

Regulación molecular de la germinación en angiospermas

Claudia Marina López-García, José López-Bucio y Elda Beltrán-Peña

Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, UMSNH

Resumen

El proceso de germinación es decisivo en el ciclo de vida de las plantas, ya que permite la formación de una nueva plántula y contribuye en su propagación. La germinación comienza con la captura de agua a través de la capa de mucílago presente en la testa y finaliza con la emergencia de la raíz y los cotiledones. Factores ambientales como la estructura del suelo, la cantidad de luz y la disponibilidad de nutrientes rompen la dormancia de la semilla a través de cambios en los niveles de ácido abscísico (ABA) y ácido giberélico (GA). El ABA es responsable de la dormancia de la semilla, en tanto que el GA promueve la apertura de la testa. *Arabidopsis thaliana* ha sido el modelo vegetal más utilizado para estudiar la germinación en angiospermas, permitiendo identificar cascadas de señalización y factores de transcripción que están conservados en plantas cultivadas como el maíz (*Zea mays* L.). En esta revisión se analiza el conocimiento actual sobre los mecanismos moleculares que regulan la germinación.

Palabras clave: germinación, embriogénesis, ácido abscísico, ácido giberélico.

Abreviaciones: ABA: ácido abscísico, GA: ácido giberélico, CK: citocininas.

Abstract

The germination process is a decisive stage in the life cycle of plants, because it gives rise to a new seedling and contributes to propagation. Germination begins with capture of water from the mucilage present in the seed coat and finish with emergence of the embryonic root and cotyledons. Environmental factors such as soil structure, quantity of light and nutrient availability can break seed dormancy via changes in the levels of abscisic acid (ABA) and gibberellic acid (GA). While ABA imposes seed dormancy, GA promotes seed coat opening. *Arabidopsis thaliana* has been the most widely used model to study germination in angiosperms, which allowed identification of signaling cascades and transcription factors mediating this process and that are conserved in crops, such as maize (*Zea mays* L.). This review analyzes the molecular mechanism involved in germination.

Key words: germination, embryogenesis, abscisic acid, gibberellic acid.

Introducción

Las angiospermas son el grupo más extenso del reino Plantae, cuya característica distintiva es que son plantas que poseen semillas protegidas por paredes ováricas. La semilla es una estructura de propagación, desarrollada tanto por las gimnospermas como por las angiospermas que permite la supervivencia de la especie al establecer una nueva generación. La germinación es uno de los eventos más importantes del ciclo de vida de las plantas que comienza con la imbibición o captación de agua por parte del mucílago localizado en la cubierta de la semilla y finaliza con la emergencia de la radícula (Fig. 1) (Bewley y Black, 1994). Estructuralmente la semilla de las angiospermas está formada por un embrión, una estructura nutritiva o endospermo y una cubierta protectora o testa (Fig. 2). La germinación se encuentra determinada estrechamente por la dormancia, definida como la incapacidad de una semilla viable para germinar aunque las condiciones del medio sean adecuadas (Bewley, 1997). La imposición de la dormancia depende de factores internos como la estructura propia de la semilla y externos como la cantidad de luz (Koorneef et al., 2002). Dentro del grupo de las angiospermas se encuentran las plantas de interés agronómico destacando los cereales, chile, jitomate, frijol, entre otras. Sin embargo, los detalles moleculares se han identificado a través del estudio de la germinación en *Arabidopsis thaliana*.

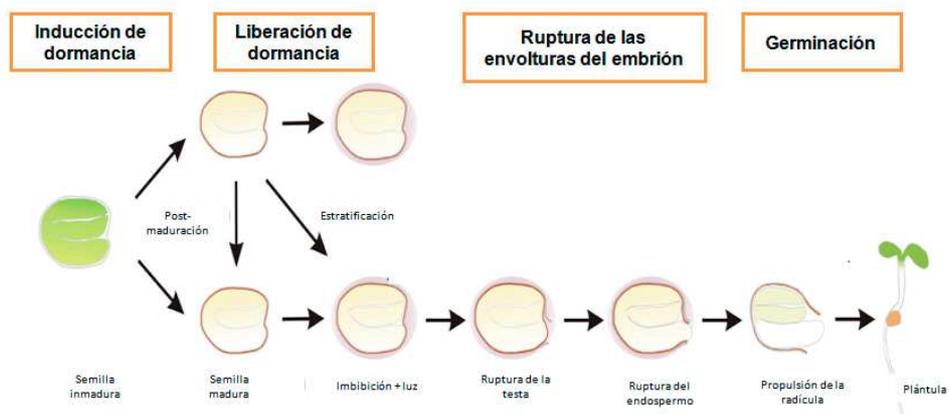


Figura 1. Germinación de las semillas de *Arabidopsis*. La liberación de la dormancia ocurre si las condiciones del medio promueven la germinación o se mantiene si son inadecuadas. La germinación comienza cuando una semilla capta agua a través de su capa de mucilago (imbibición). Posteriormente, se activa el proceso de ruptura de la testa, se consume el endospermo y ocurre la salida de la radícula (Modificado de Bentsink y Koornneef, 2008).

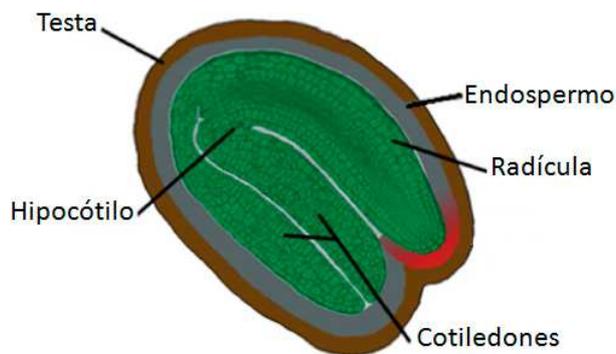


Figura 2. Estructura de la semilla de *Arabidopsis*. El embrión está formado por los cotiledones, el hipocótilo y la radícula. Dicha estructura se encuentra cubierta por una envoltura nutritiva, el endospermo y otra de protección, la testa (Modificado de Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006).

