



GOBIERNO DE CHILE  
FUNDACIÓN PARA LA  
INNOVACIÓN AGRARIA

## INFORME TÉCNICO Y DIFUSIÓN

**Programa de Captura y Difusión Tecnológica  
“Acercamiento a la Electrofisiología Vegetal”**

OFICINA DE PLANIFICACIÓN, FIA	
FECHA: 12/7/05	15:30
Nº: 1731	

**FIA-CD-V-2005-1-A-018**

## CONTENIDO DEL INFORME TÉCNICO

### Fecha de entrega del Informe

12 de julio 2005

### Nombre del coordinador de la ejecución

Pilar Macarena Gil Montenegro

### Firma del Coordinador de la Ejecución

## 1. ANTECEDENTES GENERALES DE LA PROPUESTA

### Nombre de la propuesta

Acercamiento a la electrofisiología vegetal

### Código

FIA-CD-V-2005-1-A-01B

### Entidad responsable

Postulante individual

### Coordinador(a)

Pilar Gil Montenegro

### Tipo de Iniciativa(s)

Gira  Beca  Evento  Consultores  Documentos

### Fecha de realización (inicio y término)

17 al 21 de mayo, 2005.



## 2. RESUMEN DE LA PROPUESTA

Resumir en no más de una página la justificación, actividades globales, resultados e impactos alcanzados con la propuesta completa. Cuando exista más de una iniciativa, cada una de ellas debe ser resumida en forma específica. Estos resúmenes deben sintetizar los aspectos principales de la propuesta y cada una de sus iniciativas en forma general.

### BECAS

Recientemente se ha descubierto que las plantas poseen un mecanismo de señalización eléctrica en diferentes procesos metabólicos tanto bióticos como abióticos. Este descubrimiento abre un horizonte insospechado en el conocimiento de la fisiología vegetal, y entrega antecedentes importantes que permitirán en un futuro comprender con mayor profundidad la fisiología de las plantas y también manejar las condiciones que permitan un mejor funcionamiento de las plantas, en cuanto a sus procesos electrofisiológicos.

Se ha obtenido evidencia de actividad eléctrica en plantas como un mecanismo de transmisión de señales para la regulación de varias respuestas fisiológicas y bioquímicas. Se ha demostrado que depolarizaciones transitorias, estimuladas mecánicamente, son factores involucrados en el transporte floemático en *Mimosa pudica*, en el inicio de la síntesis de proteínas en tomate, en el aumento de la tasa respiratoria del ovario durante la polinización en *Hibiscus rosasinensis*. Estudios realizados en sorgo indican que la rápida transmisión de mensajes o señales parece involucrar la generación y transducción de impulsos eléctricos, que luego pueden manifestar una respuesta fisiológica directa o a través del estímulo de otros mensajeros. Los tubos cribosos servirían como una vía de transmisión de señales eléctricas, apoyando la visión de que éstas juegan un importante rol en la comunicación entre raíces y brotes de plantas con estrés hídrico.

Como parte de la neurobiología vegetal, además de lo que se refiere a electrofisiología, se ha descubierto que las plantas poseen un centro operativo llamado "cerebro" el cual se encuentra a nivel de los ápices radiculares, específicamente en la zona de transición del ápice radicular, lugar donde llegarían señales y se modularían respuestas. También se ha descubierto que las plantas poseen moléculas tipo neurotransmisores, a las cuales actualmente se les estudia su función. Por otra parte, el estudio de la neurobiología vegetal integra también los mecanismos de comunicación dentro de las plantas y entre plantas, entre los cuales se encuentran la liberación de compuestos orgánicos volátiles.

Actualmente es muy poco lo que se sabe acerca de neurobiología y electrofisiología de plantas, por ser una disciplina nueva que se ha trabajado principalmente a partir de la década de los noventa. El acercamiento al Primer Symposium de Neurobiología Vegetal ha permitido conocer los procesos fisiológicos en los cuales existen señales eléctricas, y al mismo tiempo, difundir esos nuevos conocimientos en un universo de docentes y estudiantes relacionados con el tema de la fisiología vegetal. Mediante las actividades realizadas durante el symposium fue posible comprender las nuevas disciplinas que se estudian en el marco de la neurobiología vegetal, principalmente lo que se refiere a electrofisiología. Con las actividades de difusión realizadas en Chile acerca de este Symposium, ha sido posible dar a conocer los aspectos más relevantes tocados durante este symposium, a más de 130 personas, entre los que se cuentan estudiantes de pregrado, estudiantes de postgrado, profesionales, académicos e investigadores vinculados con la fisiología vegetal.



### 3. ALCANCES Y LOGROS DE LA PROPUESTA GLOBAL

#### Problema a resolver, justificación y objetivos planteado inicialmente en la propuesta

Actualmente es muy poco lo que se sabe acerca de neurobiología y electrofisiología de plantas, por ser una disciplina nueva que se ha trabajado principalmente a partir de la década de los noventa. El acercamiento al Primer Symposium de Neurobiología Vegetal ha permitido conocer los procesos fisiológicos en los cuales existen señales eléctricas y otros procesos biológicos, y al mismo tiempo, difundir esos nuevos conocimientos en un universo de docentes y estudiantes relacionados con el tema de la fisiología vegetal.

Como objetivo general se planteó conocer los avances en la electrofisiología de las plantas mediante la asistencia y ponencia en el Primer Simposio de Neurobiología vegetal a realizarse en Florencia, Italia, entre el 17 y el 20 de Mayo.

Como objetivos específicos se planteó:

1. Conocer las diferentes disciplinas de la neurobiología vegetal y sus avances.
2. Comprender la electrofisiología vegetal asociada a respuestas ante el ataque de patógenos e insectos, relaciones hídricas, fotoperíodo y otras funciones vegetales.
3. Establecer contactos con científicos extranjeros que actualmente trabajan en el área de la neurobiología vegetal.
4. Difundir los aspectos más relevantes de la neurobiología vegetal a un universo de alumnos y docentes relacionados con el tema de fisiología vegetal en Chile.

#### Objetivos alcanzados tras la realización de la propuesta

Es posible señalar que todos los objetivos planteados fueron cumplidos. El objetivo 2 fue cumplido dentro de lo que se conoce de electrofisiología en las materias planteadas. Lo que no se logró conocer totalmente se debe principalmente a que aún no se han estudiado todos los aspectos de la electrofisiología.

#### Resultados e impactos esperados inicialmente en la propuesta

Entre los resultados esperados se encuentra la comprensión de los aspectos que conforman el área de ciencia enmarcada en el tema de neurobiología vegetal, y principalmente lo que se refiere a la electrofisiología, en lo que se refiere la comunicación entre raíces y follaje ante la existencia de un estrés captado a nivel de raíces. Lo anterior viene a complementar el estudio de Doctorado que actualmente la interesada se encuentra realizando.

Otro resultado esperado es que el ambiente científico defina los caminos a seguir en torno



a la investigación en el ámbito de la neurofisiología vegetal, y las posibles aplicaciones de estos conocimientos en agricultura.

Entre los impactos esperados se encuentra dar a conocer los principales aspectos de la neurofisiología vegetal al ambiente estudiantil y docente chileno, mostrando la importancia de esta área de la ciencia y su impacto en el conocimiento existente en el área de la fisiología vegetal.

### **Resultados obtenidos**

Descripción detallada de los conocimientos y/o tecnologías adquiridos y/o entregados. Explicar el grado de cumplimiento de los objetivos propuestos, de acuerdo a los resultados obtenidos. Para consultorías es necesario anexar el informe final del consultor.

Durante el Primer Symposium de Neurobiología Vegetal realizado en Florencia, Italia, entre el 17 y 21 de mayo de 2005, asistieron más de 100 personas, la mayoría científicos europeos. El temario del Symposium consistió en los siguientes puntos:

- Perspectivas Históricas y tópicos generales
- Moléculas
- Biología celular y fisiología vegetal
- Electrofisiología
- Comunicación Planta-Planta y ecofisiología
- Sesión de Postres.

### **Perspectivas Históricas y Tópicos Generales**

Con respecto a este punto, se señala que la Historia de la ciencia vegetal está dividida en 5 etapas:

- Morfología y estudio de la distribución de especies vegetales (a partir del siglo 16).
- Anatomía vegetal, a partir del siglo 18.
- Citología vegetal, a partir del siglo 19.
- Fisiología vegetal, a partir del siglo 20.
- Neurobiología vegetal, a partir del siglo 21.

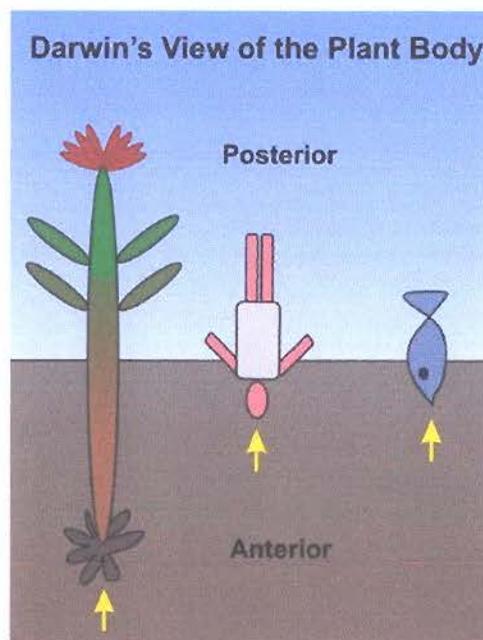
Ya en 1880 Charles Darwin propuso que los ápices radiculares representan un cerebro

difuso de las plantas, en su libro "The power movement in plants". La existencia de un cerebro en plantas se basa en la definición de cerebro: grupo de células que reciben señales de tipo neuronal desde un sistema de percepción y los procesa de tal forma que resulta una respuesta (comúnmente como un movimiento).

Algunos aspectos neuronales de la vida vegetal son:

- Las plantas logran una rápida comunicación interna a larga distancia vía potenciales de acción.
- Las plantas poseen moléculas nerviosas críticas tales como receptores glutamato y sinaptotaminas.
- Las plantas son capaces de acumular, procesar, almacenar y transmitir información.
- Las plantas viven en su mayoría en comunidades y muestran una compleja vida social.

Como sugirió Charles Darwin, las plantas poseen un eje anterior y posterior de polaridad. El polo anterior está especializado para la reproducción sexual y fotosíntesis, mientras que el polo anterior está especializado en absorción de agua y nutrientes, y también para actividades de información y procesamiento. (cerebro) (Figura 1).



**Figura 1: Vista del eje anterior-posterior de las plantas**

La anterioridad del cuerpo de las plantas estaría asociada a:

- a. La dirección del movimiento corporal



- b. La dirección de impulsos nerviosos aferentes
- c. La dirección del flujo de auxinas.

Aunque la existencia de un cerebro y un eje anterior-posterior nos sugieren la existencia de un primitivo sistema neurológico en plantas, no podemos decir que las plantas posean nervios o un sistema nervioso central. Sin embargo, existen ideas a considerarse con respecto a la neurobiología en plantas:

1. Las plantas poseen un cerebro.
2. Las plantas tienen un extremo anterior y por lo tanto, un eje anterior – posterior.
3. Las nutaciones (movimientos por torsión de tallo) son movimientos constitutivos (autónomos) mientras que un tropismo es un movimiento dirigido (facultativo) evocado por un estímulo.

La pregunta que cabe entonces es si “cerebro”, “eje anterior-posterior” y “movimientos dirigidos y autónomos ¿se relacionan entre ellos?

La expresión funcional de la neurobiología en plantas puede resumirse en los siguientes puntos:

- Movimiento de hojas
- Control estomático
- Nutaciones
- Adquisición de nutrientes por las raíces
- Crecimiento
- Fotosíntesis
- Ajuste osmótico
- Diferenciación celular y morfogénesis
- Control circadiano
- Respuestas adaptativas

Con respecto al cerebro de las plantas, podemos señalar que éste se encuentra en la zona de transición de los ápices radiculares (Figura 2). Se ha detectado esta zona como el posible cerebro vegetal, debido a que es la zona con mayor número de sinapsis auxínicas, es extremadamente sensible a auxinas externas (neurotransmisor vegetal), es el mayor “sink” no sólo para auxinas sino que también para oxígeno (parecido a un cerebro) y porque muestra oscilaciones rítmicas en la absorción de Oxígeno y Potasio.

## Ápice radical de maíz

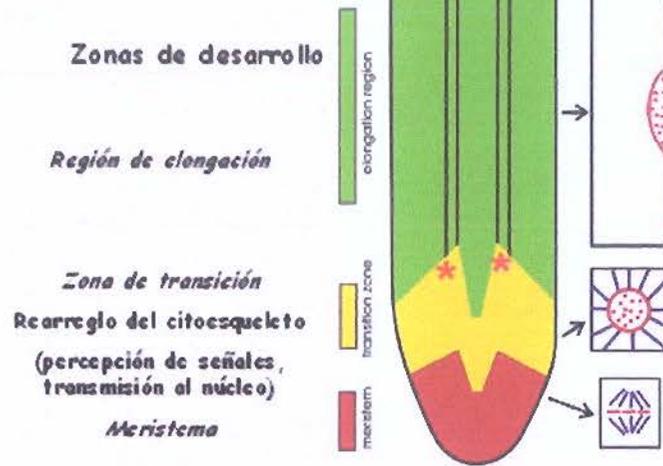


Figura 2. Ubicación de la zona de transición en el ápice radical.

Los ápices radicales se encuentran interconectados vía cilindros vasculares, lo que representaría un sistema nervioso paralelo en plantas. Cada ápice radical posee una unidad del sistema nervioso vegetal. El número de ápices radicales es alto y todas las unidades cerebrales están interconectadas vía filamentos vasculares (nervios vegetales) con su transporte polar de auxinas, para formar un sistema nervioso paralelo en las plantas. La capacidad informacional de este sistema nervioso podría ser mayor que el sistema nervioso difuso de animales inferiores.

Con respecto a los movimientos de las plantas podemos hacer un paralelo entre lo que ocurre en plantas y en animales, tal como se señala en el cuadro 1.

Movimientos y sistema nerviosos		
Organismo	Ejemplo de movimiento	Tipo de Sistema nerviosos controlador
<b>Animales</b>		
Movimientos innatos	Latido del corazón, respiración	Sistema nerviosos autónomo
Movimientos de respuesta	Miembros	Percepción de estímulos, sistema nervioso somático
<b>Plantas</b>		
Movimientos innatos	Nutaciones	Programa autónomo de división celular inherente o constitutivo.
Movimientos de respuesta	Tropismos	Percepción de estímulos y sistema nervioso químico somático

Cuadro 1: comparación de movimientos y control entre animales y plantas

Tal como vemos en el cuadro 1, tanto plantas como animales poseen movimientos innatos y de respuesta. La diferencia es el sistema que los controla.

Es posible señalar que las plantas poseen inteligencia vegetal. Esto es posible ya que las plantas poseen la capacidad de resolver problemas y poseen comportamientos inteligentes como por ejemplo la detección e integración de información, la toma de decisiones y control del comportamiento, la capacidad de aprendizaje, memoria, elección, autorreconocimiento y optimización de recursos.

