56 Ciencia Nicolaita

Bases moleculares de la señalización del ácido abscísico y el etileno en plantas

Salvador Barrera-Ortiz, Randy Ortiz-Castro, José López-Bucio y Elda Beltrán-Peña

Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas. UMSNH.

Resumen

Los reguladores del crecimiento son moléculas fundamentales en la modulación de diversos procesos del desarrollo de las plantas, incluyendo la germinación, la senescencia, la arquitectura de la raíz y del follaje y las respuestas a factores bióticos y abióticos. Evidencia reciente indica que el ácido abscísico (ABA) y el etileno interactúan antagónicamente en varios de estos procesos mediante la participación de proteínas involucradas tanto en la biosíntesis como en la señalización de cada regulador. En tal interacción, juegan un papel relevante algunas enzimas como la ACC sintasa y ACC oxidasa que participan en la biosíntesis de etileno, así como las proteínas ETR1 y EIN2 de su ruta de señalización. Por otra parte, las proteínas NCED y ABA2 son importantes en las respuestas celulares al ácido abscísico. Los mecanismos moleculares implicados en las interacciones de ambas hormonas se desconocen, no obstante, la caracterización a nivel genético o mediante técnicas de química analítica, farmacológicas y moleculares ha empezado a aportar información valiosa para entender su funcionalidad en los diferentes tejidos. En este trabajo se discuten los avances recientes en las vías de señalización del ABA y del etileno, con énfasis especial en la interacción entre ambas fitohormonas y su efecto sobre los procesos de organogénesis.

Palabras clave: Ácido abscísico, etileno, desarrollo vegetal, *Arabidopsis thaliana*.

Abstract

Plant growth regulating substances are fundamental in modulating diverse developmental processes in plants, including germination, senescence, root and shoot architecture and responses to biotic and abiotic factors. Recent evidence indicates that abscisic acid (ABA) and ethylene interact antagonistically in various of these processes through the participation of proteins involved in the biosynthesis and/or response to each regulator. In such interaction, the enzymes ACC synthase and ACC oxidase that participate in ethylene biosynthesis, as well as the ETR1 and EIN2 proteins belonging to the ethylene signaling pathway, play essential roles. On the other hand, the NCED and ABA2 proteins are important for cellular responses to ABA. Little is known about the mechanisms of ethylene-ABA interactions. However, genetic characterization of each pathway, analytic chemistry, pharmacology and molecular analysis, have started to provide information towards understanding their functional relevance in plant tissues. In this work, recent advances in ABA and ethylene signaling are discussed, with special emphasis on the interaction between both phytohormones and its effect on organogenesis processes.

Key words: Abscisic acid, ethylene, plant development, *Arabidopsis thaliana*.

Introducción

Las fitohormonas, también conocidas como reguladores del crecimiento vegetal, modulan el crecimiento y el desarrollo de las plantas. Entre ellas, las auxinas, citocininas, giberelinas, etileno, ácido abscísico, ácido jasmónico, ácido salicílico y brasinoesteroides han sido ampliamente estudiadas.

El ácido abscísico (ABA), además de regular la maduración y latencia de las semillas juega un papel crítico en la respuesta a sequía y salinidad, acumulándose en las células vegetales bajo estrés hídrico donde promueve el cierre estomático y regula la expresión de una gran cantidad de genes (Hirayama y Shinozaki 2007; Umezawa et al., 2010). Diversas investigaciones sobre el ABA llevaron a proponer un modelo complejo de señalización, donde se sugería como sus posibles receptores a proteínas enlazadas a las proteínas G (GCR2, GTG1/2) y no explicaba de qué forma estas últimas podrían regular las respuestas al ABA en plantas (Pandey et al., 2009). En años recientes, se ha podido establecer la ruta involucrada al descubrir un nuevo tipo de receptor de ABA, formado por las proteínas PYR/PYL/RCAR (Ma et al., 2009; Park et al., 2009), que se unen al complejo proteico fosfatasa-cinasa (PP2C-SnRK2). En presencia del ABA, la actividad de la fosfatasa se bloquea, quedando así las cinasas SnRK2 activas (Umezawa et al., 2009; Vlad et al., 2009).

Por otra parte, la participación del etileno como regulador del envejecimiento, la maduración de los frutos y la respuesta a patógenos es bien conocida. El etileno fue una de las fitohormonas descubiertas a finales del siglo XX, período en el que se documentó que el gas producido de emanaciones durante la extracción de la hulla causaba envejecimiento prema-

turo y abscisión de las hojas de las plantas (Abeles et al., 1992). Neljubov en 1901 identificó al etileno como el componente "activo" de dichas emanaciones y posteriormente se demostró que las plantas lo producen de manera natural, estableciéndose de esta manera que el etileno es un regulador endógeno del crecimiento y desarrollo vegetal (Schaller y Kieber, 2002). Las investigaciones con *Arabidopsis thaliana* han permitido identificar diversos componentes de la ruta de transducción de señales del etileno, incluyendo cuatro receptores membranales, intermediarios de la vía y dos familias de factores de transcripción.

Por su carácter antagónico en el desarrollo vegetal, donde el etileno promueve la senescencia y el ABA induce la germinación, se ha propuesto que estas dos fitohormonas interactúan en la modulación de procesos fisiológicos de crecimiento y desarrollo de las plantas. Este artículo resume los avances recientes sobre los componentes de las vías de señalización del ABA y del etileno, así como la relación antagónica entre ambos fitorreguladores y su efecto sobre la fisiología vegetal.

