



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

“EFECTO DE LAS BAJAS TEMPERATURAS EN LA ESTRUCTURA Y  
LAS PROPIEDADES DE LA MEMBRANA PLASMÁTICA DE CÉLULAS  
VEGETALES”

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO-BIOLÓGICO

PRESENTA

MA. JOANA URIOSTEGUI OCAMPO

Ciudad de México, 2022





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:**           **Profesor: MARINA GAVILANES RUIZ**

**VOCAL:**               **Profesor: J. ELEAZAR MARTINEZ BARAJAS**

**SECRETARIO:**       **Profesor: MARIA ELENA IBARRA RUBIO**

**1er. SUPLENTE:**     **Profesor: HERMINIA DE JESUS LOZA TAVERA**

**2° SUPLENTE:**       **Profesor: ROSARIO ADELAIDA MUÑOZ CLARES**

## **SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**VÍA VIRTUAL**

**ASESOR DEL TEMA:**

**MARINA GAVILANES RUIZ**

**SUSTENTANTE (S):**

**MA. JOANA URIOSTEGUI OCAMPO**

## **AGRADECIMIENTOS**

Este trabajo forma parte de un proyecto financiado por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico, DGAPA, UNAM (PAPIIT IN222621), y por la Facultad de Química (PAIP 50009115), a quienes se agradece su apoyo.

Agradezco infinitamente a la Dra. Marina Gavilanes Ruiz por todo el apoyo, tiempo, comprensión, paciencia, entrega y valiosos consejos a lo largo del proceso de investigación para mi Trabajo Monográfico de Actualización.

## **DEDICATORIAS**

A mi mamá por ser mi principal inspiración, mi ejemplo de lucha y perseverancia. Por siempre acompañarme, apoyarme, alentarme, orientarme. Te amo mamá, gracias por ayudarme a cumplir uno de mis sueños que fue estudiar en la Facultad de Química, UNAM. Siempre de la mano de Dios.

A mis tías Josefina, Carmelita, Pura, por apoyarme y escucharme en todos los aspectos y tiempo en mi formación universitaria y motivarme a superarme cada día.

A la Química Ariana por enseñarme y tenerme paciencia en mi formación laboral y profesional que estoy desarrollando en el Hospital Básico de la Comunidad de Arcelia.

A mis amigas Yaneli y Aranza que vivieron conmigo en CDMX por acompañarme a lo largo de toda la carrera y siempre apoyarme en cada uno de mis logros.

Por último, pero no menos importante, quiero agradecer a mis amigos y compañeros de trabajo de Arcelia por sus consejos y paciencia en el transcurso de mi carrera y en el desarrollo de mi TMA.

## ÍNDICE

<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	7
<b>ABREVIATURAS</b> .....	8
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	10
<b>OBJETIVO GENERAL</b> .....	12
<b>OBJETIVOS PARTICULARES</b> .....	12
<b>METODOLOGÍA</b> .....	12
<b>DESARROLLO DEL TEMA</b> .....	13
1. Percepción fisiológica de las temperaturas diurnas y estacionales por las plantas.....	13
1.1 El estrés por calor.....	13
1.2 El estrés por frío.....	14
1.3 La membrana plasmática en las respuestas a temperaturas extremas..	15
2. Estructura de la membrana plasmática de las plantas.....	16
2.1 Modelo del mosaico fluido.....	16
3. Lípidos membranales.....	17
4. Propiedades de las membranas influenciadas por sus lípidos.....	24
5. La membrana plasmática como sensor de la temperatura.....	32
6. Efectos iniciales de las bajas temperaturas ( no congelantes y congelantes) en las membranas.....	34
7. Cambios en la fluidez membranal por temperaturas no congelantes....	35
8. Daños en la integridad membranal por temperaturas congelantes.....	35
9. Efectos de las bajas temperaturas a tiempos largos. Aclimatación.....	37
10. Cambios en la composición membranal de lípidos.....	38
11. Regulación transcripcional de los eventos de la respuesta a bajas temperaturas.....	39
12. Protección membranal a partir de la expresión de los genes COR...	39

13. Estabilización membranal por crioprotectores .....	41
14. Efectos del estrés por frío en la composición del proteoma de las plantas.	43
15. Proteínas de respuestas a bajas temperaturas.....	43
16. Proteínas reguladas por frío.....	44
17. Proteínas anticongelantes.....	46
18. Proteínas de choque de frío.....	47
19. Proteínas universales de estrés .....	49
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>49</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>50</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>52</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Organización de la membrana plasmática según la visión actual del modelo de mosaico fluido de Singer y Nicolson.....	16
Figura 2.	Estructura de un glicerofosfolípido de membrana.....	19
Figura 3.	Estructura química y tridimensional de un sitosterol.....	21
Figura 4.	Estructura de un esfingolípido.....	22
Figura 5.	Mesomorfismo de los lípidos membranales por temperatura o por insaturación de las cadenas acílicas.....	28
Figura 6.	Tipos de fases lipídicas membranales.....	32
Figura 7.	Rutas de señalización de respuesta a frío.....	40
Figura 8.	Proteínas anticongelantes.....	47

## LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
ABA	Ácido abscísico
AFP	Proteínas anticongelantes
BCL	Base de cadena larga
Cers	Ceramidas
COR	Genes regulados por frío
CSP	Proteínas de choque frío
DRM	Membranas resistentes a detergentes
DRE	Respuesta a la deshidratación
EROs	Especies reactivas de oxígeno
ESCRT	Complejos de clasificación endosomal necesarios para el transporte
GEM	Membranas enriquecidas en gangliósidos
GIPCs	Glicosilinositolfosfoceramidas
GlcCers	Glucosilceramidas
hCers	Hidroxiceramidas
HI	Fase hexagonal I
HII	Fase hexagonal II
IDP	Proteínas intrínsecamente desordenadas
LEA	Proteínas de la embriogénesis tardía
LT	Bajas temperaturas
LTI	Inducidos por bajas temperaturas
MIC	Microsomas
ML	Microdominios lipídicos
PA	Ácido fosfatídico
PIP2	Fosfatidilinositol-4,5-bifosfato
PIP3	Fosfatidilinositol-3,4,5-tripfosfato
PM	Membrana plasmática
PR	Proteínas relacionadas con la patogenia
RD	Responsivos a desecación
TMD	Dominios transmembranales

VLCFA

VM

Ácidos grasos de cadena muy larga

Membrana vacuolar

## INTRODUCCIÓN

La mayoría de las especies vegetales son sensibles al estrés por temperatura y sufren cuando éstas son bajas o muy altas con respecto a los umbrales definidos para cada una de ellas. Pocos ambientes permanecen siempre dentro de los ámbitos de temperatura óptimos para las funciones vitales (aproximadamente 5-25 °C). En respuesta a los cambios de temperatura, las plantas despliegan una amplia plasticidad estructural y fisiológica que les permite adaptarse a diferentes temperaturas provocadas por la geografía y por los ritmos circadianos y estacionales (Chaves-Barrantes y Gutiérrez-Soto, 2017).

Las plantas son organismos sésiles, es decir, no pueden moverse a ambientes más favorables por lo que sus procesos de crecimiento y desarrollo se ven afectados sustancialmente, a menudo de forma letal, por el estrés por altas y bajas temperaturas. La temperatura es uno de los principales controladores de la distribución y productividad de las plantas, con efectos importantes en la actividad fisiológica en todas sus escalas temporales y espaciales (Sage y Kubien, 2007).

La membrana plasmática de las células vegetales es el sitio que se afecta primero por las bajas temperaturas y pueden sufrir cambios irreversibles dependiendo de las condiciones de exposición al frío como duración, intensidad y velocidad del decremento de temperatura. Sin embargo, las plantas tienen mecanismos para prevenir o contrarrestar los efectos de las bajas temperaturas. Estos son cambios a nivel molecular que se manifiestan en los componentes membranales: lípidos, proteínas y carbohidratos. En esta revisión se hace una recopilación y análisis de estos cambios, bajo un enfoque que abarca a los componentes estructurales de la membrana en una revisión que no está disponible como tal en la literatura.

El cambio climático que el planeta está manifestando, incluye, de manera sustantiva, el trastorno de los regímenes pluviales y de temperatura ya existentes. Los seres vivos han desarrollado mecanismos a lo largo de su evolución que les permiten contender con los cambios de temperatura diurnos y estacionales (Mohanty et al. 2010). Estos mecanismos están diseñados para responder dentro de un intervalo definido por valores máximos y mínimos de temperatura, pero los actuales registros térmicos están a menudo fuera de ese intervalo. Las plantas, que constituyen un eslabón fundamental en las cadenas tróficas de la vida en la Tierra, sufren actualmente los daños por temperaturas extremas ante las que no están genéticamente programados para enfrentar y resolver. Estos daños tienen impacto a nivel agronómico y ecológico. Las consecuencias de ello son la pérdida de cosechas, lo cual

incide en problemas de alimentación a nivel de poblaciones, mismos que van desde pequeñas zonas hasta regiones geográficas extensas del planeta (Chaves-Barrantes y Gutiérrez-Soto, 2017). Dado lo anterior, es preciso conocer cuáles son las respuestas naturales de las plantas ante las condiciones de temperaturas extremas y de los mecanismos endógenos de resistencia o tolerancia ante estas temperaturas. Conociendo estos comportamientos podemos generar estrategias que permitan optimizar los mecanismos de defensa ya existentes en ciertas especies de plantas o bien inducirlos en otras especies que carecen de dichos mecanismos.

## **OBJETIVO GENERAL**

Realizar una revisión bibliográfica actualizada sobre los efectos que produce la exposición a bajas temperaturas en las moléculas formadoras de la membrana plasmática y que impactan sus propiedades en las plantas; estas pueden incluir tanto al grupo de angiospermas como al de gimnospermas.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

-Revisar la relación estructura-función de los componentes de la membrana plasmática: lípidos, proteínas, carbohidratos y sus propiedades.

-Organizar en un texto comprensible los cambios en la estructura y en las propiedades de la membrana plasmática originados por la exposición a bajas temperaturas reportados en la literatura.

## **METODOLOGÍA**

Se consultaron bases bibliográficas especializadas en el tema de estructura y función de membranas biológicas, membranas de plantas, lípidos membranales, proteínas membranales, efectos de bajas temperaturas en membranas. Se seleccionaron artículos de revistas y libros especializados, de los cuales 94 se refieren en este trabajo.

## DESARROLLO DEL TEMA

### 1. Percepción fisiológica de las temperaturas diurnas y estacionales por las plantas.

Los cambios día/noche implican cambios en la temperatura a la que están expuestas las plantas. Estos cambios están relacionados con el ciclo circadiano natural que les permite ajustarse a estos grandes cambios. Sin embargo, durante el día o la noche puede haber variaciones muy importantes debido a condiciones climáticas como lluvia, nubosidad, etc. Aun no es entendido cómo estos cambios son percibidos de una manera inmediata por la planta (Rodríguez et al. 2004). Aunque es posible detectar cambios estacionales por el cambio en la temperatura ambiental, esta no es la manera en que las plantas perciben que las estaciones cambian. Las plantas detectan la época del año por la ocurrencia de las variaciones diurnas de luz y los periodos de oscuridad denominadas como fotoperiodo. Debido a la inclinación de la Tierra, en el hemisferio norte durante los días de invierno hay menos horas de luz que durante los días de verano; sucede lo contrario en el hemisferio sur. El fotoperiodo presenta variaciones diurnas de la luz y los periodos de oscuridad e influye sobre el desarrollo de las plantas. En las plantas que se desarrollan durante períodos de día corto, la floración tiene lugar en respuesta a periodos largos de oscuridad y periodos cortos de luz. Este periodo puede incluir un día con una duración corta crítica y suficiente para que se promueva la floración. Por otro lado, en las plantas de día largo, la floración es promovida en respuesta a periodos cortos de oscuridad y periodos largos de luz durante el día, de forma que el periodo de luz puede exceder una longitud crítica diurna para que la floración tenga lugar (Rey, 2008), si bien, hay algunas especies que no son muy sensibles al fotoperiodo. En condiciones naturales de cultivo, las plantas están expuestas a las variaciones térmicas del medio, las cuales influyen de manera importante en los diferentes procesos fisiológicos y bioquímicos conducentes a su crecimiento y desarrollo (García-Pacheco y López-Castañeda, 2002).

**1.1 El estrés por calor.** A nivel molecular éste afecta diferencialmente la estabilidad de proteínas, membranas, moléculas de ARN, estructura del citoesqueleto y altera la eficiencia de las enzimas. A nivel fisiológico y estructural, las modificaciones inducidas por las altas temperaturas en las plantas pueden ser directas, sobre algún proceso como la respiración, la estabilidad de las membranas y la aceleración del desarrollo, o pueden ser indirectas, a través de sus efectos sobre la demanda ejercida por el efecto evaporativo del aire y el balance de energía de las hojas y sus consecuencias sobre el funcionamiento de los estomas, mismo que regula el intercambio gaseoso (Wahid et al. 2007).

La exposición a altas temperaturas desencadena cascadas de señalización y modifica la expresión génica. Esta es una respuesta que tiene como objeto remediar aunque sea parcialmente, el agobio térmico y puede culminar en la estabilización de proteínas, lípidos y membranas. Además, implica la producción de enzimas antioxidantes y desintoxicantes como antídotos a los compuestos tóxicos producidos durante el estrés térmico (Iba, 2002; Almeselmani et al. 2006). La mayoría de las especies que se desarrollan en clima templado empieza a tener problemas por exposición a temperaturas entre los 30 y 40 °C. Pequeños incrementos de la temperatura (de 30 a 35 °C) pueden dañar los órganos reproductivos de estas especies tanto en plantas angiospermas como gimnospermas, pero zonas tropicales y subtropicales pueden alcanzar temperaturas de más de 55 °C, como en los trópicos de África, México y California, sin que repercutan en su desarrollo. El límite para la supervivencia de las plantas de estas zonas parece estar entre 60 y 70 °C. Sin embargo, no sólo la temperatura alcanzada es crítica, sino también el tiempo de exposición a esta y el estado de salud de la planta (Chaves-Barrantes y Gutiérrez-Soto, 2017). Las plantas han desarrollado varios mecanismos que les permiten tolerar temperaturas altas. Estos mecanismos termotolerantes adaptativos reflejan el entorno en el que ha evolucionado una especie y dictan en gran medida el medio ambiente en el que puede crecer una especie.

**1.2 El estrés por frío.** La exposición al frío retrasa el desarrollo desde la germinación, pasando por el crecimiento vegetativo, hasta la iniciación floral y el crecimiento reproductivo en plantas angiospermas. El daño directo por heladas ocurre cuando se forman cristales de hielo dentro del citoplasma de las células (congelación intracelular), mientras que el daño indirecto puede ocurrir cuando se forma hielo dentro de las plantas, pero fuera de las células (i.e. congelación o helada extracelular). Eventualmente, la congelación extracelular afecta el medio intracelular, por lo que lo que realmente daña a las plantas no son las temperaturas congelantes en la planta en general, sino la formación de hielo y los daños que se originan en el medio extracelular y que desencadenan en la membrana modificaciones en las moléculas que la componen (Westwood, 1978).

Las plantas que se desarrollan en climas tropicales y subtropicales, son sensibles durante su crecimiento a temperaturas de 10-15 C° y casi siempre experimentan daños importantes o irreversibles por heladas cuando se exponen a temperaturas aun ligeramente por debajo de cero. Mientras que plantas que se desarrollan en climas templados o fríos, a menudo, sobreviven con pocos daños si la congelación no es muy severa. Algunas excepciones son las lechugas, que se han originado en climas templados, pero pueden dañarse a temperaturas

cercanas a 0 °C y algunos frutos subtropicales (aguacate, cereza), que a pesar de tener un origen tropical pueden permanecer a temperaturas de -5 a -8 °C.

**1.3 La membrana plasmática en las respuestas a temperaturas extremas.** La composición lipídica de las membranas plasmáticas de plantas consiste de los mismos tipos de lípidos que las de otros eucariontes: glicerolípidos, esfingolípidos y esteroides. De ellos, el grupo más interesante por lo reciente de su conocimiento, es el de los esfingolípidos, cuya abundancia y diversidad están relacionadas con funciones de control de la fluidez membranal, la percepción de señales y la formación de nanodominios (Mamode Cassim et al. 2017; Jiang et al. 2019; Huby et al. 2020). El efecto adverso del estrés por temperatura en la membrana plasmática conduce a la interrupción y perturbación de la actividad celular o a la muerte dependiendo del grado, tiempo, y tipo de exposición de la planta al frío.