Las plantas están sometidas al medio externo desde donde llegan muchas señales. Las plantas son capaces de discriminar la intensidad, largo de exposición y dirección de la señal, y luego emitir una respuesta adaptativa. Entre los factores bióticos que modifican el fenotipo de las plantas se encuentran la competencia (espacio, luz y agua), el mutualismo, la presencia de herbívoros y el parasitismo.

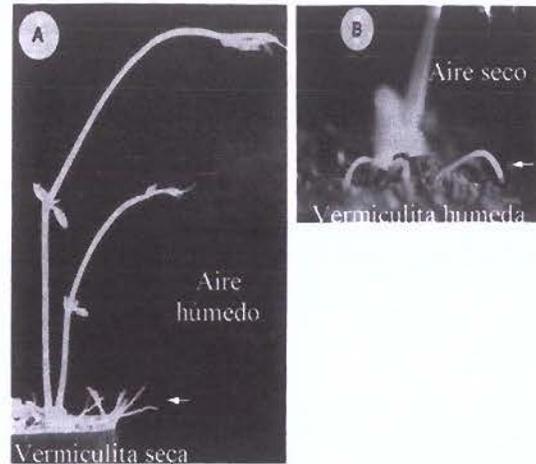
Entre las características de inteligencia que poseen las plantas se encuentra la capacidad de comunicación. La información comunicada entre células y tejidos (detectada y traducida a respuestas fenotípicas) es la siguiente: ácidos nucleicos, proteínas, péptidos, minerales, señales oxidativas, gases, etileno, Óxido Nítrico, señales hidráulicas, señales eléctricas, lípidos, oligosacáridos, reguladores de crecimiento, aminoácidos, metabolitos secundarios y azúcares.

Un ejemplo de comunicación en las plantas es lo que se produce entre la raíz y el brote cuando existe injertación. Con la injertación el portainjerto puede modificar el hábito de brotación, altura, formación de yemas florales, rendimiento, tolerancia al frío y resistencia a enfermedades.

### **Biología celular y fisiología vegetal.**

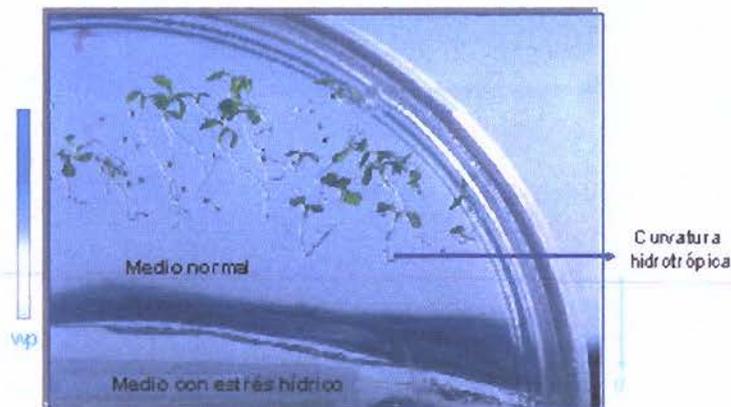
Debido a que las plantas no pueden escapar del estrés medioambiental, ellas usan soluciones para remodelarse y adaptarse a las nuevas condiciones. Una solución desarrollada es la capacidad de las raíces de detectar y moverse hacia donde se encuentra el agua en el suelo, lo que se denomina "hidrotropismo". (Figura 3).

Actualmente el estudio del hidrotropismo se realiza con plantas modelos como por ejemplo *Arabidopsis thaliana* y mutantes de esta especie, para determinar el control genético y fisiológico del hidrotropismo en plantas.



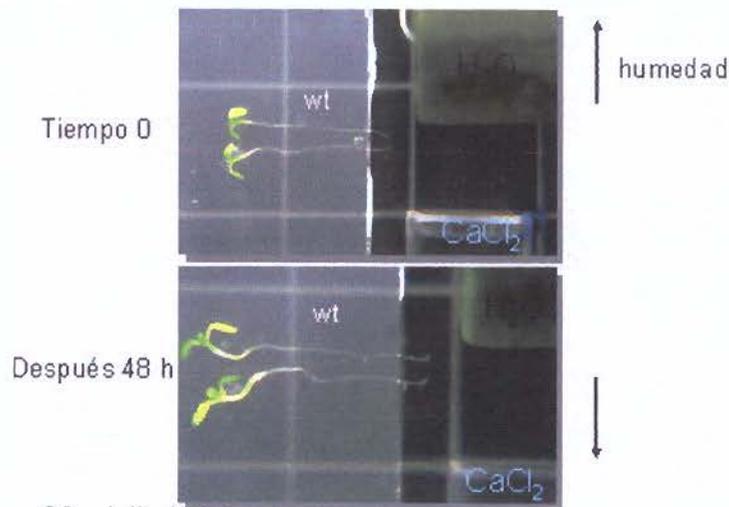
**Figura 3: Curvatura hidrotrópica de plantas sometidas a diferentes condiciones de humedad.**

El hidrotropismo en plantas es un tema que se ha estudiado en base a diferentes sistemas. Entre ellos existe el sistema de investigación con gradientes de potencial hídrico, el que consiste en la existencia de plántulas en un medio normal adyacente a un medio con estrés hídrico. Mediante este sistema es posible observar la curvatura de las plántulas eludiendo el estrés hídrico y favoreciendo su posición hacia el una situación sin estrés de agua. (Figura 4).

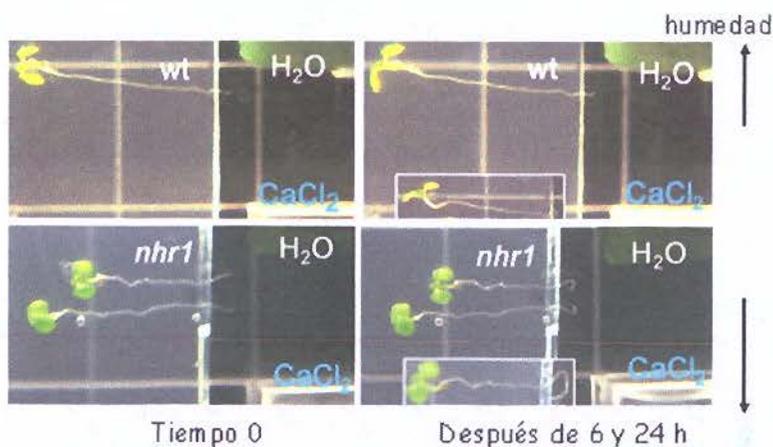


**Figura 4: Sistema de investigación con gradientes de potencial hídrico para estudio de hidrotropismo en Arabidopsis.**

Otro sistema de estudio del hidrotropismo se denomina “agua en el cielo” y consiste en que plántulas mantenidas entre dos portaobjetos se encuentran con sus raíces descubiertas entre un medio u oasis con agua, y un medio con Cloruro de Calcio, medio fuertemente estresante hídricamente. Con experimentos realizados con este sistema se ha observado que luego de 48 horas las plántulas exhiben una clara curvatura hacia donde se encuentra el oasis con agua (Figura 5). Por su parte, con el uso de mutantes bajo este mismo sistema se ha logrado observar que mutantes sin respuesta al hidrotropismo muestran una curvatura contraria a la observada en plántulas wild-type, lo que indicaría que el hidrotropismo posee un mecanismo genético de modulación (Figura 6).



**Figura 5: Curvatura hidrotrópica de raíces de Arabidopsis wild type con el sistema “Agua en el Cielo”.**



**Figura 6: Respuesta no hidrotrópica de raíces de mutantes *nhr1* (non hydrotropic response).**

## Electrofisiología

Antes de comenzar a hablar de electrofisiología, es necesario tomar en cuenta que los filamentos vasculares actúan como posibles nervios en plantas. Los filamentos vasculares son las unidades básicas del sistema vascular, considerados nervios en plantas además de su función como endoesqueleto. En raíces, la mayor proporción de tejido es el vascular.

El floema es un canal que interconecta ápices de brotes y raíces. El floema está especializado en la transmisión de señales eléctricas (potenciales de acción dirigidos).

El xilema por su parte, está conformado por tubos no vivos y llenos de agua, especializados en la transmisión de señales hidráulicas las cuales son ondas autotransmitidas y dadas por cambios en la presión hidrostática.

El estudio de las señales eléctricas comenzó en especies que mostraban movimientos, tales como *Mimosa pudica* y *Dionea muscipula*. (Figura 7).

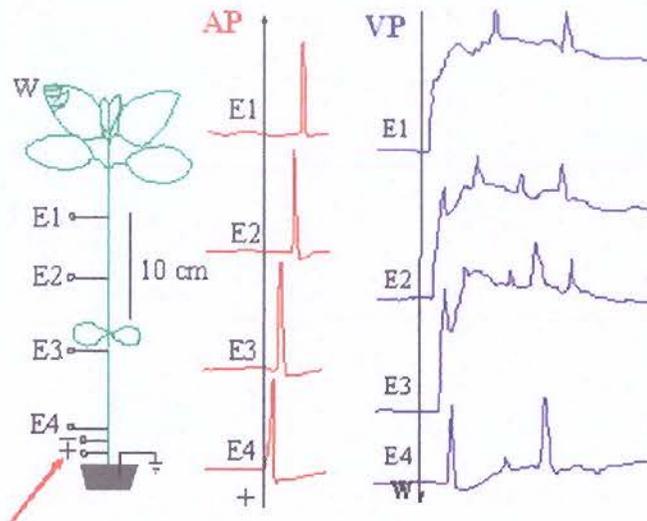


*Mimosa pudica*

*Dionea muscipula*

**Figura 7: Especies en las cuales se realizaron los primeros trabajos de electrofisiología**

Desde la década de los 90 se han estudiado las señales eléctricas en plantas llegando a la conclusión de que existen al menos dos tipos de señales: potenciales de acción y potenciales de variación. (Figura 8).



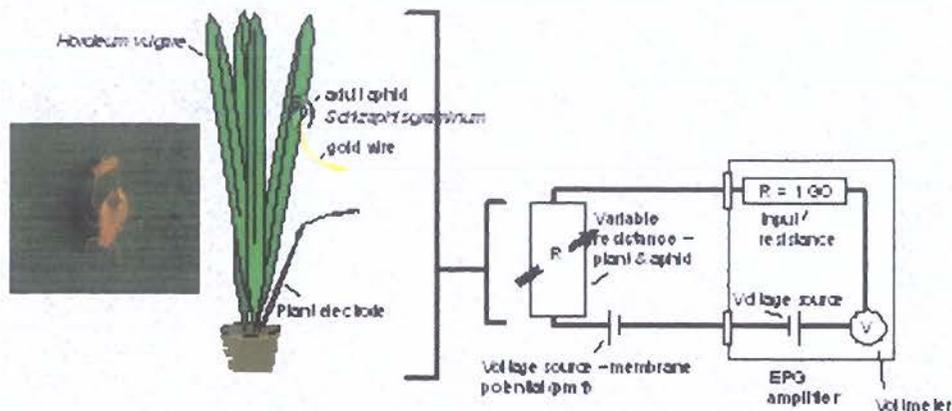
**Figura 8: Potenciales de acción (AP) y potenciales de variación (VP) en plantas.**

Con respecto a los potenciales de acción es posible decir que éstos son propagados vía tubos cribosos (floema), que poseen forma, amplitud y largo característicos. Además se propagan en forma estable con una respuesta de “todo o nada”. Los cambios en el potencial de membrana gatillan la apertura de canales de calcio, los cuales están conectados a microtúbulos. Esta entrada de calcio estimula la salida de cloruro, luego, la salida de cloruro estimula la salida de potasio. Finalmente al alcanzar el equilibrio se detiene el potencial de acción. Los cambios en el potencial de membrana se transmiten a través del floema y los flujos de  $\text{Ca}^{2+}/\text{Cl}^-/\text{K}^+$  se repiten a lo largo de la planta.

Los potenciales de acción actúan de la siguiente forma: a partir de una estimulación resultan impulsos eléctricos, los que una vez iniciados pueden propagarse a células excitables adyacentes. El cambio resultante en el potencial de membrana crea una onda de depolarización, o potenciales de acción que afectan al resto de las membranas adyacentes, entonces, cuando el floema es estimulado en algún punto, el potencial de acción es propagado a lo largo de toda la membrana celular y también a lo largo del floema.

Cuando existe un estrés mecánico, cambios de  $T^\circ$ , cambios de luz, o aplicación de fitohormonas, se produce una propagación de señales eléctricas las que a su vez provocan cambios en la expresión genética, lo que finalmente se traduce como liberación de etileno, generación de Óxido Nítrico o acumulación de proteínas de protección (Pin 2).

Una forma de estudiar los potenciales de acción ha sido la técnica del estilete de áfido. Esta técnica consiste en que un áfido es puesto sobre una planta, el cual al enterrar su estilete directamente al floema es luego utilizado como un microelectrodo que mide directamente en el floema. Luego, el estilete es conectado a un alambre de oro, el cual va a su vez conectado a un amplificador y a un sistema de adquisición de datos. (Figura 9).



**Figura 9: Técnica del estilete de áfido para estudiar señales eléctricas en floema.**

Con esta técnica se ha estudiado entre otras cosas la respuesta de potenciales de acción frente a estímulos como fuego, hielo y estimulación eléctrica.

Con respecto a los potenciales de variación, es posible decir que éstos a diferencia de los potenciales de acción, son transmitidos por el xilema. La pérdida de tensión en el xilema se transmite a través de la planta, y es detectado como cambios de turgor por células vivas adyacentes al xilema. Estas células vivas adyacentes al xilema abren canales de calcio mecano sensibles. Estos canales están conectados a microfilamentos. El consiguiente cambio localizado en potencial de membrana es visto como una señal de viaje (potencial de variación). El cambio en el potencial de membrana puede también activar canales bloqueados por voltaje, lo que puede generar un potencial de acción.

Potenciales de acción se han estudiado en respuesta a varios tipos de estímulos como por ejemplo señales evocadas por estimulación con frío, con calor, por absorción de agua, por desecamiento de raíces y por daño realizado por mordeduras de insectos.

Se ha observado que junto a un cambio en el potencial eléctrico, debido a la ocurrencia de un potencial de variación, puede darse paralelamente, y también como respuesta a un estímulo de daño, una variación del intercambio gaseoso. Además se ha observado que la respuesta eléctrica frente a un estímulo como la presencia de fuego en una hoja, no sólo ocurre a nivel local sino que también se dispersa sistémicamente a hojas vecinas.

Un resumen de las características de los potenciales de acción, potenciales de variación y un tercer grupo denominado potencial de heridas, se presenta en el cuadro 2. Cabe destacar que los potenciales de herida son a veces considerados como potenciales de variación, por lo que no fueron nombrados anteriormente.

