yang W.C. "A receptor heteromer mediates the male perception of female attractants in plants." *Nature*. (2016). 531: 241-244.
- Wang Y.J., Yu J.N., Chen T., Zhang Z.G., Hao Y.J., Zhang J.S., Chen S.Y. "Functional analysis of a putative Ca²⁺ channel gene TaTPC1 from wheat." *Journal of Experimental Botany*. (2005). 56: 3051-3060.
- Wang Y., Zhang W.Z., Song L.F., Zou J.J., Su Z., Wu W.H. "Transcriptome analyses show changes in gene expression to accompany pollen germination and tube growth in *Arabidopsis*." *Plant Physiology*. (2008). 148: 1201-1211.
- Wolf S, Mouille G, Pelloux J. "Homogalacturonan methyl-esterification and plant development." *Molecular Plant*. (2009) 2: 851-860
- Wolf S., Höfte H. "Growth control: a saga of cell walls, ROS, and peptide receptors." *The Plant Cell Online*. (2014). 26: 1848-1856.
- Wong H.L., Pinontoan R., Hayashi K., Tabata R., Yaeno T., Hasegawa K., Kojima C., Yoshioka H., Iba K., Kawasaki T. "Regulation of rice NADPH oxidase by binding of Rac GTPase to its N-terminal extension." *The Plant Cell*. (2007). 19: 4022-4034.
- Wrzaczek M., Brosché M., Salojärvi J., Kangasjärvi S., Idänheimo N., Mersmann S., Robatzek S., Karpinski S., Karpinska B., Kangasjärvi J. "Transcriptional regulation of the CRK/DUF26 group of receptor-like protein kinases by ozone and plant hormones in *Arabidopsis*." *BMC Plant Biology*. (2010). 10: 95. doi: 10.1186/1471-2229-10-95.
- Wu J., Shang Z., Wu J., Jiang X., Moschou P.N., Sun W., Roubelakis-Angelakis K.A., Zhang S. "Spermidine oxidase-derived H₂O₂ regulates pollen plasma membrane hyperpolarization-activated Ca²⁺-permeable channels and pollen tube growth." *The Plant Journal*. (2010). 63:1042-1053.

Wudick M.M., Feijó J.A. "At the intersection: Merging Ca²⁺ and ROS signaling pathways in pollen." *Molecular Plant*. (2014). 7: 1595-1597.

Xie H.T., Wan Z.Y., Li S., Zhang Y. "Spatiotemporal production of reactive oxygen species by NADPH Oxidase is critical for tapetal programmed cell death and pollen development in *Arabidopsis*." *The Plant Cell*. (2014). 26: 2007-2023.

Yamanaka T., Nakagawa Y., Mori K., Nakano M., Imamura T., Kataoka H., *et al.* "MCA1 and MCA2 that mediate Ca²⁺ uptake have distinct and overlapping roles in *Arabidopsis*." *Plant Physiology*. (2010). 152:1284–1296. doi: 10.1104/pp.109.147371

Yang Z., Fu Y. "ROP/RACGTPase signaling." *Current Opinion in Plant Biology*. (2007). 10, 490–494. doi:10.1016/j.pbi.2007.07.005.

Yi K., Menand B., Bell E., Dolan L. "A basic helix-loop-helix transcription factor controls cell growth and size in root hairs." *Nature Genetics*. (2010). 42, 264–269. doi:10.1038/ng.529.

Yu X., Pasternak T., Eiblmeier M., Ditengou F., Kochersperger P., Sun J., Wang H., Rennenberg H., Teale W., Paponov I., Zhou W., Li C., Li X., Palme K. "Plastid localized glutathione reductase2-regulated glutathione redox status is essential for *Arabidopsis* root apical meristem maintenance." *The Plant Cell*. (2013). 25: 4451-4468.

Yuan F., Yang H., Xue Y., Kong D., Ye R., Li C., Zhang J., Theprungsirikul L., Shrift T., Krichilsky B. "OSCA1 mediates osmotic stress- evoked Ca²⁺ increases vital for osmosensing in *Arabidopsis*." *Nature*. (2014). 514: 367-371.

Zabotina O.A., Avci U., Cavalier D., Pattathil S., Chou Y.H., Eberhard S., Danhof L., Keegstra K., Hahn M.G. "Mutations in multiple XXT genes of *Arabidopsis* reveal the complexity of xyloglucan biosynthesis." *Plant Physiology*. (2012). 159: 1367-1384.

Capítulo IV. Endodermis

Introducción

La raíz de las plantas vasculares está constituida por los tres sistemas tisulares dispuestos en forma radial (Dolan *et al.*, 1993). El número de células y la morfología de cada tejido varía entre las diferentes especies, pero la organización está conservada, indicando la importancia de la estructura y funciones básicas de la raíz como en el anclaje y absorción.

En el estado inicial de desarrollo y crecimiento, la raíz está compuesta de tres sistemas tisulares: el sistema tisular dérmico, formando la epidermis; el sistema tisular de crecimiento o fundamental que conforma la corteza y la endodermis; y el sistema tisular vascular en el cilindro central. En cortes transversales de la raíz en la zona de maduración, en el borde externo de la raíz esta limitada por una epidermis, con modificaciones como los pelos radiculares, la cual rodea a la corteza la cual ocupa la mayor superficie (Fig. 1B) constituida principalmente por células del parénquima. La corteza puede presentar varias funciones, como la de almacenamiento de sustancias de reserva con depósitos de almidones en los amiloplastos, o poseer un aerénquima que transporta oxígeno hasta la raíz, como es el caso de plantas que normalmente están parcialmente sumergidas como los cultivos del arroz, o en caso del maíz que se induce su formación cuando el campo de cultivo se inunda, o en el caso de la adaptación en las plantas de los manglares.

El transporte del agua y los nutrimentos del suelo hacia el interior de la raíz se establece siguiendo dos vías: el sistema apoplástico en que el agua y solutos viajan a través de las paredes celulares y espacios entre las células o bien el sistema simplástico en el que se realiza la transporte por la vía intracelular a través de los plasmodesmos. En comparación a los diferentes estratos de la corteza, la capa más interna y contigua al tejido vascular en el cilindro central, presenta un arreglo muy compacto en que se pierden los espacios entre las células, a este dominio celular se le denomina endodermis, la cual se caracteriza por la presencia de una banda impermeable denominada banda de Casparian (CAS) en sus paredes anticlinales (las paredes celulares radiales o perpendiculares a la superficie). La CAS es mucho más que un engrosamiento, ya que esta banda está impregnada de lignina, asocia a las dos células vecinas y posee propiedades hidrofóbicas que generan una barrera impermeable a la libre difusión entre ambas células, por lo cual

forma dos compartimentos separados: el cortical y el cilindro central, debido a lo cual la transferencia de compuestos, agua y nutrientes, se realiza mediante un transporte selectivo y energéticamente dependiente en células especializadas de la endodermis denominadas células de paso, éstas son un tipo de células de transferencia, las cuales posee localizados de forma polarizada los transportadores, canales y acuaporinas para generar un flujo de sustancias hacia el cilindro vascular en el interior de la raíz (Fig. 1).

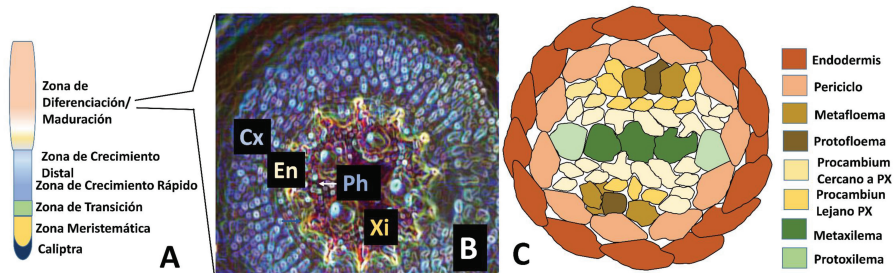


Figura 1. Zonas de la Raíz. A, muestra un esquema de las zonas de desarrollo de la raíz, en que se observa la caliptra, la zona meristemática, la zona de transición, la zona de alargamiento en su parte basal o de crecimiento rápido o la parte distal donde las células adquieren el tamaño final para entrar en la zona de diferenciación o maduración. B, corte transversal de la raíz embrionaria del maíz en la zona de maduración, en que es evidente la corteza (Cx), que rodea a la endodermis (En) en que se observa el depósito de lignina en sus paredes celulares la cuales dan una alta fluorescencia, esta capa limita al cilindro central, en donde es evidente el metaxilema (Xi) y los polos floemáticos (Ph). C, esquema de una raíz dicotiledónea, en que se muestra la estructura de la endodermis y el cilindro central.

A. Formación de la endodermis en la raíz

1. Determinación de la endodermis

La mantención y patrón de distribución de las células madre del meristemo apical de la raíz está regulado por el grado de comunicación establecido entre las células y su entorno (van den Berg *et al.*, 1995; van den Berg *et al.*, 1997; Kidner *et al.*, 2000). La identidad molecular de las señales intercelulares involucradas en el crecimiento de la raíz y el patrón tisular está regulada en gran medida por la endodermis.

En *Arabidopsis*, la endodermis se determina en la fase de embrión co-razón durante el desarrollo embrionario, en donde el tejido de crecimiento o fundamental en el ápice de la futura raíz se divide periclinalmente para formar dos capas de células, que serán las células iniciales de la futura corteza y la endodermis (Scheres *et al.*, 1994). En una etapa posterior a la germinación, en la plantula se mantiene la organización de las dos capas, y por división se generarán de las células madre o iniciales de la corteza/endodermis (CEI) las primeras células hijas o derivadas (CEID; Fig. 2A). Una señal no identificada aún, que posiblemente es generada por las células adyacentes al Centro Quiescente (CQ), mantiene la pluripotencialidad de las células madre de la CEI (van den Berg *et al.*, 1997). La división de las CEI es transversal y da lugar a las CEID en una posición distal al CQ, y la otra célula hija colindante al CQ mantiene su identidad de CEI. A su vez la CEID se divide periclinalmente para dar lugar a dos células hijas, cada una dará origen a dos estirpes celulares dependiendo de su posición relativa al cilindro vascular, una de las cuales se diferencia para dar origen a células de la endodermis en el interior o a la corteza que dará a varios estratos ubicada en la parte externa.

SHORT-ROOT (SHR) y *SCARECROW (SCR)*, codifican a dos factores de transcripción tipo GRAS, juegan un papel central en la formación y manutención de la endodermis de la raíz. Los péptidos SHR se producen en el cilindro vascular y se movilizan hasta las capas de células adyacentes del CQ, CEI, CEID y la endodermis (Fig. 2A; Helariutta *et al.*, 2000; Nakajima *et al.*, 2001). En estas capas celulares, SHR activa la transcripción de varios genes blanco, incluido a *SCR*, la proteína SCR interacciona físicamente con el péptido SHR formando un complejo de transcripción (Levesque *et al.*, 2006; Cui *et al.*, 2007; Hirano *et al.*, 2017). En las CEID, el complejo SHR-SCR activa la transcripción de los genes reguladores del ciclo celular produciendo la ciclina CYCD6;1, la cual a su vez es requerida para la división de la CEID (Fig. 2A; Sozzani *et al.*, 2010). La pérdida de función en los mutantes *shr* y *scw*, impide la formación de las dos capas de células del tejido fundamental. El tejido fundamental o de crecimiento del mutante *shr* no posee los atributos diferenciales de una endodermis, mientras que en el mutante *scr* contiene en parte características de endodermis (Di Laurenzio *et al.*, 1996; Helariutta *et al.*, 2000). La funcionalidad de SHR, pero no de SCR es requerida para la diferenciación de la endodermis. Consistente con esto, la expresión forzada de *SHR* fuera del

cilindro vascular resulta en la manifestación ectópica de células con características de endodermis (Nakajima *et al.*, 2001).

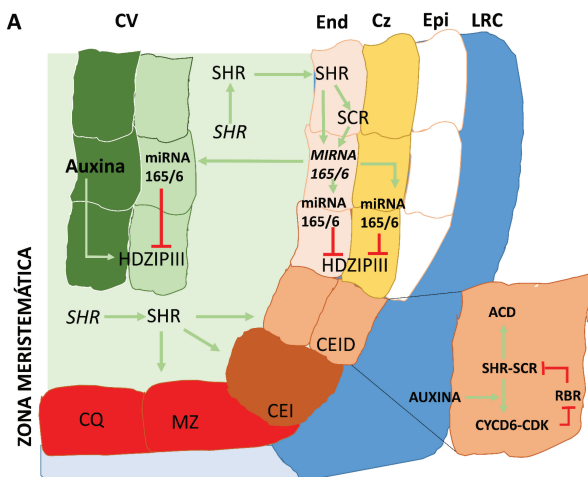
La cantidad de células de parénquima que conforman la corteza varía entre las especies y la edad de la raíz, mientras que la endodermis es una capa monoestratificada. Las propiedades en el desarrollo y el aspecto evolutivo de la capa monoestratificada de la endodermis se deben a la restricción de movimiento de SHR entre célula y célula y a la división periclinal ectópica, indicando que SCR se encuentra unido a la proteína SHR en el núcleo de la capa celular receptora o endodérmica, con lo cual lo secuestra e inmoviliza e impide el movimiento de SHR más allá de esta capa. Este proceso también se presenta en las monocotiledóneas como en el arroz, lo que implica que el mecanismo se encuentra en todas las angiospermas y está altamente conservado (Cui *et al.*, 2007).

2. Respuesta de la endodermis

La interacción entre SHR y SCR especifica las características de las células endodérmicas en una relación dependiente de la posición, la señal controla el patrón radial e involucra a otros factores celulares no-autónomos que funcionan vía abajo del módulo de SHR-SCR. SHR activa la transcripción de tres genes que generan miRNA, *MICRORNA165/166: MIR165A, MIR166A y MIR166B*, lo cual se da específicamente en la capa uniestratificada de células del CQ, CEI, CEID y endodermis (Fig. 2A; Carlsbecker *et al.*, 2010; Miyashima *et al.*, 2011), el patrón de expresión que coincide con el de *SCR* (Di Laurenzio *et al.*, 1996; Helariutta *et al.*, 2000). Como es esperado, los niveles en la cantidad de miRNA165/166 en el mutante *shr* y *scr* están muy reducidos, lo cual puede implicar que la expresión de *MIR165/166* está regulada por el complejo de transcripción SHR-SCR (Carlsbecker *et al.*, 2010; Miyashima *et al.*, 2011), en que se ha determinado que SHR se une a la región reguladora del *MIR165A* y *MIR166B* (Carlsbecker *et al.*, 2010).

Los miRNA165/166 se unen a los mRNA producto de los genes *HDZIPIII (Class III HOMEODOMAIN LEUCIN ZIPPER): PHABULOSA (PHB), PHAVOLUTA (PHV), CORONA/INCURVATA4 (CNA/ICUA4/AtHB15), REVOLUTA/INTERFASCICULAR FIBERLESS1 (REV/IFL1) y AtHB8* a los cuales inactiva (Talbert *et al.*, 1995; McConnell *et al.*, 2001; Green *et al.*, 2005; Prigge *et al.*, 2005; Ochando *et al.*, 2006), generando una regulación negativa sobre estos genes (Fig. 2A). En las

raíces de *Arabidopsis* la expresión de los mRNA de la familia HDZIPIII está confinada al tejido vascular por la acción reguladora de los *miRNA165/166* (Carlsbecker *et al.*, 2010). La pérdida de función en los mutantes de uno de los genes *HDZIPIII* no genera un fenotipo en que se observe diferencia con el silvestre (Carlsbecker *et al.*, 2010), mientras que los alelos con ganancia de función resistentes a los *miRNA*, en especial a *PHB* (*phb-d* alleles), exhiben un patrón defectuoso severo en un amplio intervalo de las capas celulares de la raíz, incluyendo la corteza, la endodermis, el periciclo y el xilema (Carlsbecker *et al.*, 2010; Miyashima *et al.*, 2011). En el mutante *shr-d*, se altera la morfología del xilema, en que el metaxilema (Mx) ocupa la posición donde originalmente se debería formar el protoxilema (Px); este mismo fenotipo se observa en las raíces de los mutantes *shr* y *scr*, donde las cantidades de *miRNA165/166* está reducida y por lo tanto la expresión de los otros HDZIPIII está ligeramente expandida relativamente al silvestre. En contraste, la mutación cuádruple en *HDZIPIII*, al igual que las plantas transgénicas en que se sobrexprende el *miRNA165* en el tejido vascular, forman filas supernumerarias de Px a expensas del Mx (Carlsbecker *et al.*, 2010). La diferenciación entre los tipos de xilema: metaxilema y protoxilema, está determinado en la relación a la respuesta dependiente de la dosis en la cantidad de factores HDZIPIII en el cilindro vascular, lo cual está determinado por los niveles de los *miRNA165/166* derivados de la endodermis, lo cual se establece por un sistema celular no-autónomo (ver más detalles en la sección de tejido vascular de la raíz).



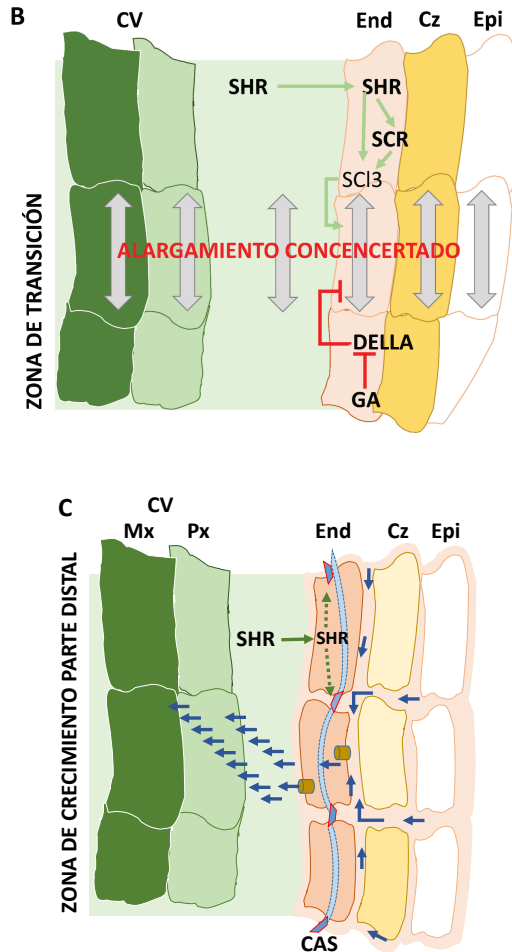


Figura 2. Vías de señalización en las zonas de desarrollo de la raíz de *Arabidopsis*. En el ápice de la raíz se encuentran las tres zonas de desarrollo, en ellas se da una regulación y expresión diferencial de genes. A, en la zona meristemática en que se encuentra incluido el centro quiescente (CQ) rodeado por la región de división celular (MZ), en este último dominio, la posición de las células origina a los histógenos que formarán a la raíz; SHR, SCR y *miRNA165/166* generan una vía de señalización intracelular entre el cilindro vascular y la endodermis (END) para determinar la especificación de ambas estructuras. B, la zona de transición (TZ), el control en el alargamiento, la endodermis está mediado por las giberelinas (GA) y SCL3 e influencia la expansión de las células vecinas. C, en la zona de alargamiento, la expansión

es diferencial, en que se da en la parte basal un crecimiento rápido e inician su compromiso tisular y en la parte distal las células crecen a menor velocidad, en que todas las células están ya comprometidas en la formación de los tejidos de raíz; así, en la zona de crecimiento terminal o distal, se da la formación de la banda de Casparian y la regulación del movimiento de agua y solutos. Símbolos: CAS, Banda de Casparian (banda color azul claro); CQ, centro quiescente; CEI, célula madre endodérmica/cortical; CEID, célula hijas endodérmica/cortical; Cz, corteza; END, endodermis; Mx, célula madre del metaxilema; Px, célula madre del protoxilema; flecha azul, flujo de agua y nutrimentos; inducción génica, flecha; línea roja roma, represión génica. Esquema Modificado de Miyashima y Nakajima, 2011.

Los miRNA165/166 actúan en una forma celular no-autónoma, lo cual se confirmó mediante la manipulación en la cantidad de los miRNA en el tejido fundamental (corteza y endodermis), encontrando una relación inversa en el grado de expresión y distribución de PHB en el tejido vascular, el gen es requerido para la diferenciación del Protoxilema y Metaxilema en el cilindro vascular (Miyashima *et al.*, 2011). Así, los miRNA165/166 suprimen la expresión de PHB el cual es esencial para la correcta diferenciación del periciclo y la corteza. La actividad conjunta del complejo SHR-SCR en la producción de miRNA165/166 no solo es específica al xilema en el cilindro vascular, además controla un amplio intervalo de diferenciación celular en las raíces de *Arabidopsis* (Miyashima *et al.*, 2011).

Además, la supresión de HDPZIPIII dependiente de miRNA165/166 está involucrada en el establecimiento de la polaridad apical-basal durante la embriogénesis, el patrón dorso-ventral (adaxial/abaxial) en los primordios foliares y la organización del tejido vascular en el tallo (McConnell *et al.*, 2001; Emery *et al.*, 2003; Smith y Long, 2010).

3. La endodermis: punto central en la regulación hormonal

El crecimiento de la raíz es la consecuencia de dos procesos que se realizan en dos regiones distintas en la raíz: 1) la producción de nuevas células en la zona meristemática en el ápice de la raíz y 2) la expansión direccional que inicia en la zona de transición y se acelera en la zona de crecimiento (Fig. 2B; Verbelen *et al.*, 2006). La salida de las células de la MZ está controlada por la acción de dos fitohormonas: las auxinas y las citocininas (Dello Loio *et al.*, 2008). La acción concertada de los flujos de auxina a través de PINFORMED

(PIN) establece el ciclo de flujo polar de la fitohormona en la región apical de la raíz comprendiendo la MZ y la TZ (Blilou *et al.*, 2005; Verbelen *et al.*, 2006). Una alta concentración de auxina se encuentra en la MZ y promueve la división celular (Blilou *et al.*, 2005). La citocinina antagoniza la actividad inductiva en la división celular por la auxina, lo cual se realiza por la expresión de *SHY2*, un inhibidor de la señal de auxina a través de reprimir la expresión de los PIN en la TZ, con ello se afecta el flujo de auxina y genera la transición celular de la división celular a la endorreduplicación y alargamiento (Dello Ioio *et al.*, 2008).

Otra fitohormona asociada al proceso es la giberelina (GA), la cual está involucrada en el crecimiento de la raíz (Moubayidin *et al.*, 2010). Un punto clave en la vía de señalización de la GA es dependiente de la degradación de la proteína represora DELLA por el proteosoma. Las proteínas DELLA son miembros de factores de transcripción de la familia GRAS, los cuales suprimen la expresión de los genes de respuesta a GA mediante la interacción con otros reguladores de transcripción. En el genoma de *Arabidopsis* se ha encontrado 5 genes que codifican para 5 proteínas tipo DELLA: GAI, RGA, RGL1, RGL2 y RGL3, encontrándose que el dominio DELLA está conservado en estas proteínas. La interacción de la GA, su receptor, GA INSENSITIVE DWARF1 (GID1), con las proteínas DELLA, dispara el mecanismo de ubiquitinación en ésta última, para ser posteriormente degradada por el proteosoma. La pérdida del dominio DELLA genera proteínas no degradables y por ello constitutivamente se bloquea la señal inducida por GA (Harberd *et al.*, 2009).

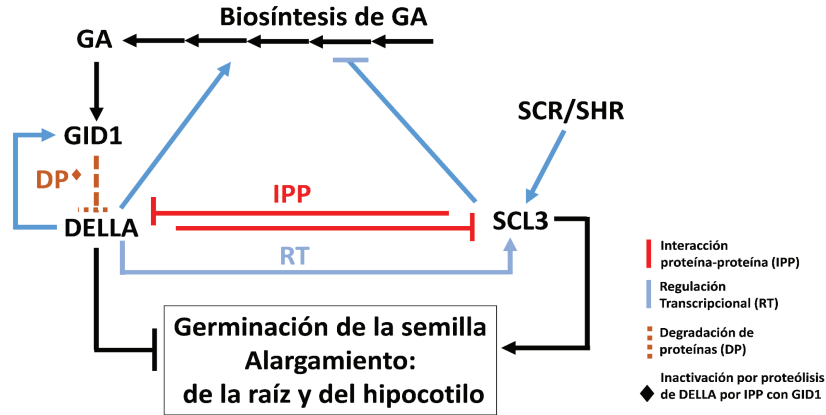


Figura 3. Modelo de la interacción de DELLA-SCL3. Se esquematiza la interacción antagonista entre DELLA y SCL3 en la regulación en la biosíntesis, los niveles de GA y los efectos vía abajo en la respuesta a la GA. En la raíz, la interacción SCL3-DELLA coordina la actividad de la señal de la GA en el control del desarrollo de la raíz mediado por la vía SCR/SHR. La activación o inhibición se realiza a través de diferentes mecanismos; degradación de proteínas (DP); interacción proteína-proteína (IPP) o regulación de la transcripción (RT). Símbolos: GA, giberelina; GID1, GA INSENSITIVE DWARF1, receptor de las giberelinas; SCL3, SCARECREW-LIKE3; SCR/SHT, vía SCARECREW/SHORTROOT. Esquema modificado de Zhang *et al.*, 2011.

Se puede bloquear la señal inducida por GA en tejidos de la raíz por medio de la expresión constitutiva de una proteína DELLA, un GAI no-degradable, designado *gai* (Ubeda-Tomás, 2008). La expresión de *gai* en los tejidos que incluyen a la endodermis o solamente a la endodermis resulta en el retardo en el crecimiento de la raíz. Mientras que la expresión de *gai* en otros tejidos de la raíz que no incluyan a la endodermis, no se ven afectados. El efecto específico de la expresión de *gai* en la endodermis genera un efecto general en el crecimiento de la raíz, lo cual se debe a la alta capacidad de respuesta de las células de la endodermis a la modulación de la señal inducida por la GA. Debido a que los tejidos de la raíz están interconectados entre sí, el reducido alargamiento de la endodermis provoca un retardo en el crecimiento de la raíz, implicando de esa forma que la endodermis juega un papel importante en el crecimiento de la raíz completa (Ubeda-Tomás *et al.*, 2008).

La señal de la GA en la endodermis provoca la división celular en la MZ (Fig. 1B de la sección del meristemo), la cual es requerida para el alargamiento de la EZ durante los primeros días de germinación (Fig. 2B; Achard *et al.*, 2009; Ubeda-Tomás *et al.*, 2009). Se han reportado dos tipos de inhibidores de cinasas dependientes de ciclinas (CDKI): la familia de proteínas KRP2 (Kip-related protein 2) y SIAMESE (SIM), las cuales son sobrerreguladas en el mutante *gai* deficiente de GA, en este fenotipo puede ser restaurado por una cuádruple mutación DELLA (Achard *et al.*, 2009). No se conoce el mecanismo mediante el cual el bloquear la señal de GA en la endodermis afecta la expresión local de *CDKI* en la endodermis o si ésta modula los niveles de *CDKI* en una amplia capa de células en la MZ.

No es claro porqué la endodermis muestra una alta sensibilidad a la acción de inhibidores de la señal de GA; los factores de transcripción SCR en particular *SCL3* (SCARECROW-LIKE3), es un modulador clave en la respuesta GA en la endodermis (Fig. 2B; Heo *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2011). La expresión de *SCL3* está restringida espacialmente a la endodermis por efecto del complejo de transcripción SHR-SCR (Fig. 2B; Levesque *et al.*, 2006; Cui *et al.*, 2007), los niveles de *SCL3* son controlados por la GA a través de la cantidad de las proteínas DELLA, RGA (Zentella *et al.*, 2007). *SCL3* es un regulador positivo de la respuesta a GA y actúa como un atenuador de la represión por DELLA (Fig. 3), sugiriendo que la endodermis de la raíz posee una mayor sensibilidad a la GA y es capaz de integrar las vías de señalamiento hormonal que gobiernan el crecimiento de la raíz.

B. Establecimiento de la polaridad celular y la Banda de Casparian

1.- La Endodermis como un regulador de la difusión de sustancias

El suelo contiene agua y sustancias disueltas que son nutrimentos requeridos para el crecimiento de la planta, pero además, existen patógenos y sustancias tóxicas que decrementan el bienestar de la planta. El sistema radical, el cual está en contacto directo con el suelo, integra la calidad ambiental de su entorno y ajusta su desarrollo en busca de optimizar la absorción de agua (Péret *et al.*, 2011; Lynch, 2013), nutrientes (Cassab *et al.*, 2013;

Lynch, 2013; Bao *et al.*, 2014) y eliminar efectos negativos, como el que se da por ejemplo durante el estrés salino (Galvan-Ampudia *et al.*, 2013).

La raíz posee barreras físicas a la libre difusión y por ello genera células especializadas en el transporte que balancean la captura de agua y la cantidad de nutrientes necesaria para la planta, minimizando la entrada excesiva de nutrimentos que en concentraciones altas resultarían tóxicos, o bien minimiza el flujo al interior de la raíz de sustancias nocivas, o en su caso, permite la interacción de la raíz con simbiontes que coadyuvan a la solubilidad de nutrimentos y protegen al órgano contra el detrimento debido a factores bióticos y/o abióticos.

En las raíces jóvenes, las barreras están formadas por la deposición de compuestos hidrofóbicos como la lignina y suberina en las paredes primarias de la endodermis (Fig. 1B y 4), esta función en raíces maduras con un crecimiento secundario se produce por una exodermis localizada entre la corteza y la epidermis (Nawrath *et al.*, 2013). La formación de la exodermis es específica de la especie y estado fisiológico de la raíz, mientras que la endodermis es una característica general de las angiospermas (Raven y Edwards, 2001). Dentro de la endodermis, la impermeabilidad se genera por dos barreras: la banda de Casparian y la lamela de suberina que son depositadas secuencialmente, en que ambas regulan el movimiento de agua y nutrimentos entre la corteza en la parte exterior hacia el cilindro vascular en el interior (Fig. 1B y 1C).

