

Capítulo I

La Célula Vegetal

Liliana Cardemil¹, Michael Handford¹ & Lee Meisel¹

INTRODUCCIÓN

Los organismos vegetales poseen características celulares únicas no presentes en las células de los organismos pertenecientes a otros reinos

La Fisiología Vegetal es la ciencia encargada de estudiar como funcionan las plantas. Las plantas como todos los organismos vivos deben crecer y desarrollarse, para lo cual deben asimilar y metabolizar moléculas, sintetizar moléculas más complejas, y coordinar todas estas funciones eficientemente. Las plantas además deben responder a señales del medio ambiente, e interactuar con otros organismos.

Todas estas funciones de la planta residen en último término en las células que constituyen sus órganos y tejidos. Sin embargo, la complejidad que tiene cada célula de una planta es el resultado de un proceso co-evolutivo en el cual cada uno de sus rasgos tiene su contraparte en células que se encuentran en otros organismos que comprenden los otros 4 reinos a los que las plantas no pertenecen. Así, estudios moleculares han revelado el origen de algunos organelos de la célula vegetal como por ejemplo el origen de los cloroplastos y de las mitocondrias. Existe un sinnúmero de evidencias que el origen de estos organelos fue por simbiosis de una bacteria con otra célula, en el caso de las mitocondrias y de una cianobacteria con otra célula, en el caso de los cloroplastos. El origen simbiótico de una bacteria con otra célula para originar las mitocondrias es el origen de todas las mitocondrias de organismos eucarióticos no sólo para las plantas. El origen simbiótico de una cianobacteria con otra célula de los cloroplastos está restringido sólo a los organismos del reino plantae y a otros pocos que fotosintetizan como es el caso de algunos protistas.

De todos los reinos que comprenden a todos los organismos vivos: virus, monera protista, fungi, plantae y animalia (Fig. 1), es el reino vegetal (plantae), el que está constituido por organismos cuyas células tienen rasgos únicos, que presentes en células de organismos de otros reinos, en plantas aparecen combinados en una misma célula.

Así las células de las plantas poseen enormes compartimentos líticos que son útiles para almacenar moléculas como enzimas hidrolíticas, azúcares, hormonas en su forma inactiva, flavonoides, sales, etc. Estas son las vacuolas que durante el desarrollo y diferenciación celular pueden crecer hasta disolver todo el contenido celular, o disminuir su tamaño hasta desaparecer.

¹ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Las Palmeras 3425, Santiago, Chile.
E-mail: lcardemi@uchile.cl

² Nucleo Milenio en Biología Celular Vegetal (PCB) y Centro de Biotecnología Vegetal, Facultad de Ecología y Recursos Naturales, Universidad Andrés Bello. República 217, Santiago, Chile.

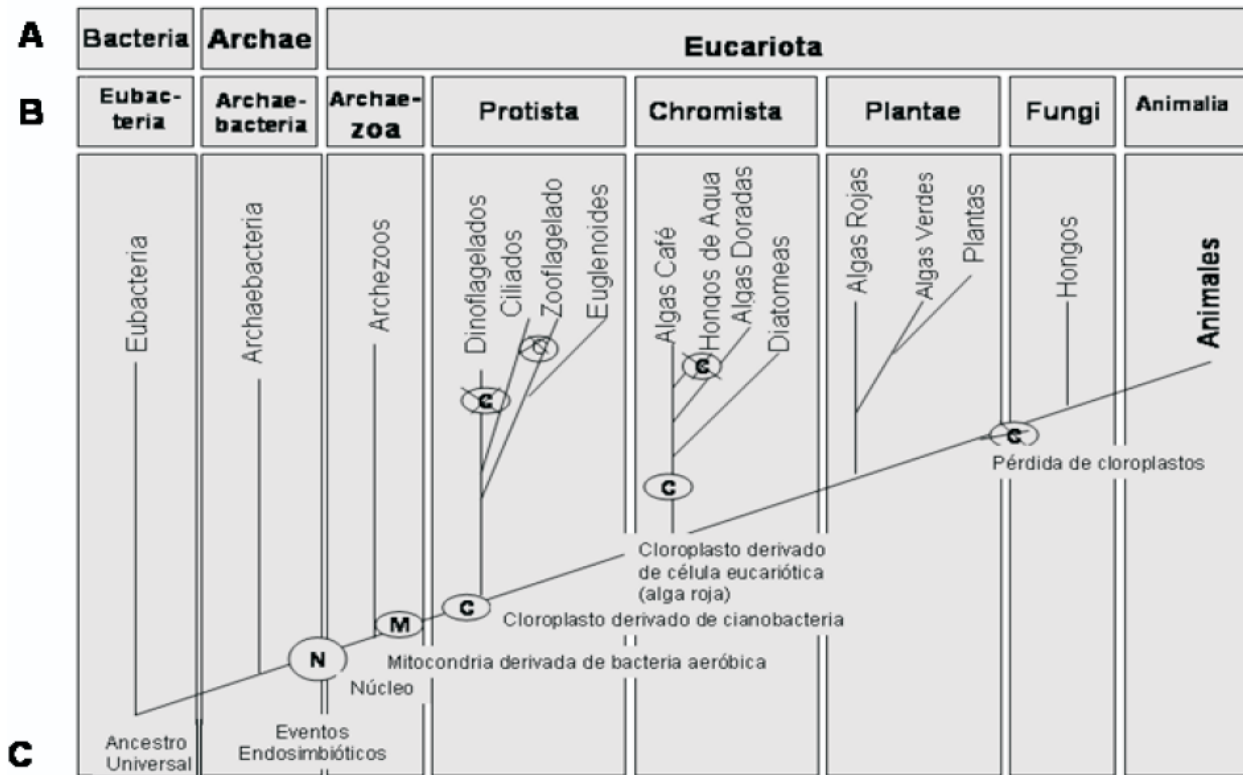


Fig. 1. Clasificación y filogenia de los organismos vivos. A: los tres dominios de vida, B: división de los organismos vivos en dos reinos procariotes y seis reinos eucariotes, C: filogenia que muestra el origen de los mayores grupos de eucariotes. El origen del núcleo, de las mitocondrias y cloroplastos a partir de un proceso

En células vegetales, hay numerosos Aparatos de Golgi en comparación a sólo uno en células animales. Los organismos vegetales poseen características celulares únicas no presentes en otros reinos, como por ejemplo, las células vegetales poseen una matriz extracelular con gran contenido de celulosa. Esta matriz da soporte a la célula, regula su crecimiento y permite darle la forma característica de acuerdo a la diferenciación que tiene la célula al formar parte del tejido donde va a cumplir una función determinada. La matriz extracelular también está presente en organismos del reino fungi, aunque con una composición diferente. Las células de plantas no poseen centros celulares organizadores de microtúbulos, como es el caso de las células del reino animal (animalia), pero posee microtúbulos los que se ensamblan para formar estructuras idénticas.

Las células vegetales poseen además organelos que estando presentes en organismos animales, cumplen funciones muy especiales. Es el caso de los cloroplastos presentes en los tejidos verdes que les permite a la planta transformar la energía luminosa en energía de enlace químico dándole la característica de ser organismo autotrófico. Es el caso también de los peroxisomas y glioxisomas, hoy reconocidos como microcuerpos y que tienen la facultad de transformarse unos en otros de acuerdo a la edad y función que cumple la célula. Sólo en las plantas los peroxisomas tienen la capacidad de fotorespirar. Las mitocondrias de las plantas también son especiales ya que están modificadas y a diferencia de las mitocondrias de otros organismos en ellas reside una actividad respiratoria resistente a cianuro lo que hace que puedan funcionar en presencia de este poderoso inhibidor de la respiración (Fig. 2).

Células procarióticas vs. células eucarióticas

Las células procarióticas poseen una membrana única que rodea a la célula. Cualquier membrana que se encuentre en el interior de la célula son invaginaciones de la membrana plasmática. En las células de plantas y otros reinos eucariotes, las membranas pueden tener diferentes orígenes y los compartimentos interiores no provienen necesariamente por invaginación del plasmalema.

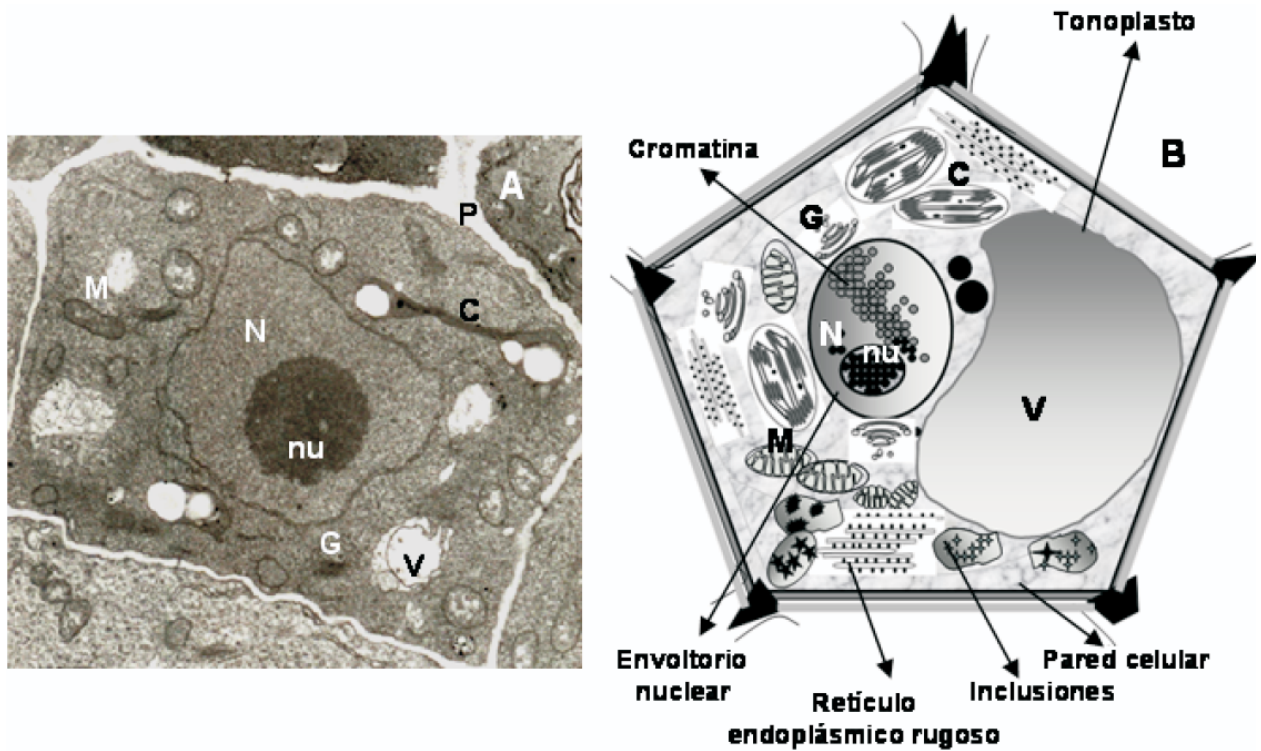


Fig. 2. Estructura de la célula vegetal. A: Microfotografía electrónica de una célula vegetal de meristema de raíz de *Arabidopsis thaliana* (gentileza de Mercado y Meisel) B: Diagrama de una célula vegetal. N, Núcleo; nu, Nucléolo; V, Vacuola; G, Golgi; P, Pared celular; C, cloroplasto; M, mitocondria.

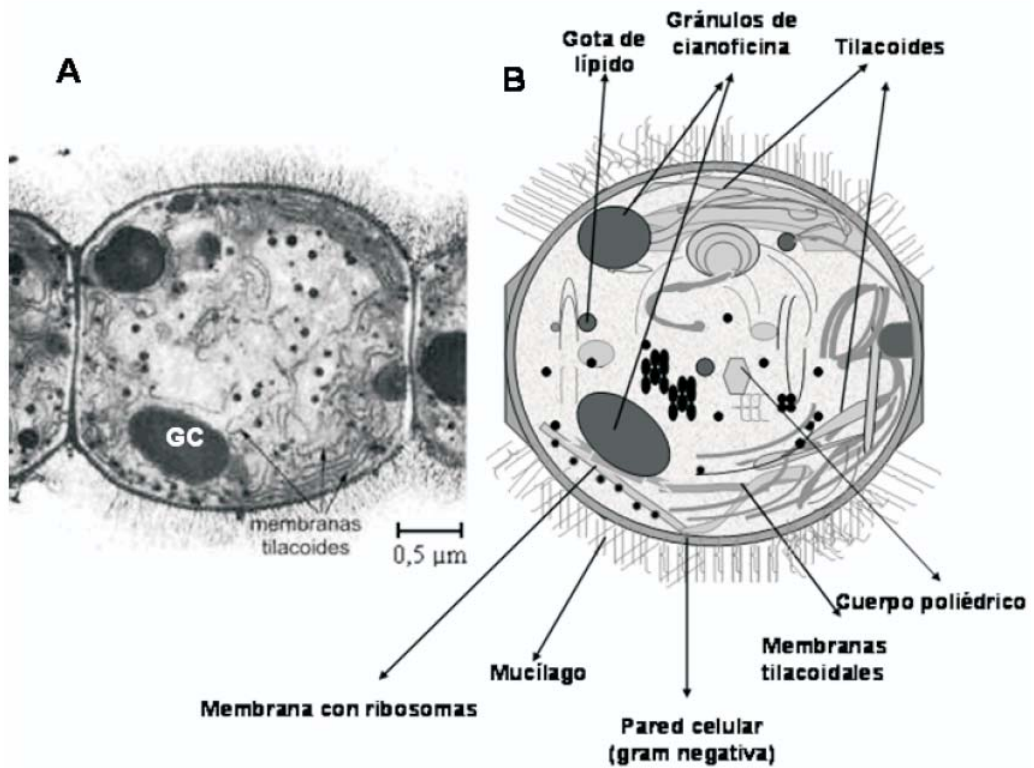


Fig. 3. Estructura de una célula procariótica (cianofícea). A: Microfotografía electrónica de una célula de *Anabaena variabilis* (gentileza Prof. Peter Wolk). GC, gránulo de cianoficina. B: Diagrama de un célula de cianofícea.

Organismos procarióticos que están relacionados a la célula vegetal por tener algunas características comunes a ella son algunas bacterias como las cianobacterias (Fig. 3) y los micoplasmas. De todos ellos, son las cianobacterias las que comparten similitud de su aparato fotosintético con los cloroplastos de las plantas. Cloroplastos y cianobacterias poseen una organización de los fotosistemas casi idéntica siendo la Clorofila *a* un pigmento común y de gran importancia en la transformación de energía luminosa a energía de enlace químico.

En contraste con los organismos procarióticos del Reino Vegetal, las células eucarióticas se caracterizan por poseer compartimientos rodeados de una doble membrana llamada envoltorio, aunque hay también compartimientos rodeados de una membrana simple como es el caso de las vacuolas, peroxisomas, glioxisomas y liposomas.

Membranas Celulares de la Célula Vegetal

Membranas celulares están constituidas de lípidos bipolares y proteínas

Las membranas que rodean a los compartimientos celulares se caracterizan por tener proteínas ya sea adosadas a la superficie lipídica o por estar embebidas en la membrana. Estas últimas se denominan proteínas integrales. Estos dos tipos de proteínas, las adosadas a la superficie de la membrana como las integrales constituyen "el modelo de mosaico fluido de membrana" (Fig. 4).

Hoy se sabe que muchas proteínas que aparecen adosadas a la superficie de la membrana están unidas a la parte polar de un lípido o a un ácido graso del lípido. Estas últimas se unen a la parte apolar de los lípidos de la membrana quedando gran parte de la proteína fuera de la membrana que la hace aparecer como adosada a ella.

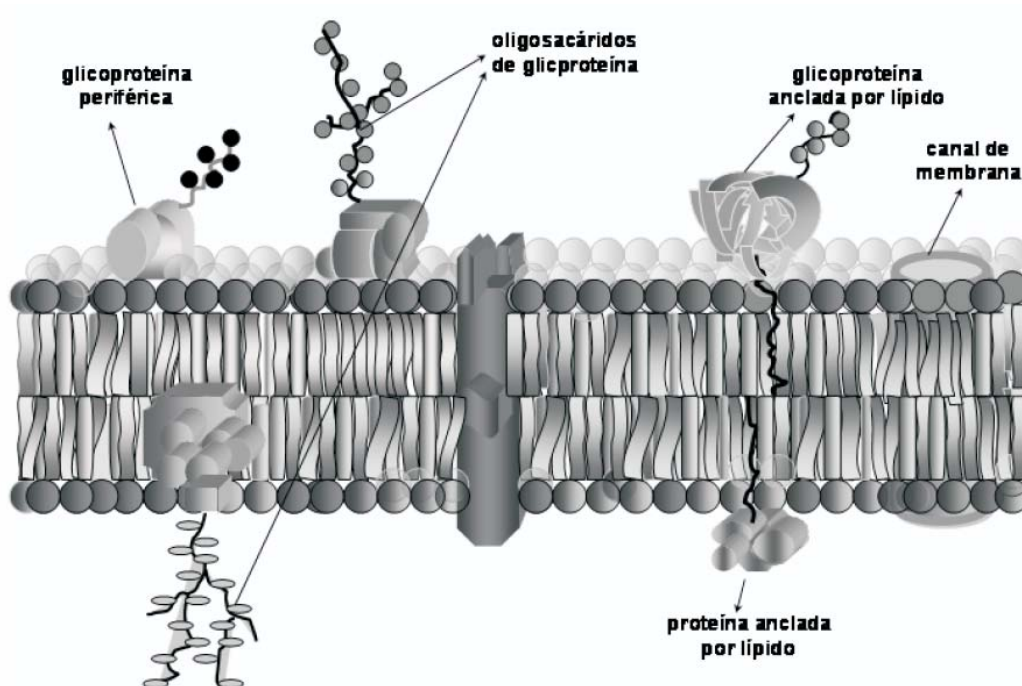


Fig. 4. Modelo de mosaico fluido de membrana. Note los diferentes tipos de proteínas que pueden estar unidos a membranas.

Las proteínas integrales en cambio son proteínas que están embebidas en su mayor parte dentro de la membrana lipídica por poseer dominios hidrofóbicos extensos. Para aislar las proteínas adosadas a la membrana lipídica, deben tratarse los macerados celulares con búferes que tengan fuerza iónica, en cambio las proteínas integrales o las unidas por fuerzas polares a la membrana deben ser extraídas con solventes orgánicos o detergentes.

Las proteínas integrales cumplen funciones de transporte de iones y moléculas permitiendo el paso de ellas a través de las membranas. Proteínas adosadas a la membrana pueden ligar la membrana con otra estructura o moléculas o ligar un determinado organelo al citoesqueleto. Tal es el caso de las proteínas arabinogalactanos que unen la membrana plasmática a la pared celular.

Las proteínas de membrana pueden además actuar como enzimas catalizando diferentes reacciones que son necesarias que ocurran en la membrana misma, por ejemplo catalizar reacciones de óxido reducción liberando electrones que son aceptados por otras proteínas de membranas. Este es el caso de las mitocondrias y de los cloroplastos en cuyas membranas ocurren importantes reacciones de óxidoreducción que en el caso de los cloroplastos conllevan a la síntesis de NADPH (nicotinamida di nucleótido fosfato) y ATP (trifosfato de adenosina) que son las moléculas de intercambio de poder reductor y energético dentro de la célula.

Los lípidos bipolares de membranas están constituidos por fosfolípidos, glicolípidos y esteroides todos ellos moléculas anfipáticas, es decir contienen un extremo polar (hidrofílico) y el otro apolar (hidrofóbico), y por lo tanto en contacto con agua, estos lípidos se ensamblan en un orden estructural complejo (Fig. 5). Los extremos hidrofílicos de los lípidos se unen por fuerzas electrostáticas a las moléculas hidrofílicas del citoplasma o, en el caso de los organelos, se unen a las moléculas del estroma maximizando la interacción de la membrana con las moléculas de agua. Así en el modelo de bicapa, la parte polar forma la interface hacia el agua mientras que los grupos hidrofóbicos están secuestrados al interior.

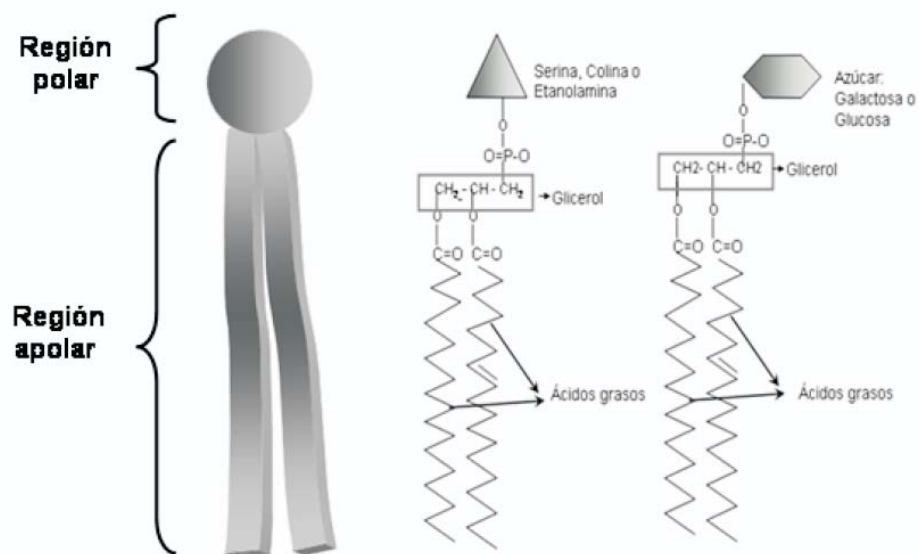


Fig. 5. Estructura de lípidos bipolares de membrana. Diagrama representativo (izquierda) y estructura química (Derecha) de un lípido bipolar de membrana.

Debido a que no existen uniones covalentes en los lípidos que constituyen las membranas, las moléculas se pueden deslizar unas con otras libremente lo que da a la membrana una gran flexibilidad y movilidad. Así las membranas se pueden cerrar sobre si mismas formando compartimentos como también repararse, sellando eficientemente daños de aberturas que ellas sufren (Fig. 6).

Como en el caso de las grasas, las membranas existen en dos estados físicos, en un estado de gel semicristalino y en un estado fluido. Como todo lípido, la membrana puede pasar de gel a fluido cuando sube la temperatura en el medio ambiente. El estado de gel predomina a bajas temperaturas y se aumenta la inmovilidad de la membrana, decreciendo su permeabilidad, en cambio a altas temperaturas la fluidez puede llegar a un grado tal en que la membrana no puede

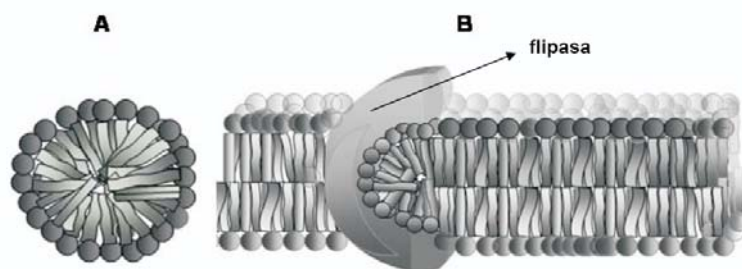


Fig. 6. Movilidad y flexibilidad espacial de los lípidos de membrana. A: Sección transversal de una micela constituida por lípidos de membrana. B: deslizamiento de lípidos por una flipasa permitiendo reparar una membrana.

mantener una estructura adecuada para que actúe como una barrera de permeabilidad. Sin embargo, algunos organismos pueden vivir felices en las heladas aguas de los polos y otros en las calientes aguas de manantiales volcánicos. La mayoría de los organismos poiquilotermos, pueden alterar la composición de la membrana para optimizar la fluidez de ella a las temperaturas fluctuantes del medio ambiente en que viven.

La tabla 1 muestra los componentes lipídicos, enfatizando el grado de saturación de los ácidos grasos, de una membrana a diferentes temperaturas.

Tabla 1. Efectos de la longitud de la cadena del ácido graso y dobles enlaces en la temperatura de fusión (T_m) en algunos fosfolípidos. La nomenclatura usada para las cadenas de ácidos grasos establece que el primer número determina cuantos C hay en la cadena y el segundo número especifica cuantos dobles enlaces están presentes en la cadena. Dos significa que en el lípido hay dos cadenas de ácidos grasos con C14.

Tipos de cadenas	Fosfatidil-colina	Fosfatidil etanolamina	Acido fosfatídico
Dos C14:0	24°C	51°C	
Dos C16:0	42°C	63°C	67°C
Dos C18:0	55°C	82°C	
Dos C18:1	-22°C	15°C	8°C

La Pared celular de la Célula Vegetal

Las Células del Reino Vegetal a diferencia del Reino Animal poseen pared celular.

Todas las células vegetales poseen una pared celular. Sin embargo, existen otros organismos que también poseen pared celular. Es el caso de los hongos y algunos protistas. En cambio las células animales y la mayoría de los protistas carecen de esta estructura.

En las células vegetales las paredes celulares pueden clasificarse en pared primaria y pared secundaria. Esta clasificación depende del grado de diferenciación celular, de su composición química y de la función que tiene la célula. La pared primaria se caracteriza por estar constituida por celulosa de bajo grado de polimerización (i.e., hasta 2.000 unidades de glucosa por cadena de β (1 \rightarrow 4) glucano constituyente de las microfibrillas de celulosa). En contraste, la pared celular secundaria poseen celulosa con alto grado de polimerización (i.e., entre 13.000 y 14.000 moléculas de glucosa).