Características de	Ondas lentas de pot. o Pot. De variación (VP)	Potenciales de acción (AP)	Potenciales de heridas
<b>Inducción</b>	Aumento en la presión del xilema y turgor	Depolarización celular bajo el umbral	Pérdida de turgor en células vecinas
<b>Amplitudes</b>	Graduada: depende del tamaño del estímulo	Amplitud fija: todo o nada	Graduada: depende del tamaño de la herida
<b>Mecanismo iónico</b>	Tipo bomba H <sup>+</sup> + canales iónicos?	Canales iónicos	Tipo bomba H <sup>+</sup> + canales iónicos?
<b>Repolarización</b>	Lenta > 1-30 min	Rápido < 1 min	Lenta: 30-90 min
<b>Propagación</b>	Como señal de presión en conductos xilemáticos	Como señal eléctrica en el floema	No se sabe

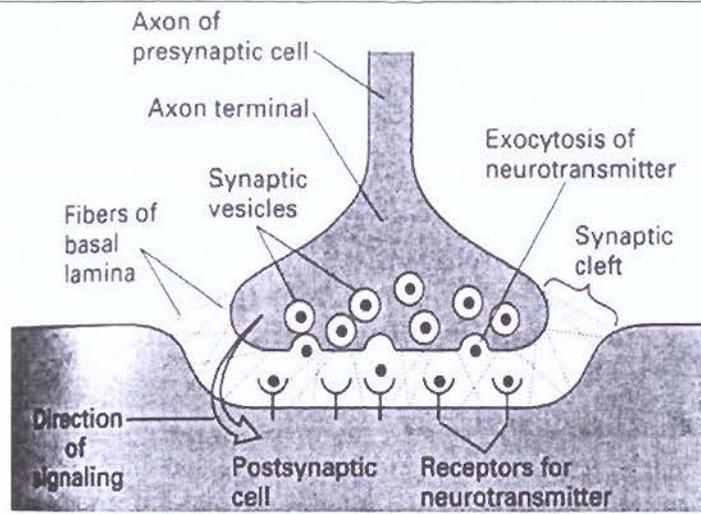
**Cuadro 2: Características de potenciales de variación, potenciales de acción y potenciales de heridas.**

El estudio de las señales eléctricas en plantas involucra una combinación de mecanismos iónicos, propagación radial y axial y efectos fisiológicos. Con la exploración de la inducción de ondas lentas de potencial y potenciales de acción se abre un nuevo conocimiento en el comportamiento de las plantas.

## Moléculas

Recientemente se han descubierto moléculas que pertenecen al sistema neurobiológico de animales, en plantas, cuya función se está estudiando en la actualidad. Algunas de estas moléculas corresponden a neurotransmisores o moléculas sinápticas. A su vez, se ha observado que moléculas como por ejemplo las auxinas tienen características de neurotransmisores.

Con respecto a las sinapsis éstas corresponden a la adhesión de dominios basados en actina especializados para la comunicación rápida célula a célula mediante el tráfico de vesículas. Las sinapsis conocidas hasta hoy son las sinapsis de tipo neuronal, de tipo inmunológica y actualmente la sinapsis vegetal. Un modelo de sinapsis química se presenta en la figura 10.

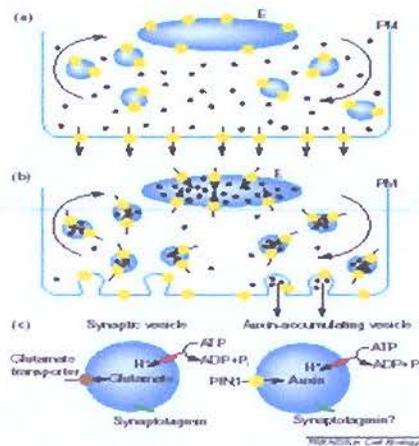


**Figura 10: Modelo de sinapsis neuronal.**

En la figura 10 podemos apreciar que la sinapsis consiste en un proceso de tráfico vesicular, en el que vesículas que contienen neurotransmisores son excitadas desde el axón de una célula nerviosa, para ser reconocidas por un receptor específico en la célula adyacente, para ser luego estos neurotransmisores integrados a la célula adyacente.

Las auxinas son consideradas hoy en día como neurotransmisores en plantas, los que se transportan en forma dependiente de la luz y gravedad. Éstos inducen la formación de vasos (nervios vegetales) y raíces. Los ápices radiculares son el mayor "sink" para el transporte polar de auxinas. Las raíces son sensibles a auxinas aplicadas externamente induciendo la formación de raíces laterales. Las auxinas rápidamente regulan el tráfico de vesículas y la expresión genética en raíces.

Las auxinas son consideradas como neurotransmisores en plantas porque poseen un transporte de tipo sináptico (Figura 11).



**Figura 11: Transporte sináptico de auxinas**

En el modelo mostrado en la figura 11 se puede apreciar que las auxinas ingresan vía carrier pin1 a vesículas que finalmente liberan las auxinas, siendo reconocidas por un receptor específico para ser ingresadas a la célula adyacente.

La sinapsis se caracteriza por la existencia de dominios estables adhesivos apoyados por actina (terminales polares) entre células vegetales adyacentes a través de los cuales auxinas y otras señales químicas son transportadas por medio de vías de tráfico vesicular en base a actina. Las plantas son capaces de formar ensamblajes célula a célula dentro de la misma planta o con células de otros organismos (plantas-hongos-bacterias) (Sinapsis inmunológica). Tales dominios adhesivos son también sitios de transporte activo de moléculas y metabolitos entre células.

Además de la acción de auxinas como neurotransmisores en plantas, se han identificado una serie de moléculas nerviosas en plantas. Entre las proteínas sinápticas que se han observado en plantas se encuentra: receptores glutamato, sinaptotaminas, SNAP25 y copinas. Entre los neurotransmisores clásicos observados en plantas se encuentra el glutamato, la glicina, el GABA (gama-aminobutyric acid), dopamina, acetilcolina y ATP. A continuación se describen las funciones de las principales moléculas nerviosas observadas en plantas.

Sinaptotaminas: glicoproteína integral de membrana de vesículas sinápticas y gránulos secretorios de células endocrinas ampliamente expresada en el sistema nervioso central y periférico. Fundamental para el anclaje y fusión de las vesículas a zonas activas de la membrana plasmática, por su unión con proteínas específicas de la membrana. La unión de  $Ca^{2+}$  a las sinaptotaminas gatilla la exocitosis de vesículas sinápticas. Se presenta con al menos 8 isoformas en células eucarióticas superiores. (Figura 12).

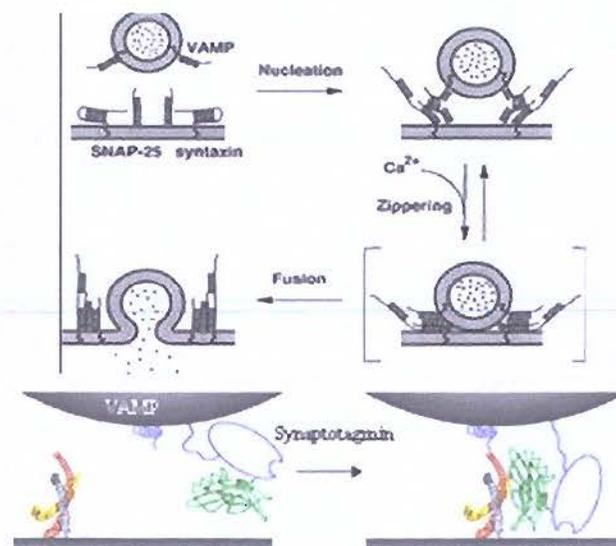


Figura 12: Modelo de función de sinaptotaminas en células animales.

En plantas se ha observado la existencia de 3 genes de sinaptotaminas en plantas, pero su función está poco caracterizada. Se cree que las diferentes isoformas de sinaptotaminas en plantas actuarían en el tráfico de membranas para interactuar con el heterodímero SNARE en la vía de fusión de membranas.

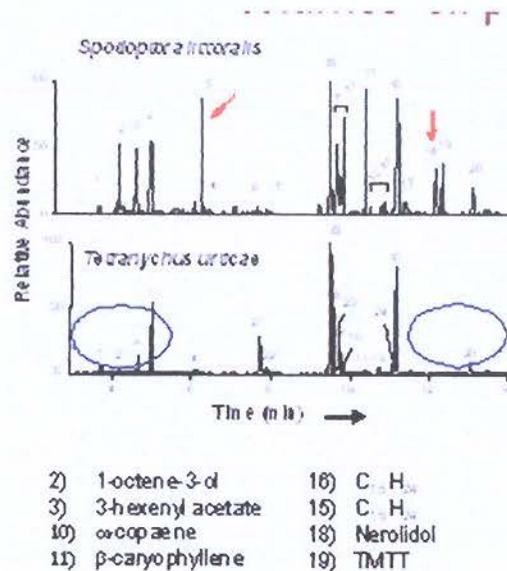
Glutamato: Esta molécula es un neurotransmisor en el sistema nervioso animal. En plantas inhibe el crecimiento de raíces, modifica la arquitectura radical, afecta el largo y distribución de raíces. Se ha observado que esta molécula también aumenta la sensibilidad al estrés y actúa independientemente del estatus de N. El glutamato ha sido detectado localmente en el meristema apical de las raíces, y se ha observado que a muy bajas concentraciones (50  $\mu$ M), el glutamato aplicado a raíces puede inhibir el crecimiento radicular.

Receptores glutamato: En plantas existen proteínas homólogas a receptores ionotrópicos glutamatos, que en animales son canales sinápticos cuya apertura está gavillada por el neurotransmisor glutamato. En plantas, este receptor juega un rol importante en transducción de señales. En *Arabidopsis* y trigo, en presencia de Al, las plantas secretan glutamato el cual se une a su receptor, permitiendo la entrada de  $Ca^{2+}$ , comenzando luego una transducción de señales que se dispersa por la célula.

GABA (Gama-aminobutyric acid): Esta molécula corresponde a un aminoácido no protéico sintetizado a partir de glutamato. En animales su función es como neurotransmisor inhibitorio en el sistema nervioso central. Esta molécula actúa a través de receptores GABA. En plantas se acumula rápidamente y en alto nivel en respuesta a estrés (Anoxia, acidosis). El GABA en plantas regula el gravitropismo en ápices radiculares. Mutantes sin GABA muestran desorientación del crecimiento del tubo polínico.

Neurotransmisores, neuroreguladores y neurotoxinas: Algunas plantas son cultivadas por su capacidad de cambiar nuestro humor mientras otras plantas contienen toxinas que deterioran nuestras funciones cognitivas, como por ejemplo compuestos neurológicamente activos como nicotina, cafeína, cocaína y morfina. Se piensa que estos metabolitos secundarios neurológicamente activos de plantas podrían funcionar como repelentes o atrayentes de herbívoros. Evidencia reciente indica que estos compuestos pueden jugar roles en plantas similares a los existentes en especies animales. Un ejemplo es la neurohormona mamífera melatonina que ha sido descubierta en plantas (Hierba de San Juan) observándose correlación con procesos fotoregulados (desarrollo de flores, morfogénesis). Además de lo anterior cabe destacar que la melatonina se sintetiza en plantas a partir de triptofano y se encuentra en mayores proporciones en tejido etiolado.





**Figura 14: patrones de liberación de compuestos volátiles inducidos por *Spodoptera littoralis* y *Tetranychus urticae* en Trébol.**

Algunos de los compuestos orgánicos volátiles descritos en plantas como respuesta ante una acción elicitora de herbívoros es la Volicitina, el 1-Palmitoyl-2-oleyl-3-phosphatidyl colina y el N-linolenoyl-glutamina, compuestos que a muy baja concentración son capaces de desestabilizar membranas celulares. Por otra parte, se ha observado que la alimentación de insectos gatilla un fuerte flujo de  $\text{Ca}^{2+}$  en plantas.

La función de los compuestos orgánicos volátiles en la naturaleza ha sido relacionada con la atracción de parásitos y predadores de herbívoros atacantes de cultivos, como repelentes para polillas hembras, impidiendo la ovoposición y como repelente de larvas migratorias.

Es posible señalar que el daño mecánico continuo regula la defensa en las plantas, y que factores de secreción pueden modificar la respuesta de las plantas cualitativa y cuantitativamente. Los factores de secreción pueden actuar en la membrana por depolarización (efecto físico). Los factores de secreción, y no daño mecánico, median un fuerte flujo de  $\text{Ca}^{2+}$ . Daños por herbívoros y flujo de  $\text{Ca}^{2+}$  llevan a la dispersión de señales eléctricas que alterarían el estado fisiológico de la hoja

#### **Efectos de interacciones alelopáticas:**

- La alelobiosis entre cultivares de cebada afecta la temperatura foliar y la biomasa.



- La alelobiosis interespecífica (por ejemplo entre malezas y cebada) e intraespecífica (por ejemplo entre cultivares de cebada) afectan la aceptación de áfidos por las plantas.
- La alelobiosis entre malezas y cebada afecta el comportamiento de enemigos naturales de áfidos.

Actualmente las investigaciones referidas a este tema se concentran en determinar los tipos de señales volátiles, la química interna de estas señales, los aspectos genéticos y las señales que provienen de las raíces.

**Grado de cumplimiento de los objetivos propuestos, de acuerdo a los resultados obtenidos.**

Como objetivo general se planteó conocer los avances en la electrofisiología de las plantas mediante la asistencia y ponencia en el Primer Simposio de Neurobiología vegetal a realizarse en Florencia, Italia, entre el 17 y el 20 de Mayo.

Como objetivos específicos se planteó:

1. Conocer las diferentes disciplinas de la neurobiología vegetal y sus avances.
2. Comprender la electrofisiología vegetal asociada a respuestas ante el ataque de patógenos e insectos, relaciones hídricas, fotoperíodo y otras funciones vegetales.
3. Establecer contactos con científicos extranjeros que actualmente trabajan en el área de la neurobiología vegetal.
4. Difundir los aspectos más relevantes de la neurobiología vegetal a un universo de alumnos y docentes relacionados con el tema de fisiología vegetal en Chile.

Con respecto a lo que se refiere a conocer los avances en la electrofisiología de las plantas mediante la asistencia y ponencia en el Primer Simposio de Neurobiología vegetal a realizarse en Florencia, los conocimientos adquiridos permiten señalar que se ampliaron significativamente los conocimientos poseídos en un comienzo con respecto al tema de la electrofisiología.

Con respecto a conocer las diferentes disciplinas de la neurobiología vegetal y sus avances, es posible señalar lo mismo que el punto anterior, lográndose ampliamente el objetivo planteado.

Los objetivos 3 y 4 también fueron cumplidos, lo que señalará más adelante



## Resultados adicionales

Describir los resultados obtenidos que no estaban contemplados inicialmente como por ejemplo: formación de una organización, incorporación de alguna tecnología, desarrollo de un proyecto, firma de un convenio, entre otros posibles.

## Aplicabilidad

Explicar la situación actual del sector y/o temática en Chile (región), compararla con las tendencias y perspectivas presentadas en las actividades de la propuesta y explicar la posible incorporación de los conocimientos y/o tecnologías, en el corto, mediano o largo plazo, los procesos de adaptación necesarios, las zonas potenciales y los apoyos tanto técnicos como financieros necesarios para hacer posible su incorporación en nuestro país (región).

