

Mecanismos de tolerancia a la salinidad en plantas

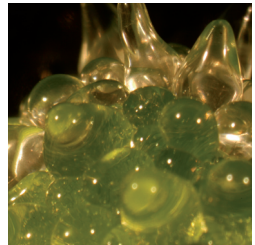
Bronwyn J. Barkla, Rosario Vera-Estrella,
Enrique Balderas y Omar Pantoja

Debido al aumento en la población mundial, así como al aumento en el ingreso económico per cápita, la demanda de alimentos también ha aumentado. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que para 2030 la demanda de productos agrícolas será aproximadamente 60% mayor a la actual. Un porcentaje mayor al 85% de esta demanda se deberá a los países en desarrollo, donde ocurrirá el mayor crecimiento poblacional (FAO 2000, www.fao.org). En el pasado, la producción agrícola ha aumentado mediante la incorporación de nuevas tierras cultivables; sin embargo, la disponibilidad es limitada. Adicionalmente ha aumentado la competencia por el uso del suelo debido a la demanda industrial, comercial y residencial. Las áreas productivas son inestables y sujetas a una constante degradación. La degradación del suelo por la agricultura ocurre a tal velocidad que uno de los grandes retos para poder alcanzar la demanda de alimentos en el futuro es disminuir y, de ser posible, revertir el deterioro del suelo o adaptarlo a las nuevas condiciones limitantes.

La salinización ha sido identificada como un factor muy importante en la degradación de los suelos agrícolas. De acuerdo a la OMS, de las 230 millones de hectáreas que se en-

cuentran bajo irrigación, 45 millones están afectadas por la salinidad. Se estima que se pierden al año cerca de 1.5 millones de hectáreas de suelos irrigados, lo cual resulta en una reducción de aproximadamente once mil millones de dólares en la productividad agrícola. La salinidad del suelo es el resultado de la acumulación de sales en la superficie debida al movimiento de las aguas freáticas hacia ella. Esto puede ocurrir por la aplicación de un exceso de irrigación en combinación con una alta evaporación, fenómeno que se ve aumentado cuando la calidad del agua es pobre (agua de desagüe, por ejemplo). La salinidad se presenta particularmente en zonas áridas o semiáridas del mundo. En México, 30% de los 5.5 millones de hectáreas que son irrigadas están afectadas por la salinidad.

La mayoría de las plantas de importancia agrícola en México son sensibles a la salinidad, y su producción se ve significativamente reducida cuando se cultivan en suelos salinos. En nuestro laboratorio hemos estado trabajando con la planta tolerante a la salinidad (halófito) *Mesembryanthemum crystallinum* L. Esta especie, originaria de Sudáfrica e introducida en muchos países, es altamente tolerante a la salinidad. Durante los últimos diez años hemos



3
6
2

estado estudiando esta planta para identificar los mecanismos que a nivel celular le permiten tolerar la presencia de altos niveles de sales en el suelo. Para la mayoría de las plantas, incluyendo las de importancia agrícola, la presencia de sal disminuye la absorción de agua y de los nutrientes importantes del suelo, y una vez acumulado dentro de la planta, el sodio es tóxico para una variedad de procesos metabólicos, incluyendo enzimas que participan en la fotosíntesis. *M. crystallinum* ha desarrollado mecanismos adaptativos que le permiten absorber agua bajo condiciones de alta salinidad, así como acumular el sodio en las partes aéreas de la planta donde es aislado para prevenir daño alguno.

Control del sodio dentro de la planta

En *M. crystallinum*, el sodio es acumulado y depositado en un gradiente a lo largo de su eje de crecimiento, con la mayor concentración depositada en las partes jóvenes de las hojas, donde es secuestrado dentro de la gran vacuola central de las células. Esto, en contraste con lo que sucede en las glicófitas, las cuales dirigen al sodio hacia las partes maduras de la planta en un intento de mantenerlo en las raíces. Hemos medido concentraciones particularmente altas de sodio en células especializadas de las partes aéreas conocidas como células vejiga (**figura 1**). Estas células, localizadas en la superficie de las hojas y de los tallos, son células modificadas (tricomas) que se desarrollan durante el crecimiento de la planta, y permanecen deprimidas en ausencia de sal, pero su crecimiento se ve estimulado por la presencia de ésta (Adams *et al.*, 1998). Además de secuestrar (remover) al sodio lejos del tejido fotosintético, las células vejiga funcionan como reservorios de agua para las células fotosintéticas (mesófilo) que se encuentran dentro de la hoja (Rygal *et al.*, 1989). Nosotros demostramos que el secuestro del sodio dentro de la vacuola de *M. crystallinum* se debe a la actividad de un intercambiador de sodio/protones (Na^+/H^+) que es activado por la bomba de protones del tonoplasto (V-ATPasa,