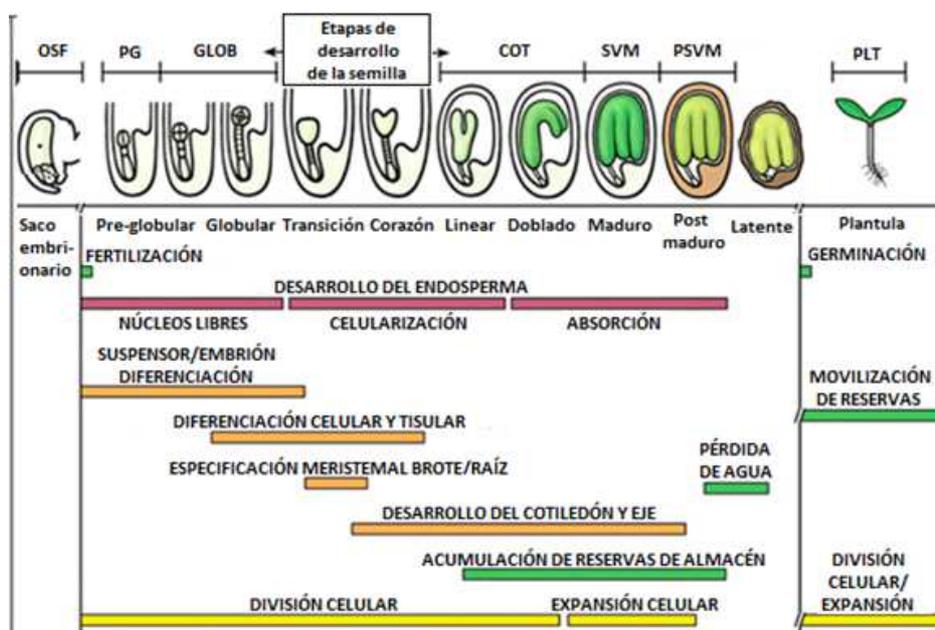


Figura 3. Representación del desarrollo de la semilla de *Arabidopsis*. Se muestran las diferentes etapas del desarrollo del embrión pre-globular, globular, transición, corazón, lineal, doblado, maduro, post-maduro y latente; y las características adquiridas durante cada uno de estos estadios. OSF, óvulo sin fertilizar; PG, pre-globular; GLOB, globular; COT, cotiledón; SVM, semilla verde madura; PSVM, post etapa de semilla verde madura y PLT, plántula (Modificado de Lee et al., 2010).

Etapas del desarrollo de la semilla

El desarrollo de la semilla comprende dos fases principales la embriogénesis y la etapa de maduración. Esta última a su vez se divide en dos eventos: uno consiste en la reorganización del metabolismo y la biosíntesis de algunas proteínas y compuestos de reserva y otro, donde se adquiere resistencia a la desecación. La embriogénesis es un proceso fisiológico en el cual a partir de una sola célula (óvulo fertilizado) se forma un organismo multicelular funcional a través de una serie de divisiones y de la determinación de los destinos celulares, que en conjunto se denomina morfogénesis (Fig. 3). Después de la fertilización, el cigoto experimenta una primera división asimétrica que genera una célula apical pequeña y otra más grande, la basal (Mansfield y Briarty, 1991). Posteriormente, la célula basal se divide y crece para formar el suspensor, mientras que la apical se convierte en el embrión.

Este último pasa a través de las etapas globular y de corazón. Conforme continúa su desarrollo, el embrión forma el meristemo radicular y apical y los cotiledones se hacen visibles (Lee et al., 2010).

El patrón de formación apical-basal está estrechamente regulado por el flujo de auxinas (Bowman y Floyd, 2008). Alteraciones en el flujo de auxinas durante la germinación, ocasionan defectos sobre el desarrollo del embrión que podrían alterar el proceso, ya que la radícula deberá romper las envolturas del embrión, el endospermo y la testa. Si no se forma la radícula, o se altera la estructura de las envolturas, no se llevará a cabo la ruptura de estas últimas, y por tanto no se permitirá la propulsión de la radícula, evitando así la germinación normal de la semilla. Durante la maduración de la semilla, el embrión debe crecer hasta rellenar las cubiertas ováricas y adquirir resistencia a la desecación, en la primera fase de esta etapa se acumulan proteínas y lípidos de reserva y algunas proteínas involucradas en la desecación de la semilla (Goldberg et al., 1994; Nambara et al., 2000; Angelovici et al., 2010).

Las proteínas de almacenamiento sirven principalmente como fuente de carbono, sin embargo, también se ha sugerido que participan en la destoxificación de especies reactivas de oxígeno (ERO), debido a que la abundancia de proteínas 12S da como resultado plantas con fenotipo hipersensible a las ERO (Galland et al., 2014). En la fase final de la maduración, el embrión entra en un proceso de dormancia donde se sintetizan proteínas que le permiten adquirir resistencia a la desecación y llevar a cabo el plegamiento correcto de otras proteínas necesarias para el proceso de germinación (Kamisugi y Cuming, 2005). Dentro de este grupo de proteínas se encuentran las LATE EMBRYOGENESIS ABUNDANT (LEA), para las cuales se han sugerido funciones de: protección de las membranas celulares (Chakrabortee et al., 2012), estabilización de cristales de azúcar dentro de las semillas (Wolkers et al., 2001), así como las proteínas de choque térmico (HSP) que son conocidas por su función como chaperonas moleculares (Méndez-Ferreira et al., 2013).

