

# Sistemas redox de la membrana plasmática de las plantas

Transplasma membrane redox systems of plant cells

MOYA, J. M. y AGÜI, I.

Departamento de Biología Vegetal. Universidad de Granada. 18071 Granada. España.

## RESUMEN

En la membrana plasmática de las plantas existen sistemas de transporte de electrones que intervienen en procesos fisiológicos tan fundamentales como el control del crecimiento celular, la reducción del  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$ , o la síntesis de lignina y sustancias antisépticas implicadas en la defensa de las plantas frente a agentes patógenos. En este artículo se discute además la relación entre el transporte de electrones y la liberación de  $\text{H}^+$ , así como la regulación de la actividad oxidorreductasa por la luz, aspectos todos ellos relacionados con la actividad y control de estos sistemas enzimáticos.

**Palabras clave:** Membrana plasmática. Sistemas redox. Células vegetales.

## ABSTRACT

Transplasma membrane redox systems of plant cells participate in such fundamental physiological processes as the control of auxin-induced growth, the reduction of  $\text{Fe}^{3+}$  to  $\text{Fe}^{2+}$  before uptake into root cells and the synthesis of lignin and antiseptic substances involved in the plant defense against pathogens. The present study examines not only these physiological roles, but also the relationship between electron transport and  $\text{H}^+$  excretion, as well as the regulation of redox activity by light, all of these aspects being related to the activity and control of these enzymatic systems.

**Key words:** Transplasma membrane. Redox systems. Plant cells.

Recibido: 4-7-1994.

Aceptado: 6-9-1994.

BIBLID [0004-2927(1995) 36:2; 199-205]

## INTRODUCCIÓN

Es un hecho admitido que en la membrana plasmática de las células vegetales existen diferentes sistemas redox (oxididasas, peroxididasas, Fe-quelatorreductasas, nitratorreductasas, ferricianurorreductasas) capaces de reducir el ferricianuro y otros aceptores exógenos de electrones.

Durante varias décadas se ha intentado establecer la posible participación de estos sistemas en diferentes procesos fisiológicos. En principio, la existencia de un acoplamiento directo entre la cadena redox y el transporte activo de iones a través de la membrana (27, 36) ha sido descartada, dado el papel predominante de la  $H^+$ -ATPasa de la membrana plasmática en el transporte iónico (43, 44). Por el contrario, una de las funciones mejor establecidas es su participación en la reducción de  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$ , requisito previo para que este elemento pueda ser absorbido a través de la raíz (18).

Los sistemas redox transmembranarios también parecen estar implicados en el control de la elongación y proliferación celular (4, 15, 33), cuya acción se ejercería a través de una oxidasa específica activada por auxinas (10, 33). Asimismo, a través de su actividad peroxidasa, intervienen en la síntesis de lignina de la pared celular (22) y en la formación de sustancias antisépticas del tipo de los taninos (6), que formarían parte de las estrategias de las células encaminadas a la defensa frente a agentes patógenos.

## COMPONENTES DE LA CADENA REDOX

Los *donadores de electrones* de la cadena redox son el NADH (13) y el NADPH (8, 45). Ahora bien, puesto que la reserva endógena de estos coenzimas sólo puede mantener la transferencia de electrones al ferricianuro durante algunos minutos, dichos compuestos deben ser suministrados de forma continua a través de la glucólisis y procesos relacionados (28). De esta forma se explica que la inhibición de la glucólisis detenga la reducción del ferricianuro (5) y que la adición de ferricianuro determine una rápida disminución de la concentración de NADH y NADPH (25).

Los *intermediarios de la cadena redox* identificados en la membrana plasmática pertenecen fundamentalmente al grupo de los citocromos b, de las flavinas y de las quinonas (13, 38).

Entre los *aceptores terminales de electrones* destacan el oxígeno (10, 26), el  $Fe^{3+}$ (7), considerado como aceptor último de electrones del sistema Fe-quelatorreductasa, y el ferricianuro, utilizado como aceptor artificial de electrones en sistemas experimentales.