figura 2) (Barkla *et al.*, 1995). La actividad de estos dos transportadores es inducida cuando las plantas o cultivos de células en suspensión son crecidos en presencia de sal (Barkla *et al.*, 1995). Cambios concomitantes a nivel de ARN y proteína para varias sub-unidades de la V-ATPasa son causados por la sal (Barkla y Pantolja, 1996). La inducción de la actividad del intercambiador de Na^+/H^+ , ya sea *de novo* o por el aumento en la actividad de la ya existente en plantas, sugiere fuertemente que este intercambiador juega un papel muy importante en la tolerancia a la salinidad. También hemos podido demostrar que existe una correlación muy estrecha entre los sitios de acumulación de sodio dentro de la planta y la actividad del intercambiador Na^+/H^+ , encontrando una mayor acumulación de sodio y una mayor actividad del intercambiador en las células vejiga, y en segundo lugar, en los tejidos jóvenes de las hojas (Barkla *et al.*, 2002). Estos resultados refuerzan el papel de este transportador como un mecanismo clave en la tolerancia de la planta a la salinidad. Nuestros resultados también sugieren que el grado de tolerancia de una especie dada a la salinidad puede deberse no sólo a la actividad del intercambiador Na^+/H^+ , sino que también, y quizás más importante, al tejido donde esta actividad es mayor (Barkla *et al.*, 2002). Esta conclusión es reforzada por los estudios de sobre-expresión de un intercambiador Na^+/H^+ endosomal en las hojas de *A. thaliana* o del jitomate (Apse *et al.*, 1999 y Zhang y Blumwald, 2001) plantas que son poco tolerantes a la salinidad. Individuos silvestres de estas dos especies que presentaron una actividad despreciable del intercambiador Na^+/H^+ fueron sensibles a la salinidad, mientras que la sobre-expresión de la proteína responsable del intercambio Na^+/H^+ de *arabidopsis*, AtNHX1, causó un aumento en el intercambio Na^+/H^+ y una tolerancia a la salinidad en plantas transgénicas. Estos resultados confirman que la expresión del antiportador no confiere tolerancia a la salinidad, sino que el nivel de expresión y el tejido y órgano donde se exprese, son los factores importantes.

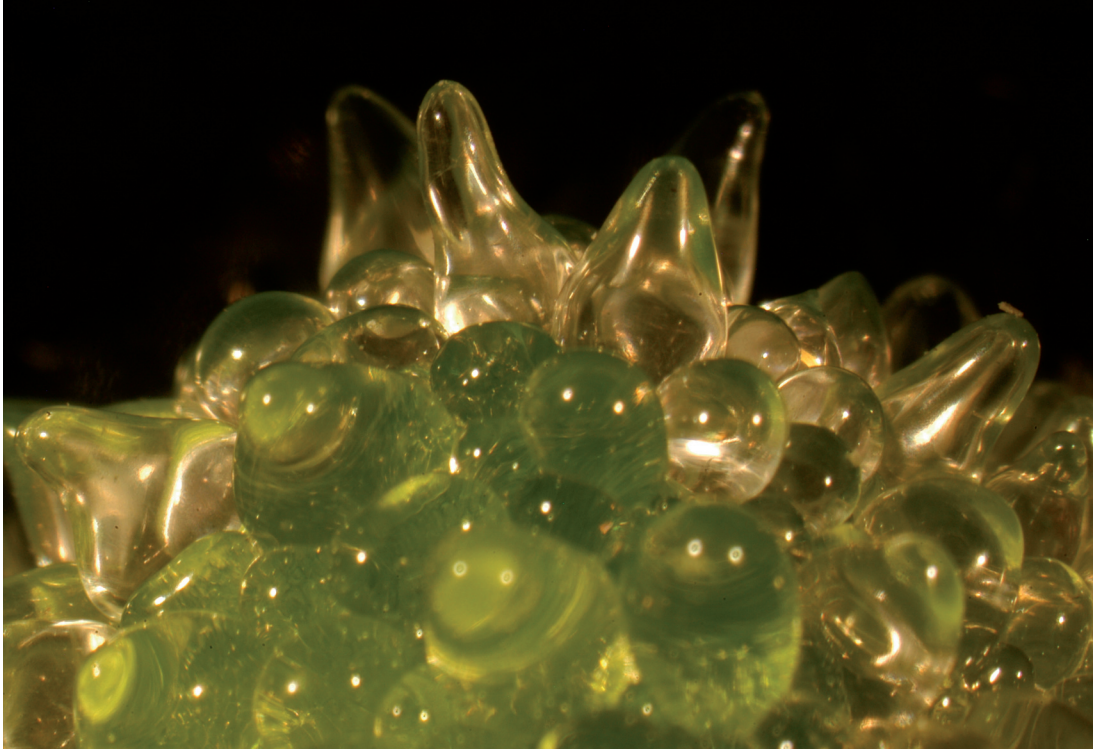


Figura 1.
Células vejiga del tallo de una planta de *M. crystallinum*
expuesta a 200 mM NaCl.