La maduración de la semilla determina características importantes como su calidad y viabilidad, este proceso se regula por el ácido abscísico (ABA) y una red de factores de transcripción (Chiu et al., 2012) que tienen vías de retroalimentación positiva hacia el ABA y negativa para el ácido giberélico (GA). El funcionamiento de esta red de factores de transcripción y de los fitorreguladores en el desarrollo de la semilla será explicado en los siguientes apartados. Cabe mencionar que una vez

completada la maduración de la semilla, es decir, cuando el embrión y el endospermo han concluido la morfogénesis, se activa la fase de dormancia. La liberación de la dormancia puede ocurrir de manera natural si las condiciones del medio promueven la germinación. Sin embargo, si las condiciones no son adecuadas la dormancia se mantiene. Muchas semillas, principalmente las de interés agrícola son almacenadas, lo que provoca una dormancia secundaria que puede ser liberada por la estratificación que consiste en hidratar la semilla y someterla a condiciones de frío (por lo general a 4°C) para promover la germinación (Baskin y Baskin, 2004).

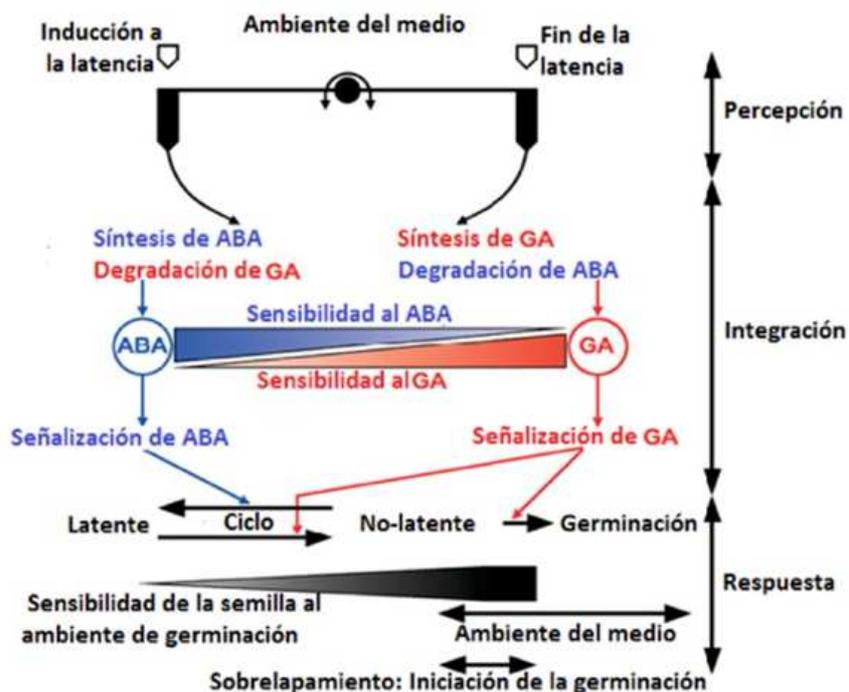


Figura 4. Modelo sobre la regulación de la latencia y germinación por ABA y GA en respuesta al ambiente. De acuerdo a este modelo, los factores ambientales afectan el balance y la sensibilidad del ABA y del GA. La síntesis del ABA predomina en el estado latente, mientras que la síntesis y señalización del GA dominan la transición a la germinación. La compleja interacción entre síntesis, degradación y sensibilidad en respuesta a las condiciones ambientales resulta en latencia o germinación (Modificado de Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006).

Regulación hormonal de la germinación

El proceso de germinación está regulado principalmente por la interacción de las fitohormonas GA y ABA, mientras que el primero promueve la germinación, el ABA impone la dormancia en respuesta a factores ambientales (Fig. 4). Las mutantes insensibles a ABA como *abscisic acid insensitive 1 (abi1)*, presentan dormancia reducida (Koornneef et al., 1984), mientras que las deficientes en GA, como *galactokinase 1-3 (gal1-3)* no germinan (Koornneef y Vanderveen, 1980). Los factores ambientales involucrados en la germinación son la humedad, el frío, la disponibilidad de nitrato y la cantidad de luz (Ali-Rachedi et al., 2004; Bethke et al., 2007). Entre estos factores, la cantidad de luz ha sido el más estudiado y se ha demostrado la participación de algunos fotorreceptores de naturaleza proteica conocidos como fitocromos en la inducción de la biosíntesis de GA (Yamaguchi et al., 1998) (Fig. 6). Los fitocromos son sensibles a la luz roja y roja lejana y ejercen sus efectos sobre la germinación mediante la inducción de enzimas 3 β -hidroxilasas involucradas en la biosíntesis de GA (Yamaguchi et al., 1998).

La germinación ocurre mediante pasos secuenciales, el primero involucra la imbibición de la semilla en agua y si las condiciones ambientales son adecuadas, el ABA endógeno sufre una hidroxilación que permite su propio catabolismo, promoviendo así la germinación (Arc et al., 2013). Sin embargo, en condiciones adversas, la testa inicia la biosíntesis de *novo* del ABA, lo que a su vez, induce factores de transcripción que inhiben la vía del GA al promover la síntesis de los represores de ésta para evitar la germinación (Arc et al., 2013).