El movimiento del agua y los nutrimentos en la raíz se realiza por dos mecanismos: el simplástico y el apoplástico (Fig. 4). El transporte apoplástico consiste del flujo de sustancias y agua entre los espacios que existen entre las membranas plasmáticas de células contiguas, los cuales están ocupados por la pared celular de cada célula y la lámina media que las une, y cada pared celular posee diferente porosidad dependiente el tipo de célula y composición química; el agua y los solutos disueltos en ella pueden moverse libremente a través de los espacios o poros de la pared celular, mientras otros componentes pueden interaccionar con la pared celular a través de su carga. A diferencia, el transporte simplástico o transporte transcelular se establece por el flujo de agua y solutos que se realiza a través de la comunicación entre célula y célula por medio de los plasmodesmos (Steudle y Peterson, 1998). La incorporación de solutos y el agua del suelo al interior de las células se

realiza por transportadores y canales específicos de la membrana plasmática, los cuales pueden acumularse en la vacuola central a través del tonoplasto, al flujo entre célula (Fig. 4; Steudle y Peterson, 1998; Geldner, 2013). Debido que una molécula es transportada cuando menos una vez a través de la membrana plasmática, el flujo de las moléculas está controlada por el número, afinidad y especificidad de los mecanismos de transporte que estén en la membrana. Por ejemplo, los niveles de expresión y localización de la acuaporina, canal para el flujo de agua, juega un papel fundamental en el control del movimiento del agua en la raíz (Chaumont y Tyerman, 2014). La membrana plasmática es una “barrera casi-perfecta” para impedir la entrada de sustancias no deseables, sin embargo, pueden entrar sustancias tóxicas, lo cual puede ocurrir por la difusión pasiva de las moléculas a través de la bicapa lipídica o por mimetizarse con otras sustancia no tóxicas, como son los nutrimentos y usar sus transportadores para ser incorporados. La entrada de los compuestos no deseables a través de estos dos mecanismos implica que estas sustancias pueden ser movilizadas al resto de la planta; para prever este efecto, se debe de tener un mecanismo de “purificación”, así estas sustancias en la parte interna de la corteza son extruidas al apoplasto acumulándolas *in situ* o son secuestradas dentro de la vacuola. La impermeabilidad de la endodermis previenen la posibilidad de que sean movilizadas al interior de cilindro central y de ahí al resto de la planta (Schaaf *et al.*, 2006; Miwa *et al.*, 2007). Las moléculas que se movilizan a través del apoplasto no poseen un control selectivo, pues su movimiento depende de la diferencia de concentraciones entre dos puntos en cuestión, y son movilizadas debido a que están disueltas en el agua, la fuerza motriz del movimiento es la transpiración (Enstone *et al.*, 2002). La movilidad en el apoplasto de ciertos iones, como calcio, puede ser afectada por la composición de la pared celular que puede interactuar con éstos, formando puentes iónicos por medio de cargas negativas, como es el caso de las pectinas de la lámina media y/o la que rellena las porosidades de la pared celular primaria (Gilliham *et al.*, 2011).

Cuando los tejidos de la raíz se diferencian, la difusión apoplástica de solutos entre las capas externas que forman la corteza y el cilindro vascular es prevenida por la formación de una barrera apoplástica en las células de la endodermis, a la que se ha denominada Banda de Casparian (CAS, Fig. 2C y 4). La CAS se caracteriza por un depósito de alta cantidad de lignina en la pared

celular (Naseer *et al.*, 2012), lo que forma una cintillo o banda que rodea la parte media de cada célula de la endodermis en las paredes celulares anticlinales (Fig. 2B, 4 y 6). El depósito de sustancias hidrofóbicas en la pared celular está coordinado dentro de la formación de una banda completa alrededor de las células que forma una estructura supracelular que aísla completamente el apoplasto entre células contiguas de la endodermis, generando dos compartimentos aislados: la corteza en la parte externa y el cilindro central en la parte interna a la endodermis. La ausencia del flujo de agua a través del mecanismo apoplástico por efecto de la CAS de la endodermis, implica que la acuaporina en las membranas de las células de paso o transferencia es la ruta de captura del agua. En el control del flujo de agua y nutrimentos a través de la endodermis hacia el cilindro vascular, está involucrada la movilización de macro- y micronutrimentos, principalmente iones, mediante la participación de diversos transportadores/canales generando gradientes químicos y eléctricos a través de las membrana de las células de paso o transferencia y con ello, la regulación transcripcional y postraduccional de proteínas (Bramley *et al.*, 2007; Chaumont y Tyerman, 2014).

Los actores involucrados en el depósito local de la CAS en las células han sido descritos (Roppolo *et al.*, 2011, Hosmani *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2013). Las proteínas que participarán en la formación de la CAS se localizan en un dominio de la membrana plasmática que guían su formación, el cual es denominado dominio de la banda de Casparian (CASD; Roppolo *et al.*, 2011). El CASD ancla una pequeña sección de membrana plasmática a la pared celular (Alassimone *et al.*, 2010) y recluta las enzimas necesarias para la biosíntesis de lignina (Hosmani *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2013). Se ha demostrado que las proteínas integrales de la membrana no pueden difundir libremente a través de esta región (Alassimone *et al.*, 2010). Como resultado, la CASD crea dos dominios exclusivos y diferentes de la membrana plasmática de la célula endodérmica, reforzando la polarización preexistente en estados tempranos durante la diferenciación de este tipo celular (Ma *et al.*, 2006, 2007; Alassimone *et al.*, 2010), lo que posibilita la localización asimétrica de transportadores y canales de eflujo e influjo en los dominios excluyente de la membrana de la célula de transferencia y con ello permite que el flujo de iones y agua se realice en forma polar desde la corteza hacia el cilindro vascular. Sin embargo, debido a la bidireccionalidad del transporte de agua a través de las acuaporinas, el cual se efectúa a favor del gradien-

te de concentración de osmolitos, se requiere que se genere un potencial hídrico diferencial entre el exterior e interior de la célula, que favorezca la entra de agua; puede suceder cuando existe una condición de sequía, que ocurra un flujo de agua del cilindro central hacia la corteza y de ahí al suelo y por ello exista muy poco aporte de agua a la raíz (Bramley *et al.*, 2007). Un control estricto existe en la expresión de las acuaporinas y su localización, lo que es necesario para un balance adecuado en la captura de agua y minimizar la pérdida en ciertas circunstancias (Bramley *et al.*, 2007).

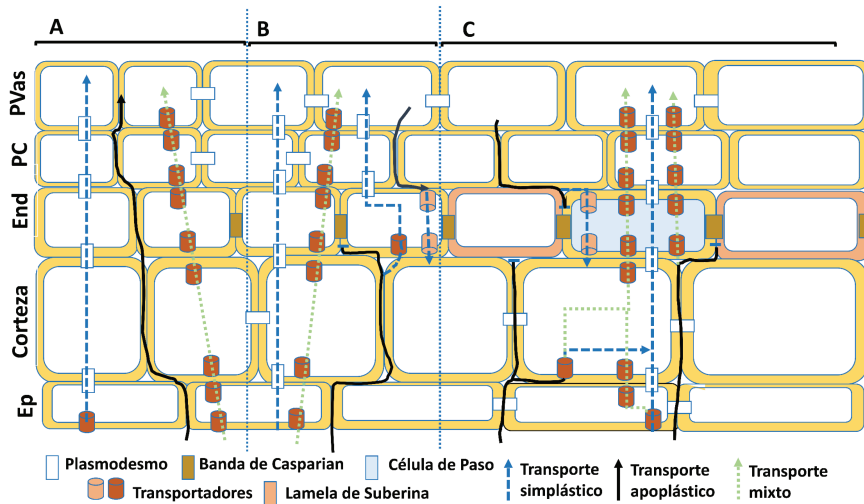


Figura 4. Efecto de la endodermis en el movimiento de agua y nutrientes. A, en el ápice de la raíz en la zona meristemática y de crecimiento o elongación, el movimiento de agua y solutos se realiza desde el suelo al interior de la raíz a través de los espacios apoplásticos (flecha negra continua), o bien los solutos y el agua son incorporados a las células y se movilizan a través de los plasmodesmos que las comunican: transporte simplástico o intercelular (flecha azul punteada); o en forma intracelular, en que parte del movimiento se realiza a través del apoplasto y otra parte los solutos y el agua son incorporados al interior de las células por transportadores/canales (flechas verdes punteadas). B, en la zona de maduración basal, se realiza la diferenciación de la endodermis en que se da el depósito de lignina en la banda de Casparian y se previene el libre flujo del agua y nutrientes por la vía apoplástica; por lo que el agua y los nutrientes deben ser incorporados a través de las células de paso de la endodermis, en conjunto con la movilización por la vía simplástica de la corteza a la endodermis, se descargan solutos y agua en el cilindro central o parte interna de la raíz. C, en la zona de maduración distal, el depósito de

lignina y suberina en las paredes laterales y basal que ve hacia el cilindro central en la mayoría de las células endodérmicas, genera una barrera a la difusión; por lo cual, hace que solo aquellas células que no depositan lignina y suberina en la cara externa en contacto con la corteza ni en la base en contacto con el cilindro central, se transformen en células de transferencia o de paso de la endodermis. Los solutos y agua incorporados por la epidermis y la corteza se transfieren a través de los plasmodesmos a las células de paso (sistema simplástico) o estos nutrimentos que se acumulan en la cara externa de la endodermis por medio de un sistema apoplástico se incorporan y transfieren al interior de la célula de transferencia a través de un mecanismo dependiente de energía en la membrana plasmática, y ser posteriormente descargadas activamente al cilindro central. El depósito de la banda lignina/suberina previene el flujo apoplástico a través de la endodermis, impidiendo que el agua y los solutos que están en el cilindro central a su vez, no pueden difundir a la corteza o de forma inversa. Símbolos; Ep, epidermis; End, endodermis; PC, periciclo; PVas, parénquima vascular. Figura modificada de Geldner, 2013.

2. Establecimiento de la polaridad y determinación del dominio de membrana plasmática en la formación de la Banda de Casparian

La característica más distintiva de la endodermis de la raíz es la presencia de la banda de Casparian (CAS), un depósito de material localizado en una banda en la pared celular que genera una barrera física al flujo apoplástico de agua y nutrimentos entre células vecinas, aislando el cilindro vascular de la corteza (Fig. 2C; Esau, 1977). La composición química de la CAS se conoce desde mediados del siglo XX, pero poco se ha dilucidado en el mecanismo mediante el cual se estructura en la parte ecuatorial de las paredes de estas células (Esau, 1977). Se ha obtenido un progreso en la identificación de los genes específicos requeridos para el desarrollo de la endodermis en *Arabidopsis* (Birnbaum *et al.*, 2003; Roppolo *et al.*, 2011, 2014). A la familia de genes *UPF0497* sin caracterizar completamente, pertenecen cinco genes designados *CASP1* a *CASP5* (Roppolo *et al.*, 2011). La familia de genes comprende 38 miembros en *Arabidopsis*, solamente *CASP1-5* se expresan en un patrón consistente con la función específica de la endodermis de la raíz. Se predice que *CASP1-5* son proteínas integrales de membrana y poseen una secuencia conservada en su dominio extracelular, se encuentran localizadas en el región de la membrana plasmática que coincide con la formación de la CAS, conocido a partir de ello, como el dominio CAS de la membrana plasmática (CASD), su expresión precede al

establecimiento de la formación de la barrera apoplástica de la endodermis, indicando que la CASP no solamente marca el dominio en la membrana, sino además participa activamente en la formación de la CAS; por eso en los doble mutantes *casp1 casp3* son incapaces de acumular los constituyentes de la CAS en la posición establecida (Fig. 5A a 5D; Roppolo *et al.*, 2011).

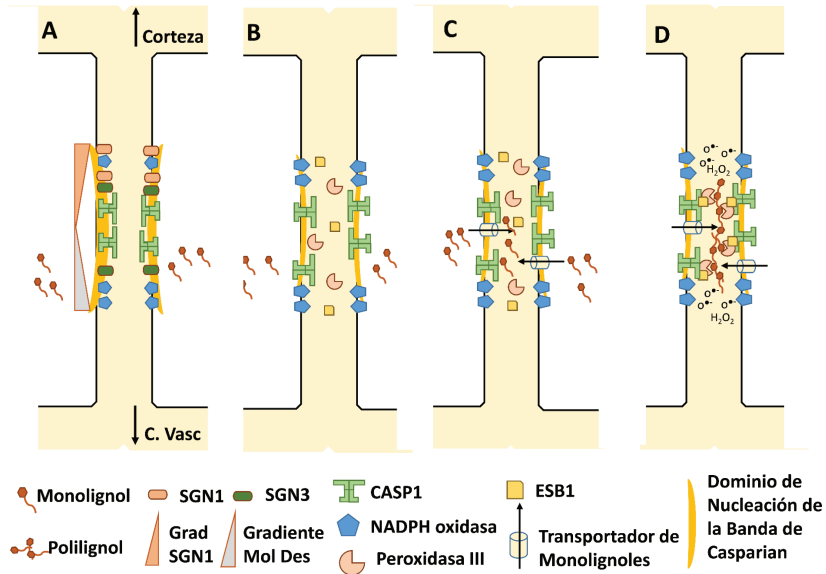


Figura 5. Representación esquemática de la formación de la banda de Casparian. A, para el establecimiento del dominio en la membrana plasmática en donde se formará la Banda de Casparian, se requiere establecer un dominio membranar de nucleación, en donde SGN1 (SCHENGEN1) un miembro de receptores tipo cinasa citoplasmática perteneciente a la clase VII de la familia RLCK y SGN3 (o también llamado GSO1) un receptor tipo cinasa rico en secuencias repetidas de leucina, son necesarios para determinar la identidad de la endodermis, es necesario en particular la nucleación de CASP1 en una banda en la cara lateral de la célula; esto se logra gracias al gradiente generado entre SGN1 que se encuentra en el dominio en la membranar que corresponderá a la banda de Casparian de la parte media al extremo más cortical (señalado en el modelo mediante las rectángulos con un gradiente de color anaranjado), mientras que SGN3 se encuentra homogéneamente distribuido en el dominio de la de la membrana plasmática que corresponde a la banda de Casparian (CASD); debe existir un contragradiante en la cantidad de un componente aún desconocido pero necesario en el CASD que ve hacia la las células del cilindro central, para que entre ambos gradientes se determine la posición

central del dominio que determinará la formación de la banda de Casparian, posición de la membrana en donde se recluta CASP1; existe previamente una polaridad celular entre las caras basales y apicales (lado cortical *vs* lado del cilindro central) en que se encuentran previamente polarizados los transportadores con ubicación específica en cada una de las caras. B, En un inicio CASP1 se encuentra distribuido uniformemente en la membrana plasmática, posteriormente se polariza en el dominio de la banda de Casparian de la membrana plasmática (CASD). C, La ubicación de CASP1 recluta al dominio a la NADPH oxidasa [NOX, o RBOHF (respiratory burst oxidase homologue F)], a las peroxidasas clase III y los transportadores de monolignoles, simultáneamente a nivel intracelular se incrementa la síntesis y exportación de monolignoles. D, con la generación de especies reactivas de oxígeno por la NOX y las peroxidasas clase III se inicia la polimerización de los monolignoles en el apoplasto y con ello la formación de la lignina exclusivamente en el dominio membranal correspondiente a la CASP y con ello la formación de la banda de Casparian. Figura modificada de Roppolo *et al.*, 2011, 2014 y Alassimone *et al.*, 2016.

Las proteínas CASP se reciclan entre la membrana plasmática y el endosoma vía un tráfico sensible a BFA (Befeldrina A) en la fase temprana de la diferenciación de la endodermis, en una etapa más tardía es inmovilizada en la CASD. Una vez fija en la membrana plasmática, las CASP se insolubilizan en la CASD. Las CASP interactúan entre sí, de forma tal que la expresión ectópica de *CASP5* altera la morfología de la membrana del retículo endoplásmico. Se ha propuesto que las CASP son el andamiaje que sirve como una plataforma en el CASD para ubicar a la maquinaria de biosíntesis que modifica la pared celular para formar la CAS (Roppolo *et al.*, 2011). La naturaleza química del andamiaje de las CASP y los componentes que forman el complejo que forman la pared celular no se conoce por completo (Fig. 5B a 5D). Cuando las CASP se expresan ectópicamente fuera de la endodermis, las CASP se dispersan por toda la membrana plasmática, indicando que existe un factor específico en la endodermis, aún no identificado, que determina y/o ubica específicamente al CASD y/o recluta a las CASP (Roppolo *et al.*, 2011).

Las células de la endodermis son polarizadas en una etapa muy temprana, en una fase previa a la especificación del dominio o CASD; lo cual ha sido demostrado por medio de la ubicación diferencial de dos transportadores de boro: NIP5;1 y BOR1 que se encuentran en la membrana plasmática de la endodermis externa e interna respectivamente (Alassimone *et al.*, 2010). Estos transportadores muestran una distribución polarizada en las células

madre del meristemo de la raíz (CEI) desde la etapa embrionaria, en donde esas células aún no han establecido el CASD, la polarización en las células hijas que originarán la endodermis están altamente regulada cuando se forma la CASD y con ello la CAS (Alassimone *et al.*, 2010; Roppolo *et al.*, 2011). Por lo que la CASD no solo funciona como una plataforma de ensamblaje de la maquinaria de síntesis de la CAS, además, funciona como una frontera que separa los dominios externo e interno de la membrana plasmática en las células de la endodermis (Fig. 5A).

El mecanismo molecular por medio del cual el módulo *SHR-SCR* genera la expresión de *CASP1-5* y la identificación de otros genes requeridos para la función especial de la endodermis no se conoce a profundidad. Sin embargo, se han descrito un grupo de genes complementarios que codifican para proteínas que se encuentran en el CASD, *SCHENGEN3* (*SGN3*; también denominado *GSO1*; Tsuwamoto *et al.*, 2008; Pfister *et al.*, 2014), que codifica para un receptor tipo cinasa con secuencia repetitivas de leucina (LRR-RKL) y *SCHENGEN4* (*SGN4*; Lee *et al.*, 2013) que codifica para una NADPHoxidasa denominada RBOHF (respiratory burst oxidase homologue F), que ha sido implicada en diferentes procesos (Torres *et al.*, 2002; Kwak, 2003; Tsuwamoto *et al.*, 2008; Jammes *et al.*, 2009; Jiang *et al.*, 2012) y *SCHENGEN1* (*SGN1*) que codifica para un miembro de la familia de receptores clase VII tipo cinasa citoplasmática (RLKC; Alassimone *et al.*, 2016). Algunos miembros de esta familia de cinasas clase VII residen en la membrana plasmática mediante un mecanismo dinámico de adición de grupos palmitoil al extremo amino terminal de la proteína, que le permite estar anclada a la membrana y disociarse de ella mediante la despalmitolización (Alassimone *et al.*, 2016), adicionalmente, se requiere el extremo carboxiterminal de esta proteína, mientras que el dominio central con la actividad de cinasa no es requerido pero potencia la asociación a la membrana plasmática.

SGN1 está ubicado en una forma estrictamente polar y promueve la posición central de la CASD. El receptor tipo cinasa clase VII *SGN1* constituye un módulo con *SGN3*, un receptor tipo cinasa LRR y en conjunto poseen la capacidad de transducción de la señales. Ambas cinasas actúan en funciones muy cercanas entre sí, aunque no se da en una forma de activación lineal entre *SGN1* y *SGN3*. Para el establecimiento del CASD y en particular del microdominio central en él, se requiere establecer dos gradientes en la

membrana plasmática con dirección invertidas entre sí: entre SGN1 y un factor desconocido; y con SNG3 distribuido homogéneamente en el CASD, aparentemente determinando el dominio membranal o CASD y sus fronteras, de forma tal que se ubique a la CASP1 en el microdominio central de la CASD (Fig. 5A; Alassimone *et al.*, 2016). Para la acumulación inicial de SGN1 en posición central de la membrana lateral de la célula endodérmica, se emplea para su localización la polaridad pre-existente, como lo demuestra la distribución temprana de los dos transportadores de boro.

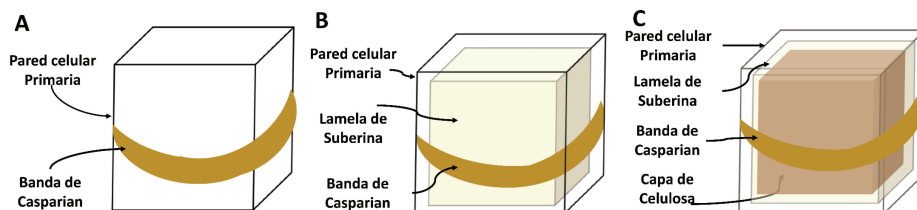


Figura 6. Deposición de la Banda de Casparian en la Endodermis. A, muestra la formación de la Banda de Casparian compuesta por polilignoles, formando la protolignina tipo S, conformada por los residuos del alcohol sinaptil y el alcohol cumaril. B, subsecuentemente en el interior se deposita una lamela o lamina de suberina. C, en algunas especies se deposita por último en la parte más interna de la pared celular una capa de celulosa muy compacta que puede estar lignificada, en la que se forman entrecruzamientos covalentes entre los carbohidratos y los lignanos mediados a través de ferulatos, como ocurre en las Poaceas (pastos).

En un inicio CASP1 se encuentra distribuido uniformemente en la membrana plasmática, bajo una señal de inducción se polariza en la CASD y servirá posteriormente de plataforma para ensamblar la maquinaria de formación de la banda (Fig. 5B). Una vez integrada CASP1 al CASD, sobre ella se recluta a la NADPH oxidasa [NOX, SCHENGEN4 o RBOHF (respiratory burst oxidase homologue F)], a las peroxidasas clase III y a los transportadores de monolignoles al CASD. Simultáneamente existe un aumento en la síntesis de monolignoles en el interior de la célula y en conjunto con la ubicación de los transportadores en la CASD, permite exportar los monolignoles al espacio apoplástico. La presencia *in situ* de la NOX genera especies reactivas de oxígeno (Fig. 5C), las cuales son dismutadas a H_2O_2 que son usadas por la peroxidasa clase III y se inicia la polimerización de los monolignoles en el apoplasto y con ello la formación de la lignina, proceso que solamente ocurre en la zona adyacente a la

membrana plasmática en el dominio de formación de la banda de Casparian (Fig. 5D; Roppolo *et al.*, 2011, 2014 y Alassimone *et al.*, 2016).

Después de la formación y maduración de la CAS, la endodermis se encuentra bajo una segunda fase de diferenciación, la cual consiste en el depósito de una pared celular secundaria entre la pared celular primaria y la membrana plasmática (Fig. 5D y 6). Esta lamela está constituida de suberina, un poliéster alifático altamente resistente a la degradación, pero su eficiencia como una barrera al flujo apoplástico es menor (Gelder, 2013). El mutante *enhanced suberin1 (esb1)*, el que posee defectos en la formación de la CAS, la libre difusión no es bloqueada entre la corteza y el cilindro vascular, este defecto no es compensado por la expresión ectópica que provoca el depósito de suberina en la endodermis (Hosmani *et al.*, 2013). Indicando por tanto que la CAS y la lamela de suberina depositada sobre la célula endodérmica no poseen funciones intercambiables pero que son complementarias entre sí. La lamela de suberina al rodear a la célula por sus caras laterales y basal (la que está expuesta al cilindro central) disminuye la transferencia de solutos y agua del apoplasto al cilindro central. Por lo que la acumulación de nutrimentos en el apoplasto del lado de la corteza, provoca un aumento en la incorporación hacia el interior de las células corticales y estos solutos son movilizados a través de los plasmodesmos hasta la célula de paso de la endodermis; este proceso se ve facilitado porque los estratos externos de la corteza y la epidermis, en particular los pelos radiculares, incrementan la superficie de las membranas plasmáticas, con el aumento en el número de transportadores y canales permitiendo una mayor capacidad de absorción de nutrimentos (Geldner, 2013). Una parte de los solutos pueden ser incorporados desde el apoplasto en la corteza directamente por las células de transferencia o de paso de la endodermis, debido a que estas células no poseen la lámina de suberina en las caras apicales y basales (caras que están expuestas a la corteza y al cilindro central) y así poder permitir el flujo unidireccional. La restricción en la captura de solutos desde el apoplasto cortical por efecto de la endodermis posee un bajo impacto en la movilización de nutrimentos hacia el cilindro vascular, siempre y cuando la corteza y epidermis cumplan eficientemente la entrada de los solutos y éstos sean transportados vía simplástica hasta la endodermis.

El depósito de suberina en la lamela de las células endodérmicas, afecta en una forma diferente el movimiento del agua, en donde la entrada principal de agua se realiza por las células de transferencia de la endodermis, esto se debe a que el flujo de agua a través de los plasmodesmos es menor al flujo del agua a través de la membrana plasmática mediada por las acuaporinas. El depósito de suberina es un factor importante para prevenir el movimiento masivo de agua fuera del cilindro vascular, lo cual es consistente con el mayor depósito de suberina en las regiones con una mayor madurez de la raíz (Naseer *et al.*, 2012) o como respuesta al estrés abiótico (Chen *et al.*, 2011), aunque se han reportado resultados a favor o en contra de esta postura (Steudle y Peterson, 1998; Baxter *et al.*, 2009; Ranathunge y Schreiber, 2011). Los efectos de la lamela de suberina en el movimiento de agua y solutos son dependientes de la capacidad relativa del transporte en la endodermis comparada con la capacidad de incorporación de las capas más externas.

La participación de la CAS es importante en la captura de nutrimentos en particular en las regiones de la raíz donde la CAS se ha formado pero la lamela de la suberina aún no está establecida (Geldner, 2013). Hay que hacer mención, que la pared celular secundaria no se deposita en todas las células de la endodermis (Nasser *et al.*, 2012), se han observado patrones en forma de parches cuando se usan marcadores fluorescentes (fluorol yellow) o la expresión de los genes de biosíntesis de suberina, por lo que existen células de paso o de transferencia las cuales pierden la pared celular secundaria en la proximidad al polo xilemático (Wu *et al.*, 2011; Naseer *et al.*, 2012). Estas células de paso de la endodermis pueden ser regiones para aumentar la capacidad en la captura de nutrientes (Geldner, 2013); así los transportadores de fosfato, PHOSPHATE1 (PHO1) se expresan en células individuales de la endodermis que corresponden a las células de paso adyacentes al xilema (Hamburger *et al.*, 2002).

Una vez que se ha depositado la CAS y la lamela de suberina, iones, otros nutrimentos y fitohormonas pueden atravesar la endodermis para principalmente entrar al cilindro vascular, aunque algunos componentes pueden salir de la raíz, por lo que la endodermis se convierte en una capa selectiva en la captura o transferencia de sustancias y es importante en la recepción y transferencia de señales entre las capas celulares de la raíz (Dinneny, 2014).

Lecturas sugeridas

Miyashima S., Nakajima K. "The root endodermis. A hub of developmental signals and nutrient flow." *Plant Signaling and Behavior*. (2011). 6(12): 1954-1958.

Robbins N.E., Trontin C., Duan L., Dinneny J.R. "Beyond the Barrier: Communication in the Root through the endodermis." *Plant Physiology*. (2014). 166: 551-559

Referencias bibliográficas

- **Determinación y formación de la endodermis**

Achard P., Gusti A., Cheminant S., Alioua M., Dhondt S., Coppens F., *et al.* "Gibberellin signaling controls cell proliferation rate in *Arabidopsis*." *Current Biology*. (2009). 19:1188-1193. doi:10.1016/j.cub.2009.05.059.

Alassimone J., Naseer S., Geldner N. "A developmental framework for endodermal differentiation and polarity." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2010). 107:5214-5219. doi:10.1073/pnas.0910772107.

Birnbaum K., Shasha D.E., Wang J.Y., Jung J.W., Lambert G.M., "Galbraith D.W., *et al.* "A gene expression map of the *Arabidopsis* root." *Science*. (2003). 302:1956-1960. doi:10.1126/science.1090022.

Blilou I., Xu J., Wildwater M., Willemsen V., Paponov I., Friml J., *et al.* "The PIN auxin efflux facilitator network controls growth and patterning in *Arabidopsis* roots." *Nature*. (2005). 433:39-44. doi:10.1038/nature03184.

Brady S.M., Orlando D.A., Lee J.Y., Wang J.Y., Koch J., Dinneny J.R., *et al.* "A high-resolution root spatiotemporal map reveals dominant expression patterns." *Science*. (2007). 318:801-806. doi:10.1126/science.1146265.

Carlsbecker A., Lee J.Y., Roberts C.J., Dettmer J., Lehesranta S., Zhou J., *et al.* "Cell signalling by microRNA165/6 directs gene dose-dependent root cell fate." *Nature*. (2010). 465:316-321. doi:10.1038/nature08977.

Cui H., Levesque M.P., Vernoux T., Jung J.W., Paquette A.J., Gallagher K.L., *et al.* "An evolutionarily conserved mechanism delimiting SHR movement defines a single layer of endodermis in plants." *Science*. (2007). 316:421-425. doi:10.1126/science.113953113.

Dello Loio R., Nakamura K., Moubayidin L., Perilli S., Taniguchi M., Morita M.T., *et al.* "A genetic framework for the control of cell division and differentiation in the root meristem." *Science*. (2008). 322:1380-1384. doi:10.1126/science.1164147.

Di Laurenzio L., Wysocka-Diller J., Malamy J.E., Pysh L., Helariutta Y., Freshour G., *et al.* "The SCARECROW gene regulates an asymmetric cell division that is essential for generating the radial organization of the *Arabidopsis* root." *Cell*. (1996). 86:423-433. doi:10.1016/S0092-8674(00)80115-4.

Dolan L., Janmaat K., Willemsen V., Linstead P., Poethig S., Roberts K., *et al.* "Cellular organisation of the *Arabidopsis thaliana* root." *Development*. (1993). 119:71-84.

Emery J.F., Floyd S.K., Alvarez J., Eshed Y., Hawker N.P., Izhaki A., *et al.* "Radial patterning of *Arabidopsis* shoots by class III HD-ZIP and KANADI genes." *Current Biology*. (2003). 13:1768-1774. doi:10.1016/j.cub.2003.09.035.

Esau K. "The root: Primary state of growth." *Anatomy of Seed Plants*. New York: John Wiley & Sons. (1977). 215-42.

Green K.A., Prigge M.J., Katzman R.B., Clark S.E. "CORONA, a member of the Class III homeodomain Leucine Zipper Gene Family in *Arabidopsis*, regulates stem cell specification and organogenesis." *The Plant Cell*. (2005). 17:691-704. doi:10.1105/tpc.104.026179.

Harberd N.P., Belfield E., Yasumura Y. "The angiosperm gibberellin-GID1-DELLA growth regulatory mechanism: how an "inhibitor of an inhibitor" enables flexible response to fluctuating environments." *The Plant Cell*. (2009). 21:1328-1339. doi: 10.1105/tpc. 109.066969.

Helariutta Y., Fukaki H., Wysocka-Diller J., Nakajima K., Jung J., Sena G., *et al.* "The *SHORT-ROOT* gene controls radial patterning of the *Arabidopsis* root through radial signaling." *Cell*. (2000). 101:555-67. doi:10.1016/S0092-8674(00)80865-X.

Heo J.O., Chang K.S., Kim I.A., Lee M.H., Lee S.A., Song S.K., *et al.* "Funneling of gibberellin signaling by the GRAS transcription regulator scarecrow-like3 in the *Arabidopsis* root." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2011). 108:2166-2171. doi:10.1073/pnas.1012215108.