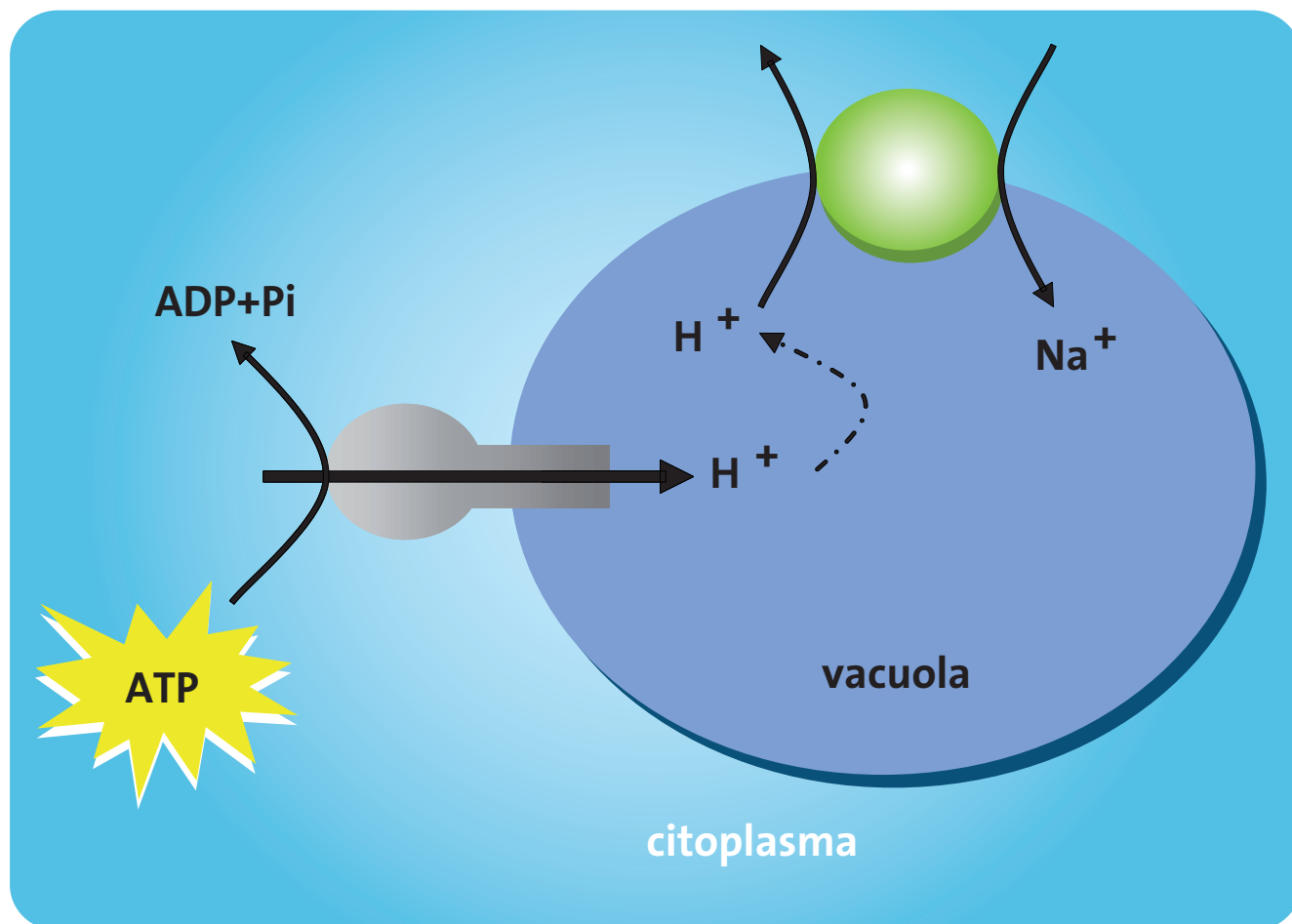


Figura 2.
Representación esquemática de la acumulación vacuolar de sodio.

Se podría especular si la estimulación de la actividad del intercambiador Na^+/H^+ que se observó en presencia de sal fue debida a una regulación transcripcional o traduccional de un solo gen, o si varios genes se expresaron en los diferentes tejidos a diferentes niveles, ya que por lo menos existen seis genes NHX relacionados en el genoma de *Arabidopsis*. De esta familia de genes, sólo un gen, *AtNHX1*, ha sido caracterizado ampliamente, del cual se demostró que media el transporte tanto de sodio como de potasio con afinidades similares (Venema *et al.*, 2002) y que es inducido igualmente por ambos iones (Gaxiola *et al.*, 1999). Estos resultados sugieren que *AtNHX1* juega un papel en el control del pH y de la osmorregulación del organelo donde se exprese, más que en la acumulación de sodio.