Ruta de señalización del ABA

Hasta hace unos pocos años no se tenía definido el mecanismo de respuesta al ABA en plantas. Park y colaboradores (2009), examinaron minuciosamente bibliotecas químicas y observaron que la "pirabactina" funciona como un agonista selectivo del ABA. Después de un escrutinio genético contra la pirabactina, se identificó al gen *PYRABACTIN RESISTANCE1* (*PYR1*). Otro grupo de investigadores, en un escrutinio de doble híbrido de levadura aislaron una proteína que interactúa con ABI1, a la cual denominaron *REGULATORY COMPONENT ABA RECEPTOR1* (*RCAR1*) (Ma et al., 2009). Posteriormente, en el genoma de *Arabidopsis* se identificó que *PYR* y *RCAR* corresponden a la misma familia de genes formada por 14 miembros, los cuales se conocen como *PYR1* y parecidos a *PYR1* (*PYL*) 1-13 o *RCAR1-RCAR14* (Umezawa et al., 2010). También se reportó que las proteínas PYR/PYL/RCAR podían unirse al ABA e interactuar con las fosfatasas de la familia 2C (PP2C) del grupo A, inhibiendo así la actividad de las PP2C. Los resultados antes mencionados permitieron sugerir que las PYR/PYL/RCARs funcionan como una subunidad reguladora negativa de las PP2C (Ma et al., 2009; Park et al., 2009). Debido a que las fosfatasas PP2C modulan negativamente la señalización de ABA, se propuso que la unión de PYR/PYL/RCAR al ABA activa su vía de señalización. La función de las distintas PYR/PYL/RCARs se confirmó por la insensibilidad al ABA de la mutante cuádruple *pyr1 pyl1 pyl2 pyl3* (Park et al., 2009) y, en forma contrastante, cuando se sobre-expresaron las proteínas RCAR1/PYL9, RCAR3/PYL8 o RCAR8/PYL5 en *Arabidopsis* se produjo hipersensibilidad al ABA y elevada tolerancia a la sequía (Ma et al., 2009; Santiago et al., 2009; Saavedra et al., 2010).

En complemento, en un escrutinio genético para aislar mutantes de *Arabidopsis* insensibles al ABA, se identificaron dos genes: *ABA-INSENSITIVE1* (*ABI1*) y *ABI2*, que codifican las fosfatasas PP2C (Leung et al., 1994; Meyer et al., 1994; Leung et al., 1997; Rodríguez et al., 1998). Se observó que las mutantes *abi1-1* y *abi2-1*eran insensibles al ABA

en varios tejidos y en diferentes etapas de desarrollo, sugiriendo con ello que las fosfatasas PP2C actúan como reguladores globales de la señalización del ABA. Recientemente, se determinó que la mutante de la fosfatasa PP2C, *abi1-1* es incapaz de interactuar con los receptores PYR/PYL/RCAR, lo que causa que dichos receptores no puedan inactivar a las fosfatasas que mantienen la vía apagada (Ma et al., 2009; Park et al., 2009).

La identificación y caracterización de las fosfatasas PP2C ha mostrado la importancia de los eventos de fosforilación en la señalización del ABA, donde varias cinasas han sido aisladas y tipificadas como componentes de esta vía (Hirayama y Shinozaki, 2007). Entre ellas, existen 10 cinasas SnRK2, designadas en *Arabidopsis* como SnRK2.1-SnRK2.10 (Hrabak et al., 2003) o SRK2A-SRK2J (Yoshida et al., 2002). Las cinasas SnRK2/SRK2 son desfosforiladas eficientemente por las fosfatasas tipo ABI1, inactivándolas (Umezawa et al.,

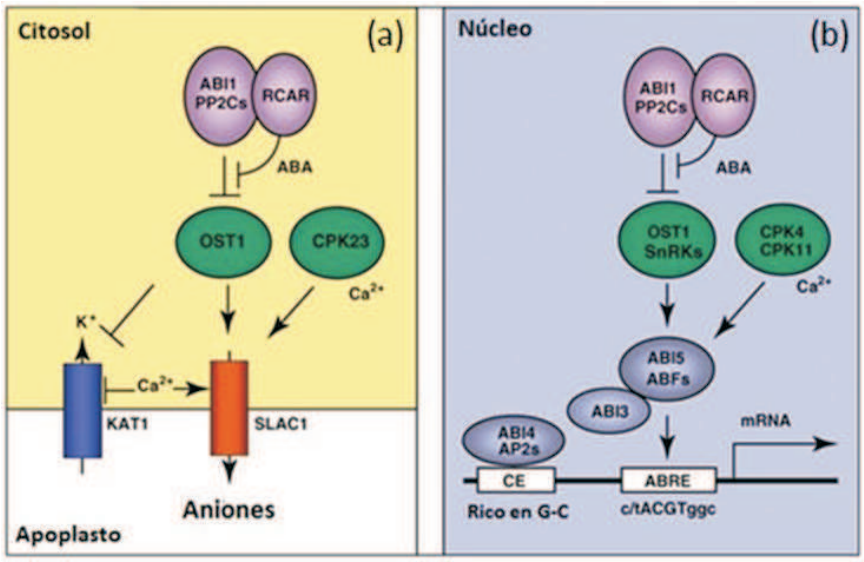

Figura 1. La señalización de ABA. El receptor de ABA está formado por el complejo heteromérico de una PP2C como ABI1 y una proteína de unión al ABA, RCAR (ambas en color rosa). El complejo receptor controla la señalización del ABA tanto en el citosol (a) como en el núcleo (b). La actividad fosfatasa de las PP2C inhibe la acción de la cinasa citosólica, OST1, y la nuclear, SnRKs (presentadas en verde) y posiblemente de las CPKs dependientes de Ca^{2+} como la CPK23. En presencia de ABA, la actividad fosfatasa del receptor es bloqueada. Como consecuencia, las cinasas son liberadas de la inhibición y quedan activas para regular a los blancos clave de la ruta de señalización de ABA. En las células guarda, las proteínas blanco son los canales iónicos SLAC1 y KAT1, los cuales son activados e inhibidos, respectivamente, por la acción de OST1. En el núcleo, los blancos son ABI5 y ABFs, factores de transcripción tipo cierre de leucina básico. Las ABFs fosforiladas y unidas como dímeros se enlazan a los elementos cis de respuesta a ABA (ABRE), promoviendo la expresión de los genes de respuesta a ABA y, en forma concertada con otros factores transcripcionales como ABI3, ABI4 y AP2s, inducen la expresión de genes de respuesta a ABA (los componentes son presentados en azul acero). ABI3 se une a ABI5 y aumenta su actividad, mientras que ABI4 y factores de transcripción tipo AP2 se unen al elemento CE rico en G-C para regular en forma óptima la expresión de genes dependientes de ABA (Modificado de Raghavendra et al., 2010).