La lesión de las membranas por un evento repentino de estrés por calor puede resultar de la desnaturalización de las proteínas de la membrana o del cambio en el estado físico de los lípidos de la bicapa, lo que puede conducir a la ruptura de la membrana y a la pérdida de contenido celular (Ahrens e Ingram, 1988). Uno de los efectos primarios del estrés por alta temperatura es un aumento en la fluidez de la membrana plasmática porque el incremento de la temperatura conduce a la desnaturalización de proteínas y enzimas, y a aumentos en la cantidad de ácidos grasos insaturados (Savchenko et al. 2002). Lo anterior ocasiona que los lípidos de las membranas se vuelvan flexibles y con ello, las membranas sean más fluidas y permeables, permitiendo la pérdida de electrolitos (Wahid et al. 2007; Porch y Hall, 2013). Por lo anterior, si bien para mantener la integridad de las membranas celulares las plantas deben repararlas y remodelarlas de forma continua, esta restauración es más intensa durante episodios de daño por temperaturas extremas y surge como una adaptación evolutiva que permite hacerles frente (Upchurch, 2008). Una de las estrategias de remodelación para incrementar la termoestabilidad membranal es aumentando el grado de saturación de los lípidos para disminuir la fluidez excesiva ante temperaturas altas, o bien incrementando su grado de insaturación para aumentar su fluidez y así contrarrestar la rigidez producida por temperaturas bajas (Falcone et al. 2004; Larkindale y Huang, 2004; Benning, 2009; Su et al. 2009).

## 2. Estructura de la membrana plasmática de las plantas.

**2.1 Modelo del Mosaico Fluido.** En 1972, Singer y Nicholson enunciaron el Modelo de Mosaico Fluido (Figura 1), postulando que la membrana plasmática está constituida por una bicapa fluida de lípidos que aloja diversos conglomerados o proteicos que la hacen un mosaico (Singer y Nicholson, 1972). Las membranas celulares están formadas por lípidos, proteínas y, en menor medida, por carbohidratos. La estructura y la organización de las membranas plasmáticas celulares, así como sus propiedades, están condicionadas fundamentalmente por los lípidos, ya que estos dan la matriz de soporte estructural, misma que también desempeña funciones importantes. Los lípidos membranales son moléculas anfipáticas, es decir, tienen una parte hidrofílica y otra hidrofóbica y cada molécula se agrupa con otras dispuestas de la misma manera, formando un arreglo de bicapa lipídica. En ella, las partes hidrofóbicas de los lípidos se encuentran en el centro de la doble monocapa y las hidrofílicas en contacto con el medio acuoso.

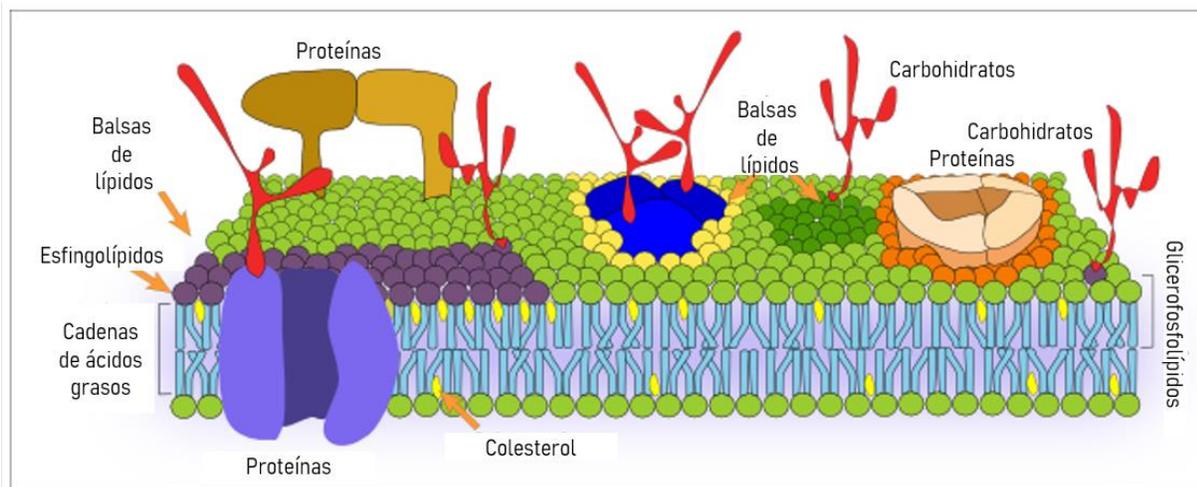


Figura 1. Organización de la membrana plasmática según la visión actual del Modelo de Mosaico Fluido de Singer y Nicholson. Es una bicapa fluida estructurada por una matriz lipídica. Determinados lípidos (esfingolípidos y esteroides) se asocian entre sí para formar agrupaciones más densas denominadas balsas de lípidos o nanodominios, en los cuales se sitúan ciertas proteínas por su afinidad a los lípidos que ahí se encuentran. Los esteroides se intercalan entre las moléculas de esfingolípidos los de glicerofosfolípidos. Las proteínas integrales pueden ser transmembranales o atravesar sólo una porción hidrofóbica de la bicapa de lípidos. Las proteínas periféricas pueden asociarse polarmente y temporalmente a la superficie membranar. Los carbohidratos se localizan en la parte extracelular de la membrana preferencialmente y están covalentemente unidos a lípidos o proteínas membranales. (Tomada de Megías et al. 2017).

En la bicapa lipídica, las proteínas que atraviesan toda la membrana se llaman proteínas transmembranales y son proteínas integrales que poseen secuencias de aminoácidos

hidrofóbicos para poder localizarse entre las cadenas de ácidos grasos de los lípidos, pero que también pueden tener dominios hidrofílicos que están en contacto con las fases acuosas intra y extracelulares. Algunas otras proteínas abarcan solo una parte de la membrana y no son transmembranales pero son integrales también (Reece et al. 2011). Las funciones de las proteínas son muy variadas, pero destacan las funciones de adhesión llevada a cabo por las integrinas, cadherinas, selectinas y otras; el intercambio de iones de calcio, sodio o potasio entre ambos lados de la membrana realizado por las bombas de iones y los canales iónicos, mismos que hacen posible la formación de gradientes. En este último caso, la organización en dominios extracelular e intracelular permite una comunicación entre ambos lados de la membrana, lo cual hace que una información extracelular sea transmitida al interior de la célula. Otro tipo de proteínas, denominadas periféricas, se unen a una u otra superficie de la bicapa lipídica. Se encuentran en las superficies exterior e interior de las membranas, unidas a las proteínas integrales o a los fosfolípidos, es decir, no son proteínas integrales, y su unión a la membrana se produce por interacciones electrostáticas y fuerzas de van der Waals con las moléculas de la propia superficie de la membrana (Megías et al. 2017).

Los carbohidratos son abundantes en la superficie externa de la membrana plasmática, el principal componente son los lípidos y en segundo lugar las proteínas, quedando el tercer lugar en la composición de la membrana plasmática, es raro que sobrepasen el 10% de la masa total. En general, se encuentran en la superficie exterior de la célula y están unidos covalentemente a proteínas (formando glicoproteínas) o a lípidos (formando glicolípidos). Estas cadenas de carbohidratos pueden tener 2-60 unidades de monosacáridos y pueden ser lineales o ramificadas (López et al. 1986).

Hay tres tipos de glicolípidos: los glicoesfingolípidos, que son los más abundantes, los gliceroglicolípidos y los glicosilfosfatidilinositoles. Sin embargo, muchos carbohidratos de membrana se encuentran asociados a las proteínas, denominadas glicoproteínas. La célula queda así recubierta por una envoltura de carbohidratos que representa entre el 2 y el 10 % del peso de la membrana plasmática. Los carbohidratos tienen papeles importantes en el funcionamiento celular, fundamentalmente actúan como factores de reconocimiento y unión a ligandos o a moléculas de células vecinas (Megías et al. 2017).

### **3. Lípidos membranales.**

La organización de las membranas celulares está determinada por las características de sus componentes, fundamentalmente por los lípidos. Sin embargo, la diversidad (hay más de mil tipos de lípidos diferentes) y su organización espacial (formando una bicapa), hacen a los

lípidos esenciales para las propiedades de las membranas (López et al. 1986).

Los lípidos de las membranas se caracterizan por poseer una parte apolar o hidrófoba que constituye la parte interna de la membrana y una parte hidrofílica que está en contacto con el medio acuoso. Por ello se dice que son moléculas anfipáticas. Se clasifican en tres grandes grupos según su estructura: glicerofosfolípidos (también denominados glicerolípidos, fosfoglicéridos o simplemente fosfolípidos), los esfingolípidos y los esteroides.

Los glicerofosfolípidos son lípidos muy abundantes (pueden representar más del 70 % de las membranas animales) y estructuralmente constan de tres partes: dos cadenas de ácidos grasos, glicerol, un grupo fosfato al que se unen en general alcoholes. Estos tres tipos de moléculas de diversa naturaleza que se ensamblan de manera covalente, aportan la variedad estructural de estos lípidos. El glicerol hace de columna vertebral de la molécula a cuyos hidroxilos de sus carbonos 1,2 se esterifican los grupos carboxilos de sus dos ácidos grasos, y al carbono 3 se une el grupo fosfato y su alcohol, representando esta estructura la cabeza polar (Figura 2). Los ácidos grasos constituyen la parte hidrofóbica de los glicerofosfolípidos y son los que constituyen la parte interna de las membranas. Las cadenas de ácidos grasos contienen de 13 a 30 átomos de carbono conocidos como colas hidrofóbicas. Los ácidos grasos de hasta 20 carbonos se denominan ácidos grasos de cadena larga (LCFA) y aquellos de más de 20 carbonos, se denominan ácidos grasos de cadena muy larga (VLCFA). En general los enlaces entre estos carbonos son simples y por tanto se dice que son enlaces saturados. Sin embargo, más de la mitad de estos ácidos grasos tienen al menos un doble enlace entre dos átomos de carbono, hablamos entonces de ácidos grasos insaturados. Los dobles enlaces, cuando están en configuración *cis* hacen que la cadena de ácido graso se flexione y aumente las posibilidades de movimiento de la cadena. Por ello, un aumento de la proporción de estos dobles enlaces aumenta la fluidez de la membrana puesto que provoca desorden y con ello, descompactación y movilidad entre moléculas (Van et al. 2008).

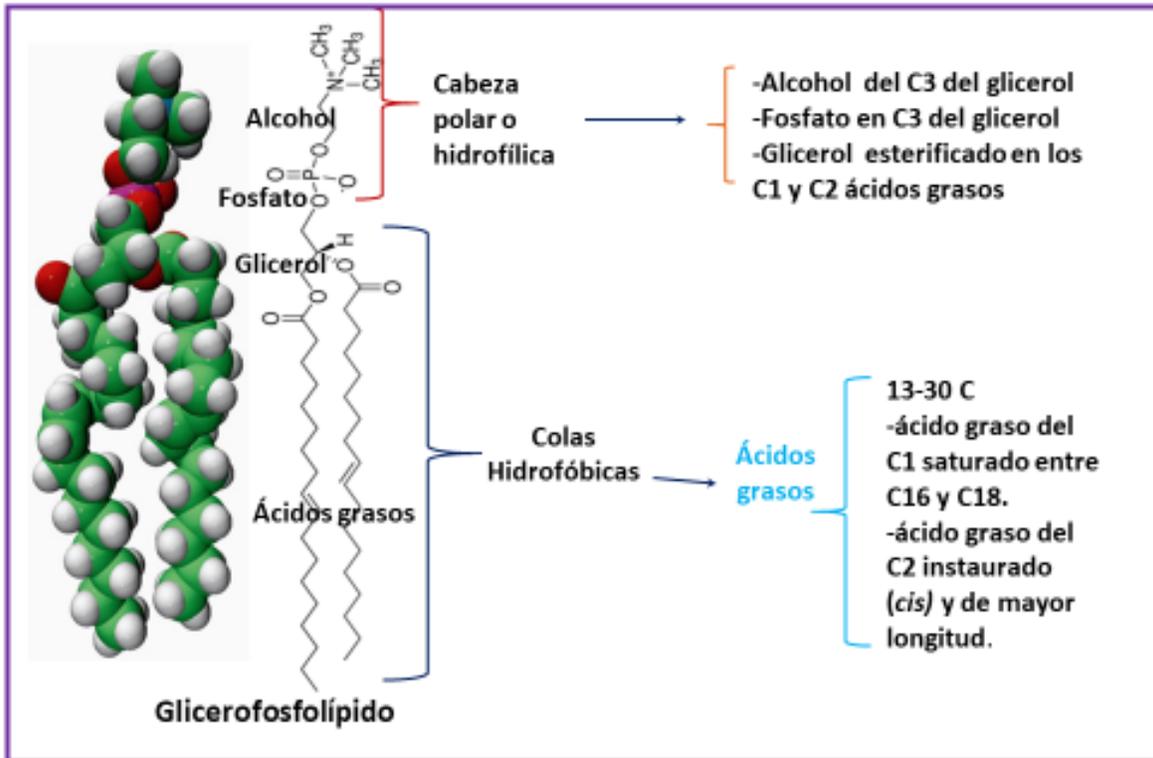


Figura 2. Estructura de un glicerofosfolípido de membrana plasmática. Está formada por glicerol, dos ácidos grasos, un ácido fosfórico y un alcohol. Se observa la región polar o hidrofílica (cabeza) formada por el alcohol fosforilado y una región no polar o hidrofóbica (colas) formada por los ácidos grasos (modificada de Avanti Polar Lipids, <https://avantilipids.com>).

El componente hidrofílico de los glicerofosfolípidos o cabeza polar está formado por un grupo fosfato al que se pueden unir una variedad de moléculas, tales como etanolamina, colina, serina, inositol, el inositol 4,5 bifosfato, etcétera. Estos componentes son los que dan nombre a los distintos tipos de glicerofosfolípidos. La fosfatidilcolina representa más del 50 % de los fosfoglicéridos en las membranas eucariotas (Vance, 2015).

Los esteroides son los principales lípidos no polares de la membrana celular, el colesterol predomina en los mamíferos mientras que el ergosterol predomina en hongos y el estigmasterol, sitosterol y campesterol en las membranas plasmáticas de las plantas. Son esteroides con 27 a 29 átomos de carbono. Su estructura química deriva del ciclopentanoperhidrofenantreno o esterano, una molécula de 17 carbonos formada por tres anillos hexagonales y uno pentagonal. En los esteroides, se añade una cadena lateral de 8 o más átomos de carbono en el carbono 17 y un grupo alcohol o hidroxilo (-OH) en el carbono

3. El colesterol es el tercer tipo de lípido más abundante en la membrana plasmática (hasta el 25 % del total de lípidos) y aparece en pequeñas proporciones en las membranas de los orgánulos celulares (1 % en el retículo endoplasmático), siendo el esteroide más importante de las células animales. El colesterol tiene dos efectos: inhibir el paso a estado de gel sólido de la membrana, menos fluido, pero también disminuye la flexibilidad de los ácidos grasos de cadenas insaturadas. En general se puede decir que una mayor concentración de colesterol disminuye la fluidez de la membrana plasmática. Sin embargo, a bajas temperaturas disminuye la fluidez de la membrana y en estas condiciones el aumento de su concentración favorece la fluidez. Las membranas internas de la célula como las del retículo tienen muy poco colesterol y son muy fluidas. Un efecto adicional de la concentración es que aumenta la hidrofobicidad, es decir, las membranas se vuelven más impermeables (Van et al. 2008). Mientras, sus anillos aromáticos se acomodan paralelamente a las cadenas alifáticas próximas a dichas cabezas, inmovilizándolas, pero dejando flexible las zonas de cadenas cercanas a la región no polar. Por ello, se espera que bicapas que contengan colesterol sean más fluidas en el interior que en zonas cercanas al exterior (Garrahan, 1977).