Anteriormente demostramos que el intercambiador Na^+/H^+ en *M. crystallinum* es altamente selectivo para sodio en comparación con potasio (Barkla *et al.*, 1995), y que el crecimiento de las plantas en presencia de potasio no causa la inducción del intercambiador Na^+/H^+ . Estos resultados sugieren que la actividad de intercambio Na^+/H^+ que nosotros hemos cuantificado, muy probablemente esté codificada por un gen diferente a *AtNHX1*. Esta conclusión se ve reforzada por resultados que hemos obtenido con anticuerpos en contra de *NHX1*, y que han demostrado que este intercambiador no se localiza en el tonoplasto.

Debido a que las herramientas genómicas y genéticas no se encuentran disponibles para *M. crystallinum*, además de ser difícil de transformar, recientemente nos hemos enfocado a estudiar otra planta halófila, *Thellungiella halophila*, la cual es altamente tolerante a la salinidad y emparentada muy cercanamente a *A. thaliana*. Además de ser tolerante a la salinidad, *T. halophila* posee muchas de las ventajas que han hecho de *Arabidopsis* una planta modelo: un ciclo de vida corto, autopolinizable, con la producción de un gran número de semillas después de un periodo de vernalización, lo cual permite realizar un análisis genético eficiente y rápido (Amtmann *et al.*, 2005). Aún más impor-

tante, esta planta se puede transformar fácilmente mediante el método de inmersión floral, además de compartir, en promedio, un 92% de identidad genética con *A. thaliana* (Volkov *et al.*, 2003, Inan *et al.*, 2004 y Vera-Estrella *et al.*, 2005). Además de las ventajas ya mencionadas, actualmente se está realizando la secuenciación de su genoma, así como la producción de líneas mutantes mediante la inserción de T-ADN (Inan *et al.*, 2004 y Wang *et al.*, 2003). Otra ventaja que ofrece esta especie es que, para tolerar a la salinidad, no requiere de células especializadas como glándulas de sal, células vejiga o cambios metabólicos (fotosíntesis C_3 a fotosíntesis CAM), tal y como se presentan en otras halófitas como *M. crystallinum*.

Nuestro trabajo con *T. halophila* ha demostrado que esta especie es capaz de tolerar niveles altos de salinidad por periodos cortos; sin embargo, cuando es estresada por periodos largos, su crecimiento es inhibido y las plantas muestran signos de muerte. En los tejidos aéreos, *T. halophila* acumula el sodio principalmente en las hojas viejas, en comparación con *M. crystallinum*, mientras que, en las raíces, la acumulación del sodio está restringida a la raíz principal. También hemos investigado las actividades y/o la expresión de proteínas de transporte que son importantes para el transporte de sodio (Vera-Estrella *et al.*, 2005). De forma similar a lo observado con *M. crystallinum*, el tratamiento con sodio causó un aumento tanto en el transporte de protones (H^+) como en la actividad hidrolítica de la H^+ -ATPasa del tonoplasto y de la membrana plasmática de *T. halophila*, tanto en hojas como en la raíz (Vera-Estrella *et al.*, 2005). Por otro lado, la actividad del intercambiador Na^+/H^+ fue estimulada en las hojas y raíces de plantas expuestas al sodio, resaltando el papel que esta proteína parece desempeñar en la tolerancia a la salinidad en plantas (Vera-Estrella *et al.*, 2005).

Nuestros estudios sobre la expresión de la isoforma AHA3 de la H^+ -ATPasa de la membrana plasmática, del transportador HKT1 y del intercambiador Na^+/H^+ SOS1, mostraron que la expresión a nivel de proteína de éste último

fue estimulada, pero no así la de AHA3 ni la de HKT1. La expresión de NHX1 sólo se observó en la membrana plasmática de la raíz, la cual fue inducida por la salinidad (Vera-Estrella *et al.*, 2005). Los análisis de la expresión a nivel de proteína de las sub-unidades de la V-ATPasa mostraron que la salinidad no causó cambios importantes para VHA-A o VHA-B; sin embargo, VHA-E mostró un aumento en las hojas pero no en las raíces. En resumen, las plantas de *T. halophila* fueron capaces de distribuir y almacenar el sodio mediante un estricto control del movimiento iónico a través del tonoplasto y de la membrana plasmática (Vera-Estrella *et al.*, 2005).