Actualmente en Chile existen pocos estudios respecto a la neurobiología vegetal. Si bien en INIA CRI V Región se está trabajando con el tema de compuestos volátiles orgánicos en algún grado, otros temas como por ejemplo los referidos a moléculas nerviosas en plantas y electrofisiología están casi sin desarrollo. Sólo este último año, durante el primer semestre fue posible trabajar en palto en Chile, estudiando la existencia de señales eléctricas entre raíces y brotes, como respuesta al estrés hídrico por desecamiento de suelo. Este trabajo fue el que se presentó en el Primer Symposium de Neurobiología Vegetal, y corresponde al único trabajo de Chile presentado en aquel evento.

Haciendo una comparación con lo que se realiza en otros países, es posible decir que Chile se encuentra en una situación en donde este tema está muy poco desarrollado. En el Symposium participaron científicos de todo el mundo, principalmente de Europa, pero también de México y Argentina donde sí se están trabajando algunos aspectos de la Neurobiología vegetal.

Al corto plazo sólo es posible prever una continuidad en la investigación de los distintos aspectos de esta nueva disciplina que es la neurobiología vegetal, pero sí es posible considerar que a mediano y largo plazo se puedan aplicar los nuevos descubrimientos al área agrícola. Un ejemplo es el caso de los compuestos orgánicos volátiles, los que podrían incorporarse a un huerto para lograr por ejemplo la llegada de controladores biológicos. Otro ejemplo es la confección de sensores de señales eléctricas que sean capaces de dar información como por ejemplo el grado de estrés por el que está pasando una planta.

Los procesos de adaptación para que estos conocimientos entren al área agrícola pasan por difundir primeramente la existencia de esta nueva disciplina, incorporarla dentro de los programas de fisiología vegetal que se dictan en la Universidad, y ver las ventajas y oportunidades que contempla el estudio de los aspectos de la neurobiología vegetal. Asimismo, es necesario que se formen equipos de trabajo en torno a líneas específicas de



la neurobiología vegetal y el apoyo financiero de fuentes como por ejemplo Fondecyt.

### **Detección de nuevas oportunidades y aspectos que quedan por abordar**

Señalar aquellas iniciativas que surgen como vías para realizar un aporte futuro para el rubro y/o temática en el marco de los objetivos iniciales de la propuesta, como por ejemplo la posibilidad de realizar nuevas actividades.

Indicar además, en función de los resultados obtenidos, los aspectos y vacíos tecnológicos que aún quedan por abordar para ampliar el desarrollo del rubro y/o temática.

En un futuro cercano, y como parte de los objetivos de la tesis que estoy realizando, se realizarán nuevas investigaciones en torno a la electrofisiología del palto en respuesta al estrés hídrico, lo cual será un aporte tanto para el área científica que estudia la electrofisiología en plantas, como también para el rubro de la palta, donde actualmente existen pocos estudios de fisiología del estrés.

Los aspectos que aún quedan por abordar para ampliar el desarrollo científico del tema de la neurobiología vegetal son muchos. Es necesario recordar que este es el Primer Symposium realizado en este tema, por lo que se puede apreciar que se trata de una disciplina que está en sus comienzos.



#### 4. ASPECTOS RELACIONADOS CON LA EJECUCIÓN DE LA PROPUESTA

##### Programa Actividades Realizadas

Nº	Fecha	Actividad	Iniciativa
1	17/5/2005	Perspectivas históricas y tópicos generales . Moléculas	Cumplida
2	18/5/2005	Moléculas. Biología celular y fisiología vegetal.	Cumplida
3	19/5/2005	Biología celular y fisiología vegetal. Electrofisiología.	Cumplida
4	20/5/2005	Electrofisiología, comunicación planta a planta y ecofisiología	Cumplida
5	17-20/5/2005	Sesión de Póster	Cumplida

**Detallar las actividades realizadas en cada una de las Iniciativas**, señalar y discutir las diferencias con la propuesta original, y rescatar lo más importante de cada una de ellas. Por ejemplo, en el caso de Giras discutir las actividades de cada visita; Becas, analizar las exposiciones más interesantes; Consultores, detallar el itinerario y comentarios del consultor; Eventos, resumir y analizar cada una de las exposiciones; y Documentos, analizar brevemente los contenidos de cada sección.

##### BECAS

El temario del Symposium se compuso, tal como se había adelantado, de los siguientes capítulos:

- Perspectivas históricas y tópicos generales
- Moléculas
- Biología celular y Fisiología Vegetal
- Electrofisiología
- Comunicación Planta-planta y ecofisiología
- Sesión de pósters

El programa siguió el orden determinado antes del Symposium sin presentarse cambios. La sesión de pósters se realizó el tercer día de Symposium entre sesiones, con una duración de 30 minutos.

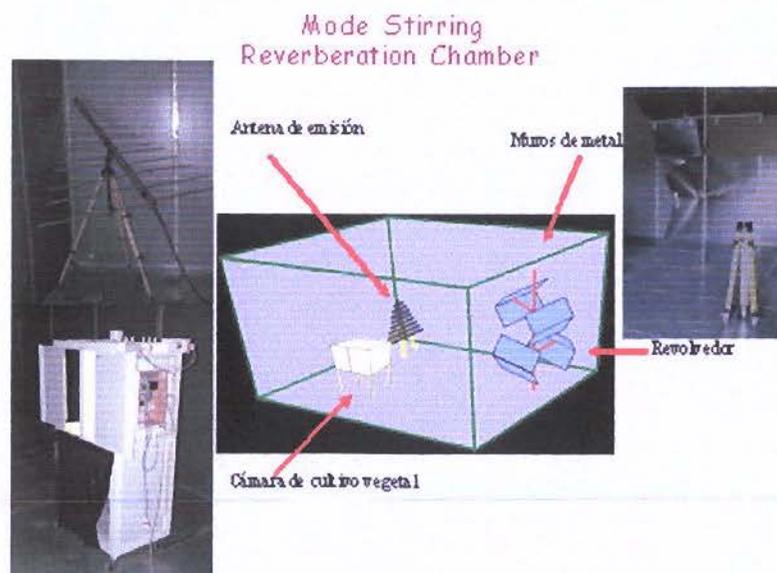
Con respecto a los temas más importantes de cada sección, estos ya fueron destacados en la sección 3: Resultados obtenidos. Sin embargo cabe destacar dos ponencias

interesantes no desarrolladas anteriormente. La primera de ellas relata el efecto de la aplicación de corriente DC sobre injertos no vernalizados injertados sobre portainjertos vernalizados de raps. Plantas de raps de 4 semanas fueron vernalizadas 56 días a 5°C, 10 h de fotoperíodo y luego cultivadas en invernadero hasta estado de yema floral hinchada. La parte apical fue cortada y reemplazada por un injerto de planta no vernalizada.

Dos días después de injertadas, las plantas fueron tratadas con corriente eléctrica DC (un electrodo en la parte apical y otro en el suelo). Tratamientos de 30 V por 30 seg y 6V por 24 h, fueron usados en ambas polaridades. Luego las plantas fueron cultivadas en un invernadero por 4 semanas y analizadas semanalmente.

Los resultados consistieron en que la corriente eléctrica de polaridad positiva (ánodo en el ápice, cátodo en el medio) aumentó significativamente el porcentaje de floración de injertos no verbalizados sobre portainjertos vernalizados, bajo condiciones de día corto y largo. La corriente eléctrica de polaridad negativa por su parte, inhibió la floración de raps injertado bajo día largo. Lo anterior indica que la polaridad negativa parece suprimir las señales inductivas mientras que la polaridad positiva parece imitarlas o frenar los efectos de condiciones no inductivas.

Un segundo ensayo interesante se refiere al efecto del electromagnetismo de alta frecuencia sobre plantas de tomate. Para esto se utilizó un sistema de estimulación exacto y totalmente controlado (Figura 1), un modelo biológico simple, como plantas de tomate, y como respuesta inmediata se midieron marcadores moleculares.

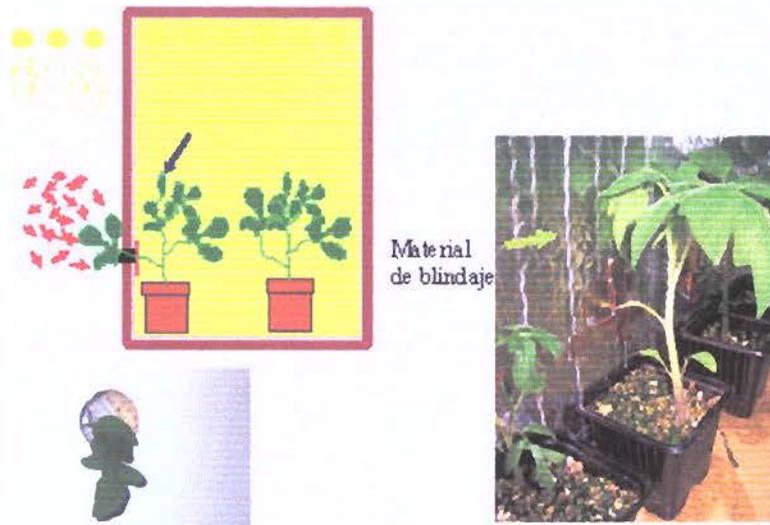


**Figura 1: Sistema de estimulación exacto y totalmente controlado (MSRC)**

Los tomates (cv VFN-8) se desarrollaron por 3 semanas en una cámara de cultivo. Las condiciones de la cámara eran de 16 h de luz: 8 horas de oscuridad,  $150 \mu \text{mol s}^{-1}$ , 26°C.

También se cultivaron mutantes como Sitiens y Flacca (deficientes en ABA) y JL-1 y JL-5 (deficientes en JA). Las condiciones de estimulación fueron de 900 MHz, 5V/m, y 10 min, comparable con el electromagnetismo de una llamada telefónica.

Por otra parte, también se mantuvieron plantas aisladas de las condiciones de electromagnetismo pero con una sola hoja expuesta a estas condiciones (Figura 2).



**Figura 2: Estimulación de hojas aisladas.**

Como resultados se obtuvo que las plantas sometidas completamente a electromagnetismo tenían una respuesta en acumulación de DNA de bZIP (factor de transcripción), o de DNA de proteínas pin2 (proteínas de protección) pero donde se vio una señal traumática emitida por la hoja fue en la hoja expuesta a parte del resto de la planta, respuesta que fue rápidamente transmitida al resto de la planta en el caso de tomate wild type. Sin embargo, en tomates mutantes, no se observó tal transmisión, concluyéndose que en estas plantas deficientes de ABA o JA la respuesta es local y no sistémica.



## Contactos Establecidos

Presentar los antecedentes de los contactos establecidos durante el desarrollo de la propuesta (profesionales, investigadores, empresas, etc.), de acuerdo al siguiente cuadro:

Institución Empresa Organización	Persona de Contacto	Cargo	Fono /Fax	Dirección	E-mail
Universidad de Barcelona, España	Lluisa Moysset	Investigadora , Profesora de Fisiología vegetal			
Universidad de Mar del Plata, Argentina	Lorenzo Lamattina	Investigador, Profesor			
The Samuel Roberts Noble Foundation, INC., USA.	Elison Blancaflor	Investigador			
Hebrew University. Israel	Nava Moran	Investigadora , Profesora			
University of East Anglia, Norwich, UK.	David Wildon	Investigador, Profesor			
University of Washington, USA	Rainer Stahlbergs	Investigador, Profesor			
Universidad de Florencia	Sergio Mugnai	Investigador			
Universidad de Florencia	Stefano Mancuso	Investigador, Profesor			

University of Freiburg, Alemania	of	Edgar Wagner	Investigador, Profesor		
Universidad Nacional autónoma México	de	Gladis Cassab	Investigadora, Profesora		

### Material elaborado y/o recopilado

Entregar un listado del material elaborado, recibido y/o entregado en el marco de la propuesta. Se debe entregar adjunto al informe un set de todo el material escrito y audiovisual, ordenado de acuerdo al cuadro que se presenta a continuación.

También se deben adjuntar fotografías correspondientes a la actividad desarrollada. El material se debe adjuntar en forma impresa y en un medio electrónico (disquet o disco compacto).

### Elaborado

Tipo de material	Nombre o identificación	Preparado por	Cantidad
Presentación	Presentación charla de difusión ppt	Pilar Gil	1

### Recopilado

Tipo de Material	Nº Correlativo (si es necesario)	Caracterización (título)
Artículo	1	Plant Synapses: actin-based domains for cell-to cell communication
	2	Root apices as plant commands centres: the unique "brain-like" status of the root apex transition zone
Foto		
Libro	3	Book of abstract
Diapositiva		
CD		



### Programa de difusión de la actividad

En esta sección se deben describir las actividades de difusión de la actividad, adjuntando el material preparado y/o distribuido para tal efecto.

En la realización de estas actividades, se deberán seguir los lineamientos que establece el "Instructivo de Difusión y Publicaciones" de FIA, que le será entregado junto con el instructivo y formato para la elaboración del informe técnico.

Tal como se propuso en la propuesta original, se realizaron dos charlas de difusión durante el mes de junio. La primera tuvo lugar el día 23 de junio a las 10:00 hrs, en el Auditorium de la Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal de la Pontificia Universidad Católica de Chile. A la actividad asistieron 120 personas entre las cuales se contaban alumnos de pregrado, alumnos de postgrado, docentes y profesionales relacionados con el área científica.

La segunda charla tuvo lugar en INIA la Platina a la que asistieron 12 personas, todos investigadores de CRI la Platina y CRI V región.

Se adjunta en Anexo 1 una copia del material distribuido en las charlas y un CD con la presentación en Power Point.



## 5. PARTICIPANTES DE LA PROPUESTA

**GIRAS, BECAS:** Ficha de Participantes

**CONSULTORES:** Ficha de(l) Consultor(es)

**EVENTOS:** Ficha de Expositores y Organizadores

**DOCUMENTOS:** Ficha de Autores y Editores

Nombre	Pilar Macarena
Apellido Paterno	Gil
Apellido Materno	Montenegro
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	
Fono y Fax	
E-mail	
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	Pontificia Universidad Católica de Chile
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	Estudiante de Doctorado
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	Frutales, fisiología vegetal



### Participantes en actividades de difusión

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	
Apellido Paterno	
Apellido Materno	
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	
Fono y Fax	
E-mail	
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	



## 6. EVALUACIÓN DE LA PROPUESTA

### Evaluación de la actividad para cada INICIATIVA

En esta sección se debe evaluar la actividad en cuanto a los siguientes ítems:

a) Efectividad de la convocatoria (cuando corresponda)

132 participantes. Se superó la propuesta original.

b) Grado de participación de los asistentes (interés, nivel de consultas, dudas, etc)

La segunda charla contó con mayor participación que la primera. Se hicieron preguntas y comentarios acerca de la información difundida.

c) Nivel de conocimientos adquiridos por los participantes, en función de lo esperado (se debe indicar si la actividad contaba con algún mecanismo para medir este punto y entregar una copia de los instrumentos de evaluación aplicados)

Yo como participante logré aprender mucho con respecto a la información recibida durante el congreso. Espero que la difusión haya tenido buena llegada a los asistentes. Lamentablemente no se midió aquello.

d) Problemas presentados y sugerencias para mejorarlos en el futuro (incumplimiento de horarios, deserción de participantes, incumplimiento del programa, otros)

En general no se presentaron problemas ni en la participación en el Symposium ni en el desarrollo de las actividades de difusión.