Los fitoesteroides y fitoestanoles, son esteroides vegetales (compuestos con 28 o 29 átomos de carbono), de estructura similar al colesterol (27 carbonos). Derivan del ciclopentano perhidrofenantreno, diferenciándose en la cadena hidrocarbonada lateral en C-24 (figura 3). En el colesterol, esta cadena se forma por ocho carbonos saturados. En cambio, los fitoesteroides presentan 9 ó 10 carbonos ( $\beta$ -sitosterol y campesterol), algunos presentan doble enlace: stigmasterol. En la naturaleza, se han descrito más de 200 tipos diferentes de esteroides vegetales en diferentes especies de plantas, siendo los más abundantes: el  $\beta$ -sitosterol, campesterol y stigmasterol, constituyendo el 95-98% de los fitoesteroides identificados (Muñoz Jáuregui et al. 2011).

Los fitoesteroides y sus productos de reducción química los fitoestanoles, son esteroides de origen vegetal que tienen amplia distribución en la naturaleza. Corresponden a metabolitos secundarios de las plantas, que son sintetizados y utilizados por las células, y aunque no son esenciales tienen un papel fundamental en la sobrevivencia de las plantas. Son compuestos claves en la formación de microdominios (agregados de lípidos que compartimentan procesos celulares) en la membrana plasmática. Además, desempeñan un papel esencial en la regulación de la fluidez y permeabilidad de la membrana (Brufau et al. 2008)

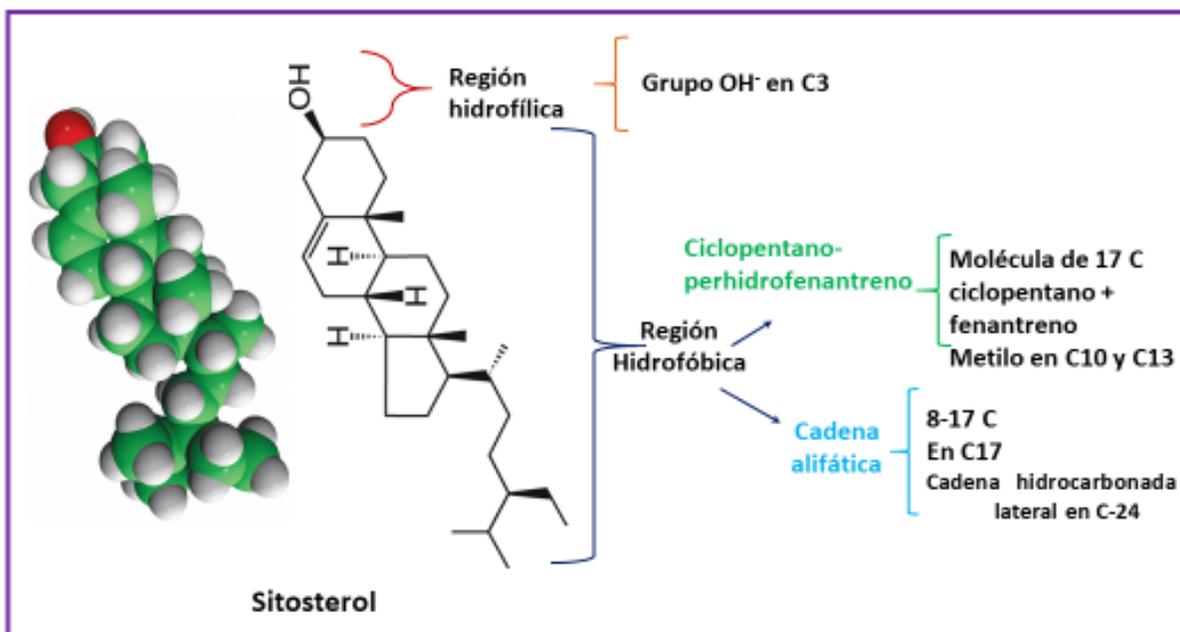


Figura 3. Estructura química y tridimensional de un fitoestero (  $\beta$ -Sitosterol). Se observa la estructura básica de cuatro anillos ciclopentanoperhidrofenantreno o esterano, que es una molécula de 28 o 29 átomos de carbono formada por tres anillos hexagonales y uno pentagonal que está unido a una cadena alifática en el C17 formando la parte hidrofóbica de la molécula, unido en la posición 3 del anillo un OH, la cual es la única parte polar de la molécula y que por lo tanto interacciona con las cabezas polares de los otros lípidos membranales. (Modificada de Avanti Polar Lipids, <https://avantilipids.com> ).

La otra gran familia de lípidos más comunes y abundantes en las membranas de las plantas son los esfingolípidos. Debido al desarrollo relativamente reciente de procedimientos selectivos de extracción e identificación, los esfingolípidos han surgido como un grupo de lípidos extenso, abundante y diverso en las plantas. Los estudios sugieren que los esfingolípidos constituyen entre el 40 y el 60% de los lípidos en la membrana plasmática de las células vegetales y así como en endosomas y tonoplastos (Cacas et al. 2016).

Los esfingolípidos son moléculas anfipáticas que contienen un grupo de cabeza polar y dos cadenas acílicas hidrófobas. La porción hidrófoba de los esfingolípidos está contenida en su esqueleto de ceramida, que está compuesto por un ácido graso unido a través de un enlace amida a una base de cadena larga (BCL) llamada esfingosina. Los ácidos grasos de los esfingolípidos vegetales suelen tener una longitud de cadena de 16 a 26 átomos de carbono y están saturados o monoinsaturados con un doble enlace casi siempre en geometría cis. La BCL es un componente único de esfingolípidos y metabolitos de esfingolípidos que es una

condensación química de un aminoácido (serina) y un ácido graso (típicamente ácido palmítico). En las plantas, las BCLs contienen 18 átomos de carbono y se caracterizan por la presencia de dos o tres grupos hidroxilo. Las BCLsdihidroxiladas contienen grupos hidroxilo en las posiciones C-1 y C-3, mientras que las BCLstrijhidroxiladas contienen un grupo hidroxilo adicional en la posición C-4. Las BCL dihidroxi y las BCLstrijhidroxi se encuentran en las configuraciones D-eritro y D-ribo, respectivamente. La BCL inicial producida en las plantas es esfinganina (o dihidroesfingosina), que está completamente saturada y contiene dos grupos hidroxilo. Este BCL se puede modificar adicionalmente mediante la adición no solo de un grupo hidroxilo C-4, sino también mediante la introducción de dobles enlaces entre los átomos C-4 y C-5 y los átomos C-8 y C-9 (Figura 4) (Chen et al. 2009).

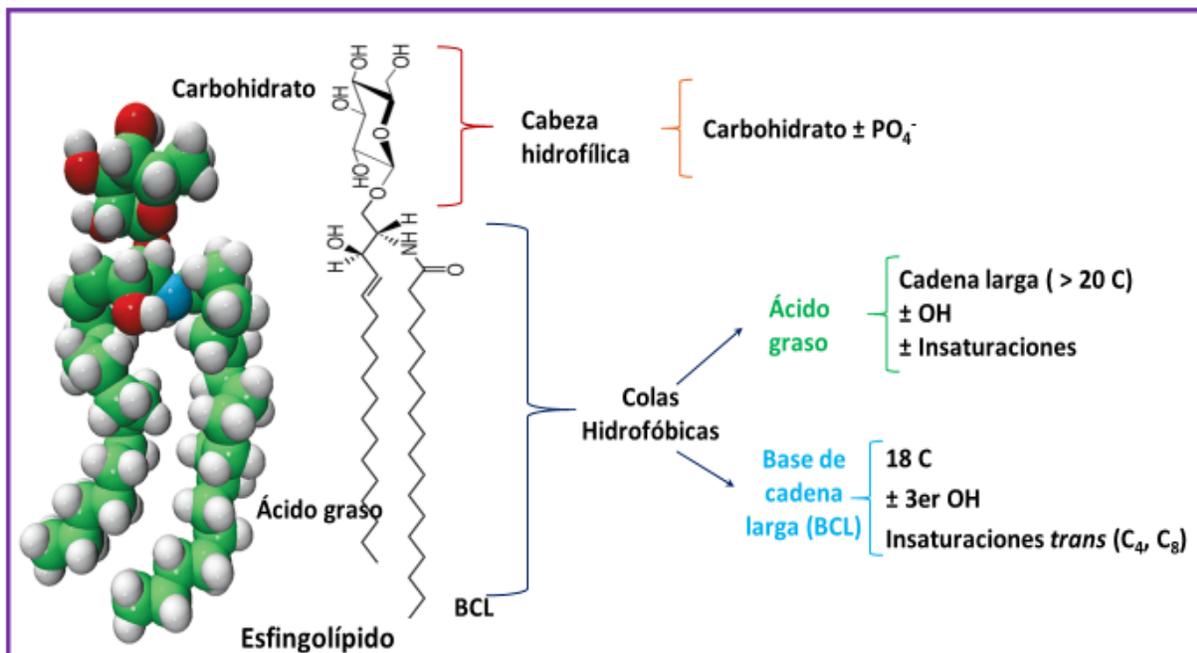


Figura 4. Estructura de un esfingolípido. Se observa el esqueleto base (esfingosina), que es un alcohol aminado de cadena larga (18C). Un ácido graso se une mediante un grupo amida a la esfingosina y al OH que esterifica un carbohidrato. La unión de esfingosina con el ácido graso forma la ceramida. (Modificada de Avanti Polar Lipids, <https://avantilipids.com>).

Las BCLs que se encuentran con mayor frecuencia en los esfingolípido vegetales son la esfinganina (o dihidroesfingosina; d18:0), 4-hidroxi esfinganina (o fitoesfingosina; t18:0), 4-hidroxi  $\Delta 8$ cis / trans-esfingenina ( $\Delta 8$ cis- o trans-t18:1) y esfingadienina ( $\Delta 4$ trans-,  $\Delta 8$ cis- o trans-d18: 2). Las cantidades relativas de estas BCLs en ceramidas de esfingolípido pueden variar ampliamente entre diferentes órganos de una sola especie vegetal y entre diferentes especies. Aunque la gran mayoría de los LCB se encuentran en las ceramidas, una cantidad

pequeña pero detectable está presente en las células de las plantas en forma libre o como ésteres de fosfato. Estos últimos consisten en un grupo fosfato unido al hidroxilo C-1 de las LCB. A los LCB-1-fosfatos (LCB-1-Ps) se les han atribuido varias propiedades bioactivas en plantas y otros eucariotas, funcionando como segundos mensajeros en respuestas a patógenos y bajas temperaturas.

Los esfingolípidos abundan en las endomembranas de las plantas y las membranas plasmáticas (PM) y comprenden cuatro clases: ceramidas (Cers), hidroxiceramidas (hCers), glucosilceramidas (GlcCers) y glicosilinositolfosfoceramidas (GIPCs). En preparaciones de membranas microsomales (MIC), membranas vacuolares (VM), membrana plasmáticas (PM) y membranas resistentes a detergentes (DRM) de *Arabidopsis thaliana*, las Cers son predominantes en DRM (aproximadamente 11,3% del contenido total de esfingolípidos). Mientras que las hCers muestran una distribución similar en todas las membranas (aproximadamente el 20% del contenido total de esfingolípidos en la membrana respectiva). Las GlcCers son abundantes en la VM (aproximadamente 34% del contenido total de esfingolípidos). Las GIPC son la clase más abundante de esfingolípidos en PM (aproximadamente 68% de su contenido total de esfingolípidos) y en MIC y DRM (aproximadamente 44% de su contenido total respectivo de esfingolípidos). Estos datos indican que la distribución de las clases de esfingolípidos y sus respectivas especies son diferentes entre los tipos de membranas (Carmona-Salazar et al. 2021).

Las Cers están involucradas en el estrés por frío y las respuestas inmunes de las plantas (Liang et al. 2003; Dutilleul et al. 2015). Se ha reportado que las ceramidas e hidroxiceramidas son transductores de señalización en el estrés por hipoxia, ya que durante la hipoxia se ha observado una notable elevación de ceramidas e hidroxiceramidas, en especial, de las especies de ceramidas con ácidos grasos de cadena muy larga insaturadas (VLC) que incluyen a las especies C22:1-, C24:1-y C26:1-Cers. Este efecto señalizador se encontró en estudios en los que estas especies interactúan con la proteína CTR1, inhibiendo su actividad quinasa y modulando la posterior señalización de etileno en *Arabidopsis*. El etileno es una hormona que resulta ser el principal responsable de la respuesta a hipoxia en *Arabidopsis* y por lo tanto tiene una importante función en el estrés por inundación. Sin embargo, estos estudios también sugirieron que el aumento en ceramidas e hidroxiceramidas puede ser una señal de muerte celular programada que conduce al daño por hipoxia. Desafortunadamente, en estos estudios, los niveles de estas ceramidas no se cuantificaron en las membranas plasmáticas y no se sabe cual es su contribución a la fluidez y permeabilidad membranales.

Considerando que en animales las hidroxiceramidas contribuyen a aumentar la impermeabilidad de las células del estrato córneo (Cha et al. 2016), se puede proponer que un aumento de estas moléculas en las membranas plasmáticas de las plantas, permitirían una menor permeabilidad del agua a los tejidos en condiciones de inundación. Es probable que la insaturación dinámica de las ceramidas VLC sirva como una nueva estrategia de protección para mejorar la tolerancia de las plantas a los frecuentes estreses ambientales, incluyendo las inundaciones (Xie et al. 2015).

Debido a su gran abundancia, las GlcCers y las GIPCs se han identificado como componentes estructurales de la PM yVM, los plasmodesmos, y las membranas del aparato de Golgi y del retículo endoplásmico, así como en una mayor concentración en los nanodominios (Gronnier et al. 2019). Además, las Cers y GIPCs papeles estructurales en la membrana y son a menudo denominadas, junto con las GlcCers esfingolípidos complejos. Las GlcCers están involucradas en el desarrollo de gametofitos, la morfología y la secreción de las membranas de Golgi, la tolerancia a bajas temperaturas, la organogénesis y la diferenciación celular (Dietrich et al. 2008; Melser et al. 2010; Chen et al. 2012; Msanne et al. 2015). Las GIPCs se han postulado como conectores de señalización estructural entre la membrana plasmática y la pared celular (Mamode Cassim et al. 2020), como elementos en diversas formas que conducen a la defensa frente a patógenos, en la viabilidad del polen y en la percepción de altos niveles de sal (Wang et al. 2008; Mortimer et al. 2013; Rennie et al. 2014; Fang et al. 2016; Jiang et al. 2019). Esta diversidad de funciones explica el carácter esencial de los esfingolípidos en las plantas.

#### **4. Propiedades de las membranas influenciadas por sus lípidos.**

**Composición.** La composición y cantidades de proteínas, carbohidratos y lípidos determinan la identidad y funcionalidad de las membranas biológicas y sus funciones especializadas en diferentes compartimentos subcelulares. La solubilidad, carga, volumen, tamaño y reactividad de los lípidos de la membrana contribuyen a definir las propiedades biofísicas de la membrana. Estas propiedades, como el espesor, la estabilidad, la permeabilidad, la curvatura, la fluidez, la difusión lateral, la asimetría y la interdigitación, influyen en el papel fisiológico de la membrana durante los procesos de desarrollo de las plantas y en condiciones de estrés (Niemelä et al. 2009; Marquês et al. 2015; Maula et al. 2015; Cacas et al. 2016; Fanani y Maggio, 2017; Gronnier et al. 2017; Grosjean et al. 2018).

**Asimetría.** La membrana plasmática está formada por una bicapa lipídica con dos hemicapas. Una de las características propias de la membrana plasmática es la asimetría en su

composición de lípidos, carbohidratos y proteínas, lo cual implica que la capa de la membrana (hemicapa o monocapa) que se orienta hacia el exterior de la célula (cara exoplásmica o trans) tiene una composición distinta a la de su contraparte en la monocapa interna (cara citoplásmica o cis) (Delgado, 2016).