Las paredes primarias están presentes en las células meristemáticas, en las células embrionarias y en general en las células en crecimiento que aún no han entrado en un proceso de diferenciación. Por lo mismo, la pared primaria ocurre en células donde la forma y función celular aún no está bien

definida. Las paredes secundarias comienzan a depositarse sobre la pared primaria durante la diferenciación celular (Fig. 7).

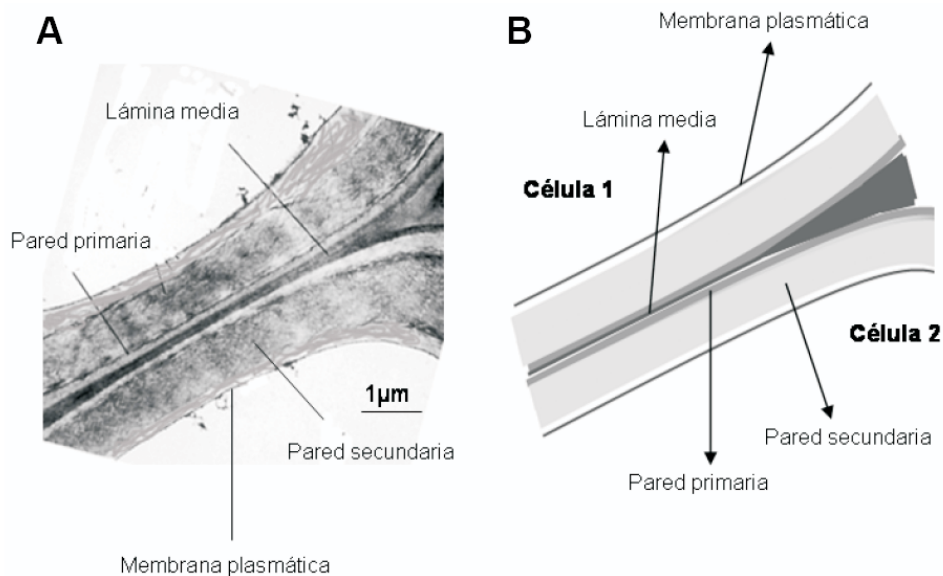


Fig. 7. Estructura de la pared celular. A: Microfotografía electrónica de pared celular de células de cotiledones de *Araucaria araucana* (gentileza de Cardemil y Lozada). B: Diagrama de pared celular mostrando lámina media y pared primaria y secundaria.

En el caso de los vasos xilemáticos, la diferenciación celular se correlaciona con un depósito de lignina muy ordenado y mediado por los microtúbulos en la pared. Los microtúbulos disponen en zonas muy definidas y orientan el depósito de lignina sobre la pared celular primaria. Esto determina que el vaso se diferencie con una pared celular secundaria con anillos, espirales o retículos de lignina alternados con regiones de pared primaria (Fig. 8).

En el caso de las células guardianas de los estomas, la diferenciación celular se correlaciona con un depósito de cadenas largas de celulosa, que cristaliza sobre la pared celular primaria. De manera que las paredes celulares se refuerzan con este depósito de celulosa. Las fibras de esta celulosa cristalina se depositan radialmente y perpendicularmente al depósito de celulosa de la pared primaria. Todos los depósitos de celulosa son mediados por microtúbulos que se orientan en esa dirección perpendicular antes del depósito de celulosa en esas áreas (Fig. 8).

Además de lignina y de celulosa cristalina, las paredes primarias y secundarias poseen hemicelulosas, pectinas y proteínas estructurales. Sin embargo, las paredes primarias se distinguen de las paredes secundarias por poseer hemicelulosas diferentes. En las paredes primarias las hemicelulosas son xiloglucanos que se encuentran en las plantas dicotiledóneas o variaciones de glucanos. En las monocotiledóneas en cambio predominan los arabinoxilanos o variaciones de xilanos. Tanto en la columna vertebral de los glucanos y de los xilanos, los monómeros están enlazados por enlaces β (1 \rightarrow 4). La Figura 9 muestra la estructura de diferentes moléculas de hemicelulosas de plantas dicotiledóneas y monocotiledóneas. A su vez, las hemicelulosas forman uniones entrecruzadas de puentes de hidrógeno con las unidades de glucosas de los glucanos de la microfibrillas de celulosa (Fig. 10).

En paredes secundarias las hemicelulosas pueden también ser mananos en que la manosa es el azúcar enlazado por enlaces β (1 \rightarrow 4) y que forman uniones entrecruzadas de puentes de hidrógeno con las glucosas de los glucanos de la celulosa. Estos mananos pueden tener una cadena principal constituida por manosa y glucosa, formando glucomanano, y pueden tener ramas constituidas por residuos de galactosa formando los galactomananos. Muchos de estos mananos

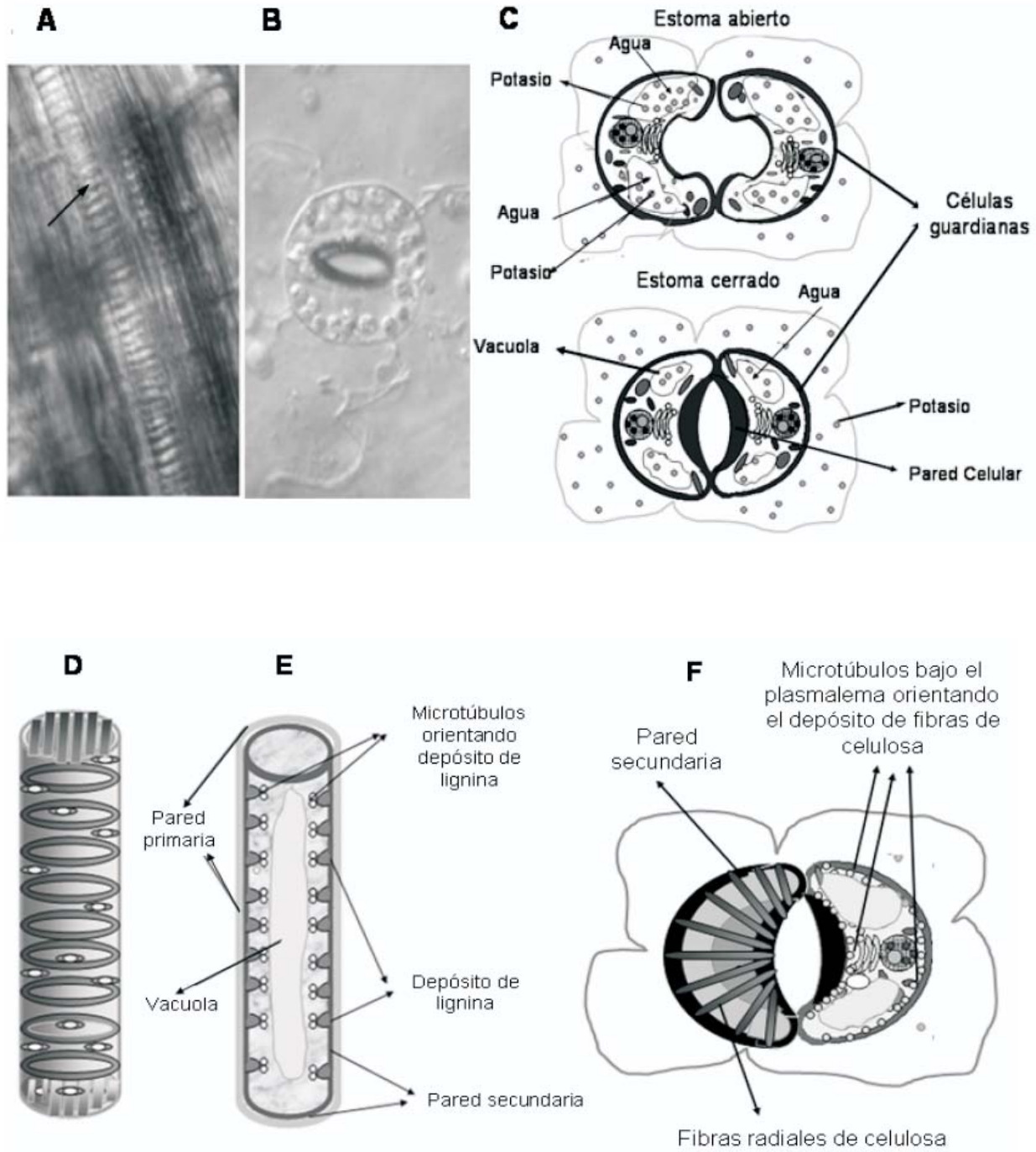


Fig. 8. Formación de pared secundaria en vasos xilemáticos y estomas. A: Microfotografía de un vaso xilemático de *Arabidopsis thaliana* (gentileza de Morales y Meisel). Flecha apunta a un anillo del vaso.. B: Microfotografía de un estoma abierto (gentileza de Morales y Meisel). C: Diagrama de la estructura de células estomáticas cuando el poro estomático de está abierto o cerrado. D: Diagrama de la estructura de un vaso xilemático mostrando anillos de lignina de la pared secundaria y pared celular de placa perforada en el extremo superior e inferior. E: Diagrama de la estructura de un vaso xilemático en desarrollo mostrando los depósitos de lignina en la pared secundaria mediados por microtúbulos. F: Diagrama de células estomáticas mostrando las fibras radiales de celulosa y su depósito mediado por microtúbulos en la pared secundaria de estas células.

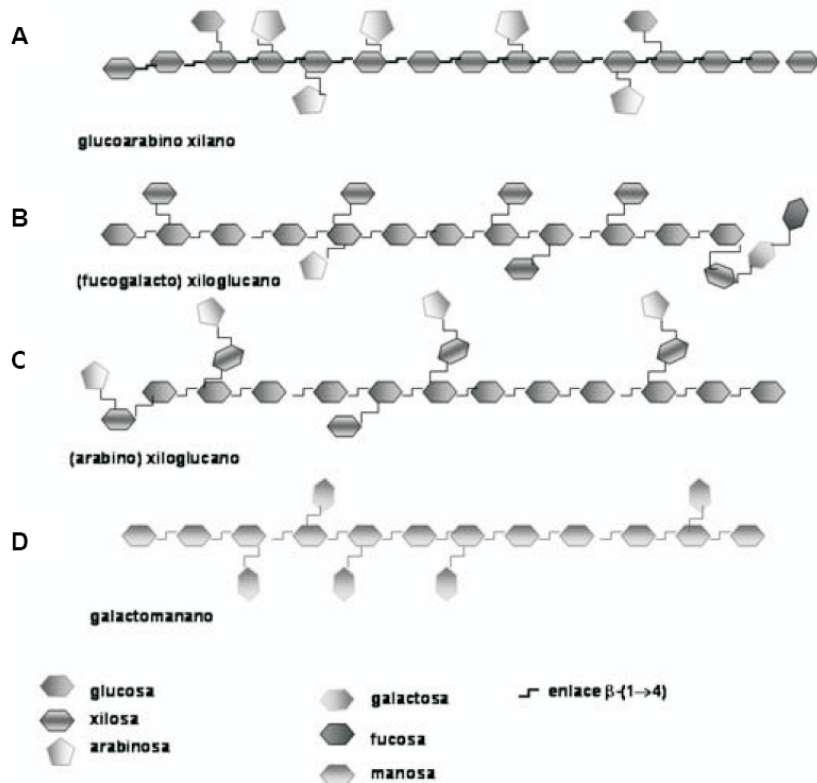


Fig. 9. Estructura química de diferentes moléculas de hemicelulosas. A: Glucoarabinoxilanos presentes en dicotiledóneas. B: (fucogalacto)xiloglucano, común de plantas dicotiledóneas. En muchos de los xiloglucanos la xilosa se agrega a un oligosacárido de tres moléculas de glucosa de la columna vertebral del polímero para formar un heptasacárido. C: (arabino)xiloglucano típico de las plantas solanáceas. D: Galactomananos presentes en paredes secundarias de cotiledones de semillas de leguminosas.

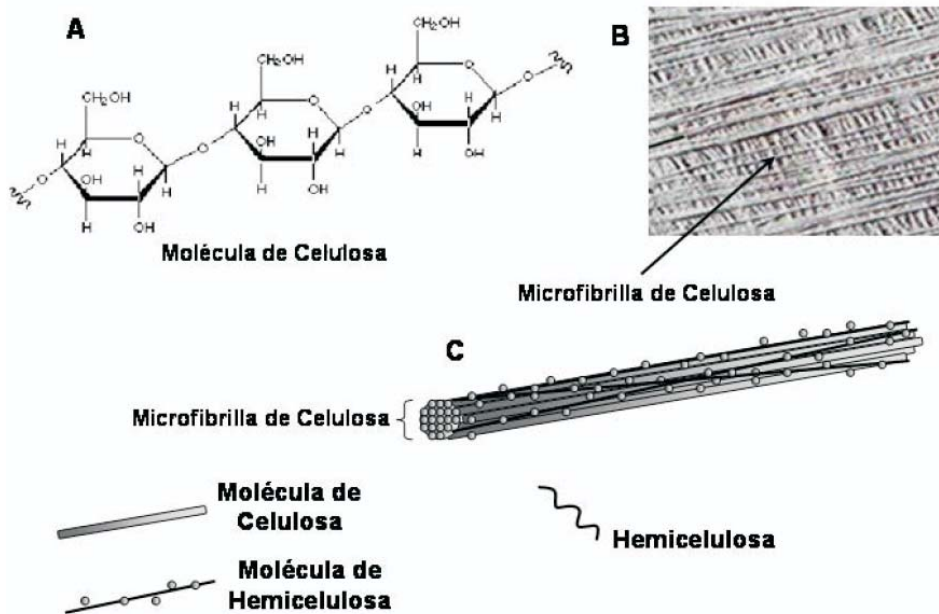


Fig. 10. Complejo de celulosa y hemicelulosa. A: Estructura química de la celulosa. Es un β -(1 \rightarrow 4) glucano unido por enlaces puente de hidrógeno con la columna vertebral de las hemicelulosas que también es un glicano β -(1 \rightarrow 4). B: Réplica de criofractura de microfibrillas de celulosa en pared celular secundaria del alga *Oocystis* (gentileza de David Montezinos). Note que en esta pared secundaria los depósitos de celulosa son alternativamente uno perpendicular al otro formando una malla. C: Diagrama de una microfibrilla de celulosa rodeada de moléculas de hemicelulosa.

constituyen reservas nutritivas como es el caso de glucomananos y galactomananos que se encuentran en las paredes celulares de células del endospermo de semillas (Fig. 9). Estos polisacáridos constituyendo la pared celular de células del endosperma son reserva en semillas leguminosas. Ellos son digeridos por enzimas hidrolíticas y sus residuos de manosa y glucosa o galactosa son azúcares usadas en el crecimiento del embrión y plántula durante el proceso de germinación de la semilla. En plantas suculentas los mananos pueden estar acetilados en sus residuos de manosa formando los acetomananos que se caracterizan fisicoquímicamente como un gel. Los acetomananos tienen la propiedad de retener agua cumpliendo el rol fisiológico de almacenamiento de agua en estas plantas.

Además de celulosa y hemicelulosas las paredes primarias poseen pectinas que se caracterizan por tener una porción formada por polisacáridos ácidos y una porción formada por polisacáridos neutros. La porción neutra está constituida por arabinogalactanos aunque pueden ser también galactanos y arabinanos. Estas cadenas neutras están covalentemente unidas a polisacáridos ácidos constituidos por ácido galacturónico y ramnosa denominados también ramnogalacturonanos. En estos polisacáridos los residuos de ácido galacturónico se enlazan por enlaces α -(1 \rightarrow 4) y las ramnosas por enlaces α -(1 \rightarrow 2). Los ramnogalacturonanos pueden también tener residuos de apiosa, fucosa, xilosa y galactosa (Figs. 11 y 12).

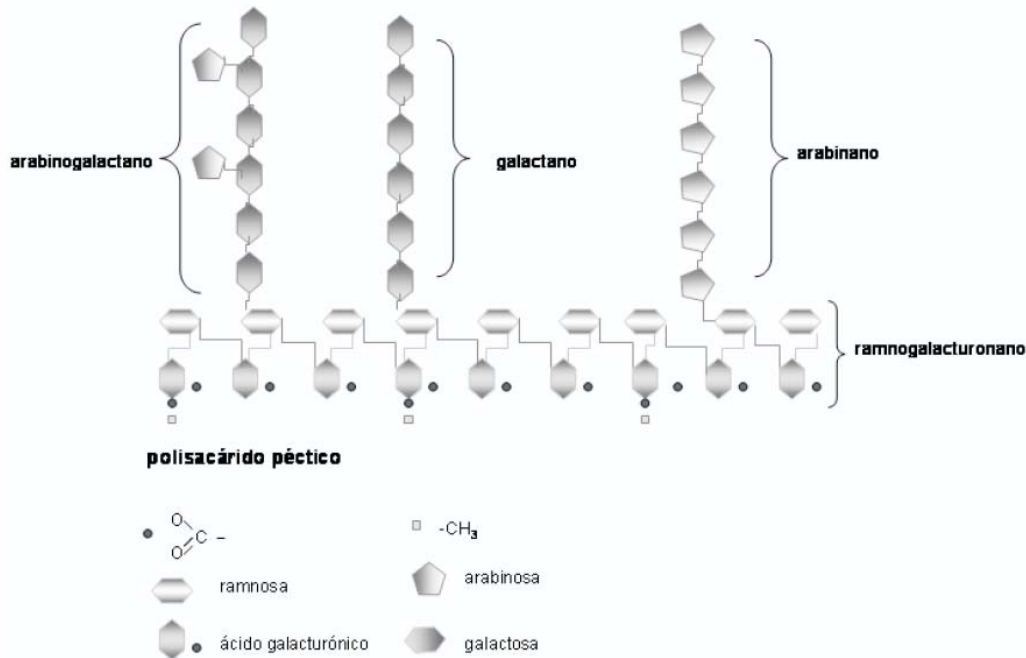


Fig. 11. Estructura química de una molécula de pectina. El diagrama muestra la estructura del ramnogalacturonano I. Note que la columna vertebral del polisacárido está constituido por una secuencia alternada de ácido galacturónico y ramnosa. La ramnosa a su vez está unida a cadenas de arabinanos, y/o galactanos y/o arabinogalactanos.

Las pectinas forman una gran malla de polisacáridos que se proyectan desde la pared a los espacios intercelulares, actuando como sustancias cementantes entre célula y célula constituyendo la llamada lámina media (Fig. 7). Se caracterizan por retener agua y gelificar por calor. Las pectinas además unen calcio lo que le da a la pared celular la propiedad de ser un reservorio de calcio (Fig. 13). Por lo tanto, las pectinas pueden extraerse de la pared celular quelando al calcio con EDTA o EGTA. Según el pH de la pared celular las pectinas pueden unir más o menos calcio. A pH neutro las pectinas están como pectatos de calcio. A pH ácido las pectinas estarían formando más bien ácidos pécticos. Se ha atribuido a que la auxina (ácido indolacético), hormona que tiene el rol de inducir la elongación celular y por lo tanto de la pared celular, activaría bombas de protones desde la

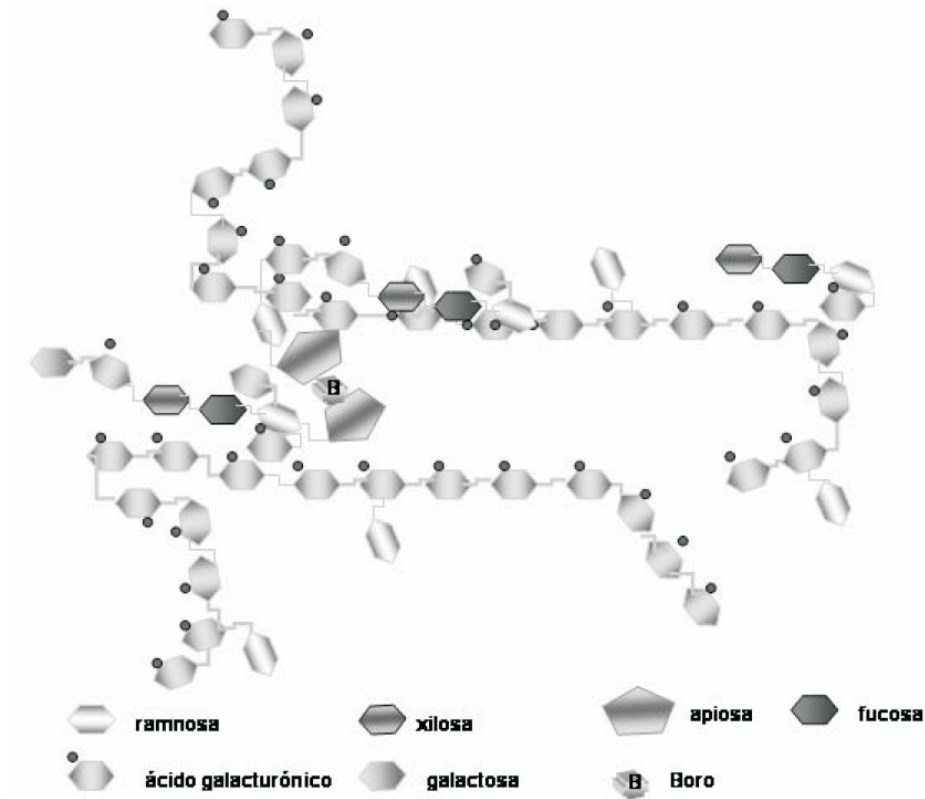


Fig. 12. Estructura del ramnogalacturonano II Posee una columna vertebral de ácido galacturónico y ramas de ramnosa. Además posee otros azúcares como apiosa, fucosa, etc. Los residuos de apiosa unen boro y esto contribuye también a la porosidad de la pared. Debido a la alta conservación de su estructura en las angiospermas, se supone que cumple un rol fisiológico importante.

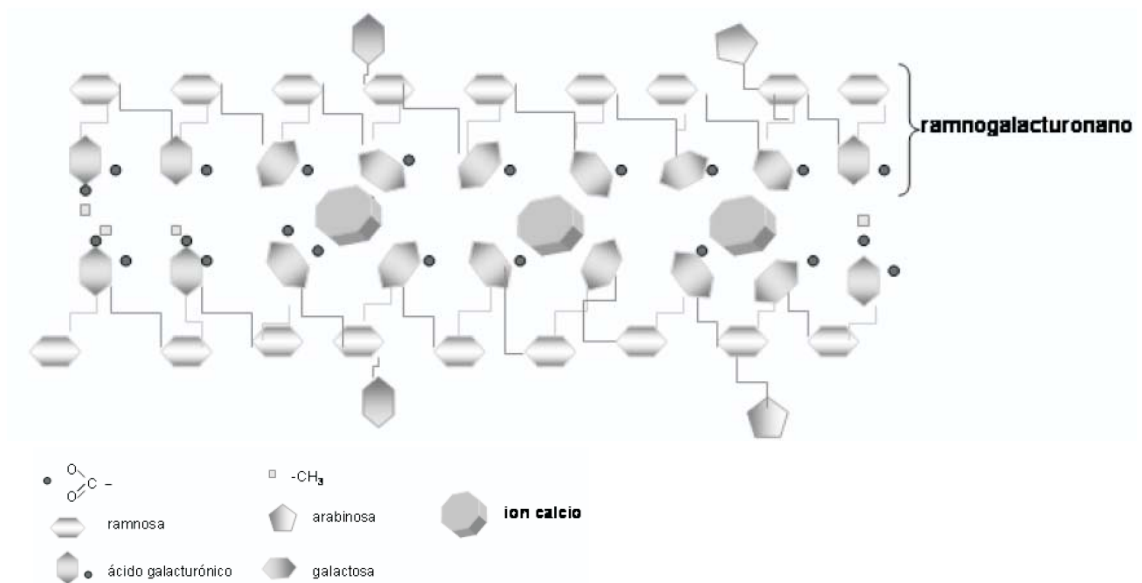


Fig. 13. Interacción de pectina con calcio. La pectina une calcio para formar los pectatos de calcio. La pérdida de uniones ésteres de la pectina origina secuencias continuas de iones carboxilatos que unen calcio si el pH de la pared es neutro o casi neutro. Uno puede pensar entonces que la pectina en estas condiciones hace la estructura de la pared más rígida además de servir como un reservorio de calcio para la célula. Note que la unión de los carboxilatos con el calcio forma la estructura de caja de huevos.

membrana plasmática hacia la pared acidificando la pared celular. Por lo tanto, la auxina mediaría la elongación celular acidificando la pared primaria de las células en crecimiento y contribuyendo a que las pectinas estuvieran como ácidos pécticos y no como pectatos de calcio y posiblemente contribuyendo a que las paredes celulares tengan mayor plasticidad.

Los ramnogalacturonanos se pueden clasificar en ramnogalacturonano I y II. El ramnogalacturonano I se caracteriza por tener una columna vertebral constituida por residuos alternados de ácido galacturónico y ramnosa o sea por el disacárido: α -(1→2) L ramnosa α -(1→4) D ácido galacturónico (Fig. 11). Este ramnogalacturonano posee además arabinogalactanos, arabinanos y/o galactanos unidos por enlaces covalentes a los residuos de ramnosa de la columna vertebral ramnogalacturónica. La molécula posee forma de bastón. Este polisacárido puede extraerse con la pectinasa, enzima que hidroliza los enlaces α -(1→4) entre ácidos galacturónicos.

Entre las funciones más importantes de las pectinas están: el regular la adhesión celular, la porosidad celular y proporcionar una superficie cargada para adhesión de moléculas en la pared celular, además regular el pH de la pared.