### Aspectos relacionados con la postulación al programa de Captura y Difusión

a) Información recibida por parte de FIA para realizar la postulación

amplia y detallada       aceptable       deficiente

Justificar:

b) Sistema de postulación al Programa de Formación o Promoción (según corresponda)

adecuado       aceptable       deficiente

Justificar:

c) Apoyo de FIA en la realización de los trámites de viaje internacionales (pasajes, seguros, otros) (sólo cuando corresponda)

bueno       regular       malo

Justificar:

d) Recomendaciones (señalar aquellas recomendaciones que puedan aportar a mejorar los aspectos administrativos antes indicados)

## 7. Conclusiones Finales de la Propuesta Completa

En el caso de Giras Tecnológicas, en lo posible presentar conclusiones individuales por participante.

Como conclusión se puede señalar que la asistencia al Primer Symposium en Neurobiología vegetal permitió ampliar los conocimientos que se tenía en el tema, tanto en el área de electrofisiología como en el resto de la disciplina.

Fue posible establecer interesantes contactos con científicos serios que se dedican al tema en diferentes países del mundo, lo que abre posibilidades de intercambio de información y posibles pasantías en un futuro.

Fue posible extender los aspectos más importantes relacionados con la neurobiología

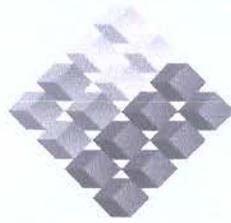


GOBIERNO DE CHILE  
FUNDACIÓN PARA LA  
INNOVACIÓN AGRARIA

vegetal a más de 130 participantes de las actividades de difusión, entre los que se contaban alumnos de pregrado, de postgrado, docentes, investigadores y otros profesionales relacionados con el área científica.

## **ANEXO 1**

**Material distribuido en las charlas de difusión  
CD con presentación en Power Point**



GOBIERNO DE CHILE  
FUNDACIÓN PARA LA  
INNOVACIÓN AGRARIA

Programa de Captura y Difusión Tecnológica  
“Acercamiento a la electrofisiología vegetal”

## ASPECTOS DEL PRIMER SYMPOSIUM DE NEUROBIOLOGÍA VEGETAL

Charla de Difusión

Pilar Gil Montenegro  
Estudiante de Doctorado en Ciencias de la Agricultura  
Pontificia Universidad Católica de Chile

Jueves 23 de junio de 2005

## Aspectos del Primer Symposium de Neurobiología Vegetal

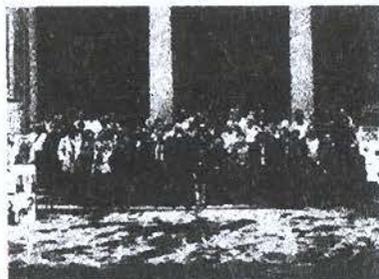


Fundación para la Innovación Agraria  
(FIA)  
Pilar Gil Montenegro

## Florencia, Italia



## Grupo de participantes



## Temario del Symposium

- Perspectivas Históricas y Tópicos generales
- Moléculas
- Biología celular y fisiología vegetal
- Electrofisiología
- Comunicación Planta-planta y ecofisiología
- Sesión de posters

## Perspectivas Históricas y Tópicos generales

## Historia de la ciencia vegetal

1. Morfología, taxonomía y estudio de la distribución de especies vegetales, Siglo 16.
2. Anatomía Vegetal, Siglo 18.
3. Citología Vegetal, Siglo 19.
4. Fisiología Vegetal, Siglo 20.
5. Neurobiología Vegetal, Siglo 21.

Charles Darwin, en 1880, propuso que los ápices radiculares representan un cerebro difuso de las plantas.



"The power movement in plants"

### Definición de cerebro

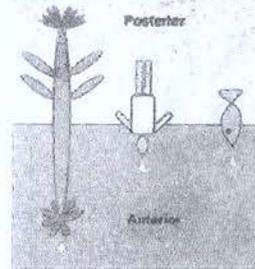
Un grupo de células que recibe señales de tipo neuronal desde un sistema de percepción y los procesa de tal forma que resulta una respuesta (comúnmente como movimiento).

### Aspectos neuronales de la vida vegetal

- Plantas logran una rápida comunicación interna a larga distancia vía potenciales de acción.
- Plantas poseen moléculas nerviosas críticas tales como receptores glutamato y sinaptotaminas.
- Plantas son capaces de acumular, procesar, almacenar y transmitir información.
- Plantas viven en su mayoría en comunidades y muestran una compleja vida social.

### Vista neurobiológica del cuerpo de las plantas

Darwin's View of the Plant Body



Como sugirió Charles Darwin, las plantas poseen un eje anterior y posterior de polaridad

**Polo posterior:**  
Especializado para reproducción sexual y fotosíntesis

**Polo anterior:**  
especializado para absorción de agua y nutrientes y actividades de información y procesamiento (cerebro)

### ¿Qué quiso decir Darwin con 'Anterior'?

"...los ápices...actúan como el cerebro de un animal inferior: el cerebro ha sido ubicado dentro del extremo anterior del cuerpo, recibiendo impresiones desde órganos sensibles y dirigiendo diversos movimientos".

### ¿Qué significa ser anterior?

Anterioridad está asociado con:

- La dirección del movimiento corporal;
- La dirección de impulsos nerviosos aferentes;

En el caso de las plantas significa

- La dirección del flujo de auxinas

"Sin embargo las planta por supuesto no poseen nervios ni un sistema nervioso central" (Darwin, 1880)

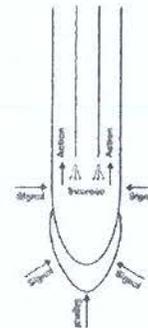
Ideas para considerar:

- 1. Las plantas tienen un cerebro.
- 2. Las plantas tienen un extremo anterior y por lo tanto, un eje anterior-posterior.
- 3. Nutación (torción del tallo) es un movimiento constitutivo (autónomo) mientras que un tropismo es un movimiento dirigido (facultativo) evocado por un estímulo.
- La pregunta entonces es si "cerebro", "eje anterior-posterior", y "movimientos dirigidos y autónomos" se relacionan entre ellos??

### Expresión funcional

- Movimiento de hojas
- Control estomático
- Nutaciones
- Adquisición de nutrientes por las raíces
- Crecimiento
- Fotosíntesis
- Ajuste osmótico
- Diferenciación celular y morfogénesis
- Control circadiano
- Respuestas adaptativas

Zona de transición como ejecutora de "comandos" desde el cerebro radical de las plantas



### Ápice radical de maíz



Bokukka et al (2001) J. Plant Growth Regul 20: 170-181

### Ápices radicales como centros de comando de las plantas

Zona de Transición del ápice radical:

- Tiene el mayor número de sinapsis auxínicas.
- Es extremadamente sensible a auxinas externas (Neurotransmisor vegetal).
- Es el mayor "sink" no sólo para auxinas sino que también para oxígeno - parecido a un cerebro.
- Muestra oscilaciones rítmicas en la absorción de Oxígeno y Potasio.

Ápices radicales interconectados via cilindros vasculares - sistema nervioso serial de plantas



Cerebro en plantas:

- Cada ápice radical posee una unidad del sistema nervioso vegetal.
- El número de ápices radicales es alto y todas las unidades cerebrales están interconectadas via filamentos vasculares (nervios vegetales) con su transporte polar de auxinas (neurotransmisor vegetal), para formar un sistema nervioso serial (paralelo) en las plantas.
- La capacidad informacional de este sistema nervioso podría ser mayor que aquel sistema nervioso difuso de animales inferiores.

### Movimientos y sistema nervioso

Organismo	Ejemplo de movimiento	Tipo de Sistema nervioso controlador
Animales		
Movimientos innatos	Látido del corazón, respiración	Sistema nervioso autónomo
Movimientos de respuesta	Miembros	Percepción de estímulos, sistema nervioso somático
Plantas		
Movimientos innatos	Netaciones	Programa autónomo de división celular inherente o constitutivo.
Movimientos de respuesta	Tropismos	Percepción de estímulos y sistema nervioso químico somático

### Inteligencia vegetal

• Capacidad de resolver problemas

• Comportamientos inteligentes:

- Detección e integración de información
- Toma de decisiones y control del comportamiento
- Aprendizaje
- Memoria
- Elección
- Autoreconocimiento,
- Optimización de recursos.

¿Cómo podemos caracterizar la inteligencia vegetal?

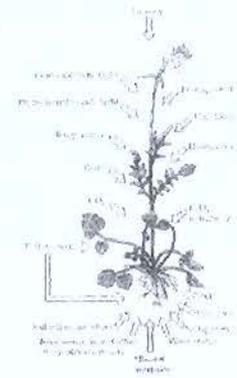
### Señales modifican el fenotipo

Señales

Plantas → discriminan intensidad, largo de exposición, dirección

Respuesta adaptativa

- Memoria
- Corrección de errores
- Logros



### Factores bióticos que modifican el fenotipo

Competencia (espacio, luz, agua)

Mutualismo

Presencia de herbívoros

Parasitismo

Espacio

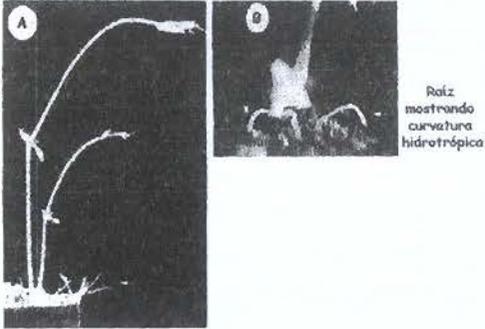
### Comunicación y comportamiento

Información comunicada entre células y tejidos (detectada y traducida a respuestas fenotípicas):

Ácidos nucleicos  
Proteínas  
Péptidos  
Minerales  
señales oxidativas  
Gases  
Etileno  
NO  
Señales hidráulicas  
Señales eléctricas

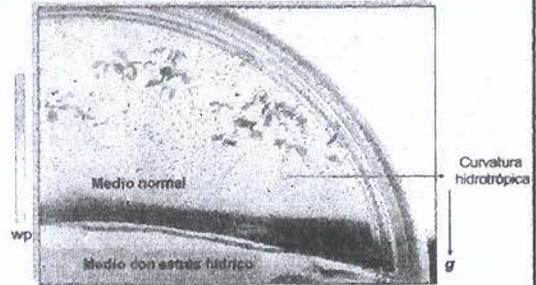
Lípidos  
Oligosacáridos  
Reguladores de crecimiento  
Aa (glutamato, GABA)  
Metabolitos secundarios  
Azúcares

Percepción y respuesta al hidrotropismo y gravitropismo son separables



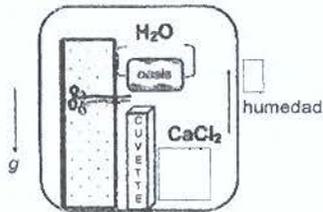
Jaffe et al., (1965) Science 230: 445

Sistema de investigación con gradientes de potencial hídrico para estudio de hidrotropismo en *Arabidopsis*



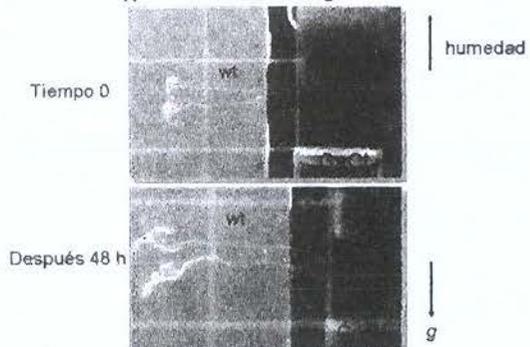
Eapen & Cassab, Unpublished

El sistema "agua en el cielo" para el análisis de hidrotropismo



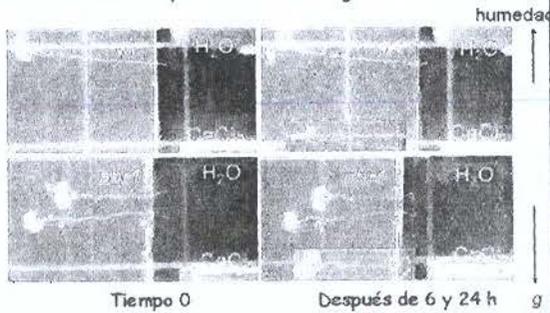
Eapen et al., (2003) Plant Physiol. 131

Curvatura hidrotropica de raíces de *Arabidopsis* wild type con el sistema "Agua en el Cielo"



Eapen & Cassab, Unpublished

¿Raíces del mutante *nhr1* no muestran una respuesta hidrotropica en el sistema agua en el cielo?



Electrofisiología

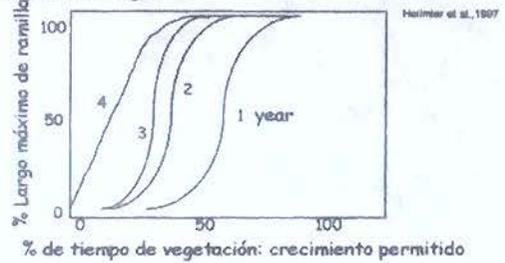
**Ejemplo:  
Comunicación raíz - brote**

Injertación: el portainjerto puede modificar el hábito de brotación, altura, formación de yemas florales, rendimiento, tolerancia al frío, resistencia a enfermedades.



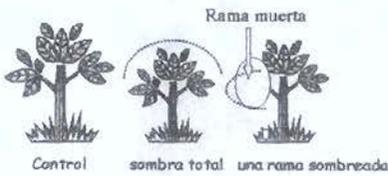
**Predicción de disponibilidad hídrica**

Almendros fueron plantados en contenedores y se les dio agua una vez al año por 4 años. Progresivamente ellos predecían cuándo el agua se les daría y ajustaban su metabolismo para tomar ventajas de ello. Similares experimentos se hicieron en abejas. Cambios morfológicos predicen futura escasez de agua.



**Capacidad de reacción**

Las plantas son capaces de captar información de su ambiente, lo cual es combinado con información de su estado interno y crea decisiones que le permiten estar bien con su entorno → Reacción ante situaciones de alarma.