Para los lípidos con cabeza polar grande es difícil cruzar de una hemicapa a la otra (movimiento del tipo “flipflop”) por la barrera energética que supone el ambiente hidrófobo que generan las cadenas de ácidos grasos. Sin embargo, para otros lípidos con zona polar poco voluminosa, como el colesterol, diacilglicerol, ceramida o ácidos grasos protonados, el cambio entre monocapas es muy frecuente. Los glicerofosfolípidos de cabezas polares grandes pueden salvar la barrera hidrófoba de los ácidos grasos mediante unos transportadores específicos, o traslocasas, localizados en las membranas. De estos, hay tres tipos: flipasas, flopasas y mezcladoras (“scramblases”). Estas proteínas se encargan de transportar glicerofosfolípidos entre las dos hemicapas y generar asimetría en la membrana plasmática. Las flipasas transportan lípidos hacia la hemicapa interna, las flopasas hacia la hemicapa externa y las mezcladoras en ambas direcciones. Las enzimas mezcladoras no necesitan ATP para llevar a cabo su función. Esta desigual distribución de los lípidos se mantiene por la propia dificultad de los movimientos “flipflop”. Más del 80 % de los esfingolípidos de la membrana plasmática se localizan en la monocapa externa (Janmey y Kinnunen, 2006). Aunque cuando se habla de asimetría estamos refiriéndonos sobre todo a los lípidos, también hay una distribución u organización desigual de los carbohidratos y de las proteínas entre las dos monocapas de las membranas celulares. Los carbohidratos se localizan preferentemente en la hemicapa externa de la membrana plasmática formando parte de la región de la matriz extracelular o apoplasto en células vegetales. Los carbohidratos se encuentran en la cara no citosólica de los lisosomas y endosomas. Esto hace que actúen como centros de reconocimiento y protección para las células. Las proteínas integrales también tienen una orientación precisa en la membrana, con un dominio citosólico y otro extracelular o en el interior de los orgánulos, siendo estos dominios diferentes entre sí (Megías et al. 2017). Esta desigualdad de distribución de moléculas entre ambas hemicapas se denomina asimetría de membrana, es decir, su composición es diferente cuantitativa y cualitativamente.

**Grosor.** En la propia membrana hay regiones de diferente espesor o altura. particularmente formados por proteínas transmembranales que tienen un dominio hidrofóbico más largo de lo habitual y por tanto se acomodan mejor en la membrana cuando se rodean de lípidos con cadenas de ácidos grasos largos. Estas agrupaciones de lípidos y proteínas constituyen áreas

de mayor grosor que excluyen a otras proteínas con secuencias de aminoácidos hidrofóbicos más cortas o a lípidos con cadenas de ácidos grasos con menos átomos de carbono (Nicholson, 2014).

**Continuidad y estabilidad.** Las interacciones químicas entre las moléculas que forman las membranas son principalmente hidrofóbicas e hidrofílicas, aunque existen otras como los puentes de hidrógeno y electrostáticas. La organización de los lípidos al formar una estructura laminar continua (bicapa) es el producto de la expresión combinada de tales interacciones y que llevaron a la postulación del modelo del Mosaico Fluido en su forma bi o tridimensional y que se caracteriza por formar una estructura laminar que no tiene interrupciones. Toda esta organización laminar continua con un centro hidrofóbico sólo puede ocurrir en un sistema acuoso o hidrofílico, como es el caso de los sistemas vivos. El potencial de funciones que realiza la membrana plasmática es casi ilimitado dado que ella y sus constituyentes son el sitio primario de fenómenos de recepción, transmisión y transporte al igual que establece los límites físicos de la célula salvaguardando su contenido citoplasmático.

**Carga de superficie.** En la membrana plasmática, la hemicapa orientada hacia el exterior contiene una mayoría de los lípidos que poseen colina, como la fosfatidilcolina y la esfingomielina (en células animales), que tienen grupos con carga eléctrica positiva, mientras que la fosfatidiletanolamina, el fosfatidilinositol y la fosfatidilserina se localizan en la hemicapa interna. Esto es importante, porque crean una distribución diferente de cargas entre ambas superficies de la membrana, contribuyendo así a generar el potencial de membrana. Se ha visto que en ausencia de iones la membrana plasmática es capaz de producir un potencial de membrana por sí misma debido a la mayor concentración de cargas negativas en la superficie de la monocapa interna. Además, esta asimetría facilita la asociación específica de proteínas que necesitan un ambiente eléctrico determinado y que es aportado por la naturaleza química de las cabezas de los lípidos (Megías et al. 2017).

**Plasticidad y fluidez.** La estructura de las colas de ácidos grasos de los lípidos es importante para determinar las propiedades de la membrana y, en particular, su fluidez. Las membranas son fluidas, prácticamente son láminas flexibles en las que las moléculas se encuentran en un estado de líquido viscoso. Esto implica que, en teoría, las moléculas podrían difundir y desplazarse por ella sin restricciones, con dos posibilidades de movimiento: uno lateral desplazándose entre las moléculas contiguas, y otro en el que "saltaría" a la monocapa interna, movimiento denominado "flip-flop". Los dos tipos de movimientos se han demostrado

experimentalmente en membranas artificiales pero el primero es mucho más frecuente que el segundo. Una molécula lipídica puede recorrer 30 micras en unos 20 segundos por difusión pasiva lateral, es decir, podría dar la vuelta a una célula de tamaño medio en aproximadamente un minuto (Nicholson, 2014). Sin embargo, los saltos entre monocapas son muy infrecuentes y se estima que la posibilidad de que le ocurra a un lípido es de una vez al mes debido a que las cabezas polares de los lípidos se encuentran con la barrera de las cadenas de ácidos grasos. El colesterol posee, sin embargo, la capacidad de hacer movimientos "flip-flop" con relativa facilidad.

Los esfingolípidos y el colesterol se pueden asociar entre sí espontáneamente haciendo que su movilidad disminuya y por tanto se conviertan en una región membranal más densa que el resto, como si se tratara de una balsa en un mar de lípidos. Se cree que estas asociaciones, denominadas balsas de lípidos ("lipid rafts", más recientemente denominadas nano o micro dominios), son muy abundantes y dinámicas y hacen que las membranas celulares sean en realidad un mosaico de dominios más densos que viajan entre los glicerofosfolípidos, que son estructuralmente más desordenados y hacen regiones membranales más fluidas ( Honigmann y Pralle, 2016).

Los ácidos grasos saturados no tienen enlaces dobles (los carbonos están saturados con hidrógenos), por lo que sus colas son relativamente rectas. Los ácidos grasos insaturados, por el contrario, contienen uno o más enlaces dobles, lo que produce una o más flexiones en la cadena acílica (Figura 5). Las colas de ácidos grasos saturados e insaturados de fosfolípidos se comportan de manera diferente cuando baja la temperatura (Reece et al. 2011).

A temperaturas más frías, las colas rectas de los ácidos grasos saturados pueden compactarse y rigidizarse estrechamente, produciendo una membrana densa y bastante rígida (Figura 5). Los fosfolípidos con colas de ácidos grasos insaturados no pueden unirse tan estrechamente debido a la estructura doblada de sus colas. Por este motivo, una membrana con lípidos insaturados permanece fluida a temperaturas más bajas que una membrana de lípidos saturados.

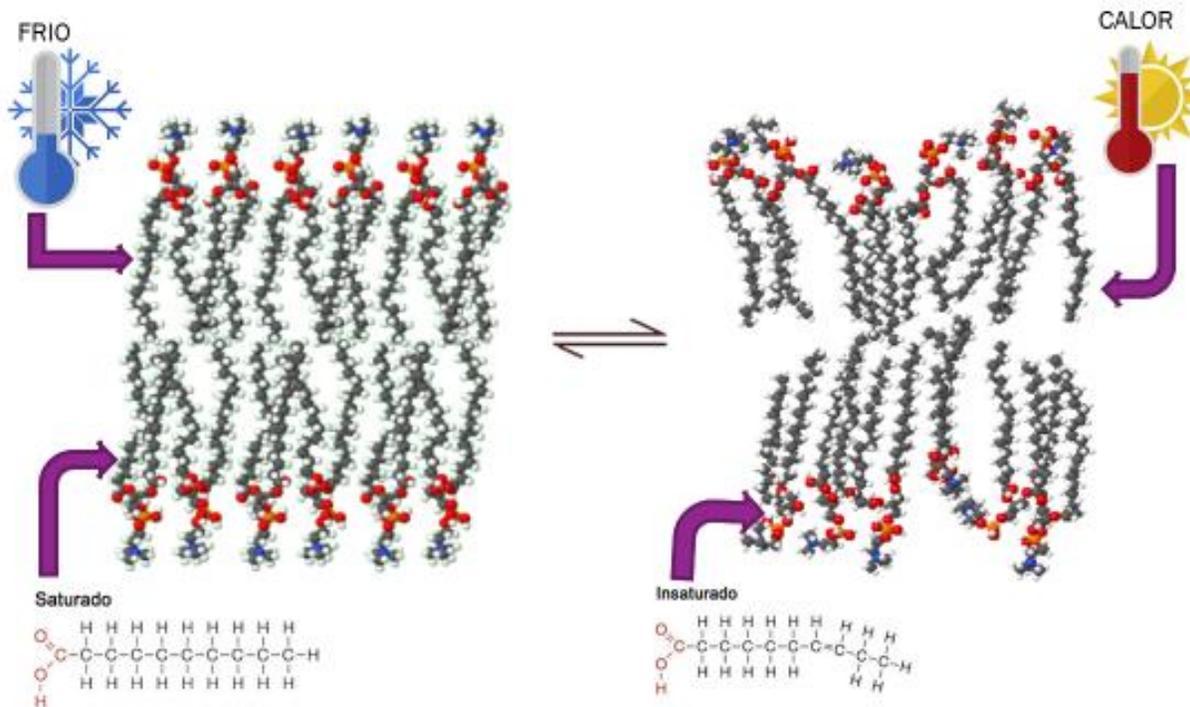


Figura 5. Mesomorfismo de los lípidos membranales por efecto de temperatura o por insaturación de las cadenas acílicas. A temperaturas bajas se presenta un alto grado de ordenamiento lipídico, con cadenas acílicas largas y saturadas o con insaturaciones en *trans*. A altas temperaturas se presenta un bajo grado de ordenamiento en las cadenas hidrofóbicas y por insaturaciones en *cis*. (Modificada de BioModels, <http://biomodel.uah.es/model2/lip/fluidez.htm>).

**Curvatura.** Una superficie membranal no es plana, sino que tiene cierta curvatura. La estereoquímica individual de los lípidos es diversa. Pudiendo presentar una forma cilíndrica, cónica y cónica invertida. La forma local de una membrana depende de qué lípidos están presentes y de cómo se distribuyen espacialmente. La inserción o eliminación de lípidos en las monocapas interna o externa conduce a desajustes de áreas que también alteran la curvatura (Janmey y Kinnunen, 2006). Las proteínas membranales pueden modificar la curvatura de las membranas y algunas de ellas inclusive generan o estabilizan regiones membranales con curvaturas locales específicas. Hay proteínas especializadas en modificar la curvatura en las membranas. El dominio proteico BAR son dominios de dimerización de proteínas altamente conservados que se encuentran en muchas proteínas involucradas en la dinámica de la membrana en una célula. El dominio BAR tiene forma de plátano y se une a la membrana a través de su cara cóncava. Es capaz de detectar la curvatura de la membrana uniéndose preferentemente a las membranas curvas. Los dominios BAR reciben el nombre de tres proteínas en las que se encuentran: Bin, Amphiphysin y Rvs (Peter et al. 2004). Otros ejemplos son las caveolinas, que también generan curvatura para formar caveolas, las

tetraspaninas que generan túbulos en las membranas, los ESCRT que son responsables en los endosomas de modificar las vesículas de los cuerpos multivesiculares, etcétera. Por último, los filamentos de actina son unos auténticos agentes curvadores de membranas, mediante la polimerización de sus unidades proteicas, empujan a la membrana plasmática hacia afuera provocando expansiones celulares. Muchas de las proteínas capaces de curvar la membrana son también activadoras de la polimerización de filamentos de actina (Megías et al. 2017). La generación de una nanoregión con cierta curvatura genera un dominio membranal como inicio de formación de una vesícula, una expansión celular, el cambio o crecimiento de un orgánulo, o simplemente un pliegue que actúa como barrera a la difusión lateral de moléculas. La maquinaria necesaria para curvar una membrana requiere a su vez un dominio de membrana para llevarlo a cabo. Determinadas composiciones lipídicas o zonas con diferente carga eléctrica son sitios de atracción para esa maquinaria. Los fosfoinosítidos son lípidos que participan en este reclutamiento, particularmente PIP2 y PIP3 (fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato y fosfatidilinositol-3,4,5-tripfosfato), los cuales tienen una cabeza polar con carga y estructura proclives a crear modificaciones químicas locales. Estos lípidos son a su vez mantenidos en el sitio de curvatura por su afinidad con las proteínas reclutadas. Los filamentos de actina, además de las proteínas, pueden también controlar la difusión de lípidos, genera barreras o cercas moleculares en la superficie citosólica de la membrana. Los microdominios de lípidos atraen a las proteínas que realmente curvan a las membranas de manera efectiva.

**Impermeabilidad.** El ambiente laminar continuo hidrófobo interno de la membrana generado por las cadenas de ácidos grasos, de esfingosinas y de los anillos de los esteroides de los lípidos, es difícil de ser cruzado por las moléculas polares o con carga eléctrica neta. Gracias a lo anterior y debido a que las membranas siempre delimitan espacios acuosos, las membranas forman compartimentos celulares separando medios con gran contenido de agua. Su naturaleza hidrofóbica impide la libre difusión de moléculas hidrofílicas, que son las más requeridas por los interiores celulares y que son las más exportadas hacia los medios extracelulares. Sin embargo, la impermeabilidad no es absoluta y se vuelve selectiva gracias a las proteínas transportadoras. Las variables estructurales que más influyen en la difusión pasiva son la polaridad y el tamaño de la molécula. La permeabilidad de la membrana plasmática es menor para aquellas moléculas con cargas eléctricas parciales, pero globalmente neutras (el número de cargas negativas iguala al de cargas positivas) como el agua o el glicerol (Megías et al. 2017). El paso de moléculas grandes neutras aun sin carga es también improbable por la bicapa lipídica que es altamente impermeable a los iones y a las

moléculas con carga neta. La desigual distribución de iones y moléculas entre ambos lados de la membrana es la base para la formación de los gradientes químicos y eléctricos. De esta manera, las membranas vienen siendo semipermeables gracias a las proteínas transportadoras, que son proteínas integrales de membrana que permiten selectivamente el paso de estas sustancias de un lado al otro.

**Mesomorfismo.** El polimorfismo lipídico o mesomorfismo lipídico podría definirse como una propiedad de los lípidos para adoptar diferentes organizaciones supramoleculares. Esta propiedad depende de dos tipos de características, características intrínsecas de la molécula lipídica considerada, lo que en su conjunto definiría una determinada forma lipídica y características independientes del tipo de lípido, como son el pH, la temperatura, la fuerza iónica y el grado de hidratación (Israelachvili et al. 1980; Escribá, 2006). El concepto de forma lipídica está en función de la estructura intrínseca de la molécula y de sus propiedades electroquímicas (Israelachvili et al. 1980) y está condicionada por la presión lateral que existe en los distintos puntos de la molécula lipídica, por su grado de hidratación, por la temperatura e incluso por el tipo de residuos de ácidos grasos que tenga. De ellos, su longitud, su orientación respecto al plano horizontal de la bicapa, el grado de insaturación de los mismos y la posición de las insaturaciones dentro de las cadenas, son propiedades relevantes en el comportamiento de fase de la molécula (Kirk et al. 1984; Epanand et al. 1996; Lohner, 1996). El análisis de la forma lipídica contribuye a explicar la organización supramolecular que son capaces de adoptar los diferentes lípidos dando lugar a estructuras de tipo bicapa o lamelares, o estructuras de tipo no lamelar (micelas tubulares, fases hexagonales, fases cúbicas).

Los lípidos con forma general de cilindros (ej. fosfatidilcolina), con una cabeza polar voluminosa, tienden a formar una organización supramolecular de tipo lamelar. Los lípidos con una cabeza polar más pequeña en relación al resto de la molécula, similares a conos truncados (ej. fosfatidiletanolamina, diacilglicerol), dan *in vitro* lugar a estructuras de tipo no lamelar, entre ellas la denominada fase hexagonal invertida. Los lípidos con forma similar a un cono invertido (ej. lisofosfatidilcolina), con una sola cadena acílica, dan lugar a estructuras no lamelares diferentes a las anteriores, de tipo fase hexagonal no invertida (Kirk et al. 1984; Gruner, 1985).