Las acuaporinas: reguladoras del flujo de agua en la adaptación a la salinidad y la sequía

El agua es el principal componente de células y tejidos de todos los organismos, y la manera como se regula la entrada y salida del agua en las células debe de ser uno de los aspectos más importante de la fisiología de los organismos en general. La comprobación de la existencia de las acuaporinas (AQP) o canales de agua (Agre *et al.*, 1993) ha planteado un reto para definir su papel en la biología celular y fisiología de todos los organismos. En particular, uno de los aspectos fundamentales en la fisiología vegetal es explicar el uso eficiente del agua. A diferencia de los demás organismos, en las plantas las AQP forman un grupo genético muy grande y juegan un papel esencial en los procesos biológicos. Por análisis filogenéticos, las AQP de plantas se han agrupado en cuatro familias: las proteínas intrínsecas de la membrana plasmática (PIP), las proteínas intrínsecas del tonoplasto (TIP), las proteínas parecidas a la nodulina 26 (NIP), grupo donde se encuentran aquellas proteínas que facilitan el transporte del glicerol, y las pequeñas proteínas básicas integrales (SIP) (Kammerloher *et al.*, 1994, Schaffner, 1998 y Quigley *et al.*, 2002). Con respecto a la clasificación de las TIP y las PIP como acuaporinas que se localizan en el tonoplasto

(TP) y en la membrana plasmática (PM), respectivamente, hemos demostrado que esto no es válido, ya que algunas PIP se pueden expresar en el tonoplasto, así como algunas TIP han sido detectadas en la membrana plasmática (Barkla *et al.*, 1999).

En general, cuando la disponibilidad de agua en el medio cambia, las plantas sufren una alteración en el potencial osmótico. Para balancear estos cambios, las células vegetales deben poseer mecanismos que les permitan controlar la actividad y/o expresión de los diferentes mecanismos de transporte de solutos y agua presentes en sus membranas. Se ha reportado que estímulos, como la sequía y la salinidad, así como incrementos en la síntesis del ácido abscísico (ABA), el cual está relacionado con la percepción del estrés osmótico, causan cambios en la expresión de las TIP y las PIP. La mayoría de estos estudios han analizado la expresión de las AQP a nivel de ARN, siendo pocos los que se han enfocado en estudiar la regulación de la expresión de las AQP a nivel de proteína. Sin embargo, cuando se toman en consideración factores como estabilidad del ARNm y cambios en la expresión de la proteína, es posible que la regulación a nivel transcripcional no coincida con los cambios en los niveles de proteínas. Por ejemplo, estudios realizados sobre la expresión de AtPIP2;3 en *A. thaliana* mostraron que, mientras la sequía indujo la expresión del gene a nivel transcripcional (Yamaguchi-Shinozaki *et al.*, 1992), a nivel de la proteína no se observó cambio alguno (Daniels *et al.*, 1994). Debido a esto, y considerando que las proteínas son las entidades directamente responsables de la actividad, nuestro trabajo sobre la caracterización de las AQP en plantas se ha realizado mediante el análisis de la expresión y funcionamiento de las proteínas.

Empleando anticuerpos péptido-específicos en la halófito *M. crystallinum*, hemos demostrado que existe una regulación diferencial en los niveles de expresión de las diferentes AQP por estrés salino y por estrés osmótico. Durante el estrés salino, la cantidad de la proteína McTIP1;2 se vio reducida en el tonoplasto

de las hojas, mientras que la correspondiente a McPIP2;1 aumentó en la raíz. Al mismo tiempo, no se observaron cambios en la expresión de McPIP1;2 en ningún tejido de la planta (Vera-Estrella *et al.*, 2000 y Estrella *et al.*, 2004). Por otro lado, también hemos demostrado que el estrés osmótico induce un aumento en los niveles de expresión de la proteína McTIP1;2, tanto en las hojas como en la raíz, que contrastan con la disminución causada por el estrés salino (Estrella *et al.*, 2004 y Kirch *et al.*, 2000).

Estos resultados sugieren que *M. crystallinum* es capaz de discriminar exactamente entre el estrés iónico y el estrés osmótico, posiblemente a través de diferentes mecanismos de transducción de señales involucrados en la adaptación de esta planta a estos tipos de estrés. Paralelamente al aumento en los niveles de expresión de McTIP1;2 en el tonoplasto causado por el estrés osmótico, hemos observado que esta proteína se redistribuye en las diferentes endomembranas de las hojas y de células en suspensión de *M. crystallinum* (Estrella *et al.*, 2004). Sin embargo, estos cambios de distribución de McTIP1;2 no se observan en las raíces de las mismas plantas, donde sólo se observa un incremento en la cantidad de proteína en la fracción correspondiente al tonoplasto. Estos resultados nos condujeron a postular la participación del tráfico vesicular durante la redistribución de McTIP1;2 causado por el estrés osmótico en las hojas, mecanismo que podría ser importante en la regulación de la expresión de esta proteína y la participación de las AQP en el control del estrés hídrico en compartimentos celulares diferentes a la membrana plasmática y el tonoplasto (Estrella *et al.*, 2004).