Hirano Y., Nakagawa M., Suyama T., Murse K., Shirakawa M., Takayama S., Sun T.P., Hakoshima T. "Structure of the SHR-SCR heterodimer bound to the BIRD/IDD transcriptional factor JKD." *Nature Plants*. (2017). 3:17010

- Kidner C., Sundaresan V., Roberts K., Dolan L. "Clonal analysis of the *Arabidopsis* root confirms that position, not lineage, determines cell fate." *Planta*. (2000). 211:191-199. doi:10.1007/s004250000284.
- Levesque M.P., Vernoux T., Busch W., Cui H., Wang J.Y., Blilou I., *et al.* "Whole-genome analysis of the SHORTROOT developmental pathway in *Arabidopsis*." *PLoS Biology*. (2006). 4:143. doi:10.1371/journal.pbio.0040143.
- McConnell J.R., Emery J., Eshed Y., Bao N., Bowman J., Barton M.K. "Role of *PHABULOSA* and *PHAVOLUTA* in determining radial patterning in shoots." *Nature*. (2001). 411:709-713. doi:10.1038/35079635.
- Miyashima S., Koi S., Hashimoto T., Nakajima K. "Non cell-autonomous microRNA165 acts in a dose-dependent manner to regulate multiple differentiation status in the *Arabidopsis* root." *Development*. (2011). 138:2303-2313. doi:10.1242/dev.060491.
- Moubayidin L., Perilli S., Dello Ioio R., Di Mambro R., Costantino P., Sabatini S. "The rate of cell differentiation controls the *Arabidopsis* root meristem growth phase." *Current Biology*. (2010). 20:1138-1143. doi:10.1016/j.cub.2010.05.035.
- Nakajima K., Sena G., Nawy T., Benfey P.N. "Intercellular movement of the putative transcription factor SHR in root patterning." *Nature*. (2001). 413:307-311. doi:10.1038/35095061.
- Ochando I., Jover-Gil S., Ripoll J.J., Candela H., Vera A., Ponce M.R., *et al.* "Mutations in the microRNA complementarity site of the *INCURVATA4* gene perturb meristem function and adaxialize lateral organs in *Arabidopsis*." *Plant Physiology*. (2006). 141:607-619; doi:10.1104/pp.106.077149.
- Prigge M.J., Otsuga D., Alonso J.M., Ecker J.R., Drews G.N., Clark S.E. "Class III Homeodomain-Leucine Zipper gene family members have overlapping, antagonistic and distinct roles in *Arabidopsis* development." *The Plant Cell*. (2005). 17:61-76. doi:10.1105/tpc.104.026161.
- Roppolo D., De Rybel B., Tendon V.D., Pfister A., Allassimone J., Vermeer J.E., *et al.* "A novel protein family mediates Casparian strip formation in the endodermis." *Nature*. (2011). 473:380-383. doi:10.1038/nature10070.

Scheres B., Wolkenfelt H., Willemsen V., Terlouw M., Lawson E., Dean C., *et al.* "Embryonic origin of the *Arabidopsis* primary root and root meristem initials." *Development*. (1994). 120:2475-2487.

Smith Z.R., Long J.A. "Control of *Arabidopsis* apical basal embryo polarity by antagonistic transcription factors." *Nature*. (2010). 464:423-426. doi: 10.1038/nature08843.

Sozzani R., Cui H., Moreno-Risueno M.A., Busch W., Van Norman J.M., Vernoux T., *et al.* "Spatiotemporal regulation of cell cycle genes by SHORTROOT links patterning and growth." *Nature*. (2010). 466:128-312. doi: 10.1038/nature09143.

Talbert P.B., Adler H.T., Parks D.W., Comai L. "The REVOLUTA gene is necessary for apical meristem development and for limiting cell divisions in the leaves and stems of *Arabidopsis thaliana*." *Development*. (1995). 121: 2723-2735.

Ubeda-Tomás S., Swarup R., Coates J., Swarup K., Laplaze L., Beemster G.T., *et al.* "Root growth in *Arabidopsis* requires gibberellin/DELLA signaling in the endodermis." *Nature Cell Biology*. (2008). 10: 625-628. doi:10.1038/ncb1726.

Ubeda-Tomás S., Federici F., Casimiro I., Beemster G.T., Bhalerao R., Swarup R., *et al.* "Gibberellin signaling in the endodermis controls *Arabidopsis* root meristem size." *Current Biology*. (2009). 19:1194-1199. doi:10.1016/j.cub.2009.06. 023.

van den Berg C., Willemsen V., Hage W., Weisbeek P., Scheres B. "Cell fate in the *Arabidopsis* root meristem determined by directional signalling." *Nature*. (1995). 378:362-365. doi:10.1038/378062a0.

van den Berg C., Willemsen V., Hendriks G., Weisbeek P., Scheres B. "Short-range control of cell differentiation in the *Arabidopsis* root meristem." *Nature*. (1997). 390:287-289. doi:10.1038/36856.

Verbelen J.P., De Cnodder T., Le J., Vissenberg K., Baluska F. "The root apex of *Arabidopsis thaliana* consists of four distinct zones of growth activities: meristematic zone, transition zone, fast elongation zone and growth terminating zone." *Plant Signaling and Behavior*. (2006). 1:296-304. doi:10.4161/psb.1.6.3511.

Zentella R., Zhang Z.L., Park M., Thomas S.G., Endo A., Murase K., *et al.* "Global analysis of DELLA direct targets in early gibberellin signaling in *Arabidopsis*." *The Plant Cell*. (2007). 19:3037-3057. doi: 10.1105/tpc.107.054999.

Zhang Z.L., Ogawa M., Fleet C.M., Zentella R., Hu J., Heo J.O., *et al.* “Scarecrow-like 3 promotes gibberellin signaling by antagonizing master growth repressor DELLA in *Arabidopsis*.” *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA.* (2011). 108:2160-2165. doi:10.1073/pnas.1012232108.

- **Establecimiento de la polaridad celular y de la banda de Casparian**

Alassimone J., Fujita S., Doblas V.G., van Dop M., Barberon M., Kalmbach L., Vermeer J.E.M., Rojas-Murcia N., Santuari L., Hardtke C.S., Geldner N. “Polarly localized kinase SGN1 is required for Casparian strip integrity and positioning.” *Nature Plants.* (2016). 2: 16113. doi: 10.1038/nplants.2016.113

Alassimone J., Naseer S., Geldner N. “A developmental framework for endodermal differentiation and polarity.” *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA.* (2010). 107: 5214–5219.

Bao Y., Aggarwal P., Robbins N.E., Sturrock C.J., Thompson M.C., Tan H.Q., Tham C., Duan L., Rodriguez P.L., Vernoux T., *et al.* “Plant roots use a patterning mechanism to position lateral root branches toward available water.” *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA.* (2014). 111: 9319–9324.

Baxter I., Hosmani P.S., Rus A., Lahner B., Borevitz J.O., Muthukumar B., Mickelbart M.V., Schreiber L., Franke R.B., Salt D.E. “Root suberin forms an extracellular barrier that affects water relations and mineral nutrition in *Arabidopsis*.” *PLoS Genetics.* (2009). 5: e1000492.

Bramley H., Turner D.W., Tyerman S.D., Turner N.C. “Water flow in the roots of crop species: the influence of root structure, aquaporin activity, and waterlogging.” *Advances in Agronomy.* (2007). 96: 133–196.

Cassab G.I., Eapen D., Campos M.E. “Root hydrotropism: an update.” *American Journal of Botany.* (2013). 100: 14–24.

Chaumont F., Tyerman S.D. “Aquaporins: highly regulated channels controlling plant water relations.” *Plant Physiology.* (2014). 164: 1600–1618.

Chen T., Cai X., Wu X., Karahara I., Schreiber L., Lin J. “Casparian strip development and its potential function in salt tolerance.” *Plant Signaling and Behavior.* (2011). 6: 1499–1502.

Dinneny J.R. “A gateway with a guard: how the endodermis regulates growth through hormone signaling.” *Plant Science.* (2014). 214: 14–19.

- Enstone D.E., Peterson C.A., Ma F. "Root endodermis and exodermis: structure, function, and responses to the environment." *Journal of Plant Growth Regulation*. (2002). 21: 335–351.
- Galvan-Ampudia C.S., Julkowska M.M., Darwish E., Gandullo J., Korver R.A., Brunoud G., Haring M.A., Munnik T., Vernoux T., Testerink C. "Halotropism is a response of plant roots to avoid a saline environment." *Current Biology*. (2013). 23: 2044–2050.
- Geldner N. "The endodermis". *Annual Review of Plant Biology*. (2013). 64: 531–558.
- Gilliam M., Dayod M., Hocking B.J., Xu B., Conn S.J., Kaiser B.N., Leigh R.A., Tyerman S.D. "Calcium delivery and storage in plant leaves: exploring the link with water flow." *Journal of Experimental Botany*. (2011). 62: 2233–2250.
- Hamburger D., Rezzonico E., MacDonald-Comber Petétot J., Somerville C., Poirier Y. "Identification and characterization of the *Arabidopsis* *PHO1* gene involved in phosphate loading to the xylem." *The Plant Cell*. (2002). 14: 889–902.
- Hosmani P.S., Kamiya T., Danku J., Naseer S., Geldner N., Guerinot M.L., Salt D.E. "Dirigent domain-containing protein is part of the machinery required for formation of the lignin-based Casparian strip in the root." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2013). 110: 14498–14503.
- Jammes F., Song C., Shin D., Munemasa S., Takeda K., Gu D. *et al.* "MAP kinases MPK9 and MPK12 are preferentially expressed in guard cells and positively regulate ROS-mediated ABA signaling." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2009). 106, 20520–20525
- Jiang C., Belfield E.J., Mithani A., Visscher A., Ragoussis J. *et al.* "ROS-mediated vascular homeostatic control of root-to-shoot soil Na delivery in *Arabidopsis*." *The EMBO Journal*. (2012). 31, 4359–4370.
- Kwak J.M., Mori I.C., Pei Z.M., Leonhardt N., Torres M.A. *et al.* "NADPH oxidase *AtrbohD* and *AtrbohF* genes function in ROS-dependent ABA signaling in *Arabidopsis*." *The EMBO Journal*. (2003). 22, 2623–2633.
- Lee Y., Rubio M.C., Alassimone J., Geldner N. "A mechanism for localized lignin deposition in the endodermis." *Cell*. (2013). 153, 402–412
- Lynch J.P. "Steep, cheap and deep: an ideotype to optimize water and N acquisition by maize root systems." *Annals of Botany*. (2013). 112: 347–357.

- Ma J.F., Tamai K., Yamaji N., Mitani N., Konishi S., Katsuhara M., Ishiguro M., Murata Y., Yano M. "A silicon transporter in rice." *Nature*. (2006) 440: 688–691.
- Ma J.F., Yamaji N., Mitani N., Tamai K., Konishi S., Fujiwara T., Katsuhara M., Yano M. "An efflux transporter of silicon in rice." (2007). *Nature*. 448: 209–212.
- Miwa K., Takano J., Omori H., Seki M., Shinozaki K., Fujiwara T. "Plants tolerant of high boron levels." *Science*. (2007). 318: 1417.
- Naseer S., Lee Y., Lapierre C., Franke R., Nawrath C., Geldner N. "Casparian strip diffusion barrier in *Arabidopsis* is made of a lignin polymer without suberin." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2012). 109: 10101–10106.
- Nawrath C., Schreiber L., Franke R.B., Geldner N., Reina-Pinto J.J., Kunst L. "Apoplastic diffusion barriers in *Arabidopsis*. The *Arabidopsis* Book." (2013). 11:e0167. doi/10.1199/tab.0167.
- Péret B., Clément M., Nussaume L., Desnos T. "Root developmental adaptation to phosphate starvation: Better safe than sorry." *Trends in Plant Science*. (2011). 16: 442–450.
- Pfister A., Barberon M., Alassimone J., Kalmbach L., Lee Y., Vermeer J.E. *et al.* "A receptor-like kinase mutant with absent endodermal diffusion barrier displays selective nutrient homeostasis defects." *eLife* (2014). 3,e03115.
- Ranathunge K., Schreiber L. "Water and solute permeabilities of *Arabidopsis* roots in relation to the amount and composition of aliphatic suberin." *Journal of Experimental Botany*. (2011). 62: 1961–1974.
- Raven J.A., Edwards D. "Roots: evolutionary origins and biogeochemical significance." *Journal of Experimental Botany*. (2001). 52: 381–401.
- Roppolo D., De Rybel B., Tendon V.D., Pfister A., Alassimone J., Vermeer J.E., Yamazaki M., Stierhof Y.D., Beeckman T., Geldner N. "A novel protein family mediates Casparian strip formation in the endodermis." *Nature*. (2011) 473: 380–383.
- Roppolo D., Boeckmann B., Pfister A., Boutet E., Rubio M.C. *et al.* "Functional and evolutionary analysis of the CASPARIAN STRIP MEMBRANE DOMAIN PROTEIN family." *Plant Physiology*. (2014). 165, 1709–1722.

Schaaf G., Honsbein A., Meda A.R., Kirchner S., Wipf D., von Wirén N. “*AtL-REG2* encodes a tonoplast transport protein involved in iron-dependent nickel detoxification in *Arabidopsis thaliana* roots.” *Journal of Biological Chemistry*. (2006). 281: 25532–25540.

Steudle E., Peterson C.A. “How does water get through roots?” *Journal of Experimental Botany*. (1998). 49: 775–788.

Torres M.A., Dangl J.L., Jones J.D.G. “*Arabidopsis* *gp91^{phox}* homologues *AtrbohD* and *AtrbohF* are required for accumulation of reactive oxygen intermediates in the plant defense response.” *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2002). 99, 517–522.

Tsuwamoto R., Fukuoka H., Takahata Y. “*GASSHO1* and *GASSHO2* encoding a putative leucine-rich repeat transmembrane-type receptor kinase are essential for the normal development of the epidermal surface in *Arabidopsis* embryos.” *The Plant Journal*. (2008). 54, 30–42

Wu H., Jaeger M., Wang M., Li B, Zhang B.G. “Three-dimensional distribution of vessels, passage cells and lateral roots along the root axis of winter wheat (*Triticum aestivum*).” *Annals of Botany*. (2011). 107: 843–853.

V. Cilindro vascular

A. Aspectos Generales

1. *Cilindro Central*

En el desarrollo embrionario se establece la raíz embrionaria que posee una simetría radial, esta raíz en el caso de las eudicotiledoneas se transformará en la raíz principal de un sistema radicular denominado axonomorfo. Bajo esta simetría radial se encuentran ordenados los sistemas tisulares, en la parte externa el tejido dérmico con una epidermis y los pelos radiculares, hacia el interior una corteza con varios estratos, en que se encuentra el sistema tisular fundamental o de crecimiento, conformado principalmente de células del parénquima, que rodea a una endodermis. En la parte central se localiza el cilindro central que contiene a su vez al cilindro vascular.

El cilindro central (Fig. 1A), colinda con la endodermis y la capa de células que está en contacto con ella es el periciclo, que puede estar conformado por uno o varios estratos dependiendo de la especie. El periciclo son células pluripotenciales y puede ser considerado como parte del cilindro vascular debido a que deriva de la misma estirpe celular que dio origen al procambium en la embriogénesis. El periciclo puede proliferar y da origen a nuevas células hijas que mantendrán el número de células pluripotenciales en la estructura. En raíces jóvenes, el periciclo está compuesto de células con paredes primarias delgadas, a diferencia de lo encontrado en las raíces adultas en que se presenta un crecimiento secundario y estas paredes pueden contener lignina. El periciclo juega un papel importante en la generación de las raíces laterales. En plantas que presentan un crecimiento secundario (crecimiento que genera grosor en la estructura) el periciclo contribuye a la formación del cambium vascular en los polos xilemáticos y floemáticos; y durante el crecimiento secundario puede originar al felógeno, del cual genera varios estratos de células suberinizadas.

La parte central del centro del cilindro central compuesta por el sistema tisular vascular, conformado por xilema y floema, el arreglo anatómico de estos dos componentes se conoce como protoestela (ver más adelante). El xilema está constituido por elementos de vaso alineados entre sí, formando estructuras lineares o arcos que se proyectan desde el centro hacia la peri-

feria del cilindro central (Fig. 1A). Esta distribución se encuentra en las dicotiledóneas, como el caso de *Arabidopsis thaliana*, poseen dos arcos alineado entre si y dispuestos en un arreglo radial, en donde el xilema ocupa la parte central (Fig. 1A, células en dos tonos de verde); estos arcos se encuentran bordeados por ambos lados por el procambium, el cual es mantenido en edad adulta (Fig. 1A, células en dos tonos de amarillo) y entre las proyecciones o arcos del xilema hacia la periferia se encuentra el floema primario o polos floemáticos, estructura que esta en contacto con el periciclo (Fig. 1A, células en dos tonos de cafe); permitiendo de esta forma poseer un mecanismo robusto que determina el arreglo espacial de cada tipo celular (Caño-Delgado *et al.*, 2010). El número de arcos del xilema primario puede variar dependiendo de la especie, de forma tal que algunas raíces poseen dos, por lo que se denominan diarcas, si son tres, triarcas, si son cuatro arcos, tetraarcas, y si el número de ellos es mayor, se denomina poliarcas. Los elementos de vaso primarios que inicialmente se diferencian conforman el protoxilema (Fig. 1A, células en verde claro), los cuales se encuentran cercanos al periciclo, a lo que se denomina polo protoxilemático. Los elementos traqueidales metaxilemáticos, se encuentra localizados hacia la parte central del cilindro vascular y se diferencian en forma desfasada y posterior al protoxilema (Fig. 1A, células en verde oscuro). Las raíces de los cereales, poseen un sistema radicular fibrilar, la raíz embrionario posee una vida media muy corta y es sustituida por raíces adventicias; sin embargo las raíces mantienen la estructura descrita y el arreglo del sistema vascular presenta una estructura poliarca, en donde la parte central del cilindro vascular se encuentra ocupada por tejido parenquimatoso formando la médula, algunos botánicos la consideran como parte del cilindro vascular debido a su origen procambial y por los haces vasculares distribuidos en este parénquima.

El sistema vascular, en particular a través del xilema se transporta agua y solutos que son incorporados desde los tejidos externos de la raíz, la epidermis y corteza que los transfieren a través de la endodermis (ver capítulo anterior) al cilindro central; una vez ahí, son incorporados al xilema radicular para ser transportados al resto de la planta. Mientras que en dirección inversa, la raíz recibe compuestos elaborados, como sacarosa, y aminoácidos por la vía del floema. En adición al transporte de compuestos, el xilema y el floema conducen moléculas que sirven de señales que coordinan el

metabolismo y crecimiento de la raíz con el resto de la planta, o sirven para coordinar respuestas antes estrés abiótico o biótico.

2. Evolución del tejido de conducción

Las plantas han evolucionado desde estructuras simples a arreglos estructurales más complejos que le han permitido adaptarse a diferentes estilos de vida en la Tierra (Lucas *et al.*, 2013; Niklas, 2013). El paso de la vida acuática a la terrestre trajo como consecuencia un cambio en el desarrollo de los órganos de la planta; con un aumento en las estructuras de soporte, distribución de agua y nutrientes, modificaciones que permiten una mayor eficiencia en el intercambio de gases, con ello la absorción de CO₂ y la eficiencia fotosintética con una menor evapotranspiración y pérdida de agua. En respuesta, las embriofitas (plantas terrestres) generaron estructuras especializadas en la superficie de la planta como una cutícula impermeable, disminuyendo la pérdida de agua por evaporación, lo que conllevó a generar sitios específicos para el intercambio de gases, creándose los estomas; además al aumentar el tamaño, se generó un sistema vascular para proveer un sistema de transporte a larga distancia, que por otra parte coadyuva al soporte de la planta (Lucas *et al.*, 2013; White *et al.*, 2013).

El análisis de diversos tejidos de conducción en varias embriofitas, ha permitido entender el proceso evolutivo que dio origen al sistema vascular de las angiospermas actuales. Las briofitas (plantas no vasculares) poseen células de conducción de agua (water-conducting cell, WCC), las cuales bajo un programa celular de degradación genera un “tipo de elementos de vaso” (Ligrone *et al.*, 2000). En adición, los leptoides son células especializadas en la conducción de alimento (FCC) en musgos de la familia *Polytrichaceae*, muestran algunas características semejantes con los elementos cribosos (SE) del protofloema de las traqueofitas (Ligrone *et al.*, 2000). A pesar de que un número de briofitas poseen WCC y FCC similares al tejido vascular de las plantas vasculares, la relación evolutiva entre el tejido de conducción en plantas vasculares y no-vasculares permanece poco claro (Ligrone *et al.*, 2000, 2012). Se ha demostrado que los factores de transcripción de la familia NAC median la red de regulación para el desarrollo de las WCC, los cuales en forma similar están involucrados en el proceso de desarrollo y diferenciación de los elementos xilemáticos, en las angiospermas como *Arabidopsis thaliana* (Xu *et al.*, 2014).

En las plantas se da una diversidad en los patrones que se encuentran asociados el xilema con respecto al floema, variedad que se muestra en los haces vasculares de los órganos aéreos de la planta. En la mayoría de los casos, los haces vasculares poseen un patrón colateral donde el xilema se encuentra en la parte central en el tallo o adaxial en la hoja (cara dorsal o superior de la lamina foliar) y el floema hacia la parte externa en el tallo o la cara abaxial de la hoja (cara ventral o inferior de la lámina foliar), pudiendo mantener o no un grupo de células pluripotenciales del procambium. En muchas monocotiledóneas, los haces vasculares poseen una organización anfigasal, en donde las células del floema están rodeadas por las células del xilema; por otra parte, la organización anficribal se caracteriza porque el xilema esta rodeado por floema como se ha observado en helechos y en algunas angiospermas (Mauseth, 1988; Furuta *et al.*, 2014a). Patrones más complejos se han encontrado en algunas cucurbitáceas, en donde el floema fascicular forma un patrón bicolateral, con una distribución del floema fascicular localizado a ambos lados del xilema. Existen diferentes tipos de tubos o conductos de savia, como es el floema extrafascicular (EFP) o el interfascicular, que se forma en el tallo y del peciolo, en que los conductos de savia son periféricos o localizados cercano al floema fascicular; los conductos de savia endocíclicos y ectocíclicos localizados dentro o fuera respectivamente del anillo de esclereidas; los conductos de savia comisurales que conectan entre varios tubos cribosos dentro del floema fascicular e interfascicular (Crafts, 1932; Zhang *et al.*, 2012).

B. Xilema

1. Componentes de xilema

El xilema está conformado por conductos que se forman por la asociación entre elementos traqueidales (TE). Existen dos tipos de elementos traqueidales: las traqueidas y los elementos de vaso. Las traqueidas se encuentran ampliamente distribuidas en las gimnospermas; mientras que en las angiospermas predominan los elementos de vaso, aunque existen traqueidas en las zonas de menor transporte (ej: cerca de los bordes de las hojas). Un vaso es una estructura tubular, constituida por el ensamble de los elementos de vaso entre sí, en que el extremo de uno se une al extremo del siguiente.

te elemento de vaso. Las paredes terminales de cada elemento de vaso se encuentran perforadas, a lo que se denomina placa perforada, y dependiendo del número de perforaciones, constituyen placas multiperforadas hasta uniperforadas, que esta relacionada a cada especie. Las placas perforadas pueden ser disueltas o degradadas en varios grados durante el desarrollo de los elementos de vaso. Los elementos de vaso evolucionaron de una traqueida en las primeras angiospermas, con una tendencia a aumentar la anchura del vaso con un decremento en la longitud del mismo y con placas uniperforadas, en donde la perforación es amplia.

Los TE, poseen una ventaja adaptativa, al ser células muertas han perdido todos sus componentes, a excepción de las paredes primarias que asocia entre sí a los TE y con otras células adyacentes, y con paredes secundarias lignificadas que dan soporte a la estructura. La pérdida de la membrana plasmática, vacuolas y de la mayoría de los organelos durante su maduración, elimina con ello los lípidos membranales y con ello regiones hidrofóbicas, con esto permite aumentar la conductancia hídrica entre los elementos de vaso que conforman los conductos xilemáticos, o la transferencia de agua y solutos entre una traqueida y otra traqueida. Se ha estimado que la conductancia en un vaso xilemático formado por 10 elementos de vaso, es aproximadamente de $7.7 \times 10^{-8} \text{m}^3 \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$; estimándose que la resistencia hidráulica, que es la fuerza opuesta a la conductancia es de $1.3 \times 10^7 \text{sM-Pam}^{-3}$. Para una membrana plasmática, al considerar una sección circular de $50 \mu\text{m}$ de diámetro, con una alta actividad de acuaporinas, tendría una conductancia hidráulica de $5.9 \times 10^{-15} \text{m}^3 \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$, con una resistencia hidráulica de $1.7 \times 10^{14} \text{sM-Pam}^{-3}$; lo que implica que la suma de 20 caras celulares en un conducto de 10 células en que se tuvieran su membrana plasmática, poseería una resistencia hidráulica con un valor de $3.4 \times 10^{15} \text{sM-Pam}^{-3}$, lo que es 260 millones de veces (10^{-7} vs 10^{-15}) la resistencia hidráulica de un conducto abierto, por lo que para obtener el mismo flujo hidráulico a través de un conducto de células vivas con su membrana plasmática, se debería de tener un gradiente de presión de 260×10^6 , lo cual es un valor fuera del rango fisiológico normal (Sperry, 2003; Patrick et al, 2015).

El diámetro de los elementos de vaso (15 a $300 \mu\text{m}$) es una característica importante en la conductancia hidráulica, la cual varía dependiendo de la especie, el estado fisiológico y su localización. Las traqueidas poseen un diá-

metro menor (10 a 50 μm) y son mucho más largas que los elementos de vaso (6 a 11 mm *vs* 50 a 100 μm respectivamente), implicando que las traqueidas poseen una mayor superficie de pared celular, además de no poseer una placa perforada, contribuye a una menor transporte de agua en comparación con los vasos. Los vasos conformados por el alineamiento de varios elementos de vaso, pueden tener una longitud de unos centímetros a metros, en donde el agua puede fluir dentro del vaso y/o puede fluir lateralmente entre vasos alineados entre sí, en que las paredes celulares contiguas entre los elementos de vaso poseen pequeñas perforaciones en su pared celular lignificada denominados punteaduras o “pit de membrana”, debido a que se mantiene la pared celular primaria de ambos elementos de vaso con la lámina media que las une formando esta una “membrana” que no impide la difusión de agua, pero limita el paso de burbujas de aire a través de estas paredes (Patrick *et al.*, 2015).

2. Auxina y citocinina en el establecimiento del xilema en el embrión y el desarrollo de la raíz

El desarrollo del sistema vascular de la raíz involucra a la comunicación celular, con el movimiento intracelular de moléculas de señalamiento, factores de transcripción y la interacción entre ligandos/receptores en el apoplasto, la membra, citoplasma o en el núcleo (Hirakawa *et al.*, 2011; Miyashima *et al.*, 2012).

Se sabe que las fitohormonas juegan un papel importante en la iniciación del tejido vascular y la formación del xilema (Berleth *et al.*, 2000). En particular, la auxina y la citocinina actúan como determinantes críticos en la especificación del tejido vascular. En etapas tempranas del desarrollo embrionario involucra la acción coordinada en la síntesis, transporte y señalamiento de la auxina (Hardtke y Berleth, 1998; Friml *et al.*, 2003; Robert *et al.*, 2013). El factor de transcripción MONOPTEROS/AUXIN RESPONSE FACTOR5 (MP/ARF5) es un regulador crucial del desarrollo temprano del embrión y en el desarrollo del tejido vascular. La expresión de este factor está restringido a las células subprotodérmicas y en donde se comprometerán las células iniciales provasculares (Hamann *et al.*, 2002). La mutación del gen *MP* provoca la pérdida del cilindro vascular en la raíz embrionaria y en el hipocotilo, implicando por lo tanto, defectos en la formación de los elementos traqueidales en la raíz, el tallo y hojas de la plántula. La mutación en el alelo domi-

nante de *MP* no permite el desarrollo de una raíz primaria (Berleth y Jurgens, 1993; Przemeck *et al.*, 1996; Hardtke y Berleth, 1998; Bishopp *et al.*, 2011a).

El gen *TARGET OF MONOPTEROS 5 (TMO5/bHLH32)* y sus homólogos cercanos *TMO5-LIKE (T5L1)* codifican para factores de transcripción, que son inducidos directamente por MP (Schlereth *et al.*, 2010). La expresión de los genes *TMO5* y *T5L1* se detecta en las células madre en el tejido provascular desde el estado globular del desarrollo embrionario y la doble mutante *tmo5 t5l1* exhibe una reducción significativa en el número de células en el cilindro vascular de la raíz, conteniendo solamente un polo floemático y uno xilemático (De Rybel *et al.*, 2013). Efectos idénticos se observan en los mutantes *lonesome highway (lhw; Ohashi-Ito y Bergmann, 2007)*. En el embrión globular, las proteínas *TMO5* y *T5L1* forman heterodímeros con *LHW*, la dimerización se da en las células madre provasculares y más tarde en las células precursoras de xilema durante el desarrollo de la raíz (De Rybel *et al.*, 2013; Ohashi-Ito *et al.*, 2013). Los dímeros de *TMO5-LWH* promueven la producción de citocininas en las células precursoras del xilema, donde esos heterodímeros directamente activan a los genes clave en la biosíntesis de citocininas (CK) de la familia *LONELY GUY (LOG3 y LOG4, Fig. 1B)*.

La aplicación de una citocinina sintética, la benziladenina, causa la pérdida de los vasos protoxilemáticos de la raíz en una forma dependiente de la dosis (Yokoyama *et al.*, 2007; Kondo *et al.*, 2011; Ren *et al.*, 2013). La reducción del contenido de CK por la expresión del gen *CYTOKININ OXIDASE 2 (CKO2)*, el cual codifica para una oxidasa que degrada a las CK, da la formación extra de protoxilema (Mahonen *et al.*, 2006). La cantidad de vasos xilemáticos depende de la cantidad *in situ* de CK (Fig. 2A).

La citocinina es percibida mediante los receptores histidin cinasa de dos componentes *WOL/CRE1/AHK4*, en conjunto con *ARABIDOPSIS HISTIDIN KINASE 2 y 3 (AHK2 y AHK3; Kieber y Schaller, 2014)*. La mutación de dos de ellos provoca la formación de vasos con un protoxilema supernumerario en el cilindro vascular de la raíz, mientras que los triples mutantes poseen un reducido número de células en el cilindro vascular, pero todas ellas desarrollan un protoxilema. Por su parte, la aplicación exógena de citocinina resulta en la pérdida completa del protoxilema de la raíz (Fig. 2B; Scheres *et al.*, 1995; Mahonen *et al.*, 2000, 2006).