En un medio acuoso, los lípidos que constituyen a las membranas biológicas pueden existir en diferentes estados físicos de acuerdo a su naturaleza anfipática y a su organización lateral y transversal en la bicapa. Este estado físico transformable implica modificaciones en el grado de ordenamiento, de rigidez, de compactación y de movilidad de las moléculas lipídicas, originando diversos estados o fases de numerosos re-arreglos espaciales y grados de libertad

de cada lípido con respecto a sus vecinos, por lo que diversas fases o estados pueden coexistir a lo largo de la membrana. El tipo de fase adoptada depende mucho de las características estructurales de la región hidrofóbica de los lípidos, tales como longitud, número y posición de dobles enlaces e hidroxilaciones en las cadenas hidrocarbonadas, si bien la región polar de los lípidos membranales también influye en los cambios de fase. Parámetros fisicoquímicos como la temperatura, pH y fuerza iónica afectan la naturaleza y la magnitud de los cambios de fase. La composición proteica y la presencia de carbohidratos, también. Se ha descrito que tanto las proteínas solubles como las asociadas a la membrana pueden interactuar con lípidos específicos o dominios de lípidos y de esta manera afectar a las propiedades globales de la bicapa lipídica (Lee, 2003; Deol et al. 2004).

Los dos extremos de los estados de los lípidos en una membrana biológica son la fase sólido-gel y la líquida (van Meer et al. 2008). En la fase sólido-gel o también llamada sólida-ordenada, las cadenas hidrocarbonadas de los lípidos con cadenas acílicas saturadas muestran una configuración estirada y con alargamiento máximo, dando como resultado una red de lípidos extremadamente compacta y altamente ordenada y rígida (Figura 6a); en consecuencia, la difusión lateral de los lípidos está fuertemente disminuida. Mientras que en la fase fluida o también llamada líquida-desordenada, las cadenas hidrocarbonadas son generalmente insaturadas y menos extendidas (Figura 6b), por lo que la red de lípidos es laxa y poco ordenada, resultando en una mayor movilidad que facilita una alta difusión lateral y una mayor libertad rotacional de los lípidos. Debido a que diversidad estructural de los lípidos de las membranas biológicas es enorme y las cadenas acílicas de los ácidos grasos y las esfingosinas tienen una gran variedad en cuanto a su longitud, insaturación e hidroxilación, pueden existir diferentes grados de ordenamiento y fluidez a lo largo de la membrana (Van Meer et al. 2008; Siontorou et al. 2017).

Los reportes de Simons e Ikonen (1997) propusieron que existen microdominios de membrana en células epiteliales en las que se distinguen dos regiones estructural y funcionalmente polarizadas, y que contienen diferentes composiciones de lípidos y grados de fluidez, a los que llamaron "balsas lipídicas". Desde que surgió este concepto, la definición de balsa lipídica ha ido cambiando a lo largo de los años, hasta que en el Keystone Symposium on Lipid Rafts and Cell Function, celebrado en 2006, se logró establecer una definición consenso. Según la definición, la balsa lipídica debe ser pequeña (10-220 nm), heterogénea, altamente dinámica, enriquecida en esteroides y esfingolípidos, además de compartimentar procesos celulares y estar estabilizada por interacciones proteína-proteína y proteína-lípido (Pike, 2006).

Los estados mesomórficos de los lípidos membranales pueden generarse por variaciones de temperatura, recibiendo el proceso el nombre de mesomorfismotermotrópico. Por ello, esta propiedad es particularmente relevante en las membranas biológicas, pues aquellos organismos que carecen de mecanismos de mantenimiento de temperatura, presentarán este mesomorfismo en sus membranas. Lo anterior es muy importante, pues del estado o fase mesomórfica dependerán las propiedades de la membrana y de ahí, sus funciones. Este es el caso de las plantas, que son organismos que no tienen mecanismos de regulación de temperatura, lo cual hace que ante las variaciones térmicas del ambiente, las membranas adopten fases mesomórficas.

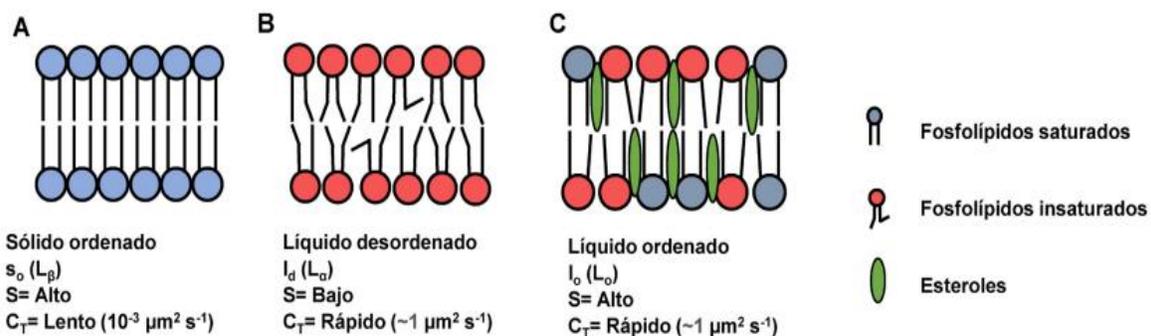


Figura 6. Tipos de fases lipídicas membranales. a) Fase sólida ordenada: las cadenas de los ácidos grasos se encuentran saturados, generando un estado sólido con características de fluidez reducida y alto grado de ordenamiento. b) Fase líquida-desordenada: las cabezas polares de los fosfolípidos pueden rotar libremente permitiendo una fluidez alta pero un grado de ordenamiento menor. c) Fase líquida-ordenada: las cadenas aciladas de los lípidos se encuentran estabilizadas por esteroides u otros lípidos permitiendo un alto grado de ordenamiento por lo que su fluidez se reduce considerablemente, si bien se mantiene la velocidad de difusión lateral como en la fase líquida-desordenada. S: entropía, CT: coeficiente de difusión lateral de lípidos. (Tomado de Guzmán-Flores et al. 2019).

## 5. La membrana plasmática como sensor de la temperatura.

El primer paso en la vía de señalización implica el reconocimiento de la señal por parte de un receptor. Se ha propuesto que los cambios en la fluidez de las membranas celulares podrían actuar como un sensor de cambios de temperatura en las células vegetales (Örvar et al. 2000, Sangwan et al. 2002) y esta hipótesis ha sido manejada como probable en las revisiones de la literatura de este tema (Vu et al. 2018; Hayes et al. 2020; Lamers et al. 2020; Lin et al. 2020). Un trabajo reciente ha aportado evidencia experimental que apoya esta hipótesis (Cano-Ramírez et al. 2021), demostrándose que la fluidez de la membrana plasmática celular de hojas de plantas de *Arabidopsis* responde a variaciones de temperatura en el intervalo ambiental, de manera sensible, rápida y sin costo energético para la célula. De acuerdo a lo

que se ha revisado sobre el mesomorfismo que experimentan las membranas biológicas, una alteración de la temperatura tiene un efecto directo sobre la fluidez de la membrana. Una disminución de la temperatura provoca rigidez y baja la fluidez de la membrana, mientras que a altas temperaturas provoca un aumento de fluidez la membrana. Este cambio presente que forma parte de los lípidos de la membrana afecta la actividad de las proteínas unidas a la membrana, lo que hace que se entregue información sobre la temperatura (Ruelland y Zachowski, 2010). Desde esta dimensión, la membrana plasmática tiene el potencial de ser el sensor térmico primario, que percibe y transfiere señales de temperatura ambiental (Mittler et al. 2012).

Sin embargo, es necesario identificar cuáles son los componentes transductores que transmiten la información membranal a partir de la detección de la señal de temperatura. Algo que es claro es que los aumentos transitorios de  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico, proveniente del espacio apoplástico o de la liberación de depósitos internos como los orgánulos celulares, ocurren de manera temprana en la percepción de las bajas temperaturas (Knight, 2000). Generalmente, las señales de  $\text{Ca}^{2+}$  que participan en las vías de transducción de señales están asociadas a eventos de fosforilación reversible de proteínas. Se ha demostrado que existen varias proteínas cinasas en la aclimatación al frío en alfalfa y *Arabidopsis* (Tähtiharju et al. 1997; Monroy et al. 1998).

Tanto en levaduras como en cianobacterias, se ha planteado la hipótesis de que la alteración de la fluidez de la membrana mediada por la temperatura puede ser en sí misma el evento de detección de temperatura principal, y se ha especulado mucho que lo mismo podría ocurrir en plantas superiores (Murata y Los, 1997). Las células deficientes en desaturasas de ácidos grasos y, por lo tanto, con alteración de la fluidez de la membrana, tienen defectos en la expresión génica regulada por temperatura (Inaba et al. 2002). Hay otra serie de experimentos que han usado agentes como el alcohol bencílico y el dimetilsulfóxido que tienen un efecto fluidificante de la membrana. Sin embargo, hay escepticismo sobre los efectos específicos de estos agentes (Somerville y Browse, 1996).

Los organismos poiquilotérmicos, como las cianobacterias y las plantas, modulan la composición de los lípidos de su membrana en respuesta a cambios en las condiciones ambientales. Una estrategia observada en una variedad de especies como las cianobacterias, *Tetrahymena thermophila*, *Acanthamoeba castellanii* y carpa (Beney y Gervais, 2001) es la modulación de la fluidez membranal por un aumento de los ácidos grasos insaturados para

hacerla fluida o viceversa, siendo esta variación dependiente de la baja temperatura. La regulación de la insaturación de ácidos grasos dependiente del frío se investigó en detalle en *Anabaena variabilis* (Szalontai et al. 2003). Una disminución en la temperatura de crecimiento aceleró la desaturación de los lípidos de la membrana, con la supresión de la síntesis de lípidos y un aumento resultante en el nivel de insaturación de los ácidos grasos en los lípidos de la membrana. Un aumento en la insaturación de ácidos grasos a baja temperatura depende de la síntesis de novo de ácidos grasos desaturasas a través de la expresión inducible por frío de genes para estas enzimas. Por el contrario, un aumento en la temperatura de crecimiento estimuló la síntesis de lípidos de membrana, pero redujo la desaturación de ácidos grasos, con una disminución resultante en los niveles de insaturación de ácidos grasos en lípidos de membrana.

Es importante mencionar que en la literatura se ha postulado que pueden existir sensores diferentes que responden a bajas o a altas temperaturas, o a intervalos de temperatura específicos (Mitter et al. 2012). Los fitocromos intervienen en el ciclo biológico de la planta, desde la germinación a la floración y tuberización, pasando por la desetiología de las plántulas y el alargamiento de tallo y entrenudos. Cumplen dos funciones, una sensora y otra reguladora. La función sensora implica la percepción de la señal luminosa incidente. Compete a la función reguladora transferir la información recibida a los componentes de la cadena de transducción de la señal, encargada de transmitir la información captada a otros componentes celulares. En la naturaleza, donde la luz es policromática, los fitocromos operan a la manera de interruptores moleculares, que informan a la planta de la presencia y los cambios en las proporciones relativas de luz roja y de roja lejana del ambiente, para que acometa las respuestas fisiológicas oportunas. Sin embargo, el único sensor de temperaturas bien documentado y que funciona entre 15°C y 24°C, es el Fitocromo b (Lamers et al. 2016; Hayes et al. 2020).

## **6. Efectos iniciales de las bajas temperaturas (no congelantes y congelantes) en la membrana plasmática.**

Las plantas por su inmovilidad son incapaces de escapar de un entorno cambiante. Por lo tanto, han desarrollado sofisticados mecanismos de aclimatación y supervivencia en condiciones desfavorables, como temperaturas perjudiciales, ya sea en términos de altas o bajas temperaturas. En los tiempos iniciales de exposición a las bajas temperaturas, se pueden inducir una serie de alteraciones en los componentes celulares, efectos que pueden ser deletéreos para las células. Bajo tiempos largos de exposición a las bajas temperaturas,

las células de las plantas comienzan a expresar mecanismos adaptativos en sus membranas, tales como la adquisición de insaturaciones en los ácidos grasos, cambios en la composición de los glicerolípidos, los esfingolípidos, la redistribución posicional de los ácidos grasos saturados e insaturados dentro de las moléculas de lípidos y cambios en la composición de proteínas (Murata y Los, 1997).

Dentro de los efectos tempranos por las bajas temperaturas, el daño por frío y el daño por congelación, si bien están relacionados, no tienen el mismo significado por la forma en que impactan a la planta. El primero se refiere a un efecto directo de temperaturas bajas pero que se encuentran por encima de los 0°C. En estas condiciones, el daño en la planta se observa generalmente como clorosis, necrosis y crecimiento retardado.

### **7. Cambios en la fluidez membranal por temperaturas no congelantes.**

A nivel celular, las bajas temperaturas no congelantes producen una disminución en la fluidez de la membrana, transitando hacia una fase más ordenada que hace a la membrana más rígida y proclive a la fuga de electrolitos, reflejo de daño membranal. En estas condiciones, una menor fluidez membranal genera una afectación en aquellos procesos dependientes de la dinámica de la bicapa, como endocitosis, exocitosis, fusión, etc.

### **8. Daños en la integridad membranal por temperaturas congelantes.**

El daño por congelación, por otro lado, se refiere principalmente al daño causado en la planta por la formación extracelular de cristales de hielo en temperaturas por debajo de los 0°C. Este daño puede originarse dependiendo de la rapidez de la disminución de la temperatura hasta llegar al punto de congelación. Las condiciones para alcanzar el punto de congelación en las células dependen de la composición del medio celular. De hecho, si bien el agua pura tiene un punto de congelación de 0°C, el contenido de solutos en las células lleva este punto a -2°C a -4°C. El daño puede ocurrir por tres mecanismos celulares: a) lisis inducida por expansión, b) transiciones de fase lamelar a fase hexagonal y lesiones de “salto de fractura” (Gavilanes-Ruiz et al. 2020).

- a) Mecanismo de lisis inducida por expansión: La formación de cristales de hielo causa la deshidratación de la célula porque en temperaturas por debajo de 0°C, el hielo tiene un menor potencial hídrico que el agua no congelada, causando un desbalance osmótico a ambos lados de la membrana plasmática, o sea entre la región extracelular o del apoplasto y la interna o citosólica. Para restaurar el equilibrio del potencial hídrico

alterado, en el que disminuye la concentración externa del agua líquida libre y se forma un gradiente de potencial hídrico, la célula libera agua intracelular (Uemura y Steponkus, 1999). Lo anterior, además de concentrar los solutos intracelulares y de deshidratar a la célula, causa el crecimiento de los cristales externos (localizados en el apoplasto). Posteriormente, cuando los cristales de hielo pasan al estado líquido, causan una entrada abrupta de agua a la célula, lo que resulta en una lisis inducida por el efecto de expansión del volumen intracelular. Si ocurre la formación de hielo al interior de la célula, ésta resulta letal debido al colapso y desestabilización de la membrana plasmática, originando alteraciones en la permeabilidad de la misma, lo que conduce al paso descontrolado de solutos en ambas direcciones: de afuera hacia el interior de la célula (Atici y Barbaros, 2003).

- b) Mecanismo de formación de fase hexagonal: Como se explicó anteriormente, el daño principal que ocurre durante el congelamiento es ocasionado por la deshidratación celular, la cual empieza a ocurrir a temperaturas bajo 0°C y va aumentando gradualmente llegándose a una completa pérdida osmótica debido a la formación de hielo en la superficie de las plantas. Después, el hielo comienza a formarse en la matriz extracelular y de ahí la congelación pasa al interior, con lo cual se ocasiona un cambio en las concentraciones de los componentes de la célula que se encuentran dentro y fuera de ella. La célula expulsa agua intracelular (deshidratación), que posteriormente se congelará fuera (Uemura y Steponkus, 1999). Esta forma de daño está asociada al mesomorfismo lipídico, por el cual hay una transición de la fase lamelar (de bicapa laminar) a la fase hexagonal II (HII) en la membrana plasmática (Gordon-kamm y Steponkus, 1984). La fase HII consiste en que los lípidos de la membrana plasmática pueden tomar un diferente arreglo al que habitualmente tienen, adoptando estructuras de cilindros paralelos que contienen agua en el centro formado por las cabezas polares, mientras que las cadenas hidrofóbicas interaccionan con las de otros cilindros. En esta transición, se pierde la fase lamelar continua que ocasiona la pérdida de solutos de la célula (Gordon-kamm y Steponkus, 1984).