Para comprobar nuestra hipótesis, estudiamos varios factores que regulan el tráfico vesicular en células eucariotes. Mediante el uso de inhibidores específicos del tráfico vesicular y con ayuda de microscopía confocal y análisis de la expresión de la proteína en membranas aisladas, observamos que la redistribución de McTIP1;2 fue inhibida cuando las células en suspensión de *M. crystallinum* se pre-incubaron con brefeldina A, wortmanina o citocalasina D, inhibidores de

la biosíntesis de vesículas, de la fosfatidilinositol 3-fosfato cinasa (PI3K), y de la actina, respectivamente (Estrella *et al.*, 2004), mecanismos directamente involucrados en el tráfico vesicular. También demostramos que la redistribución de McTIP1;2 causada por el estrés osmótico está regulada por el cAMP, ya que esta respuesta se pudo inducir tanto por forskolina como por el 8-Br cAMP (activadores de la adenilato ciclasa [AC] y de la cinasa A de proteínas [PKA], respectivamente) en ausencia del estrés osmótico. Estas respuestas fueron inhibidas por 2,5-D y H89 (inhibidores de AC y PKA, respectivamente), reforzando así la participación de la vía de fosforilación por cAMP y PKA en la redistribución de McTIP1;2 durante el estrés osmótico (Estrella *et al.*, 2004). Por otro lado, también pudimos demostrar que la glicosilación de McTIP1;2 es un requisito esencial para que esta proteína se mueva a otro(s) organelo(s) celular(es), ya que en presencia de tunicamicina (inhibidor de la glicosilación de proteínas), el estrés osmótico no causó la re-localización de McTIP1;2. Estudios de microscopía confocal y electrónica con *M. crystallinum* demostraron que durante el estrés osmótico, McTIP1;2 se re-localizó desde tonoplasto hacia un compartimento nuevo cuya función se desconoce. Este compartimento tiene la apariencia de cuerpo multi-vesicular localizado en el citoplasma, donde se ha detectado la presencia de McTIP1;2 utilizando inmunolocalización con partículas de oro e inmunofluorescencia (Estrella *et al.*, 2004). De estos resultados podemos concluir que la re-distribución de McTIP1;2 hacia organelos intracelulares forma parte del (los) mecanismo(s) de regulación necesario(s) para que la célula sea capaz de restaurar y mantener la homeostasis celular durante el estrés osmótico (Estrella *et al.*, 2004).

El papel de los HKT como transportadores de alta afinidad de K⁺ y de baja afinidad de Na⁺

Uno de los problemas al que las plantas se enfrentan muy frecuentemente es la baja disponibilidad de nutrientes en el suelo, problema que

se ve agravado por la condición de inmovilidad de las plantas y por las condiciones de infertilidad de los suelos. Para poder adecuarse a estas condiciones, las plantas han desarrollado mecanismos adaptativos que les permiten asimilar los nutrientes necesarios para su desarrollo óptimo, aún en condiciones de baja disponibilidad y/o en la presencia de iones tóxicos, como el sodio. Estos corresponden a los comúnmente llamados mecanismos de alta afinidad que son inducidos específicamente cuando los nutrientes se encuentran a concentraciones muy bajas (micromolares, μM) y que presentan una alta afinidad por su sustrato. Dentro de los más importantes se encuentran los involucrados en la absorción de K^+ , NH_4^+ , PO_4^- , etc. En los últimos años, nuestro grupo ha estado interesado en estudiar los mecanismos responsables de la adquisición de alta afinidad del K^+ por las plantas. Específicamente, se han estudiado las propiedades de los transportadores denominados HKT (*high affinity K⁺ transporters*). La caracterización de los transportadores HKT se está realizando en el arroz, debido a que en esta especie existen siete genes que codifican para diferentes transportadores con variaciones en su secuencia de aminoácidos que se postula son importantes en la selectividad de estos mecanismos (Mäser *et al.*, 2002). Este trabajo nos ha permitido identificar que el transportador del arroz *OsHKT2;1* media el transporte de K^+ y Na^+ (además de Li^+ , Rb^+ y Cs^+) facilitando más el movimiento de Na^+ hacia el interior de las células, lo cual podría indicar que este transportador es la vía de entrada de este elemento tóxico para las plantas (Golladay *et al.*, 2002). Debido a que este transportador se expresa principalmente en células que rodean al tejido vascular, posiblemente participe en el transporte a distancia de Na^+ y K^+ , más que en la absorción de estos elementos del suelo. Análisis de los cambios en la expresión del transportador *OsHKT2;1* en una variedad tolerante (Pokkali) y una sensible (IR29) a la salinidad, mediante el empleo de anticuerpos específicos, mostraron que este transportador se expresa a niveles reducidos en la variedad Pokkali cuando las plantas del