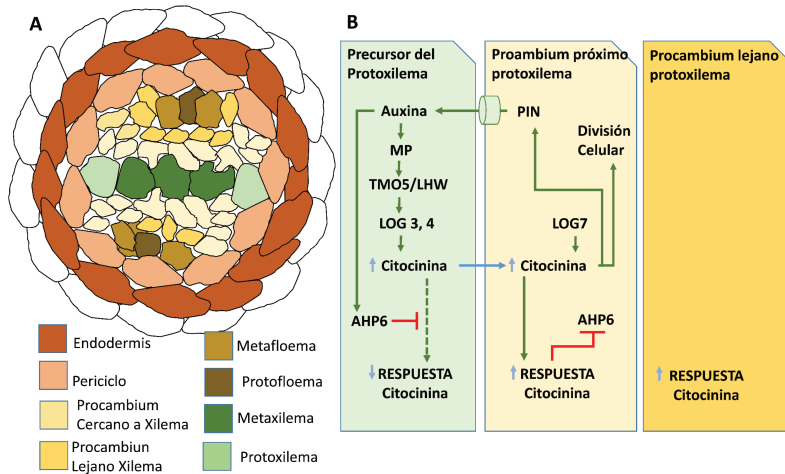


Figura 1. Interacción en la inhibición mutua entre la auxina y la citocinina para la diferenciación y proliferación del procambium. A, se muestra un esquema de la parte central de un corte transversal en la región de maduración de una raíz diarca como la de *Arabidopsis thaliana*. B; Las células precursoras del protoxilema poseen una alta concentración de auxina, lo que provoca que AHP6 y el complejo TMO5-LHW sea abundante en estas células y son responsables de la inducción de *LOG3* y *LOG4*, disparando la síntesis de citocininas, sin embargo, estas células poseen una baja sensibilidad o detección a las citocininas; a diferencia, las células vecinas o del procambium próximo al protoxilema, poseen altas concentraciones de citocininas, parte de la cual proviene de la movilidad de la fitohormona desde las células precursoras del protoxilema, la acumulación de citocinina en el procambium próximo al protoxilema a su vez genera una distribución asimétrica de los PIN, los cuales se polarizan en la membrana colindante con la célula precursora del protoxilema; provocando a su vez un aumento en el flujo de auxina hacia las células precursoras del protoxilema aumentando su concentración en ese compartimento, lo cual hace que se refuerce el ciclo. La difusión de citocininas hacia las células del procambium (ya sea proximal o distal) provoca la proliferación de éstas en respuesta a esta fitohormona. La figura es una modificación de Kondo *et al.*, 2014; Osugi y Sakakibara, 2015; Ruzicka *et al.*, 2015.

La percepción de la citocinina por sus receptores tipo histidin cinasa, involucra la transducción de la señal a través de las proteínas codificadas por la familia de genes *ARABIDOPSIS HISTIDINE PHOSPHATETRANSFER PROTEIN (AHP)*. La mutante quintuple *ahp1 ahp2 ahp3 ahp4 ahp5* exhibe un fenotipo con un

número extra de vasos del protoxilema, similar al fenotipo de los mutantes *ahk* (Hutchison *et al.*, 2006), por lo que la señal de CK regula negativamente la formación de protoxilema vía AHK y AHP (Fig. 2A). Un AHP atípico es ARABIDOPSIS HISTIDIN PHOSPHOTRANSFER PROTEIN 6 (AHP6), en el cual se ha perdido un residuo de histidina necesario para la fosfotransferencia y que está conservado en las demás AHP; AHP6 se expresa en el meristemo apical de tallo (RAM) en la fila de células del futuro vaso xilemático, y los mutantes en que han perdido la función les causa una pérdida parcial de los vasos de xilema (Mahonen *et al.*, 2006). Los resultados muestran que AHP6 funciona como una proteína de pseudo-fosfotransferencia que interfiere en forma competitiva con la fosforilación de las otras AHP, bloqueando de esta forma la señal inducida por las CK (Fig. 2B; Mahonen *et al.*, 2006).

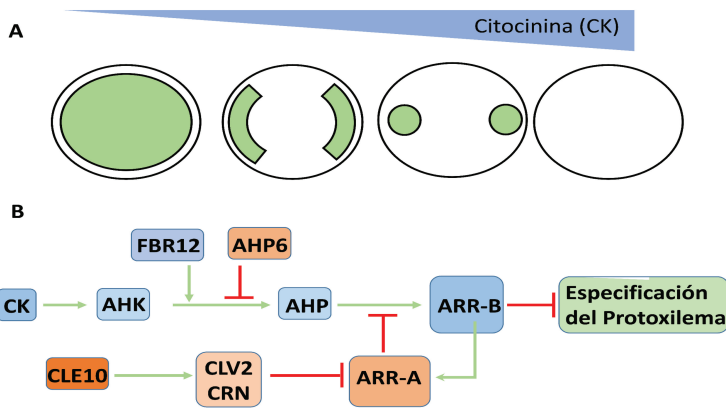


Figura 2. Papel de la vía de señalización de la citocinina. A, Esquema de la de la formación de los dominios del protoxilema (verde) dependiente de la cantidad de citocinina en el cilindro vascular. B, Vía de señalización de la citocinina (CK) y su modulación en la especificación de los elementos traqueidales del protoxilema. Símbolos: AHK, histidin cinasa; AHP, protein-histidin-fosfotransfererasa; CK, citocinina; ARR-A, reguladores tipo A; ARR-B, reguladores tipo B; CLE10, un miembro de los péptidos CLAVATA3/EMBRYO SURROUNDING REGION-RELATED; CLV2/CRN, receptor CLAVATA 2/ transductor de señal CORYNE. Figura modificada de Kondo *et al.*, 2014

La transferencia del grupo fosfato de alta energía a las AHP típicas (1 a 5) es a su vez transferido a los factores de transcripción ARR tipo B (type B ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATOR). La fosforilación de los factores ARR tipo

B son blanco final en la transducción de la señal de la CK, en que la fosforilación los activa y con ello inducen la transcripción de los genes de respuesta a esta fitohormona (Yokoyama *et al.*, 2007; Argyros *et al.*, 2008). La triple mutación, *arr1 arr10 arr12*, desarrolla vasos xilemáticos ectópicos similares a otros mutantes relacionados a la CK (Yokoyama *et al.*, 2007; Ishida *et al.*, 2008). Los factores ARR tipo B fosforilados activan a su vez a los factores ARR tipo A, que regulan negativamente la señal de CK, generando con ello una retroalimentación negativa en la regulación, los factores ARR tipo A interactúan directamente con AHP e interfieren con la inducción de los factores tipo B ARR (To *et al.*, 2004) y con ello se poseen pocos vasos xilemáticos en la raíz lateral pero no en la raíz principal (Ren *et al.*, 2009, 2013; Kondo *et al.*, 2011). La cascada en la vía de señalización inducida por las CK consistente de AHK, AHP y ARR tiene un papel central en la regulación negativa de las células del protoxilema (Fig. 2B).

3. Moduladores de la señal de citocininas que regulan la formación del xilema

Los moduladores de la señal de las CK son un mecanismo fino en el desarrollo del protoxilema. En *Arabidopsis* se han descrito 32 genes que codifican para la familia de péptidos *CLAVATA3/EMBRYO SURROUNDING REGION-related* (CLE; Ito *et al.*, 2006; Jun *et al.*, 2008). Muchos de los péptidos CLE afectan la formación del xilema (Kondo *et al.*, 2011). La presencia del péptido CLE10 en el mutante *arr10 arr12*, en que se muta dos de los factores ARR tipo B, no inhibe la formación de protoxilema (Kondo *et al.*, 2011), se ha establecido que CLE10 regula negativamente a los ARR tipo A, por lo que CLE10 activa la vía de señalamiento inducida por la CK y con ello la disminución en la formación de protoxilema. Los péptidos CLE son percibidos por CLAVATA 2 (CLV2) en conjunto con CORYNE que actúan como el receptor y transducción de la señal de CLE10 (Kondo *et al.*, 2011).

La reducida sensibilidad a las CK en el mutante con pérdida de función de *FUMONISIN BI-RESISTANT 12* (*FBR12*) produce protoxilema extra (Ren *et al.*, 2013), *FBR12* codifica para un factor de iniciación en la traducción de señales, eIF5A, que tiene varias funciones en la interacción con diferentes proteínas y RNA (Thompson *et al.*, 2003; Jao y Chen, 2006; Feng *et al.*, 2007). *FBR12* físicamente y genéticamente interacciona con CRE1/AHK4/WOL y

con AHP, lo cual resulta en un aumento en la señal de las CK (Ren *et al.*, 2013). La modulación de la señal de la CK por varios factores en diferentes etapas de la señalización permite la regulación espacio-temporal final de los dominios del protoxilema (Fig. 2B).

4. Regulación espacial de la citocinina

La importancia de la activación local de la citocinina se observa en etapas tempranas en el desarrollo del tejido vascular. En el ápice de la raíz, el tejido vascular consiste del procambium, protoxilema, metaxilema, protofloema y metafloema (Fig. 1A). La auxina a través de TMO5/LHW activa la expresión específica de *LOG3* y *LOG4* en las células precursoras del protoxilema, también difunde a las células vecinas del procambium donde incrementa la concentración de CK, generando un gradiente de fitohormona entre estos dos dominios (Fig. 1B). La mayor concentración de la fitohormona en las células del procambium permite ser detectada por los receptores AHK4/WOL1/CRE1 que se expresan en el procambium y con ello es percibida y genera una respuesta. La menor concentración de la fitohormona y una expresión muy baja o nula de los receptores de la CK en las células precursoras del protoxilema, impiden que se genere una señal inducida por la CK (Fig. 1B; Ohashi-Ito *et al.* 2014; De Rybel *et al.*, 2014a). Las células del procambium adyacentes al protoxilema, responden a la citocinina más fuerte que la parte distal del procambium. La percepción de las citocininas inhiben la diferenciación del procambium a protoxilema, esta regulación es necesaria para mantener el número de células del procambium y la propia posición de las células durante el desarrollo vascular. La morfogénesis es anormal en el triple mutante *log3 log4 log7*, debido posiblemente a los reducidos niveles de citocinina activa (Ohashi-Ito *et al.* 2014). La expresión en el triple mutante de *LOG3* mediante un promotor específico para las células precursoras del xilema, rescata el fenotipo, mientras que la expresión ectópica de *LOG3* en el floema, no rescata al fenotipo en el mutante; esto implica la necesidad de la biosíntesis y transporte local de las citocininas para la morfogénesis de la raíz.

El dominio en que se forma el xilema requiere de un patrón preciso en el control en la acumulación de las CK. La localización de las auxinas se encuentra en el eje del xilema, mientras que la alta concentración de CK se encuentra en el procambium (Fig. 1B; Bishopp *et al.*, 2011a). El gradiente

en la concentración de auxina se debe a la distribución lateral a través del transporte polar inducido por los PIN3 y PIN7. Los niveles altos de auxina, provocan directamente la expresión de *AHP6* vía elementos de respuesta en el promotor de este gen y esto ocurre en la posición del protoxilema (Bishopp *et al.*, 2011a), lo cual atenúa la señal inducida por las CK (Fig. 1B y 3).

La expresión de *PIN7* se incrementa en respuesta a CK, la mayor cantidad de PIN7 se encuentra en el procambium, dominio de alta concentración y respuesta a la CK (Bishopp *et al.*, 2011a). Cuando se bloquea el transporte simplástico a través de los plasmodesmos mediante la inducción en la expresión del gen *CALLOSE SYNTHASE 3 (CALS3)* que incrementa la síntesis de calosa, se produce la reducción del diámetro del plasmodesmo (Vaten *et al.*, 2011), y se muestra que además existe un transporte de la CK vía el floema que es requerido para el control de la expresión de *PIN7* en el dominio del procambium (Bishopp *et al.*, 2011b; Vaten *et al.*, 2011). Este resultado indica que el transporte basipétalo de la CK al RAM restringe el dominio de respuesta a la auxina en el eje xilemático por medio de una modulación en el transporte lateral de la auxina (Bishopp *et al.*, 2011b).

La mutante *ahk3 cre1* forma xilema ectópico adyacente a los vasos xilemáticos originales (Mahonen *et al.*, 2006; Kondo *et al.*, 2011), resultado que puede ser explicado debido a que el dominio de alta respuesta a la auxina en el eje del xilema se encuentra expandido al reducirse la señal de CK en el mutante (Fig. 2A; Mahonen *et al.*, 2006; Bishopp *et al.*, 2011a; Kondo *et al.*, 2011). La mutua inhibición entre la auxina y la CK permite un establecimiento y manutención precisa de los dominios de formación de los vasos proxilemáticos (Fig. 1B, 3A y 3B).

La citocinina activa, que es transportada desde el tallo a la raíz por el floema, es una fuente externa que afecta la formación de protoxilema en la raíz. Cuando el transporte del floema es bloqueado, se observa una desestabilización del protoxilema (Bishopp *et al.*, 2011b). Sin embargo, la citocinina externa o la de sus metabolitos, es una fuente alterna de fitohormona y no juega un papel decisivo en la determinación del desarrollo del xilema (De Rybel *et al.*, 2014a; Muraro *et al.*, 2014).

La presencia de citocinina, funciona como una señal que promueve la división celular en las células vecinas a las células procambiales (De Rybe *et al.*, 2014a; Ohashi-Ito *et al.*, 2014).

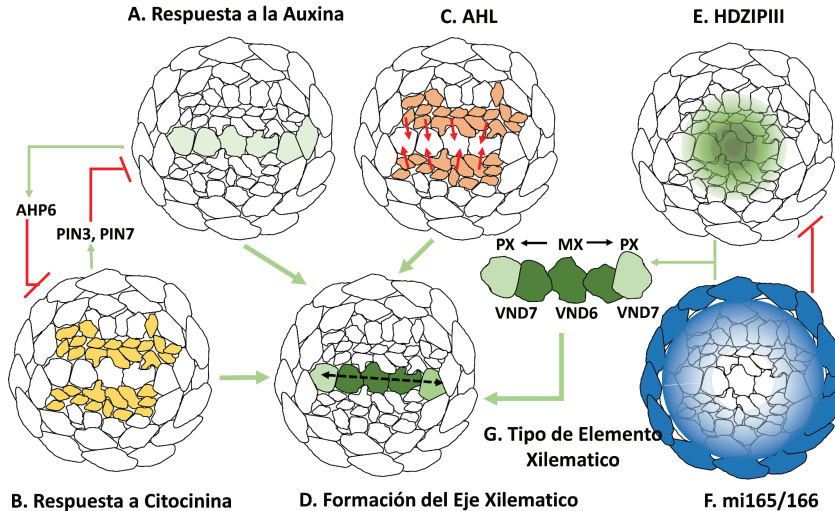


Figura 3. Mecanismo molecular en la determinación del eje con dominio xilemático. La figura muestra el mecanismo en la formación del eje xilemático en el cilindro vascular. Fase I, existe una inhibición mutua entre los dominios de alta cantidad de auxina que definen a las células precursoras del protoxilema y los dominios de alta cantidad/sensibilidad a citocinina que define a las células procambiales. La inhibición de la señal de citocinina a través de AHP6 inducida por de la auxina, altera la acumulación de auxina por el efecto sobre PIN3 y PIN7 en el flujo polar de la fitohormona (A y B). Fase II, el movimiento de AHL juega un papel en la determinación del dominio protoxilemático y del metaxilemático (C), estableciendo una frontera entre el eje xilemático y el dominio del procambium en el cilindro vascular (B, D). Fase III, la determinación de los elementos de vaso en el eje xilemático se establece por la expresión diferencial y movilización de los productos de los genes *MIR165/166* (F) y *HDZIPIII* (E) que determinan el tipo de elemento de vaso que se formará de acuerdo al gradiente entre *HDZIPIII* y *miRNA165/166* (G). Figura modificada con base a Carlsbecker *et al.*, 2010; Kondo *et al.*, 2014; Osugi y Sakakibara, 2015; Ruzicka *et al.*, 2015.

5. Frontera entre el xilema y el procambium

La frontera entre procambium y el eje xilemático está determinada por el movimiento del factor de transcripción AT-HOOK MOTIF NUCLEAR LOCALIZED PROTEIN (AHL; Zhou *et al.*, 2013). En los mutante simples *ahl3* o *ahl4*, se forman vasos ectópicos de protoxilema y de metaxilema respectivamente en la región adyacente al eje del xilema, por lo que el dominio xilemático

se encuentra extendido (Zhou *et al.*, 2013). Este fenotipo es similar con los mutantes con defectos de CK en cuanto al exceso en la formación de protoxilema, pero es distinto en término de la formación extra de los vasos de metaxilema adyacente al metaxilema original. *AHL4* se expresa en el procambium y la proteína es movilizada al dominio del xilema (Fig. 3C; Zhou *et al.*, 2013). El movimiento intracelular es necesario para la correcta formación de la frontera entre el procambium y el xilema (Zhou *et al.*, 2013). La doble mutante *ahl3 ahl4* no presenta fenotipos con severos cambios en el xilema comparado con los mutantes simples, indicando que AH3 y AH4 funcionan en conjunto (Zhou *et al.*, 2013). En la mutante *ahl*, la cantidad de auxina se encuentran alterada, en que altas cantidades de auxina se encuentran en el dominio de respuesta a CK (Zhou *et al.*, 2013), aunque aún la relación entre AHL y la regulación hormonal en la formación del xilema se desconoce.

6. Determinación de la identidad del protoxilema-metaxilema en la raíz

El programa de desarrollo que define el protoxilema y del metaxilema está regulado por cinco factores de transcripción HDZIPIII. A este complejo de regulación está asociado a la acción de dos genes maestros: *SHORT ROOT* (*SHR*) y *SCARECROW* (*SCR*; Carlsbecker *et al.*, 2010), los cuales codifican para factores de transcripción miembros de la familia de genes *GRAS*, los cuales se ha determinado que están involucrados en el establecimiento de la identidad de la endodermis y la corteza (Helariutta *et al.*, 2000; Nakajima *et al.*, 2001; Gallagher *et al.*, 2004; Cui *et al.*, 2007).

El mutante *shr* forma vasos proxilemáticos en la posición de los vasos metaxilemáticos, indicando un interruptor entre el tipo de vasos proxilemáticos a metaxilemáticos (Carlsbecker *et al.*, 2010). En *Arababidopsis*, *SHR* se expresa y se traduce en el cilindro vascular y la proteína se mueve a la capa que se transformará en endodermis (Fig. 4), en donde *SCR* es expresado y es traducido a una proteína que interacciona con la proteína SHR. La interacción de estas dos proteínas en la futura endodermis, provoca la diferenciación a endodermis, y además se activa la expresión de dos genes *MIRNA*, el *MIRNA165* y *MIRNA166* que genera los miRNA correspondientes (Fig. 3F; Carlsbecker *et al.*, 2010)

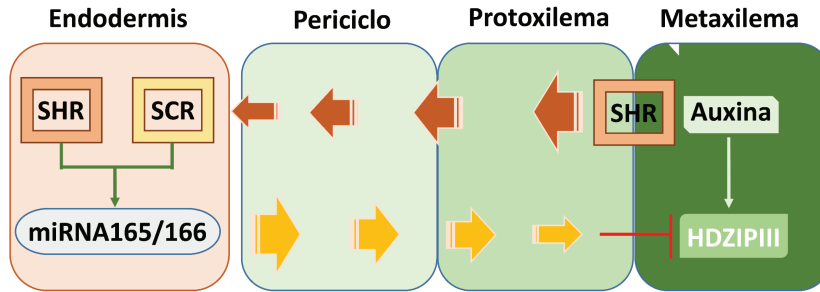


Figura 4. Especificación del xilema. La especificación del protoxilema y metaxilema está bajo el control de la expresión de SHR en el cilindro vascular y la movilización de la proteína hacia las futuras células de la endodermis (flecha azul) la interacción con SCR y la inducción de la expresión y producción de miRNA165/166 in situ; la difusión de los miRNA165/166 desde la endodermis al cilindro vascular (flecha roja) genera un gradiente de concentración y en función de él la represión de HDZIII en el cilindro vascular. Figura modificada de Carlsbecker *et al.*, 2010.

Los miRNA165/166 que se producen en la endodermis se desplazan a su vez a la zona del cilindro vascular, con una mayor concentración en la periferia en comparación al interior del cilindro (Fig. 3F, 4; Carlsbecker *et al.*, 2010). Los miRNA165 y miRNA166 desestabilizan a los mRNA de la familia de HDZIII, en los que se incluye a AtHB8, PHABULOSA (PHB), PHAVOLUTA, REVOLUTA y CORONA/AtHB15 (Prigge *et al.*, 2005; Carlsbecker *et al.*, 2010), que se expresan en alta cantidad en el centro del cilindro vascular (Fig. 3E). La generación de un alelo resistente en el mutante *phb-7b*, los transcritos de los genes *HDZIII* no son inducidos a su degradación por los miRNA165/166, permitiendo la formación ectópica de metaxilema en el lugar donde se forma el protoxilema. Por otra parte, cuando cuatro de los cinco genes del complejo *HDZIII* son afectados en la mutante “knockout”, todos los vasos del metaxilema son reemplazados por protoxilema; lo cual es confirmado por la pérdida del marcador de metaxilema *ACAULIS 5 (ACL5)* y la expresión ectópica del marcador de protoxilema *AHP6* (Mahonen *et al.*, 2006; Muniz *et al.*, 2008; Carlsbecker *et al.*, 2010). La mutación de los cinco miembros de *HDZIII* provoca que las plantas pierdan completamente el xilema. Los genes *HDZIII* controlan la identidad del proto/metaxilema de una manera dosis dependiente

de la cantidad de transcriptos de los genes *HDZIPIII* (Carlsbecker *et al.*, 2010) o bien en la capacidad de la estabilización/desestabilización de los mRNA de *HDZIPIII* (Nakajima *et al.*, 2001; Carlsbecker *et al.*, 2010; Miyashima *et al.*, 2011), observándose que la alta expresión induce la formación de metaxilema, mientras que una baja expresión genera vasos de tipo protoxilemáticos.

Se han aislado mutantes con defectos en *TRF2*, el cual está involucrado en la biosíntesis de triptófano que a su vez media la síntesis de auxina. El mutante en este gen, posee defectos en la formación del metaxilema sin afectar en la misma proporción al protoxilema, por lo que la concentración de auxina esta involucrada en la determinación del metaxilema. La biosíntesis local de auxina regula la actividad de los *HDZIPIII*, determinando el destino del metaxilema (Fig. 4; Ursache *et al.*, 2014). La mutación de varios genes de la vía de biosíntesis de las auxinas a partir de triptófano provoca el decremento en la actividad de los genes *HDZIPIII* y los efectos en el metaxilema; por lo que la inhibición de la síntesis de auxina resulta en la formación ectópica del protoxilema en los sitios que debería estar el metaxilema.

Las vías de señalamiento CLE-WOX son conservadas y están involucradas en el desarrollo de los vasos del metaxilema en arroz (Chu *et al.*, 2013). El péptido CLE en el arroz es FON2-LIKE CLE PROTEIN 2 (FCP2) el cual controla negativamente la expresión de *quiescent-center-specific-homeobox (QHB)*, el cual es un ortólogo de *AtWOX5* de *Arabidopsis* que se expresa en el centro quiescente (CQ) y las células precursoras del metaxilema (Kamiya *et al.*, 2003; Chu *et al.*, 2013). La regulación negativa de *QHB* por la aplicación exógena de FCP2 causa la pérdida de la identidad del metaxilema, dando una división celular aberrante en la posición donde debería de formarse el metaxilema (Chu *et al.*, 2013). Los péptidos CLE, en particular CLE10, inhiben la formación de vasos proxilemáticos en *Arabidopsis* (Kondo *et al.*, 2011), por ello, el papel de la señal de CLE en la regulación del desarrollo del xilema no está conservado entre el arroz y *Arabidopsis*.

Los factores de transcripción con dominios NAC codificados por *ATAF1/2*, *CUC2*, *VASCULAR-RELATED NAC-DOMAIN6 (VND6)* y *VND7*, se han aislado en cultivos de xilema en *Arabidopsis*, los cuales son genes maestros en la regulación de estados tardíos en el desarrollo del xilema (Kubo *et al.*, 2005).

Las mutantes simples *vnd6* o *vnd7* no muestran fenotipos diferentes entre ellos, mientras que la sobreexpresión de estos dos genes en *Arabidopsis* y en el álamo están asociados a la diferenciación de fibras o elementos de vaso en el tallo y raíz, siendo por ello reguladores maestros en la especificación del xilema (Fig. 3G).

B. Floema

1. Componentes de los tubos cribosos

Los elementos cribosos que conforman al floema fueron inicialmente descritos en 1837 por Theodore Harting y los trabajos de Katherin Esau (1972) en microscopía electrónica que pusieron en claro la estructura y función del floema, culminando en la publicación “The Phloem” que es considerada hasta hoy día el trabajo que dio las bases para el estudio de este tejido.

El floema es un tejido que conforma parte del sistema tisular vascular y se encuentra en todas las plantas vasculares, su función es la de distribuir tanto los productos de la fijación del CO₂ por la fotosíntesis y de diversas moléculas desde los órganos productores al resto de la planta. El mecanismo de transporte a través del floema se basa en el flujo de masas, en forma predominante para el transporte de la sacarosa (Munch, 1930). El floema es el medio a través del cual los diferentes órganos de la planta pueden intercambiar señales, tales como fitohormonas, péptidos, proteínas, RNA, metabolitos como la sacarosa y aminoácidos que conllevan una señal informativa (Xoconostle-Cazares *et al.*, 1999; Yoo *et al.*, 2004; Turgeon y Oparka, 2010; Bishopp *et al.*, 2011c; Liu *et al.*, 2012; Yoo *et al.*, 2013).

Durante la evolución, ciertas células alargadas gradualmente perdieron su contenido celular y conformaron un conducto o tubo floemático. Durante la ontogenia de los elementos del tubo criboso, el núcleo gradualmente se desintegra, de igual forma lo hace el tonoplasto y otros componentes celulares. Al final se mantiene la pared celular primaria, la membrana plasmática, una fina capa de citoplasma que está adyacente a la membrana plasmática denominado mictoplasma, en cual se encuentra sacos del retículo endoplásmico, algunas mitocondrias y plastidios específicos del floema denominados plastidios P. Una división asimétrica de la célula madre del floema proveniente del

procambium, origina al elemento del tubo criboso (SE) de mayor dimensión y a la célula acompañante (CC) de menor tamaño. Durante el desarrollo se mantiene e incrementa la cantidad de plasmodesmos (PD) entre estas dos células hijas, en que el plasmodesmo posee un solo canal hacia el elemento del tubo criboso y éste se ramifica hacia la célula acompañante, conformando entre estas dos células una unidad metabólica y genética, el complejo SE-CC. A través de estos plasmodesmos se transportan los nutrientes, principalmente sacarosa, aminoácidos y diversas señales. Los plasmodesmos se encuentran asociados entre sí en regiones establecidas entre las dos células, a lo que se les ha denominado “unidades de poro de plasmodesmos” (plasmodesmata pore units, PPU; Kempers y van Bel, 1997).

Una peculiaridad entre los SE y CC es la diversidad estructural entre los plasmodesmos; entre las células del procambium los plasmodesmos no poseen ramificaciones; durante la diferenciación a SE y CC, los plasmodesmos se transforman en poros de savia entre el SE y CC, los cuales al final del desarrollo se modificarán para formar las PPU; pero los plasmodesmos entre la CC y el parénquima no se modifican. El mantener una mínima estructura celular en los SE debe proporcionarles una ventaja en la conductividad hidráulica, la razón radica en que el flujo de masas que se da a través de los SE está generado por las diferencias en la presión hidrostática generado y regulado por medio de un transporta activo a través de la membrana, implicando que la integridad de la membrana es importante el transporte a través de los SE. Entre dos elementos cribosos existe una placa porosa, que en su génesis corresponde a los sitios de los plasmodesmos de las células precursoras. El flujo a través de los poros de la placa se regula por el depósito de calosa (Zavaliev *et al.*, 2011; Vaten *et al.*, 2011; Yadav *et al.*, 2014).

Los SE y CC además sirven como reguladores de iones como Ca^{2+} , que funcionan como mensajeros secundarios y con ello como señales en el movimiento local de macromoléculas. Una función principal de los plastidios tipo P en la SE es generar proteínas específicas que en presencia de Ca^{2+} se asocian entre sí y producen una oclusión de los poros de la placa porosa que comunica un elemento con otro, y evita la cavitación del tubo. Los organelos como las mitocondrias y plastidios al igual que los sáculos del retículo endoplásmico se encuentran anclados a la membrana plasmática, para im-

pedir que ocurra una oclusión accidental de los poros de la placa cribosa, (Patrick *et al.*, 2015).

2. Desarrollo del floema durante la embriogénesis

El tejido vascular juega un papel importante en la conducción de agua y nutrimentos en la fase postembrionaria. Sin embargo, la posición y patrón del tejido vascular en las plantas se establece en la embriogénesis. En el embrión maduro de muchas especies se encuentra ya establecida la posición de las células precursoras vasculares (Busse y Evert, 1999a; Bauby *et al.*, 2007; Truernit *et al.*, 2008). Un crecimiento postembrionario y la generación de nuevos órganos laterales solamente requieren la extensión de la red vascular existente y la manutención del patrón establecido. En el embrión de *Arabidopsis*, las primeras células preprocambiales se forman como una hilera de células en la parte central de la porción inferior del embrión globular. La división periclinal de estas células genera el periciclo en la parte externa, y el primordio vascular en la parte interna en el embrión en formación. Rondas subsecuentes de divisiones celulares generan un grupo de células que formarán el cilindro vascular de la raíz embrionaria y del hipocotilo. En el estado de torpedo, el patrón radial del sistema vascular es establecido, y el meristemo apicala radicular contiene a todas las células iniciales o madre de los diversos tejidos que conformarán a la raíz (Fig. 5; Scheres *et al.*, 1995). Las filas de células del xilema y floema se han formado al final del desarrollo de la embriogénesis, pero no se encuentran completamente diferenciadas y se mantienen en una forma no funcional (Bonke *et al.*, 2003).

La diferenciación de las células del floema no ocurre simultáneamente a través del desarrollo del embrión. El proceso de diferenciación se inicial en la parte proximal de los cotiledones y la parte media superior del hipocotilo. Este proceso incluye un pronunciado alargamiento de las células, las cuales adquieren una forma de “hueso” con la parte media adelgazada y un ensanchamiento en los extremos apical y basal, (Bauby *et al.*, 2007). Mientras que las células del floema en la parte distal de los cotiledones y cercano al ápice de la raíz son cortas y menos diferenciadas.