Las pectinas son responsables de la porosidad de la pared celular y lo hace cuando la molécula está principalmente como ácido péctico permitiendo el flujo libre de moléculas dentro de la pared celular. Las moléculas de arabinogalactanos unidos covalentemente a la ramnosa del ramnogalacturonano I también son responsables de esta porosidad de la pared. La longitud de las cadenas de arabinanos, galactanos y/o arabinogalactanos que se extienden dentro de los poros de pectina contribuyen enormemente a esta porosidad y lo mismo cuando los residuos de ácido galacturónico tienen esterificación metílica que permite mantener abiertas la cadenas de ramnogalacturonanos. La Figura 14 muestra como las pectinas puede contribuir a la formación de los poros de la pared celular.

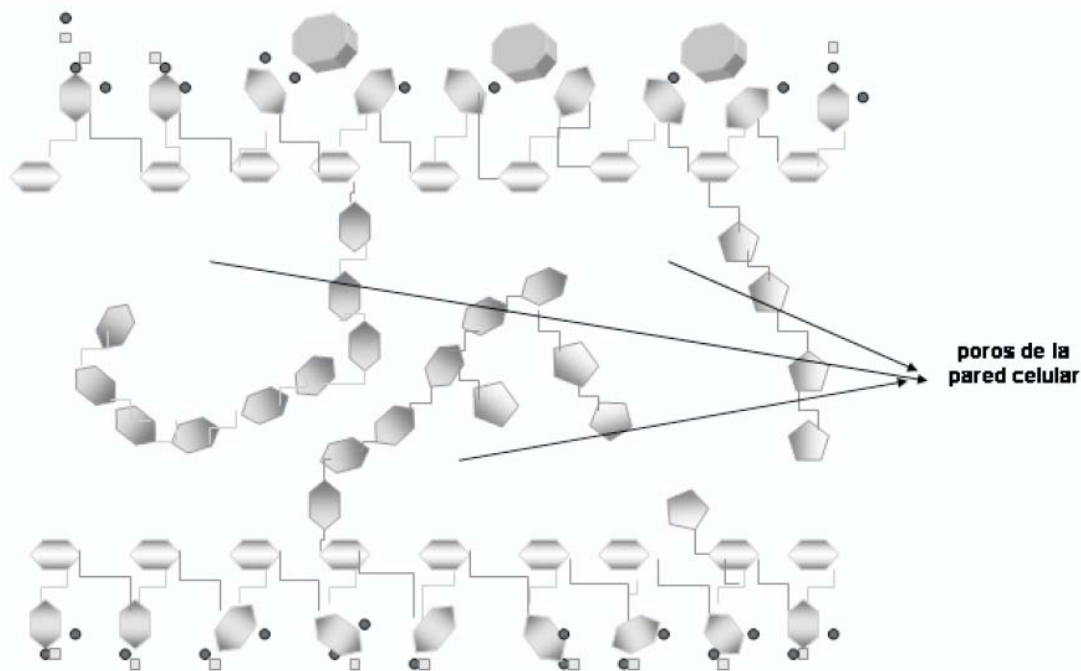


Fig. 14. Poros formados por la matriz de pectina. La matriz de pectina forma poros de la pared celular que permiten el libre flujo y difusión de moléculas a través de estos poros. Los poros se forman por los polímeros neutros unidos a las pectinas (arabinanos, galactanos, arabinogalactanos) y el grado de esterificación metílica de la molécula. La esterificación con boro de los residuos de apiosa del ramnogalacturonano II también influye el tamaño del poro.

El ramnogalacturonano II tiene en cambio una columna vertebral sólo de ácido galacturónico. Es el más complejo de los polímeros de las paredes celulares ya que unido a los residuos de ácido galacturónico está una gran diversidad de azúcares como ramnosa, apiosa, metil fucosa, metil xilosa, ácido acérico que es un derivado de xilosa, ácido manooctulosónico y ácido heptulosárico. Este polisacárido es muy conservado en las angiospermas. A pesar de la baja concentración en que se encuentra en las paredes celulares. Por esta conservación estructural, se supone que cumple un rol estructural de gran importancia. Es importante señalar que dos moléculas de ramnogalacturonano II pueden formar dímeros uniendo Boro a través de los residuos de apiosa de la molécula (Fig. 12).

Todos los polisacáridos de pared son sintetizados en el Aparato de Golgi de la célula vegetal, excepto celulosa y callosa

El Aparato de Golgi juega un papel fundamental en la síntesis de pectinas y hemicelulosa. Las glicosiltransferasas son enzimas que colocalizan con el Golgi. Estas enzimas utilizan azúcares nucleótidos como sustrato y agregan el azúcar al extremo en crecimiento de la molécula de polisacárido. Los polímeros que contienen glucosa como es el caso de los xiloglucanos se sintetizan a partir de UDP-glucosa o de GDP-glucosa. Mananos se sintetizan en cambio a partir de GDP-manosa. En el Golgi hay epimerasas y deshidratasas que pueden realizar la interconversión de un nucleótido de azúcar en otro. Enzimas localizadas en el lado citosólico o humeral del Golgi son las que van agregando unidades de azúcares a la cadena que es columna vertebral del polisacárido, En cambio las azúcares que constituyen las ramas de la molécula son agregadas sólo por enzimas localizadas en el lado humeral del organelo. Para más detalles ver la sección Golgi de este capítulo.

Celulosa y callosa son polímeros que se hacen por enzimas ubicadas en la membrana plasmática

Los polímeros de celulosa y callosa son sintetizados y ensamblados por complejos enzimáticos ubicados en la membrana plasmática (Handford 2006). El descubrimiento y clonamiento de los genes que codifican para la celulosa sintetasa fueron realizados después de buscar las secuencias homólogas de los genes que codifican para idénticas enzimas en *Acetobacter xilinum* y *Agrobacterium tumefaciens* en una genoteca de la fibra de algodón. Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Deborah Delmer (Doblin y col., 2002). Estas son bacterias que sintetizan celulosa la cual es excretada al exterior y no puesta en una pared celular como es el caso de las plantas. La genoteca de cADN fue hecha por estos investigadores en el comienzo del depósito de celulosa de la pared secundaria que es un momento en que hay una alta expresión de estos genes. Los genes de celulosa sintetasa (*CesA*) codifican para péptidos de 110 kDa y tienen 8 dominios transmembrana y dos dominios que son únicos para plantas. Evidencias de que estos son los genes que codifican para la celulosa sintetasa se ha obtenido a partir de mutantes condicionales de *Arabidopsis thaliana* que son incapaces de sintetizar celulosa a altas temperaturas. Transformación de estas mutantes sensibles a temperatura para la síntesis de celulosa con el gen *CesA* se restablece el fenotipo de la planta normal. Una prueba más directa no ha podido obtenerse porque la síntesis de celulosa no puede hacerse *in vitro*.

La identificación de los genes *CesA* ha mostrado que hay muchas copias de estos genes en el genoma de las plantas. Así en *Arabidopsis thaliana* hay varios homólogos de *CesA* de algodón y muchas otras secuencias tienen una gran identidad con los dominios de *CesA* que unen a la UDP-glucosa. Esto ha permitido la identificación de muchos genes, y la hipótesis es que ellos codifican para enzimas que sintetizan otros polisacáridos como los mananos, galactanos, glucomananos, etc., siendo todas ellas enzimas para síntesis de polisacáridos con enlaces β (1 \rightarrow 4) que unen a azúcares piranósicas y que invierten la orientación de una azúcar con respecto a la siguiente. Todo esto ha ayudado a especular que una celulosa sintetasa ancestral originó a estas otras enzimas cambiando además su lugar de membrana plasmática a Golgi o vice versa.

Celulosa y callosa son los únicos polímeros sintetizados por multi-complejos enzimáticos ubicados

en la membrana plasmática y visibles por réplicas de criofractura de esta membrana. En la membrana plasmática estos complejos se ven al final de la microfibrilla de celulosa en crecimiento. El complejo usa a la UDP-glucosa como sustrato y requiere de una constante suministro de este nucleótido. Por esta razón, la síntesis de celulosa requiere de la presencia de sacarosa sintetasa, enzima que entrega UDP-glucosa a partir de sacarosa. La enzima sacarosa sintetasa también se ubica en la membrana plasmática. En algunas algas estos complejos se estructuran en arreglos lineares como es el caso de *Oocystis* mientras que en *Micrasterias* y en Angiospermas forman rosetas (Fig. 15). En el caso de *Micrasterias* las rosetas forman largos arreglos hexagonales ya que la pared de celulosa forma cintas de celulosa que se depositan sucesivamente en forma perpendicular respecto al depósito anterior similar a los que ocurre con *Oocystis* (Brown y Montezinos 1975) (Fig. 15).

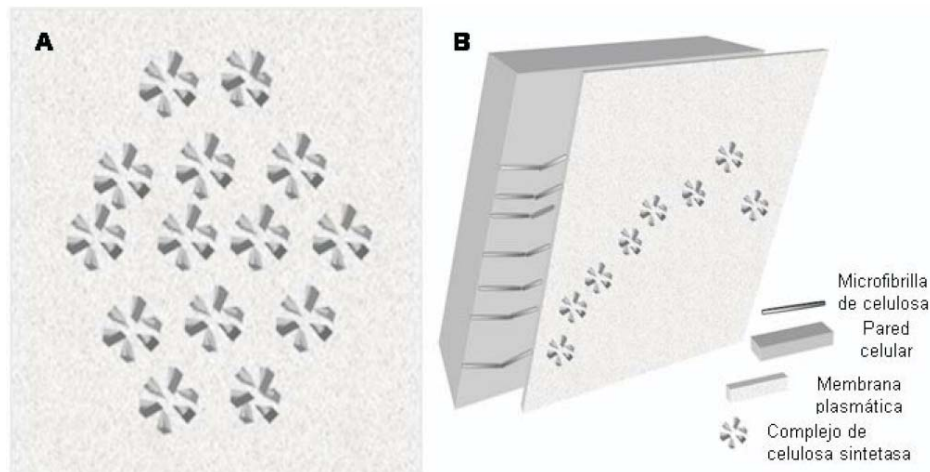


Fig. 15. Diagrama de síntesis de celulosa. A: en désmidos (clorófitas unicelulares). En el caso de los désmidos las rosetas de celulosa sintetasa forma arreglos hexagonales en la membrana plasmática. B: en angiospermas. En las angiospermas las rosetas de celulosa sintetasa están dispersas en la membrana plasmática y la microfibrillas de celulosa se depositan en la pared primaria o secundaria orientadas por los microtúbulos.

Crecimiento y Pared Celular: La célula vegetal puede crecer con su pared puesta

Una de los problemas más intrigantes en Fisiología Celular Vegetal ha sido determinar como las células que crecen ya sea elongándose en aquellas zonas que se alejan de los meristemas o crecen aumentando su diámetro en aquellos tejidos que se diferencian en tejido parenquimático, pueden hacerlo tan eficientemente sin que la pared celular se rompa, o desaparezca, o se adelgace o estire como ocurre con un elástico.

Estudios fisiológicos de mitad del siglo recién pasado usando monitores con los que se puede registrar la elongación celular, demostraron que este crecimiento es dependiente de ácido indolacético (IAA), que es muy rápido, ya que trozos de coleóptilos de avena de 8 mm se elongan en 10 min después que se agrega al medio de incubación IAA (Fig. 16). Además se determinó que este crecimiento era independiente de síntesis de proteínas y de síntesis de mRNA. Todo esto llevó a los fisiólogos a concluir que este crecimiento se induce por la acción del IAA en una célula que ya está preparada para crecer y que lo único que parece hacer la hormona al llegar a la célula, es inducir la entrada de agua en la vacuola celular y la elongación de la pared celular (Fig. 16). Se ha especulado que la elongación de la pared ocurriría con la entrada de polímeros que están ya sintetizados en el espacio periplásmico (espacio entre membrana plasmática y pared celular). De manera que la presión de turgor producida por la entrada de agua es la fuerza que permitiría que la pared celular ceda e incorpore nuevo material en ella produciéndose una elongación de la pared celular. Esto ocurriría sólo si la estructura de la pared celular es plástica, es decir, sus moléculas

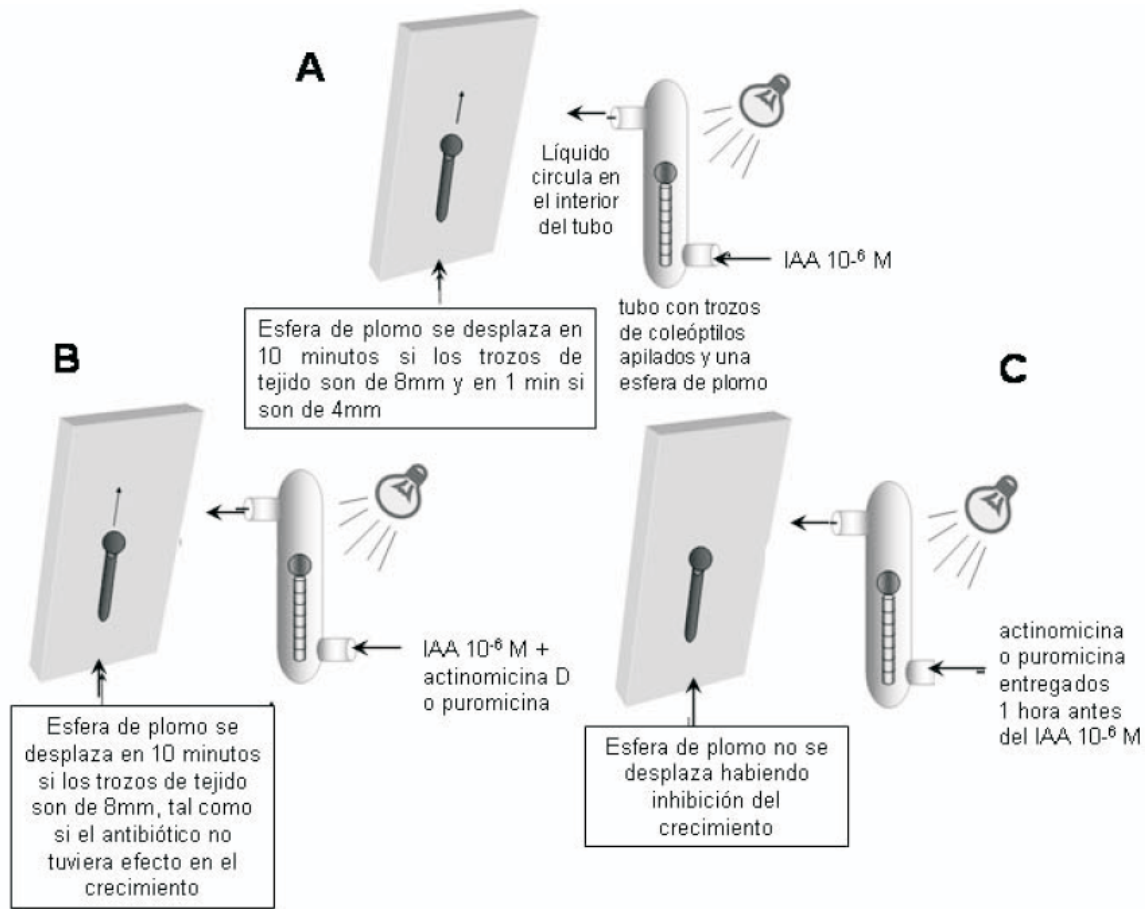


Fig. 16. Experimento de crecimiento inducido por la hormona auxina (IAA). El diagrama representa un monitor usado para medir la velocidad de crecimiento inducido por IAA en trozos de coleóptilos de avena puestos en el interior de un tubo iluminado donde la solución que contiene a la hormona puede circular. El recuadro señala el resultado del experimento. A: experimento de velocidad de crecimiento cuando se utiliza una concentración de IAA de 10^{-6} M de la hormona y trozos de coleóptilos de 8 o 4 mm. B: Es el mismo experimento de A en presencia de antibióticos que inhibe la síntesis de mRNA o inhibe la síntesis de proteínas. Los antibióticos son suministrados al mismo tiempo que se agrega al tubo IAA. C: Experimento similar al de B, excepto que los antibióticos son suministrados una hora antes que el IAA.

pueden moverse dentro de la matriz permitiendo la entrada de nuevas moléculas.

Estudios de microscopía han revelado que bajo la membrana plasmática en células en crecimiento subyacen hileras de microtúbulos que orientan el depósito de microfibrillas de celulosa. Estas microfibrillas de celulosa deben ser sintetizadas y ensambladas por la celulosa sintetasa, complejo enzimático que se debe alinear con los microtúbulos subyacentes (Fig. 15). Ellas son depositadas en la cara interna de la pared bajo la cual subyace la membrana plasmática. Las microfibrillas están orientadas en 90° respecto al eje longitudinal de la pared y, por lo tanto, uno puede imaginar que son empujadas separándose unas de otras por la fuerza de turgor causado por la entrada de agua en la célula. La separación de las microfibrillas de celulosa dejaría espacio para la entrada de nuevas microfibrillas de celulosa en la pared. Posteriormente, las microfibrillas se moverían al interior de la pared donde pueden adquirir una disposición más al azar (Fig. 17). En las células que crecen en las puntas, como es el caso de los tubos polínicos, los pelos radicales y la fibra de algodón, vesículas de secreción viajan del Golgi al extremo de la célula. Allí se depositan los polisacáridos estructurales que constituyen la pared como también las fibras de celulosa. Este flujo de vesículas se mueve a este extremo gracias a filamentos de actina.

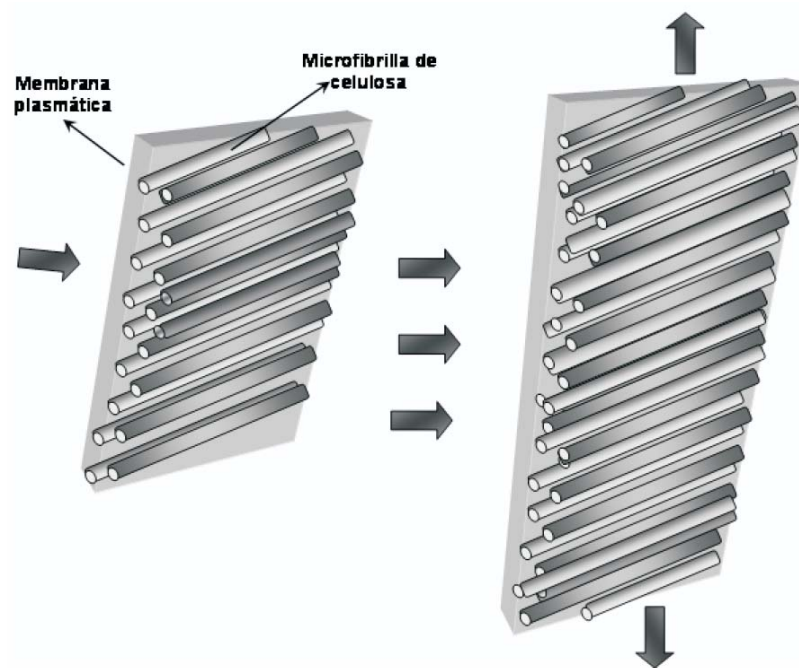


Fig. 17. Diagrama que representa la orientación del depósito de celulosa durante la elongación celular. La expansión de la pared primaria y depósito de microfibrillas de celulosa son integrados en esta elongación, de manera que el grosor de la pared celular es mantenido durante el crecimiento. Si la pared se expandiera sin nuevo depósito de material, resultaría en paredes que se adelgazarían y luego se romperían. Al revés, paredes en que se depositara continuamente celulosa sin expandirse, produciría paredes cada vez más gruesas. La flechas verticales señalan la dirección de la expansión. Las flechas horizontales señalan la adición de nuevas microfibrillas de celulosa.

Hipótesis del crecimiento-ácido de la célula vegetal

En 1977 Cleland por simple casualidad realizando experimentos con monitores descritos en la Figura 16, probó ácido acético a un pH 4.0 en vez de ácido indolacético a pH 6.8. Cleland encontró que los trozos de coleóptilos tenían la misma velocidad de crecimiento con el ácido acético que con la hormona. Se logró formular entonces "la hipótesis del crecimiento ácido de la célula vegetal" proponiendo que el IAA al llegar a la célula induciría una bomba de protones en la membrana plasmática que acidificando la pared celular causaría la elongación celular. Por lo tanto, un pH de entre 4.0-5.0 dado por una concentración baja de ácido acético podía inducir elongación del tejido sin la presencia de IAA (Fig. 18A), (Cleland 1973). Cleland además probó inhibidores de la bomba de protones como el cloruro de carbonil-cianuro-parafenil hidrazona (CCCP), veneno que neutralizaba el pH de la pared y detenía el crecimiento (Fig. 18B). La "hipótesis del crecimiento-ácido" supone también que el pH ácido inducido por IAA activaría a enzimas de la pared celular que hidrolizarían enlaces de polímeros que entrecruzarían a los componentes de la pared como es el caso de los arabinogalactanos, galactanos o arabinanos y otros, causando una mayor movilidad de los polímeros dentro de la pared (Fig. 19). Esta hipótesis es válida hasta hoy día, sin embargo, hay 3 puntos que la hipótesis no ha podido responder:

- No se ha podido encontrar una hidrolasa que exclusivamente hidrolice a glicanos que entrecruzan a los polímeros de la pared celular en condiciones de pH menor de 5.0.
- No se han encontrado hidrolasas que extraídas de pared celular produzcan crecimiento *in vitro* cualquiera que sea el pH.
- No existe una explicación razonable de cómo el crecimiento es mantenido una vez que las hidrolasas son activadas.

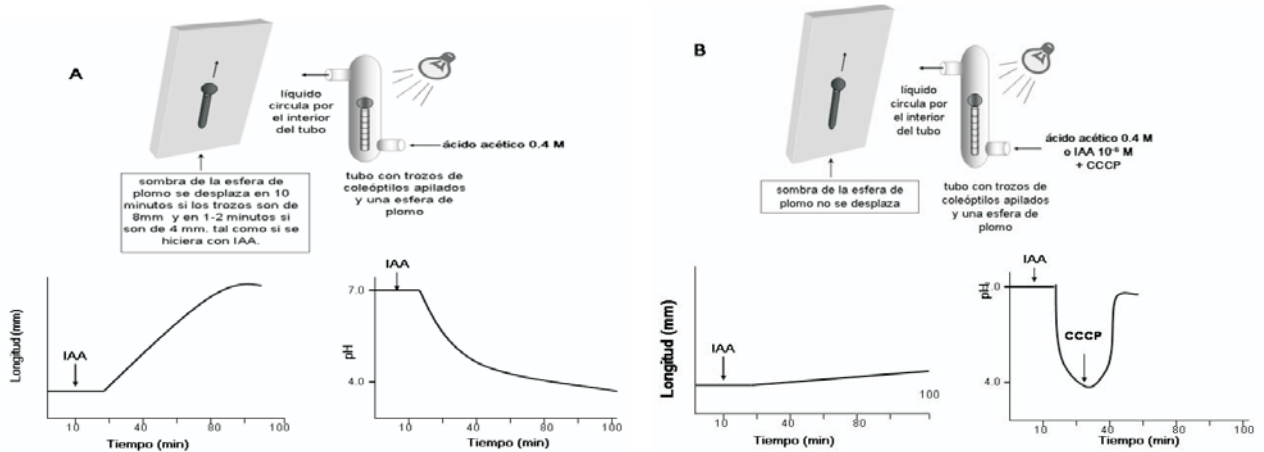


Fig. 18. Experimentos que sustentan a la "Hipótesis del Crecimiento Ácido de la Célula Vegetal". A: Experimento de Cleland usando ácido acético en vez de IAA. La cinética de crecimiento de los trozos de coleóptilos a un pH ácido de 4.0 de la pared celular es la misma que con IAA 10^{-4} M. B: Experimento de en que usó el inhibidor de bombas de protones CCCP. En este caso no hubo crecimiento y el pH ácido vuelve a pH 7.0.

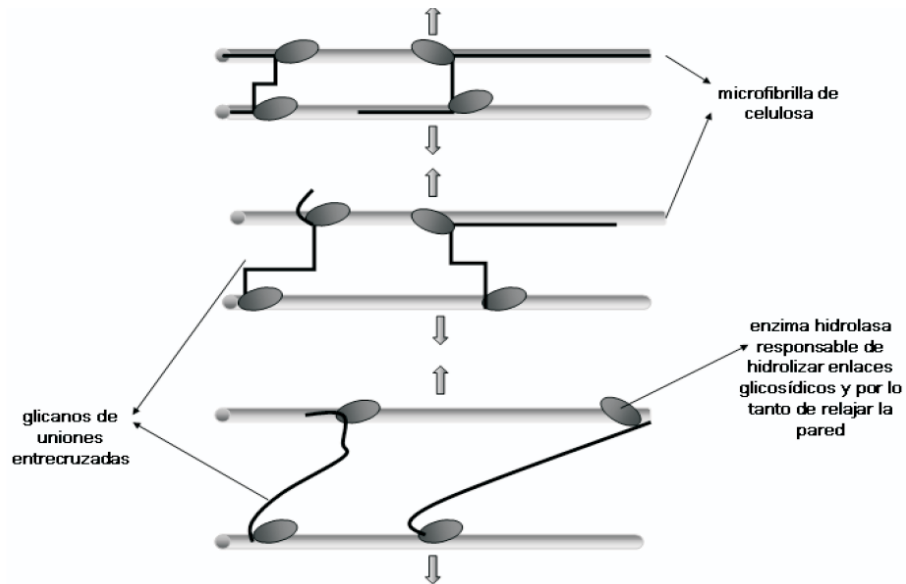


Fig. 19. Papel de las hidrolasas en el relajamiento de la pared celular. Durante el crecimiento la pared celular se relajaría debido a que las fibras de celulosa que se depositan continuamente en la pared celular en forma paralela, se abrirían alejándose unas de otras gracias a la presión de turgor y a la presencia de hidrolasas presentes en la pared. Estas enzimas hidrolizan enlaces glicosídicos de entrecruzamiento existentes entre polímeros de la pared que a su vez están unidos a la microfibrilla de celulosa como son las hemicelulosas. Estas hidrolasas sintetizan el enlace glicosídico entre los mismos polímeros pero en una posición más alejada. Tales enzimas se denominan transglucosilasas. En la "hipótesis del crecimiento-ácido" las hidrolasas se activarían por pH ácido de la pared celular inducido por IAA.