2009; Vlad et al., 2009). En este tópico, Vlad y colaboradores (2009) identificaron a la serina 175 en la cinasa SRK2E/OST1 como el sitio blanco de las fosfatasas, lo cual proporcionó una evidencia fuerte de que dichas enzimas inactivan a las cinasas SnRK2. Finalmente, al reconstituir *in vitro* los componentes de la vía, se demostró que los receptores PYR/PYL/RCAR se unen e inactivan a las PP2C, impidiendo la desfosforilación de las cinasas SnRK2 de una forma dependiente del ABA (Umezawa et al., 2009).

Con relación a las cinasas SnRK2/SRK2, se ha reportado que pueden activar o inactivan canales iónicos de la membrana plasmática, o bien pueden afectar factores de transcripción en el núcleo. Por ejemplo, OST1/SRK2E actúa como regulador positivo del cierre de estomas (Mustilli et al., 2002), activando los canales aniónicos SLAC1 e inhibiendo a los canales catiónicos KAT1 (Fig. 1a) (Geiger et al., 2009; Lee et al., 2009). Ambos canales son regulados por la ruta de señalización del ABA y Ca^{2+} (Siegel et al., 2009). Se ha sugerido que la regulación dependiente de Ca^{2+} probablemente se debe a la estimulación de SLAC1 por la cinasa CPK23 (Fig. 1a) (Geiger et al., 2010).

Los reguladores transcripcionales clave en la expresión de genes dependientes de ABA son los factores de unión a elementos de respuesta a ABA -ABRE- (ABFs), del tipo cierre de leucina de región básica (bZIP) con ABI5 como un representante típico (Choi et al., 2005; Finkelstein et al., 2005). La fosforilación de este último por las SnRKs conduce a su activación, mientras que la sumoilación a través del marcaje de ABI5 con ubiquitina por una SUMO E3 ligasa para su degradación en el proteosoma, antagoniza la acción de ABI5 (Miura et al., 2009). ABI5 y otros ABFs son también fosforilados por las cinasas CPK4 y CPK11 dependientes de Ca^{2+} (Zhu et al., 2007). Otros factores de transcripción que contribuyen a la especificidad del ABA, como el ABI3 (reguladores tipo B3), se unen a ABI5 e incrementan su actividad. Además, ABI4 (factor transcripcional tipo AP2) y factores adicionales que incluyen a las MYC/MYB actúan también como reguladores positivos de respuesta al ABA (Yamaguchi-Shinozaki y Shinozaki, 2006). La heterodimerización de ABI3 con ABI5 y su interacción con la caja ABRE, además de la unión de ABI4 con los elementos ricos en G-C en los promotores de los genes de respuesta a ABA, permiten la transcripción inducible de estos genes (Fig. 1b) (Raghavendra et al., 2010).

Vía de señalización del etileno

Para dilucidar la vía de transducción de señales del etileno se requirió del aislamiento de mutantes afectadas de los intermediarios que la integran. Cabe mencionar que la obtención de dichas mutantes en *Arabidopsis* ha dependido casi exclusivamente del fenotipo en la respuesta triple que se presenta cuando las plántulas mutantes crecen en la oscuridad (Knight et al., 1910). Dicho fenotipo se caracteriza por la presencia de hipocotilos cortos y gruesos, la inhibición de la elongación de los hipocotilos y la formación de un gancho apical (Guzmán y Ecker, 1990) que contrasta con el fenotipo etiolado: crecimiento preferencial del hipocotilo en la oscuridad, observado en las plántulas silvestres (Wt) expuestas al aire (Fig. 2). Las mutaciones aisladas a través del fenotipo alterado en la respuesta al etileno pertene-

cen a dos grupos: i) insensibles y ii) de respuesta constitutiva al etileno. Un ejemplo de las primeras es la mutante *etr1-1*, que presenta ganancia de la función en un receptor (Bleecker et al., 1988; Chang et al., 1993) y *ein2*, con pérdida de la función en un elemento de la vía de señalización (Alonso et al., 1999). Mientras que las mutantes de respuesta constitutiva a etileno mostraron el fenotipo de hipersensibilidad a etileno, tanto cuando crecen en aire como en etileno; un ejemplo de ellas son las *eto3* (*ethylene overproducer3*) con una sobreproducción de etileno (Guzmán y Ecker, 1990). Alternativamente, también existen mutaciones en la ruta de transducción de señales como la *ctr1* que da como resultado la pérdida de la función del regulador negativo de la vía de señalización manteniendo constitutivamente activada la respuesta celular a etileno (Fig. 2) (Kieber et al., 1993).

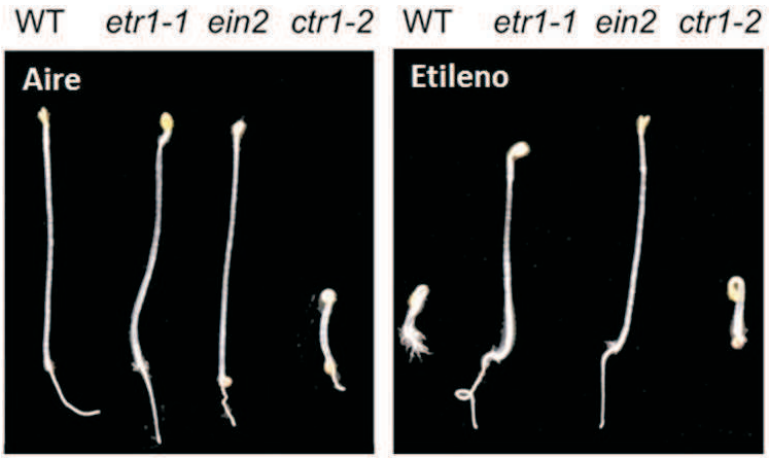

Figura 2. Mutantes de la ruta de transducción de señales del etileno. El efecto del etileno sobre la inducción de la respuesta triple en plántulas que crecen en la oscuridad para el tipo silvestre (Wt) y las mutantes insensibles a etileno *etr1-1* y *ein2* y de respuesta constitutiva al etileno *ctr1-2* (Modificado de Schaller y Kieber, 2002).

La cascada de señalización de etileno descrita hasta la fecha consta de cuatro componentes clave: el receptor ETR1, el regulador negativo de la ruta CTR1, el intermediario EIN2 y el factor de transcripción EIN3. Existen otras proteínas que pueden realizar la misma función debido a su alta similitud con los componentes de la ruta de etileno; tal es el caso de ETR2, ERS1, ERS2 y EIN4 que también funcionan como receptores, o EIL1, EIL2, EIL3 y ERFs, que lo hacen como factores de transcripción (Fig. 3).