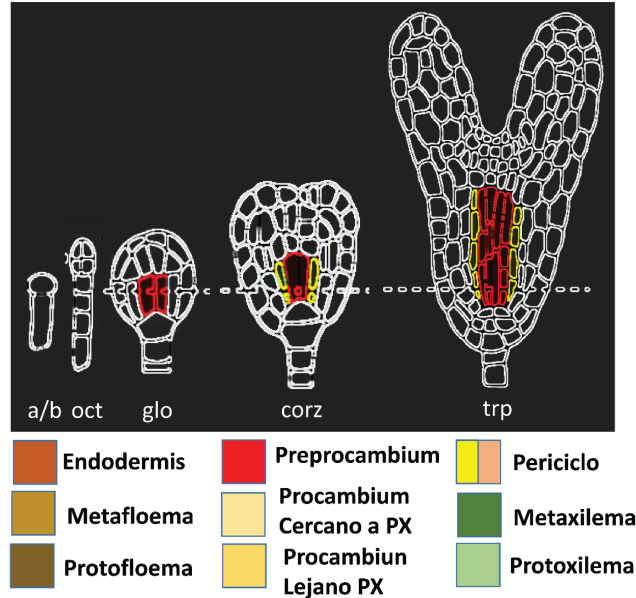


Figura 5. Patrón de establecimiento de sistema tisular vascular. A, muestra un esquema del desarrollo del embrión de *Arabidopsis thaliana*, en que se ejemplifica de izquierda a derecha la primera división del cigoto dando origen a una célula superior o apical y una basal (a/b); la célula basal se divide y da origen al suspensor, mientras que la apical por varios ciclos de división da a un proembrión octante (oct), para seguir en la siguiente fase a a un embrión globular (glo) en él se distingue en la periferia la protodermis, y en la parte basal esta estructurado en una simetría radial, existen dos capas, la más interna dará origen al tejido vascular; a continuación en el desarrollo se genera un embrión corazón (corz), en que se inicia la formación de los cotiledones y la capa de células basales e internas se divide dando el periciclo hacia la parte externa y las de procambium hacia el centro; para la fase de desarrollo en que se tiene un embrión torpeda (trp) se aumenta el número de estratos celulares en la parte basal e interna. Esquema modificado de Heo *et al.*, 2014.

En la transición de la germinación a la postgerminación temprana, un análisis microscópico muestra que la diferenciación del floema incluye la pérdida en forma controlada del núcleo y varios otros organelos de las células,

entre ellos la vacuola y un cambio en la estructura del plasmodesmo. Las modificaciones en los plasmodesmos siguen un patrón espacio temporal, que se inicia en dos direcciones y en forma consecutiva: la primera fase se inicia en la parte basal de los cotiledones y la parte superior del hipocotilo, con una subsecuente progresión hacia la parte distal de los cotiledones, generando con ello venas de alto orden estructural; y la segunda fase ocurre desde el hipocotilo hacia la parte inferior o radicular. A las 48 horas de iniciada la embibición, se inicia la diferenciación del floema en las células recién generadas por el meristemo apical radicular (Bauby *et al.*, 2007).

En el embrión de *Arabidopsis*, existen dos filas de floema flanqueadas por las correspondientes filas de xilema en el hipocotilo, las cuales se forman a lo largo del eje longitudinal del embrión. En el nodo cotiledonar, cada hilera de floema-xilema se divide en dos, y cada par de ellas se separa para ingresar a cada uno de los cotiledones. Por lo que, dos hileras de floema se encuentran presentes en la parte proximal a distal de la vena central de cada cotiledón, mientras que las venas secundarias se encuentran solamente un haz formado por una hilera simple axial de floema y xilema (Bauby *et al.*, 2007).

3. Influencia de la distribución asimétrica de la auxina

El desarrollo del embrión, desde la división asimétrica del cigoto hasta la germinación, está influenciado por una acumulación diferencial de la auxina en los diferentes dominios. En el embrión globular la expresión de los genes *AUXIN RESPONSE FACTOR5/MONOPTEROS (ARF5/MP)*, *INDOLE-3-ACETIC ACID INDUCIBLE 12/BODENLOS (IAA12/BDL)* y los genes inducidos por MP, como *TMO5* y *LHW* establecen los precursores del tejido vascular. La pérdida de función en los mutantes de los genes antes mencionados causa la reducción en el número de filas celulares en el cilindro vascular; sin embargo, los linajes de células remanentes se diferencian correctamente en floema y xilema, formando un patrón de tipo monoarco, con solamente un polo de floema y de xilema (Schlereth *et al.*, 2010; De Rybel *et al.*, 2013). Estos resultados demuestran que *MP-BDL* y *TMO5-LHW* median la señal inducida por la auxina que influencia el número de divisiones celulares periclinales en el cilindro vascular en la etapa del desarrollo del embrión globular, preponderantemente sobre la especificación del xilema y el floema. La formación normal en *Arabidopsis* requiere un

patrón bipolar del floema de un número mínimo de células en ambos lados del eje xilemático, conformado por dos hileras de floema.

Estudios similares se han obtenido cuando se generan mutaciones en genes que se traduce en proteínas defectuosas de los receptores de citocinina *WOODEN LEG (WOL)*. Los mutantes *wol* muestran raíces cortas y delgadas, con la pérdida completa del floema (Scheres *et al.*, 1995) a pesar de que se inicia la formación del protofloema en el hipocotilo (Truernit *et al.*, 2008). Las células remanentes del tejido vascular de la raíz se diferencian solamente en protoxilema; un rescate parcial del fenotipo en *wol* se obtiene con una segunda mutación en el gen *FASS (FAS)*, lo que incrementa el número de divisiones celulares en el embrión, por lo que el decremento en el número de divisiones celulares y con ello el número de células hijas es el primer compromiso de la señal inducida por las citocininas y la falta de esta señal provoca la pérdida del floema en el mutante *wol* (Torres-Ruiz y Jurgens, 1994).

El alcance de los estudios realizados hasta el momento no ha permitido poseer una completa descripción de la diferenciación del floema en los embriones, pero se ha demostrado que ocurre el transporte mediado por el floema de fotoasimilados y de moléculas específicas de señalamiento que únicamente se producen en la fase postembriónica (Bauby *et al.*, 2007) indicando la presencia de precursores de los elementos cribosos que realicen esta función. El defecto en el control de las etapas tardías del desarrollo del floema no afectan el desarrollo del embrión, pero sí el crecimiento primario de la raíz y de la expansión de las hojas en etapas posteriores (Bonke *et al.*, 2003; Bauby *et al.*, 2007; Truernit *et al.*, 2008).

4. Características morfológicas del floema

La morfología del floema inicialmente está asociada a estudios de transporte a gran distancia en las plantas (Cronshaw, 1981; Knoblauch y van Bel, 1998). Las raíces de la plántula de *Arabidopsis thaliana* son un excelente modelo para el estudio del desarrollo del tejido vascular (Bauby *et al.*, 2007; Truernit *et al.*, 2008). En la raíz de esta especie, el tejido vascular presenta una simetría bilateral, con un eje central de xilema flanqueado por dos polos floemáticos (Fig. 1A; Dolan *et al.*, 1993). En las angiospermas, el floema

funcional consiste en un elemento del tubo criboso o de savia (SE) que son las unidades de conducción del floema (el protofloema y metafloema maduro) y una célula acompañante (CC; van Bel 2003). En particular las filas de células del proto- y el metafloema se originan de una célula hija común, el procambium que da origen a una célula precursora del SE (SEP; Fig. 6A; Mahonen *et al.*, 2000; Bennett y Scheres, 2010), la cual se divide anticlinalmente varias veces, para posteriormente dividirse periclinalmente y generar dos estirpes celulares ubicadas en dos líneas contiguas de células que serán los precursores del protofloema y la hilera más interna que dará origen al metafloema (Fig. 6A; Mahonen *et al.*, 2000; Bauby *et al.*, 2007; Lucas *et al.*, 2013). Las células del metafloema llegarán a ser funcionales solamente en la zona de maduración de la raíz, las células del protofloema se diferencian en una región muy cerca de la zona meristemática (Lucas *et al.*, 2013).

5. Control genético de la red que regula la especificación del floema

Se han identificado varias vías de señalamiento y factores de transcripción involucrados en el desarrollo del floema, los mecanismos a través de los cuales las células del procambium son seleccionadas para conforma el floema aún permanecen poco entendidas. Se ha aceptado que el patrón de desarrollo básico del tejido vascular en las raíces está determinado durante la embriogénesis, en donde se especifica la localización de las SEP, y que no llega a diferenciarse en el embrión maduro. Sin embargo, se sabe que pocos genes son esenciales para el surgimiento de la especificación del protofloema. La determinación de los primeros genes involucrados en la diferenciación a protofloema se realizó con 5 mutantes de los genes *PHLOEM DIFFERENTIATION1-5* (*PD1-PD5*; Bauby *et al.*, 2007). Los genes *PD1* y *PD3* codifican para una PROTEÍNA DE ANCLAJE DEL TIPO GLUCOSILFOSFATO-FOSFATIDILINOSITOL y una PHOSPHATIDYLINOSITOL 5-PHOSPHATE KINASE respectivamente; *PD4* y *PD5* promueven la actividad de *BREVIS RADIX* (*BRX*) y *OCTOPUS* (*OPS*; Mouchel *et al.*, 2004; Truernit *et al.*, 2012), estos genes codifican para proteínas asociadas a la membrana plasmática, que están localizadas polarmente en los extremos de las células del protofloema en desarrollo en la raíz o del tallo respectivamente. Consistente con el patrón de expresión de estos dos genes, la pérdida de función en los mutantes *brx* y *ops* presentan una pro-

gresión discontinua de las hileras de protofloema, en adición a la reducción del crecimiento postembrionario de la raíz (Scacchi *et al.*, 2010; Truernit *et al.*, 2012). El fenotipo de la raíz de ambos mutantes puede ser suprimido por la actividad “knockout” de *BARELY ANY MERISTEM 3* (*BAM3*), que codifica para un receptor en regiones repetidas ricas en leucina con actividad de cinasa (Depuydt *et al.*, 2013; Rodriguez-Villalon *et al.*, 2014). La expresión de *BAM3*, al igual que su probable ligando, el péptido CLAVATA3/EMBRYO-SURROUNDING REGION 45 (*CLE45*), están restringidos a la hilera de células del protofloema dentro de la raíz, que se superponen con la expresión del gen *BRX*. La aplicación exógena de *CLE45* provoca la supresión del protofloema, por reducir la actividad meristemática, las raíces del mutante *bam3-2* son insensibles a los efectos inhibitorios, por lo que debe haber una relación de unión entre ambos (Depuydt *et al.*, 2013). La actividad de *CLE45* inhibe la especificación del protofloema por detener el programa de diferenciación de las células SEP, impidiendo la progresión al compromiso y diferenciación a protofloema. Un incremento medio de *CLE45* se ha demostrado que elimina la división periclinal que formara las dos estirpes celulares del floema (Fig. 6A y 6B). La ontogenia en los mutantes *brx* y *ops* revela una incapacidad de la división asimétrica de las SEP, indicando que ambos genes son requeridos para promover la transición del precursor de SEP a SE.

La represión de la auxina por medio de tratamientos con inhibidores específicos como el auxinole que afecta a los receptores nucleares de la auxina, genera la falta de división celular, por lo que la regulación en la actividad de *CLE45*, *BRX* y *OPS* es dependiente de la actividad de la auxina. La actividad de *OPS* es opuesta a la de *CLE45-BAM3*, el incremento de la actividad de *OPS* que sobrepase el efecto inhibitorio de *CLE45* permite el crecimiento de la raíz y el desarrollo del protofloema; por lo que parece ser que *OPS* es un efector positivo en la formación del floema (Rodriguez-Villalon *et al.*, 2014). De esta forma, *CLE45-BAM3* previenen que las SEP adquieran las características de SE, con un efecto opuesto a *OPS* y *BRX*, que son necesarios para forzar la transición de SEP a SE y promover la entrada en el programa de diferenciación (Fig. 6B).

6. Mecanismo molecular que induce la diferenciación del floema

El primer factor identificado en la participación de la identidad del floema, fue el gen *ALTERED PHLOEM DEVELOPMENT (APL)*, que codifica a un factor de transcripción perteneciente a la familia genica MYB (coiled-coil) el que se expresa en las células SE y CC en estados tardíos del desarrollo. Este gen contribuye a la limitación espacial de los dominios del floema *vs* xilema, como se observa en el mutante *apl* en el que se da la expresión ectópica de xilema en el polo floemático de la raíz (Bonke *et al.*, 2003). *APL* regula la diferenciación del protofloema orquestando la ruptura del núcleo, la dilución del citoplasma y el rearrreglo de los organelos a través de una actividad que es genéticamente redundante a los factores de transcripción con dominio NAC: *NAC45* y *NAC86*. La sobreexpresión de *NAC45* resulta en una enucleación y degradación del citoplasma en células no-SE en el polo floemático, por lo que la actividad de *NAC45* es suficiente para disparar los eventos de pérdida del núcleo en la diferenciación del floema. En los mutantes *nac45-2 nac86* no se ve afectado el engrosamiento de la pared celular, ni la formación de la perforación de la pared celular, por lo que estos factores de transcripción promueven la diferenciación de la SE por una regulación específica del proceso de destrucción del contenido nuclear. De forma tal que estos dos factores activan a la familia de nucleasas, *NAC45/86-DEPENDENT EXONUCLEASE-DOMAIN PROTEIN 1-4 (NEN1-4)*. *NEN1/2/4* son específicamente expresadas en las células del protofloema antes de su enucleación y la pérdida de función en los mutantes *nen4* impide realizar la degradación del núcleo (Fig. 6C; Furuta *et al.*, 2014a, 2014b).

En paralelo a los factores de transcripción mencionados, la actividad específica en el protofloema de la fosfoinositido 5-fosfatasa, está codificada por los genes *COTYLEDON VASCULAR PATTERN 2 (CVP2)* y su homólogo *CVP2 LIKE 1 (CVL1)*, los cuales están involucrados en la conversión de fosfatidilinositol-4-5bifosfato (PIP_2) a fosfatidilinositol 4-fosfato (Carland y Nelson, 2009), por lo que son reguladores de la diferenciación de las SE (Rodríguez-Villalon *et al.*, 2015). Un estrecho balance en la actividad de *CVP2* controla los niveles de PIP_2 y tiene un fuerte impacto en la progresión del desarrollo del protofloema. Todos los procesos se ven afectados en la triple mutación, implicando que *BRX*, *OPS* y *CVP2/CVL1* están involucrados en el grado y en el tiempo

de la diferenciación (Fig. 6C). Es de llamar la atención que en la pérdida de función en las mutantes *brx bam3* o *ops bam3* no muestran defectos en el desarrollo de la raíz, por lo que la actividad de estos genes debe de tener un punto temporal específico o existen otros receptores cuyas actividades son parcialmente redundantes con *BAM3*.

Conforme el SE se desarrolla, se maduran los poros entre las paredes de células adyacentes. El incremento del diámetro del poro, en que se alargan los sáculos del retículo endoplásmico y los desmotúbulos (porción del retículo interno del plasmodesmo) se desintegran. El depósito de calosa se ha propuesto como parte funcional importante en los eventos de iniciación y su deposición debe ser finamente regulada. Así, el decremento en la densidad de la calosa en los poros de los SE permite un número de poros abiertos, como se muestra en el mutante *cals7*; por otra parte, con una sobreacumulación de calosa como es la ganancia de función de *CALS3* en los mutantes, resulta en una baja conductividad del floema (Vaten *et al.*, 2011; Xie *et al.*, 2011). En otros sistemas, el depósito de calosa es importante para definir la posición de los plasmodesmos y con ello las membranas del retículo endoplásmico, como es en la formación de los plasmodesmos en la placa celular durante la citocinesis. Se ha identificado al gen *CHOLINE TRANSPORTER-LIKE1 (CHER1)* como un participante determinante para la formación de SE y la formación de los poros de la placa. Un análisis en el mutante *cher1-1* revela una baja formación en la cantidad de poros, con una reducida degradación de los desmotúbulos en las placas diferenciadas de los SE. La actividad de *CHER1* mantiene la homeostasis de la colina en las células del floema, regulando el patrón de la formación del floema (Fig. 6C; Dettmer *et al.*, 2014).

7. Mecanismo de diferenciación de los elementos cribosos

Los SE diferenciados son generalmente células delgadas y alargadas, que se alinean en un eje longitudinal para establecer el tubo de savia o criboso (Mullendore *et al.*, 2010). La distribución a gran distancia de los fotosintetatos se realiza a través de los tubos cribosos (Hartig, 1860; Crafts, 1939), por lo que debe darse un proceso especializado de diferenciación (Wu y Zheng, 2003; Truernit *et al.*, 2012; Rodríguez-Villalon *et al.*, 2014).

Se ha descrito la diferenciación en el protofloema del SE, la cual se ha dividido en tres etapas: en el estado 1 ocurre un alargamiento de la célula, donde se engrosa la pared celular, con la simultánea fragmentación del núcleo (Fig. 6A y 6D). El engrosamiento de la pared celular dará un soporte mecánico a la célula, lo que será requerido para permitir los cambios de turgencia que se derivarán de las altas concentraciones de osmolitos (principalmente sacarosa) al ser descargados en el elemento del tubo criboso maduro. En el estado 2, el núcleo se contrae y la envoltura nuclear se empieza a desorganizar, concomitante a la agregación de los organelos en dos grupos en extremos opuestos al núcleo (Fig. 6D). Por último, en el estado 3, se da un decremento en la densidad del citoplasma hasta que finalmente es completamente degradado (Fig. 6D; Furuta *et al.*, 2014a). La diferenciación implica la reorganización celular en forma dramática, que involucra la pérdida de la mayor parte de los organelos, con la degradación de la vacuola, el retículo endoplásmico rugoso, el complejo de Golgi y el citoesqueleto. Mientras que otros compartimentos celulares son retenidos en la célula, como la membrana plasmática, el retículo endoplásmico liso, algunas mitocondrias, plastidios especializados que formarán los plastidios tipo P con alto contenido de proteína específica o proteína P. El proceso de degradación completa del núcleo ocurre en una fase tardía de la diferenciación (Cronshaw y Esau, 1968; Esau, 1972; Eleftheriou y Tsekos, 1982; Sjolund, 1997; Busse y Evert, 1999b; Wu y Zheng, 2003; Lucas *et al.*, 2013). La retención de ciertos organelos le dará funciones especiales al elemento criboso, como ser el reservorio de enzimas, transporte y selectividad de proteínas, a través de mecanismos de reconocimiento en la membrana de los sáculos del retículo endoplásmico que conforman parte del plasmodesmo que comunica con las células acompañantes (Bird *et al.*, 2003; Hause *et al.*, 2003; Bell y Oparka, 2011; Knoblauch y Oparka, 2012).

Durante la diferenciación, los SE formarán estructuras tubulares, que establecerán poros en su pared celular en la unión de uno elemento con otro; la alineación de uno o varios poros en esta región de la pared formará las placas cribosas o de savia, que permitirán una comunicación simplástica continua entre los diferentes elementos del tubo cribosos (Fig. 6D).

A pesar de la pérdida de la mayoría del contenido celular, los SE se considera que son células vivas; las células vecinas, las CC, las cuales están sim-

plasticamente conectadas a través de los plasmodesmos y sustentan todos los requerimientos metabólicos de los SE maduros (Kempers y van Bel, 1997; Lucas *et al.*, 2013). La conexión simplástica entre los SE y las CC se conoce desde 1969, en que se describió la estructura del floema y el transporte en plántulas de algodón (*Gossypium hirsutum* L.), conforme los SE maduran, se da un incremento en el depósito de calosa en la vecindad de los plasmodesmos (Fig. 6D), un proceso que se sabe que está relacionado con la capacidad de conductividad del plasmodesmo y con ello del floema (Vaten *et al.*, 2011; Xie *et al.*, 2011). Además de los plasmodesmos entre los SE y las CC, existen plasmodesmos entre las CC y el parénquima que rodea a estas células, sin que exista una conexión directa entre el parénquima y los SE. Por lo que en la raíz, las CC es un elemento crucial en la movilidad de los fotosintatos, aminoácidos, péptidos señal y fitohormonas que llegan a través del floema y que deben ser desacargados al parénquima del cilindro central. La CC se caracteriza por un gran núcleo, pequeñas vacuolas, numerosas mitocondrias, abundante retículo endoplásmico rugoso, un gran número de ribosomas; mientras que el parénquima del floema posee una gran vacuola central y un menor número de ribosomas. Los plasmodesmos entre SE y CC son altamente ramificados, que varían entre 5 a 10 ramas provenientes de la CC, ramificaciones que convergen en la lámina media entre ambas células y que forman un canal simple hasta la SE (Fig. 6C y 6D).

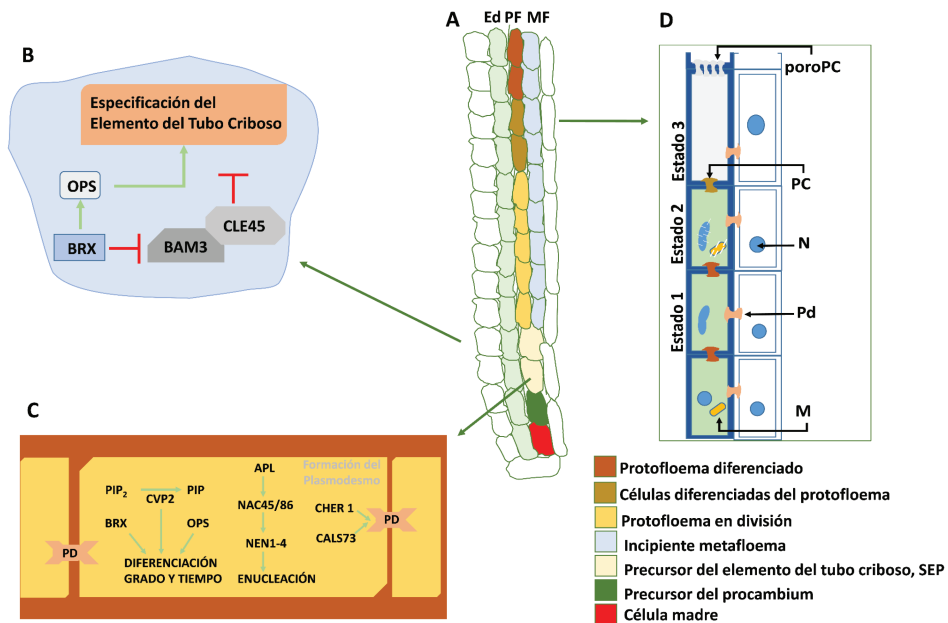


Figura 6. Formación y diferenciación de los elementos del tubo criboso. A, Representación longitudinal de una raíz de la zona meristemática a la de crecimiento proximal, mostrando la especificación de los elementos del tubo criboso. B, Red genética que orquesta la formación y diferenciación de los elementos del tubo criboso, la actividad opuesta de *OCTOPUS (OPS)*/*BREVIS RADIX (BRX)* y *CLE45-BARELY ANY MERISTEM 3 (BAM3)* modulan la regulación de los elementos del tubo criboso en su compromiso y la división periclinal de las células precursoras. C, Representación de los genes involucrados en la regulación del proceso de enucleación, formación de los poros de la placa cribosa, el tiempo y grado de la diferenciación del protofloema. D, Diagrama que representa la ruptura nuclear y el rearrreglo de los organelos que se realiza en la célula del protofloema en diferenciación. Símbolos: APL, ALTERED PHLOEM DEVELOPMENT; CALS, CALLOSE SYNTHASE; CC, célula acompañante; CHER1, CHOLINE TRANSPORTER-LIKE1; CVP2, COTYLEDON VASCULAR PATTERN 2; En, endodermis; M, mitocondria; Mf, metafloema; N, núcleo; NAC45/86, NAC-DOMAIN-CONTAINING TRANSCRIPTION FACTOR; NEN1-4, NAC 45/86-DEPENDENT EXONUCLEASE-DOMAIN PROTEIN 1-4; N, núcleo; Pd, plasmodemos; PC, placa cribosa; PIP, fosfatidilinositol 4-phosphatate; PIP₂, fosfatidilinositol 4,5 bifosfato; Pf, protofloema; SE, elemento del tubo cribosos. Esquema modificado de Heo *et al.*, 2014; Rodríguez-Villalon, 2016.

D. Efectos sistémicos en la diferenciación del sistema vascular en la arquitectura de la raíz

Perturbar o desintegrar la continuidad de la hilera de células del protofloema provoca la interrupción de la transferencia de tallo a la raíz de los metabolitos, entre ellos sacarosa y aminoácidos entre otros, además por el floema se movilizan moléculas de señalamiento como son las fitohormonas, péptidos señal y/o RNA largos no codificantes, señales que regulan el desarrollo y crecimiento de la raíz en coordinación con el resto de la planta (Depuydt *et al.*, 2013). La falta de desarrollo del sistema vascular y el efecto en el transporte de señales se correlaciona con la baja cantidad de auxina encontrada en el ápice de la raíz de los mutantes *brx*, *ops* o *cvp2 cvl1*, lo cual indica que la ausencia en la división formativa en la SEP puede ser debida al decremento en la descarga en el tejido vascular dependiente de la auxina en del ápice (Gujas *et al.*, 2012; Rodríguez-Villalón *et al.*, 2014). Defectos en la liberación de auxina en los ápices de la raíz, causan una acumulación de esta fitohormona en la zona de maduración, provocando la emergencia de un mayor número de raíces laterales (Rodríguez-Villalón *et al.*, 2015).

Lecturas sugeridas

Heo J., Roszak P., Furuta K.M., Helariutta Y. "Phloem development: Current knowledge and future perspectives." *American Journal of Botany*. (2014). 101(9):1393-1402.

Kondo Y., Tamaki T., Fukuda H. "Regulation of xilem cell fate." *Frontiers in Plant Science*. (2014). 5:315.

Osugi A., Sakakibara H. "Q&A: How do plants respond to cytokinins and what is their importance?" *BMC Biology*. (2015). 13:102. doi: 10.1186/s12915-015-0214-5.

Patrick J.W., Tyerman S.D., van Bel A.J.E. "Long distance transport. En: *Biochemistry and molecular biology in plants*." Buchanan B.B., Gruissem W., Jones R.L. editors. Segunda edición. American Society of Plants Biologists y Wiley Blackwell. Oxford, UK. (2015). cap 15; pp: 658-710.

Rodriguez-Villalon A. "Wiring a plant: genetic networks for phloem formation in *Arabidopsis thaliana* roots." *New Phytologist*. (2016). 210: 45-50. doi: 10.1111/nph.13527.

Ruzicka K., Ursache R., Hejatko J., Helariutta. "Xylem development- from the cradle to the grave." *New Phytologist*. (2015). 207:519-535.

Referencias bibliográficas

- Aspectos generales y xilema

Argyros R.D., Mathews D.E., Chiang Y.H., Palmer C.M., Thibault D.M., Etheridge N., *et al.* "Type B response regulators of *Arabidopsis* play key roles in cytokinin signaling and plant development." *The Plant Cell*. (2008). 20, 2102-2116. doi: 10.1105/tpc.108.059584.

Berleth T., Mattsson J., Hardtke CS. "Vascular continuity and auxin signals." *Trends in Plant Science*. (2000). 5: 387-393.

Berleth T., Jurgens G. "The role of the *monopteros* gene in organising the basal body region of the *Arabidopsis* embryo." *Development*. (1993). 118: 575-587.

- Bishopp A., Help H., El-Showk S., Weijers D., Scheres B., Friml J., Benková E., Mahonen A.P., Helariutta Y. "A mutually inhibitory interaction between auxin and cytokinin specifies vascular pattern in roots." *Current Biology*. (2011a). 21: 917–926.
- Bishopp A., Lehesranta S., Vatén A., Help H., El-Showk S., Scheres B., Helariutta K., Mahonen A.P., Sakakibara H., Helariutta Y. "Phloem-transported cytokinin regulates polar auxin transport and maintains vascular pattern in the root meristem." *Current Biology*. (2011b). 21: 927–932.
- Caño-Delgado A., Lee J.Y., Demura T. "Regulatory mechanisms for specification and patterning of plant vascular tissues." *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. (2010). 26: 605–637. doi:10.1146/annurev-cellbio-100109-104107.
- Carlsbecker A., Lee J.Y., Roberts C.J., Dettmer J., Lehesranta S., Zhou J., Lindgren O., Moreno-Risueno M.A., Vatén A., Thitamadee S., *et al.* "Cell signaling by microRNA165/6 directs gene dose-dependent root cell fate." *Nature*. (2010). 465: 316–321.
- Chu H., Liang W., Li J., Hong F., Wu Y., Wang L., *et al.* "A CLE-WOX signaling module regulates root meristem maintenance and vascular tissue development in rice." *Journal of Experimental Botany*. (2013). 64, 5359–5369. doi:10.1093/jxb/ert301.
- Cui H., Levesque M.P., Vernoux T., Jung J.W., Paquette A.J., Gallagher K. L., *et al.* "An evolutionarily conserved mechanism delimiting SHR movement defines single layer of endodermis in plants." *Science*. (2007). 316, 421–425. doi:10.1126/science.1139531.
- De Rybel B., Adibi M., Breda A.S., Wendrich J.R., Smit M.E., Novák O., Yamaguchi N., Yoshida S., Van Isterdael G., Palovaara J., *et al.* "Plant development. Integration of growth and patterning during vascular tissue formation in *Arabidopsis*." (2014a). *Science*. 345: 125215.
- De Rybel B., Moller B., Yoshida S., Grabowicz I., Barbier de Reuille P., Boeren S., Smith R.S., Borst J.W., Weijers D. "A bHLH complex controls embryonic vascular tissue establishment and indeterminate growth in *Arabidopsis*." *Developmental Cell*. (2013). 24: 426–437.

Feng H., Chen Q., Feng J., Zhang J., Yang X., Zuo J. "Functional characterization of the *Arabidopsis* eukaryotic translation initiation factor 5A-2 that plays a crucial role in plant growth and development by regulating cell division, cell growth, and cell death." *Plant Physiology*. (2007). 144: 1531–1545. doi: 10.1104/pp.107.098079

Friml J., Vieten A., Sauer M., Weijers D., Schwarz H., Hamann T., Offringa R., Jurgens G. "Efflux-dependent auxin gradients establish the apical-basal axis of *Arabidopsis*." *Nature*. (2003). 426: 147–153.

Gallagher K.L., Paquette A.J., Nakajima K., Benfey P.N. "Mechanisms regulating SHORT-ROOT intercellular movement." *Current Biology*. (2004). 14, 1847–1851. doi: 10.1016/j.cub.2004.09.081.

Hamann T., Benkova E., Bäurle I, Kientz M, Jürgens G. "The *Arabidopsis* *BODENLOS* gene encodes an auxin response protein inhibiting MONOPTEROS-mediated embryo patterning." *Genes and Development*. (2002). 16: 1610–1615.

Hardtke C.S., Berleth T. "The *Arabidopsis* gene *MONOPTEROS* encodes a transcription factor mediating embryo axis formation and vascular development." *The EMBO Journal*. (1998). 17: 1405–1411.

Helariutta Y., Fukaki H., Wysocka-Diller J., Nakajima K., Jung J., Sena G., *et al.* "The *SHORT-ROOT* gene controls radial patterning of the *Arabidopsis* root through radial signaling." *Cell*. (2000). 101, 555–567. doi:10.1016/S0092-8674(00)80865-X.

Hirakawa Y., Kondo Y., Fukuda H. "Establishment and maintenance of vascular cell communities through local signaling." *Current Opinion in Plant Biology*. (2011). 14, 17–23. doi:10.1016/j.pbi.2010.09.011.

Hutchison C.E., Li J., Argueso C., Gonzalez M., Lee E., Lewis M.W., *et al.* "The *Arabidopsis* histidine phosphotransfer proteins are redundant positive regulators of cytokinin signaling." *The Plant Cell*. (2006). 18, 3073–3087. doi:10.1105/tpc.106.045674.