Existen dos enzimas buenas candidatas para producir la relajación de la pared celular cuando la célula vegetal se elonga

Hay, sin embargo, dos enzimas que son buenas candidatas para explicar el crecimiento o elongación de la pared celular cuando la célula también es elongada. Una es un xiloglucan-endotransglucosilasa (XET). Esta enzima corta cadenas de xiloglucano y las une al extremo no reductor de otra cadena de xiloglucano permitiendo el desplazamiento de las microfibrillas de celulosa (Fig. 20).

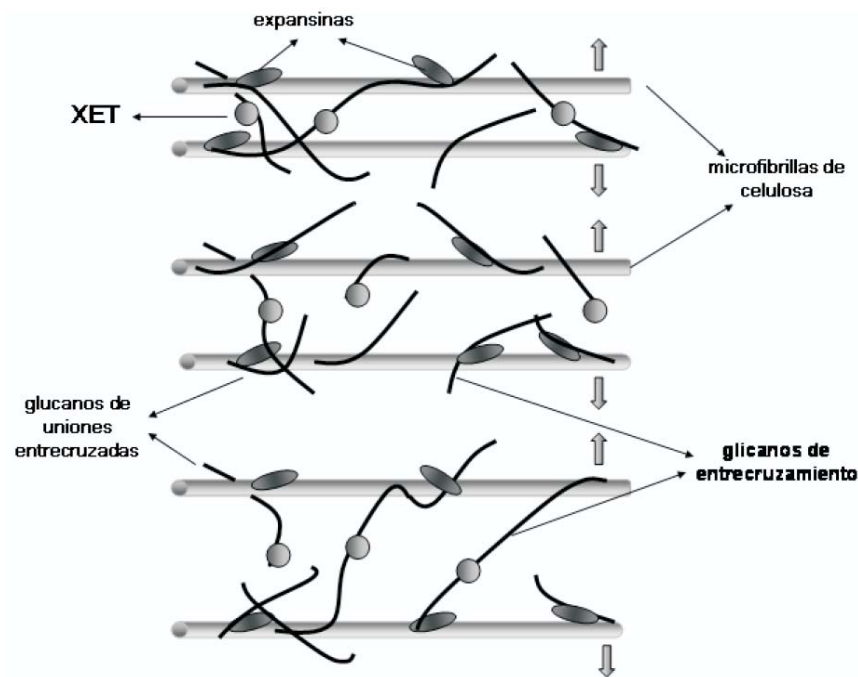


Fig. 20. Rol de las expansinas y xiloglucan transglucosilasa (XET) en la relajación de la pared celular. En el caso de la enzima XET esta hidroliza enlaces glicosídicos de glicanos religando una parte del glicano con el extremo no reductor de otro glicano. La expansina en cambio rompe uniones estéricas entre celulosa y glicanos como por ejemplo los enlaces puente de hidrógeno entre celulosa y hemicelulosa. La acción coordinada de ambas enzimas causaría una adecuada relajación por aumento de la presión de turgor.

El otro candidato es la expansina que cortaría las uniones puente de hidrógeno entre xiloglucano y celulosa permitiendo, la separación de las microfibrillas de celulosa. Las expansinas fueron descubiertas por Daniel Cossgrove (1997) quien realizó experimentos *in vitro* donde trozos de tejidos en crecimiento como hipocótilos inactivados por calor eran capaces de elongarse al ser incubados con extractos del mismo tejido en crecimiento. A partir de estos experimentos la expansina pudo ser aislada y trozos de tejidos en crecimiento inactivados por calor pueden elongarse *in vitro* si expansina se agrega a ellos (Fig. 21).

Ambas enzimas, expansina y XET, son codificadas cada una por una familia de genes. Sin embargo, las enzimas extraídas de plantas de dicotiledóneas (poseen paredes celulares tipo I) no necesariamente son efectivas en inducir crecimiento en paredes celulares de plantas monotiledóneas (paredes celulares tipo II).

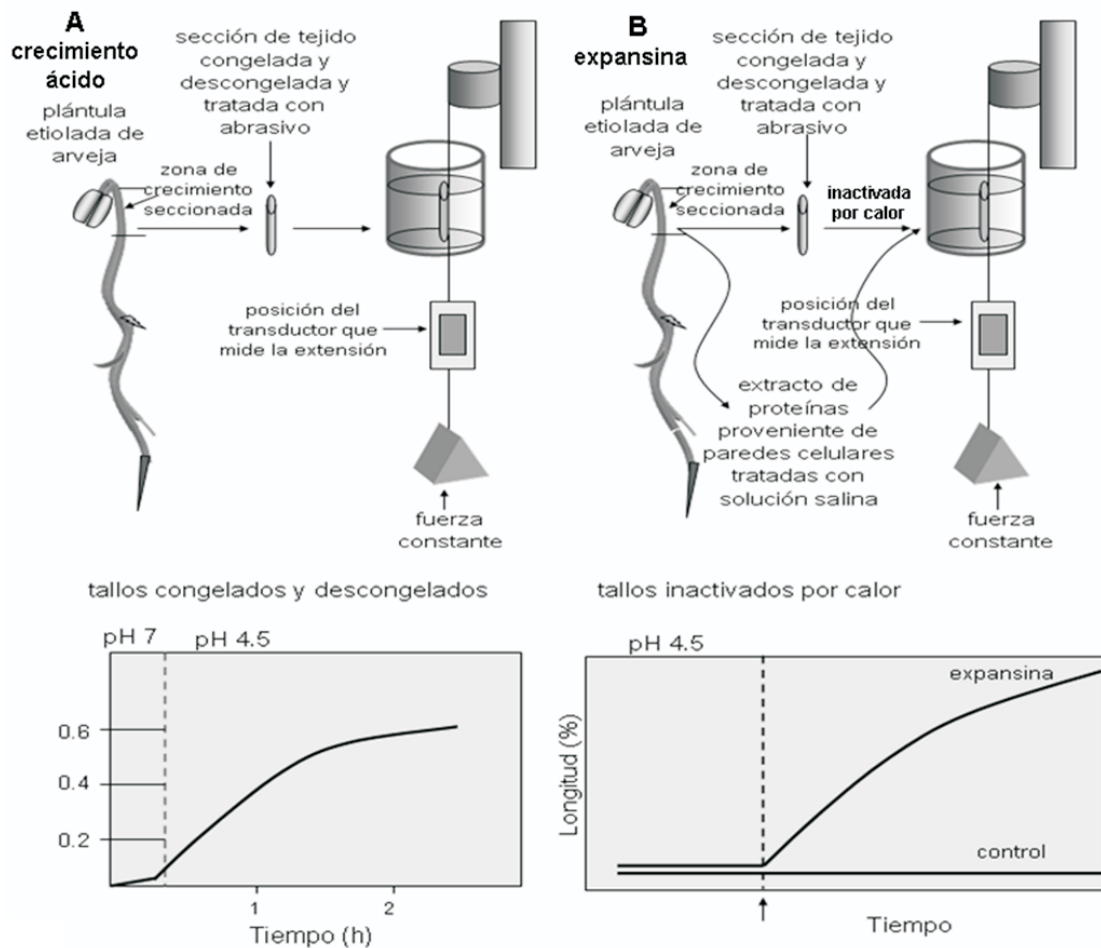


Fig. 21. Experimentos de crecimiento con expansina. Secciones de tejido en crecimiento (coleóptilo, hipocótilo o epicótilo) de plántulas etioladas fueron congeladas y descongeladas y colocadas bajo un continuo estiramiento en el monitor que se muestra. Un transductor midió la velocidad de crecimiento. A: Cuando la solución que baña a las secciones de tejido cambia de pH 7.0 a 4.5, la sección del tejido se elonga casi inmediatamente. B: Si las secciones son inactivadas por calor, no elongación del tejido ocurre a ningún pH. Sin embargo, cuando expansina es agregada a la solución del tejido la elongación se restablece a pH ácido de 4.5. Ni las hidrolasas ni la xiloglucan transglucosilasa son capaces de inducir elongación del tejido *in vitro*.

La inclusión de Ca^{++} es otro cambio que afecta la relajación de la pared celular en la elongación

Se ha determinado que el número de residuos de ácido galacturónico en las pectinas están extensamente esterificados con grupos metilos en aquellas paredes de células en proceso de crecimiento. A medida que la célula deja de crecer los poligalacturonanos se deesterifican quedando libres los grupo carboxilos de los residuos de ácido galacturónicos que pueden rápidamente unirse al Ca^{++} . La entrada de Ca^{++} en las pectinas contribuye, sin dudas, a una mayor rigidez de la pared celular ya que puede entrecruzar a dos moléculas de pectina.

Proteínas también forman parte de la estructura de la pared celular

La red macromolecular que constituye la estructura de la pared celular es principalmente carbohidrato. Sin embargo, en esta compleja estructura también existen proteínas. A estas proteínas aún no se les ha encontrado actividad enzimática alguna y por poseer una estructura primaria de secuencia de aminoácidos repetida, se ha llegado a concluir que ellas cumplen una función principalmente estructural. Algunas de estas proteínas son además extensamente glicosiladas. Hay 4 clases de proteínas estructurales:

- proteínas ricas en hidroxiprolina, HGRP
- proteínas ricas en prolina, PRP
- proteínas ricas en glicina, GRP
- proteínas arabinogalactano que tienen mucha semejanza con los proteoglicanos de las células animales, AGP.

Todas estas proteínas son sintetizadas en el retículo endoplásmico y glicosiladas en el Golgi para posteriormente ser secretadas en la pared celular con la cual forman uniones entrecruzadas muy fuertes. Por esta razón todas estas proteínas son muy difíciles de extraer de la pared celular. Todas ellas son codificadas por una familia multigénica.

Las HGRPs, llamadas extensinas fueron descubiertas por Derek Lamport en paredes celulares de *Sycamore pseudoplatanus* (Lamport 2001), pero pronto él y otros investigadores se dieron cuenta que estas proteínas existían en todas las paredes celulares de las plantas. Lamport les dio el nombre de "extensinas" porque pensó que eran las causantes de la extensibilidad de la pared celular cuando la célula vegetal se elonga. Posee dos péptidos que se repiten a lo largo de la molécula: ser-hip-hip-hip-hip y tir-lis-tir. Tanto la serina como los residuos de hidroxiprolina del primer péptido son sitios de glicosilación. En todo caso, estas secuencias repetidas son en gran parte las responsables de la estructura secundaria y terciaria de las extensinas que tienen una estructura tipo poliprolina II similar a la del colágeno (Van Holst y Varner 1984). Al microscopio electrónico se puede ver con una forma de bastón (Fig. 22). Los genes que codifican a la extensina de zanahoria fueron clonados por Cheng y Varner en 1985.

Las proteínas ricas en prolina se caracterizan por tener al aminoácido prolina como el aminoácido repetido. También son codificadas por una familia multigénica y posiblemente tienen una estructura semejante a la extensina.

Las proteínas ricas en glicina contienen más del 70% de glicina. Su estructura secundaria es posiblemente la de una sábana plegada por tener a la glicina como el aminoácido más abundante formando posiblemente una estructura de plato en la interfase de la pared celular con la membrana plasmática. Su función es desconocida. Sin embargo, sabiendo la función que otras proteínas ricas en glicina tienen, uno puede especular para ellas una función semejante. Por ejemplo: las proteínas ricas en glicina constituyen la seda de la tela de araña y el gusano de seda. Estas sedas poseen propiedades únicas de elasticidad y resistencia. Uno puede así imaginar entonces que las GRPs podrían tener una función semejante en la pared celular. Tal como las otras tres proteínas descritas las proteínas ricas en glicina son codificadas por una familia de genes. Estas proteínas, al igual que las anteriores, son difíciles de extraer ya que forman enlaces entrecruzados con los otros polímeros de la pared celular. En los tejidos vasculares del xilema son abundantes. En este caso, las GRPs son sintetizadas en las células del parénquima xilemático y exportadas a la pared del vaso (Fig. 22).

Las proteínas arabinogalactanos o AGPs, son proteínas pequeñas extensamente glicosiladas con residuos de galactosa y arabinosa. El 95% de la molécula es carbohidrato, y por esta razón se parecen mucho a los proteoglicanos en que la parte proteica es muy pequeña comparada con el carbohidrato que sostienen. Se encuentran en vesículas derivadas del Golgi, en la membrana plasmática y en la pared celular. Recientemente los genes que codifican a estas proteínas han sido estudiados y muchos tienen motivos parecidos a los genes de extensina, o de PRPs, y en algunos casos a los genes que codifican a las lectinas de solanáceas. Así la porción proteica de la molécula puede ser rica en hidroxiprolina o en prolina. Interesantemente, una vez sintetizada la proteína es procesada en el retículo endoplásmico de manera que su carboxilo terminal es separado de la molécula. La parte proteica restante se une posteriormente a una molécula de glicosil fosfatidil etanolamina que puede anclarse en una ceramida de la membrana plasmática. La función de estas proteínas es desconocida, pero se ha especulado que una vez liberada de la ceramida puede actuar como una molécula señal para inducir procesos celulares (Fig. 23).

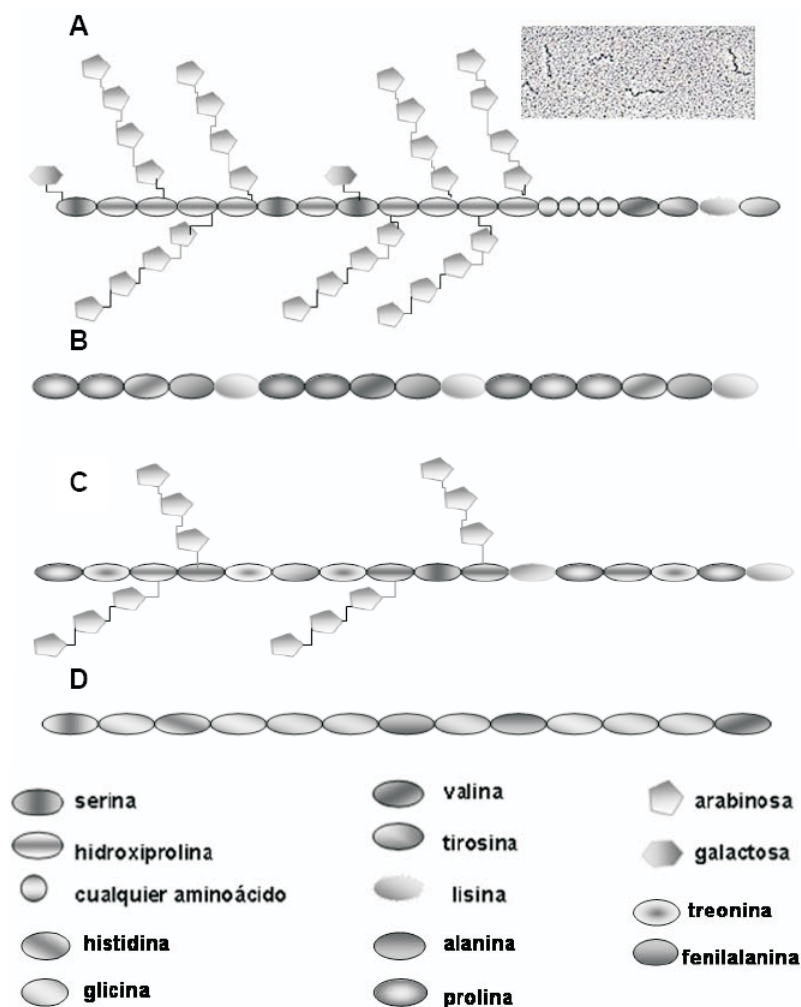


Fig. 22. Proteínas estructurales de pared celular. A: Proteína rica en hidroxiprolina (HPRGP) o extensina. Fue la primera proteína descubierta como componente de paredes celulares. Está extensivamente glicosilada con residuos de arabinosas y galactosas. El inserto superior muestra una microfotografía electrónica de la proteína (gentileza del Profesor Joseph Varner). B: Proteína rica en prolina. C: Proteína rica en treonina de maíz, también glicosilada (moderadamente) con residuos de arabinosas. D: Proteína rica en glicina. Todas estas proteínas estructurales pueden anclar otras moléculas de polisacáridos, y también suberina y lignina.

Las paredes secundarias a diferencia de las paredes primarias se construyen sobre la pared primaria con moléculas que restringen su plasticidad

Las paredes secundarias se caracterizan por estar presentes en células que han dejado de crecer y están diferenciadas cumpliendo una función fisiológica bien definida. Ellas poseen moléculas complejas como la lignina, ceras, suberinas y celulosa de más alto grado de polimerización (dp= 13.000-14.000 unidades de glucosa por molécula).

La lignina es el mayor componente de algunas paredes secundarias

Quizás las ligninas son los componentes más obvio de las paredes secundarias. Con algunas excepciones ligninas nunca existe en las paredes primarias y está constituidas por polimerización de fenoles que se forman en la vía enzimática fenilpropanoide. La lignina sólo se sintetiza cuando el depósito de pared secundaria comienza. Los fenilpropanoides más comunes son los monolignoles p-cumaril, sinapil y coniferil (Fig. 24). Con enlaces ester, eter o enlace carbon-carbon. La variación de estos enlaces es enorme y por lo tanto la variación de moléculas de ligninas es impredecible. La síntesis de lignina está asociada al citoplasma. Sin embargo, hay muchos fenoles glicosilados y en esta glicosilación participa el Golgi y retículo endoplásmico.

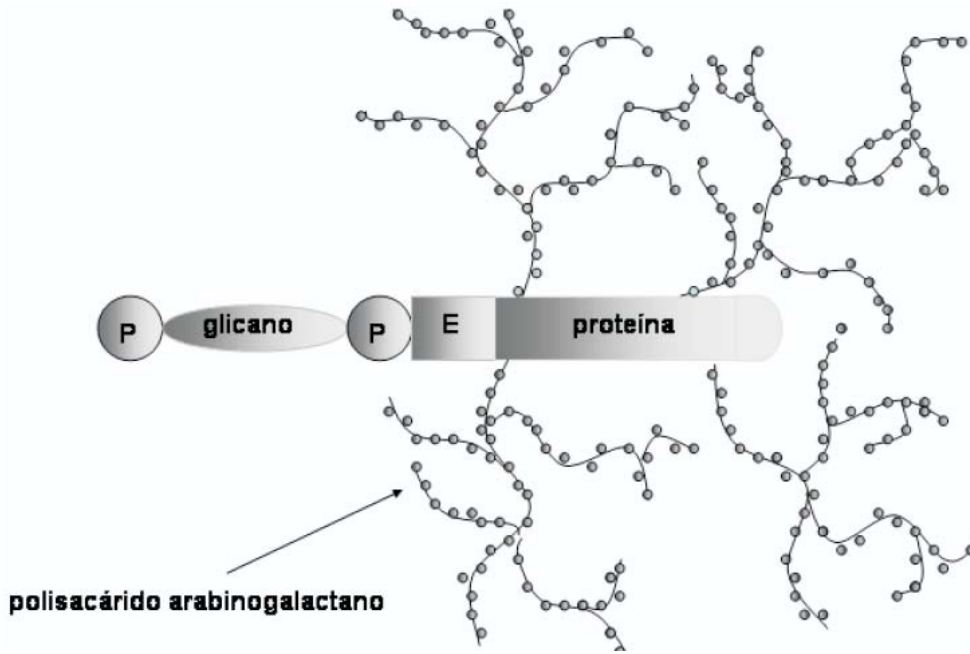


Fig. 23. Estructura de la molécula de arabinogalactano (proteoglicano). Son moléculas de proteínas extensamente glicosiladas y por eso se les considera equivalentes a los proteoglicanos de células animales. La región polisacárido está constituida por arabinogalactanos en que la columna vertebral de la molécula es un galactano y las ramas de los residuos de galactosa son arabinosas. La proteína está unida a un glicano y unida a una fosfatidil (P) etanolamina (E). La parte proteica puede ser rica en residuos de hidroxiprolina, alanina, serina y treonina pero no posee dominios claramente enriquecidos con un solo aminoácido en particular.

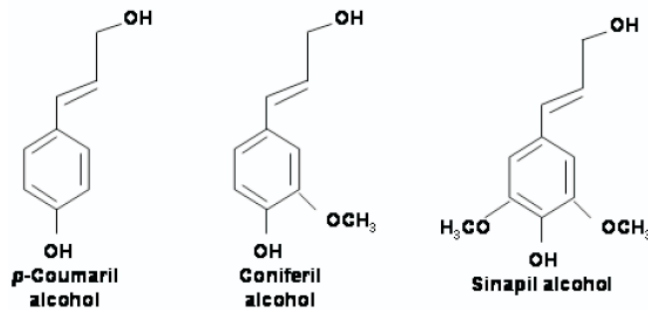


Fig. 24. Estructura química de los monolignoles más comunes que constituyen las ligninas. Los enlaces éter, ester o carbón-carbón hacen que los monolignoles se unan formando una gran cantidad de polímeros diferentes.

La condensación y posterior polimerización de los monolignoles en la pared celular son catalizadas por peroxidasas usando el fenol y H_2O_2 , como sustratos, y por lacasas que usan el fenol y O_2 como sustrato formando los dilignoles.

Las ligninas pueden unirse covalentemente a celulosa, hemicelulosas, proteínas estructurales de la pared celular, etc. La disposición de estas moléculas, componentes de pared celular sirven como templados para el depósito de lignina. La lignina endurece a las paredes secundarias. En los árboles constituye el leño formado las paredes secundarias de los vasos xilemáticos y fibras de resistencia de los tallos de las plantas.

Retículo Endoplásmico

El retículo endoplásmico es el organelo más versátil y adaptable de la célula vegetal

El retículo endoplásmico (RE) es una extensa red de túbulos y sacos planos que se encuentran a través de todo el citoplasma, bajo la membrana plasmática y constituye la membrana nuclear. Clásicamente se ha considerado constituido por el retículo endoplásmico liso (sin ribosomas), retículo endoplásmico rugoso (con ribosomas) y el envoltorio nuclear.

La mayoría de las membranas de las células tienen su origen en el retículo endoplásmico y los organelos intercambian constantemente moléculas de membrana con él. Por esta razón se considera que el RE origina todo el sistema de endomembranas de la célula vegetal. Microscopía electrónica de alto voltaje revela las conexiones entre los túbulos y vesículas del RE como también de las membranas del RE con las membranas de los diferentes organelos (Fig. 25). En general, las vesículas con sus ribosomas están en las regiones del retículo endoplásmico comprometidas en la síntesis de proteínas en cambio las regiones tubulares sin ribosomas y que constituyen el RE liso están más comprometidas en transporte y secreción de azúcares y lípidos. El retículo endoplásmico es un componente citoplasmático muy dinámico en que la forma tubular puede cambiar a la vesicular en pocos segundos.

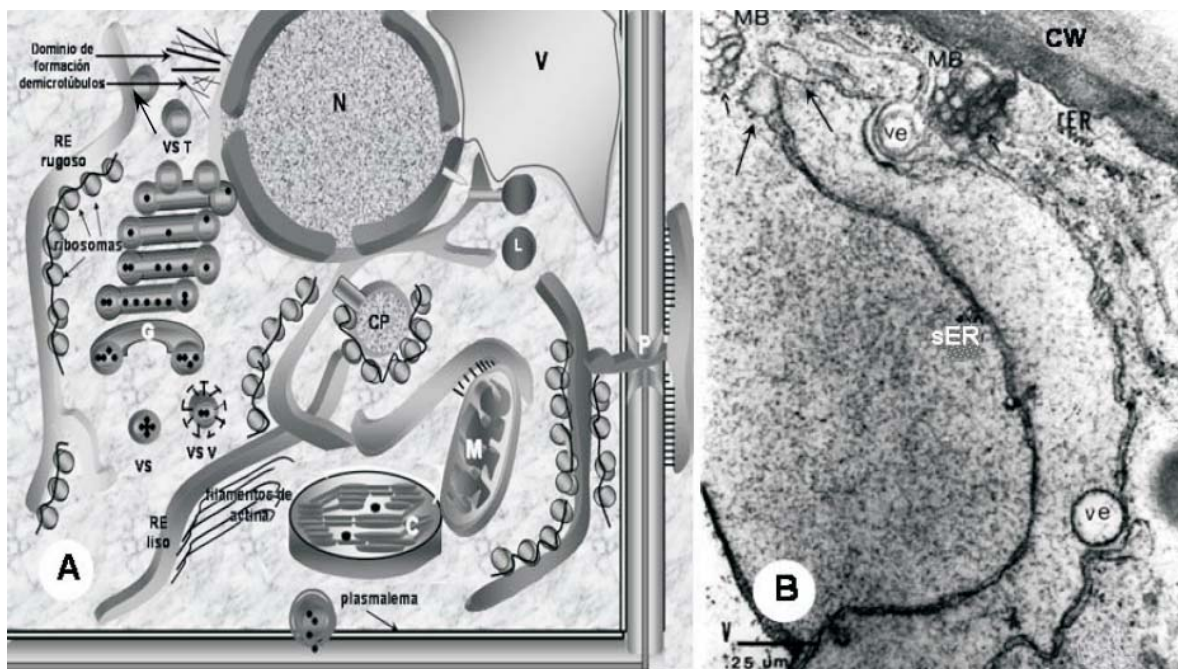


Fig. 25. A) Estructura del retículo endoplásmico (RE) de la célula vegetal. A: Diagrama del retículo endoplásmico. En este diagrama se muestran los principales dominios funcionales del RE: dominio de unión a ribosomas, a mitocondrias, a membrana nuclear y tonoplasto. También se muestra un canal del retículo endoplásmico que constituye un desmotúbulo del plasmodesmo. VS, Vesícula secretora. Flecha apunta a una VS escindiéndose del RE liso; VS V, Vesícula secretora destinada a vacuola liberada de las membranas trans del Golgi; VS P, Vesícula secretora destinada a la pared celular; G, Golgi; M, Mitocondria; C, Cloroplasto; CP, Cuerpo Proteico escindiéndose del RE rugoso; L, Liposoma; N, Núcleo; V, Vacuola; P, Plasmodesmo. B: Microfotografía electrónica de diferentes componentes del retículo endoplásmico de célula del megagametofito de *Araucaria araucana* cultivado *in vitro* (gentileza de Cardemil y Jordán). Ve, Vesículas derivadas del RE; rER, RE rugoso; sER, RE liso; CW, Pared celular; MB, Cuerpos multivesiculares. Flechas apuntan a vesículas en formación a partir del RE.