## RELACIÓN ENTRE TRANSPORTE DE ELECTRONES Y LIBERACIÓN DE $H^+$

La presencia de ferricianuro estimula la acidificación del medio externo (17, 21), lo cual no sucede cuando se reduce EDTA férrico por acción del sistema Fe-quelatorreductasa (51). En cuanto a la estequiometría del proceso, medido por la relación  $H^+$ /electrones, cabe indicar que, aunque se han encontrado

valores muy divergentes (comprendidos entre 0.13 y 2.4), el 50% de los mismos se aproxima a la unidad (13, 16).

Los diferentes *mecanismos* propuestos para explicar la acidificación externa asociada con el transporte de electrones transmembranario, plantean básicamente que el flujo de  $H^+$  es una consecuencia directa, o indirecta, de la actuación del sistema redox. El hecho de que la liberación de  $H^+$ , inducida por el ferricianuro, resulte insensible tanto a los inhibidores de la  $H^+$ -ATPasa (4, 9, 29, 34), como a inhibidores mitocondriales (3), que indirectamente inhibirían la  $H^+$ -ATPasa al disminuir los niveles de ATP, estaría de acuerdo con un proceso de liberación de  $H^+$  asociado a la cadena redox. Sin embargo, otras evidencias sugieren que el flujo de  $H^+$  resulta de un efecto indirecto del sistema redox sobre la actividad  $H^+$ -ATPasa (32). El acoplamiento entre estos dos procesos se llevaría a cabo a través de la despolarización de la membrana, producida por el transporte de electrones (35), o mediante la acidificación citosólica resultante de la oxidación del NAD(P)H (32), ya que ambas situaciones determinarían la activación de la  $H^+$ -ATPasa (35, 39).

## EFFECTO DE LA LUZ SOBRE LOS SISTEMAS REDOX

La reducción del ferricianuro por los sistemas redox transmembranarios correspondientes a tejidos verdes está fuertemente estimulada por la luz (34). La evidencia de que dicha estimulación no se produzca en presencia de inhibidores de la fotosíntesis y que su espectro de acción presente un máximo que coincide con el máximo de actividad fotosintética, ha llevado a la conclusión de que el efecto positivo de la luz sería debido al aumento de productos fotosintéticos en el citosol, cuya metabolización suministraría el NAD(P)H necesario para actuar como donador de electrones del sistema redox (34, 40). Sin embargo, el hecho de que en ausencia de ferricianuro la fotosíntesis produzca una fuerte estimulación de la liberación de  $H^+$  sugiere que el sistema redox, que utiliza el oxígeno como aceptor de electrones, pueda ser estimulado por la luz (32).

Recientemente se ha indicado que la luz incrementa la actividad de los canales de  $K^+$  de la membrana plasmática (47), y que dicha activación podría estar controlada por reductantes endógenos que actuarían a nivel de los grupos sulfhidrilos de las proteínas del canal. No obstante, aún no se conoce cuál sería el papel del transporte de electrones de la membrana plasmática en la reducción de las proteínas asociadas a los canales iónicos (38).

## PAPEL FISIOLÓGICO DE LOS SISTEMAS REDOX

### *Control del potencial de membrana y movimiento de iones*

Se considera que un transporte de electrones acoplado a la liberación de  $H^+$

contribuiría a la creación de un gradiente electroquímico (26), lo cual podría regular el transporte de iones. Por el contrario, una disminución del potencial de membrana, ligada a la actividad redox, significaría que los sistemas redox transmembranarios sólo transportan electrones y que los  $H^+$  permanecerían en el interior de la célula (32, 45).

A este respecto, se ha encontrado que la reducción del ferricianuro va asociada con una inhibición del influjo o estimulación del eflujo de  $K^+$  (21, 32), capaz de compensar parcialmente la disminución del potencial de membrana (49). Por otra parte, también se ha comprobado que altas concentraciones de  $Ca^{++}$  exógeno (41) o endógeno (13) tienen un efecto positivo sobre el transporte de electrones.

Finalmente, se ha sugerido que la existencia de un sistema redox con carácter electrogénico (45), exportador de cargas netas negativas, podría constituir la fuerza directora necesaria para la absorción de aniones (30). Sin embargo, teniendo en cuenta que la caracterización del sistema redox de la membrana plasmática no está aún bien establecida, cualquier hipótesis sobre su papel en el transporte de iones resulta especulativa.