Ishida K., Yamashino T., Yokoyama A., Mizuno T. "Three type-B response regulators, ARR1, ARR10 and ARR12, play essential but redundant roles in cytokinin signal transduction throughout the life cycle of *Arabidopsis thaliana*." *Plant and Cell Physiology*. (2008). 49, 47–57. doi:10.1093/pcp/pcm165.

- Ito Y., Nakanomyo I., Motose H., Iwamoto K., Sawa S., Dohmae N., *et al.* “Dodeca-CLE peptides as suppressors of plant stem cell differentiation.” *Science*. (2006). 313, 842–845. doi:10.1126/science.1128436.
- Jao D.L., Chen K.Y. “Tandem affinity purification revealed the hypusine-dependent binding of eukaryotic initiation factor 5A to the translating 80S ribosomal complex.” *Journal of Cellular Biochemistry*. (2006). 97: 583–598. doi:10.1002/jcb.20658.
- Jun J.H., Fiume E., Fletcher J.C. “The CLE family of plant polypeptide signaling molecules.” *Cellular and Molecular Life Sciences*. (2008). 65, 743–755. doi:10.1007/s00018-007-7411-5.
- Kamiya N., Nagasaki H., Morikami A., Sato Y., Matsuoka M. “Isolation and characterization of a rice *WUSCHEL*-type homeobox gene that is specifically expressed in the central cells of a quiescent center in the root apical meristem.” *The Plant Journal*. (2003). 35, 429–441. doi:10.1046/j.1365-313X.2003.01816.x.
- Kieber J.J., Schaller G.E. “Cytokinins.” *The Arabidopsis Book*. (2014). 12:e0168. doi: 10.1199/tab.0168.
- Kondo Y., Hirakawa Y., Kieber J.J., Fukuda H. “CLE peptide scan negatively regulate protoxylem vessel formation via cytokinin signaling.” *Plant and Cell Physiology*. (2011). 52, 37–48. doi:10.1093/pcp/pcq129.
- Kubo M., Udagawa M., Nishikubo N., Horiguchi G., Yamaguchi M., Ito J., Mimura T., Fukuda H., Demura T. “Transcription switches for protoxylem and metaxylem vessel formation.” *Genes and Development*. (2005). 19: 1855–1860.
- Mahonen A.P., Bishopp A., Higuchi M., Nieminen K.M., Kinoshita K., Tormakangas K., Ikeda Y., Oka A., Kakimoto T., Helariutta Y. “Cytokinin signaling and its inhibitor AHP6 regulate cell fate during vascular development.” *Science*. (2006). 311: 94–98. doi: 10.1126/science.1118875.
- Mahonen A.P., Bonke M., Kauppinen L., Riikonen M., Benfey P.N., Helariutta Y. “A novel two-component hybrid molecule regulates vascular morphogenesis of the *Arabidopsis* root.” *Genes and Development*. (2000). 14: 2938–2943.
- Miyashima S., Koi S., Hashimoto T., Nakajima K. “Non-cell-autonomous microRNA165 acts in a dose-dependent manner to regulate multiple differentiation status in the *Arabidopsis* root.” *Development*. (2011).138: 2303–2313.

Miyashima S., Sebastian J., Lee J.Y., Helariutta, Y. "Stem cell function during plant vascular development." *The EMBO Journal*. (2012). 32, 178–193. doi: 10.1038/emboj.2012.301.

Münch E. "Die Stoffbewegungen in der Pflanze." Gustav Fischer, Jena, Germany (1930).

Muraro D., Mellor N., Pound M.P., Help H., Lucas M., Chopard J., Byrne H.M., Godin C., Hodgman T.C., King J.R., *et al.* "Integration of hormonal signaling networks and mobile microRNAs is required for vascular patterning in *Arabidopsis* roots." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2014). 111: 857–862.

Muniz L., Minguet E.G., Singh S.K., Pesquet E., Vera-Sirera F., Moreau-Courtois C.L., *et al.* "ACAULIS5 controls *Arabidopsis* xylem specification through the prevention of premature cell death." *Development*. (2008). 135, 2573–2582. doi: 10.1242/dev.019349.

Nakajima K., Sena G., Nawy T., Benfey P.N. "Intercellular movement of the putative transcription factor SHR in root patterning." *Nature*. (2001). 413: 307–311. doi: 10.1038/35095061.

Ohashi-Ito K., Bergmann D.C. "Regulation of the *Arabidopsis* root vascular initial population by *LONESOME HIGHWAY*." *Development*. (2007). 134: 2959–2968.

Ohashi-Ito K., Oguchi M., Kojima M., Sakakibara H., Fukuda H. "Auxin associated initiation of vascular cell differentiation by *LONESOME HIGHWAY*." *Development*. (2013). 140: 765–769.

Ohashi-Ito K., Saegusa M., Iwamoto K., Oda Y., Katayama H., Kojima M., Sakakibara H., Fukuda H. "A bHLH complex activates vascular cell division via cytokinin action in root apical meristem." *Current Biology*. (2014). 24: 2053–2058.

Prigge M.J., Otsuga D., Alonso J.M., Ecker J.R., Drews G.N., Clark S.E. "Class III homeodomain-leucine zipper gene family members have overlapping, antagonistic, and distinct roles in *Arabidopsis* development." *The Plant Cell*. (2005). 17, 61–76. doi:10.1105/tpc.104.026161.

Przemeck G.K., Mattsson J., Hardtke C.S., Sung Z.R., Berleth T. "Studies on the role of the *Arabidopsis* gene *MONOPTEROS* in vascular development and plant cell axialization." *Planta*. (1996). 200: 229–237.

Ren B., Chen Q., Hong S., Zhao W., Feng J., Feng H., Zuo J. “The *Arabidopsis* eukaryotic translation initiation factor eIF5A-2 regulates root protoxylem development by modulating cytokinin signaling.” *The Plant Cell*. (2013). 25: 3841–3857. doi: 10.1105/tpc.113.116236.

Ren B., Liang Y., Deng Y., Chen Q.G., Zhang J., Yang X.H., *et al.* “Genome-wide comparative analysis of type-A *Arabidopsis* response regulator genes by over expression studies reveals their diverse roles and regulatory mechanisms in cytokinin signaling.” *Cell Research*. (2009). 19, 1178–1190. doi:10.1038/ Cr.2009.88.

Robert H.S., Gronos P., Stepanova A.N., Robles L.M., Lokerse A.S., Alonso J.M., Weijers D., Friml J. “Local auxin sources orient the apical-basal axis in *Arabidopsis* embryos.” *Current Biology*. (2013). 23: 2506–2512.

Scheres B., Dilaurenzio L., Willemsen V., Hauser M.T., Janmaat K., Weisbeek P., *et al.* “Mutations affecting the radial organization of the *Arabidopsis* root display specific defects throughout the embryonic axis.” *Development*. (1995). 121, 53–62.

Schlereth A., Möller B., Liu W., Kientz M., Flipse J., Rademacher E.H., Schmid M., Jurgens G., Weijers D. “MONOPTEROS controls embryonic root initiation by regulating a mobile transcription factor.” *Nature*. (2010). 464: 913–916.

Sperry J.S. “Evolution of water transport and xylem structure.” *International Journal of Plant Sciences*. (2003). 164(3 Suppl.): S115–S127.

Thompson G.M., Cano V.S., Valentini S.R. “Mapping eIF5A binding sites for Dys1 and Lia1: in vivo evidence for regulation of eIF5A hypusination.” *FEBS Letters*. (2003). 555: 464–468. doi:10.1016/S0014-5793(03) 01305-X.

To J.P., Haberer G., Ferreira F.J. Deruere J., Mason M.G., Schaller G.E., *et al.* “Type-A *Arabidopsis* response regulators are partially redundant negative regulators of cytokinin signaling.” *The Plant Cell*. (2004). 16, 658–671. doi:10.1105/tpc. 018978.

Ursache R., Miyashima S., Chen Q., Vaten A., Nakajima K., Carlsbecker A., Zhao Y., Helariutta Y., Dettmer J. “Tryptophan-dependent auxin biosynthesis is required for HD-ZIPIII-mediated xylem patterning.” *Development*. (2014). 141: 1250–1259.

Vaten A., Dettmer J., Wu S., Stierhof Y.D., Miyashima S., Yadav S.R., *et al.* “Callose biosynthesis regulates symplastic trafficking during root develo-

pment." *Developmental Cell*. (2011). 21, 1144–1155. doi:10.1016/j.devcel.2011.10.006.

Yokoyama A., Yamashino T., Amano Y., Tajima Y., Imamura A., Sakakibara H., *et al.* "Type-B ARR transcription factors, ARR10 and ARR12, are implicated in cytokinin-mediated regulation of protoxylem differentiation in roots of *Arabidopsis thaliana*." *Plant and Cell Physiology*. (2007). 48, 84–96. doi:10.1093/pcp/pcl040.

Zhou J., Wang X., Lee J.Y., Lee J.Y. "Cell-to-cell movement of two interacting AT-Hook factors in *Arabidopsis* root vascular tissue patterning." *The Plant Cell*. (2013). 25, 187–201. doi:10.1105/tpc.112.102210.

- **Floema y efectos sistémicos en la diferenciación del sistema vascular en la arquitectura de la raíz**

Bauby H., Divol F., Truernit E., Grandjean O., Palauqui J.C. "Protophloem differentiation in early *Arabidopsis thaliana* development." *Plant and Cell Physiology*. (2007). 48: 97–109.

Bell K., Oparka K. "Imaging plasmodesmata." *Protoplasma*. (2011). 248: 9-25.

Bennett T., Scheres B. "Root development-two meristems for the price of one?" *Current Topics in Developmental Biology*. (2010). 91: 67–102.

Bird D.A., Franceschi VR., Facchini P.J. "A tale of three cell types: Alkaloid biosynthesis is localized to sieve elements in opium poppy." *The Plant Cell*. (2003). 15: 2626-2635.

Bishopp A., Lehesranta Vaten A., Help H., El-Showk S., Scheres K., Helariutta K., *et al.* "Phloem-transported cytokinin regulates polar auxin transport and maintains vascular pattern in the root meristem." *Current Biology*. (2011c). 21: 927-932.

Bonke M., Thitamadee S., Mahonen A.P., Hauser M.T., Helariutta Y. "APL regulates vascular tissue identity in *Arabidopsis*." *Nature*. (2003). 426: 181-186.

Busse J.S., Evert R.F. "Pattern of differentiation of the first vascular elements in the embryo and seedling of *Arabidopsis thaliana*." *International Journal of Plant Sciences*. (1999a). 160: 1-13.

- Busse J.S., Evert R.F. "Vascular differentiation and transition in the seedling of *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae)." *International Journal of Plant Sciences*. (1999b). 160: 241-251.
- Carland F., Nelson T. "GVP2- and CVL1-mediated phosphoinositide signaling as a regulator of the ARF GAP SFC/VAN3 in establishment of foliar vein patterns." *The Plant Journal*. (2009). 59: 895–907.
- Crafts A.S. "Phloem anatomy, exudation, and transport of organic nutrients in cucurbits." *Plant Physiology*. (1932). 7: 183-484.
- Crafts A.S. Solute transport in plants. *Science*. (1939). 90: 337-338.
- Cronshaw J. "Phloem structure and function." *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. (1981). 32: 465-484.
- Cronshaw J., Esau K. "P-protein in phloem of Cucurbita. P-protein of mature sieve elements." *Journal of Cell Biology*. (1968). 38: 292– 303.
- Depuydt S., Rodriguez-Villalon A., Santuari L., Wyser-Rmili C., Ragni L., Hardtke C.S. "Suppression of *Arabidopsis* protophloem differentiation and root meristem growth by CLE45 requires the receptor-like kinase BAM3." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2013). 110: 7074–7079.
- Dettmer J., Ursache R., Campilho A., Miyashima S., Belevich I., O'Regan S., Mullendore D.L., Yadav S.R., Lanz C., Beverina L., *et al.* "CHOLINE TRANSPORTER-LIKE1 is required for sieve plate development to mediate long distance cell-to-cell communication." *Nature Communications*. (2014). 5: 4276.
- De Rybel B., Moller B., Yoshida S., Grabowicz I., Barbier de Reuille P., Boeren S., Smith R.S., *et al.* "A bHLH complex controls embryonic vascular tissue establishment and indeterminate growth in *Arabidopsis*." *Developmental Cell*. (2013). 24: 426-437.
- Dolan L., Janmaat K., Willemsen V., Linstead P., Poethig S., Roberts K., Scheres B. "Cellular organization of the *Arabidopsis thaliana* root." *Development*. (1993). 119: 71–84.
- Eleftheriou E.P., Tsekos I. "Development of protophloem in roots of *Aegilops comosa* var. *thessalica*. 2. Sieve-element differentiation." *Protoplasma*. (1982). 113: 221-233.

Esau K. "Changes in nucleus and endoplasmic reticulum during differentiation of a sieve element in *Mimosa pudica* L." *Annals of Botany*. (1972). 36: 703-710.

Furuta K.M., Hellmann E., Helariutta Y. "Molecular control of cell specification and cell differentiation during procambial development." *Annual Review of Plant Biology*. (2014a). 65: 607-638.

Furuta K.M., Yadav S.R., Lehesranta S., Belevich I., Miyashima S., Heo J.O., Vaten A., Lindgren O., De Rybel B., Van Isterdael G., *et al.* "Arabidopsis NAC45/86 direct sieve element morphogenesis culminating in enucleation." *Science*. (2014b). 345: 933-937.

Gujas B., Alonso-Blanco C., Hardtke C.S. "Natural *Arabidopsis brx* loss of function alleles confer root adaptation to acidic soil." *Current Biology*. (2012). 22: 1962- 1968.

Hartig, T. "Beiträge zur physiologischen Forstbotanik." *Allgemeine Forst- und Jagdzeitschrift*. (1860). 36: 257-261.

Hause B., Hause G., Kutter C., Miersch O., Wasternack C. "Enzymes of jasmonate biosynthesis occur in tomato sieve elements." *Plant Cell Physiology*. (2003). 44: 643-648.

Kempers R., van Bel A.J.E. "Symplasmic connections between sieve element and companion cell in the stem phloem of *Vicia faba* L. have a molecular exclusion limit of at least 10 kDa." *Planta*. (1997). 201: 195-201.

Knoblauch M., Van Bel A.J.E. "Sieve tubes in action." *The Plant Cell*. (1998). 10: 35-50.

Knoblauch M., Oparka K. "The structure of the phloem—Still more questions than answers." *The Plant Journal*. (2012). 70: 147-156.

Ligrone R., Duckett J.G., Renzaglia K.S. "Conducting tissues and phyletic relationships of bryophytes." *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*. (2000). 355: 795- 813.

Ligrone R., Duckett J.G., Renzaglia K.S. "Major transitions in the evolution of early land plants: A bryological perspective." *Annals of Botany*. (2012). 109: 851-871.

- Liu D.D., Chao W.M., Turgeon R. "Transport of sucrose, not hexose, in the phloem." *Journal of Experimental Botany*. (2012). 63: 4315-4320.
- Lucas W.J., Groover A., Lichtenberger R., Furuta K., Yadav S.R., Helariutta Y., He X.Q., Fukuda H., Kang J., Brady S.M. *et al.* "The plant vascular system: evolution, development and functions." *Journal of Integrative Plant Biology*. (2013). 55: 294–388.
- Mahonen A.P., Bonke M., Kauppinen L., Riikonen M., Benfey P.N., Helariutta Y. "A novel two-component hybrid molecule regulates vascular morphogenesis of the *Arabidopsis* root." *Genes and Development*. (2000). 14: 2938–2943.
- Mauseth J.D. "Plant anatomy." Benjamin/Cummings. (1988). Menlo Park, California, USA.
- Mouchel C.F., Briggs G.C., Hardtke C.S. "Natural genetic variation in *Arabidopsis* identifies *BREVIS RADIX*, a novel regulator of cell proliferation and elongation in the root." *Genes and Development*. (2004). 18: 700–714.
- Mullendore D.L., Windt C.W., Van As H., Knoblauch M. Sieve tube geometry in relation to phloem flow." *The Plant Cell*. (2010). 22: 579– 593.
- Niklas K.J. "Biophysical and size-dependent perspectives on plant evolution." *Journal of Experimental Botany*. (2013). 64: 4817-4827.
- Rodriguez-Villalon A., Gujas B., Kang Y.H., Breda A.S., Cattaneo P., Depuydt S., Hardtke C.S. "Molecular genetic framework for protophloem formation." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2014). 111: 11 551–11 556.
- Rodriguez-Villalon A., Gujas B., van Wijk R., Munnik T., Hardtke C.S. "Primary root protophloem differentiation requires balanced phosphatidylinositol-4,5-biphosphate levels and systemically affects root branching." *Development*. (2015). 142: 1437–1446.
- Scacchi E., Salinas P., Gujas B., Santuari L., Krogan N., Ragni L., Berleth T., Hardtke C.S. "Spatio-temporal sequence of cross-regulatory events in root meristem growth." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2010). 107: 22 734–22 739.
- Scheres B., L. Dilaurenzio L., Willemsen V., Hauser M.T., K. Janmaat K., Weisbeek P., Benfey P.N. "Mutations affecting the radial organization of the *Arabi-*

dopsis root display specific defects throughout the embryonic axis." *Development*. (1995). 121: 53-62.

Schlereth A., Möller B., Liu W., Kientz M., Flipse J., Rademacher E.H., Schmid M., *et al.* "MONOPTEROS controls embryonic root initiation by regulating a mobile transcription factor." *Nature*. (2010). 464: 913-916.

Sjolund R.D. "The phloem sieve element: A river runs through it." *The Plant Cell*. (1997). 9: 1137-1146.

Torres-Ruiz R.A., Jurgens G. "Mutations in the *FASS* gene uncouple pattern formation and morphogenesis in *Arabidopsis* development." *Development*. (1994). 120: 2967-2978.

Truernit E., Bauby H., Belcram K., Barthelemy J., Palauqui J.C. "OCTOPUS, a polarly localised membrane-associated protein, regulates phloem differentiation entry in *Arabidopsis thaliana*." *Development*. (2012). 139: 1306-1315.

Truernit E., Bauby H., Dubreucq B., Grandjean O., Runions J., Barthelemy J., Palauqui J.C. "High-resolution whole-mount imaging of three-dimensional tissue organization and gene expression enables the study of phloem development and structure in *Arabidopsis*." *The Plant Cell*. (2008). 20: 1494-1503.

Turgeon R., Oparka K. "The secret phloem of pumpkins." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2010). 107: 13201-13202.

Van Bel A.J.E. "The phloem, a miracle of ingenuity." *Plant, Cell and Environment*. (2003). 26: 125-149.

Vaten A., Dettmer J., Wu S., Stierhof Y.D., Miyashima S., Yadav S.R., Roberts C.J., Campilho A., Bulone V., Lichtenberger R., *et al.* "Callose biosynthesis regulates symplastic trafficking during root development." *Developmental Cell*. (2011). 21: 1144-1155.

White P.J., George T.S., Gregory P.J., Bengough A.G., Hallett P.D., McKenzie B.M. "Matching roots to their environment." *Annals of Botany*. (2013). 112: 207-222.

Wu H., Zheng X.F. "Ultrastructural studies on the sieve elements in root protophloem of *Arabidopsis thaliana*." *Acta Botanica Sinica*. (2003). 45: 322-330.

Xie B., Wang X., Zhu M., Zhang Z., Hong Z. "*CalS7* encodes a callose synthase responsible for callose deposition in the phloem." *The Plant Journal*. (2011). 65: 1-14.

- Xoconostle-Cázares B., Xiang Y., Ruiz-Medrano R., Wang H.L., Monzer J., Yoo B.C., McFarland K.C., *et al.* “Plant paralog to viral movement protein that potentiates transport of mRNA into the phloem.” *Science*. (1999). 283: 94-98.
- Xu B., Ohtani M., Yamaguchi M., Toyooka K., Warakazaki M., Sato M., Kubo M., *et al.* “Contribution of NAC transcription factors to plant adaptation to land.” *Science*. (2014). 343: 1505-1508.
- Yadav S.R., Yan D., Seville I., Helariutta Y. “Plasmodesmata-mediated inter-cellular signaling during plant growth and development.” *Frontiers in Plant Science*. (2014). 5: 44.
- Yoo B.C., Kragler F., Varkonyi-Gasic E., Haywood V., Archerevans S., Lee Y.M., Lough T.J., Lucas W.J. “A systemic small RNA signaling system in plants.” *The Plant Cell*. (2004). 16: 1979-2000.
- Yoo S.C., Chen C., Rojas M., Daimon Y., Ham B.K., Araki T., Lucas W.J. “Phloem long-distance delivery of FLOWERING LOCUS T (FT) to the apex. *The Plant Journal*. (2013). 75: 456-468.
- Zavaliev R., Ueki S., Epel B.L., Citovsky V. “Biology of callose (β -1,3-glucan) turnover at plasmodesmata.” *Protoplasma*. (2011). 248: 117-130.
- Zhang C., Yu X., Ayre B.G., Turgeon R. “The origin and composition of cucurbit “phloem” exudate.” *Plant Physiology*. (2012). 158: 1873– 1882.

VI. Raíz lateral

Introducción

El sistema radicular de las plantas superiores está altamente ramificado y la generación de raíces laterales se inicia en la parte interna de las raíces principales. La formación de la raíz lateral (LR, Fig. 1) es crítica en la determinación de la arquitectura y el arreglo espacial del sistema radicular de las plantas (Malamy y Benfey, 1997). A diferencia de la raíz primaria que se forma durante la embriogénesis y su desarrollo está predeterminado, las raíces laterales se forman durante el ciclo de vida en la planta y presentan una alta plasticidad morfológica, para permitir una aclimatación a la variación de las condiciones ambientales a la cual está sometida la planta.

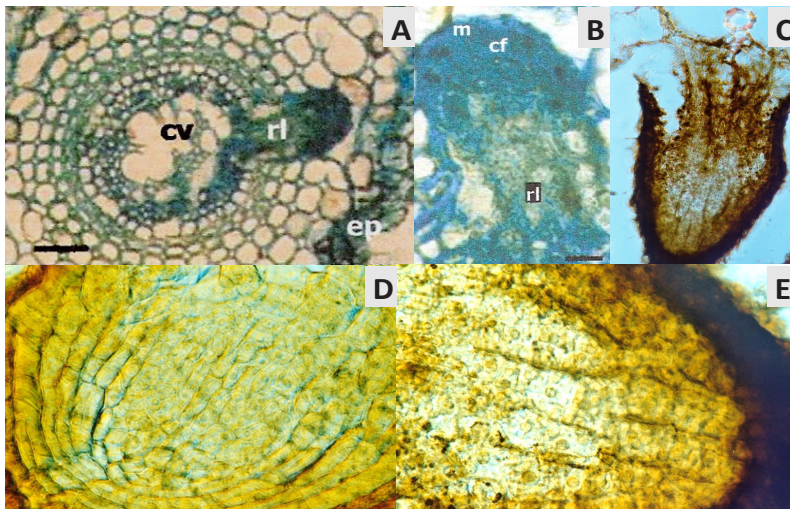


Figura 1. Raíces Laterales en monocotiledóneas y dicotiledoneas. A y B, raíz de una monocotiledónea del género *Paspalum* sp. C a E, raíz lateral de una eudicotiledonea, *Ipomoea purpurea*. En A, se observa la emergencia de la raíz lateral del periciclo que está contiguo al polo xilemático, en la etapa VI (ver el texto). Se observa la estructura de la raíz lateral, en donde el meristemo está protegido por la caliptra. B, raíz lateral de *Paspalum* sp. atravesando la corteza de la raíz principal. C, emergencia de la raíz lateral en el polo xilemático en *Ipomoea purpurea*. D, región meristemática de la raíz lateral en donde se distingue el centro quiescente, y la caliptra de la raíz. E, ápice de la raíz lateral, con una caliptra lateral (LRC) con una alta actividad metabólica como lo muestra la tinción en café oscuro, detectada con una prueba histoquímica para detectar el Pi liberado del ATP, muestra la alta actividad de la columnella de la raíz.

El desarrollo de la LR está determinado por factores internos como el estado metabólico o de desarrollo, y por factores externos, en forma particular de tipo nutricional. El desarrollo del primordio de la raíz lateral (LRP) puede ser inducido o reprimido en respuesta a condiciones ambientales y esto provee un mecanismo para aclimatarse a las condiciones edáficas cambiantes (Malamy, 2005).

Una gran cantidad de variables ambientales influyen el desarrollo del primordio de la raíz lateral, como es el estrés osmótico o la sequía que inhiben el desarrollo de la LRP (Deak y Malamy, 2005), la actividad del meristemo emergente de la LRP está bloqueada por la aplicación exógena de ABA (De Smet *et al.*, 2003). El desarrollo del LRP es sensible a la disponibilidad de nutrimentos, entre los cuales el nitrógeno, fósforo y azufre son fundamentales (Fig. 2; Jones y Ljung, 2012; Lavenus *et al.*, 2013; Péret *et al.*, 2011), los dos primeros nutrimentos mencionados inducen el desarrollo temprano de la LRP (Lima *et al.*, 2010). En *Arabidopsis*, el NO_3^- regula el desarrollo de la LR en dos diferentes procesos. El primero, en una cantidad baja de NO_3^- , menor a 1.0 mM, estimula el alargamiento de la LR; este efecto estimulador es local, indicando que el crecimiento de la LR se da en forma directa en contacto con el suelo deficiente de NO_3^- , provocado en la fase de alargamiento y no posee efecto en el desarrollo temprano. En un segundo proceso, la alta cantidad de NO_3^- , en concentraciones superiores a los 10 mM, produce un efecto sistémico que afecta a todo el sistema radicular en una forma dosis dependiente, en que se regula el desarrollo en la fase de emergencia del primordio radicular en la raíz madre. Una característica fenotípica en el crecimiento de la LR se muestra a una concentración menor a 5 mM de NO_3^- , en que no se afecta el desarrollo temprano o estados de pre-emergencia del primordio de la raíz lateral, ni en el alargamiento en el establecimiento o activación postmeristemática de la LR a altas concentraciones del NO_3^- (Zhang y Forde, 1998; Zhang *et al.*, 1999).

Existe una interacción antagónica entre el NO_3^- y los azúcares en la regulación de la raíz lateral. Un efecto inhibitorio a altas concentraciones de NO_3^- (10 a 50 mM) es significativamente reducido cuando se suministra sacarosa al medio (Zhang *et al.*, 1999; 2000). El antagonismo entre la cantidad de carbono *vs* nitrógeno orgánico (C/N) requiere de la percepción del estado en la cantidad de N y C en la planta (Zhang *et al.*, 1999).

El sistema radicular de *Arabidopsis thaliana* consiste de una raíz principal que es la radícula o raíz embrionaria que ha madurado, a partir de la cual se generan las raíces secundarias o laterales. De este simple diseño se elabora una arquitectura de la que dependerá la eficiencia de captura de agua y nutrimentos. La formación de la raíz lateral se da a partir de las células fundadoras que en la angiospermas se derivan de las células del periciclo, su división coordinada forma una estructura en forma de domo, el primordio radicular, el cual atraviesa los tejidos que lo recubren: la endodermis, la corteza y la epidermis, para emerger a la superficie de la raíz parental, este proceso se da en 8 etapas consecutivas (Fig. 3). El proceso está altamente controlado con el fin de que el primordio de la raíz lateral que emerge no comprometa la barrera de impermeabilidad que forma la endodermis y sin dañar en gran medida a la raíz principal parental.

La decisión de la formación de la raíz lateral se da en el meristemo apical por la especificación en la distribución en forma de intervalos regulares entre las células fundadoras de la raíz lateral (LRFC). Este proceso es el resultado de una compleja interacción en la transcripción, el transporte y la señalización de la auxina (Ljung *et al.*, 2005; De Smet *et al.*, 2007; De Rybel *et al.*, 2010, 2012; Moreno-Risueno *et al.*, 2010). Las ramificaciones de la raíz se forman de un subgrupo de células del periciclo que son competentes para formar la raíz lateral, lo que es dependiente de la especie, en el caso de las monocotiledóneas como el maíz, las células del periciclo que pueden comprometerse para formar LRP son las que se encuentran cercano al polo floemático; mientras que las células del periciclo cercanas al polo xilemático son la formadoras del LRP en *Arabidopsis* e *Ipomoea* (Fig. 1; Casero *et al.*, 1995; Dubrovsky *et al.*, 2000; Hochholdinger y Zimmermann, 2008).

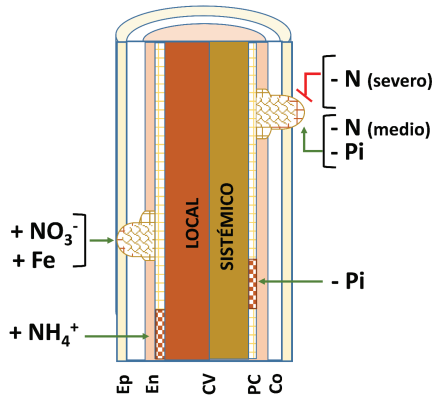


Figura 2. Regulación local y sistémica de la inducción o emergencia de la raíz lateral debida a nutrimentos. Efecto en la inducción de la raíz lateral por la presencia (+) o limitación (-) de Pi y/o N total, o en forma de NO_3^- o NH_4^+ y Fe. Abreviaturas; Co, corteza; CV cilindro vascular; En, endodermis; Ep, epidermis; PC, periciclo. Esquema modificado de Zhang *et al.*, 2000.

A. Especificación del sitio de generación de la raíz lateral

La auxina juega un papel importante en la coordinación del proceso para la especificación y la protrusión de la raíz lateral, en que las células de los diferentes estratos por las que el LRP debe de protruir son ablandadas y desplazadas durante la migración (Lavenus *et al.*, 2013). El desarrollo de la LRP correlaciona con el establecimiento de un máximo de respuesta a la fitohormona en el ápice del primordio, esto ocurre a través del transporte polar de auxinas mediado por los PIN (Benkova *et al.*, 2003; Geldner *et al.*, 2004). La auxina modula la expresión de diferentes grupos de genes, provocando la degradación del represor AUX/IAA, que interacciona con el factor de respuesta a auxina, el factor de transcripción tipo ARF (Lavenus *et al.*, 2013) y la respuesta depende de las concentraciones de la expresión combinada de AUX/IAA y ARF (Vernoux *et al.*, 2011; Weijers *et al.*, 2005).