La organización de las fases hexagonales puede ser del tipo I (HI) o del tipo II (HII)]. La primera, la fase HI, se refiere a la formación de los túbulos micelares con las cabezas polares en el exterior, mientras que la fase HII forma túbulos invertidos, con las cadenas hidrofóbicas hacia afuera del túbulo y las cabezas polares hacia el centro, formando un canal acuoso (Gómez Fernández, 1996). La evidencia de la relación entre la distribución de los grupos de

cabezas de lípidos y las propiedades físicas de las membranas es limitada. Sin embargo, se ha demostrado que un aumento en la proporción de ácido fosfatídico (PA), un lípido con forma cónica, favorece la formación de la fase hexagonal II (HII) entre la membrana plasmática y la membrana externa del cloroplasto durante la congelación (Uemura et al. 1995). Este fenómeno se da entre estas dos membranas gracias a que los cloroplastos se encuentran muy cerca de la membrana plasmática, debido a que son orillados a la periferia celular por el gran volumen celular que ocupa la vacuola central (en las células del mesófilo).

### **9. Efectos de las bajas temperaturas a tiempos largos. Aclimatación.**

Una vez que las plantas han estado expuestas a una baja temperatura de una forma abrupta o gradual, desarrollan mecanismos celulares de respuesta que ayudan a resolver la problemática molecular desencadenada por el descenso de temperatura. La resolución implica cambios en la expresión de genes y en el metabolismo. Muchas especies de plantas de clima templado son capaces de desarrollar desde el otoño, cuando se inicia el descenso de temperatura, todo un proceso de reprogramación génica y metabólica que les permite ajustar su estructura y función celular ante una caída aún mayor de temperatura, alcanzando niveles de tolerancia o resistencia a la congelación que se da eventualmente en el invierno. Este proceso de reajuste se llama aclimatación al frío (Chaves y Gutiérrez, 2017). El proceso de aclimatación involucra muchos aspectos celulares que incluyen la protección y la remodelación de la membrana plasmática a través de varios mecanismos.

Como se recordará, cadenas acílicas saturadas con la doble ligadura en posición *cis* en los ácidos grasos o en las esfingosinas, originan un mayor ordenamiento y rigidez en la membrana. Por tanto, una disminución de la temperatura ambiental conduce a una disminución de la fluidez de la membrana. Esto es contrarrestado durante la aclimatación al frío, cuando la célula induce una respuesta de mayor expresión de los genes de las desaturasas de ácidos grasos a través de vías complejas de biosíntesis. Estas enzimas introducen dobles enlaces en las cadenas acílicas de los lípidos de la membrana, compensando así la disminución de la fluidez de la membrana (Murata y Wada, 1995). La aclimatación al frío por tanto aumenta la proporción de ácidos grasos insaturados a saturados (Sakai y Larcher, 1987). Como resultado, las propiedades físicas de la membrana se restauran a su estado original o a uno de mayor fluidez por lo menos. Con ello también se recupera el mantenimiento apropiado de gradientes transmembranales de iones y se restauran las funciones de las enzimas asociadas a la membrana. Por el contrario, las altas temperaturas

dan como resultado la inducción de una reducción del grado de insaturación de los ácidos grasos en las plantas para promover un nivel menor de fluidez.

#### **10. Cambios en la composición membranal de lípidos.**

En respuesta a los cambios de temperatura, las plantas pueden ajustar la composición de ambos tipos de lípidos en sus membranas para mantener su integridad y fluidez óptimas. A este respecto, siendo los ácidos grasos de los glicerolípidos membranales lo que son mono o di insaturados (principalmente en *cis*), ello origina que sean los glicerolípidos los principales contribuyentes de efecto positivo sobre la fluidez membranal, ya que las insaturaciones en *cis* promueven desorden y descompactación en la bicapa y así aumentan la fluidez. De ahí que sea la síntesis *de novo* de glicerolípidos con ácidos grasos insaturados la que se ve aumentada para mejorar la fluidez de la membrana durante la aclimatación a las bajas temperaturas.

El caso contrario sucede con los esfingolípidos, los cuales, por su estructura química, están formados por una cadena acíclica de un ácido graso saturado o bien insaturado en *trans*, y la cadena de la esfingosina, la cual presenta su insaturación preferentemente en configuración *trans*. Lo anterior lleva a que los esfingolípidos sean contribuyentes negativos a la fluidez membranal, es decir, promueven rigidez. De ahí, que los esfingolípidos resulten ser disminuídos en la composición membranal durante la aclimatación al frío (Uemura y Steponkus, 1999).

Los esteroides tienen una estructura planar y se intercalan entre las cadenas de acilo. De esta manera, pueden fluidizar las fases del gel mientras aumentan el orden de la cadena de acilo y el grosor de la membrana. El gradiente de esteroides a lo largo de la vía secretora se mantiene activamente mediante transporte dirigido y permite la clasificación de proteínas en función del espesor hidrofóbico de los dominios transmembrana (TMD) (Jouhet, 2013).

Una solución alternativa a la instauración de cadenas acíclicas es el recambio de grupos de cabezas entre las clases de lípidos. En las células, el recambio de lípidos es una reacción de un solo paso mediante la cual los glicerolípidos pueden intercambiar sus grupos principales (Murphy, 2005). Durante el intercambio de grupos de las cabezas, los enlaces se rompen y se forman nuevos enlaces sincrónicamente y las propiedades de los enlaces originales y nuevos son muy similares.

## **11. Regulación transcripcional de los eventos de la respuesta a bajas temperaturas.**

Los análisis de expresión global han revelado que alrededor de mil genes están regulados por baja temperatura en *Arabidopsis* (Lee et al. 2005, Matsui et al. 2008, Zeller et al. 2009). Entre los cuales, un tercio de los genes está reprimido y el resto codifica un factor de transcripción para cada gen. Muchos genes de expresión temprana tras la exposición al frío codifican factores de transcripción o proteínas implicadas en la transcripción, lo que indica que la expresión génica se activa de manera muy importante durante la aclimatación al frío (Lee et al. 2005).

Estos resultados indican que la expresión génica inducida por frío está regulada a través de diferentes vías de transducción de señales. Hasta la fecha, las vías más importantes que se han identificado y caracterizado son las mediadas por ABA y los factores de transcripción CBF / DREB1, respectivamente.

Se han identificado en plantas un gran número de genes inducibles por frío (Seki et al. 2001) y se han realizado análisis del control transcripcional de genes inducibles por frío, como *RD29A* y *CORL5A*. En *A. thaliana* se identificó un elemento sensible al frío (DRE / CRT) en sus promotores, así como factores de transcripción que se unen específicamente a este elemento (DREB1 y CBF) Los factores que regulan la actividad y / o expresión de DREB1 y CBF también se identificaron mediante la clonación molecular de genes que son necesarios para la regulación de la expresión regulada por DREB1 / CBF de genes inducibles por frío (Schumaker et al. 2002). También está bien documentado que los niveles de ABA aumentan en las plantas en respuesta a diferentes condiciones ambientales adversas, incluidas las bajas temperaturas, y que el tratamiento exógeno con ABA mejora la tolerancia a la congelación (Chen y Gusta, 1983, Lang et al. 1989).

## **12. Protección membranal a partir de la expresión de los genes *COR*.**

Como se mencionó al principio de la Sección 2, las respuestas que se producen a tiempos más largos de exposición a las bajas temperaturas, involucran reprogramaciones metabólicas y génicas. Ambas son interdependientes en algunos aspectos e independientes en otros. Pero es muy probable que todas las respuestas celulares comiencen a partir de la recepción de la señal de frío (Gavilanes-Ruiz et al. 2020.) Si bien no se ha establecido plenamente la identidad de un receptor de la señal de frío, se cree que los lípidos membranales por su propiedad mesomórfica termotrópica pueden ser estos receptores. Una vez detectada la señal, esta es transmitida a través de varios componentes que incluyen cinasas, fosfatasa y segundos

mensajeros que forman la vía de transducción de la señal de frío. La vía tiene como fin el de producir aquel metabolito o proteína/enzima, que contribuirá a aliviar la situación de baja temperatura en la estructura o funcionamiento celular. La ruta de señalización de respuesta a frío mejor conocida es la cascada transcripcional ICE1-CBF-COR (Figura 7). En esta ruta, los genes *CBF/DREB1* son rápidamente inducidos por frío y se unen a regiones de los promotores de los genes *COR* activando su transcripción. Recientes indicios muestran que la ruta *CBF*-dependiente está regulada por muchos e importantes reguladores a niveles transcripcional, postranscripcional y postraducciona (Miura y Furumoto, 2013; Shi et al. 2015).

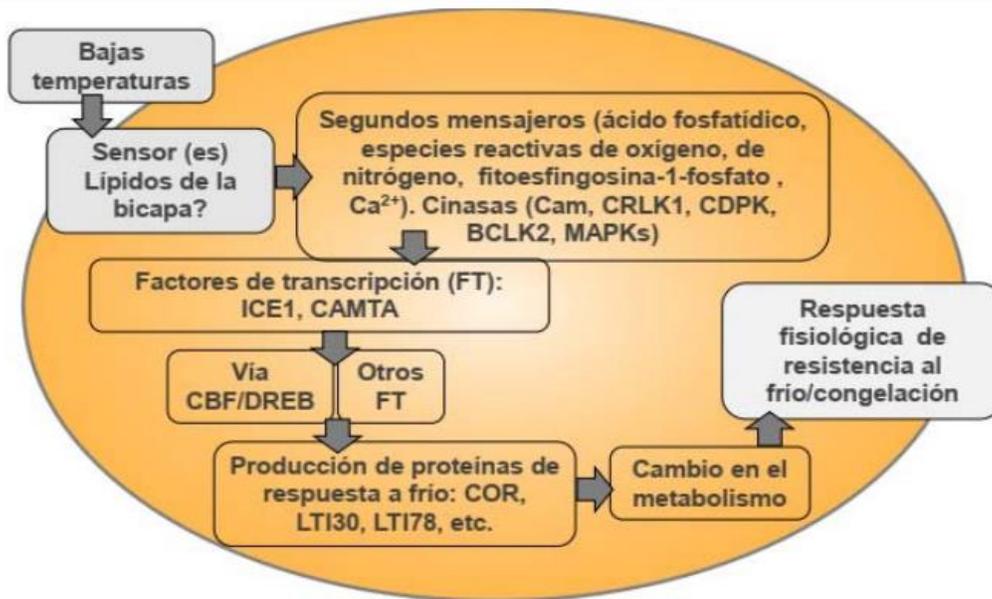


Figura 7. Rutas de señalización de respuesta a frío. Transmisión de la señal de frío a través varios componentes que incluyen cinasas, fosfatasa y segundos mensajeros, la activación de genes y la generación de sus productos. (Tomado de Gavilanes Ruiz et al. 2020).

En *Arabidopsis thaliana*, el estrés por frío activa un gran conjunto de genes sensibles al frío (*COR*) y hay estudios que revelan que su número puede llegar a dos mil genes. Estos genes son activados por un subconjunto de proteínas codificadas por genes conocidos como *CBF* (Factores de unión a repeticiones de C) (*CBF1-CBF3*), que muestran una redundancia funcional entre sí, se activan por bajas temperaturas y son encargados de conferir un incremento en la tolerancia a la congelación cuando se llegan a sobreexpresar. La vía de *CBF* es estimulada por temperaturas bajas (4°C), pero una disminución en la temperatura desde 20°C a 17, 14, 12, 10 y 8°C induce una respuesta similar en el nivel de RNAm, en cuanto a la

actividad enzimática y los niveles de metabolitos (Usadel et al. 2008). Las plantas de *Arabidopsis thaliana*, con una mutación en los tres genes *CBF* muestran una drástica reducción en la capacidad de aclimatación para el frío y son muy sensibles a las temperaturas congelantes. En *Arabidopsis thaliana*, los genes *COR* incluyen, los inducidos por bajas temperaturas (LTI), los responsivos a desecación (RD) y los tempranamente inducidos por deshidratación (EDR). Algunos de estos genes codifican para enzimas importantes para la biosíntesis de osmolitos que incrementen la tolerancia al frío mediante la acumulación de proteínas crioprotectoras y azúcares solubles. Sin embargo, no están conocidos todos los productos metabólicos que son producidos por estas vías de genes de frío. De esta forma, se obtiene la preservación estructural de la membrana rigidizada por el frío y la estabilización del potencial osmótico celular (Chinnusamy et al. 2007). Es así como en la aclimatación, las plantas emprenden una extensa reprogramación transcripcional para inducir a los genes regulados por frío (*COR*). También se encuentran en esta regulación transcripcional los factores de transcripción ICE1 que se encargan de activar a *CBF3*. Se sabe que ICE1 es regulada por múltiples modificaciones post-transcripcionales, que juegan un papel importante para la estabilidad y la actividad transcripcional que efectúa. Entre las proteínas que tienen una interacción con ICE1 están las cinasas MPK3 y la MPK6 (Teige et al. 2004; Chinnusamy et al. 2007). También el frío lleva a la expresión de ciertos genes *COR* como son *RD29A*, *COR15a* y *KIN1*, cuyos productos proteicos tienen la función de estabilizar la membrana contra los daños que pueda ocasionar el frío. Los genes *CBF/DREB1* o los factores de unión CRT/DRE juegan un papel importante en el control de la expresión de los genes *COR*.

### **13. Estabilización membranal por crioprotectores.**

La resistencia a la congelación está relacionada con la capacidad de soportar la formación extracelular de cristales de hielo y evitar su formación intracelular (Atici y Barbaros, 2003). Para evitar la congelación, las plantas pueden favorecer la formación de estructuras específicas que contienen poca agua y por lo tanto, baja probabilidad de formación de hielo (como la formación de rizomas que, gracias a su crecimiento subterráneo, evitan temperaturas por debajo de 0°C) (Fleury y Walker, 2014).

Los compuestos anticongelantes o crioprotectores también pueden abatir el punto de congelación del agua. Algunos de estos son proteínas intracelulares, aunque también existen proteínas extracelulares que modifican la pared celular, proteínas relacionadas a patógenos (PR) y proteínas anticongelantes (AFP), cuya síntesis se ve favorecida en bajas temperaturas. Además de la síntesis proteica, existe síntesis de solutos de bajo peso molecular, como la

prolina, que ayudan a mantener el balance osmótico y a prevenir la deshidratación celular causada por la formación de hielo extracelular (Ouellet, 2007).

Otros anticongelantes incluyen compuestos como los flavonoides y taninos, presentes en plantas que viven en condiciones de los Polos, ya que tienen una mayor capacidad que los solutos de bajo peso molecular para abatir el punto de congelación.

Los crioprotectores exógenos, utilizados generalmente para la crioconservación de células vegetales se dividen en dos categorías: permeables y no permeables, basándose principalmente en la permeabilidad a la membrana plasmática. Si bien muchos de estos agentes se han probado en condiciones *in vitro*, algunos de ellos funcionan como crioprotectores celulares, pues se han descrito en condiciones de aclimatación o de resistencia a la congelación. La clasificación de los crioprotectores de plantas es en tres categorías:

- I. Aquellos permeables a la pared celular y semipermeables a la membrana plasmática e inducen plasmólisis temporal. Aflojan la adhesión entre la pared celular y el citoplasma. Cuando tales solutos penetran en el citoplasma, las células se desplasmolizan. Actúan esencialmente en el citoplasma para protegerlo del exceso de deshidratación inducida por la congelación y reducir la toxicidad de la sal al mantener altos niveles de agua no congelada a temperaturas bajo cero (Chen et al. 1984). Glicerol y dimetilsulfóxido (DMSO), son ejemplos.
- II. Aquellos permeables a la pared celular, pero no a la membrana plasmática e inducen la plasmólisis de las células antes de la congelación. Cuando el medio y las células se congelan, estos solutos se concentran en el espacio entre la pared celular y la membrana plasmática. No solo protegen a los protoplastos del exceso de deshidratación inducida por congelación, sino que también pueden formar una capa amortiguadora entre la pared celular y el protoplasto para proteger la superficie exterior de la membrana celular. Por lo tanto, tales solutos pueden mitigar la presión mecánica del hielo en crecimiento sobre los protoplastos, ejemplos son oligosacáridos (sacarosa, manitol), aminoácidos (prolina), y polímeros con bajo peso molecular.
- III. Aquellos que no penetran ni la membrana citoplasmática ni la célula, se concentran frente a los cristales de hielo a medida que el medio y las células se congelan e inhiben la tasa de crecimiento del hielo (Olien, 1981). Tales polímeros proporcionan una capa amortiguadora extracelular, ya que también se concentran en los espacios entre la superficie exterior de la pared celular y los cristales de hielo. Ejemplos son polímeros

de alto peso molecular como proteínas solubles, polisacáridos, mucílagos, polietilenglicol (PEG) y polivinilpirrolidona (PVP).