arroz fueron expuestas a altos niveles de Na^+ , lo cual se podría relacionar con un menor transporte de este elemento tóxico a las partes aéreas de la planta, explicando así la tolerancia de esta variedad a la salinidad. Por el contrario, en la variedad IR29, la presencia de altos niveles de Na^+ no causó efecto alguno en la expresión de *OsHKT2;1*, permitiendo así el transporte de Na^+ a la planta y, por lo tanto, causando los efectos negativos sobre el crecimiento de esta variedad. Estudios recientes nos han permitido descubrir que el transporte de Na^+ mediado por *OsHKT2;1* es fuertemente inhibido por concentraciones bajas de K^+ (μM), y que bajo estas condiciones, el K^+ es entonces transportado, debido a la alta afinidad de *OsHKT2;1* por K^+ en comparación con Na^+ , la cual es cincuenta veces menor para este último (Balderas y Pantoja, sometido a revisión). Desde el punto de vista biotecnológico, este resultado es importante, ya que nos indica que las propiedades de este transportador son adecuadas para la producción de plantas con el potencial de resistir niveles elevados de Na^+ , ya que la absorción de este elemento tóxico se podría inhibir por la presencia de K^+ , además de asegurar la toma de este último.

Otro transportador que hemos podido caracterizar funcionalmente es *TaHKT2;1* del trigo, el cual de manera similar a *OsHKT2;1*, media el transporte de K^+ y Na^+ de forma independiente, con una mayor afinidad hacia el K^+ que hacia el Na^+ (Balderas y Pantoja, sometido a revisión). *TaHKT2;1*, en contraste con *OsHKT2;1*, aparentemente funciona como un co-transportador K^+/Na^+ cuando estos dos elementos se encuentran presentes en el medio, pero sólo cuando la proporción $\text{Na}^+:\text{K}^+$ es mayor a diez (Balderas y Pantoja, sometido a revisión). El hecho de que los transportadores *TaHKT2;1* y *OsHKT2;1* puedan mediar tanto el movimiento de K^+ como el de Na^+ hacia el interior de las células, indica que estos mecanismos confieren una ventaja adaptativa a las plantas que los poseen, ya que permiten la absorción de uno cuando el otro no está presente, asegurando así el aumento en el potencial osmótico de las células que conducirá a la requerida toma de agua por la

planta. Sin embargo, la actividad de *TaHKT2;1* podría tener consecuencias negativas debido a la fuerte estimulación del transporte de Na^+ por concentraciones diez veces menores de K^+ , lo cual es un poco paradójico.

La caracterización del transporte mediado por *OsHKT2;1* y *TaHKT2;1* claramente indica que ambos son capaces de transportar K^+ con una afinidad alta, lo cual está de acuerdo con la estructura molecular de estos transportadores ya que ésta es muy similar a la estructura cuaternaria de algunos canales de K^+ , como los *KcsA* (Doyle *et al.*, 1998). Estos canales poseen una estructura terciaria compuesta de dos dominios hidrofóbicos transmembranales separados por una asa que penetra la bicapa lipídica y que forma el poro de selectividad (estructura M_1PM_2). Funcionalmente, cuatro de estos canales se oligomerizan para formar un homotetrámero. Esta es la estructura a la que los transportadores HKT muestran homología y que se puede correlacionar con su función como transportadores de K^+ (Durell *et al.*, 1999). Sin embargo, es conveniente mencionar que la selectividad de estos transportadores parece residir en la presencia de una glicina muy conservada en cada una de las cuatro asas que formarían el poro de selectividad, en homología con lo que se presenta en los canales *KcsA* (Doyle *et al.*, 1998). Aunque esto parece ser cierto para algunos miembros de esta familia de transportadores, nuestros resultados con *OsHKT2;1*, así como los obtenidos por el grupo de Daniel Schachtman (Feirbain *et al.*, 2000) en el eucalipto, donde tres de las glicinas están conservadas y la cuarta ha sido sustituida por serina, las proteínas aún funcionan como transportadores de K^+ , sugiriendo que otras regiones de la proteína deben estar involucradas en la selectividad.