ETR1 es una proteína de 738 aminoácidos del retículo endoplásmico que presenta tres dominios transmembranales, que comprenden el sitio de unión a etileno donde, al parecer, la unidad funcional de percepción de etileno es un dímero (Schaller et al., 1995). En la activación de dicho receptor se ha comprobado químicamente la actividad histidina cinasa, que implica la autofosforilación de la proteína en un residuo conservado de histidina, con la posterior transferencia de ese grupo fosfato a un residuo de ácido aspártico dentro de un do-

minio receptor (Gamble et al., 1998). Dicha actividad es típica de sistemas bacterianos de dos componentes, lo que sugiere que podría haberse heredado cuando se llevó a cabo la simbiosis que condujo al origen de los cloroplastos (Parkinson, 1993). La unión de alta afinidad del etileno está mediada por un cofactor de cobre coordinado por dos aminoácidos conservados (Cis65 e His69) (Schaller y Bleecker, 1995; Rodríguez et al., 1999). La unión del etileno al receptor ETR1 lo activa y le permite la interacción y activación de la proteína CTR1 (Clark et al., 1998).

El gen *CTR1* codifica una proteína de 821 aminoácidos, donde la mitad carboxilo terminal presenta un dominio similar al de la familia Raf de las cinasas serina/treonina. Estas últimas participan en la cascada de las proteínas cinasas activadas por mitogenos (MAPK) en animales, la cual consta de varias *MAPK* cinasa cinasa (MAPKKK) que fosforilan y activan a las MAPK cinasas (MAPKK), las cuales a su vez activan a las MAPK que transmitirán la señal fosforilando a sus blancos (Ichimura et al., 2000). Se ha sugerido que CTR1 podría funcionar como una MAPKKK en forma análoga a las proteínas Raf, e iniciar la señalización a través de la cascada MAPK en *Arabidopsis*, lo que culminaría con la inactivación de EIN2 (Novikova et al., 2000; Ouaked et al., 2003). Así, las mutaciones en *CTR1* que afectan su actividad provocan un fenotipo de respuesta constitutiva a etileno (Kieber et al., 1993). *EIN2* codifica una proteína integral de membrana de 1294 aminoácidos que contiene 12 dominios transmembranales y en la región amino terminal presenta una alta similitud con la familia de transportadores de cationes Nramp (Alonso et al., 1999). La región amino terminal es transmembranal. Las mutantes *ein2* exhiben el fenotipo insensible a

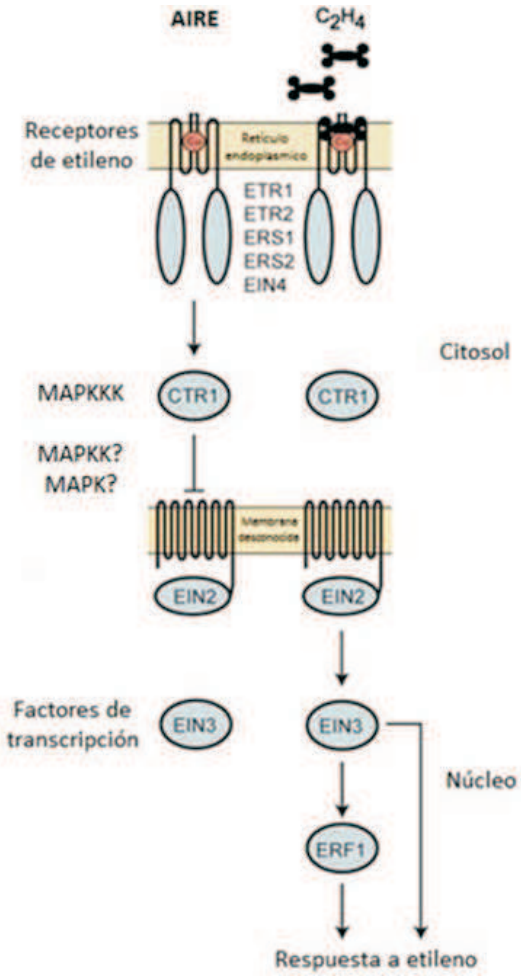

Figura 3. Modelo para la transducción de señales del etileno. En aire, los receptores del etileno mantienen a la cinasa CTR1 en estado inactivo, reprimiendo las respuestas a etileno, mientras que en etileno, la represión es liberada. La unión del etileno inactiva los receptores y por lo tanto a CTR1. Como resultado, EIN2 se activa encendiendo así la cascada que involucra a los factores de transcripción EIN3/EILs y ERFs,los cuales participan en la regulación de las respuestas al etileno. Los dominios solubles de las proteínas se muestran como círculos y las estructuras transmembranales predichas para los receptores de etileno y EIN2 se presentan como líneas que atraviesan la membrana (Modificado de Schaller y Kieber, 2002).

etileno más fuerte que el resto de las mutantes resistentes a etileno aisladas en *Arabidopsis*, lo que corrobora su papel crítico en la señalización. Los experimentos para demostrar la posible actividad de transportador de metales de EIN2 de plantas en sistemas heterólogos, mostraron que EIN2 de *Arabidopsis* no complementa cepas de levaduras deficientes en canales de metales (Thomine et al., 2000).

Por otra parte, corriente abajo de EIN2 se ha reportado una proteína blanco de 628 aminoácidos, conocida como EIN3,con características de factor de trascripción (Chao et al., 1997). EIN3 se encuentra en el núcleo y presenta dominios acídicos ricos en prolina y glutamina. Las mutaciones con pérdida de función para EIN3 presentan un fenotipo insensible a etileno, lo que sugiere que funciona como un regulador positivo de la transducción de señales del etileno. EIN3 es miembro de una familia que contiene al menos otras tres proteínas parecidas a EIN3 (EILs -EIN3-like) (Chao et al., 1997), las cuales se unen como homodímeros a un elemento promotor en el gen ERF1 promoviendo su transcripción (Solano et al., 1998). Los ERFs son también factores de transcripción que inducen la expresión de genes relacionados a la patogénesis, como la β-1-3-glucanasa, la quitinasa básica y la defensina (Ohme-Takagi y Shinshi, 1995; Solano et al., 1998). De esta manera, EIN3 y los EILs estimulan la transcripción de genes de respuesta a etileno y de otros factores de transcripción como los ERFs; estos últimos a su vez también promueven la transcripción de miembros de su misma familia, sugiriendo la existencia de una compleja red de regulación transcripcional en la ruta de señalización del etileno (Solano et al., 1998).