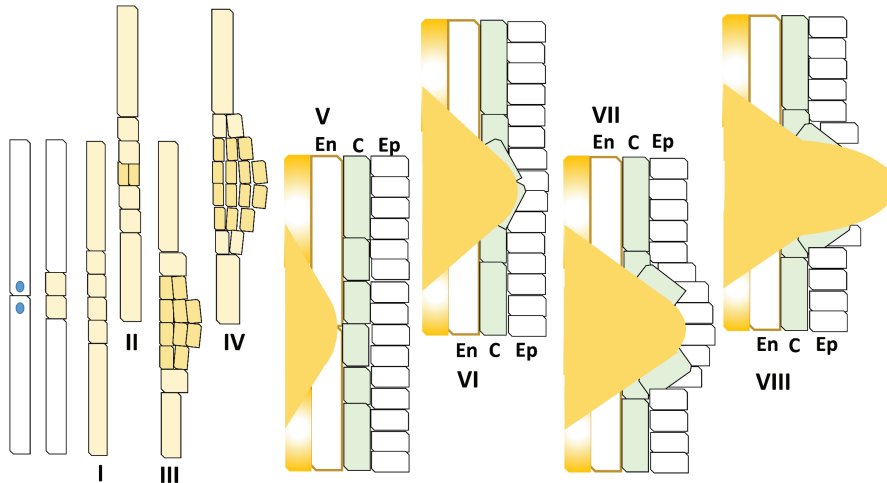


Figura 3. Estados del desarrollo durante la formación de la raíz lateral en *Arabidopsis*. Se muestra una serie de esquemas de cortes longitudinales durante el desarrollo del LRP, mostrando las fases por las que pasa para formar una LR. En el estado I, la raíz lateral contiene un par de células pequeñas del periciclo vecinas entre sí, flanqueadas de dos células más grandes, estas células provienen de dos células madre con una división asimétrica. En el estado II, se dividen transversalmente, aumentando de uno a dos estratos, formando una capa interna (IL) y una capa externa (OL). En la etapa III, el primordio de la raíz lateral, las células de la OL bajo una división periclinal o paralela a la superficie, crean una capa triestratificada. En la etapa IV, el primordium esta formado por cuatro estratos mediante la división de las células de la IL. En la etapa V, el primordio de la raíz lateral atraviesa la endodermis; en la etapa VI se expande a través de la corteza, en el estado VII llega a la epidermis, para emerger en la etapa VIII. Símbolos; C, corteza; En, endodermis; Ep, epidermis. Esquema modificado de Casimiro *et al.*, 2003, Péret *et al.*, 2009.

La evidencia molecular sugiere que los primeros eventos que regulan el patrón de la formación de LR, previo a que se identifique a las células fundadoras de la raíz lateral se da en una posición mucho más apical de la raíz, y está relacionado a la cantidad y respuesta a la auxina (Fig. 4; De Smet *et al.*, 2007; Moreno-Risueño *et al.*, 2010). Con el uso de genes reporteros de respuesta a auxina (con actividad con el promotor DR5), se ha determinado la existencia de un mecanismo de transcripción oscilatorio que opera previo a la especificación de las LRFC. La expresión oscilatoria de los genes se da en una subregión que se encuentra en la zona de alargamiento, a la que se de-

nomina zona de oscilación (OZ), en que la expresión génica se da en forma intermitente ya sea en fase o antifase con respecto a la expresión del gen reportero (Fig. 4; Moreno-Risueño *et al.*, 2010).

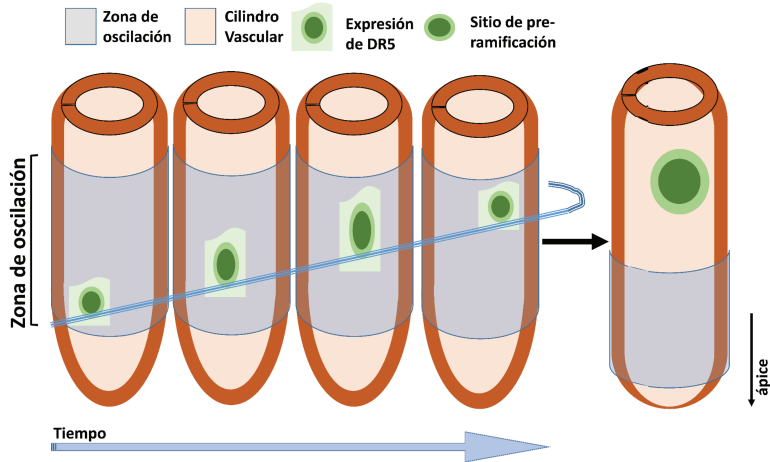
Se han identificado por medio de microarreglos a más de 3400 genes que se expresan en forma oscilatoria en fase o antifase con respecto al reportero de la auxina. Varios de ellos son factores de transcripción que se encuentran en la expresión oscilatoria y son funcionales en la formación de la LR (Moreno-Risueno *et al.*, 2010). No todos los genes de respuesta a auxina necesariamente muestran una expresión oscilatoria en la OZ, aunque algunos genes que presentan una expresión oscilatoria están asociados a la formación de la LR y están por debajo de la señal de la auxina, entre los que se incluyen a *LATERAL ORGAN BOUNDARIES DOMAIN16 (LBD16)* y *AUXIN RESPONSIVE FACTOR 7 (ARF7)*, Okushima *et al.*, 2005, 2007). Algo que no se esperaba es que ARF7, el cual es un factor de respuesta a auxina, se expresara en la antifase al reportero de auxina (DR5::LUC) y en los mutantes *arf7* la oscilación en la expresión de DR5::LUC es anormal y los sitios de formación de LR se dan en intervalos irregulares, por lo que la función de ARF7 es importante para la expresión periódica de los genes en la OZ (Moreno-Risueno, *et al.*, 2010).

La máxima oscilación ocurre en las células del protoxilema adyacente al periciclo, así, las células del periciclo adyacentes al polo xilemático (XPP) reciben una señal durante la oscilación que las prepara para la iniciación de la LR, proceso que se ha determinado como “priming” o marcaje, en que se inicia la expresión génica que especificará las futuras LRFC. El priming de las XPP durante la oscilación de la expresión de genes coincide con la expresión de DR5 en el protoxilema, las células adyacentes del periciclo se desarrollan en LRP. El priming del XPP se da en ambos polos xilemáticos, el carácter molecular del priming celular de las XPP permanece elusivo, una hipótesis es que la oscilación de la expresión de los genes en el mismo periciclo es importante para establecer el patrón de las LR. La expresión de *LBD16* se observa que oscila y posee una expresión específica en las XPP y juega un papel central en la iniciación de la LR (Goh *et al.*, 2012; Moreno-Risueno *et al.*, 2010). La necesidad de una continuidad en el tejido vascular entre la raíz principal y la lateral es fundamental, por ello, la estrecha coordinación entre el patrón vascular de la raíz principal y el establecimiento de la localización

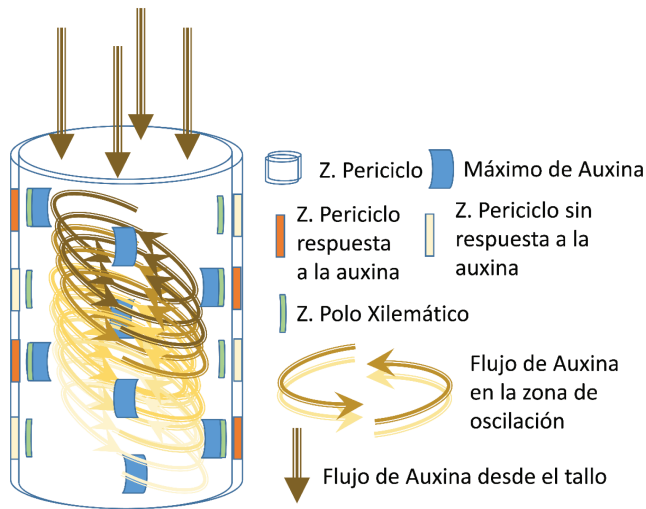
temprana de la LRP (Bonke *et al.*, 2003; Ohashi-Ito y Bergmann, 2007; Parizot *et al.*, 2008). La señal específica en la comunicación de célula a célula aún no se ha identificado.

Bajo condiciones experimentales, la raíz de *Arabidopsis* posee un crecimiento en forma ondulada, el cual se ha postulado que es una estrategia evolutiva para facilitar el crecimiento e impedir los efectos nocivos de los obstáculos. El acompañamiento del crecimiento en forma de ondas, se debe a un crecimiento en turnos de un lado sobre el otro del ápice de la raíz; por lo que la formación de la LRP y la emergencia de la LR, coincide con la cara más externa de la ondulación (Fig. 5; Fortin *et al.*, 1989). El mutante *aux1*, un mutante sin respuesta al transporte de auxina por la gravedad, en el cual la raíz crece solamente en una dirección, no muestra un patrón en la distribución de las raíces laterales, creciendo varias raíces en la cara externa de la raíz que se enrolla sobre sí misma (De Smet *et al.*, 2007), lo cual sugiere que el patrón de distribución en las LR está asociado a la ondulación y el transporte de la auxina; la distribución alterada de la auxina es inductora de la formación de la LR. La expresión y/o localización de reporteros de la señal de auxinas muestran un rápido cambio (entre las 3 a las 7 horas) después de que se da una curvatura en el crecimiento inducido de la raíz, por lo que efectos mecánicos en las células en el crecimiento diferencial entre los dos lados de la raíz, inducen cambios en la distribución y el señalamiento por las auxinas (Ditengou *et al.*, 2008; Laskowski *et al.*, 2008), lo que permite que la auxina se acumule en la parte externa de la curvatura de la raíz, lo cual dispara la competencia de las XPP, y que ellas a su vez promuevan el desarrollo de la LRP (Laskowski *et al.*, 2008), sin embargo, los mutantes en los que existen defectos en la señal o en el transporte de la auxina poseen una producción reducida de LR, pueden formar LR cuando manualmente se forma un doblez en la raíz principal (Ditengou *et al.*, 2008; Richter *et al.*, 2009), este efecto se debe a la generación de sitios competentes para la formación de la LRP. El doblez, produce cambios rápidos en Ca^{2+} del citosol y se correlaciona con la formación de LRP (Richter *et al.*, 2009). Señales previas a la acumulación de auxina en una cara deben de preestablecer la promoción del desarrollo del LRP, indicando que la competencia para formar el LRP está en la posición del doblez u ondulación del crecimiento, sin embargo, existen además otros sitios competentes para desarrollar LRP que depende de

señales que provienen del ápice de la raíz o del primordio emergente o por ambos (Van Morman *et al.*, 2013).



B



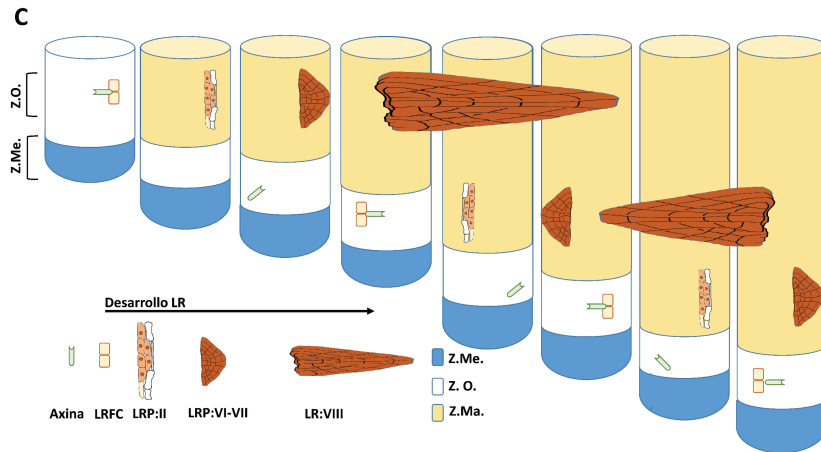


Figura 4. Zona de oscilación en la cantidad de auxina. A, se muestra la zona de alargamiento de la raíz, en que la cantidad de la auxina se distribuye en una pequeña región que se presenta en forma oscilatoria, en la cual se da la inducción de un grupo de genes y otros que son reprimidos. B, en la microzona de oscilación se determina a las células del periciclo contiguo al polo xilemático que puedan ser comprometidas como LRFC. C, esquema de la zona de oscilación de la auxina y la formación de tres raíces laterales en sus diferentes fases I a VIII. Símbolos: LR, raíz lateral; LRP, primordio de la raíz lateral; LRFC, célula fundadora de la raíz lateral; Z.Ma, zona de maduración; Z.Me, zona del meristemo; Z.O. zona de oscilación. Esquema modificado de Overvoorde *et al.*, 2010.

Por lo que se ha establecido el modelo denominado reloj de la raíz lateral, en que un mecanismo complejo de transcripción periódica especifica los sitios que son competentes para formar las LRFC, pre-estableciendo un patrón para la LRP en el eje de la raíz principal; estos pre-sitios coinciden con la curvatura externa de la raíz, en que existe una correlación entre los eventos en espacio pero que están separados en el tiempo.

B. Las células fundadoras de la raíz lateral y el inicio en la formación de la LR

El OZ induce el poder pre-establecer un sitio probable de ramificación, punto estático en que marca la competencia de los sitios en que se dará la forma-

ción de la raíz lateral. Se calcula que 12 células se encuentran comprometidas cuando salen de la OZ (Verbelen *et al.*, 2006), sin embargo, solo un par de ellas se comprometen como LFFC.

La organogénesis se inicia con la especificación de las células fundadoras; el proceso involucra responder a una señal de activación que induce que las células adquieran competencias específicas. Las LRFC son células comprometidos en la formación de una estirpe celular que provienen de las células del XPP por una división asimétrica, ello se genera el inicio de la LR o etapa I (Fig. 3). La especificación y activación de la LRFC ocurre dentro de la zona de diferenciación de la raíz, zona en que otras células han reprimido la capacidad de división y empiezan a diferenciarse. Las células de XPP se encuentran en un estado desdiferenciado, el primer evento en que estas células han adquirido el compromiso de formar la LRFC es la expresión de DR5 (Dubrovsky *et al.*, 2008). Los mutantes *aberrant lateral root formation 4 (alf4)* muestran una expresión DR5:GFP en un grupo selecto de células XPP, indicando que en este mutante se ha dado la especificación pero no están activadas, o bien están comprometidas y activadas pero imposibilitadas a dividirse para entrar al estado I. Debido a que la expresión de DR5:GFP (reportero de respuesta a la auxina) precede a la división de las LFFC, y las células del periciclo presentan una sensibilidad uniforme a la auxina exógena, por lo que la acumulación local de la auxina más que la sensibilidad a la fitohormona es lo que dispara la especificación de la LRFC (Dubrovsky *et al.*, 2008). Una de las primeras señales de que las células XPP han adquirido la característica de LRFC, es que los núcleos de las LFFC se hacen esféricos, además existe una migración coordinada de los núcleos a las paredes celulares contiguas entre las dos células (De Rybel *et al.*, 2010; Dubrovsky *et al.*, 2011). Simultáneamente, las células aumentan en volumen y ejercen una presión sobre las células de la endodermis adyacente y las deforman (Fig. 6A; Vermeer *et al.*, 2014). El aumento de la turgencia puede ser inducido por el tratamiento de auxina y es dependiente de la percepción temprana de la fitohormona en la endodermis. El represor AUX/IAA, *SHY2*, se expresa en la endodermis directamente y se sobrepone al periciclo en donde se establece el LRP, por efecto de la respuesta a la auxina (Swarup *et al.*, 2008). Las plantas que expresan al alelo con la pérdida de función *shy2-24* aumentan la respuesta a las auxinas en la endodermis y con ello se da la emergencia acelerada de la LR; por otra parte, los mutantes con ganancia de

función del alelo *shy2-2* que reducen la respuesta a la auxina en las células de la endodermis, pierden la capacidad de que la LR emerja (Swarup *et al.*, 2008); la expresión exclusiva de *shy2-2* en la endodermis previene el aumento de la turgencia en las LRFC y la primera división en estas células (Vermeer *et al.*, 2014). Por lo que la acumulación de la auxina en la LRFC es percibida por la endodermis por el modulo que contiene *SHY*, la endodermis reenvía una señal no conocida a la LRFC para que aumente la turgencia y se divida. Esta relación entre la regulación bioquímica y mecánica define un punto clave de la iniciación de la raíz lateral. Los cambios mecánicos que sufren las células de la endodermis por la turgencia de las LRFC, provoca cambios en el flujo de las auxinas y con ello de la concentración en el periciclo y el tejido vascular adyacente (Ditengou *et al.*, 2008; Laskowski *et al.*, 2008) y con ello la iniciación de la LRP.

La percepción de la auxina derivada del periciclo por la endodermis induce a su vez un reflujo de la auxina desde la endodermis hacia el periciclo (Marhavy *et al.*, 2013). Poco después de la especificación de la LRFC, la expresión del transportador de eflujo de auxina PIN3 es inducido en un pequeño grupo de células de la endodermis adyacente al LRP, la ubicación del PIN3 se encuentra localizado en la membrana plasmática cercana a la LRP. Los mutantes *pin3* muestran una incapacidad para formar LRP, pero se reestablece cuando se expresa en la endodermis a PIN3-GFP. El reflujo de auxina desde la endodermis a través de PIN3 a LRP participa como la inducción de un segundo máximo de concentración de auxina que es necesario para la división de la LRP (Fig. 6B; Marhavy *et al.*, 2013).

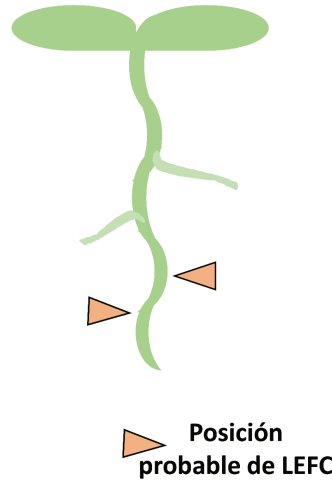


Figura 5. Emergencia de la raíz lateral desde la región de curvatura de la raíz principal. La ondulación en la raíz principal generada por raíces que se han sometido a estímulos gravitrópicos consecutivos, muestran que la cara externa de la curvatura está ocupada por una raíz lateral, indicando que estos sitios son sensibles de inducir la formación de estas estructuras. Esquema modificado de Fortin *et al.*, 1989 y Van Morman *et al.*, 2013).

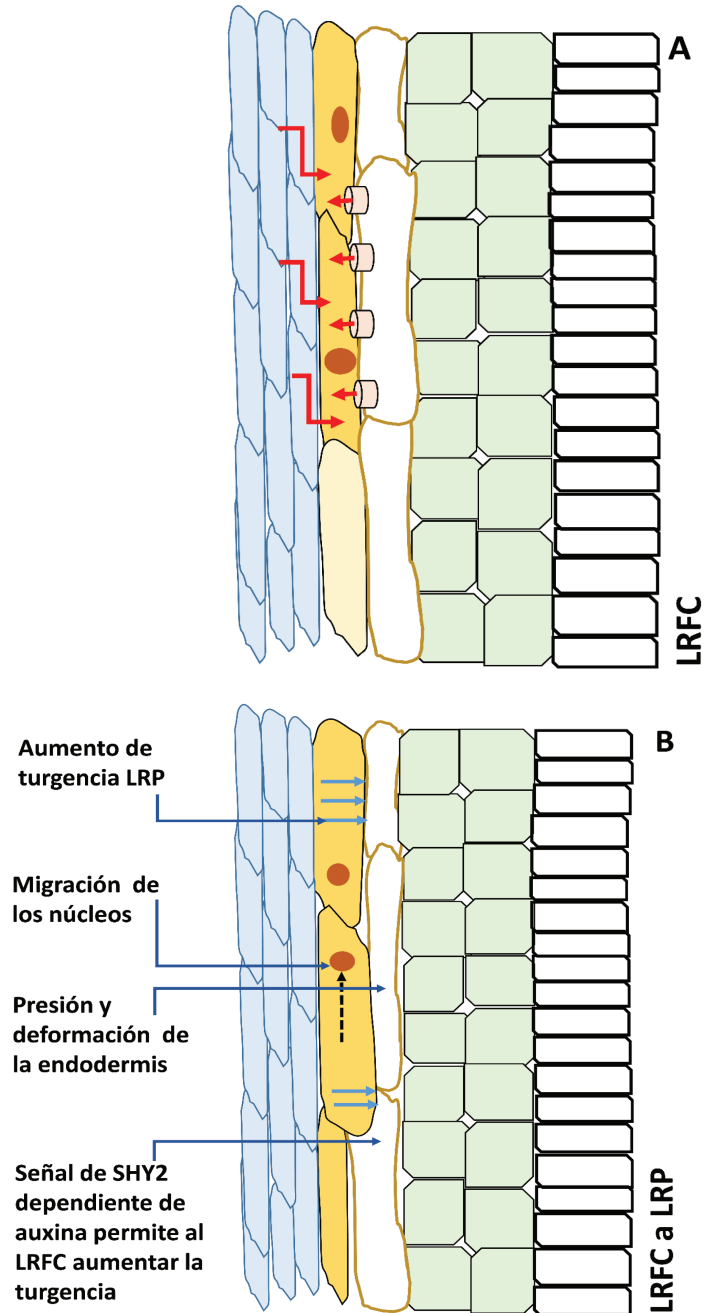
La división anticlinal asimétrica de la célula fundadora (LRFC) en la zona de maduración de la raíz principal, genera una capa aproximadamente de 10 células en la etapa I (Fig. 6C; Malamy y Benfey, 1997; Laskowski *et al.*, 1995; Malamy *et al.*, 1997; Dubrovsky *et al.*, 2001; Casimiro *et al.*, 2003). La capa monoestratificada del primordio típicamente consiste de células pequeñas en la parte central flanqueadas por células de mayor tamaño. Previo a la iniciación, se incrementa la respuesta a la auxina en la LRFC (Fig. 6A y 6B; Dubrovsky *et al.*, 2008) y si se perturba el transporte polar es suficiente para impedir la iniciación de la LR (Casimiro *et al.*, 2001). Dos módulos diferentes AUX/IAA-ARF se encuentran involucrados en la reactivación del ciclo celular en la LRFC y la adquisición de identidades de células centrales y periféricas: IAA14-ARF7/ARF9 (Fukaki *et al.*, 2002; Fukaki *et al.*, 2005; Okushima *et al.*, 2005; Vanneste *et al.*, 2005) y IAA12-ARF5 (De Smet *et al.*, 2010).

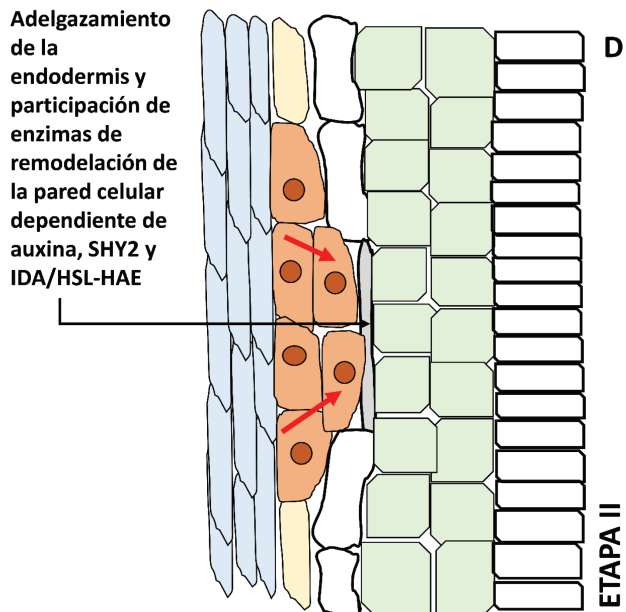
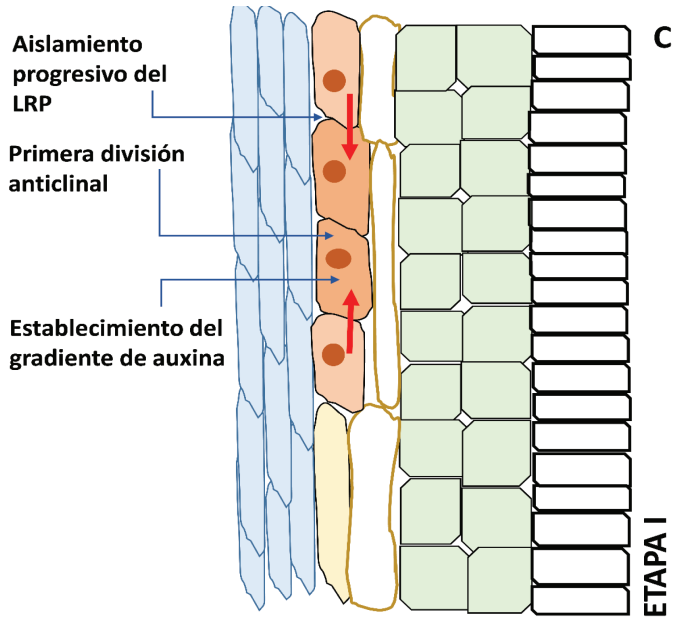
Las citocininas antagonizan los efectos de las auxinas en la iniciación del LRP, alterando la cantidad de citocinina, su percepción o señalamiento

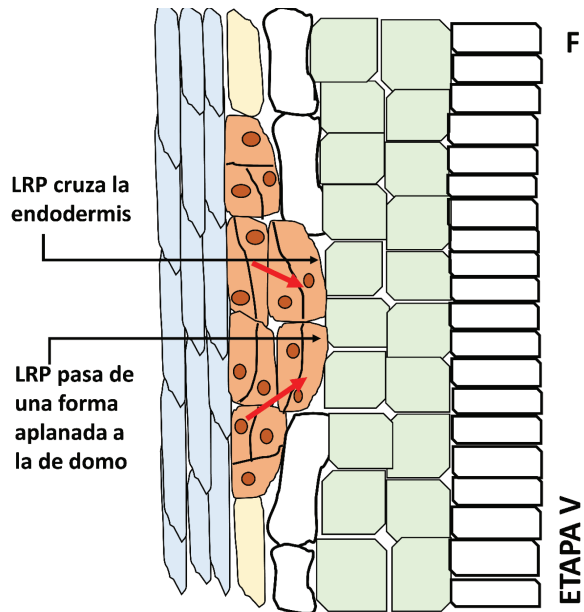
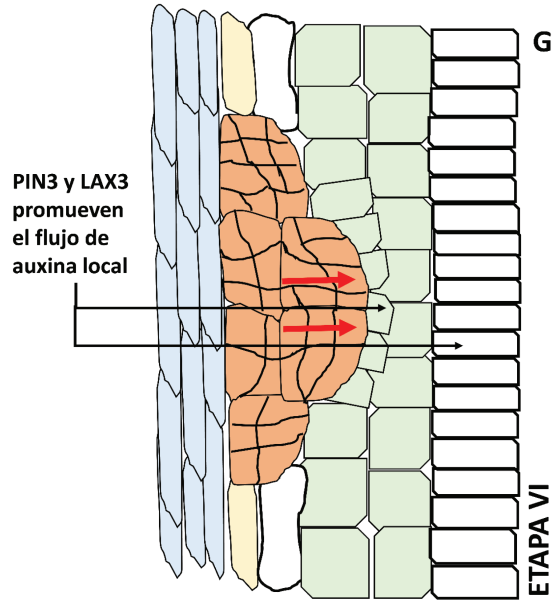
inhibe la iniciación del LRP (Werner *et al.*, 2003; Riefler *et al.*, 2006; Laplaze *et al.*, 2007). Las citocininas reprimen la expresión de varios transportadores de eflujo de la auxina (Laplaze *et al.*, 2007) y su localización polar (Marhavy *et al.*, 2011 y 2014) lo cual perturba el flujo de auxina y por ello impide que la LRFC entre en división celular (Li *et al.*, 2006; Bielach *et al.*, 2012).

La célula central de esta capa, se divide periclinalmente, iniciando la producción de dos estratos, entrando con ello a la etapa II del desarrollo (Fig. 6D). Varias rondas de división en las células centrales generan un primordio de forma elipsoidal que crece hacia la parte externa (etapas III y IV; Lucas *et al.*, 2013). Las células están comunicadas entre ellas a través de los plasmodesmos (PD; Maule *et al.*, 2011; Burch-Smith *et al.*, 2012), el depósito de calosa provoca que disminuya el flujo a través de ellos y es un proceso que regula el desarrollo y participa en la formación de la LR (Wu *et al.*, 2012; Benitez-Alfonso *et al.*, 2013). Se ha determinado que la conectividad celular se va perdiendo en el LRP y los tejidos que le rodean, en la etapa IV en la que existen cuatro estratos de células se encuentra completamente aislada, con el aumento de la cantidad de calosa depositada en los PD (Fig. 6E; Benitez-Alfonso *et al.*, 2013).

En la LRFC se expresan dos glucanasas localizadas en los PD, *PdBG1* y *PdBG2*, su expresión persiste durante la iniciación de la LRP. En el doble mutante *pdbg1 pdbg2* se observa una acumulación de calosa en las células del LRP, demostrando que la reducida degradación de la calosa tiene un efecto en la formación del LRP. Por lo que existe un control preciso en la comunicación celular en etapas tempranas del desarrollo del LRP, la regulación del movimiento de factores aún no descubiertos que determinan el “priming” o la iniciación de la raíz lateral. La mutación del receptor tipo cinasa *ARA-BIDOPSIS CRINKLY4 (ACR4)* el cual se expresa específicamente en las células pequeñas en el centro de la monocapa del LRP (etapa I), reprime divisiones anticlinales asimétricas adicionales en las células que flanquean al LRFC. *ACR4* se expresa también en la columnella y en las células iniciales de la epidermis/cofia lateral, en donde se restringe la división de las células vecinas (De Smet *et al.*, 2008), en éstas células, *ACR4* se acumula preferencialmente en los plasmodesmos (Stahl *et al.*, 2013), abriendo la posibilidad de que *ACR4* pueda en LRFC estar involucrada en el tráfico intracelular de factores y la represión de la división en la periferia del LRP.