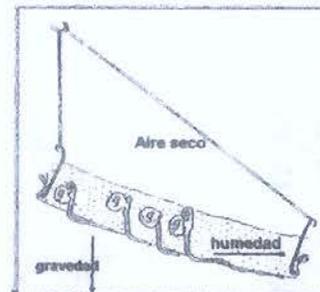


**Biología celular y fisiología vegetal**

Debido a que las plantas no pueden escapar del estrés medioambiental, ellas usan soluciones para remodelarse y adaptarse a las nuevas condiciones



Una solución desarrollada es la capacidad de las raíces de detectar y moverse hacia donde se encuentra el agua en el suelo

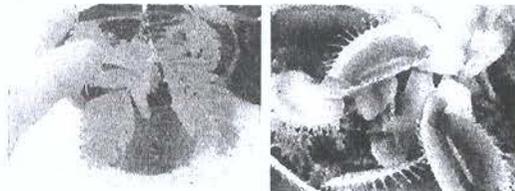


Hidrotropismo en raíces

### Filamentos vasculares-nervios vegetales

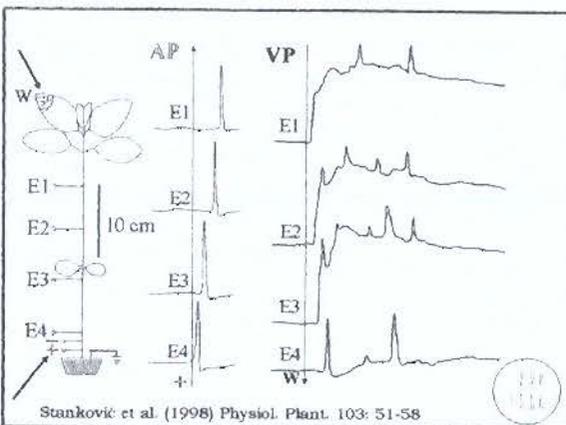
- **Filamentos vasculares:** unidades básicas del sistema vascular → nervios de las plantas y endoesqueleto. En raíces, la mayor proporción de tejido es el vascular y sus filamentos son soportados por numerosas células que forman el cilindro vascular.
- **Floema:** canal que interconecta ápices de brotes y raíces. El floema está especializado en la transmisión de señales eléctricas (potenciales de acción dirigidos).
- **Xilema:** tubos no vivos y llenos de agua especializados en la transmisión de señales hidráulicas las cuales son ondas autotransmitidas y dadas por cambios en la presión hidrostática.

### Señales eléctricas



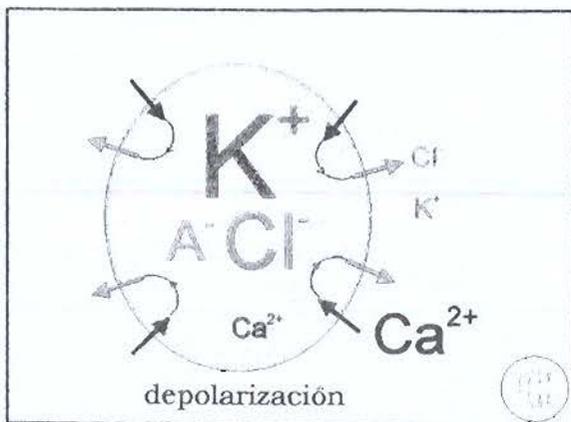
*Mimosa pudica*

*Dionea muscipula*

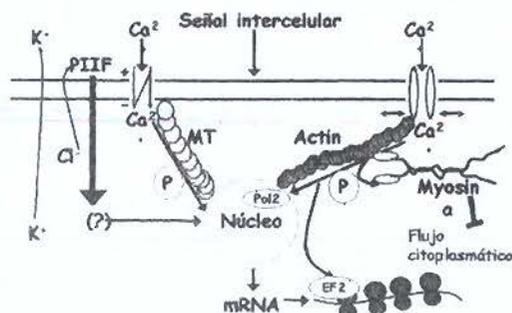


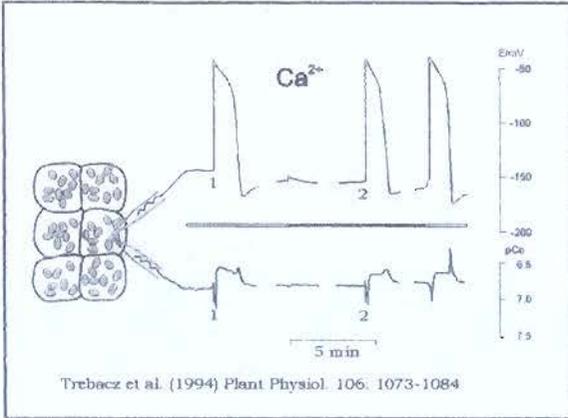
### Potenciales de acción propagados vía tubos cribosos (floema)

- Forma, amplitud y largo característicos.
- Propagación estable, con respuesta "todo o nada".
- Cambios en el potencial de membrana gatillan la apertura de canales de calcio.
- Canales conectados a microtúbulos.
- La entrada de calcio estimula la salida de cloruro.
- Salida de cloruro estimula la salida de potasio.
- Al alcanzar equilibrio se detiene el AP.
- Cambios en el potencial de membrana se transmiten a través del floema.
- Flujos de  $Ca^{2+}/Cl^-/K^+$  se repiten a lo largo de la planta.
- AP es una señal eléctrica genuina.



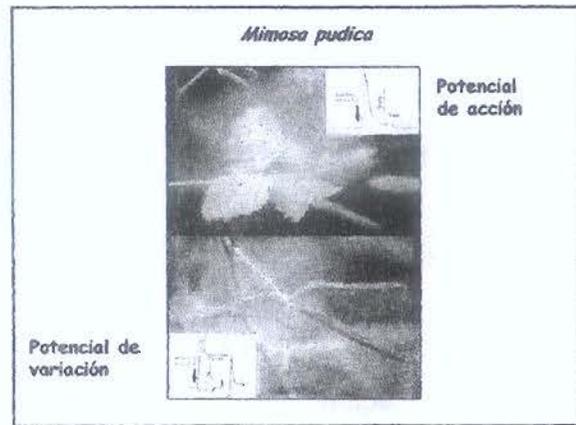
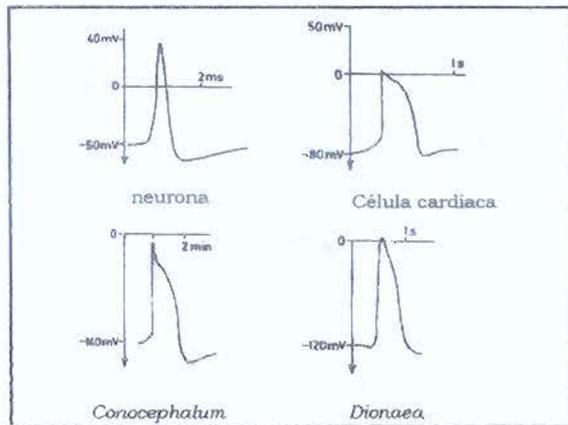
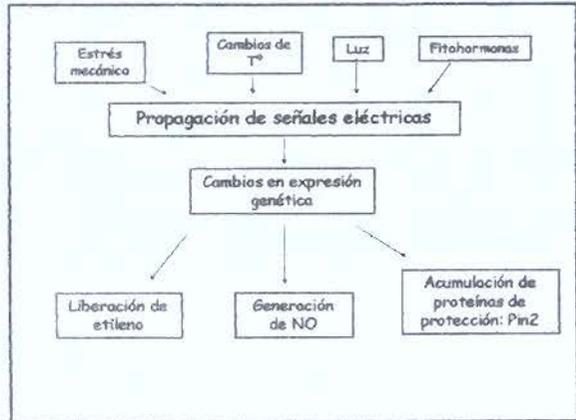
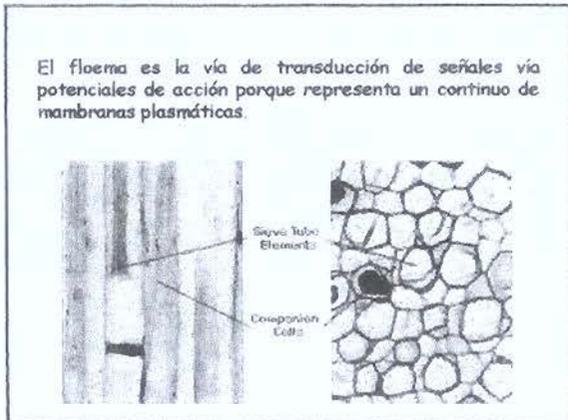
### Neurobiología vegetal a nivel celular



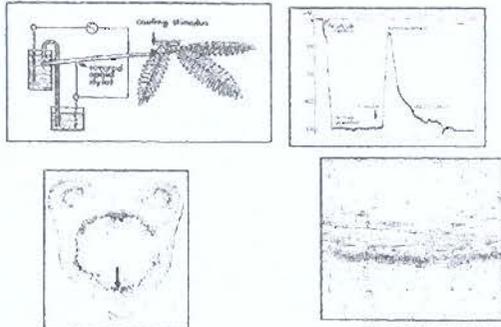


**¿Cómo trabajan los potenciales de acción?**

- A partir de estimulación resultan impulsos eléctricos.
- Una vez iniciados pueden propagarse a células excitables adyacentes.
- El cambio resultante en el potencial de membrana crea una onda de depolarización, o potenciales de acción que afectan al resto de las membranas adyacentes.
- Entonces, cuando el floema es estimulado en algún punto, el potencial de acción es propagado a lo largo de toda la membrana celular y también a lo largo del floema.

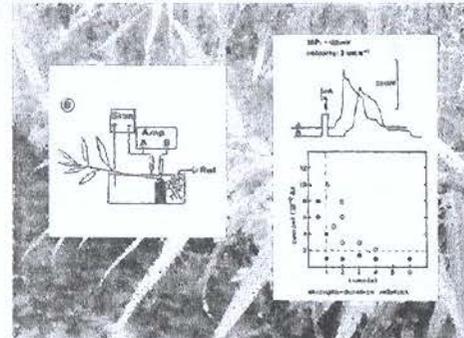


**Potencial de acción registrado en tubos cribosos de *Mimosa***



Fromm and Sieberich (1988) Trees 2: 7  
Fromm (1997) *Physiol. Plant* 102: 529

**Potenciales de acción generados por estimulación eléctrica en sauce**

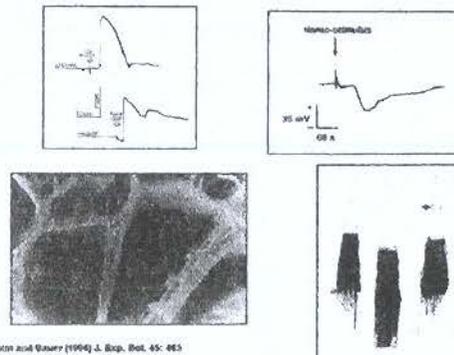


Fromm and Spitzwiesch (1992) *J. Exp. Bot.* 43: 1199

**Potenciales de variación son transmitidos por el xilema**

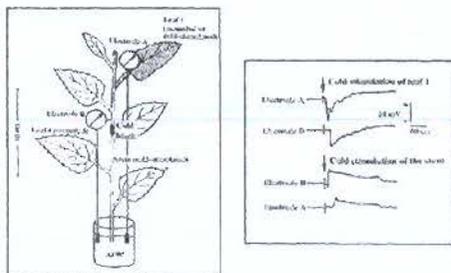
- Pérdida de tensión en el xilema se transmite a través de la planta. Detectado como cambios de turgor por células vivas adyacentes al xilema.
- Células vivas adyacentes: abren canales de calcio mecano sensibles.
- Canales conectados a microfilamentos.
- El consiguiente cambio localizado en potencial de membrana es visto como una señal que viaja (el VP).
- El cambio en el potencial de membrana puede también activar canales bloqueados por voltage, lo que puede generar un AP.

**Señales eléctricas en tubos cribosos de maíz**

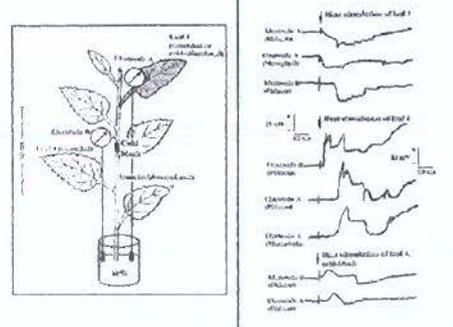


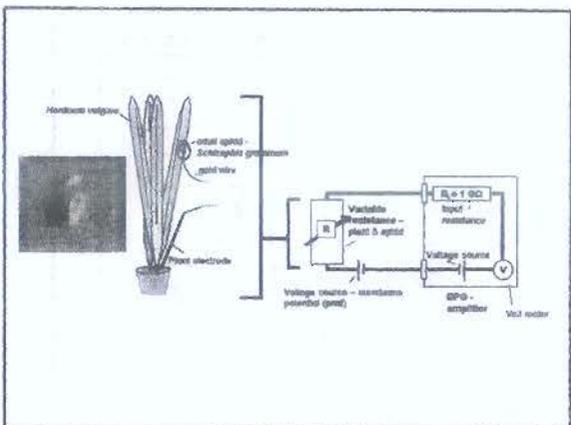
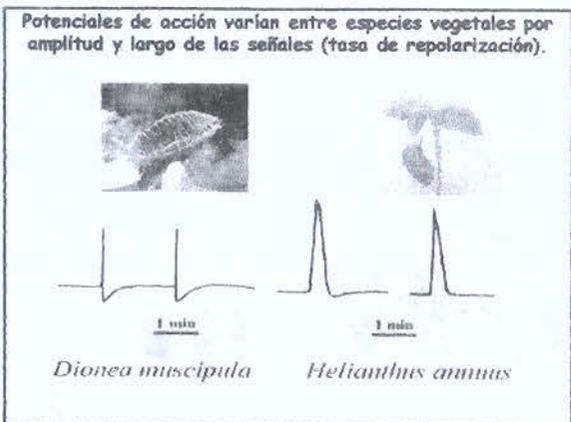
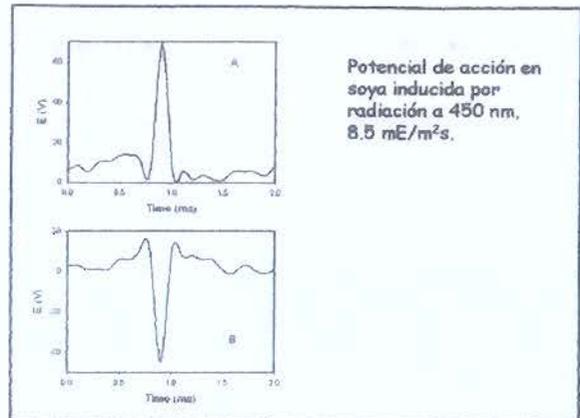
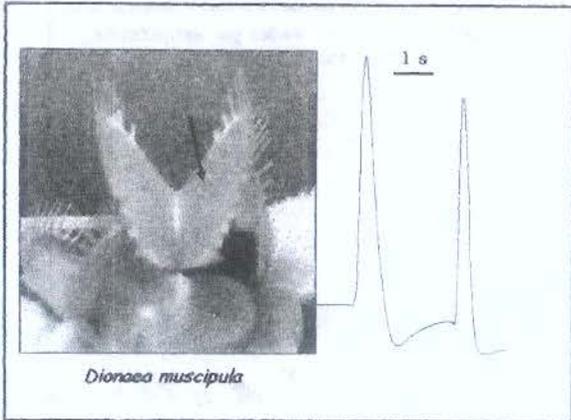
Fromm and Bauer (1994) *J. Exp. Bot.* 45: 465  
Gross et al. 2005, submitted

**Señales evocadas por estimulación con frío**

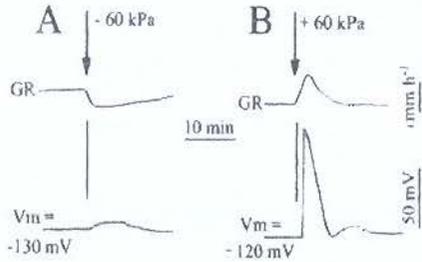


**Señales evocadas por estimulación con calor**

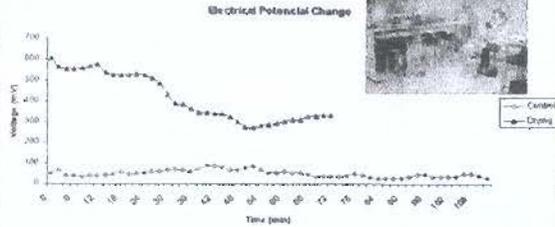




La larga depolarización propagada de las ondas lentas de potencial aumentan con la presión del xilema y la absorción de agua.