El ABA es una hormona sesquiterpénica que promueve la maduración de la semilla, utilización de nutrientes de reserva, tolerancia a la desecación e inducción de dormancia (Holdsworth et al., 2008). Los factores de transcripción inducidos por ABA son: ABSCISIC ACID INSENSITIVE 3 (ABI3), ABSCISIC ACID INSENSITIVE 4 (ABI4) y ABSCISIC ACID INSENSITIVE 5 (ABI5) cuyas funciones se describen a continuación. ABI3 regula la transición entre la maduración del embrión y el establecimiento de la plántula. ABI4 codifica para un factor de transcripción APETALA 2/ETHYLENE RESPONSIVE FACTOR (AP2/ERF) que actúa como un regulador positivo de la vía de ABA (Soderman et al., 2000) coordinando el crecimiento del embrión y de las cubiertas de la semilla movilizando lípidos desde el embrión. Además, se ha demostrado que juega un importante papel en el cruce de señales entre ABA y GA a través de la regulación de genes clave para la

biosíntesis de ambas hormonas (Shu et al., 2013). ABI5 se encuentra abajo de ABI3 en la cascada de señalización y reprime la germinación parcialmente activando un grupo de genes LATE EMBRYOGENESIS ABUNDANT (LEA). La señalización del GA comienza cuando sus niveles se incrementan y son percibidos por el receptor GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF 1 (GID1), el cual forma parte de un complejo de ubiquitinación E3 ligasa, cuyo blanco de degradación son los reguladores transcripcionales DELLA (Griffiths et al., 2006), que reprimen la transcripción de los PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR (PIF), que son factores que se unen a los promotores de los genes de respuesta al GA. Recientemente se ha demostrado que algunas proteínas tipo dedos de zinc como la INDETERMINATE DOMAIN 1 (IDD1)/ENHYDROUS (ENY) median el efecto del GA balanceando la maduración promovida por ABA (Feurtado et al., 2011). Se ha sugerido que las proteínas DELLA (reguladores negativos de la vía de señalización de GA) interactúan con sitios de unión al ácido desoxirribonucleico (ADN) en los promotores de los genes.

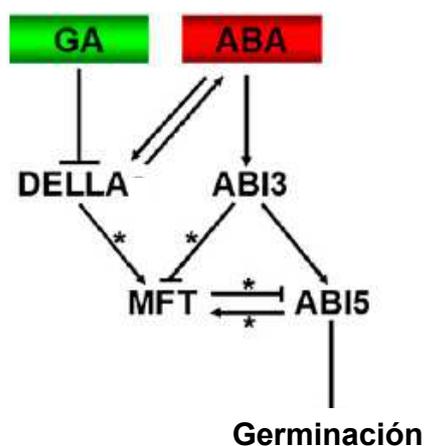


Figura 5. Modelo de la germinación mediada por MFT. Interacción de las vías del ABA y del GA en la regulación de la germinación. Cuando las condiciones ambientales son adecuadas, la vía del GA promueve la degradación de las proteínas DELLA que inducen al MFT, elemento central en el cruce de señales entre ABA y GA. MFT es regulado por la vía del ABA mediante las proteínas ABI3 y ABI5, la primera actúa como un represor y la otra como promotor del MFT. De esta manera MFT regula por retroalimentación negativa la vía de señalización de ABA. (*) Indica rutas aún no confirmadas (Modificado de Xi et al., 2010).

Los genes de respuesta a GA codifican para algunas enzimas como las glucanasas, endohidrolasas y proteínas tipo expansinas que hidrolizan el endospermo y liberan la inhibición de ABA contribuyendo así al crecimiento del embrión, de tal manera que la radícula pueda emerger de la testa (McCarty, 1995). Como se mencionó anteriormente, la germinación está determinada por un balance entre el ABA y el GA, por consiguiente es de esperarse un cruce de señales que regule el nivel de ambas hormonas. A continuación se mencionan algunos mecanismos moleculares conocidos hasta ahora que evidencian este cruce de señales entre ambas vías.

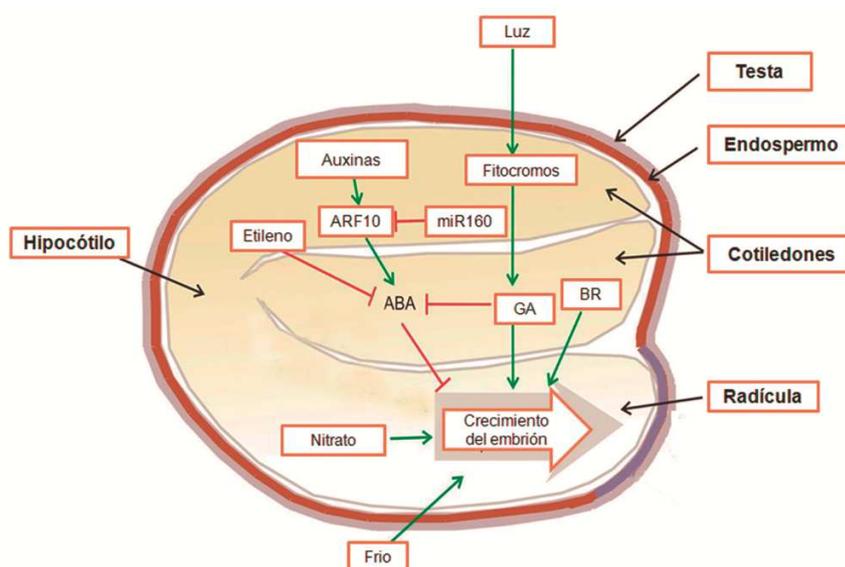


Figura 6. Procesos que controlan la dormancia y la germinación de la semilla en *Arabidopsis thaliana*. Los principales factores externos que favorecen la germinación son la luz, el frío y los nutrientes promoviendo el crecimiento del embrión. La biosíntesis del GA es inducida por la luz y esta hormona inhibe los efectos del ABA que imponen la dormancia. Además, se muestran los cruces de señales entre el etileno y las auxinas que inhiben y promueven, respectivamente la vía del ABA. Los BR directamente actúan sobre el crecimiento del embrión. Las flechas verdes indican la promoción de la germinación y las rojas la inhibición (Modificado de Bentsink y Koornneef, 2008).