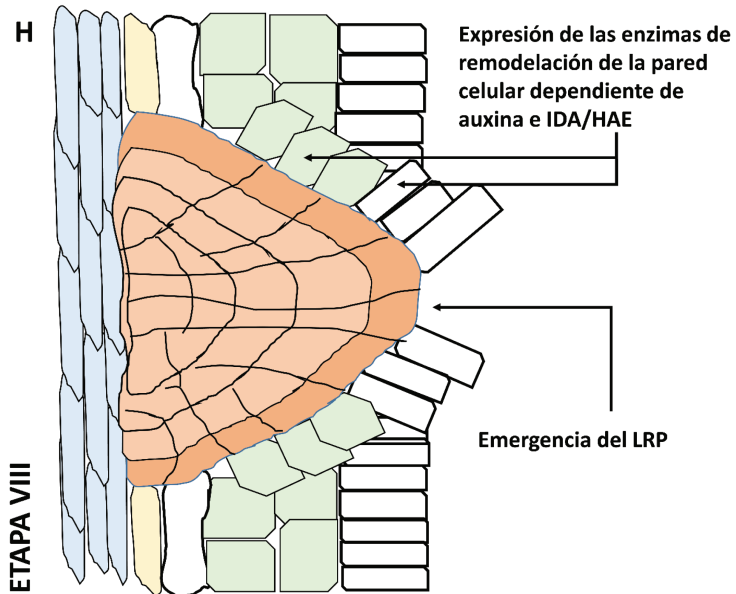
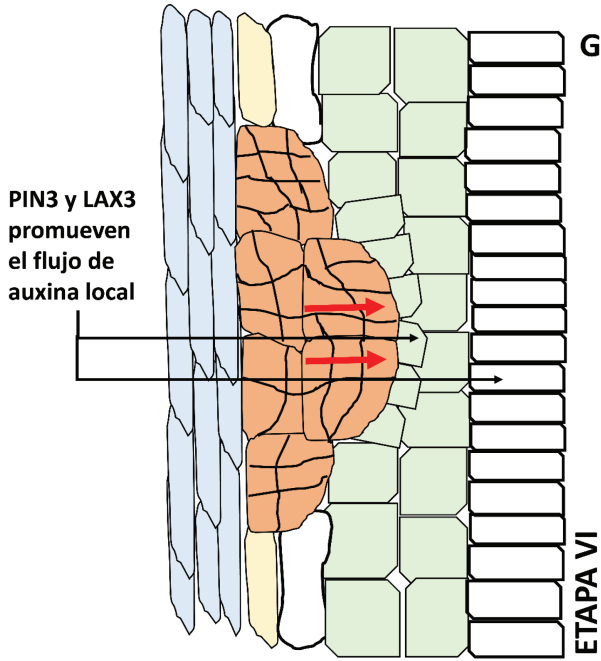


Figura 6. Fases en la especificación de la raíz lateral. A, especificación de las células fundadoras y el flujo de auxina. B, Transición de la LRFC a LRP. C, etapa I, primeras divisiones para formar el LRP. D, cambio del plano de división y el surgimiento de dos estratos celulares, etapa II. E, formación de LRP con cuatro estratos, por divisiones consecutivas de las capas OL y IL de la fase II. F, etapa de ruptura de la endodermis. G, etapa de crecimiento a través de la corteza en que se genera un flujo polar de auxina y el crecimiento por el aumento de la turgencia en las células del LRP. H, emergencia del LRP y la acción de enzimas de remodelación de la pared celular que afecta la lámina media de las células corticales y epidérmicas en contacto con el LRP. Figura modificada de Vilches-Barro *et al.*, 2015.

C.- Cruzando la endodermis

El crecimiento del LRP debe de generar una vía de salida a través de la endodermis. La estructura de la pared celular de la endodermis, debido a la composición de la banda de Casparian, juega un papel importante como una barrera a la libre difusión de sustancias entre la corteza y el cilindro vascular (ver capítulo de endodermis de este libro; Naseer *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2013), además es una barrera mecánica pues le confiere una estructura rígida, difícil de ser degradada y por lo tanto durante la protrusión del LRP debe ser remodelada (Vermeer *et al.*, 2014). La endodermis cambia de forma durante el crecimiento del LRP, las células son progresivamente más delgadas, con una pérdida de volumen y existe la fusión de su membrana entre las caras opuestas (Fig. 6D y 6E). La integridad de la vacuola y de la membrana plasmática no está comprometida, las células de la endodermis se encuentran asociadas unas a otras a través de las bandas de Casparian y solamente la lignina es degradada en sitios puntuales que permiten el paso del LRP. Este acomodo celular de la endodermis difiere de la respuesta que ocurre entre la corteza y la endodermis para generar la vía de salida. La ruptura localizada de la banda de Casparian sobre el ápice del LRP asegura que los flancos del LRP sellen la perforación, no se genere más daño y se preserve la funcionalidad de la endodermis como barrera (Barberon *et al.*, 2014). La remodelación de la banda de Casparian, sugiere que el mecanismo de restricción juega un papel importante en la morfogénesis del mismo LRP en dos formas: la primera es la transición de la forma de “domo” a la de “punta aplanada”; y segundo, cambia los planos tangenciales y oblicuos en la di-

visión celular que rompe la simetría bilateral de la LRP, y esta asociado con la adquisición de simetría radial, lo que ocurre en el momento que el LRP pasa a través de la endodermis (Lucas *et al.*, 2013). El mecanismo que induce que la modificación de la endodermis en la región de formación del LRP está asociado a *SHY*, en el mutante *shy2-2* no se expresa éste gen en forma estable en la endodermis y con ello la activación de la LRC está bloqueada y no se forma la raíz lateral (Vermeer *et al.*, 2014). Este bloqueo es eliminado por un tratamiento de auxina, el primordio tratado con auxina es plano y la endodermis se encuentra túrgida (Vermeer *et al.*, 2014). El reacomodo de la endodermis al crecimiento del LRP involucra un mínimo de autonomía dependiente de *SHY2* en la percepción de la auxina por la endodermis. La expresión de una versión negativa dominante de *AUX/IAA AXR3* en las tres capas sobre el LRP, trae un retraso en la emergencia, el aplanamiento del primordio y la expresión errónea en la acuaporina PIP2,2 (Péret *et al.*, 2012).

Los cambios drásticos en la forma de las células de la endodermis inducidos por la auxina implican modificaciones en las propiedades de la pared celular, por lo que la auxina está asociada al adelgazamiento de la célula endodérmica, las propiedades de la pared celular y la señalización a través del receptor tipo cinasa (Kumpf *et al.*, 2013). El péptido señal INFLORESCENCE DEFICIENT IN ABSCISSION (*IDA*) y su receptor, *HAESSA* (*HAE*, leucin rich repeat-like kinase) y *HAESA-like 2* (*HSL2*), forman un módulo involucrado en la regulación de las enzimas de remodelación de la pared celular durante la abscisión de la flor (Cai *et al.*, 2008). Todos los elementos de este módulo se encuentran presentes en la endodermis, corteza y epidermis que están en la zona de crecimiento del LRP (Kumpf *et al.*, 2013). La expresión de *IDA*, *HAE* y *HSL2* es inducida por la auxina y los tres genes son requeridos para la expresión de las enzimas de remodelación de la pared celular *XTH23/XYLOGLYCAN ENDOTRANSGLYCOSYLASE6* (*XTR6*; Swarup *et al.*, 2008) y la expansina *EXP17* (Laskowski *et al.*, 2006) en la endodermis sobre el LRP, así la auxina induce la expresión de *IDA*, la señal es percibida a través de los receptores *HAE* y *HSL2* que regulan positivamente la expresión de los genes de las enzimas de remodelación de la pared celular *XRT8* y *EXP17* que a su vez producen sus efectos en el adelgazamiento de la endodermis (Fig. 6D a 6F).

D. Paso del LRP a través de la corteza y la epidermis

Una vez que el LR atraviesa la endodermis, se encuentra a su paso a la corteza y a la epidermis. Las células de estas dos capas apenas cambian de forma y son desplazadas a un lado por la LRP en crecimiento (Fig. 6G y 6H; Laskowski *et al.*, 2006; Kumpf *et al.*, 2013), de forma tal, que se disgrega principalmente la lámina media entre las células para poderlas desplazar. Las pectinas son desmetiladas por la metil esterasa de pectinas (PME), y una vez desmetiladas son degradadas por la pectato liasa (PL). Para poder diferenciar entre las láminas media a degradar, las que constituyen al LRP se encuentra en un grado mayor de metilación, lo cual las protege de la hidrólisis, a menos que sean desmetiladas por la PME. Los perfiles de transcripción de plantas tratadas con auxina muestran la regulación positiva de varias enzimas de remodelación de la pared celular, incluyendo a la pectin metilesterasa (AtPME1), la alfa-expansina AtEXP1 y la pectin liasa AtPLA1 y AtPLA2, cuando está en el proceso de emergencia (Laskowski *et al.*, 2006). Por otra parte, la poligalacturonasa (PG) es otra enzima que interviene en la degradación de los pectatos, la auxina y la vía de señales que involucran IDA-HAE activan la expresión de *PG*, *ABSCISSION ZONE ARABIDOPSIS THALIANA* (*PGAZAT*; González-Carranza *et al.*, 2007) el cual es detectado en las células de la corteza y la epidermis que rodean al LRP (Kumpf *et al.*, 2013).

La expresión espacial y la actividad de las enzimas que remodelan la pared celular está altamente regulada para preservar la integridad de la raíz, en donde la canalización del flujo de auxina en el LRP, la corteza y epidermis subyace a este mecanismo (Fig. 6G; Benkova *et al.*, 2003; Dubrovsky *et al.*, 2008; Swarup *et al.*, 2008). Los transportadores de influjo de auxina *LAX3* y de eflujo *PIN3* contribuyen a centrar el flujo de auxina a las células de la corteza y de la epidermis que recubren al LRP y la inducción dependiente de auxina de las enzimas de remodelación de la pared celular (Laskowski *et al.*, 2008; Swarup *et al.*, 2008; Péret *et al.*, 2013). La expresión de *LAX3* se da tempranamente durante la formación del LRP, aun antes de que LRP afecte la morfología de los tejidos que lo rodean (Péret *et al.*, 2013). La acumulación de la auxina en el ápice del LRP (Benkova *et al.*, 2003; Dubrovsky *et al.*, 2008) provoca el aumento en la expresión de *LAX3* en las células de la corteza y la epidermis sobre el LRP (Swarup *et al.*, 2008), a su vez, *LAX3* se encuentra en

la vía que regula la expresión de los genes de las enzimas de remodelación de la pared celular *AIR3* (subtilisin-like protease), *XTR6* y *AtPLA2* (Swarup *et al.*, 2008). Las paredes celulares de las células de la corteza y la epidermis en esa área empiezan a ablandarse, creando un sitio de menor resistencia para que pase a través el LRP. Para prevenir el ablandamiento del resto de las paredes celulares, lo que permitiría entre otras cosas la entrada de patógenos, la expresión coordinada de *LAX3* y *PIN3* se da solamente en un grupo pequeño de células. La expresión de *LAX3* se encuentra en los dos estratos que limitan al LRP (Péret *et al.*, 2013), mientras que *PIN3* se localiza preferencialmente en la parte lateral y distal de las células de la corteza sobre el LRP, de forma tal que la acción de ambos permite que la auxina proveniente del LRP sea canalizada por la combinación de ambos transportadores hacia la parte externa de los tejidos (Péret *et al.*, 2013). La superficie de contacto y el número de células vecinas que hacen contacto físico con el LRP, influyen en el número de células corticales y epidérmicas en la que la auxina puede ser transportada desde el LRP; esto determina como esas células pueden cooperar con el primordio durante la emergencia (Péret *et al.*, 2013).

La expansión del LRP depende de los mecanismos de ablandamiento de la pared celular y del aumento en la presión de turgencia. La presión de turgencia se mantiene por la entrada de agua y su acumulación en la vacuola de las células del LRP. El LRP está simplásticamente aislado del cilindro vascular de la raíz principal (Benitez-Alfonso *et al.*, 2013), el influjo de agua se realiza a través de la membrana plasmática. Las acuaporinas son canales que facilitan el movimiento de agua a través de la membrana, y el movimiento del agua a través de la membrana en el LRP se realiza por los miembros de la familia PLASMA MEMBRANE INTRINSEC PROTEIN (PIP; Maurel *et al.*, 2010). La auxina regula el intercambio de agua entre el cilindro vascular de la raíz principal y la secundaria. LRP y los tejidos que lo cubren, regulan la expresión de las acuaporinas. Durante la emergencia, uno de los genes de acuaporina de mayor expresión es *PIP2;1*, en que existe en las células corticales una relación dosis dependiente entre la cantidad de auxina y la reducción en la expresión de éste gen. En contraste, *PIP2;8* es activado en la base del LRP y en el cilindro vascular subyacente de la raíz principal. Por lo que la captura de agua está disminuida en los tejidos que rodean al LRP, mientras que se promueve el flujo de agua hacia el LRP a través del cilindro vascular

de las raíces aunque no existe todavía comunicación continua entre ellos todavía. El efecto opuesto de la auxina sobre las acuaporinas *PIP2;1* y *PIP2;8* muestra la importancia de un recambio preciso del flujo de agua, tanto temporal como espacial que permitan la emergencia de la raíz lateral (Fig. 6H).

Lecturas sugeridas

Robbin N.E., Trontin C., Duan L., Dinneny J.R. "Beyond the barrier: Communication in the root through the endodermis." *Plant Physiology*. (2014). 166: 551-559.

Vilches-Barro A., Maizel A. "Talking through walls: mechanisms of lateral root emergence in *Arabidopsis thaliana*." *Current Opinion in Plant Biology*. (2015). 25: 31-38.

Van Morman J.M., Xuan W., Beeckman T., Benfey P.N. "To branch or not to branch: the role of pre-patterning in lateral root formation." *Development*. (2013). 140: 4301-4310. doi:10.1242/dev.090548.

Referencias bibliográficas

Barberon M., Geldner N. "Radial transport of nutrients: the plant root as a polarized epithelium." *Plant Physiol*. (2014). 166: 528-537.

Benitez-Alfonso Y., Faulkner C., Pendle A., Miyashima S., Helariutta Y., Maule A. "Symplastic intercellular connectivity regulates lateral root patterning." *Developmental Cell*. (2013). 26: 136-147.

Benkova E., Michniewicz M., Sauer M., Teichmann T. "Local, efflux-dependent auxin gradients as a common module for plant organ formation." *Cell*. (2003). 115: 591-602.

Bielach A., Podlesakova K., Marhavy P., Duclercq J., Cuesta C., Müller B., Grunewald W., Tarkowski P., Benkova E. "Spatiotemporal regulation of lateral root organogenesis in *Arabidopsis* by cytokinin." *The Plant Cell*. (2012). 24: 3967-3981.

Bonke M., Thitamadee S., Mähönen A. P., Hauser M. T. Helariutta Y. "APL regulates vascular tissue identity in *Arabidopsis*." *Nature*. (2003). 426: 181-186.

Burch-Smith T.M., Zambryski P.C. "Plasmodesmata paradigm shift: regulation from without versus within." *Annual Review of Plant Biology*. (2012). 63: 239-260.

Cai S., Lashbrook C.C. "Stamen abscission zone transcriptome profiling reveals new candidates for abscission control: enhanced retention of floral organs in transgenic plants overexpressing *Arabidopsis* ZINC FINGER PROTEIN2." *Plant Physiology*. (2008). 146: 1305-1321.

- Casero P.J., Casimiro I., Lloret, P.G. "Lateral root initiation by asymmetrical transverse divisions of pericycle cells in four plant species: *Raphanus sativus*, *Helianthus annuus*, *Zea mays*, and *Daucus carota*." *Protoplasma*. (1995). 188: 49-58.
- Casimiro I., Beeckman T., Graham N., Bhalerao R., Zhang H., Casero P., Sandberg G., Bennett M.J. "Dissecting *Arabidopsis* lateral root development." *Trends Plant Science*. (2003). 8: 165-171.
- Casimiro I., Marchant A., Bhalerao R.P., Beeckman T., Dhooge S., Swarup R., Graham N., Inzé D., Sandberg G., Casero P.J., *et al.* "Auxin transport promotes *Arabidopsis* lateral root initiation." *The Plant Cell*. (2001). 13: 843-852.
- Deak, K.I., Malamy, J. "Osmotic regulation of root system architecture." *The Plant Journal*. (2005). 43: 17-28.
- De Rybel B., Audenaert D., Xuan W., Overvoorde P., Strader L.C., Kepinski S., Hoyer R., Brisbois R., Parizot B., Vanneste S., *et al.* "A role for the root cap in root branching revealed by the non-auxin probe naxillin." *Nature Chemical Biology*. (2012). 8: 798-805.
- De Rybel B., Vassileva V., Parizot B., Demeulenaere M., Grunewald W., Audenaert D., Van Campenhout J., Overvoorde P., Jansen L., Vanneste S., *et al.* "A novel aux/IAA28 signaling cascade activates GATA23-dependent specification of lateral root founder cell identity." *Current Biology*. (2010). 20: 1697-1706.
- De Smet I., Lau S., Voss U., Vanneste S., Benjamins R., Rademacher E.H., Schlereth A., De Rybel B., Vassileva V., Grunewald W., *et al.* "Bimodular auxin response controls organogenesis in *Arabidopsis*." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2010). 107: 2705-2710.
- De Smet I., Signora L., Beeckman T., Inzé D., Foyer C.H., Zhang H. "An abscisic acid-sensitive checkpoint in lateral root development of *Arabidopsis*." *Plant Journal*. (2003). 33: 543-555.
- De Smet I., Tetsumura T., De Rybel B., Frey N.F.D., Laplaze L., Casimiro I., Swarup R., Naudts M., Vanneste S., Audenaert D., *et al.* "Auxin-dependent regulation of lateral root positioning in the basal meristem of *Arabidopsis*." *Development*. (2007). 134: 681-690.
- De Smet I., Vassileva V., De Rybel B., Levesque M.P., Grunewald W., Van Damme D., Van Noorden G., Naudts M., Van Isterdael G., De Clercq R., *et al.* "Re-

ceptor-like kinase ACR4 restricts formative cell divisions in the *Arabidopsis* root." *Science*. (2008). 322: 594-597.

Ditengou F.A., Teale W.D., Kochersperger P., Flittner K.A., Kneuper I., van der Graaff E., Nziengui H., Pinosa F., Li X., Nitschke R., *et al.* "Mechanical induction of lateral root initiation in *Arabidopsis thaliana*." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2008). 105: 18818-18823.

Dubrovsky J.G., Doerner P.W., Colón-Carmona A., Rost T.L. "Pericycle cell proliferation and lateral root initiation in *Arabidopsis*." *Plant Physiology*. (2000). 124: 1648-1657.

Dubrovsky J.G., Napsucially-Mendivil S., Duclercq J., Cheng Y., Shishkova S., Ivanchenko M.G., Friml J., Murphy A.S., Benková E. "Auxin minimum defines a developmental window for lateral root initiation." *New Phytologist*. (2011). 191: 970-983.

Dubrovsky J.G., Rost T.L., Colón-Carmona A., Doerner P. "Early primordium morphogenesis during lateral root initiation in *Arabidopsis thaliana*." *Planta*. (2001). 214:30-36.

Dubrovsky J.G., Sauer M., Napsucially-Mendivil S., Ivanchenko M.G., Friml J., Shishkova S., Celenza J., Benkova E. "Auxin acts as a local morphogenetic trigger to specify lateral root founder cells." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2008). 105: 8790.

Fortin M.C., Pierce F.J. Poff K.L. "The pattern of secondary root formation in curving roots of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh." *Plant, Cell and Environment*. (1989). 12: 337-339.

Fukaki H., Nakao Y., Okushima Y., Theologis A., Tasaka M. "Tissue-specific expression of stabilized SOLITARY-ROOT/IAA14 alters lateral root development in *Arabidopsis*." *The Plant Journal*. (2005). 44: 382-395.

Fukaki H., Tameda S., Masuda H., Tasaka M. "Lateral root formation is blocked by a gain-of-function mutation in the SOLITARY-ROOT/IAA14 gene of *Arabidopsis*." *The Plant Journal*. (2002). 29: 153-168.

- Geldner N., Richter S., Vieten A., Marquardt S., Torres-Ruiz R.A., Mayer U., Jürgens G. "Partial loss-of-function alleles reveal a role for GNOM in auxin transport-related, post-embryonic development of *Arabidopsis*." *Development*. (2004). 131: 389-400.
- Goh T., Joi S., Mimura T. Fukaki H. "The establishment of asymmetry in *Arabidopsis* lateral root founder cells is regulated byLBD16/ASL18 and related LBD/ASL proteins." *Development*. (2012). 139: 883-893.
- González-Carranza Z.H., Rompa U., Peters J.L., Bhatt A.M., Wagstaff C., Stead A.D., Roberts J.A. "HAWAIIAN SKIRT: an F-box gene that regulates organ fusion and growth in *Arabidopsis*." *Plant Physiology*. (2007). 144: 1370-1382.
- Hochholdinger F., Zimmermann R. "Conserved and diverse mechanisms in root development." *Current Opinion in Plant Biology*. (2008). 11: 70-74.
- Jones B., Ljung K. "Subterranean space exploration: the development of root system architecture." *Current Opinion in Plant Biology*. (2012). 15: 97-102.
- Kumpf R.P., Shi C.L, Larrieu A., Stø I.M., Butenko M.A., Peret B., Riiser E.S., Bennett M.J., Aalen R.B. "Floral organ abscission peptide IDA and its HAE/HSL2 receptors control cell separation during lateral root emergence." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2013). 110: 5235-5240.
- Laplaze L., Benkova E., Casimiro I., Maes L., Vanneste S., Swarup R., Weijers D., Calvo V., Parizot B., Herrera-Rodriguez M.B., *et al.* "Cytokinins act directly on lateral root founder cells to inhibit root initiation." *The Plant Cell*. (2007). 19: 3889-3900.
- Laskowski M., Biller S., Stanley K., Kajstura T., Prusty R. "Expression profiling of auxin-treated *Arabidopsis* roots: toward a molecular analysis of lateral root emergence." *Plant and Cell Physiology*. (2006). 47: 788-792.
- Laskowski M., Grieneisen V.A., Hofhuis H., Hove C.A.T., Hogeweg P., Marée A.F.M., Scheres B. "Root system architecture from coupling cell shape to auxin transport." *PLoS Biology*. (2008). 6: e307.
- Laskowski M.J., Williams M.E., Nusbaum H.C., Sussex I.M. "Formation of lateral root meristems is a two-stage process." *Development*. (1995). 121: 3303-3310.

Lavenus J., Goh T., Roberts I., Guyomarc'h S., Lucas M., De Smet I., Fukaki H., Beeckman T., Bennett M., Laplace L. "Lateral root development in *Arabidopsis*: fifty shades of auxin." *Trends in Plant Science*. (2013). 18: 450-458.

Lee Y., Rubio M.C., Alassimone J., Geldner N. "A mechanism for localized lignin deposition in the endodermis." *Cell*. (2013). 153:402-412.

Li X., Mo X., Shou H., Wu P. "Cytokinin-mediated cell cycling arrest of pericycle founder cells in lateral root initiation of *Arabidopsis*." *Plant and Cell Physiology*. (2006). 47: 1112-1123.

Lima J.E., Kojima S., Takahashi H., von Wirén N. "Ammonium triggers lateral root branching in *Arabidopsis* in an AMMONIUM TRANSPORTER1;3-dependent manner." *The Plant Cell*. (2010). 22: 3621-3633.

Ljung K., Hull A.K., Celenza J., Yamada M., Estelle M., Normanly J., Sandberg G. "Sites and regulation of auxin biosynthesis in *Arabidopsis* roots." *The Plant Cell*. (2005). 17: 1090-1104.

Lucas M., Kenobi K., von Wangenheim D., Vob U., Swarup K., De Smet I., Van Damme D., Lawrence T., Péret B., Moscardi E., *et al.* "Lateral root morphogenesis is dependent on the mechanical properties of the overlaying tissues." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2013). 110: 5229-5234.

Malamy J.E. "Intrinsic and environmental response pathways that regulate root system architecture." *Plant and Cell Environment*. (2005). 28: 67-77.

Malamy J.E., Benfey P.N. "Organization and cell differentiation in lateral roots of *Arabidopsis thaliana*." *Development*. (1997). 124: 33-44.

Marhavy P., Bielach A., Abas L., Abuzeineh A., Duclercq J., Tanaka H., Parezová M., Petrášek J., Friml J., Kleine-Vehn J. *et al.* "Cytokinin modulates endocytic trafficking of PIN1 auxin efflux carrier to control plant organogenesis." *Developmental Cell*. (2011). 21: 796-804.

Marhavy P., Duclercq J., Weller B., Feraru E., Bielach A., Offringa R., Friml J., Schwechheimer C., Murphy A., Benkova E. "Cytokinin controls polarity of PIN1-dependent auxin transport during lateral root organogenesis." *Current Biology*. (2014). 24: 1031-1037.

- Marhavy P., Vanstraelen M., De Rybel B., Zhaojun D., Bennett M.J., Beeckman T., Benkova E. "Auxin reflux between the endodermis and pericycle promotes lateral root initiation." *The EMBO Journal*. (2013). 32: 149-158.
- Maule A.J., Benitez-Alfonso Y., Faulkner C. "Plasmodesmata-membrane tunnels with attitude." *Current Opinion in Plant Biology*. (2011). 14: 683-690.
- Maurel C., Verdoucq L., Luu D.T., Santoni V. "Plant Aquaporins: membrane channels with multiple integrated functions." *Annual Review of Plant Biology*. (2008). 59: 595-624. 55.
- Moreno-Risueno M.A., Van Norman J.M., Moreno A., Zhang J., Ahnert S.E., Benfey P.N. "Oscillating gene expression determines competence for periodic *Arabidopsis* root branching." *Science*. (2010). 329: 1306-1311.
- Naseer S., Lee Y., Lapierre C., Franke R., Nawrath C., Geldner N. "Casparian strip diffusion barrier in *Arabidopsis* is made of a lignin polymer without suberin." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (2012). 109: 10101-10106.
- Ohashi-Ito K. Bergmann, D.C. "Regulation of the *Arabidopsis* root vascular initial population by LONESOME HIGHWAY." *Development*. (2007). 134: 2959-2968.
- Okushima Y., Fukaki H., Onoda M., Theologis A., Tasaka M. "ARF7 and ARF19 regulate lateral root formation via direct activation of LBD/ASL genes in *Arabidopsis*." *The Plant Cell*. (2007). 19: 118-130.
- Okushima Y., Overvoorde P.J., Arima K., Alonso J.M., Chan A., Chang C., Ecker J.R., Hughes B., Lui A., Nguyen D., *et al.* "Functional genomic analysis of the AUXIN RESPONSE FACTOR gene family members in *Arabidopsis thaliana*: unique and overlapping functions of ARF7 and ARF19." *The Plant Cell*. (2005). 17: 444-463.
- Overvoorde P., Fukaki H., Beeckman T. "Auxin Control of root development." *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. (2010). 2:a001537. doi: 10.1101/cshperspect.a001537.
- Parizot B., Laplaze L., Ricaud L., Boucheron-Dubuisson E., Bayle V., Bonke M., De Smet I., Poethig S.R., Helariutta Y., Haseloff J., *et al.* "Diarch symmetry of the vascular bundle in *Arabidopsis* root encompasses the pericycle and is reflected in distich lateral root initiation." *Plant Physiology*. (2008). 146: 140-148.

Péret B., Clément M., Nussaume L., Desnos T. "Root developmental adaptation to phosphate starvation: better safe than sorry." *Trends in Plant Science*. (2011). 16: 442-450.

Péret B., Li G., Zhao J., Band L.R., Voss U., Postaire O., Luu D.T., Da Ines O., Casimiro I., Lucas M., *et al.* "Auxin regulates aquaporin function to facilitate lateral root emergence." *Nature Cell Biology*. (2012). 14: 991-998.

Péret B., Middleton A.M., French A.P., Larrieu A., Bishopp A., Njo M., Wells D.M., Porco S., Mellor N., Band L.R., *et al.* "Sequential induction of auxin efflux and influx carriers regulates lateral root emergence." *Molecular System Biology*. (2013). 9: 699.

Péret B., De Rybel B., Casimiro I., Benková E., Swarup R., Laplaze L., Beeckman T., Bennett M.J. "*Arabidopsis* lateral root development: an emerging story." *Trends in Plant Science*. (2009). 14(7): 399-408. doi:10.1016/j.tplants.2009.05.002.

Richter G. L., Monshausen G.B., Krol A., Gilroy S. "Mechanical stimuli modulate lateral root organogenesis." *Plant Physiology*. (2009). 151: 1855-1866.

Riefler M., Novak O., Strnad M., Schmülling T. "*Arabidopsis* cytokinin receptor mutants reveal functions in shoot growth, leaf senescence, seed size, germination, root development, and cytokinin metabolism." *The Plant Cell*. (2006). 18: 40-54.

Stahl Y., Grabowski S., Bleckmann A., Kühnemuth R., Weidtkamp-Peters S., Pinto K.G., Kirschner G.K., Schmid J.B., Wink R.H., Hülsewede A., *et al.* "Moderation of *Arabidopsis* root stemness by CLAVATA1 and ARABIDOPSIS CRINKLY4 receptor kinase complexes." *Current Biology*. (2013). 23: 362-371.

Swarup K., Benkova E., Swarup R., Casimiro I., Péret B., Yang Y., Parry G., Nielsen E., De Smet I., Vanneste S., *et al.* "The auxin influx carrier LAX3 promotes lateral root emergence." *Nature Cell Biology*. (2008). 10: 946-954.

Vanneste S., De Rybel B., Beemster G.T.S., Ljung K., De Smet I., Van Isterdael G., Naudts M., Iida R., Gruissem W., Tasaka M., *et al.* "Cell cycle progression in the pericycle is not sufficient for SOLITARY ROOT/IAA14-mediated lateral root initiation in *Arabidopsis thaliana*." *The Plant Cell*. (2005). 17: 3035-3050.

- Verbelen J.P., De Cnodder T., Le J., Vissenberg K., Baluska F. "The root apex of *Arabidopsis thaliana* consists of four distinct zones of growth activities: meristematic zone, transition zone, fast elongation zone and growth terminating zone." *Plant Signaling and Behavior*. (2006). 1: 296-304.
- Vermeer J.E.M, Wangenheim von D., Barberon M., Lee Y., Stelzer E.H.K., Maizel A., Geldner N. "A spatial accommodation by neighboring cells is required for organ initiation in *Arabidopsis*." *Science*. (2014). 343: 178-183.
- Vernoux T., Brunoud G., Farcot E., Morin V., Van den Daele H., Legrand J., Oliva M., Das P., Larrieu A., Wells D., *et al.* "The auxin signalling network translates dynamic input into robust patterning at the shoot apex." *Molecular Systems Biology*. (2011). 7:508.
- Weijers D., Benkova E., Jäger K.E., Schlereth A., Hamann T., Kientz M., Wilmoth J.C., Reed J.W., Jürgens G. "Developmental specificity of auxin response by pairs of ARF and Aux/IAA transcriptional regulators." *The EMBO Journal*. (2005). 24: 1874-1885.
- Werner T., Motyka V., Laucou V., Smets R., Van Onckelen H., Schmülling T. "Cytokinin-deficient transgenic *Arabidopsis* plants show multiple developmental alterations indicating opposite functions of cytokinins in the regulation of shoot and root meristem activity." *The Plant Cell*. (2003). 15:2532-2550.
- Wu S., Gallagher K.L. "Transcription factors on the move." *Current Opinion in Plant Biology*. (2012). 15: 645-665
- Zhang H., Forde B.G. "An *Arabidopsis* MADS box gene that controls nutrient-induced changes in root architecture." *Science*. (1998). 279: 407-409.
- Zhang H., Jennings A.J., Barlow P.W., Forde, B.G. "Dual pathways for regulation of root branching by nitrate." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. (1999). 96: 6529-6534.
- Zhang, H., Jennings, A.J. and Forde, B.G. "Regulation of *Arabidopsis* root development by nitrate availability." *Journal of Experimental Botany*. (2000) 51: 51-59.

Aspectos moleculares del desarrollo de las angiospermas:

Morfogénesis de la raíz

se terminó de imprimir en octubre de 2019,
en los talleres de DocuMaster, Av. Coyoacán 1450,
Col. Del Valle, Benito Juárez, C.P. 03220

La edición consta de 200 ejemplares
más sobrantes para reposición.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Iztapalapa

Av. San Rafael Atlixco No. 186, Col. Vicentina
Alcaldía Iztapalapa, C.P. 09340, Ciudad de México.
Tel. (01) 58 04 46 00