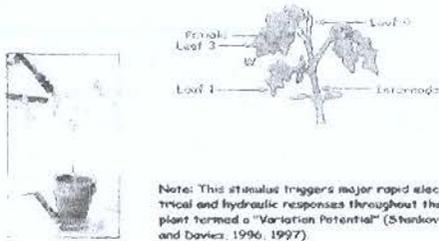


En palto, se ha observado que el desecamiento de raíces induce una variación de potencial eléctrico de más de 300 mV, de lenta repolarización. (Santiago de Chile, 2005)

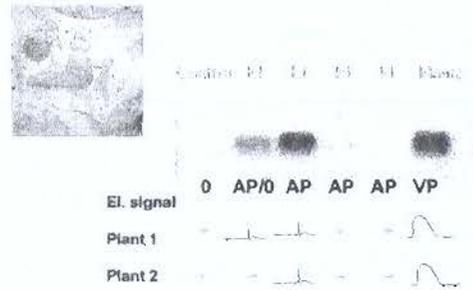


### Respuesta del daño en tomate como un sistema modelo para la señalización intercelular

Diagram of a 3-week old tomato plant. The terminal leaflet of leaf 1 (W, hatched area) was heat-wounded and systemic transcriptional responses were measured throughout the plant.

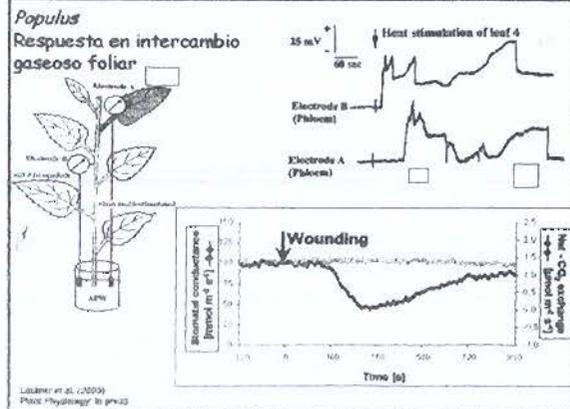


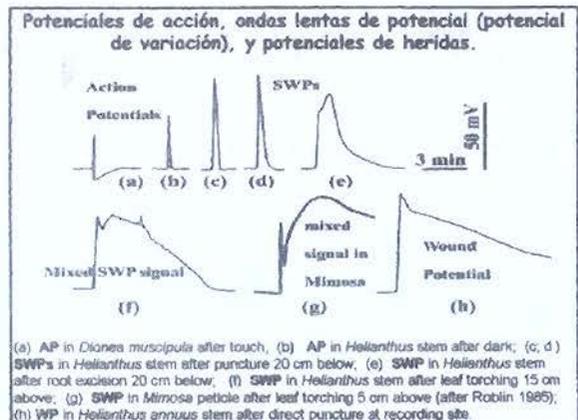
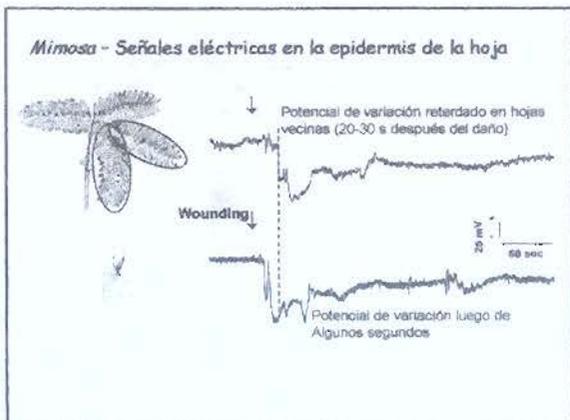
Potenciales de acción (AP) y potenciales de variación (VP) inducen la expresión de inhibidor de proteinasa 2 (*pin2*) en tomate



### Posibles señales físicas para la síntesis de inhibidor de proteinasa

- Ondas de presión
- Señales eléctricas
- Dispersión hidráulica: transporte de elicitors químicos por flujo reverso en el xilema.





Características de	Ondas lentas de pot. o Pot. De variación (VP)	Potenciales de acción (AP)	Potenciales de heridas
Inducción	Aumento en la presión del xilema y turgor	Depolarización celular bajo el umbral	Pérdida de turgor en células vecinas
Amplitudes	Variable: depende del tamaño del estímulo	Amplitud fija: todo o nada	Variable: depende del tamaño de la herida
Mecanismo iónico	Tipo bomba H <sup>+</sup> + canales iónicos?	Canales iónicos	Tipo bomba H <sup>+</sup> + canales iónicos?
Repolarización	Lenta > 1-30 min	Rápida < 1 min	Lenta: 30-90 min
Propagación	Como señal de presión en conductos xilemáticos	Como señal eléctrica en el floema	No se sabe

**Injertos no vernalizados sobre portainjertos vernalizados de raps.**

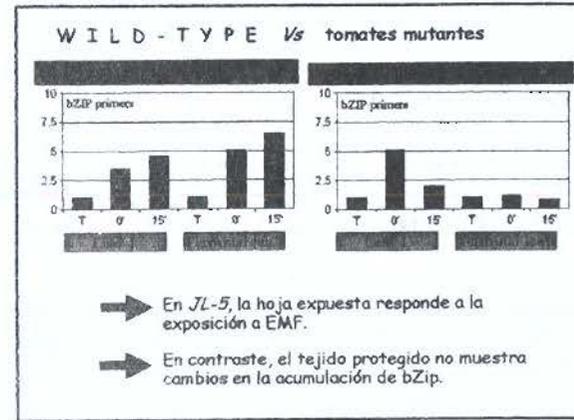
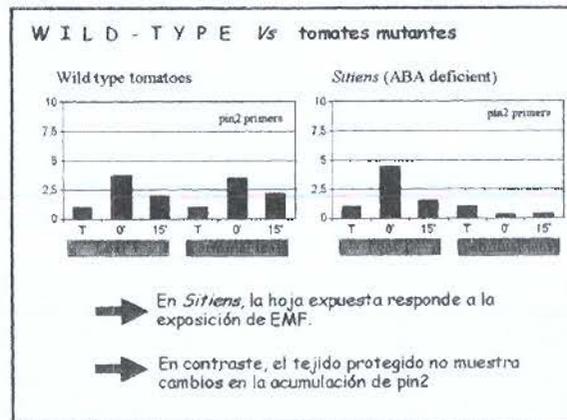
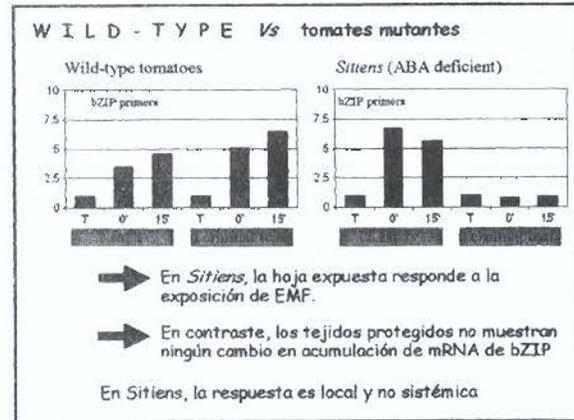
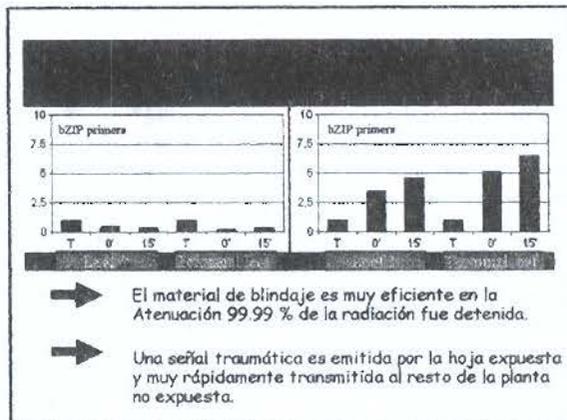
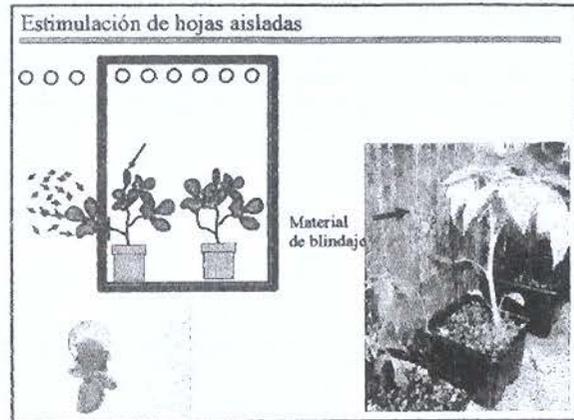
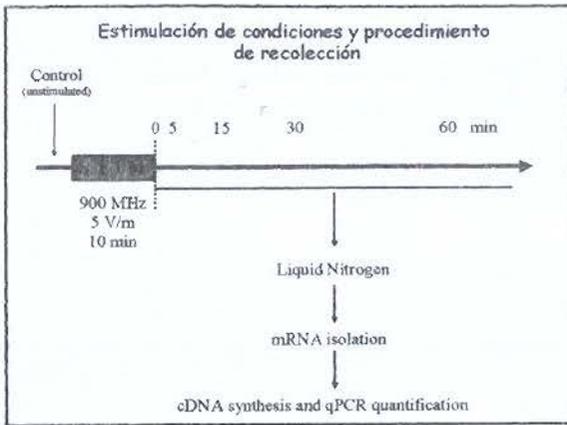
Plantas de raps de 4 semanas fueron vernalizadas 56 d a 5°C, 10 h de fotoperiodo y luego cultivadas en invernadero hasta estado de yema floral hinchada. La parte apical fue cortada y reemplazada por injerto de planta no vernalizada.

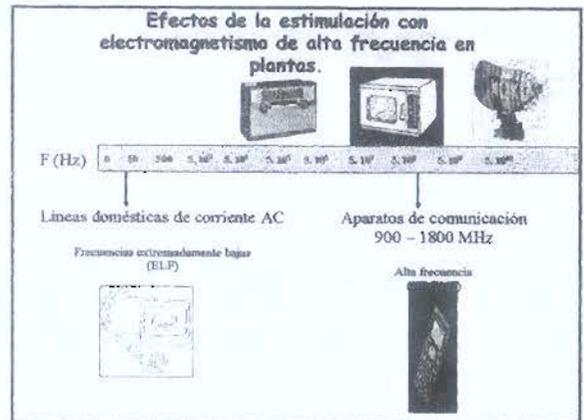
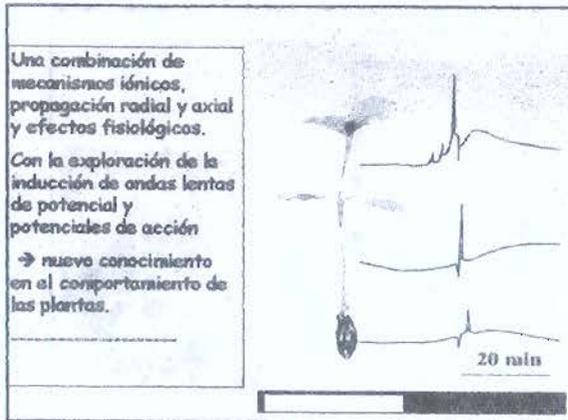
**Crecimiento y floración de plantas injertadas de raps.**

- 2 días después de injertadas, las plantas fueron tratadas con corriente eléctrica DC (un electrodo en la parte apical y el otro en el suelo).
- Tratamientos de 30V/30s y 6V/24h fueron usados en ambas polaridades. Luego las plantas fueron cultivadas en un invernadero por 4 semanas y analizadas semanalmente.

**Resultados**

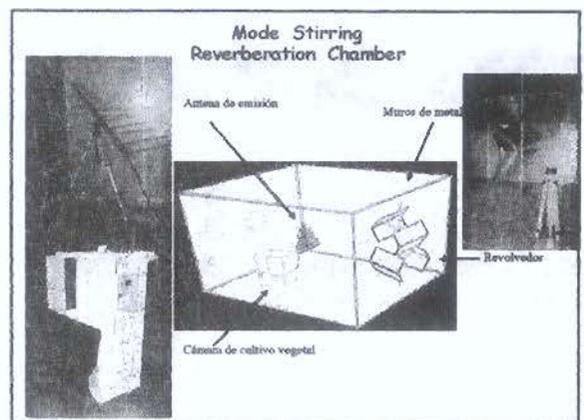
- Corriente eléctrica de polaridad positiva (ánodo en el ápice, cátodo en el medio) aumentó significativamente el porcentaje de floración de injertos no vernalizados sobre portainjertos vernalizados, bajo condiciones de día corto y día largo.
- Corriente eléctrica de polaridad negativa inhibió la floración de raps injertado bajo día largo.
- La polaridad negativa parece suprimir las señales inductivas mientras que la polaridad positiva parece imitarlas o frenar los efectos de condiciones no inductivas.





¿Estas radiaciones inducen cambios en la fisiología de organismos vivos?

- Sistema de estimulación exacto y totalmente controlado: MSRC
- Modelo biológico simple: planta de tomate
- Respuestas inmediatas: marcadores moleculares



### Cultivo vegetal

Tomates (cv VFN-B) se desarrollaron por 3 semanas en una cámara de cultivo

Condiciones de cultivo : L:D 16:8 ; 150  $\mu\text{mol s}^{-1}$  ; 26°C:21°C

Algunos mutantes como :

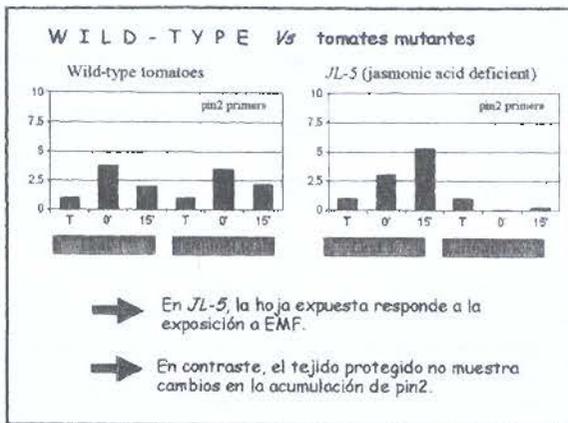
<i>Sitiens</i>	} Deficiente en ABA	} Crecieron bajo condiciones similares
<i>Flacca</i>		
<i>JL-1</i>	} Deficiente en JA	
<i>JL-5</i>		

### Condiciones de estimulación

- 900 MHz
- 5 V/m
- 10 min

El EMF es comparable en frecuencia, amplitud y duración con una llamada telefónica

Estas características fueron mantenidas dentro de la cámara de cultivo.