La señalización del GA está regulada por un grupo de represores conocidos como proteínas DELLA que incluyen al REPRESOR OF GA-LIKE 2 (RGL2) que probablemente es el principal factor tipo DELLA involucrado en germinación (Tyler et al., 2004). RGL2 se expresa durante la germinación temprana en especial antes

de la emergencia de la radícula y también estimula la biosíntesis de ABA y la actividad de ABI5. Por otra parte, el ABA mejora la expresión de *RGL2*, sugiriendo que este último juega un papel importante mediando la interacción del GA y el ABA. *RGL2* promueve directamente la transcripción del gen *MOTHER OF FT AND TFL1* (*MFT*) que codifica para una proteína de unión a la fosfatidiletanolamina que participa en la vía de señalización del ABA y el GA (Fig. 5). La expresión de *MFT* está regulada por ABI3 y ABI5, responde a señales tanto del GA como del ABA y controla la germinación a través de una retroalimentación negativa sobre la vía del ABA (Fig. 6) (Xi et al., 2010). Además se ha sugerido que *RGL2* podría también actuar como un regulador negativo de genes que codifican para enzimas hidrolíticas promovidas por GA (Lee et al., 2002). Aunque la germinación está regulada principalmente por el ABA y el GA, también participan otros fitorreguladores que mediante un cruce de señales contribuyen en algún proceso vinculado a la germinación (Bentsink y Koornneef, 2008).

El papel principal de las auxinas se presenta en la embriogénesis, sin embargo, recientemente se ha demostrado que el factor de respuesta a auxinas ARF10 está involucrado en la germinación a través del ABA, ya que las plantas transgénicas que expresan un micro ARN resistente a ARF10 (miR-160) son hipersensibles a la aplicación exógena de ABA (Liu et al., 2007) (Fig. 6). Los receptores de citocininas ARABIDOPSIS HISTIDINE KINASE 2 (AHK2) y ARABIDOPSIS HISTIDINE KINASE 3 (AHK3) regulan el peso y tamaño de las semillas a través de una regulación epigenética vía cambios en la cromatina que influyen en la transcripción y el desarrollo de los tegumentos y endospermo (Sun et al., 2010). Respecto a la función del etileno durante la germinación, se ha observado que las mutantes *ethylene receptor 1* (*etr1*) y *ethylene insensitive 2* (*ein2*) con alteraciones en la vía del etileno son hipersensibles al ABA. El fenotipo de la doble mutante *ein2abi3* indica que el etileno regula negativamente la dormancia al inhibir la acción del ABA (Beudoin et al., 2000). Los brasinoesteroides (BR) son fitoreguladores de origen esteroideo que participan en la regulación del desarrollo de estomas, longitud de las células, expansión de hojas, diferenciación de tejido vascular, etc. (Arc et al., 2013). Recientemente, se les ha atribuido una función sobre la regulación del desarrollo de la semilla, debido a que mutantes deficientes en esta hormona tanto en *Arabidopsis thaliana*, como en *Pisum sativum*, *Solanum lycopersicum* y *Oryza sativa*, aparte de su baja fertilidad también presentan una disminución en la longitud de la semilla (Fujioka y Yokota, 2003; Morinaka et al., 2006; Nomura et al., 2007; Ye et al., 2010). El mecanismo sugerido para esta hormona indica que BRASSINAZOLE-

RESISTANT 1(BZR1) el regulador positivo de la vía de los BR activa directamente a genes que controlan el tamaño de la semilla (Jiang et al., 2013).

Genes inducidos durante el desarrollo de la semilla

Se han encontrado varios genes inducidos diferencialmente durante las distintas fases del desarrollo de la semilla que incluyen a *ABSCISIC ACID INSENSITIVE 3 (ABI3)*, *FUSCA 3 (FUS3)*, *LEAFY COTYLEDON 1 (LEC1)* y *LEAFY COTYLEDON 2 (LEC2)*. Estos genes codifican para factores de transcripción con dominio de unión B3, dicho dominio adquiere una conformación terciaria en forma de barril que es capaz de unirse al surco mayor del ADN. En general, la mutación en estos genes disminuye la dormancia y reduce la expresión de las proteínas de almacenamiento (Gutiérrez et al., 2007). Otros genes involucrados en el desarrollo de la semilla son: *SHORT HYPOCOTYL UNDER BLUE1 (SHB1)*, *HAIKU1 (IKU1)*, *MINISEED 3 (MINI3)* y *HAIKU 2 (IKU2)* que promueven el desarrollo del endospermo y así aumentan el tamaño de la semilla (Wang et al., 2010). En forma opuesta *APETALA 2 (AP2)*, inhibe el crecimiento de los tegumentos y el embrión reduciendo el tamaño de la semilla (Ohto et al., 2009); se ha sugerido que *AUXIN RESPONSE FACTOR 2 (ARF2)* también regula el tamaño y peso de la semilla, ya que la deficiencia de este factor de transcripción ocasiona divisiones extras en los tegumentos del óvulo, lo cual provoca la formación de una testa alargada y también regula el crecimiento de los tegumentos al moderar el número de divisiones (Shruff et al., 2006). *FUS3* promueve la dormancia y evita la germinación precoz al estimular la biosíntesis del ABA e inhibir la del GA, además, se ha sugerido que el ABA estabiliza a la proteína *FUS3* mientras que el GA la desestabiliza (Nambara et al., 2000; Curaba et al., 2004). Los genes *FUS3* y *ABI3* son inducidos por auxinas y la síntesis de auxinas es regulada a su vez por *LEC2* y *FUS3* (Gazzarrini et al., 2004; Lu et al., 2010).

Influencia de la testa sobre la germinación

La testa es una estructura de protección y nutrición para el embrión. Las mutantes con defectos en la testa se pueden dividir en los grupos de pigmentación y de estructura. La testa de *Arabidopsis* contiene tres tipos de pigmentos: antocianinas, flavonoles y proantocianinas, que dan los colores rojo, morado y café, respectivamente. Las mutantes de pigmentación *transparent testa 1 (tt1)*, *transparent testa 2 (tt2)* y *transparent testa glabra (ttg)* presentan semillas amarillas

debido a alteraciones en la síntesis de proantocianinas y dormancia reducida (Masucci y Schiefelbein, 1996). La mutación en *TTG* también ocasiona una disminución en la cantidad de proteínas e incrementa el contenido de ácidos grasos en la semilla, lo que resulta en una disminución del tamaño y peso (Chen et al., 2012). Otros factores de transcripción que regulan la síntesis de ácidos grasos son: *LEC1*, *LEC2*, *FUS3* y *ABI3*.