### *Reducción y absorción del Fe*

En dicotiledóneas y monocotiledóneas no gramíneas, la absorción del Fe por la raíz va ligada a la reducción de  $Fe^{3+}$  (forma no absorbible o insoluble) a  $Fe^{2+}$  (8), mientras que la secreción de sideróforos parece ser el mecanismo primario de absorción de  $Fe^{3+}$  en la mayoría de las monocotiledóneas (37).

En 1972, Chaney y col. (18) postularon que la reducción del Fe en la superficie de las células se llevaría a cabo mediante un transporte transmembranario de electrones desde un agente reductor interno hasta el  $Fe^{3+}$  externo. Este proceso sería fundamental para su posterior absorción; ya que la secreción de  $H^+$ , que acompaña al transporte de electrones, incrementa la solubilidad del  $Fe^{3+}$ , pero no favorece la permeabilidad celular (1, 8) el hecho de que en raíces deficientes en Fe, el transporte transmembranario de electrones hasta el EDTA férrico se incrementa diez veces, mientras que la reducción de ferricianuro externo sólo se ve duplicada, ha sido atribuido a la inducción de un segundo sistema transmembranario capaz de reducir los quelatos de  $Fe^{3+}$  externos mediante los electrones procedentes de NADPH citosólico (8, 46). A este sistema se le ha denominado "sistema turbo" para diferenciarlo del "sistema standard", que reduce ferricianuro en todas las células vegetales independientemente del estado nutricional de Fe.

En los últimos años, los trabajos realizados a nivel de las membranas plasmáticas aisladas de raíces de dicotiledóneas (11, 12, 19, 50), han permitido concluir que el incremento de actividad redox, ligada a la deficiencia de Fe, podría ser atribuido a un aumento de la cantidad, o de la actividad, enzimática

de la reductasa constitutiva (11, 19, 23). Igualmente, se ha establecido que el NADH, y no el NADPH, es el donador de electrones preferencial de la Fequelatorreductasa (11, 12, 42, 50), lo que contradice la propuesta inicial emitida por Sijmons y col. (46).

### *Formación de peróxido de hidrógeno*

La existencia de peroxidasa en las paredes de las células vegetales ha quedado perfectamente establecida (22, 31, 48), habiéndose indicado que estas enzimas pueden oxidar NADH a través de una reacción en cadena que implica radicales NAD, superóxido y  $H_2O_2$ .

Entre las funciones atribuidas al  $H_2O_2$  que se deriva de estos procesos, destaca la oxidación de compuestos fenólicos a quinonas y semiquinonas, claves para la lignificación de la pared celular (20) y defensa de la planta frente a la acción de agentes patógenos (2). Estos mecanismos de defensa se llevarían a cabo mediante procesos de lignificación, suberificación y biosíntesis de callosa (24), tendentes a la formación de barreras situadas alrededor del área invadida; o bien, a través de estrategias encaminadas a la destrucción de los agentes patógenos, tales como la producción de sustancias antisépticas obtenidas por oxidación de fenoles (6). Apóstol y col. (2) han sugerido que la producción de  $H_2O_2$  formaría parte del mecanismo de transducción de la señal responsable de coordinar las defensas celulares.

### *Crecimiento estimulado por auxinas*

Morré y col. (33) han defendido la hipótesis de una posible interrelación entre crecimiento celular, respuesta hormonal y funcionamiento del sistema redox de la membrana plasmática. Esta relación está basada tanto en la estimulación simultánea del crecimiento y de la actividad NADH oxidasa por auxinas, como en la analogía existente entre la actuación de los agentes antiproliferantes (cisplatino y actinomicina D) sobre la actividad redox de la membrana y sobre el crecimiento inducido por auxinas (33). La acción inhibitoria de estos agentes antiproliferantes tendría lugar mediante la interacción con algún componente de la superficie celular, lo que alteraría el sistema redox transmembranario implicado en el crecimiento celular.