Los polímeros de alto peso molecular no protegen a las células de la deformación inducida por congelación (causada por estrés mecánico), ni al protoplasto de la deshidratación inducida por congelación. A menos que se utilicen en combinación con crioprotectores de las categorías (I) y / o (II), los polímeros de la categoría (3) brindan poca protección a las células vegetales (Paul, 1986).

#### **14. Efectos del estrés por frío en la composición del proteoma de las plantas.**

Las tensiones ambientales afectan negativamente el crecimiento y la productividad de las plantas, provocando una serie de modificaciones morfológicas, fisiológicas y moleculares en las plantas. Las bajas temperaturas son comunes en la naturaleza e imponen una restricción ambiental importante en el rendimiento de la planta, especialmente en climas fríos en latitudes o altitudes elevadas. La aclimatación al estrés por frío está mediada por cambios intensos en la expresión génica que se traducen en alteraciones en la composición del transcriptoma, proteoma y metaboloma (Janmohammadi et al. 2015). Anteriormente, se ha demostrado que las modificaciones en la expresión génica a nivel de transcripción con frecuencia no coinciden con alteraciones a nivel de proteína (Bogeat-Triboulot et al. 2007). Además, algunas de las proteínas sensibles a bajas temperaturas sufren modificaciones postraduccionales, que incluyen fosforilación, *N*-glicosilación, ubiquitinación o sumoilación.

#### **15. Proteínas de respuestas a bajas temperaturas.**

La tolerancia a bajas temperaturas es un rasgo multigénico que involucra un gran número de genes inducibles por estas condiciones, estos genes codifican principalmente a tres tipos de proteínas: proteínas estructurales, proteínas reguladoras (factores de transcripción, factores de elongación de traducción y proteínas de transducción de señales), osmoprotectores (dehidrinas) y las proteínas abundantes de embriogénesis tardía (LEA). Además, otros tipos de proteínas se acumulan fuera de las células durante la aclimatación al frío. Estos incluyen proteínas modificadoras de la pared celular, proteínas relacionadas con la patogenia (PR), que protegen a las plantas contra organismos patógenos y proteínas anticongelantes (AFP) que interactúan con el hielo (Janmohammadi et al. 2015).

Las redes de proteínas que cubren la glucólisis, el metabolismo de los carbohidratos (formación de ATP) y la biosíntesis, se regulan positivamente durante la aclimatación al frío y

el estrés por bajas temperaturas, lo que indica que las plantas hacen ajustes a los procesos de formación de energía para hacer frente al estrés por congelación. Dado que el estrés por bajas temperaturas está asociado con una mayor generación de especies reactivas de oxígeno (EROs), la capacidad de activar mecanismos defensivos es muy importante para la tolerancia de la planta. Por lo tanto, las plantas aclimatadas al frío mejoran la abundancia de proteínas de diferentes enzimas eliminadoras de ROS. Las dehidrinas son proteínas que se acumulan en los tejidos vegetativos durante el estrés por frío y congelación. La acumulación de dehidrinas está frecuentemente relacionada con el desarrollo de tolerancia a la congelación en las plantas. Sin embargo, estas proteínas tienen muchos papeles (funciones crioprotectoras, acompañantes, captadoras de radicales libres, anticongelantes, de unión de iones), cuando las plantas están expuestas al estrés por temperaturas bajas, ya que la membrana plasmática es el sitio principal de daño (Janmohammadi et al. 2015). Desempeñan funciones fisiológicas esenciales tanto durante la aclimatación al frío como durante el desarrollo de la tolerancia al congelamiento, constituyendo una regulación de múltiples capas, que a menudo implica modificaciones postraduccionales.

#### **16. Proteínas reguladas por frío.**

Se cree que las plantas perciben las bajas temperaturas por algún receptor en la membrana celular o por los lípidos membranales mismos y la transmisión de esa señal de baja temperatura se transmite por diferentes componentes moleculares hasta llegar a varios blancos como la activación de los genes regulados por frío (*COR*), desencadenando una multitud de cascadas transcripcionales que median la tolerancia a la baja temperatura y la aclimatación al frío. Los enfoques genéticos han definido algunos de los componentes reguladores clave de la aclimatación al frío en *Arabidopsis thaliana*. El papel central lo desempeña el factor de unión de repetición C (CBF). Estos factores de transcripción se inducen rápidamente en respuesta al frío y, a su vez, activan la expresión de un conjunto de genes diana que incluyen varios genes que codifican proteínas COR/LEA.

Las proteínas LEA protegen a las proteínas y membranas del daño originado por deshidratación (Bray, 1993). La progresiva sequía y salinidad inducen la síntesis de estas proteínas en los órganos vegetativos, las cuales estabilizan las enzimas y la estructura de las membranas. Las proteínas LEA participan en la reducción del daño celular durante la deshidratación, aunque el mecanismo preciso involucrado aún debe ser explorado. El análisis bioquímico ha mostrado que las proteínas LEA pueden prevenir la agregación inducida por la

deseccación y las bajas temperaturas. Se propone que funcionan como chaperonas, como moléculas protectoras y actúan evitando el daño celular (Thapa et al. 2011). Las predicciones de su estructura secundaria sugieren que la mayoría de las proteínas LEA existen como cadenas polipeptídicas sin estructura secundaria y poseen estructuras desplegadas como estructura nativa y unos pocos miembros existen como dímeros o tetrámeros. Son proteínas estables al calor y no coagulan en ebullición.

Se ha demostrado que varias proteínas LEA conservan la actividad de enzimas aisladas durante la desecación o congelación (véase Battaglia et al. 2008), donde pueden formar agregados y perder su actividad catalítica. Algunas proteínas LEA previenen la agregación y la inactivación tanto en combinación con enzimas individuales aisladas como en mezclas de proteínas complejas. En la planta modelo *Arabidopsis thaliana*, se identificaron 51 proteínas LEA que se separaron en nueve grupos diferentes. Se predice que la mayoría de las proteínas LEA son proteínas intrínsecamente desordenadas (IDP) en el estado completamente hidratado. Sin embargo, pueden adquirir estructura y parcialmente plegarse para formar hélices  $\alpha$  durante el secado. Debido a su naturaleza hidrófila y no estructurada, la mayoría de las proteínas LEA no se agregan durante el secado, la congelación o incluso la ebullición. Aunque el papel fisiológico de la mayoría de las proteínas LEA aún no está claro, se han sugerido varias actividades posibles de las proteínas LEA, como la unión al ARN o al ADN, la unión al agua o iones, la actividad antioxidante o la estabilización de azúcares en su fase vítrea en estado seco basándose en estudios *in vitro*. Sin embargo, existe evidencia de que algunas proteínas LEA pueden estabilizar membranas y/o enzimas durante la congelación y la desecación (Thalhammer e Hinch, 2013).

Las proteínas LEA COR15A y COR15B son 70% idénticas en sus secuencias de aminoácidos y están codificados por un par de genes repetidos en tándem (Wilhelm y Thomashow 1993). Ambos genes son inducidos por frío y la expresión relativa de COR15A se correlaciona positivamente con la tolerancia a la congelación aclimatada al frío. Una función estabilizadora de la membrana, *in vivo*, solo se ha demostrado para COR15A (Artus et al.1996). La sobreexpresión de esta proteína en plantas transgénicas de *Arabidopsis* conduce a una mayor tolerancia a la congelación de las hojas sin aclimatación al frío. Además, se demostró que COR15A se localiza en el estroma del cloroplasto (Lin y Thomashow, 1992) y se predijo la misma localización para COR15B a partir de la secuencia de aminoácidos completa (Hundertmark e Hinch, 2008). COR15A también fue capaz de prevenir la formación de la fase hexagonal II entre bicapas en dispersiones de membrana. Sin embargo, la unión a la

membrana y el plegamiento de proteínas en el estado (parcialmente) hidratado aún quedan por demostrar para ambas proteínas.

### **17. Proteínas anticongelantes.**

Las proteínas anticongelantes, otro grupo de proteínas sensibles a bajas temperaturas, tienen capacidad de adsorberse sobre la superficie de los cristales de hielo y cambiar su crecimiento, protegiendo así, a las células contra la formación fatal de hielo intracelular e intercelular. El procesamiento y la degradación de proteínas también son procesos que responden a bajas temperaturas y pueden estar actuando a través de la detección redox y la regulación de la expresión génica. Las proteínas involucradas en estas reacciones podrían estar funcionando juntas para mantener la homeostasis celular bajo estrés. Se ha demostrado que la aclimatación al frío implica no solo la remodelación estructural y funcional a nivel celular y subcelular, sino también reprogramando el metabolismo y la expresión génica en los organelos celulares (Miura y Furumoto, 2013).

Se encuentran en una amplia gama de plantas invernales en las que inhiben el crecimiento y la recristalización del hielo que se forma en los espacios intercelulares. A diferencia de las proteínas anticongelantes que se encuentran en peces e insectos, las proteínas anticongelantes vegetales tienen múltiples dominios hidrofílicos de unión a hielo. Sorprendentemente, las proteínas anticongelantes de plantas son homólogas a las proteínas relacionadas con la patogénesis y también brindan protección contra patógenos. Se cree que las AFP inhiben la recristalización mediante su adsorción en cristales de hielo (Figura 8) (Knight et al. 1984). Los eventos moleculares que generan la inhibición de la recristalización del hielo no se han determinado claramente. Sin embargo, el valor biológico de este efecto es muy importante. La mayoría de las plantas que hibernan forman hielo en espacios intercelulares, donde las AFP cambian la estructura cristalina del hielo. Este fenómeno podría actuar para proteger los tejidos vegetales del estrés mecánico causado por la formación de hielo (Hoshino et al. 1999). Lo anterior da como resultado una depresión del punto de congelación fuera de equilibrio de una solución acuosa por debajo de su punto de fusión, lo que provoca una diferencia entre los puntos de congelación y fusión, lo que se conoce como histéresis térmica. El agua pura se congela a 0 ° C a 1 atm; sin embargo, debido a la presencia de varios solutos, la savia celular se congela en -3 ° C hasta -4 ° C. En presencia de AFPs, el punto de congelación de la savia celular se reduce aún más, evitando así la formación de hielo en las plantas hasta cierto límite, incluso si todo lo demás está congelado en el exterior.

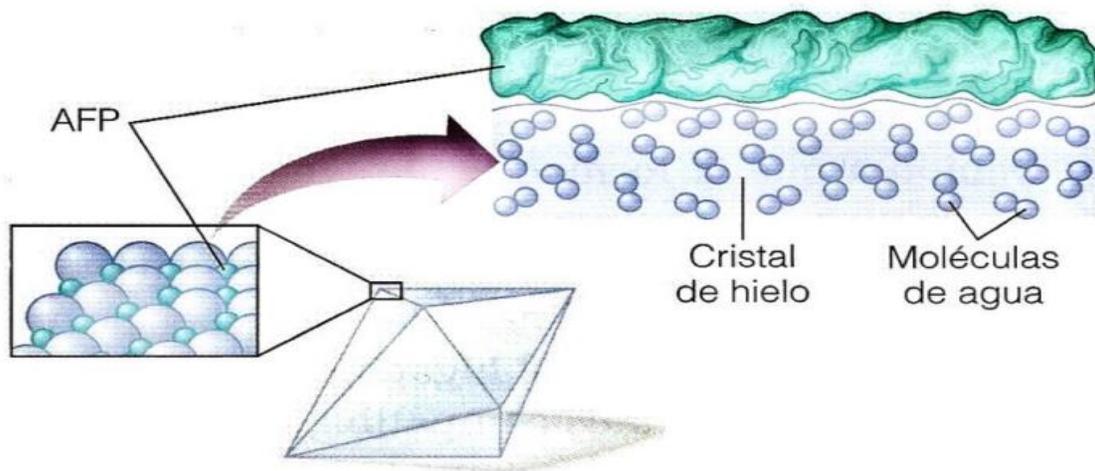


Figura 8. Mecanismo de acción de las proteínas anticongelantes (AFP). Las AFP se unen a los primeros cristales de hielo y evitan la agregación de moléculas de agua a los cristales de hielo en crecimiento (tomada de <https://www.conicyt.cl/>).

Las AFP son 500 veces más efectivas para reducir la temperatura de congelación que cualquier otra molécula de soluto conocida. La depresión del punto de congelación en presencia de AFP es un mecanismo no coligativo, ya que la disminución del punto de congelación es mil veces mayor de lo esperado para la concentración molar de AFP (Venketesha y Dayanand, 2008). Durante la histéresis térmica, el hielo se estabiliza en forma de solución fría. Las AFP que se han aislado en 11 especies de plantas, son en su mayoría apoplásicas, a excepción de las AFP de *Prunus persica* y *Forsythia suspensa*, que son intracelulares, lo que indica sus funciones alternativas, probablemente en la inhibición de los nucleadores de hielo intracelulares (Wisniewski et al. 1999; Simpson et al. 2005). La localización inmunológica de las AFP de *Prunus persica* mostró su localización en el cloroplasto y núcleo además del citoplasma, tienen masas moleculares variadas, entre 20 y 80 kDa (Gupta y Deswal, 2014).

### 18. Proteínas de choque de frío.

Las proteínas de choque frío (CSP) son de pequeño tamaño (65-75 aminoácidos), se encuentran entre las proteínas mejor conservadas filogenéticamente, con respecto a función y a estructura, cumpliendo un papel similar en todos los organismos: bacterias, levaduras, plantas y células animales (Kindas-Mügge et al. 1994). Están relacionadas funcionalmente con

las familias extendidas y diversas de chaperonas moleculares que se describen por su capacidad para distinguir y conectar proteínas que se encuentran en un estado inestable o inactivo. Son chaperonas moleculares que funcionan en el plegamiento y ensamblaje de proteínas, la localización y secreción intracelular de proteínas, así como en la degradación de proteínas mal plegadas o truncadas (Hu et al. 2009). Contienen un dominio de choque de frío (CSD) y funcionan como chaperonas de ARN que desestabilizan las estructuras secundarias de ARN. Los ARN celulares tienden a plegarse en estructuras desfavorables en condiciones de baja temperatura, y las chaperonas de ARN resuelven estas estructuras, recuperando la funcionalidad de los ARN. Las funciones de las CSP están asociadas principalmente con la adaptación al frío, pero también están involucradas en otros procesos biológicos en condiciones normales de crecimiento.

La primera CSP vegetal caracterizada funcionalmente fue la CSP de trigo WCSP1 que contiene una región rica en glicina intercalada con tres dedos de zinc en los C-terminales. Su ARNm se regula al alza en respuesta al frío y la proteína correspondiente se acumula sustancialmente en el tejido de la corona durante la aclimatación prolongada al frío. Niveles de transcripción de WCSP1 no están modulados por otros estreses ambientales como la sal, la sequía y el calor, o el tratamiento con ácido abscísico (Karlson et al. 2002), lo que sugiere que la función de WCSP1 es específica de la adaptación al frío. WCSP1 se une al ADN y al ARN y funde los ácidos nucleicos bicatenarios *in vitro* y *en vivo*. Además, WCSP1 complementa un fenotipo sensible al frío en la mutante *cspde E. coli*.

En Arabidopsis, se identificaron cuatro proteínas CSP (AtCSP1- AtCSP4) y se realizaron análisis funcionales de AtCSPs con líneas de sobreexpresión y mutantes. Un mutante knock-out *Atcsp3* (At2g17870) (*atcsp3-2*) era más sensible a la congelación que el tipo silvestre en condiciones no aclimatadas y aclimatadas al frío (Kim et al. 2009). La sobreexpresión de AtCSP3 confiere una mayor tolerancia a la congelación en Arabidopsis sin defectos de desarrollo obvios (Kim et al. 2009). AtCSP3 no afecta la expresión de los genes *CBF* y *COR*, pero regula la expresión de genes relacionados con el estrés cuyas funciones en la tolerancia a la congelación se desconocen. Curiosamente, varios genes regulados negativamente en la línea *atcsp3-2* están regulados positivamente en la mutante *ada2b-1*, que es más tolerante a la congelación que el tipo silvestre sin regulación positiva de la expresión génica de *COR* (Vlachonasios et al. 2003).