Algunos autores postulan que la acumulación de pigmentos en la testa es un obstáculo para la germinación (Albert et al., 1997). Las mutantes estructurales *aberrant testa shape (ats)* y *ap2* presentan semillas con forma de corazón (León-Kloosterziel et al., 1994) y *glabra 2 (gl2)* pierde la capa de mucílago afectando de esta manera la germinación (Rerie et al., 1994; Masucci y Schiefelbein, 1996). La testa puede imponer dormancia por dos mecanismos: uno mediando el proceso de imbibición al controlar la captación de agua mediante el mucílago y el otro a través de la biosíntesis del ABA, ya que recientemente se ha demostrado que induce la síntesis de *nov* del ABA cuando las condiciones para la germinación no son adecuadas (Lee et al., 2010).

Germinación del maíz

En el maíz, *VIVIPAROUS 1 (VP1)*, es un gen análogo a *ABI3*, cuya mutación al igual que lo reportado en las mutantes insensibles a ABA en *Arabidopsis* reduce la dormancia e inhibe la síntesis de antocianinas (McCarty et al., 1989). *VP1* codifica para un factor de transcripción con dominio de unión B3 que regula la maduración de la semilla al inducir la expresión de factores de transcripción de respuesta al ABA. Se ha demostrado que el gen *VP1* puede complementar la mutante *abi3* en *Arabidopsis* (Giraudat et al., 1992; Suzuki et al., 2001).

Los genes inducidos por ABA, contienen elementos de respuesta a ABA (ABRE) donde se unen a promotores con cajas ACGT. Algunos de estos genes son *ABI5* y *bzip TRANSCRIPTION FACTOR 1 (TRAB1)*. Sin embargo, otros promotores activados, además de la secuencia ABRE, requieren un elemento adicional en *cis* denominado elemento acoplador (CE) que juntos forman el ABREC; en maíz el más conocido es *rab28* que es activado por el factor *VP1* (Busk y Pages, 1998). *VP1* regula la transcripción a través de la activación de la expresión de genes que codifican para la síntesis de la β -amilasa y al igual que los factores de transcripción de respuesta al ABA, como *ABI3* y *ABI5*, *VP1* se induce en respuesta a estrés

osmótico (Cao et al., 2007). Por otra parte, el factor TRAB1 se presenta como un posible análogo de ABI5 en *Arabidopsis* y se ha demostrado que actúa de manera sinérgica al ABA (Jakoby et al., 2002) y que el ABA favorece la activación de TRAB1 mediante fosforilación (Kagaya et al., 2002).

Conclusiones

La germinación es un proceso altamente regulado que implica la participación de diversas clases de hormonas vegetales, que actúan de manera sinérgica o antagónica, integrando las señales provenientes del ambiente. Hasta ahora, la información disponible indica que el ácido abscísico y el ácido giberélico son los fitorreguladores esenciales para el control de la germinación, aunque las auxinas, citocininas, brasinoesteroides y el etileno influyen tanto en el desarrollo de la semilla como en la dormancia. Factores estructurales propios de la semilla como la testa, compuestos de reserva acumulados en el endospermo y la estructura del embrión son importantes durante la germinación. Estos factores están conservados en *Arabidopsis* y maíz, lo que permite sugerir que los estudios en especies modelo podrían tener aplicaciones inmediatas en los cultivos. En estos momentos, la biología vegetal experimenta una revolución genómica, causada por el impacto de las modernas técnicas de secuenciación masiva de sus genes, transcritos y proteínas. El entender la manera como se orquestan las vías de señalización hormonal para controlar la germinación en las diferentes especies vegetales, tanto en angiospermas como en gimnospermas es uno de los retos actuales en este campo.

Referencias

- Albert S, Delseny M y Devic M. 1997. *BANYULS*, a novel negative regulator of flavonoid biosynthesis in the *Arabidopsis* seed coat. *Plant Journal* 11: 289–299.
- Ali-Rachedi S, Bouinot D, Wagner MH, Bonnet M, Sotta B, Grappin P y Jullien M. 2004. Changes in endogenous abscisic acid levels during dormancy release and maintenance of mature seeds: studies with the Cape Verde Islands ecotype, the dormant model of *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 219: 479-488.
- Angelovici R, Galili G, Fernie AR y Fait A. 2010. Seed desiccation: a bridge between maturation and germination. *Trends in Plant Science* 15: 211–218.