Relación antagónica entre el ABA y el etileno

La interacción entre ABA y etileno en las plantas se ha caracterizado a distintos niveles. Por ejemplo, existe un reporte que muestra que las mutantes deficientes de ABA, *flacca* y *notabillis* de tomate, contienen más del doble de etileno que las plantas silvestres (Sharp et al., 2000). Las mutantes *flacca* y *notabillis* presentan tamaño pequeño, biomasa reducida, tallo corto, hojas pequeñas y formación de raíces adventicias comparadas con plantas normales, las cuales son características típicas de una repuesta aumentada al etileno. También se observó que el tratamiento de dichas mutantes con tiosulfato de plata, un inhibidor de la acción del etileno, restaura parcialmente el crecimiento del follaje en las mutantes mencionadas. Esta información sugiere que el efecto causado por la deficiencia de ABA en el follaje puede ser atribuido a una sobreproducción de etileno (Sharp et al., 2000). Respecto al efecto de la alteración en la señalización del etileno, se ha reportado que las mutaciones con pérdida de la función en el gen *EIN2* muestran un incremento en la producción de ABA en *Arabidopsis* (Ghassemian et al., 2000; Wang et al. 2007; Cheng et al., 2009). Además, se ha observado que las mutaciones en *CTR1*, que inducen una respuesta constitutiva a etileno, y la *EIN2*, que provoca insensibilidad a etileno, aumentan o suprimen respectivamente el fenotipo de resistencia a la germinación de la mutante de *Arabidopsis abi1* cuando se suplementa con ABA de manera exógena (Beaudoin et al., 2000). Sin embargo, la mutación en *EIN2* no mostró un efecto supresor significativo en las mutantes *abi3* bajo las mismas condi-

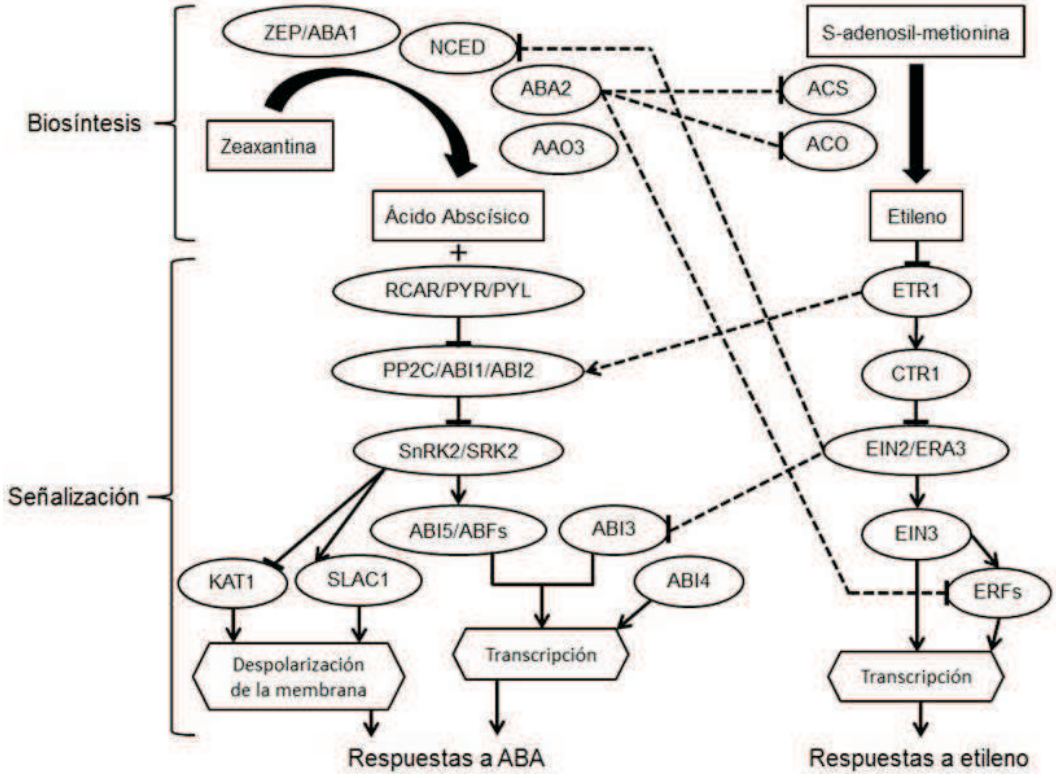

Figura 4. La interacción ABA-etileno implica a la vía de biosíntesis y señalización de ambas fitohormonas. Los componentes dentro de óvalos representan proteínas y dentro de rectángulos representan metabolitos, en tanto que los elementos delimitados por hexágonos muestran respuestas celulares. Las líneas continuas señalan procesos establecidos en tanto que las discontinuas indican los procesos para la interacción propuestos. La punta de flecha al final de las líneas indica la activación o promoción en tanto que la línea perpendicular señala la inactivación.

ciones (Beaudoin et al., 2000). Lo anterior indica que la cascada de señalización del etileno definida por ETR1, CTR1 y EIN2 inhibe la señalización de ABA probablemente cascada arriba del factor transcripcional ABI3 durante la germinación de la semilla. Otras evidencias de la interacción etileno y ABA provienen del análisis de las mutaciones que aumentan la producción de etileno en las mutantes *eto3* que presentan sensibilidad reducida a ABA durante la germinación (Subbiah y Reddy, 2010). Además, se ha observado que la aplicación del precursor de etileno ácido 1-amino-1-ciclopropano (ACC) reduce el efecto inhibitorio sobre la germinación en plantas silvestres de *Arabidopsis*; los análisis bioquímicos y moleculares identificaron a una mutante designada como *enhancer response* to *ABA3* (*era3*), la cual incrementó la sensibilidad a ABA en las semillas y acumuló ABA, sugiriendo que este gen es un regulador negativo de la biosíntesis de ABA (Ghassemian et al., 2000). Análisis genéti-