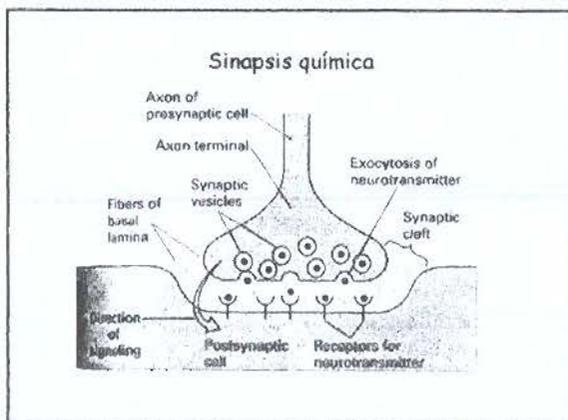


Moléculas

**Sinapsis**

A) Sinapsis Neuronal  
 B) Sinapsis inmunológica  
 C) Sinapsis vegetal

• Sinapsis: Adhesión de dominios basado en actina especializados para la comunicación rápida célula a célula mediante el tráfico de vesículas.



**Auxinas - Neurotransmisor en plantas**

**Auxinas:**

- Neurotransmisor específico de plantas
- Transportado en forma dependiente de la luz y gravedad.
- Inducen la formación de vasos (nervios vegetales) y raíces.

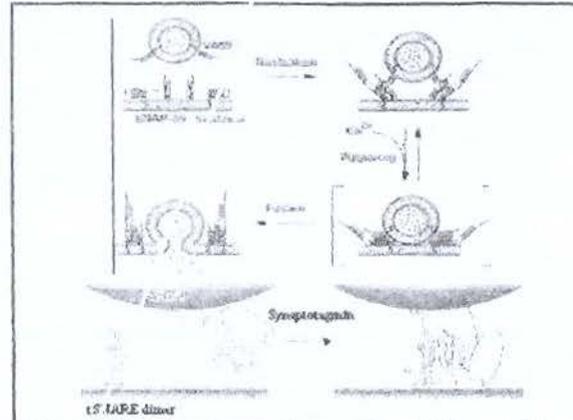
**Raíces y auxinas:**

- Ápices radiculares → mayor sink para el transporte polar de auxinas.
- Sensibles a auxinas aplicadas externamente induciendo la formación de raíces laterales.
- Las auxinas rápidamente regulan el tráfico de vesículas y la expresión genética en raíces.



### Sinaptotagminas

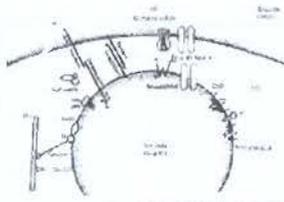
- Glicoproteína integral de membrana de vesículas sinápticas y gránulos secretorios de células endocrinas ampliamente expresada en el sistema nervioso central y periférico.
- Fundamental para el anclaje y fusión de las vesículas a zonas activas de la membrana plasmática, por su unión con proteínas específicas de la membrana. La unión de  $Ca^{2+}$  a las sinaptotagminas gatilla la exocitosis de vesículas sinápticas.
- Con al menos 8 isoformas, presente en células eucarióticas superiores.



### ¿Qué hacen en plantas?

Existen 3 genes de sinaptotagminas en plantas, pero su función está poco caracterizada.

Se cree que las diferentes isoformas de sinaptotagminas en plantas actuarían en el tráfico de membranas para interactuar con el heterodímero SNARE en la vía de fusión de membranas.



### Glutamato

- Neurotransmisor en el sistema nervioso animal.
- En plantas inhibe el crecimiento de raíces, modifica la arquitectura radical, afecta el largo y distribución de raíces.
- Aumenta sensibilidad al estrés.
- Glu actúa independientemente del estatus de N.
- Detectado localmente en el meristema apical de raíces.
- 50  $\mu M$  Glu aplicado localmente en raíces inhibe crecimiento radicular

### Receptores glutamato

- En plantas, existen proteínas homólogas a receptores ionotrópicos glutamato, que en animales son canales sinápticos cuya apertura está gatillada por el neurotransmisor glutamato.
- En plantas, este receptor juega un rol importante en transducción de señales.
- En *Arabidopsis* y trigo, en presencia de Al, las plantas secretan glutamato el cual se une a su receptor, permitiendo la entrada de  $Ca^{2+}$ , comenzando luego una transducción de señales que se dispersa por la célula.

### GABA

( $\gamma$ -amino-butyric acid)

- Aa no protéico sintetizado a partir de glutamato.
- En animales su función es como neurotransmisor inhibitorio en el sistema nervioso central.
- Actúa a través de receptores GABA.
- En plantas se acumula rápidamente y en alto nivel en respuesta a estrés (Anoxia, acidosis).
- Regula el gravitropismo en ápices radiculares.
- Mutantes sin GABA muestran desorientación del crecimiento de tubo polínico.

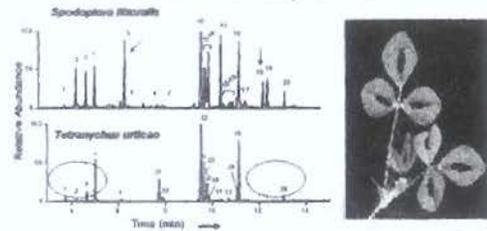
### Neurotransmisores, neuroreguladores y neurotoxinas

- Algunas plantas son cultivadas por su capacidad de cambiar nuestro humor mientras otras plantas contienen toxinas que deterioran nuestras funciones cognitivas (compuestos neurológicamente activos como nicotina, cafeína, cocaína, morfina).
- Metabolitos secundarios neurológicamente activos de plantas podrían funcionar como repelentes o atrayentes de herbívoros.

- Evidencia reciente indica que estos compuestos pueden jugar roles en plantas similares a los existentes en especies animales.
- La neurohormona mamífera melatonina ha sido descubierta en plantas (*Hierba de San Juan*) observándose correlación con procesos fotoregulados (desarrollo de flores, morfogénesis).
- La melatonina se sintetiza en plantas a partir de triptofano y se encuentra en mayores proporciones en tejido etiolado.

### Comunicación Planta-planta y ecofisiología

### Inducción de la biosíntesis de compuestos volátiles en plantas



- |                      |                                     |
|----------------------|-------------------------------------|
| 2) 1-octene-3-ol     | 15) C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> |
| 3) 3-hexenyl acetate | 16) C <sub>13</sub> H <sub>26</sub> |
| 10) α-copaene        | 18) Nerolidol                       |
| 11) β-caryophyllene  | 19) TMTT                            |

Diferentes herbívoros inducen diferentes patrones volátiles!

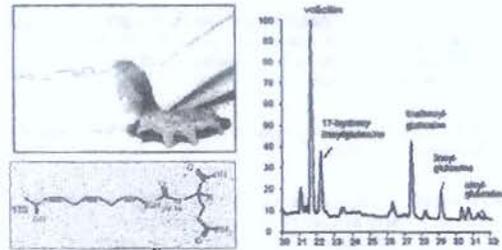
### Elictores a partir de las regiones heridas

Volicitin



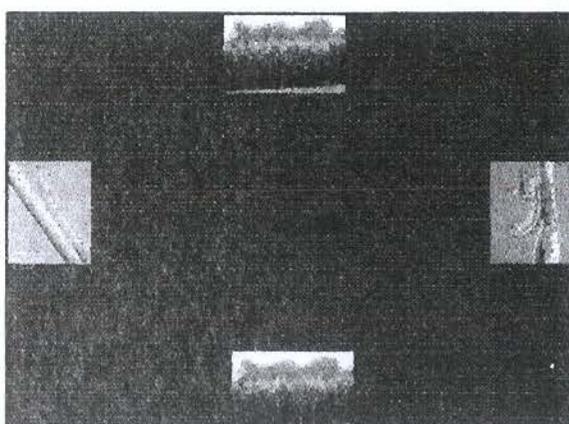
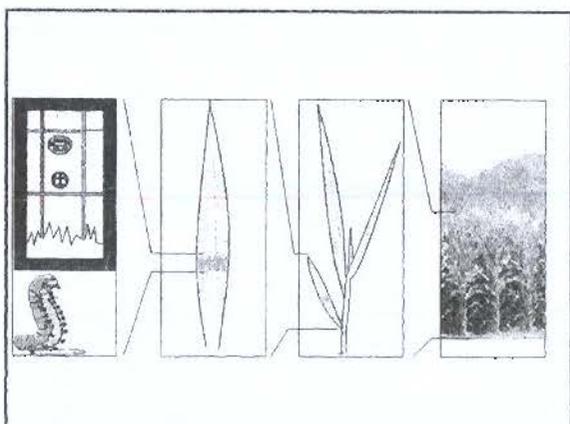
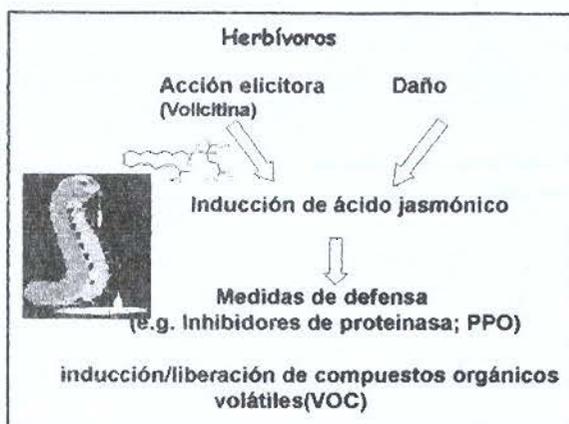
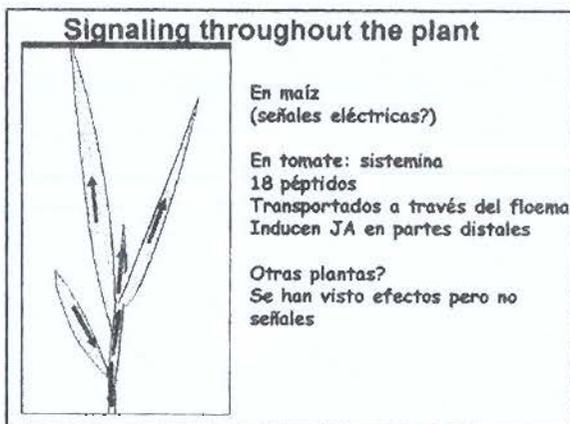
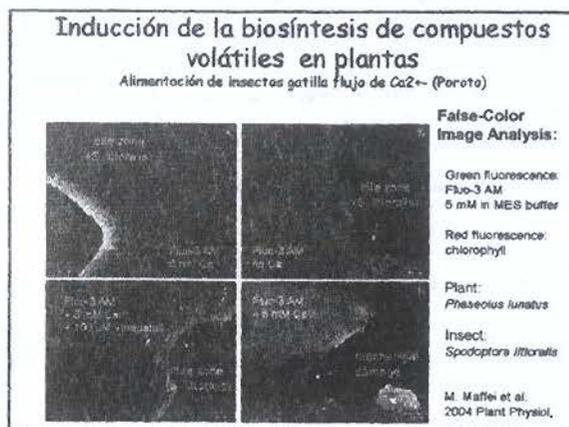
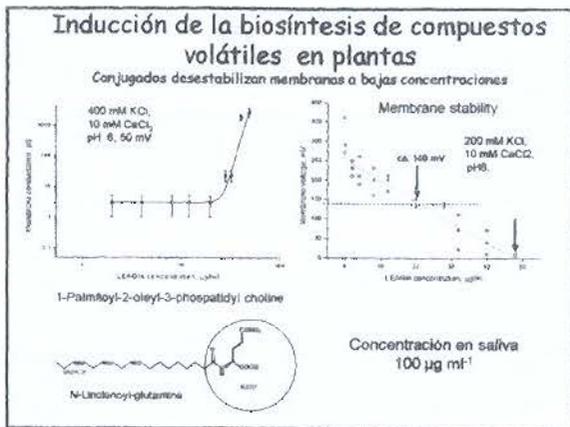
### Inducción de la biosíntesis de compuestos volátiles en plantas

Compuestos elicitores activos desde larvas de lepidópteros



broad range of fatty acids  
C<sub>16:0</sub> to C<sub>18:3</sub>  
bioisofurants I

LC-APCI-MS  
RP18, gradient elution



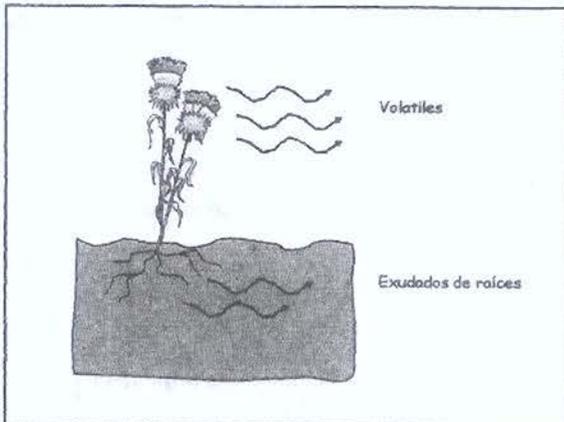
### Función de VOC en la naturaleza

- Atracción de parásitos/predadores de herbívoros atacantes
- Repelente para polillas hembras, impidiendo la ovoposición
- Repelente para larvas migratorias

### Inducción de biosíntesis de compuestos volátiles en las plantas

Resumen

1. Daño mecánico continuo regula defensa en las plantas, factores de secreción pueden modificar la respuesta cuantitativa y cualitativamente
2. Factores de secreción pueden actuar en la membrana por depolarización (efecto físico)
3. Factores de secreción, y no daño mecánico, median un fuerte flujo de  $Ca^{2+}$ .
4. Daños por herbívoros y flujo de  $Ca^{2+}$  llevan a la dispersión de señales eléctricas que alterarían el estado fisiológico de la hoja.
5. Percepción de volátiles tiene efecto en  $V_m$ ,  
→ hiperpolarización



### Efectos de interacciones alelopáticas

- Alelobiosis entre cultivares de cebada afecta la temperatura foliar y la biomasa.
- Alelobiosis interespecífica (entre malezas y cebada) e intraspecífica (entre cultivares de cebada) afectan la aceptación de áfidos por las plantas
- Alelobiosis entre malezas y cebada afecta el comportamiento de enemigos naturales de áfidos

### Investigaciones actuales