- Arc E, Sechet J, Corbineau F, Rajjou L y Marion-Poll A. 2013. ABA crosstalk with ethylene and nitric oxide in seed dormancy and germination. *Frontiers in Plant Science* 4: 1-19.
- Baskin JM y Baskin CC. 2004. A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research* 14: 1-16.
- Beaudoin N, Serizet C, Gosti F y Giraudat J. 2000. Interactions between abscisic acid and ethylene signaling cascades. *Plant Cell* 12: 1103-1115.
- Bentsink L y Koornneef M. 2008. Seed dormancy and germination. *The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists* 6: 1-19.
- Bethke PC, Libourel IG, Aoyama N, Chung YY, Still DW y Jones RL. 2007. The *Arabidopsis* aleurone layer responds to nitric oxide, gibberellin, and abscisic acid and is sufficient and necessary for seed dormancy. *Plant Physiology* 143: 1173-1188.
- Bewley JD y Black M. 1994. *Seeds; Physiology of development and germination*. New York: Plenum Press. 1-40.
- Bewley JD. 1997. Seed germination and dormancy. *Plant Cell* 9: 1055-1066.
- Bowman JL y Floyd SK, 2008. Patterning and polarity in seed plant shoots. *Annual Reviews Plant Biology* 59: 67-88.
- Busk PK y Pages M. 1998. Regulation of abscisic acid-induced transcription. *Plant Molecular Biology* 37: 425-435.
- Cao X, Costa LM, Biderre-Petit C, Kbhaya B, Dey N, Perez P y Becraft PW. 2007. Abscisic acid and stress signals induce *Viviparous1* expression in seed and vegetative tissues of maize. *Plant Physiology* 143: 720-731.
- Chakrabortee S, Tripathi R, Watson M, Schierle GS y Kurniawan DP. 2012. Intrinsically disordered proteins as molecular shields. *Molecular Biosystems*. 8: 210-219.
- Chen M, Wang Z, Zhu Y, Li Z, Hussain N, Xuan L y Jiang L. 2012. The effect of transparent TESTA2 on seed fatty acid biosynthesis and tolerance to environmental stresses during young seedling establishment in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 160: 1023-1036.
- Chiu RS, Nahal H, Provart NJ y Gazzarrini S. 2012. The role of the *Arabidopsis* FUSCA3 transcription factor during inhibition of seed germination at high temperature. *BMC Plant Biology* 12: 15-31.
- Curaba J, Moritz T, Blervaque R, Parcy F, Raz V, Herzog M y Vachon G. 2004. AtGA3ox2, a key gene responsible for bioactive gibberellin biosynthesis, is

- regulated during embryogenesis by LEAFY COTYLEDON2 and FUSCA3 in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 136: 3660-3669.
- Feurtado JA, Huang D, Wicki-Stordeur L, Hemstock LE, Potentier MS, Tsang EW y Cutler AJ. 2011. The *Arabidopsis* C2H2 zinc finger INDETERMINATE DOMAIN1/ENHYDROUS promotes the transition to germination by regulating light and hormonal signaling during seed maturation. *Plant Cell* 23: 1772-1794.
- Finch-Savage WE y Leubner-Metzger G. 2006. Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist* 171: 501-23.
- Fujioka S y Yokota T. 2003. Biosynthesis and metabolism of brassinosteroids. *Annual Reviews Plant Biology* 54: 137-164.
- Galland M, Huguet R, Arc E, Cueff G, Job D y Rajjou L. 2014. Dynamic proteomics emphasizes the importance of selective mRNA translation and protein turnover during *Arabidopsis* seed germination. *Molecular and Cellular Proteomics* 131: 252-268.
- Gazzarrini S, Tsuchiya Y, Lumba S, Okamoto M y McCourt P. 2004. The transcription factor FUSCA3 controls developmental timing in *Arabidopsis* through the hormones gibberellin and abscisic acid. *Developmental Cell* 7: 373-385.
- Giraudat J, Hauge BM, Valon C, Smalle J, Parcy F y Goodman HM. 1992. Isolation of the *Arabidopsis* *AB13* gene by positional cloning. *Plant Cell* 4: 1251-1261.
- Goldberg RB, Paiva G y Yadegari R. 1994. Plant embryogenesis: zygote to seed. *Science* 266: 605-614.
- Griffiths J, Murase K, Rieu I, Zentella R, Zhang ZL, Powers SJ, Gong F, Phillips AL, Hedden P, Sun TP y Thomas SG. 2006. Genetic characterization and functional analysis of the *GID1* gibberellin receptors in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 18: 3399-3414.
- Gutierrez L, Van Wuytswinkel O, Castelain M y Bellini C. 2007. Combined networks regulating seed maturation. *Trends in Plant Science* 12: 294-300.
- Holdsworth MJ, Bentsink L y Soppe WJ. 2008. Molecular networks regulating *Arabidopsis* seed maturation, after-ripening, dormancy and germination. *New Phytologist* 179: 33-54.
- Jakoby M, Weisshaar B, Droge-Laser W, Vicente-Carbajosa J, Tiedemann J, Kroj T y Parcy F. 2002. bZIP transcription factors in *Arabidopsis*. *Trends in Plant Science* 7: 106-111.

- Jiang WB, Huang HY, Hu YW, Zhu SW, Wang ZY y Lin WH. 2013. Brassinosteroid regulates seed size and shape in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 162: 1965-1977.
- Kagaya Y, Hobo T, Murata M, Ban A y Hattori T. 2002. Abscisic acid-induced transcription is mediated by phosphorylation of an abscisic acid response element binding factor, TRAB1. *Plant Cell* 14: 3177-3189.
- Kamisugi Y y Cuming AC. 2005. The evolution of the abscisic acid response in land plants: comparative analysis of group 1 LEA gene expression in moss and cereals. *Plant Molecular Biology* 59: 723-737.
- Koornneef M y Vanderveen JH. 1980. Induction and analysis of gibberellin sensitive mutants in *Arabidopsis thaliana* (L) Heynh. *Theoretical and Applied Genetics* 58: 257-263.
- Koornneef M, Reuling G y Karssen CM. 1984. The isolation and characterization of abscisic acid-insensitive mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Physiologia Plantarum* 61: 377-383.
- Koornneef M, Bentsink L y Hilhorst H. 2002. Seed dormancy and germination. *Current Opinion in Plant Biology* 5: 33-36.
- Lee KP, Piskurewicz U, Tureckova V, Strnad M y Lopez-Molina L. 2010. A seed coat bedding assay shows that RGL2-dependent release of abscisic acid by the endosperm controls embryo growth in *Arabidopsis* dormant seeds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107: 19108-19113.
- Lee S, Cheng H, King KE, Wang W, He Y, Hussain A y Peng J. 2002. Gibberellin regulates *Arabidopsis* seed germination via *RGL2*, a *GAI/RGA-like* gene whose expression is up-regulated following imbibition. *Genes and Development* 16: 646-658.
- León-Kloosterziel KM, Keijzer CJ y Koornneef M. 1994. A seed shape mutant of *Arabidopsis* that is affected in integument development. *Plant Cell* 6: 385-392.
- Liu PP, Montgomery TA, Fahlgren N, Kasschau KD, Nonogaki H y Carrington JC. 2007. Repression of AUXIN RESPONSE FACTOR 10 by microRNA 160 is critical for seed germination and post-germination stages. *Plant Journal* 52: 133-146.
- Lu QS, dela Paz J, Pathmanathan A, Chiu RS, Tsai AY y Gazzarrini S. 2010. The C-terminal domain of FUSCA3 negatively regulates mRNA and protein levels and mediates sensitivity to the hormones abscisic acid and gibberellic acid in *Arabidopsis*. *Plant Journal* 64:100-113.