## CONCLUSIÓN

Aunque la finalidad última del sistema redox no ha sido aún dilucidada, se ha apuntado que, al menos en presencia de ferricianuro, la NADH oxidasa de

la membrana plasmática funcionaría con el máximo de eficacia, lo cual provocaría el agotamiento de la reserva de NADH citosólico en segundos (28). En condiciones naturales el flujo de electrones hacia el oxígeno sería menor, pero aun así supondría una disipación significativa de energía (superior al 10% de la respiración total). Ahora bien, si este eflujo de electrones sirviera para mantener el potencial de membrana, activando la liberación de  $H^+$  o transmitiendo un mensaje a través de la membrana, entonces su actuación estaría justificada ya que tendría un papel clave en procesos fisiológicos fundamentales. En este contexto, las hormonas y la luz serían necesarias para regular la oxidación del NADH citosólico en etapas tan cruciales como el crecimiento por elongación y la proliferación celular (13).

## BIBLIOGRAFÍA

- (1) ALCÁNTARA, E. and DE LA GUARDIA, M. D.: *See Ref.* (1988), (14), pp. 410-411.
- (2) APOSTOL, I., HEINSTEIN, P. F. and LOW, P. S.: *Plant Physiol.* (1989), **90**:109-116.
- (3) BARR, R.: *Physiol. Plant.* (1988), **73**:194-199.
- (4) BARR, R.: *J. Bioenerg. Biomembr.* (1991), **23**:443-467.
- (5) BARR, R., SANDELIUS, A. S., CRANE, F. L. and MORRÉ, D. J.: *Biochem. Biophys. Acta* (1986), **852**:254-261.
- (6) BELL, A. A.: *Ann. Rev. Plant Physiol.* (1981), **32**:21-81.
- (7) BIENFAIT, H. F.: *J. Bioener. Biomembr.* (1985), **14**:191-205.
- (8) BIENFAIT, H. F.: *J. Plant Nutr.* (1988), **11**:605-629.
- (9) BOWN, A. W. and CRAWFORD, L. A.: *Physiol. Plant.* (1988), **73**:170-174.
- (10) BRIGHTMAN, A. O., BARR, R., CRANE, F. L. and MORRÉ, D. J.: *Plant Physiol.* (1988), **86**:1264-1269.
- (11) BRÜGGEMANN, W., MOOG, P. R., NAKAGAWA, H., JANIESCH, P. and KUIPER, P. J. C.: *Physiol. Plant.* (1990), **79**:339-346.
- (12) BUCKHOUT, T. J., BELL, P. F., LUSTER, D. G. and CHANEY, R. L.: *Plant Physiol.* (1989), **90**:151-156.
- (13) CRANE, F. L. and BARR, R.: *Crit. Rev. Plant Sci.* (1989), **8**:273-307.
- (14) CRANE, F. L., MORRÉ, D. J. and LÖW, H., eds.: *Plasma Membrane Oxidoreductases in Control of Animal and Plant Growth*. Plenum Press. New York.
- (15) CRANE, F. L., MORRÉ, D. J. and LÖW, H., eds.: *Oxidoreduction at the Plasma Membrane: Relation to Growth and Transport* (1990), vol. 2, CRC Press. Boca Ratón.
- (16) CRANE, F. L., SUN, I. L., BARR, R. and LÖW, H.: *J. Bioenerg. Biomembr.* (1991), **23**:773-803.
- (17) CRANE, F. L., SUN, I. L., CLARK, M. G., GREBING, C. and LOW, H.: *Biochim. Biophys. Acta* (1985), **811**:233-265.
- (18) CHANEY, R. L., BROWN, J. C. and TIFFIN, L. O.: *Plant Physiol.* (1972), **50**:208-213.
- (19) CHOSACK, E., RUBINSTEIN, D. and REINHOLD, L.: *Plant Physiol.* (1991), **77**:163-172.
- (20) GOLDBERG, R., LE, TH. and CATESSON, A. M.: *J. Exp. Bot.* (1985), **36**:503-510.
- (21) GUERN, J. and ULLRICH-EBERIUS, C. (1988), *see Ref.* (14), p. 253.
- (22) HALLIWELL, B.: *Planta* (1978), **140**:81.
- (23) HOLDEN, M. J., LUSTER, D. G., CHANEY, R. L., BUCKHOUT, T. J. and ROBINSON, C.: *Plant Physiol.* (1991), **97**:537-544.