La función de transporte que cumple el RE puede ser entre células vía plasmodesmos o dentro de la célula. Este tráfico intracelular es de extraordinaria importancia en la destinación de las proteínas,

lípidos y azúcares a los diferentes compartimentos celulares. También se ha sugerido que túbulos del RE próximos a la membrana plasmática pueden controlar lo que sale y lo que entra en el citoplasma. Al parecer el movimiento de organelos como mitocondrias y cloroplasto también es ayudado por el RE. Estos organelos en su desplazamiento se unen a filamentos de actina y solo se desplazan entre túbulos paralelos del RE.

El RE rugoso tiene la importante función de sintetizar las proteínas y por esta razón es principalmente abundante en células secretoras (por ejemplo, en la caliptra de la raíz primaria), como en aquellas que acumulan proteínas (por ejemplo, los cotiledones de semillas leguminosas y la capa de aleurona de los cereales). En este último caso, las proteínas se acumulan en los llamados cuerpos proteicos y constituyen una reserva para el desarrollo y crecimiento del embrión durante el proceso de germinación.

El RE liso es abundante en las células que sintetizan lípidos y membranas. Así, células que sintetizan aceites tienen extensas regiones de RE liso.

Debido a que en el RE se forma la mayoría de las membranas de las células, es importante enfatizar que este organelo se hace a sí mismo.

La tercera función importante del RE es su actividad secretora. Proteínas, enzimas, polisacáridos y glicoproteínas sintetizadas por células secretoras son procesadas en el RE y secretadas fuera de la célula. Muchas de estas proteínas están destinadas a la pared celular y la adición de este material en la pared celular ocurre en el crecimiento de la pared durante el crecimiento celular. En esta función secretora el RE contribuye también con la formación del aparato de Golgi (dictiosomas).

La membrana nuclear es parte del RE

Rodeando el núcleo existe una doble membrana de dimensiones entre 7.5-10 nm cada una. La membrana interna está separada de la externa por el espacio perinuclear de un grosor que va desde 10-40 nm. Todo en total da un grosor de 25-50 nm para todo el envoltorio nuclear (Fig. 26). Este espacio perinuclear está conectado a los espacios del RE que se encuentran entre las membranas de las vesículas y túbulos de éste. Cuando la membrana nuclear desaparece en el proceso mitótico o meiótico, el envoltorio nuclear se diluye en el RE y desaparece, aunque hay evidencias de que esta membrana permanece guardada como membranas de RE para ser reutilizadas en la reconstrucción de la membrana nuclear cuando la mitosis termina.

La membrana nuclear tiene muchos poros cada uno con diámetro de 70 nm. Ambas membranas, la interna y externa se fusionan constituyendo los márgenes del poro los que tienen material adosado, constituyendo a su vez el ánulo del poro. El ánulo llena al poro excepto por un pequeño canal en el centro. A pesar que uno puede adivinar que estos poros permiten una comunicación entre núcleo y citoplasma, el canal del poro no está abierto del todo. A veces, sin embargo, es posible ver en el canal ribosomas que los atraviesan en su trayecto del núcleo al citoplasma (Fig. 26).

El RE también forma el tonoplasto

Vesículas de transporte que se escinden del RE liso están destinadas a ser excretadas de la célula, o destinadas a la vacuola celular o a llevar moléculas de los diferentes compartimentos celulares. Tales vesículas pueden o no pasar por el Golgi, y cuando lo hacen entran en la región cis de membranas del Golgi y saliendo por la región trans a veces recubierta de proteínas especiales denominadas clatrininas (Fig. 25). Las vesículas destinadas a la vacuola se abren fusionando su contenido con el contenido vacuolar y la membrana que rodea a la vesícula se une a la membrana al tonoplasto. De esta manera la vacuola crece en tamaño.

El tonoplasto es la membrana que rodea a la vacuola celular. Esta membrana es una simple membrana muy parecida a la membrana plasmática. Su principal función es controlar lo que entra y sale del compartimento vacuolar al citoplasma y viceversa. El tonoplasto controla el potencial de agua de la célula dejando pasar y salir de la vacuola diferentes solutos y, por lo tanto, controlando la

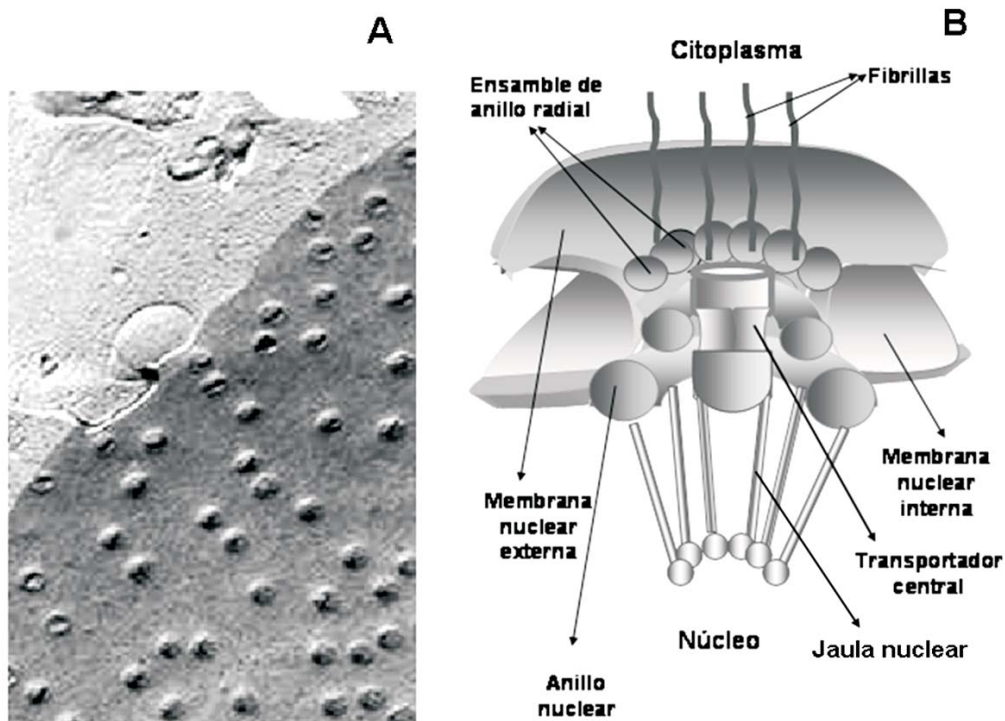


Fig. 26. Estructura de la membrana nuclear. A: Microfotografía de réplica de una criofractura del envoltorio nuclear donde se pueden observar los poros de la membrana (flechas) (archivos de Liliana Cardemil). B: Diagrama de la estructura de un poro del envoltorio nuclear. Observe la compleja estructura de un poro nuclear y la doble membrana del envoltorio que se pliega para formar las paredes del poro.

concentración de estos solutos. Esta función es de gran importancia en el caso de la abertura y cierre de los estomas. Por lo tanto, el tonoplasto tiene transportadores para sodio y potasio. Así en la abertura de los estomas, bombas de potasio del tonoplasto bombean potasio al interior de la vacuola aumentando el transporte de agua a este compartimiento y los estomas se abren. La reversión de este proceso significa una baja del potencial de agua y el cierre de los estomas (Fig. 8).

El tonoplasto tiene la otra gran misión de no dejar pasar las enzimas hidrolíticas que se encuentran en la vacuola. Sólo cuando el tonoplasto sufre deterioro de su integridad como por ejemplo en la senectud celular, o durante procesos de diferenciación celular, es posible que estas enzimas pasen al citoplasma causando una digestión de organelos y compartimentos celulares. Esto ocurre por ejemplo en la diferenciación de los vasos xilemáticos y traqueidas y en la diferenciación de los vasos cribosos del floema. En el primer caso, el citoplasma desaparece por completo. En el segundo caso, el citoplasma sin núcleo queda reducido a membranas del retículo endoplásmico y a unos cuantos organelos muy transformados. También ocurre una digestión masiva de organelos en células de nectarios antes de la secreción del néctar. En este caso el tonoplasto verdaderamente fagocita a mitocondrias y plastidios, cuyos componentes moleculares parecen integrarse al contenido vacuolar (Fig. 27).

Partes especializadas del RE forma los cuerpos oleosos y los cuerpos proteicos

Túbulos del retículo endoplásmico que constituyen el RE liso y que poseen enzimas para la síntesis de triglicéridos son especialmente abundantes en células que almacenan aceites, como es el caso del endospermo de semillas cuya principal reserva son triglicéridos (*Ricinus communis*). Estas regiones del RE tienen oleosinas que son proteínas que poseen aminoácidos hidrofóbicos en la membrana del RE y una cabeza con una estructura anfipática. A medida que los triglicéridos se sintetizan entre las membranas de RE, el espacio se va ensanchando en estas regiones tapizadas con oleosinas adquiriendo una forma esférica (Fig. 25).

En forma similar, las células que almacenan proteínas forman cuerpos proteicos. Este es el caso de

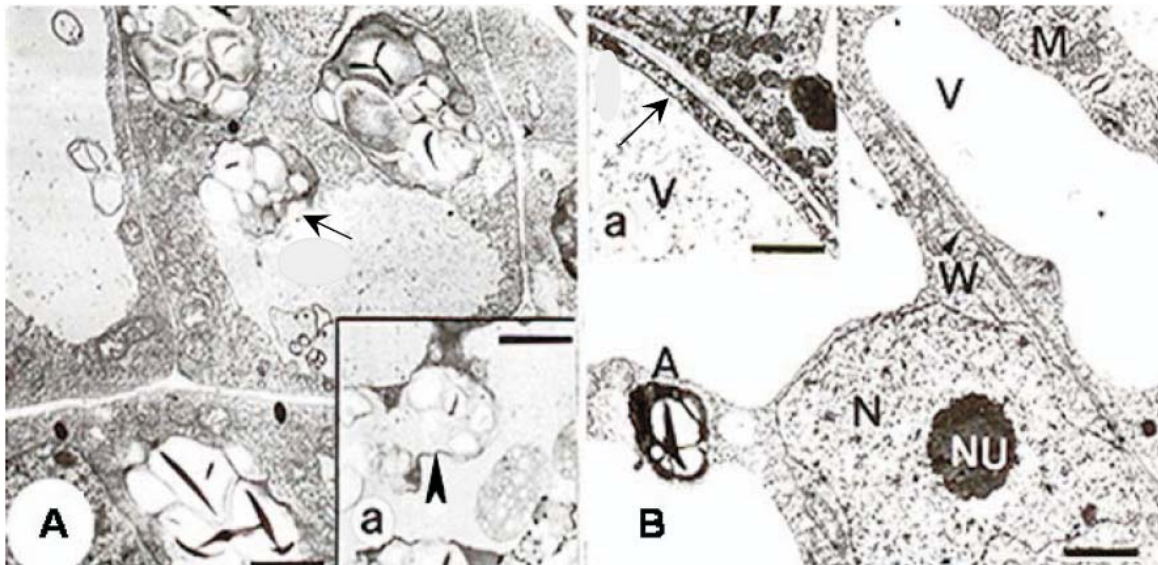


Fig. 27. Vacuolas de la célula vegetal. A: Microfotografía electrónica de una célula del parénquima del nectario de *Eccrenocarpus scaber* (Bignoniaceae). Se puede observar amiloplastos de estas células siendo digeridos por la vacuola (flechas). a: inserto donde se observa el envoltorio de un amiloplasto despegado del amiloplasto que se está desintegrando dentro de la vacuola (gentileza de Belmonte, Cardemil y Arroyo). B: Microfotografía electrónica de las mismas células en un estado de desarrollo más avanzado en el cual la vacuola ha crecido desplazando al citoplasma y al núcleo a un lado de la célula. a: inserto donde es posible observar la célula del parénquima del nectario en un estado más avanzado de maduración. El citoplasma en este caso es reducido a una cinta citoplasmática (flecha). V, vacuola; N, núcleo; NU, nucléolo; A, amiloplasto; W, pared celular; M, mitocondria (gentileza de Belmonte, Cardemil y Arroyo).

la aleurona del endospermo de cereales y de los cotiledones de leguminosas. Los cuerpos proteicos también se forman en regiones de RE que están tapizadas por ribosomas. Las proteínas de almacenamiento sintetizadas se acumulan en estas regiones formando ensanchamiento de RE que luego se separan de él constituyendo los cuerpos proteicos. En el caso de los cereales, las prolaminas se acumulan en cuerpos proteicos formados a partir de membranas del RE, en cambio las globulinas, proteínas solubles en agua se sintetizan en el RE pero luego son transportadas vía Golgi a las vacuolas de almacenamiento donde formarán también cuerpos proteicos (Fig. 25).

Aparato de Golgi

El aparato de Golgi es un organelo biosintético

En células animales, normalmente hay un solo aparato de Golgi cerca del núcleo donde ocurre la modificación de las proteínas en su paso por la ruta secretoria. En plantas este organelo además de modificar proteínas que se van a secretar, juega un papel fundamental en la biosíntesis de polisacáridos no-celulósicos de la pared celular, y es por eso que la célula vegetal posee cientos de aparatos de Golgi. También conocidos como dictiosomas en células vegetales, los aparatos de Golgi están dispersados en el citoplasma (Fig. 28).

Cada aparato de Golgi está compuesto por alrededor de seis cisternas, las cuales son rodeadas por una membrana simple y de forma aplastadas en el centro con márgenes más anchos en los extremos. Frecuentemente, una red *trans*-Golgi también compuesta por cisternas, se encuentra cerca de la cisterna más alejada del núcleo. En esta red hay una matriz de Golgi que es una región del citosol que carece de ribosomas y que rodea al Aparato de Golgi (Figs. 25 y 28).

Las múltiples cisternas del Golgi poseen distintas funciones en el organelo. La cisterna *cis* (la más

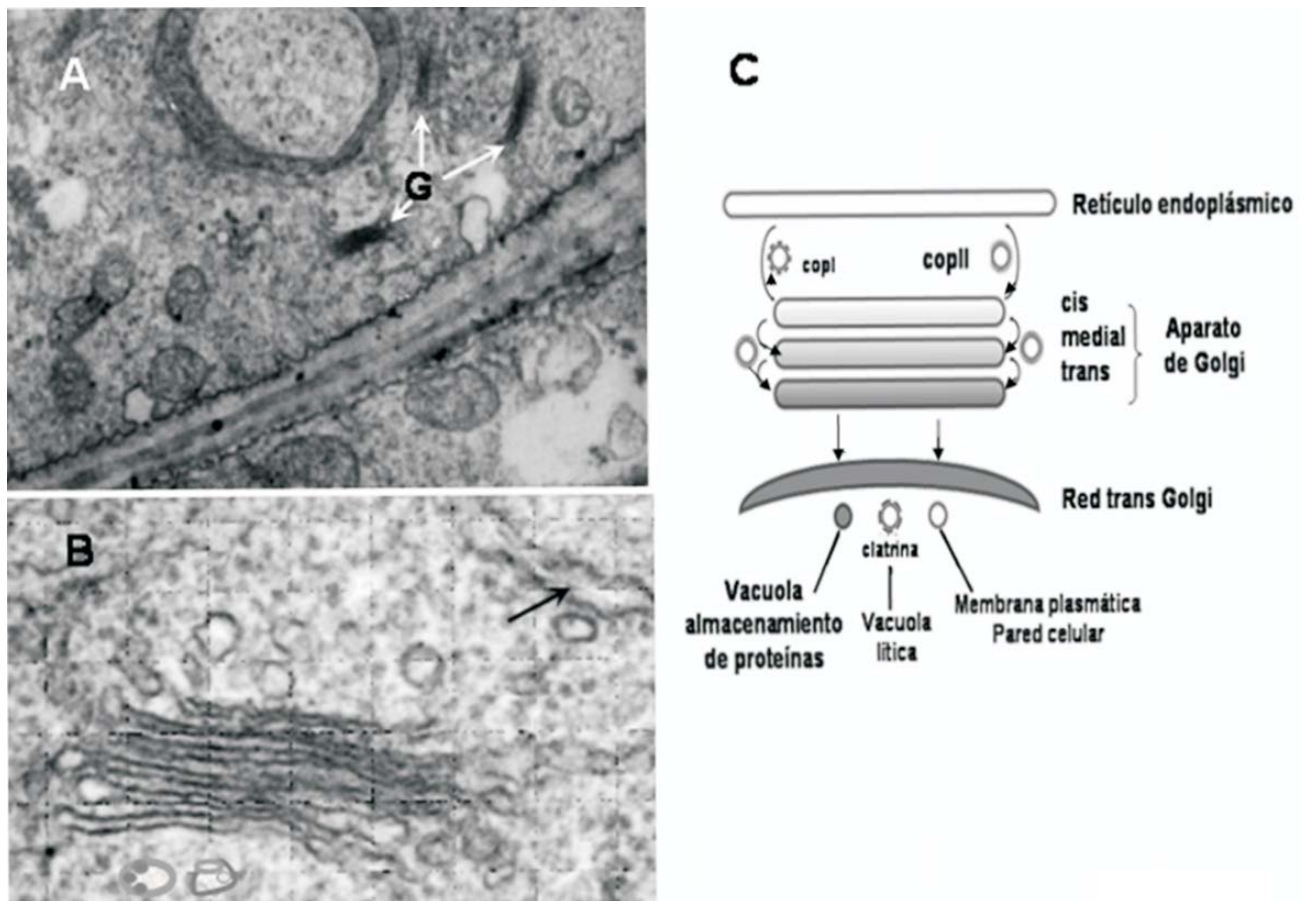


Fig. 28. Estructura del Golgi. A: Microfotografía electrónica de célula de cotiledones de *Araucaria araucana* (gentileza de Cardemil y Lozada). Se observa varios dictiosomas en una sola célula (flechas). G: Golgi. B: Microfotografía electrónica de una célula mostrando una dictiosoma en detalle con vesículas del Golgi cis y trans. Flecha muestra un canal de RE del cual deriva al parecer una vesícula y otras que se aproximan al lado cis del Golgi. También es factible observar vesículas que derivan del lado trans del organelo (gentileza de Mercado y Meisel). C: Diagrama de la estructura de dictiosoma.

cercana al núcleo) recibe las vesículas provenientes del RE, las cuales se encuentran cubiertas en una capa proteica tipo COPI (Fig. 25). Estas vesículas traen las proteínas que se exportan del RE y otras proteínas que residen normalmente en RE. Existen además otras vesículas rodeadas de una capa de COPII que tienen su origen en la cisterna *cis* y que devuelven a las proteínas residentes en RE a su lugar correcto. Las cisternas *cis* junto con el material sintetizado pasan a las cisternas *mediales* y *trans*, donde se modifican los polímeros ya sintetizados y se agregan otras moléculas. Al llegar a la red *trans*-Golgi, distintas vesículas median el transporte de las moléculas a sus lugares de destino en la ruta secretoria. Vesículas rodeadas por un 'canasto' de proteínas compuesto por clatrina están destinadas a la vacuola lítica y contienen proteínas hidrolíticas más proteínas integrales del tonoplasto (Fig. 25).

Las vesículas secretoras se pueden diferenciar aprovechando sus distintas características morfológicas. Así las vesículas que van hacia la membrana plasmática aparecen más claras bajo microscopia electrónica y además no poseen una capa proteica. De hecho, a diferencia de células animales y levadura, la destinación 'por defecto' de materiales en la ruta secretora de plantas ocurre en la secreción extracelular. Algunas especies, como por ejemplo las semillas de legumbres, acumulan proteínas de almacenamiento (cumulativamente llamadas globulinas o prolaminas) como faseolina de *P. vulgaris* o vicilina de arvejas (*Pisum sativum*) para su próxima degradación durante la germinación. Estas proteínas se guardan dentro de vacuolas especializadas llamadas vacuolas de almacenamiento de proteínas y las vesículas que las llevan a estas vacuolas desde la

red trans Golgi se distingue por su densidad de tinción, debido a la alta concentración de proteínas en su interior.

La forma en que proteínas y polisacáridos se mueven desde la cisterna cis a la trans es un asunto de debate por lo cual se han propuesto dos modelos. Un modelo propone que el movimiento de materiales está mediado por vesículas, con un movimiento en la dirección opuesta para balancear el volumen y la superficie de membrana de las cisternas más *cis*. Sin embargo, se ha observado que en algunas algas Chrysophytes existen vesículas muy grandes con placas de polisacáridos destinadas a la pared celular (Fig. 29). Es difícil proponer un mecanismo de cómo una vesícula puede yemar y fusionarse si contiene una carga molecular tan voluminosa. Entonces el segundo modelo propuesto es que cada cisterna, con su carga adentro, madura progresivamente, y que la cisterna más *cis* está siendo formada continuamente por las vesículas que provienen del RE.

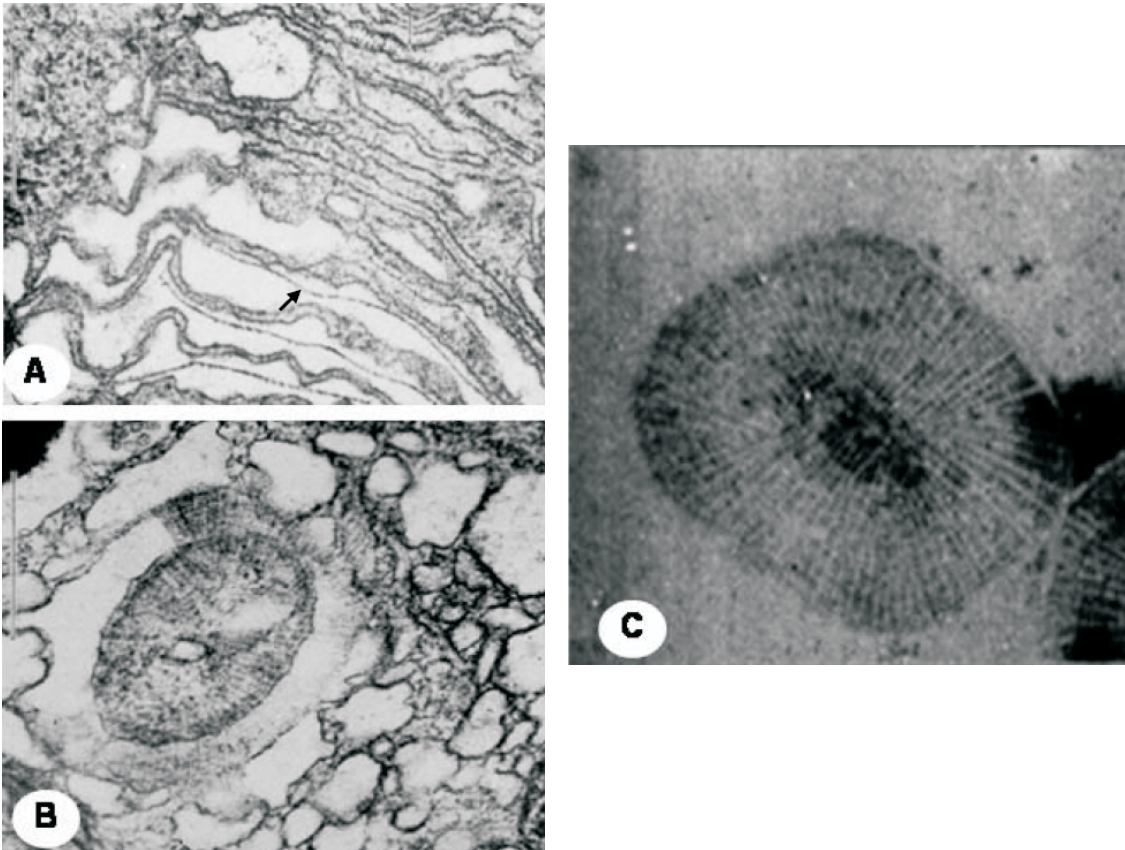


Fig. 29. Formación de las placas de celulosa en el Golgi de *Pleurochrysis*, un alga Chrysophyceae. A: Microfotografía electrónica del inicio de la síntesis de moléculas de celulosa en el interior de las vesículas cis del Golgi (flecha). B: Microfotografía electrónica de una placa de celulosa y pectina ya formada en vesículas del trans Golgi. C: Microfotografía electrónica de una placa vista al ME con tinción negativa. Todas las fotos son gentileza de los Profesores Malcolm Brown y David Montezinos.