cos posteriores realizados por este mismo grupo, mostraron que *ERA3* representa un nuevo alelo en el locus *ETHYLENE INSENSITIVE2* (*EIN2*). Debido a que mutaciones que afectan la señalización de etileno modifican también los niveles de ABA y que mutaciones en la síntesis de ABA alteran la cantidad de etileno, un análisis de la expresión global de genes por microarreglos mostró que la mutación en *ABA2*, gen que codifica una enzima implicada en la biosíntesis del ABA, regula positivamente la expresión de los genes de biosíntesis del etileno ACO (ACC oxidasa) y el factor de transcripción de respuesta a etileno ERF053, mientras que el gen *9-CIS-EPOXICAROTENOID DIOXYGENASE 3* (*NCED3*) que codifica una enzima de la biosíntesis de ABA fue regulada negativamente en la mutante *ein2*. Además, también se observó que la mutación en el gen *ETR1* disminuye la expresión de los genes *ABSCISIC ACID INSENSITIVE1* (*ABI1*) y *CYP70742*, este último implicado en el catabolismo de ABA (Cheng et al., 2009). Los datos antes mencionados sugieren que el ABA y el etileno pueden controlar la biosíntesis, el catabolismo y la señalización hormonal, aumentando así sus efectos antagónicos en las plantas (Fig. 4).

Cabe mencionar que también se han reportado efectos distintos a una interacción netamente antagónica, por ejemplo, Zhang y col. (2009) observaron que en frutos de tomate el ABA induce la biosíntesis de etileno cuando se aplica de manera exógena a través del incremento en la expresión los genes que codifican para la ACC sintasa y la ACC oxidasa. Por otra parte, se ha observado que la aplicación exógena de auxinas incrementa la biosíntesis de etileno y la producción de ABA culminando con la inhibición del crecimiento en *Galiumaparine* (Hansen y Grossmann, 2000). Finalmente, existen datos donde la adición de la citocinina *N-6*-benzil-adenina (BA) revirtió la sensibilidad incrementada de resistencia a la germinación de las mutantes insensibles a etileno tratadas con ABA (Subbiah y Reddy, 2010). Estos últimos reportes sugieren la participación de otras hormonas en la regulación de procesos que implican la interacción ABA-etileno.

Conclusiones

La interacción del ABA-etileno modula el crecimiento y desarrollo de las plantas de una manera antagónica, donde cada una de estas fitohormonas puede regular la concentración de la otra. De esta forma, cuando una de las dos hormonas pierde o incrementa la capacidad de ejercer su efecto en la planta, el cambio fenotípico observado es el resultado de la alteración de la señal de ambas hormonas, ya que éstas se regulan entre sí. La mayoría de las evidencias de la interacción ABA-etileno presentadas en esta revisión muestran que la regulación principal se efectúa a través de la vía de biosíntesis de ambas hormonas, en la que el gen *EIN2* juega un papel fundamental. Además de la modulación transcripcional reportada, el hecho de que ambas rutas de señalización utilizan cascadas de fosforilación para transmitir la señal abre la posibilidad de una regulación post-transcripcional entre ellas. Como se mencionó anteriormente, existen reportes en los cuales la interacción entre el ABA y el etileno no es netamente antagónica; cabe destacar que dichos resultados provienen de análisis realizados en órganos específicos, lo cual no representaría un mecanismo de ac-

ción general sobre la planta. Además, la participación de otras hormonas, como las auxinas o citocininas, incrementa el número de variables ocasionando una interacción aún más compleja. La participación de las auxinas o las citocininas en la interacción ABA-etileno sugiere la existencia de redes de señalización que interactúan constantemente para lograr un crecimiento y desarrollo adecuado en los organismos vegetales.

En nuestro grupo de trabajo estamos caracterizando las respuestas que modifican la arquitectura radicular por efecto del suplemento exógeno de ABA y etileno a mutantes de *A. thaliana* sencillas y dobles en los componentes de las rutas de señalización del ABA y etileno para identificar a nivel genético los nodos de interacción entre ambas vías. Asimismo, la determinación de la actividad histoquímica en mutantes de la ruta de señalización del etileno llevando la línea transgénica con la secuencia que codifica la β-glucuronidasa fusionada a la región promotora del gen *ABI4* de la vía de señalización del ABA, permitirán la identificación de un posible mecanismo a través del cual las dos rutas de señalización interaccionan. También, la cuantificación del ABA en mutantes de la vía de señalización del etileno permitirá identificar los elementos de esta ruta que modifican la producción de ABA.

Referencias

Abeles F. B., P. W. Morgan y Jr. M. E.Saltveit (1992) Ethylene in Plant Biology. 2nd Edition (San Diego: Academic Press).

Alonso J. M.,T. Hirayama, G. Roman, S. Nourizadehy y J. R. Ecker (1999) EIN2, a bifunctional transducer of ethylene and stress responses in *Arabidopsis*. Science 284: 2148-2152.

Beaudoin N., C. Serizet, F. Gosti y J. Giraudat (2000) Interactions between Abscisic and Ethylene Signaling Cascades. The Plant Cell 12: 1103-1115.

Bleecker A. B., M. A. Estelle, C. Somerville y H. Kende (1988) Insensitivity to ethylene conferred by a dominant mutation in *Arabidopsis thaliana*. Science 241: 1086-1089.

Chang C., S. F. Kwok, A. B. Bleecker y E. M. Meyerowitz (1993) *Arabidopsis* ethylene response gene *ETR1*: Similarity of product to two-component regulators. Science 262: 539-544.

Chao Q., M. Rothenberg, R. Solano, G. Roman, W. Terzaghi y J. R. Ecker (1997) Activation of the ethylene gas response pathway in *Arabidopsis* by the nuclear protein ETHYLENE-INSENSITIVE3 and related proteins. Cell 89: 1133-44.

Cheng W. H., M. H. Chiang, S. G. Hwang y P. C. Lin (2009) Antagonism between abscisic acid and ethylene in *Arabidopsis* acts in parallel with the reciprocal regulation of their metabolism and signaling pathway. Plant Molecular Biology 71: 61-80.

Choi H.I., H. J. Park, P. JiHye, S. Kim, M. Y. Im, H. H. Seo, Y. W. Kim, I. Hwang y K. Soo Young (2005) *Arabidopsis* calcium-dependent protein kinase AtCPK32 interacts with

ABF4, a transcriptional regulator of abscisic acid-responsive gene expression, and modulates its activity. Plant Physiology 139: 1750-1761.