- (24) KOHLE, H., JEBLICK, W., POTEN, F., BLASCHEK, W. and KAUSS, H.: *Plant Physiol.* (1985), **77**:544-551.
- (25) KRÜGER, S. and BÖTTGER, M. (1988), see Ref. (14), p. 105.
- (26) LIN, W.: *Plant Physiol.* (1984), **74**:219-222.
- (27) LUNDEGARDH, H.: *Annu. Rev. Plant Physiol.* (1955), **6**:1-24.
- (28) LÜTHEN, H. and BÖTTGER, M.: *Plant Physiol.* (1988), **86**:1044.
- (29) LÜTHJE, S., DÖRING, O. and BÖTTGER, M.: *J. Exp. Bot.* (1992), **43**:183-188.
- (30) LÜTTGE, U. and CLARKSON, D. T.: *Progr. Bot.* (1985), **47**:73-86.
- (31) MÄDER, M. and AMBERG-FISCHER, V.: *Plant Physiol.* (1982), **70**:1128-1131.
- (32) MARRÉ, E., MARRÉ, M. T., ALBERGONI, F. G., TROCHNER, V. and MORONI, A. (1988), see Ref. (14), p. 233.
- (33) MORRÉ, D. J., BRIGHTMAN, A. O., WU, L.-Y., BARR, R., LEAK, B. and CRANE, F. L.: *Physiol. Plant.* (1988), **73**:187-193.
- (34) NEUFELD, E. and BOWN, A. W.: *Plant Physiol.* (1987), **83**:895-899.
- (35) PRINS, H. B. A. and ELZENGA, J. T. M. (1990), see Ref. (15), vol. 2:149-166.
- (36) ROBERTSON, R. N. (1968). Cambridge University Press.
- (37) RÖMHELD, V. and MARSCHNER, H.: *Plant Physiol.* (1986), **80**:175-180.
- (38) RUBINSTEIN, B. and LUSTER, D. G.: *Ann. Rev. of Plant Physiol. and Plant Mol. Biol.* (1993), **44**:131-155.
- (39) RUBINSTEIN, B. and STERN, A. I. (1990), see Ref. (15), vol. 2:167-187.
- (40) RUBINSTEIN, B. and STERN, A. I.: *J. Bioenerg. Biomembr.* **23**:393-408.
- (41) RUBINSTEIN, B., STERN, A. I. and STOUT, R. G.: *Plant Physiol.* (1984), **76**:386-391.
- (42) SCHMIDT, W. and JANIESCH, P.: *J. Plant Physiol.* (1991), **138**:450-453.
- (43) SERRANO, R.: *Plasma Membrane ATPase of Plants and Fungi.* (1985). CRC Press Inc Boca Raton. Florida.
- (44) SERRANO, R.: *Redox Functions of the Eukaryotic Plasma Membrane.* (1987). Ed. Ramírez, J. M. (C.S.I.C.), Madrid.
- (45) SIJMONS, P. C., LANFERMEIJER, F. C., DE BOER, A. H., PRINS, H. B. A. and BIENFAIT, H. F.: *Plant Physiol.* (1984), **76**:943-946.
- (46) SIJMONS, P. C., VAN DEN BRIEL, W. and BIENFAIT, H. F.: *Plant Physiol.* (1984), **75**:219-221.
- (47) SPALDING, E. P., SLAYMAN, C. L., GOLDSMITH, M. H. M., GRODMANN, D. and BERTL, A.: *Plant Physiol.* (1992), **99**:96-102.
- (48) SUTHERLAND, M. W.: *Physiol. Mol. Plant Pathol.* (1991), **39**:79-93.
- (49) THIEL, G. and KIRST, G. O. (1988), see Ref. (14), p. 263.
- (50) VALENTI, V., SCALORBI, M. and GUERRINI, F.: *Plant Physiol. Biochem.* (1991), **29**:249-255.
- (51) VAN BEUSICHEM, M. L., NELEMANS, J. A. and BIENFAIT, H. F.: *Plant Physiol.* (1988), **87**:269-273.