La actividad metabólica del aparato de Golgi está dirigida a la glicosilación de glicoproteínas como a la síntesis de glicanos

Muchas proteínas integrales y secretadas están modificadas en algunos residuos de asparagina por la adición de una cadena altamente conservada de azúcares, formando un enlace *N*-glicoproteína. La presencia del glicano en su estado maduro sirve para proteger la proteína contra la degradación que pudiera ocurrir en su trayectoria por la ruta secretoria. La glicosilación también sirve para que ocurra el plegamiento correcto de la proteína y control de calidad. La síntesis del glicano comienza en el RE donde un árbol de (glucosa)₃(manosa)₉(*N*-acetil glucosamina)₂ está

adicionado a la proteína naciente. Después de remover las tres glucosas terminales, la glicoproteína –ahora llamada 'proteína rica en manosa'– transita al aparato de Golgi donde ocurre su próxima modificación. Estas modificaciones incluyen la adición de xilosa y fucosa. Utilizando anticuerpos dirigidos específicamente contra estos residuos, se han demostrado que se agregan a la glicoproteína en distintas cisternas del aparato, la xilosa en la *medial*, mientras que la fucosa en la *trans*, mostrando que dentro del mismo organelo también existe compartimentalización. Muchas proteínas de la pared celular están extensamente O-glicosiladas, en residuos de hidroxiprolina, serina y/o treonina, por ejemplo, las AGPs y las HGRPs (extensinas). A diferencia de las enlazadas por N-glicoproteínas, toda la formación de su cadena glicano está sintetizada en el aparato de Golgi.

Todos los polisacáridos de pared, excepto celulosa y callosa, son sintetizados en el Golgi

Sin duda, la síntesis de polisacáridos no-celulósicos destinados a la pared celular es lejos la actividad biosintética más abundante en el aparato de Golgi (Handford, 2006). Todos los polisacáridos de la pared son sintetizados en el Golgi de la célula vegetal, excepto celulosa y callosa. Este organelo juega un papel fundamental en la síntesis de pectinas y hemicelulosas. Estos polisacáridos están sintetizados por glicosiltransferasas que requieren nucleótido-azúcares como sustratos. Se han propuesto dos modelos para la síntesis de los polisacáridos en el aparato de Golgi. Como mencionado anteriormente, las hemicelulosas como xiloglucano, galactano y manano poseen una columna vertebral de azúcares unidos por el mismo enlace que une las glucosas en la celulosa: β -1,4. En el genoma de *Arabidopsis thaliana* existen alrededor de 30 secuencias con alta homología a los genes Cesa que codifican para celulosa sintetasa, entre otros para las propias sintasas que se encuentran en la membrana plasmática para la síntesis de celulosa y callosa. Como las Cesa, estas proteínas homologas, denominadas tipo celulosa sintasa (codificadas por el gen Csl) también están diseñadas para traspasar la membrana múltiples veces. Para determinar el rol de las proteínas codificadas por los genes Csl, se han observado que varias pueden polimerizar manano *in vitro* cuando la enzima tiene como sustrato GDP-manosa. Aunque la localización subcelular de las proteínas Csl es desconocida, debido que bioquímicamente se han mostrado que la síntesis de hemicelulosas ocurre en el Golgi, es probable que estas proteínas también se encuentra en el mismo lugar. Sin embargo, otros polisacáridos no poseen enlaces β -1,4 en su columna vertebral como arabinano y las pectinas poligalacturonano, ramnogalacturonano I y II y ellos si son sintetizados por enzimas ubicadas en el Golgi. Además estos y otros polisacáridos como xiloglucano pueden ser altamente ramificadas y es difícil prever como una enzima Csl podría catalizar la adición de diversas uniones que no sean todas iguales como es en el caso de la celulosa. Entonces, en el segundo modelo, las glicosiltransferasas están ancladas en la membrana del Golgi con su sitio catalítico dando hacia el lumen polimerizando diversos enlaces de los polisacáridos. Para entrar al lumen, se necesita transportadores de nucleótido-azúcares para entregar el sustrato a las glicosiltransferasas, y en el Golgi hay epimerasas y dehidratasas que pueden realizar la interconversión de un nucleótido-azúcar en otro. A la fecha, se han identificados y caracterizados muy pocos transportadores, glicosiltransferasas y enzimas de interconversión que realizan las diversas reacciones.

Ensayos in vitro han mostrado que membranas enriquecidas con vesículas de Golgi pueden sintetizar polisacáridos

Se ha podido así dilucidar las enzimas y factores necesarios para esta síntesis. Así, por ejemplo, vesículas de Golgi *in vitro* pueden sintetizar cadenas muy cortas de xiloglucano o glucanos no celulósicos. Sin embargo, si junto con UDP-glucosa o UDP-xilosa se agrega Mn^{2+} o Mg^{2+} , el largo de la cadena aumenta considerablemente. Hidrólisis de los productos de síntesis de xiloglucanos por glicanasas específicas, ha demostrado que la principal unidad sintetizada es un heptasacárido de estructura XXX(G)₄ lo que sugiere que las glicosiltransferasas sintetizan este oligosacárido como unidad y que esta unidad debe preservarse *in vitro*. Si a las vesículas de Golgi se agrega sólo UDP-

glucosa, se obtienen cadenas muy cortas del glucano que es la columna vertebral del xiloglucano. Si se agrega UDP-glucosa y UDP-xilosa se obtienen una mejor polimerización del glucano sugiriendo que las glucosiltransferasas y xilosiltransferasas actúan acopladas en esta síntesis. Lo mismo ocurre con la adición de unidades de galactosas y fucosas a las cadenas de xilanos. Semejante coordinación de glicosiltransferasas ocurre también en la síntesis de mananos, galactanos y arabinosilanos. Además, como en el caso de la modificación de N-glicanos, las glicosiltransferasas necesarias para la síntesis de polisacáridos están localizadas en distintas pero superpuestas cisternas del Golgi. En el caso de los galacturonanos y ramnogalacturonanos la coordinación exige la esterificación metílica de los residuos de ácido galacturónicos.

Cloroplastos

Los cloroplastos son organelos especialmente diseñados para la captación de la luz

Los cloroplastos son organelos discoidales que en las plantas terrestres tienen un tamaño aproximado de 5 μ m. Ellos son abundantes en las células de la hoja donde hay hasta 100 cloroplastos por célula. Están limitados y separados del citoplasma por una doble membrana bicapa denominada envoltorio. En el interior del organelo hay numerosas membranas paralelas llamadas membranas tilacoidales, que lo recorren. Estas membranas forman en ciertas regiones vesículas cerradas (Vesículas tilacoidales) y apiladas paralelamente formando las granas las que a su vez están comunicadas entre si por membranas intergranas (Fig. 30). Las granas fueron descubiertos en el siglo XVIII, por microscopistas quienes fueron capaces de observar zonas más oscuras en el interior de cloroplasto que se caracterizaban por absorber la luz roja. Por esta razón se les denominó corpúsculos grana.

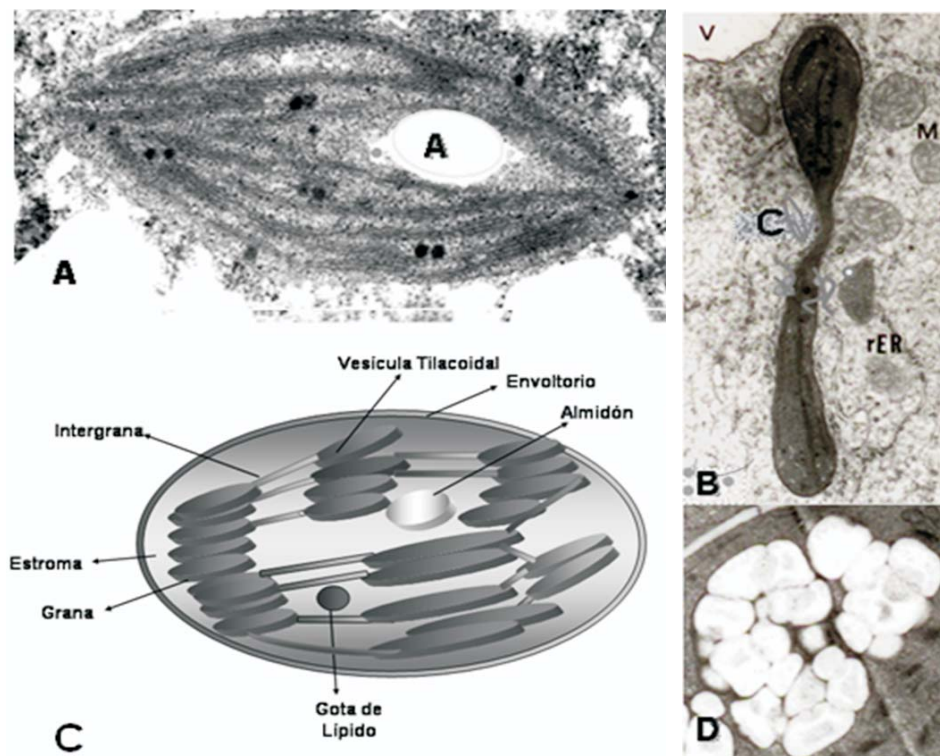


Fig. 30. Estructura del cloroplasto. A: micrografía electrónica de un cloroplasto de hoja de *Arabidopsis thaliana* (Gentileza de Mercado y Meisel). A, almidón. B: Cloroplasto en división en células de megagametofito de *Araucaria araucana* cultivado in vitro (gentileza de Cardemil y Jordán). C, cloroplasto; rER, retículo endoplásmico rugoso; M, mitocondria; V, vacuola. C: Diagrama de un cloroplasto mostrando la estructura interior. D: Amiloplasto de una célula de caliptra de raíz de *Arabidopsis thaliana* (gentileza de Mercado y Meisel).

En las membranas tilacoidales están las moléculas de pigmentos que son moléculas que absorben diferentes longitudes de onda del espectro luminoso y que en último término transformarán la energía luminosa en energía de enlace químico. Los pigmentos se encuentran tanto en las membranas que constituyen las vesículas tilacoidales como en las membranas intergranales. Sin embargo, dependiendo de la proporción de los pigmentos, los cloroplastos pueden ser verdes, amarillos o incluso rojos como es el caso de las algas rojas donde es muy abundante un pigmento rojo, la eritrobilina.

La estructura de los cloroplastos puede tener variaciones dependiendo del tipo de planta y a veces del tipo de tejido en que se encuentran. En el caso de algas unicelulares, existe en muchas de ellas un solo inmenso cloroplasto que puede medir 80 nm o más. En estos cloroplastos hay granas pero esta estructura es más difusa y al microscopio electrónico se pueden observar pirenoides, que son depósitos de ribulosa 1,5 bifosfato carboxilasa. En algunas de las algas unicelulares, hay cloroplastos que pueden tener formas muy sofisticadas. Es el caso del alga *Spirogyra* sp. que posee un cloroplasto largo y plegado en espiral o, en el caso de *Zygonema* sp en que el cloroplasto tiene forma de estrella. En plantas de asimilación de CO₂ tipo C₄, como es el caso del maíz o caña de azúcar, las células de la vaina del haz o llamadas también células de Kranz, se caracterizan por tener un cloroplasto casi sin granas. En cambio las células del mesófilo de la misma hoja se caracterizan por tener cloroplastos con numerosas granas. Estos dos cloroplastos que son estructuralmente tan distintos, se complementan en su función para que la planta tenga una muy eficiente asimilación de Co₂ (ver Capítulo 9).

Las membranas lipídicas de cloroplastos se caracterizan por tener un alto contenido de lípidos glicosilados con una o dos moléculas de galactosa. En los envoltorios son más abundante los digalactosildiglicéridos (DGDG) en cambio en las tilacoides son más abundantes los monogalactosildiglicéridos (MGDG). Poseen también sulfolípidos y fosfolípidos: fosfatidil colina y fosfatidil glicerol. En cambio la fosfatidil etanolamina que es abundante en las membranas de las mitocondrias y en las membranas del RE, está ausente en las membranas del cloroplasto. La tabla 2 muestra la composición de lípidos de membrana presente tanto en el envoltorio como en las membranas tilacoidales de los cloroplastos de *Vicia faba* y compara estos lípidos con los que constituyen las membranas mitocondriales y microsomales de la misma planta (Mackender y Leech 1974).

Tabla 2. Composición lipídica de la fracción subcelular aislada de hojas de *Vicia faba* L. Adaptado de: Mackender y Leech. 1974. MGDG, monogalactosildiglicérido; DGDG, digalactosildiglicérido; P-colina, fosfatidil colina; P-glicerol, fosfatidil glicerol; P-etanolamina, fosfatidil etanolamina.

Fracción subcelular	Lípido (μmoles/μmoles de lípido analizado)				
	MGDG	DGDG	P-colina	P-glicerol	P-etanolamina
Envoltorio del cloroplasto	291	324	296	89	0
Lámelas del cloroplasto	654	262	28	55	0
Mitocondrias	102	128	435	78	257
Fracción microsomal	82	204	476	96	142

La tabla 3 compara la composición de ácidos grasos de los lípidos de membrana de los envoltorios y de las membranas tilacoidales con los ácidos grasos de los lípidos de membrana mitocondriales y microsomales de *Vicia faba*. En esta tabla es posible observar que en los lípidos de membranas de los envoltorios y tilacoidales predominan de ácido grasos insaturados. Son extraordinariamente abundantes los ácidos grasos insaturados como es el ácido linolénico de 18 átomos de carbonos con 3 doble enlaces conjugados. Así las membranas tilacoidales tienen un 83% de sus ácidos grasos como ácido linolénico. En cambio las membranas mitocondriales y las microsomales tienen un 37 y

Tabla 3. Composición de ácidos grasos de los lípidos totales extraídos de las fracciones subcelulares aisladas de hojas de *Vicia faba* L. Los resultados son el promedio de tres análisis independientes.

Fracción subcelular	Acido Graso Constituyente (moles %)							AGI/AGS
	16:0	16:1	16:1 Δ^{st}	18:0	18:1	18:2	18:3	
Envoltorio del cloroplasto	13.3	1.8	0.0	4.3	5.8	11.5	63.3	4.7:1
Lámelas del cloroplasto	5.9	0.0	1.2	1.6	3.2	5.2	82.9	12.3:1
Mitocondrias	19.3	1.6	0.0	3.9	5.8	31.1	37.3	3.3:1
Fracción microsomal	19.8	1.1	0.0	4.8	6.1	27.6	40.7	3.1:1

41% de este ácido respectivamente (Mackender y Leech 1974). Esto plantea la pregunta fundamental: ¿Por qué el cloroplasto exige una constitución de membrana tan particular y diferente a la de otros organelos? Recordemos que los dobles enlaces conjugados pueden resonar, y por lo tanto pueden movilizar electrones.

Los cloroplastos dentro de las células se pueden posicionar de acuerdo a la cantidad de luz. Si hay oscuridad o una intensidad de luz azul baja, los cloroplastos se posicionan cerca de la superficie de la célula. En cambio con alta intensidad de luz azul, los cloroplastos se posicionan en los márgenes de la célula cerca de la pared celular donde el organelo no recibe tanta luz. En estos movimientos y orientaciones del cloroplasto participan filamentos de actina y otros elementos del citoesqueleto.

Membranas tilacoidales estudiadas por criofractura, revelan numerosos complejos proteicos incluidos dentro de la membrana bicapa. Hoy se conoce que las dos unidades fotosintéticas, los fotosistemas I y II, se encuentran en las membranas tilacoidales. En el interior de las membranas que constituyen las vesículas tilacoidales que forman los granas predomina el fotosistema II, en cambio en los márgenes de las membranas de las vesículas tilacoides predomina el fotosistema I. Este fotosistema es también abundante en las regiones intergranas. Hoy día se conoce que el complejo citocromo b_6f tiene su ubicación en las membranas de los granas en una posición entre el fotosistema II y el fotosistema I. Rodeando a los fotosistema están además los sistemas cosechadores de luz y los sistemas antena que rodea al fotosistema II.

Cloroplastos son un caso particular de plastidios, organelos muy versátiles de la célula vegetal

Los plastidios son organelos que sólo se encuentran en células de plantas incluyendo a las algas. Según como se diferencien pueden constituir un organelo de síntesis y/o almacenamiento de moléculas útiles para la vida de la célula o ser fotosintéticos como en el caso de los cloroplastos. Ellos se originan a partir de los proplastidios que se encuentran en los meristemas o en el embrión de la semilla. Como proplastidio posee un envoltorio de doble membrana y según las señales del medio que reciba durante su desarrollo se diferenciará en cloroplastos, amiloplastos, leucoplastos, o cromoplastos (Fig. 31). En la mayoría de las plantas, la célula que contiene proplastidios tiene que recibir luz para que se inicie la diferenciación de las membranas tilacoidales. A la inversa, si una planta iluminada que ha desarrollado cloroplastos, se la pone en oscuridad, los cloroplastos se desdiferencian a etioplastos, y si después de algún tiempo la planta se pone nuevamente a la luz, los etioplastos se rediferenciarán en cloroplastos. Los etioplastos no tienen pigmentos y por eso son sin color dándole a las partes de la planta etiolada un color blanquecino. En el interior de los etioplastos es posible encontrar por microscopía electrónica, cuerpos prolamelares que son túbulos membranosos almacenados en el estroma plastidial. A partir de estos cuerpos prolamelares las membranas tilacoides se reconstruyen rápidamente cuando la planta es expuesta nuevamente a la luz.

Estudios de microscopía de fluorescencia han demostrado que plastidios en los cuales se expresa la proteína fluorescente verde, están conectados unos con otros por estrómulos. Estas estructuras

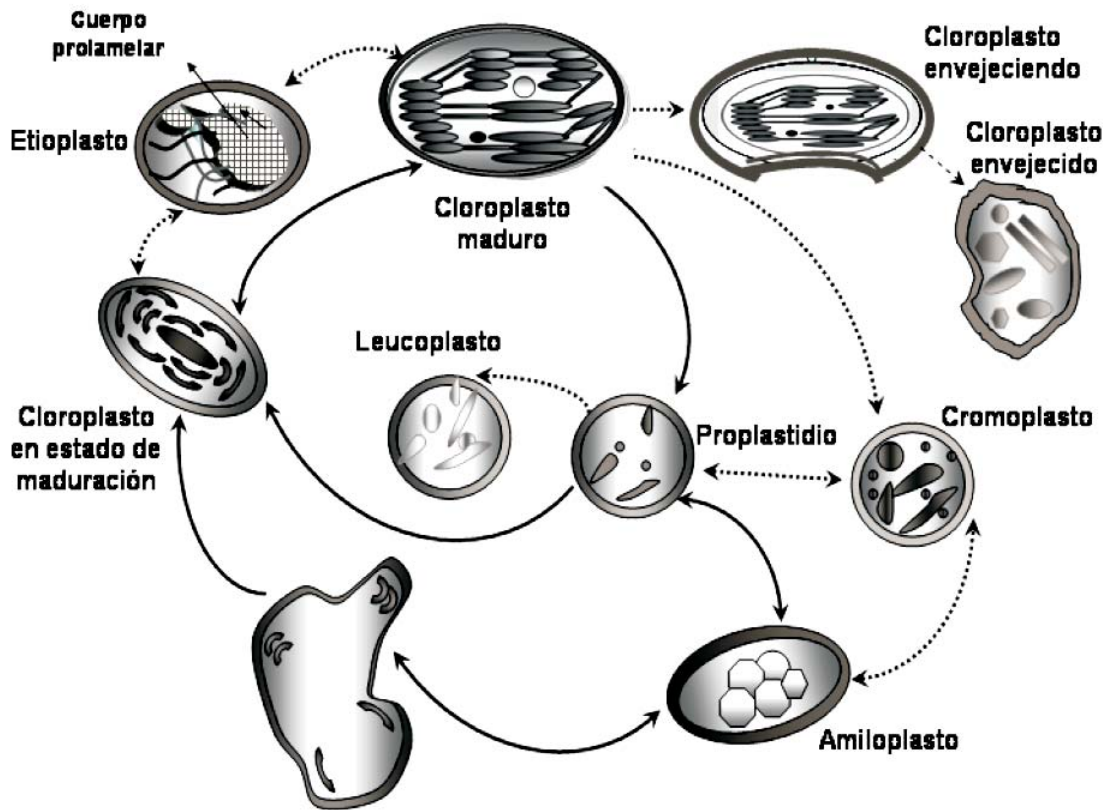


Fig. 31. Versatilidad de los plastidios. Diagrama que representa la interconversión de los plastidios bajo ciertas condiciones del medio ambiente o durante los procesos de diferenciación de tejidos y las etapas de desarrollo de los cloroplastos.

tubulares se caracterizan por ser contráctiles y fusionarse con la superficie o con estrómulos de otros plastidios. Se supone que estos estrómulos pueden permitir el intercambio de material entre plastidios, principalmente intercambio de material genético.

Los plastidios tienen su propio genoma

Cada plastidio posee un cromosoma constituido de ADN circular que recuerda al ADN bacteriano ya que se encuentra ubicado en el estroma plastidial. Es conveniente señalar que cada plastidio posee hasta 50 copias de este genoma. Este ADN codifica para numerosas proteínas que se encuentran en el plastidio, el que a su vez posee una maquinaria ribosomal constituida de ribosomas similares en estructura y tamaño (70S) a los ribosomas bacterianos.

Por poseer su propio genoma, los plastidios pueden autocopiarse y se reproducen por fisión después que el genoma ha sido duplicado (Fig. 30). En células en cultivo es muy fácil observar cloroplastos en división como es el caso de las células del megagametofito cultivado *in vitro* de *Araucaria araucana* (Cardemil y Jordán 1982).

Durante el curso de la evolución muchos genes contenido en el genoma plastidial pasaron al genoma nuclear. Este es el caso de la RUBISCO, cuya subunidad pequeña es codificada por genes nucleares. De manera que la proteína de la subunidad pequeña de esta enzima se sintetiza en el protoplasma celular y luego debe viajar al interior del cloroplasto donde se ensambla con la subunidad grande de la enzima que está codificada en el genoma del cloroplasto. Esta separación de los genes que contenía originalmente el genoma de la célula cianoficea que originó al cloroplasto, ha exigido que por evolución los genomas nuclear y plastidial estén coordinados. En la plantas esta coordinación se ha realizado por la luz, gracias a la existencia de moléculas que absorben luz roja, como es el fitocromo y luz azul como es el criptocromo.

Mitocondrias

Las mitocondrias son organelos especializados en la síntesis de ATP

Las mitocondrias son organelos típicos de células eucariontes provenientes de un simbiosis ancestral entre una célula proto-eucarionte y una bacteria. Como consecuencia de su historia antigua, las mitocondrias poseen su propio genoma y ribosomas características de los procariontes. Ellas, como en el caso de los cloroplastos son capaces de dividirse autónomamente de la célula donde se encuentran (Cardemil y Jordán 1982).

Típicamente una mitocondria mide 1-3 μm de largo, pero su forma en la célula es muy variable. Además se mueve por el citosol mediante los microfilamentos del citoesqueleto. Su arquitectura consiste en una membrana doble envolviendo una fase soluble, la matriz, y en la matriz se encuentra el genoma, los ribosomas y enzimas solubles del Ciclo del Ácido Cítrico. La membrana interna es sumamente doblada formando numerosas crestas o invaginaciones hacia la matriz produciendo una gran superficie (Fig. 32). El rol principal de las mitocondrias es la generación de ATP (adenosina trifosfato) y este proceso ocurre vía la cadena respiratoria y la ATP sintasa, ambos compuestos por complejos proteicos insertados en la membrana interna (Capítulo 11). Durante el movimiento de electrones entre los distintos componentes de la cadena respiratoria, se genera una fuerza motriz de protones (fmp) a través de la membrana interna, expulsando protones de la matriz al citoplasma. La membrana interna es altamente impermeable, y los protones solo pueden regresar a la matriz mediante la ATP sintasa, generando ATP. Debido a su impermeabilidad, también

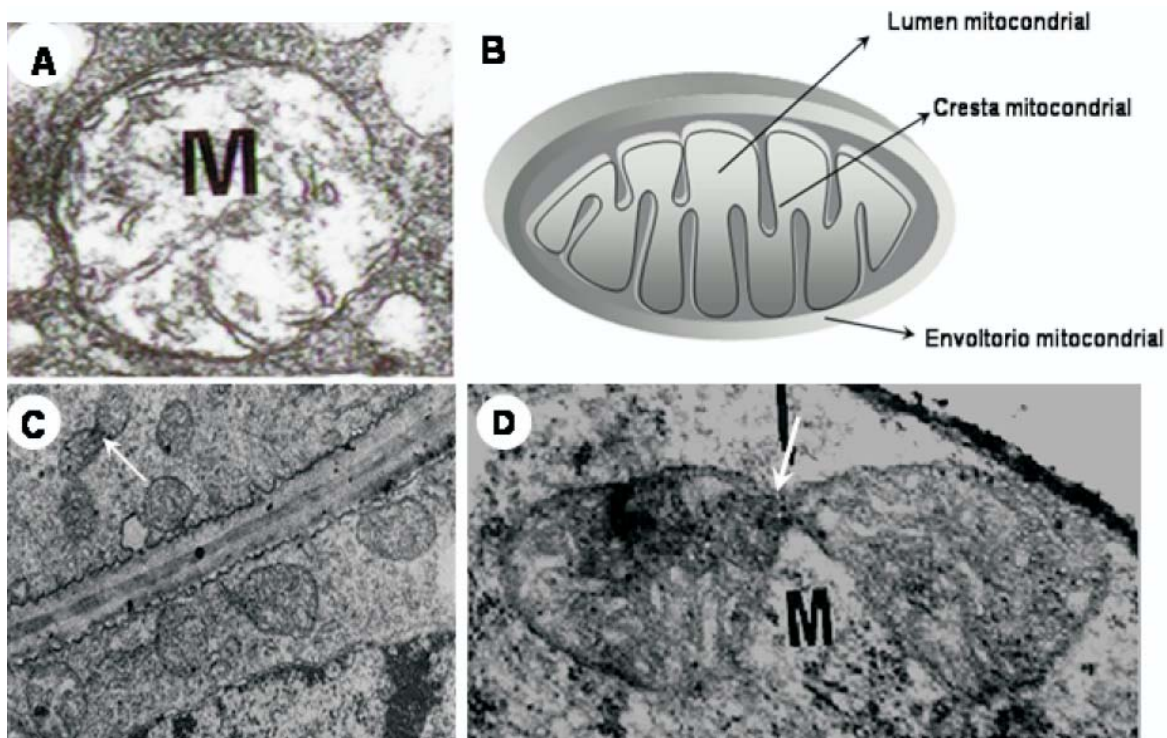


Fig. 32. Estructura de mitocondrias. A: Microfotografía electrónica de una mitocondria de célula parenquimática de cotiledones de *Araucaria araucana* (gentileza de Cardemil y Lozada). B: Diagrama de una mitocondria mostrando su estructura interior. C: Conjunto de mitocondrias presentes en células de cotiledones de *Araucaria araucana* próximas a las paredes celulares de dos células contiguas. Flecha blanca señala un mitocondria en división (gentileza de Cardemil y Lozada). D: Mitocondrias en división en células de megagametofito de *Araucaria araucana* cultivado in vitro (gentileza de Cardemil y Jordán). Flechas apuntan a mitocondrias en división.

se encuentran numerosos transportadores para el tránsito de iones y metabolitos entre la mitocondria y el citosol, y frecuentemente la energía requerida para conducir el transporte proviene de la misma fmp. A diferencia de la membrana interna, la membrana externa es mucho mas permeable, y proteínas llamadas porinas facilitan el transito de solutos. Algunas vías metabólicas en plantas son compartimentalizadas, como la fotorespiración, la fotosíntesis tipo C₄ y la β-oxidación, involucrando reacciones en varios organelos, incluyendo las mitocondrias. Como consecuencia, se observa con frecuencia la proximidad estrecha entre las mitocondrias y otros organelos como son los peroxisomas y los cloroplastos.