Clark K. L., P. B. Larsen, X. Wang y C. Chang (1998) Association of the *Arabidopsis* CTR1 Raf-like kinase with the ETR1 and ERS1 ethylene receptors. Proceedings of the National Academy of Sciences 95: 5401-5406.

Finkelstein R., S. S. L. Gampala, T. J. Lynch, T. L. Thomas y C. D. Rock (2005) Redundant and distinct functions of the ABA response loci ABA-INSENSITIVE(ABI)5 and ABRE-BINDING FACTOR (ABF)3. Plant Molecular Biology 59: 253-267.

Gamble R. L., M. L. Coonfield y G. E. Schaller (1998) Histidine kinase activity of the ETR1 ethylene receptor from *Arabidopsis*. Proceedings of the National Academy of Sciences 95: 7825-7829.

Geiger D., S. Scherzer, P. Mumm, A. Stange, I. Marten, H. Bauer, P. Ache, S. Matschi, A. Liese, K. A. S. Al-Rasheid, T. Romeis, y R. Hedrich (2009) Activity of guard cell anion channel SLAC1 is controlled by drought-stress signaling kinase-phosphatase pair.Proceedings of the National Academy of Sciences 106: 21425-21430.

Geiger D., S. Scherzer, P. Mumm, I. Marten, P. Ache, S. Matschi, A. Liese, C. Wellmann, K. A. S. Al-Rasheid,E. Grill, T. Romeis, y R. Hedrich (2010) Guard cell anion channel SLAC1 is regulated by CDPK protein kinases with distinct Ca2+ affinities. Proceedings of the National Academy of Sciences 107: 8023-8028.

Ghassemian M., E. Nambara, S. Cutler, H. Kawaide, Y. Kamiya y P. McCourt (2000) Regulation of Abscisic Acid Signaling by the Ethylene Response Pathway in *Arabidopsis*. The Plant Cell 12: 1117-1126.

Guzmán P. y J. R. Ecker(1990). Exploiting the triple response of *Arabidopsis* to identify ethylene-related mutants. The Plant Cell 2:513-523.

Hansen H. y K. Grossman (2000) Auxin-Induced Ethylene Triggers Abscisic Acid Biosynthesis and Growth Inhibition. Plant Physiology 124: 1437-1448.

Hirayama T. y K. Shinozaki (2007) Perception and transduction of abscisic acid signals: keys to the function of the versatile plant hormone ABA. Trends Plant Science 12:343-351.

Hrabak E.M., C. W. Chan, M. Gribskov, J. F. Harper, J. H. Choi, N. Halford, J. Kudla, S. Luan, H. G. Nimmo, M. R. Sussman, M. Thomas, K. Walker-Simmons, J-K. Zhu y A. C. Harmon (2003) The *Arabidopsis* CDPK-SnRK superfamily of protein kinases. Plant Physiology 132: 666-680.

Ichimura K., T. Mizoguchi, R. Yoshida, T. Yuasa, y K. Shinozaki (2000). Various abiotic stresses rapidly activate *Arabidopsis* MAP kinases ATMPK4 and ATMPK6. The Plant Journal 24: 655-665.

Kieber J. J., M. Rothenberg, G. Roman, K. A. Feldman y J. R. Ecker (1993) *CTR1*, a negative regulator of the ethylene response pathway in *Arabidopsis*, encodes a member of the Raf family of protein kinases. Cell 72: 427-441.

Knight L. I., R. C. Rose y W. Crocker (1910) Effects of various gases and vapors upon etiolated seedlings of the sweet pea. Science 31: 635-636.

Lee S.C., W.Lan, B. B. Buchanan y S. Luan (2009) A protein kinase-phosphatase pair interacts with an ion channel to regulate ABA signaling in plant guard cells. Proceedings of the National Academy of Sciences 106: 21419-21424.

Leung J., M. Bouvier-Durand, P. C. Morris, D. Guerrier, F. Chefdor y J. Giraudat (1994) *Arabidopsis* ABA response gene ABI1: features of a calcium-modulated protein phosphatase. Science 264: 1448-1452.

Leung J., S. Merlot y J. Giraudat (1997) The *Arabidopsis* ABSCISIC ACID-INSENSITIVE2 (ABI2) and ABI1 genes encode homologous protein phosphatases 2C involved in abscisic acid signal transduction. The Plant Cell 9: 759-771.

Ma Y., I. Szostkiewicz, A. Korte, D. Moes, Y. Yang, A. Christmann y E. Grill (2009) Regulators of PP2C phosphatase activity function as abscisic acid sensors. Science 324: 1064-1068.

Meyer K., M. P. Leube y E. Grill (1994) A protein phosphatase 2C involved in ABA signal transduction in *Arabidopsis thaliana*. Science 264: 1452-1455.

Miura K., J. Lee, J. B. Jin, C. Y. Yoo, T. Miura y P. M. Hasegawa(2009) Sumoylation of ABI5 by the *Arabidopsis* SUMO E3 ligase SIZ1 negatively regulates abscisic acid signaling. Proceedings of the National Academy of Sciences 106: 5418-5423.

Mustilli A. C., S. Merlot, A. Vavasseur, F. Fenzi y J. Giraudat (2002) *Arabidopsis* OST1 protein kinase mediates the regulation of stomatal aperture by abscisic acid and acts upstream of reactive oxygen species production. The Plant Cell 14: 3089-3099.

Novikova G. V., I. E. Moshkov, A. R. Smith y M. A. Hall (2000) The effect of ethylene on MAP kinase-like activity in *Arabidopsis thaliana*. FEBS Letters 474: 29-32.

Ohme-Takag M. y H. Shinshi (1995) Ethylene-inducible DNA binding proteins that interact with an ethylene-responsive element. The Plant Cell 7: 173-182.

Ouaked F., W. Rozhon, D. Lecourieux y H. Hirt (2003) A MAPK pathway mediates ethylene signaling in plants. The EMBO Journal 22: 1282-1288.

Pandey S., Nelson D. C., Assmann S. M. (2009) Two novel GPCR type G proteins are abscisic acid receptors in *Arabidopsis*. Cell 136: 136-148.

Parkinson J. S. (1993) Signal transduction schemes of bacteria. Cell 73: 857-871.