Con el objeto de determinar con más precisión el papel de estos transportadores en la fisiología de las plantas, y con particular interés sobre su posible papel en la tolerancia a la salinidad, hemos incluido otras especies en

nuestros estudios. El análisis del transportador *McHKT1;1* de la planta halófito *M. crystallinum* nos permitió determinar que este transportador, en contraste con *TaHKT2;1* y *OsHKT2;1*, no es capaz de mediar el movimiento de K^+ o Na^+ a bajas concentraciones, aún en presencia de ambos cationes. Sin embargo, *McHKT1;1* sí transportó tanto K^+ como Na^+ a concentraciones de 100 mM, aunque esta actividad no fue muy selectiva ya que Rb^+ , Li^+ y Cs^+ también fueron transportados con una secuencia de permeabilidad $\text{Rb}^+ > \text{Cs}^+ > [\text{K}^+ = \text{Na}^+ = \text{Li}^+]$ (Su *et al.*, 2003). En colaboración con el grupo del Dr. Hans Bohnert de la Universidad de Illinois, Urbana, fue posible determinar que *McHKT1;1* se expresa en las células de la epidermis de la punta de la raíz, y en los haces vasculares de la raíz madura, lo cual indica que este transportador podría funcionar en la absorción de cationes del suelo y en el llenado del xilema desde donde será transportado a las hojas para su acumulación en las células vejiga de la epidermis en condiciones de alta salinidad, donde la expresión de *McHKT1;1* no sufre cambio alguno en su expresión a nivel de proteína bajo esta condición (Su *et al.*, 2003). El funcionamiento de *McHKT1;1* como un transportador de sodio en esta halófito ayudaría a aumentar el potencial osmótico de la planta necesario para el mantenimiento de la absorción de agua en condiciones donde la disponibilidad de agua se ve severamente reducida por la presencia de sales en el suelo, permitiendo así el crecimiento y sobrevivencia de la planta en condiciones adversas.

Conclusiones

Mediante el entendimiento del papel de estos transportadores en la tolerancia a la salinidad y en la absorción de nutrientes podremos construir un modelo integrativo que nos ayudará en la definición de estrategias biotecnológicas para el mejoramiento de la tolerancia a la salinidad en plantas de importancia agrícola. ●

Bibliografía

- Adams *et al.*, en *New Phytologist*, 138: 171-190, 1998.
- Agre, P., S. Sasaki y M. J. Chrispeels, en *Am. J. Physiol.*, 261: F461, 1993.
- Amtmann, A., H. J. Bohnert y R. A. Bressan, en *Plant Physiology*, 138: 127-130, 2005.
- Apse *et al.*, en *Science*, 285: 1256-1258, 1999.
- Balderas y Pantoja, sometido a revisión.
- Barkla *et al.*, en *Plant Physiology*, 109: 549-556, 1995.
- Barkla y Pantoja, en *Annual Review of Plant Physiol. and Plant Mol. Biology*, 47: 159-184, 1996.
- Barkla, B. J. *et al.*, en *Trends in Plant Sciences*, 4: 86-88, 1999.
- _____, en *Functional Plant Biology*, 29: 1017-1024, 2002.
- Daniels, M. J., T. E. Mirkov y M. J. Chrispeels, en *Plant Physiol.*, 106: 1325-1333, 1994.
- Doyle, D. A. *et al.*, en *Science*, 280: 69-77, 1998.
- Durell, S. R. *et al.*, en *Biophys. J.*, 77: 775-788, 1999.
- Estrella, R. *et al.*, en *Plant Physiol.*, 135: 2318-2329, 2004.
- Feirbain, D. J. *et al.*, en *Plant Mol. Biol.*, 3: 515-525, 2000.
- Gaxiola *et al.*, en *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96: 1480-1485, 1999.
- Golldack, D. *et al.*, en *The Plant Journal*, 31: 529-542, 2002.
- Inan, G. *et al.*, en *Plant Physiology*, 135: 1718-1737, 2004.
- Kammerloher, R. *et al.*, en *Plant J.*, 6: 187-199, 1994.
- Kirch, H. H. *et al.*, en *Plant Physiol.*, 123: 111-124, 2000.
- Mässer, P. *et al.*, en *Proceedings of National Academy of Sciences*, 99: 6428-6433, 2002.
- Quigley, F. *et al.*, en *Genome Biology*, 3: 1-17, 2002.
- Rygel *et al.*, en *Journal of Membrane Biology*, 107: 203-212, 1989.
- Schaffner, A. R., en *Planta*, 204: 131-139, 1998.
- Su, H. *et al.*, en *Plant Mol. Biol.*, 52: 967-980, 2003.
- Venema *et al.*, en *Journal of Biological Chemistry*, 277: 2413-2418, 2002.
- Vera-Estrella, R. *et al.*, en *Molecular biology and physiology of water and solute transport*, New York, Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2000.
- Volkov, V. *et al.*, en *Plant Cell Environment*, 27: 1-14, 2003.
- Wang, Z-l. *et al.*, en *Plant Sciences*, 166: 609-616, 2003.
- Yamaguchi-Shinozaki, K. *et al.*, en *Plant Cell Physiol.*, 33: 217-224, 1992.
- Zhang y Blumwald, en *Nature Biotechnology*, 19: 765-768, 2001.