Las mitocondrias de plantas similar a los plastidios tienen multiples copias del AND genómico

El genoma mitocondrial de las plantas posee varias características peculiares. Existe en múltiples copias en cada organelo y el DNA genómico posee una forma circular que se asocia con la membrana interna. A diferencia del genoma de los plastidios, el genoma mitocondrial varía en tamaño enormemente entre especies por ejemplo el de nabo (*Brassica rapa*) es de \approx 200 kb, pero el del melón (*Cucumis melo*) es 12 veces más grande. Sin embargo, ambos codifican para un número de genes similar y en el caso de especies con genomas más largos, las regiones intergénicas son más extensas. Cuando las bacterias que originaron a las mitocondrias recién 'invadieron' la célula proto-eucarionte, las nuevas mitocondrias claramente tenían la capacidad de realizar todos sus procesos biológicos utilizando proteínas y ARNs codificados en su propio genoma. Sin embargo, durante la evolución, muchos de los genes mitocondriales han pasado al núcleo, quedando en el genoma mitocondrial los genes que codifican para varios rARN y tARN y algunas proteínas de la cadena respiratoria y de la ATP sintasa. Como consecuencia, todas las proteínas codificadas ahora en el núcleo, como por ejemplo las enzimas del Ciclo del Ácido Cítrico, y los transportadores necesarios para traspasar metabolitos entre el citosol y el organelo, deben ingresar a la mitocondria. Dichas proteínas están sintetizadas en ribosomas citosólicos y poseen una pre-secuencia en su N-terminal enriquecida en residuos básicos cada 3 o 4 aminoácidos. En su estructura secundaria, el N-terminal forma una alpha hélice anfipática, con todo la carga hacia un lado. Utilizando proteínas citosólicas, esta estructura está reconocida por complejos de proteínas de la membrana externa e interna, para ser traspasada hacia la matriz del organelo con el uso de energía. La pre-secuencia está cortada, y en el caso de proteínas cuyos destinos son las membranas, una segunda secuencia dirige la proteína a su lugar correcto.

Vacuolas

Las vacuolas constituyen un gran compartimiento celular

Las vacuolas son compartimentos celulares importantes para el crecimiento celular, almacenamiento de numeroso compuestos y el metabolismo lítico de la célula. En células meristemáticas como en las células embrionarias, las vacuolas pueden no estar presentes o son pequeñas. A medida que la célula se aleja del meristema y comienza a recibir señales para alargarse, la vacuola se hace visible y muchas vacuolas se reúnen en un gran compartimiento. En células de gran elongación como es el caso de la fibra de algodón, el pelo radical o los tubos polínicos, la vacuola adquiere un gran tamaño. La Figura 33 muestra la secuencia del crecimiento de una célula epidérmica de la chalaza del ovario de la flor algodón que originará a una fibra de algodón. Note el gran crecimiento de esta célula debido al crecimiento de este compartimiento celular que llega a ocupar hasta el 90% del volumen celular. Así se ha dicho que las plantas usan vacuolas para producir grandes células en forma barata por sólo incorporar agua al interior del compartimiento (Buchanan Gruissem y Jones, 2001).

La vacuola está separada del resto del citoplasma por una membrana simple llamada tonoplasto. El tonoplasto es responsable de mantener la integridad de la vacuola y controlar lo que entra y sale de ella. Hay muchas teorías de cómo se forma la vacuola en las células meristemáticas después

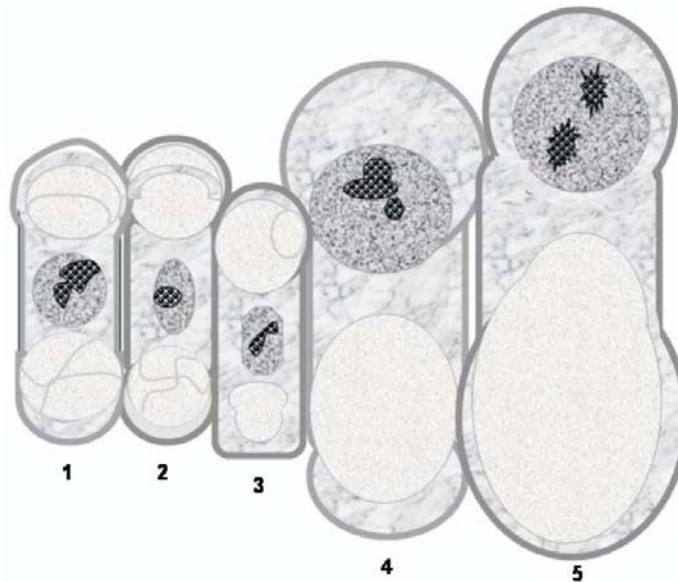


Fig. 33. Estados de desarrollo de la fibra del algodón. La fibra de algodón es una célula de la epidermis de la chalaza de ovario de la flor del algodón. Después de la polinización algunas de las células de la epidermis reciben señales y comienzan a elongarse. En este diagrama las tres primeras células (1,2 y 3) representan la estructura celular de las células epidérmicas antes de elongarse. Las vacuolas son relativamente pequeñas y están subdivididas. El núcleo tiene una posición central en la célula. Cuando el crecimiento de elongación comienza (célula 4), las vacuolas se reúnen en una sola vacuola y emigra a la parte basal de la célula. El núcleo es desplazado al extremo superior (célula 5). La célula puede elongarse hasta varios centímetros. Durante esta diferenciación la celulosa es depositada en la pared celular llegando a ser hasta un 90% de la pared.

que abandonan el meristema o en la células embrionarias cuando empiezan a diferenciarse. Hoy día con el uso de marcadores fluorescentes se ha podido observar que membranas de retículo endoplásmico liso empiezan a incorporar proteínas intrínsecas del tonoplasto como son ATPasas, α -TIP. Estas regiones del RE empiezan a acumular sacarosa y proteínas hidrolíticas formando una vesícula. Estas prevacuolas crecen rápidamente por incorporación de agua.

Durante muchos años se pensó que la vacuola contenía sólo agua y sales. Estudios que se hicieron sacando el contenido vacuolar de alga unicelulares muy grandes y que poseen una inmensa vacuola como *Nitella* sp. y *Volonia* sp. demostraron que el contenido vacuolar era mucho más complejo. Estos trabajos pioneros demostraron que las vacuolas contenían además moléculas orgánicas complejas entre las cuales es posible encontrar azúcares, metabolitos secundarios, hormonas y proteínas hidrolíticas y de reserva. Indudablemente en el tonoplasto existen muchos transportadores que permiten el tráfico de estas moléculas al interior de las vacuolas. Sin embargo, las proteínas líticas como las de reserva, entran en la vacuola a través del sistema de transporte retículo endoplásmico-Golgi. En el caso de las proteínas de reserva, las vacuolas que las contienen constituyen los cuerpos proteicos que son abundantes en endospermos y cotiledones de semillas que almacenan proteínas.

Las vacuolas son los lisosomas de las células vegetales

La incorporación de enzimas líticas en las vacuolas hace que ellas cumplan un importante rol como lisosoma. En verdad, los lisosomas no existen en la célula vegetal y es la vacuola la que cumple este papel.

El papel de lisosoma que tiene la vacuola lo podemos comprobar en la remodelación que sufren tanto las células que se diferencian en vasos y traqueidas del xilema o en los vasos cribosos del floema. Cuando estas células se diferencian en vasos conductores, la vacuola crece enormemente a medida que la célula se alarga. El tonoplasto cambia su permeabilidad y las enzimas hidrolíticas

de la vacuola comienzan a digerir el citoplasma celular. En el caso de los vasos y traqueidas xilemáticas, el citoplasma desaparece totalmente. En las células de los vasos cribosos, quedan vestigios de membranas del ER y fantasmas de organelos que posiblemente tienen una función en el transporte del floema como es el caso de membranas del ER parte de las cuales emigran a los poros de las placas cribosas.

El papel lítico de la vacuola también se aprecia en la secreción del néctar por nectarios que entregan una masiva secreción de néctar el día de la antésis floral. En las células que constituyen estos nectarios, la vacuola crece durante el desarrollo del nectario impulsando el crecimiento celular. Al final de este crecimiento la vacuola prácticamente fagocita a organelos como amiloplastos y mitocondrias lo que enriquece al néctar de azúcares y proteínas. Estos organelos que entran en el líquido vacuolar se hidrolizan totalmente en el líquido vacuolar hasta desaparecer. Este es el caso de nectarios florales de plantas como las Bignionaceas la que pertenece *Ecrenocapus scaber*, planta que podemos encontrar en los faldeos de Farellones en la precordillera de Santiago de Chile. En la Figura 27 se puede observar amiloplastos y otros organelos de las células de los nectarios que comienzan a ser digeridos en la vacuola celular aumentando el contenido de azúcares solubles en este compartimiento de las células parenquimáticas de los nectarios (Belmonte, Cardemil y Arroyo 1993).

Las vacuolas cumplen además la función de almacenar moléculas indicadores de alguna señal importante del ciclo de vida y reproductivo de las plantas. En angiospermas las vacuolas almacenan flavonoides como las antocianinas que dan color a los pétalos florales. Colores azules y rojos de los pétalos indican la presencia de pigmentos antociánicos en la vacuola celular. Estos colores de los pétalos son señales para que los insectos puedan reconocer a la flor a la distancia y aterrizar en los pétalos, señal importantísima para la polinización. En este caso particular las antocianinas viran según el pH de la vacuola. Los colores azules existen en vacuolas de pH ligeramente básico, en cambio los colores rojos y púrpura ocurren en vacuolas de pH más ácido. Hay flores que cambian en un solo día el color de azul intenso a púrpura y a rojo. Es el caso de la flor del suspiro japonés (*Ipomea tricolor*) que tienen un solo día de vida. Es de un bello color azul en la mañana y a medio día su color vira a púrpura y luego a rojo señal de que la flor comienza su senescencia. El cambio de color se debe a la presencia de etileno que induce un cambio de pH en la vacuola activando bombas de protones y haciendo virar el color de las antocianinas (Fig. 34).

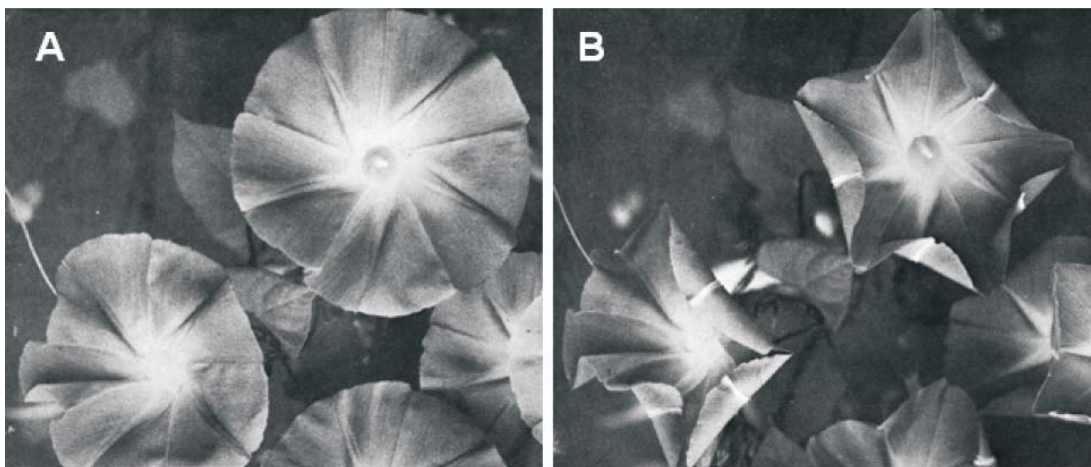


Fig. 34. Rol de la vacuola en el cambio de color de los pétalos y como regulador de su marchitamiento. Fotografía de las flores de *Ipomea tricolor* (suspiro japonés) que dura sólo un día (archivos de Liliana Cardemil). A: Al comienzo del día cuando la flor abre su corola es de color azul en la parte periférica de los pétalos y en el centro es de color blanco. A medio día la flor muestra su máximo esplendor. B: Después de medio día la flor paulatinamente cambia a color rojo por acidificación de la vacuola, signo del comienzo del envejecimiento. En la tarde los pétalos comienzan a plegarse debido a la pérdida de agua de las vacuolas principalmente las que están presente en las células parenquimáticas de los haces vasculares de los pétalos.

Peroxisomas

El agua oxigenada generada en células vegetales se detoxifican en los peroxisomas

Aunque los peroxisomas son organelos que se encuentran también en células de otros reinos, en las célula vegetal cumplen funciones muy importantes y únicas, muy diferentes a las que cumplen en otros organismos no vegetales. Están separados del citoplasma por una membrana simple. Carecen de un genoma y, por lo tanto, todas las proteínas, alrededor de 50 en total, están codificadas en el núcleo. Para entrar al organelo, las proteínas que están destinadas a él, poseen un péptido señal en su N- o C-terminal. Frecuentemente de tamaño esférico (diámetro alrededor de 1 μm), muchos tienen una estructura cristalina en su interior (Fig. 35). Este cristal es de catalasa, la enzima marcadora del organelo y más abundante de los peroxisomas, y refleja su rol crítico en eliminar el agua oxigenada producida en este compartimiento. El papel de los peroxisomas en la planta es órgano- o tejido-especifico. Por ejemplo en hojas, funcionan en la recuperación de carbono a través del proceso de fotorespiración. En cambio en raíces de legumbres, en semillas y en tejidos de reserva nutritiva en general, los peroxisomas participan en

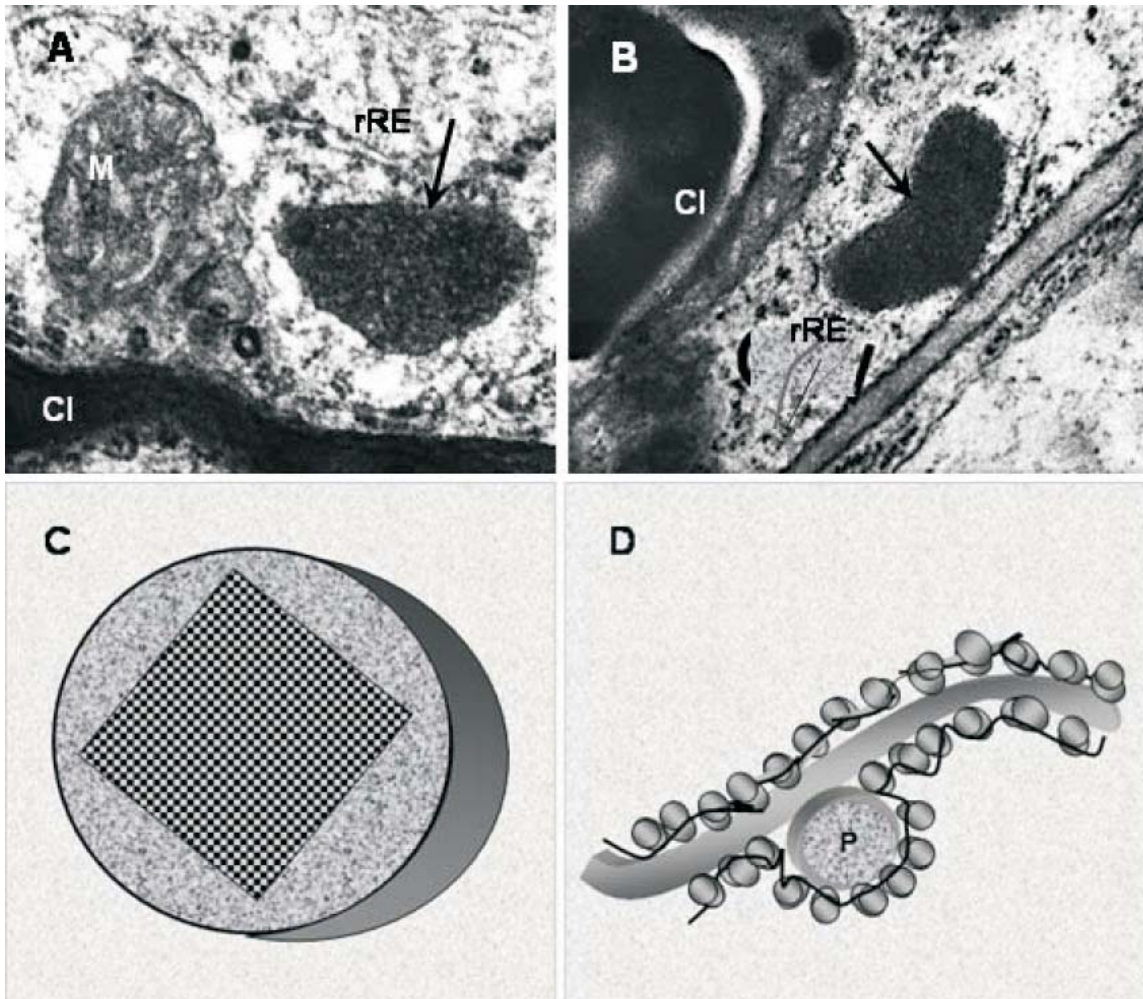


Fig. 35. A Estructura de los peroxisomas. A y B: Microfotografías electrónicas de glioxisomas en células cultivadas in vitro de megagametofito de *Araucaria araucana* (gentileza de Cardemil y Jordán). Los glioxisomas están señalados con flechas y próximos a cloroplastos y RE rugoso. Cl, cloroplasto; M, mitocondria; rRE, retículo endoplásmico rugoso. C: Diagrama de la estructura de un peroxisoma o glioxisoma. Note en el interior un cristal de catalasa. D: Diagrama mostrando la interrelación de un peroxisoma o glioxisoma con el RE rugoso. P, peroxisoma.

la movilización de lípidos almacenados (Cardemil y Jordán 1982). En este caso estos peroxisomas especializados en el metabolismo lipídico son llamados glioxisomas. Algunos autores agrupan a los peroxisomas y los glioxisomas bajo el nombre de microcuerpos.

Los peroxisomas participan en la fotorespiración como intermediarios de las reacciones que ocurren en los cloroplastos y mitocondrias

Durante las horas de mayor radiación solar y de mayor temperatura del día, la RUBISCO actúa como oxigenasa en vez de carboxilasa como ocurre cuando el ciclo de Calvin está funcionando el resto del tiempo. Cuando la enzima actúa como carboxilasa los productos son 2 moléculas de ácido 3-fosfoglicérico. Cuando funciona como oxigenasa, los productos son una molécula de ácido 3-fosfoglicérico y una molécula de ácido 2-fosfoglicólico. El 3-fosfoglicerato puede ser utilizado por las enzimas del ciclo de Calvin, pero el segundo metabolito, que posee 2 moléculas de carbono, no puede ser utilizado en esta vía. Entonces, mostrando la forma elegante de la compartimentalización dentro de las células vegetales, una compleja vía metabólica llamada fotorespiración (Capítulo 9), se pone en marcha para evitar una pérdida sustancial de carbono. La vía de la fotorespiración ocurre en los cloroplastos, los peroxisomas y las mitocondrias, y mediante microscopía electrónica, frecuentemente se encuentra estos tres organelos muy adyacentes unos con otros en las hojas de las plantas llamadas C₃, que son aquellas en que la única vía de asimilación del CO₂ es el ciclo de Calvin (Fig. 36). El 2-fosfoglicolato se defosforila en el cloroplasto por acción de una fosfatasa y el ácido glicólico se transporta al peroxisoma donde es oxidado a glioxalato por acción de una peroxidasa, la glicolato oxidasa. Uno de los productos de esta vía en el peroxisoma durante la conversión de glicolato a glioxalato es el agua oxigenada, que es rápidamente degradada por la catalasa tan abundante en este organelo. El glioxalato es posteriormente transaminado para formar glicina y ácido α -keto glutárico. La glicina es transportada entonces a la mitocondria donde por acción de un complejo enzimático que utiliza dos moléculas de este aminoácido, se transforma en serina con formación de CO₂ y NH₃. El CO₂ sale de la hoja y por esta razón el proceso se denomina fotorespiración, ya que la planta toma O₂ y desprende CO₂ como en la respiración mitocondrial, sólo que acá el proceso es activado por la luz.

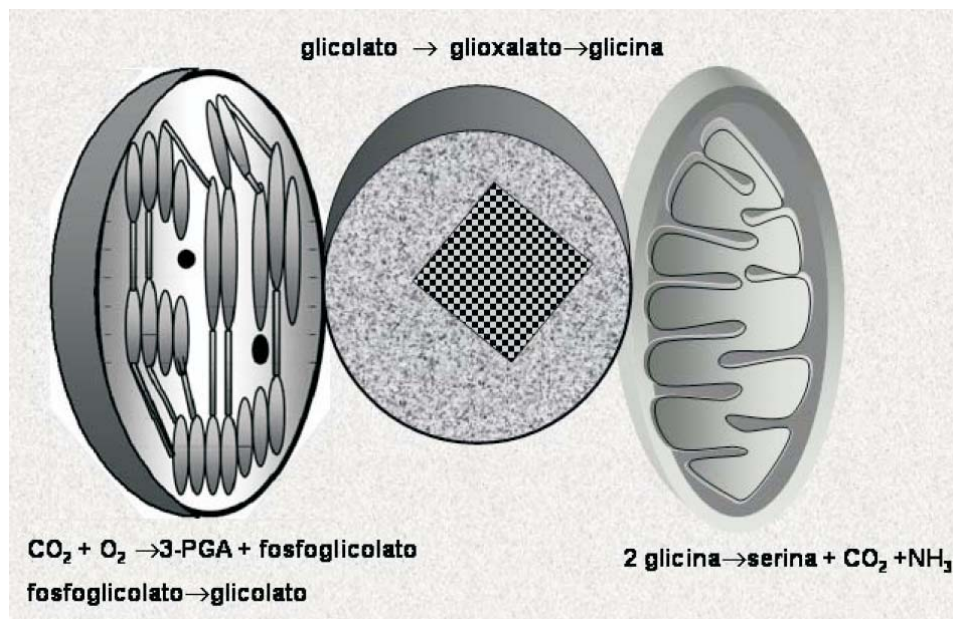


Fig. 36. Proximidad de organelos en la fotorespiración. Diagrama mostrando la estrecha proximidad entre cloroplastos, peroxisoma y mitocondrias de una hoja de planta C₃ durante la fotorespiración. El diagrama muestra además las principales reacciones bioquímicas que ocurren en cada organelo.

Los glioxisomas (peroxisomas) son importantes detoxificadores en la β -oxidación de los ácidos grasos en semillas que almacenan lípidos

La catalasa de los peroxisomas también juega un rol vital en la detoxificación del agua oxigenada producida durante la β -oxidación de ácidos grasos en glioxisomas de semillas con reserva lipídica. Esta movilización, en la cual también participa las mitocondrias, incluye el ciclo glioxalato y ocurre en los peroxisomas y mitocondrias de cotiledones de semillas de algunas especies como el girasol. La germinación está asociada así con una gran inducción de genes que codifican a enzimas necesarias para realizar este ciclo. Sin embargo, al llegar a la luz, en los glioxisomas hay una fuerte caída en la actividad de las enzimas glioxisomales y un alza en las enzimas específicas de los peroxisomas, reflejando una morfogénesis gradual hacia estos organelos que participan en la fotorespiración. Esta transición gradual ha sido comprobada experimentalmente mediante el uso de anticuerpos policlonales originados contra la glicolato oxidasa, enzima marcadora de los peroxisomas de hojas que participan en la fotorespiración y anticuerpos policlonales originados contra la isocitrato liasa, enzima sólo presente en los glioxisomas. Así en cotiledones de semillas que almacenan lípidos se puede reconocer que los anticuerpos sólo reconocen isocitrato liasa y no glicolato oxidasa. A medida que los cotiledones reciben luz y pasan a ser hojas que fotosintetizan los anticuerpos reconocen la presencia de las dos enzimas en el mismo organelo. En una etapa más avanzada solo se reconoce el peroxisoma la presencia de glicolato oxidasa (Fig. 37).