Park S., P. Fung, N. Nishimura, D. R. Jensen, H. Fujii,Y. Zhao, S. Lumba, J. Santiago, A. Rodrigues, T. F. Chow, S. M. Alfred, D. Bonetta, R. Finkelstein, N. J. Provart, D. Desveaux, P. L. Rodriguez, P. McCourt, J. Zhu, J. I. Schroeder, B. F. Volkman y S. R. Cutler (2009) Abscisic acid inhibits type 2C protein phosphatases via the PYR/PYL family of START proteins. Science 324:1068-1071.

Raghavendra A. S., V. K. Gonugunta, A. Christmann y E. Grill (2010) ABA perception and signaling. Trends in Plant Science 15: 395-401.

Rodríguez P.L., G. Benning y E. Grill (1998) ABI2, a second protein phosphatase 2C involved in abscisic acid signal transduction in *Arabidopsis*. FEBS Letters 421: 185-190.

Rodríguez F. I., J. J. Esch, A. E. Hall, B. M. Binder, G. E. Schaller y A. B. Bleecker (1999) A copper cofactor for the ethylene receptor ETR1 from *Arabidopsis*. Science 283: 996-998.

Saavedra X., A. Modrego, D. Rodríguez, M. P. González-García, L. Sánz, G. Nicolás y O. Lorenzo (2010) The nuclear interactor PYL8/RCAR3 of *Fagus sylvatica* FsPP2C1 is a positive regulator of abscisic acid signaling in seeds and stress. Plant Physiology152: 133-150.

Santiago J., A. Rodrigues, A. Saez, S. Rubio, R. Antoni, F. Dupeux, S. Y. Park, J. A. Márquez, S. R. Cutler y P. L. Rodrigues (2009) Modulation of drought resistance by the abscisic acid receptor PYL5 through inhibition of clade A PP2Cs. The Plant Journal 60: 575-578.

Schaller G. E., A. N. Ladd, M. B. Lanahan, J. M. Spanbauer y A. B. Bleecker (1995) The ethylene response mediator *ETR1* from *Arabidopsis* forms a disulfide-linked dimer. The Journal of Biological Chemistry 270: 12526-12530.

Schaller G. E. y A. B. Bleecker (1995) Ethylene-binding sites generated in yeast expressing the *Arabidopsis* ETR1 gene. Science 270: 1809-1811.

Schaller G. E. y J. J. Kieber (2002) Ethylene. The *Arabidopsis* Book 1: 1-18.

Sharp R. E., M. E. LeNoble,M. A. Else, E. T. Thome y F. Gherardi (2000) Endogenous ABA maintains shoot growth in tomato independently of effects on plant water balance: evidence for an interaction with ethylene. Journal of Experimental Botany 51: 1575-1584.

Siegel R.S., S. Xue, Y. Murata, Y. Yang, N. Nishimura, A. Wang y J. I. Schroeder (2009) Calcium elevation-dependent and attenuated resting calcium-dependent abscisic acid induction of stomatal closure and abscisic acid-induced enhancement of calcium sensitivities of S type anion and inward-rectifying K channels in *Arabidopsis* guard cells. The Plant Journal 59: 207-220.

Solano R., A. Stepanova, Q. Chao y J. R. Ecker (1998) Nuclear events in ethylene signaling: a transcriptional cascade mediated by ETHYLENE-INSENSITIVE3 and ETHYLENE RESPONSE-FACTOR1. Genes and Development 12: 3703-3714.

Subbiah V. y K. J. Reddy (2010) Interactions between ethylene, abscisic acid and cytokinin during germination and seedling establishment in *Arabidopsis*. Journal of Biosciences 35: 451-458.

Thomine S., R. Wang, J. M. Ward, N. M. Crawford y J. I. Schroeder (2000) Cadmium and iron transport by members of a plant metal transporter family in *Arabidopsis* with homology to Nramp genes. Proceedings of the National Academy of Sciences 97: 4991-6.

Umezawa T., K. Nakashima, T. Miyakawa, T. Kuromori, M. Tonakura, K. Shinozaki y K. Yamaguchi-Shinozaki (2010) Molecular Basis of the Core Regulatory Network in ABA Responses: Sensing, Signaling and Transport. Plant Cell Physiology 51: 1821-1839.

Umezawa T., N. Sugiyama, M. Mizoguchi, S. Hayashi, F. Myouga, K. Yamaguchi-Shinozaki, Y. Ishihama, T. Hirayama y K. Shinozaki (2009) Type 2C protein phosphatases directly regulate abscisic acid-activated protein kinases in *Arabidopsis*. Proceedings of the National Academy of Sciences 106: 17588-17593.

Vlad F., S. Rubio, A. Rodrigues, C. Sirichandra, C. Belin, N. Robert,J. Leung, P. L. Rodríguez, C. Lauriére y S. Merlota (2009) Protein phosphatases 2C regulates the activation of the Snf1-related kinase OST1 by abscisic acid in *Arabidopsis*.The Plant Cell 21:3170-3184.

Wang Y., C. Liu, K. Li, F. Sun, H. Hu, X. Li, Y. Zhao, C. Han, W. Zhang, Y. Duan, M. Liu y X. Li (2007) *Arabidopsis* EIN2 modulates stress response through abscisic acid response pathway. Plant Molecular Biology 64: 633-644.

Yamaguchi-Shinozaki K. y K. Shinozaki (2006) Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. Annual Review of Plant Biology 57: 781-803.

Yoshida R., T. Hobo, K. Ichimura, T. Mizoguchi,F. Takahashi, J. Aronso, J. R. Ecker y K. Shinozaki (2002) ABA-activated SnRK2 protein kinase is required for dehydration stress signaling in *Arabidopsis*. Plant Cell Physiology 43:1473-1483.

Zhang M., B. Yuan y P. Leng (2009) The role of ABA in triggering ethylene biosynthesis and ripening of tomato fruit. Journal of Experimental Botany 60: 1579-1588.

Zhu S.Y., X. C. Yu, X. J. Wang, R. Zhao, Y. Li, R. C. Fan, Y. Shang, S. Y. Du, X. F. Wang, F. Q. Wu, Y. H. Xu, X. Y. Zhang y D. P Zhang (2007) Two calcium-dependent protein kinases, CPK4 and CPK11, regulate abscisic acid signal transduction in *Arabidopsis*. The Plant Cell 19:3019-3036.