- Mansfield SG y Briarty LG. 1991. Early embryogenesis in *Arabidopsis thaliana*: I. The developing embryo. *Canadian Journal of Botany* 69: 461-476.
- Masucci JD y Schiefelbein JW. 1996. Hormones act downstream of TTG and GL2 to promote root hair outgrowth during epidermis development in the *Arabidopsis* root. *Plant Cell* 8: 1505–1517.
- McCarty DR, Carson CB, Stinard PS y Robertson DS. 1989. Molecular analysis of *viviparous-1*: an abscisic acid-insensitive mutant of maize. *Plant Cell* 1: 523-532.
- McCarty DR. 1995. Genetic control and integration of maturation and germination pathways in seed development. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 46: 71-93.
- Méndez-Ferreira GD, Covarrubias-Robles A y Beltrán-Peña E. 2013. Procesos moleculares involucrados en la protección de las semillas a la desecación. *Biológicas* 15: 42-48.
- Morinaka Y, Sakamoto T, Inukai Y, Agetsuma M, Kitano H, Ashikari M y Matsuoka M. 2006. Morphological alteration caused by brassinosteroid insensitivity increases the biomass and grain production of rice. *Plant Physiology* 141: 924–93.
- Nambara E, Hayama R, Tsuchiya Y, Nishimura M, Kawaide H, Kamiya Y y Naito S. 2000. The role of ABI3 and FUS3 loci in *Arabidopsis thaliana* on phase transition from late embryo development to germination. *Developmental Biology* 220: 412-423.
- Nomura T, Ueno M, Yamada Y, Takatsuto S, Takeuchi Y y Yokota T. 2007. Roles of brassinosteroids and related mRNAs in pea seed growth and germination. *Plant Physiology* 143: 1680-1688.
- Ohto MA, Floyd SK, Fischer RL, Goldberg RB y Harada JJ. 2009. Effects of APETALA2 on embryo, endosperm, and seed coat development determine seed size in *Arabidopsis*. *Sexual Plant Reproduction* 22: 277-289.
- Rerie WG, Feldmann KA y Marks MD. 1994 The *GLABRA2* gene encodes a homeodomain protein required for normal trichome development in *Arabidopsis*. *Genes Development* 8: 1388-1399.
- Soderman EM, Brocard IM, Lynch TJ y Finkelstein RR. 2000. Regulation and function of the *Arabidopsis ABA-insensitive 4* gene in seed and abscisic acid response signaling networks. *Plant Physiology* 124: 1752-1765.

- Shu K, Zhang H, Wang S, Chen M, Wu Y, Tang S y Xie Q. 2013. ABI4 regulates primary seed dormancy by regulating the biogenesis of abscisic acid and gibberellins in *Arabidopsis*. *PLoS Genetics* 9: e1003577.
- Schruff MC, Spielman M, Tiwari S, Adams S, Fenby N y Scott RJ. 2006. The *AUXIN RESPONSE FACTOR 2* gene of *Arabidopsis* links auxin signalling, cell division, and the size of seeds and other organs. *Development* 133: 251-261.
- Sun X, Shantharaj D, Kang X y Ni M. 2010. Transcriptional and hormonal signaling control of *Arabidopsis* seed development. *Current Opinion in Plant Biology* 13: 611-620.
- Suzuki M, Kao CY, Cocciolone S y McCarty DR. 2001. Maize VP1 complements *Arabidopsis abi3* and confers a novel ABA/auxin interaction in roots. *Plant Journal* 28: 409-418.
- Tyler L, Thomas SG, Hu J, Dill A, Alonso JM, Ecker JR y Sun TP. 2004. DELLA proteins and gibberellin-regulated seed germination and floral development in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 135: 1008-1019.
- Wang A, Garcia D, Zhang H, Feng K, Chaudhury A, Berger F, Peacock WJ, Dennis ES y Luo M. 2010. The VQ motif protein IKU1 regulates endosperm growth and seed size in *Arabidopsis*. *Plant Journal* 63: 670-679.
- Wolkers WF, McCready S, Brandt WF, Lindsey GG y Hoekstra FA. 2001. Isolation and characterization of a D-7 LEA protein from pollen that stabilizes glasses in vitro. *Biochimica et Biophysica Acta* 1544: 196-206.
- Xi W, Liu C, Hou X, y Yu H. 2010. MOTHER OF FT AND TFL1 regulates seed germination through a negative feedback loop modulating ABA signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 22: 1733-1748.
- Yamaguchi S, Smith MW, Brown RGS, Kamiya Y y Sun T. 1998. Phytochrome regulation and differential expression of gibberellins 3 β -hydroxylase genes in germinating *Arabidopsis* seeds. *Plant Cell* 10: 2115-2126.
- Ye Q, Zhu W, Li L, Zhang S, Yin Y, Ma H y Wang X. 2010. Brassinosteroids control male fertility by regulating the expression of key genes involved in *Arabidopsis* anther and pollen development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107: 6100-6106.