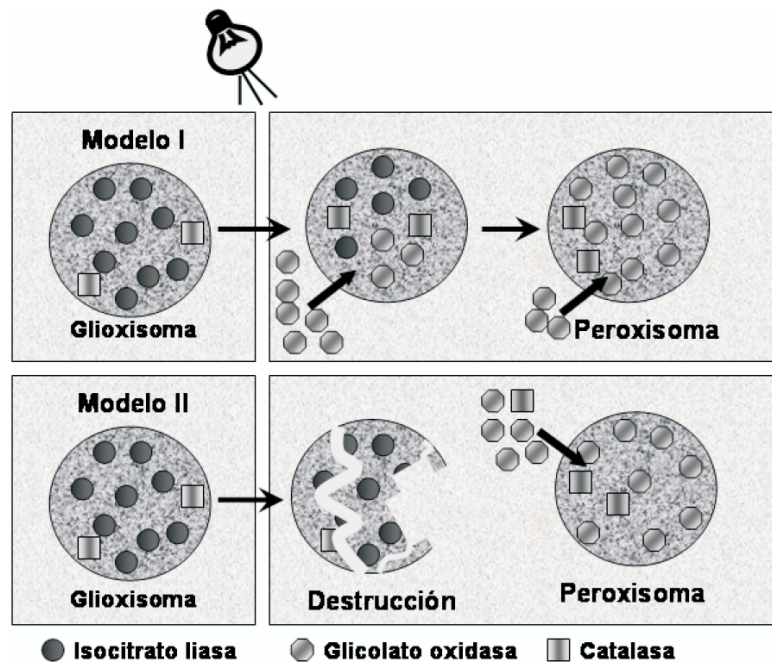


Fig. 37. Modelos del origen de los peroxisomas a partir de lo glioxisomas durante el desarrollo de cotiledones. El Modelo I muestra la transformación gradual de un glioxisoma en peroxisoma. El glioxisoma es rico en la enzima marcadora isocitrato liasa necesaria para el metabolismo energético a partir de lípidos en los cotiledones de semillas que almacenan lípidos. El peroxisoma es en cambio rico en glicolato oxidasa necesaria en la fotorespiración que ocurre en cotiledones que se tornan verdes cuando son iluminados. El Modelo II muestra a los glioxisomas como organelos distintos de los peroxisomas. Al llegar la luz los glioxisomas son destruidos y los peroxisomas son originados de novo por las células de los cotiledones.

Los peroxisomas son capaces de sintetizar ureidos en raíces de leguminosas.

Adicionalmente, un tipo de peroxisoma especializado se encuentra en células intersticiales en las raíces de algunos legumbres *Phaseolus vulgaris* (poroto), *Glycine max* (soya), *Vigna unguiculata* (porotos cowpea) adyacentes a células infectadas por las bacterias *Rhizobium* sp. que fijan nitrógeno. En las células intersticiales, ureidos como alantoina y ácido alantoico, cuyas síntesis

genera agua oxigenado, están formados en el peroxisoma para luego ser transportado al resto de la planta como método de traslocar nitrógeno.

Núcleo Celular

El núcleo es el más prominente organelo de la célula

El núcleo contiene la mayor parte de la información genética de la célula. Los genes que el núcleo contiene constituyen el genoma celular. El genoma encerrado en el núcleo es muy variable en tamaño y va desde $1,5 \times 10^8$ pares de bases en *Arabidopsis thaliana* hasta 2×10^{11} en algunas coníferas. El resto de la información genética está en las mitocondrias y cloroplastos. El núcleo es responsable de la regulación metabólica de la célula y responsable por la diferenciación celular. Es también la principal fábrica de ribosomas de la célula siendo nuevamente las mitocondrias y cloroplastos los otros organelos que también sintetizan ribosomas.

El núcleo está separado del citoplasma por el envoltorio nuclear, una estructura compleja formada de dos membranas bicapas que dejan un espacio en el interior que es el espacio perinuclear. Las dos membranas se fusionan en cada poro nuclear (Fig. 26). Estos poros constituyen la vía de comunicación entre el núcleo y el citoplasma y en número puede ser de varios miles por membrana nuclear. Cada poro tiene una compleja estructura constituida de cientos de proteínas dispuestas en forma octogonal. Ellos dejan pasar macromoléculas incluyendo los ribosomas fuera y dentro del núcleo (Fig. 38).

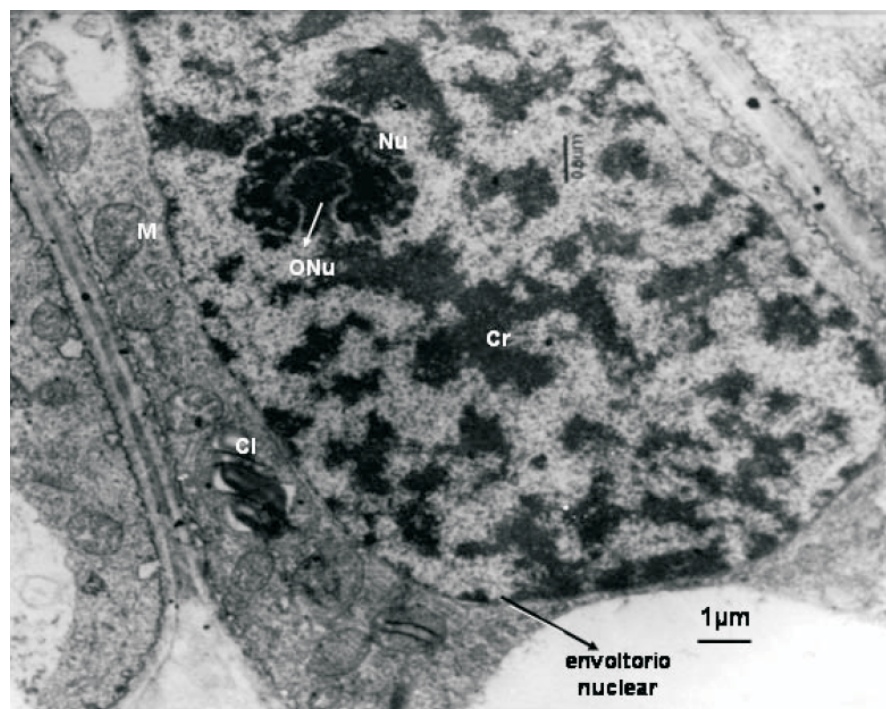


Fig. 38. Estructura del núcleo. Microfotografía electrónica de un núcleo de célula parenquimática de cotiledones de *Araucaria araucana* (gentileza de Cardemil y Lozada). Cr, cromatina; Nu, nucléolo; ONu, organizador nucleolar; Cl, cloroplasto; M, mitocondria.

El ADN que constituye el material genético del núcleo es millones de veces el diámetro del el perímetro nuclear. Para poder guardar esta inmensa molécula, el núcleo la condensa en forma de nucleoproteína. Este complejo de nucleoproteína constituye la cromatina nuclear (Fig. 38). En este complejo segmentos de ADN se enrollan dos veces alrededor de un cilindro formado de 8 unidades de histona. Este complejo constituye un nucleosoma. Los nucleosomas se reúnen como cuentas de

esféricas en un collar y forman la cromatina. Durante la mitosis, la cromatina se condensa formando cromosomas. Esta condensación constituye una fibra de cromatina de 30 μm con 6 nucleosomas por vuelta y posteriormente plegándose en un cromosoma. Por esta razón los cromosomas se hacen visibles durante la mitosis. En la interfase mitótica, la cromatina se encuentra relajada haciéndose casi imperceptible.

En la interfase mitótica dos tipos de cromatina son visibles: la heterocromatina y la eucromatina. La heterocromatina es muy compacta y no transcribe genes y por lo tanto es inactiva. La eucromatina es en cambio transcripcionalmente activa y para ello se encuentra en forma dispersa y relajada. Aproximadamente un 10 % de la eucromatina del núcleo se transcribe a la vez. El otro 90 % se encuentra en una forma intermedia de condensación entre eucromatina y heterocromatina.

El nucléolo es el compartimiento más prominente dentro del núcleo en la interfase mitótica

En este compartimiento se realiza la síntesis y ensamblaje de las subunidades ribosomales. El nucléolo reúne partes de uno o más cromosomas donde se encuentran los genes que codifican el ARN ribosomal (rARN), tanto de la subunidad pequeña como grande de los ribosomas. Cada uno de estos genes está constituido por múltiples copias de región codificante para los rARN. El nucléolo también ensambla el rARN de cada subunidad con las proteínas ribosomales. La región dentro del nucléolo en que ocurre este ensamblaje se llama organizador nucleolar (Fig. 38). Debido a que hay varias copias de los genes que codifican para el rARN, cada uno conteniendo múltiples copias codificantes para cada rARN de cada subunidad del ribosoma, es posible encontrar varios nucléolos dentro del núcleo.

Las dos subunidades del ribosoma salen del núcleo a través del poro nuclear separadamente y en el citoplasma se ensamblan constituyendo el ribosoma 80S. Este ensamblaje ocurre uniéndose el ARN mensajero (mARN) primero con la subunidad pequeña y luego a la subunidad grande para formar el ribosoma completo.

Plasmodesmos

Los plasmodesmos son túneles o conexiones entre dos células vegetales. Los plasmodesmos son extensiones de parte especializada del RE y de la membrana plasmática que permite la interconexión de los citoplasmas de las células formando un simplasto. Su estructura es muy compleja (Fig. 39).

Los plasmodesmos pueden ser simples, en los que hay solamente un túnel o pueden ser complejos formados por un túnel con múltiples ramificaciones o estar formado por una agrupación de múltiples túneles (Fig. 39). Cada plasmodesmo contiene un desmotúbulo que es una vesícula del retículo endoplásmico de una célula que pasa por el plasmodesmo conectando al retículo endoplásmico de la célula vecina.

Los plasmodesmos tienen una exclusión límite de tamaño que permite la difusión pasiva de moléculas y proteínas que son de un tamaño menor que este límite. Sin embargo, los límites de exclusión de tamaño de los plasmodesmos no son fijos. Su apertura cambia durante el desarrollo o en respuesta a factores del medio ambiente. Por ejemplo, el virus TMV (virus del mosaico del tabaco) codifica por una proteína de movimiento. Esta proteína de movimiento es capaz de aumentar el límite de exclusión de tamaño del plasmodesmo.

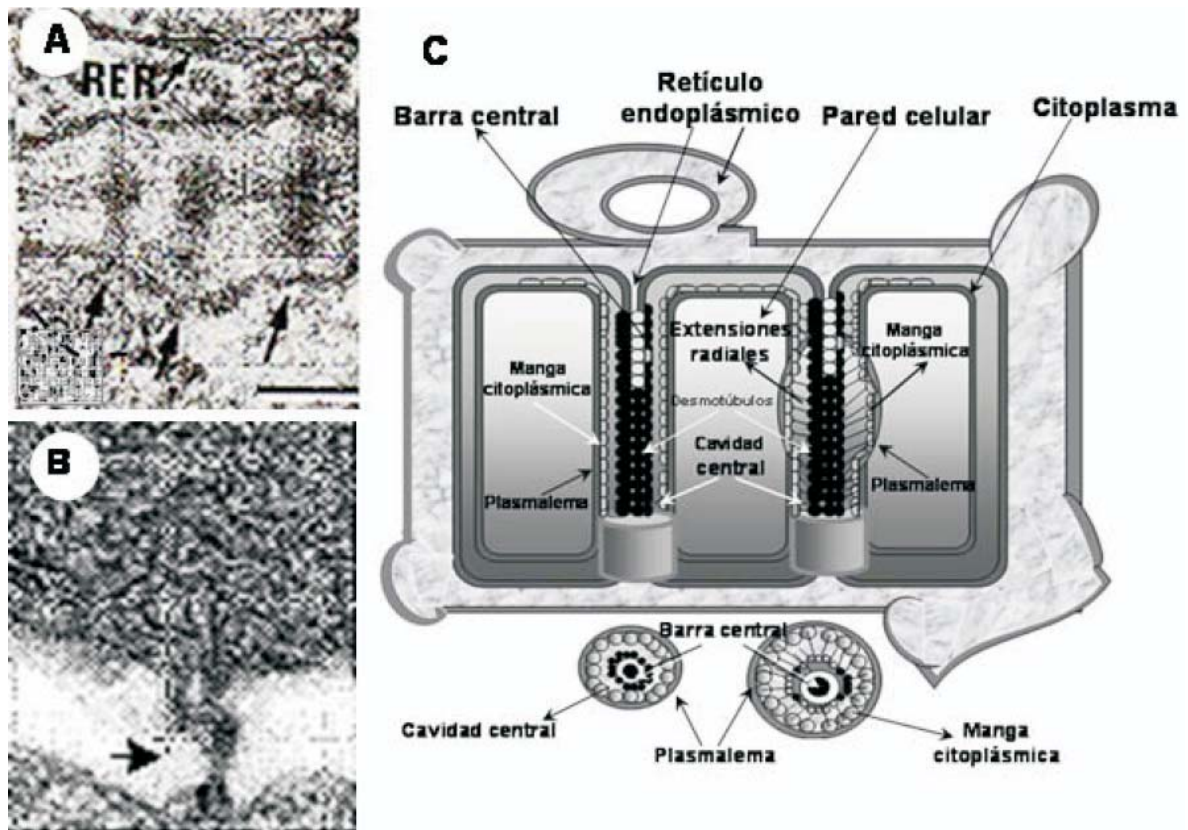


Fig. 39. Estructura de los plasmodesmos. A: Microfotografía electrónica de tres plasmodesmos (flechas) presentes en la pared celular de un célula del parénquima del nectario de *Eccrenocarpus scaber* (gentileza de Belmonte, Cardemil y Arroyo). B: Plasmodesmo ramificado en la pared celular de una célula de *Arabidopsis thaliana* (gentileza de Mercado y Meisel). C: Diagrama de la estructura de un plasmodesmo.

Resumen

Las células que constituyen los organismos de las plantas se caracterizan por tener organelos y compartimentos que estando presentes en otros organismos de otros reinos de los seres vivos, en la célula vegetal se encuentran reunidos en una sola célula.

1.- Así, poseen una matriz extracelular compleja (pared celular) que da forma a la célula y por lo tanto, le permite cumplir una función determinada cuando ella se diferencia. Esta matriz además protege a la célula y regula el crecimiento celular.

2.- Posee cloroplastos que hace que las plantas sean organismos autotróficos y sintetizen moléculas complejas como son los carbohidratos, a partir de moléculas simples como son el CO_2 y H_2O usando la luz como fuente de energía. Con los carbohidratos que hace la célula vegetal, ella puede sintetizar todas las demás moléculas.

Otros compartimentos y organelos celulares, presentes también en organismos de otros reinos, cumplen en las células vegetales funciones diferentes.

Las vacuolas son el gran compartimento lítico de la célula, Ellas cumplen la función de los lisosomas. La célula vegetal no posee lisosomas.

Los microcuerpos: glioxisomas y peroxisomas también presentes en organismos de otros reinos, participan en las células vegetales en funciones metabólicas únicas. Los glioxisomas participan en la gluconeogénesis siendo las plantas las únicas capaces de convertir lípidos en azúcares en tejidos de reserva de las semillas que almacenan lípidos. Los glioxisomas presentes en células de tejidos de reserva se diferencian sucesivamente a peroxisomas en células que constituyen los tejidos

verdes y aquí cumplen un rol fundamental en la fotorespiración de las plantas C3.

Las mitocondrias de las células vegetales son también diferentes. Ellas tienen una respiración resistente a cianuro que se manifiesta tempranamente en el desarrollo. Además participan en funciones propias de los organismos vegetales como es el caso de la fotorespiración y en el reciclaje del CO₂ en la compleja asimilación de CO₂ de las plantas C4.

El Golgi de plantas sintetiza todos los polisacáridos complejos que constituyen la matriz de la pared celular excepto la celulosa y callosa. Esto hace que el Golgi en plantas sea también único y por el importante rol que este organelo tiene en la célula vegetal, ella posee múltiples dictiosomas y no uno sólo como en la célula animal.

Como toda célula eucariótica, la célula vegetal posee organelos derivados evolutivamente de células procarióticas. Así las mitocondrias de todos los organismos eucarióticos tuvieron su origen en un proceso de endosimbiosis con bacterias. Sólo que en la célula vegetal el origen y evolución de organelos fue más compleja porque la célula posee además plastidios derivados posiblemente de otro acontecimiento endosimbiónico con células de cianofíceas. Así encontramos en la célula vegetal la integración de tres genomas distintos, el nuclear, el mitocondrial y el plastidial. Estos genomas funcionan coordinadamente y muchos genes codificados en estos genomas, se expresan al unísono inducidos por luz en el núcleo, en la mitocondria y en los cloroplastos.

La celulosa, que es el polisacárido más abundante de la tierra, es sintetizada por complejos enzimáticos localizados en la membrana plasmática de la célula vegetal. Estos complejos de celulosa sintetasa también los podemos encontrar en bacterias tal como es el caso de *Agrobacterium tumefaciens* y de *Acetobacter xylinum*. Como la celulosa sintetasa de las plantas tiene homología con las enzimas bacterianas se supone que este sistema enzimático derivó en plantas a partir del sistema bacteriano.

Las células de las plantas están todas comunicadas a través de los plasmodesmos, complejas estructuras constituidas por vesículas del RE y plasmalema y un sinnúmero de moléculas que forman soporte del bastón central del plasmodesmo al atravesar la pared celular. A diferencia de las células animales en que cada célula tiene su membrana plasmática, acá el plasmalema y el retículo endoplásmico forman un continuo en toda la planta formando un gran sincicio celular.

Preguntas y Problemas

- 1.- ¿Qué características únicas posee la célula vegetal si se compara con células de organismos que pertenecen a otros reinos?
- 2.- ¿Qué origen evolutivo tienen algunos compartimentos celulares de la célula vegetal?. Mencione estos compartimentos.
- 3.- ¿Cuál es "el modelo de mosaico fluido de membrana"? Explique.
- 4.- ¿Qué son las proteínas integrales de membranas?
- 5.- ¿Cómo cambia el estado físico de una membrana con la temperatura?
- 6.- ¿Cómo se define una pared primaria? ¿Cómo se define una pared secundaria?
- 7.- ¿Qué componentes moleculares tiene toda pared celular?
- 8.- ¿Qué estructuras celulares están asociadas a los depósitos de celulosa de alto grado de polimerización y a la lignina?
- 9.- ¿Qué diferencias existen entre la celulosa depositada en la pared primaria y la celulosa depositada en la pared secundaria?
- 10.- ¿De qué manera la célula vegetal sintetiza celulosa?
- 11.- La síntesis de celulosa ¿ocurre en todos los organismos vegetales de igual forma? Explique.
- 12.- ¿Cuántos genes hay en el genoma de una planta que codifican para la celulosa sintetasa?
- 13.- ¿Cuántos tipos de pectinas hay en una pared celular? ¿Qué función cumplen en la pared celular las pectinas?

- 14.- ¿Qué función cumplen en la pared primaria las hemicelulosas?
- 15.- ¿Cuántas proteínas estructurales es posible encontrar en la pared celular?
- 16.- ¿Qué característica estructural tienen las proteínas de pared celular?
- 17.- ¿Qué propone "la hipótesis del crecimiento ácido de la célula vegetal"?
- 18.- ¿Qué experimentos apoyan a esta hipótesis?
- 19.- ¿Qué argumentos se sostienen en contra de "la hipótesis del crecimiento ácido de célula vegetal"?
- 20.- ¿Cómo se puede explicar el crecimiento de elongación de la pared celular de acuerdo a "la hipótesis del crecimiento ácido"?
- 21.- ¿Qué enzimas pueden explicar la relajación de la pared celular cuando el crecimiento en elongación de la célula vegetal ocurre? Explique.
- 22.- ¿Qué son los arabinogalactanos y que función cumplen en la célula vegetal?
- 23.- ¿Qué estructura tienen las ligninas?
- 24.- ¿Por qué al RE se le considera un organelo muy versátil?
- 25.- ¿Qué dominios posee el RE?
- 26.- ¿De qué región del RE se origina: el Golgi, los peroxisomas, los liposomas, las vacuolas?
- 27.- ¿Qué estructura tiene la membrana nuclear?
- 28.- ¿Qué estructura tiene el Golgi?
- 29.- ¿Qué diferencias existen entre el Golgi de una célula animal y el Golgi de una célula vegetal?
- 30.- ¿Podría Ud. describir la trayectoria de una vesícula secretora cuyo contenido se va exportar fuera de la célula? ¿De una vesícula que constituirá un cuerpo proteico?
- 31.- ¿Qué componentes polisacáridos de la pared celular no se sintetizan en el Golgi? ¿Por qué?
- 32.- ¿Qué estructura tiene el cloroplasto?
- 33.- ¿Cuál es la principal característica de los lípidos que constituyen el envoltorio y lámelas de los cloroplastos? ¿Qué diferencia existe entre esta composición y los lípidos de mitocondrias y microsomas?
- 34.- ¿Por qué los plastidios se consideran organelos relacionados? Explique.
- 35.- ¿Qué son las granas?
- 36.- Además de los lípidos, ¿qué otros componentes existen en las membranas tilacoidales que forman las granas e intergranas?
- 37.- ¿Qué función cumplen las mitocondrias?
- 38.- ¿Qué diferencias existen entre la membrana externa y la interna de las mitocondrias?
- 39.- ¿Qué diferencias existen entre las mitocondrias de las células animales con las de las células vegetales?
- 40.- ¿Qué significa para la célula vegetal tener tres genomas en una sola célula?
- 41.- ¿Qué función tienen las vacuolas en la célula vegetal?
- 42.- ¿Qué otro organelo de las células animales cumple funciones similares a las vacuolas de las células vegetales?
- 43.- ¿Qué son los microcuerpos? ¿Qué función cumplen en las células vegetales?
- 44.- En la sucesión de glioxisomas → peroxisomas → glioxisomas que ocurre en la planta desde la germinación a la senescencia. ¿Cuál es la hipótesis más probable para el origen de estos organelos? ¿Cómo podría Ud. probar experimentalmente esta hipótesis?
- 45.- ¿De qué manera guarda el núcleo la inmensa información genética que está codificada en la molécula de ADN?
- 46.- ¿Cómo está constituido el poro de la membrana nuclear?
- 47.- ¿Qué son las zonas organizadoras de los nucléolos?
- 48.- ¿Qué son los plasmodesmos y cómo están constituidos?

Lecturas Generales

BUCHANAN BB, GRUISSEM W & JONES RL. 2000. Biochemistry & Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland, USA.

- SALISBURY FB & CW ROSS. 1992. Plant Physiology. 4th. ed. Belmont, CA. Wadsworth. USA. 682 pp.
- TAIZ L & ZEIGER E. 2006. Plant Physiology. Fourth Edition. Sinauer Associates. Sunderland, MA. 764 pp.

Literatura Citada

- BELMONTE E, CARDEMIL L & ARROYO M.T.K. 1994. Morphology anatomy and ultrastructure of the floral nectary of *Eccremocarpus scaber* (Bignoniaceae), a hummingbird-pollinated plant of Central Chile. American Journal of Botany 8: 493 - 503.
- BROWN MR & MOTEZINOS D. 1975. Cellulose microfibrils: Visualization of Biosynthetic and orienting complexes in association with plasma membrane. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 73: 143-147.
- CARDEMIL L. & JORDAN M. 1982. Light and electron microscopic study of *in vitro* cultured female gametophyte of *Araucaria araucana* (Mol.) Koch. Zeitschrift für Pflanzenphysiologie 107: 329 - 338.
- CHEN J & VARNER JE. 1985. Isolation and characterization of cDNA clones for carrot extensin and a proline-rich 33-kDa protein. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 82: 4399-4403.
- CLELAND R. 1973. Auxin-induced hydrogen ion excretion from Avena coleoptiles. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 70: 3092-3093.
- COSGROVE DJ. 1997. Relaxation in high stress environment: The molecular bases of extensible cell walls and cell enlargement. Plant Cell 9: 1031-1041.
- DOBLIN MS, KUREK I, JACOB WILK D & DELMER DP. 2002. Cellulose biosynthesis in plants: from genes to rosettes. Plant and Cell Physiology 43: 1407-1420.
- HANDFORD MG. 2006. Biosynthesis of Plant Cell walls. Ciencia e Investigación Agraria 33: 179-196.
- LAMPORT DTA 2001. behind cell walls: paradigm lost, paradigm regained. Cellular and Molecular Life Sciences 58: 1363-1385.
- MACKENDER RQ & LEECH RM. 1974. The galactolipid, phospholipids, and fatty acid composition of the chloroplast envelope membranes of *Vicia faba* L. Plant Physiology 53: 496-502.
- VAN HOLST GJ & VARNER JE. 1984. Reinforced proline II conformation in an Hydroxyprolin-rich cell wall glycoprotein from carrot roots. Plant Physiology 74: 247-251.