## **19. Proteínas universales de estrés (USPs).**

El estrés por la baja temperatura puede resultar en un estrés oxidativo que a su vez induce la expresión de proteínas involucradas en la defensa del estrés oxidativo, como la proteína denominada 'Universal Stress Protein (USP)', la cual se sobreexpresa notoriamente bajo estrés ambiental desfavorable, como falta de nutrientes (deficiencia de carbono, nitrógeno, fosfato, sulfato y aminoácidos), choque de calor/frío, estrés oxidativo, toxicidad de metales pesados, desacoplante de cadenas de transporte de electrones, exposición a polimixina, cicloserina, etanol y antibióticos, etc. (Van Bogelen et al. 1990; Kvint et al. 2003).

Se ha demostrado que las funciones de las USP implican la eliminación de proteínas, la retención y la prevención de la desnaturalización de macromoléculas globulares y el transporte de proteínas celulares. Además, varias USP exhiben actividades de unión, reparación y replegamiento de ADN que pueden ayudar a los organismos a proteger sus ácidos nucleicos de las tensiones externas (Kvint et al. 2003; Drumm et al. 2009).

## **DISCUSIÓN**

En la información recopilada descrita se han revisado los mecanismos para prevenir o contrarrestar los efectos de las bajas temperaturas principalmente a nivel membranal. Estos son cambios a nivel molecular que se manifiestan en los componentes membranales: lípidos, proteínas y carbohidratos. Cualquier efecto adverso del estrés por temperatura en las membranas conduce a la interrupción de la actividad celular o la muerte.

La aclimatación al frío es una respuesta adaptativa mediante la cual las plantas adquieren tolerancia al frío. Es decir, las plantas se exponen a un periodo de bajas temperaturas, para aumentar la tolerancia a temperaturas congelantes. Una de las consecuencias de la aclimatación en la membrana celular es el aumento en su fluidez, cambios tales como adquisición de insaturaciones en los ácidos grasos, aumento de glicerolípidos, disminución de esfingolípidos, redistribución posicional de los ácidos grasos saturados e insaturados dentro de las moléculas de lípidos y cambios en la composición de proteínas.

El daño principal que ocurre durante el congelamiento es ocasionado por la deshidratación celular, lo que genera una completa pérdida osmótica debido a la formación de hielo en la superficie de las plantas hasta llegar al interior, con lo cual se ocasiona un cambio en las concentraciones de los componentes de la célula que se encuentran dentro y fuera de ella.

Esta forma de daño está asociada al mesomorfismo lipídico, por el cual hay una transición de la fase lamelar a la fase hexagonal en la membrana celular.

Para evitar la congelación, las plantas pueden favorecer la formación de estructuras específicas, para bajar la probabilidad de formación de hielo. Los compuestos anticongelantes o crioprotectores también pueden abatir el punto de congelación del agua. Como bien se mencionó, la vía de señalización por la temperatura propone que las primeras señales de estrés son percibidas por receptores de la membrana plasmática. Sin embargo, la membrana plasmática como receptor no implica necesariamente a un receptor proteico, sino alteraciones en su fluidez, debidas a la abundancia y saturación de los lípidos membranales. La fluidez puede ser el punto de inicio de la señalización de la presencia del estímulo de frío. Los receptores pueden transmitir la información a otros elementos, algunos membranales y otros intracelulares, entre ellos, algunos que actúan como segundos mensajeros para iniciar una cascada de fosforilación de proteínas cinasas y que eventualmente activan los genes de respuesta a frío, estos genes codifican principalmente a tres tipos de proteínas: proteínas estructurales, proteínas reguladoras (factores de transcripción, factores de elongación de traducción y proteínas de transducción de señales), osmoprotectores (dehidrinas) y las proteínas abundantes de embriogénesis tardía. Además, otros tipos de proteínas se acumulan fuera de las células durante la aclimatación al frío.

## **CONCLUSIONES**

1. La membrana plasmática como sensor en la señalización en la respuesta a bajas temperaturas implica que no se requiere de un receptor proteico específico, sino que las alteraciones en la fluidez, que ocurren gracias al mesomorfismo de los lípidos, son las encargadas de comenzar la señalización en la transducción de la señal de frío.
2. Los estados mesomórficos de los lípidos membranales generados por variaciones de temperatura (mesomorfismo termotrópico), son particularmente relevantes para aquellos organismos que carecen de mecanismos de mantenimiento de temperatura, y que presentarán este mesomorfismo en sus membranas.
3. A bajas temperaturas, no congelantes, la fluidez de la membrana disminuye debido al mesomorfismo de sus lípidos. Así la membrana plasmática, transita hacia una fase más ordenada que la hace más rígida y proclive a la fuga de electrolitos. Por lo que las plantas, al estar bajo periodos largos de exposición a bajas temperaturas comienzan a expresar mecanismos adaptativos en la membrana plasmática, tales como el

aumento de ácidos grasos insaturados y de glicerolípidos; disminución de esfingolípidos y cambios en la composición del proteoma de las plantas.

4. A temperaturas congelantes, se desestabiliza la membrana plasmática por la formación de cristales de hielo extracelulares, entonces, el daño intracelular puede ocurrir por lisis inducida por expansión y por transiciones de fase lamelar a fase hexagonal en la membrana plasmática, que provocan rompimiento membranal y muerte de la célula
5. No se conoce mucho sobre los daños a proteínas membranales por bajas temperaturas ni los mecanismos de protección correspondientes. Sin embargo, se sabe que las moléculas crioprotectoras pueden ser proteínas o moléculas orgánicas que ayudan abatir el punto de congelación para evitar la formación extracelular de cristales de hielo y evitar su formación intracelular. Las proteínas reguladas por frío reducen el daño celular durante la deshidratación de la membrana celular. Las proteínas anticongelantes inhiben el crecimiento y la recristalización del hielo que se forma en los espacios intercelulares pero la interacción molecular entre las AFP de las plantas y el hielo no está bien resuelta.
6. Es importante conocer los aspectos moleculares de los efectos de las bajas temperaturas en las plantas, porque así se pueden identificar características críticas para seleccionar o generar cultivares que puedan ser resistentes a las bajas temperaturas. Este es un problema que es fundamental para asegurar la producción alimentaria de los cultivos más importantes y resulta particularmente relevante ante los cambios del calentamiento global, ya que este implica perturbaciones también en los regímenes de bajas temperaturas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Almeselmani M, Deshmukh PS, Sairam RK, Kushwaha SR, Singh TP (2006) Protective role of antioxidant enzymes under high temperature stress. *Plant Sci.* 171:382-388.
2. Atici O y Barbaros N (2003) *Phytochemistry.* 64:1187-96.
3. Benning C (2009) Mechanisms of lipid transport involved in organelle biogenesis in plant cells. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 25:71-79.
4. Bogeat-Triboulot MB, BroschéM, Renaut J, Jouve L, Didier Le Thiec, Fayyaz P, Vinocur B, Witters E, Laukens K, Teichmann T, Altman A, Hausman JH, Polle A, Kangasjärvi J, Dreyer E (2007) Gradual soil water depletion results in reversible changes of gene expression, protein profiles, ecophysiology, and growth performance in *populuseuphratica*, a poplar growing in arid regions. *Plant Physiol.*143:876–892.
5. Brufau G, Canela M, Rafecas, M. (2008) Phytosterols: physiologic and metabolic aspects related to cholesterol-lowering properties. *Nutr Res.* 28:217–225.
6. Budowski G (1965) Distribution of tropical american rain forest species in the light of successional processes. *Turrialba* 15:40-42
7. Cacas JL, Buré C, Grosjean K, Gerbeau-Pissot P, Lherminier J, Rombouts Y, Maes E, Bossard C, Gronnier J, Furt F, et al. (2016) Revisiting plant plasma membrane lipids in tobacco: A focus on sphingolipids. *Plant Physiol.* 170:367–384.
8. Cano-Ramírez DL, Carmona-Salazar L, Morales-Cedillo F, Ramírez-Salcedo J, Cahoon EB, Gavilanes-Ruíz M. (2021) Plasma membrane fluidity: anenvironmentthermal detector in plants. *Cells.* 10:2778.
9. Carmona-Salazar L, E. Cahoon R, Gasca-Pineda J, González-Solís A, Vera-Estrella R, Trevino V, B. Cahoon E, Gavilanes-Ruiz M (2021) Plasma and vacuolar membrane sphingolipidomes: composition and insights on the role of main molecular species. *Plant Physiol.* 21:1–16.
10. Cha HJ, He C, Zhao H, Dong Y, An IS, An S (2016) Intercellular and intracellular functions of ceramides and their metabolites in skin. *Int J Mol Med.* 38:16–22.
11. Chaves-Barrantes NF y Gutiérrez-Soto MV (2017) Crop physiological responses to high temperature stress. Molecular, biochemical and physiological aspects. *Agron. Mesoam.* 28:237-253

12. Chen M, Cahoon EB, Saucedo-García M, Plasencia J, Gavilanes-Ruíz M (2009) Plant sphingolipids: Structure, synthesis and function. In: *Lipids in Photosynthesis: Essential and Regulatory Functions*. (Wada H, Murata N, eds). *Advances in Photosynthesis and Respiration*. Vol. 30. Series editor, Govindjee, ISBN 978-90-481-4 (Hb) e ISBN 978-90-481-2863 (e-book), Springer, New York. 77-115.
13. Chen QF, Chen MX, Yu LJ, Huang L, Chen, L., Wang FZ, Xia FN, Zhu TR, Wu JX, Yin J, Liao B, Shi J, Zhang JH, Aharoni A, Yao N, Shu W, Xiao S (2015). Unsaturation of very-long-chain ceramides protects plant from hypoxia-induced damages by modulating ethylene signaling in *Arabidopsis*. *PLoS genetics*, 11:3. e1005143. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005143>.
14. Chinnusamy V, Zhu J y Zhu JK (2007) Cold stress regulation of gene expression in plants *Trends Plant Sci*. 12:444-451.
15. Delgado CBA (2016) La asimetría de la membrana plasmática y su relevancia para la célula. *Rev. Educ. Bioquím*. 35:97-101.
16. Deol SS, Bond PJ, Domene C, Sansom MSP (2004) Lipid-protein interactions of integral membrane proteins: A comparative simulation study. *Biophys. J*. 87:3737–3749.
17. Dutilleul C, Chavarria H, Reze N, Sotta B, Balduino E, Guillas I (2015) Evidence for the involvement of ceramide kinase ACD5 activity in the response of *Arabidopsis* to cold stress. *Plant Cell* .38:2688–2697.
18. Edidin M (2003) Lipids on the frontier: a century of cell membrane bilayers. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. 4:414-418.
19. Escribá PV, González-Ros JM, Goñi FM, Kinnunen PK, Vigh L, Sánchez-Magraner L, Fernández AM, Busquets X, Horváth I, Barceló-Coblijn G (2008) Membranes: a meeting point for lipids, proteins and therapies. *J. Cell. Mol. Med*. 12:829-875.
20. Falcone DL, Ogas JP, Somerville CR (2004) Regulation of membrane fatty acid composition by temperature in mutants of *Arabidopsis* with alterations in membrane lipid composition. *BMC Plant Biol*. 4:17.
21. Fang L, Ishikawa T, Rennie EA, Murawska GM, Lao J, Yan J, Tsai AY-L, Baidoo EE, Xu J, Keasling JD, et al. (2016) Loss of sphingolipid mannosylation of inositol phosphorylceramide induces plant immune responses and reduces cellulose content in *Arabidopsis*. *Plant Cell*. 28:2991–3004.
22. Faini M, Beck R, Wieland FT, Briggs JA (2013) Vesicle coats: structure, function, and general principles of assembly. *Trends Cell Biol*. 6:279–288

23. García–Pacheco AD, y López–Castañeda C (2002) Temperatura base y tasa de extensión foliar del maíz. *Rev. Fitotec. Mex.* 25:381–386.
24. Garrahan PJ (1977) Transporte a través de la membrana celular. Monografía No. 18. OEA. Washington, D.C.
25. Gavilanes Ruiz M, Guadarrama SM, Franco MA (2020) Membrane and transduction aspects of plants tolerance to low temperatures. *Mens. Bioquim.* 44:7-19.
26. Gronnier J, Legrand A, Loquet A, Habenstein B, Germain V, Mongrand S (2019) Mechanisms governing subcompartmentalization of biological membranes. *Curr. Opin. Plant Biol.* 52:114-123.
27. Gruner SM (1985) Intrinsic curvature hypothesis for biomembrane lipid composition: a role for nonbilayerlipids. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 82:3665-3669
28. Guzmán-Flores JE, Dimitris GD, Álvarez FD (2019) Lipid raft-like bacterial membrane microdomains. *Rev. Espec. Cienc. Quím. Biol.* 22: 1-10.
29. Han B, Ma X, Cui D, Wang Y, Geng L, Cao G, Zhang H, Han L (2020). Comprehensive Evaluation and Analysis of the Mechanism of Cold Tolerance Based on the Transcriptome of Weedy Rice Seedlings. *Rice* 13:12. <https://doi.org/10.1186/s12284-019-0363-1>
30. Hayes S, Schachtschabel J, Mishkind M, Munnik T, Arisz SA (2020) Hot topic: thermosensing in plants. *Plant Cell Environ.* 44:2018–2033.
31. Honigmann A y Pralle A. (2016). Compartmentalization of the cell membrane. *Journal of molecular biology.* 428: 4739-4748
32. Hu W, Hu G, Han B (2009) Genome-wide survey and expression profiling of heat shock proteins and heat shock factors revealed overlapped and stress specific response under abiotic stresses in rice. *Plant Sci.* 176: 586-590.
33. Huby E, Napier JA, Baillieul F, Michaelson LV, Dhondt-Cordelier S (2020) Sphingolipids: towards an integrated view of metabolism during the plant stress response. *New Phytol.* 225:659–670.
34. Iba K (2002) Acclimative response to temperature stress in higher plants: approaches of gene engineering for temperature tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.* 53:225-245.
35. Imeselmani M, Deshmukh PS, Sairam RK, Kushwaha SR, Singh TP (2006) Protective role of antioxidant enzymes under high temperature stress. *Plant Sci.* 171:382-388.
36. Israelachvili JN, Marcelja S, Horn RG (1980) Physical principles of membrane organisation. *Q. Rev. Biophys.* 13:121-200.

37. Jiang Z, Zhou X, Tao M, Yuan F, Liu L, Wu F, Wu X, Xiang Y, Niu Y, Liu F, et al. (2019) Plant cell-surface GIPC sphingolipids sense salt to trigger Ca<sup>2+</sup> influx. *Nature* 572:341–346.
38. Janmey PA y Kinnunen PKJ (2006) Biophysical properties of lipids and dynamic membranes. *Trends Cell Biol.* 16:538-546.
39. Janmey PA, Weitz DA (2004) Dealing with mechanics: mechanisms of force transduction in cells. *Trends Biochem. Sci.* 29:364–370.
40. Janmohammadi M, Zolla L, Rinalducci S (2015) Low temperature tolerance in plants: Changes at the protein level. *Phytochemistry.* 117:76-89.
41. Karlson D, Nakaminami K., Toyomasu, T, Imai R (2002). A cold-regulated nucleic acid-binding protein from winter wheat shares a domain with bacterial cold shock proteins. *J. Biol. Chem.* 277:35248– 35256.
42. Kindas-Mügge I, Trautinger F (1994) Increased expression of the Mr 27,000 heat shock protein (hsp27) in *in vitro* differentiated normal human keratinocytes. *Cell Growth Differ.* 5:777-81.
43. Jouhet J. (2013) Importance of the hexagonal lipid phase in biological membrane organization. *Plant Sci.* 4: 494.
44. Kappen L (1981) Ecological significance of resistance to high temperature. In: *Physiological Plant Ecology* (O.L. Lange et al., eds.) Vol. 12A.
45. Kirk GL, Gruner SM, Stein DL (1984) A thermodynamic model of the lamellar to inverse hexagonal phase transition of lipid membrane-water systems. *J. Biochem.* 23: 1093-1102.
46. Lamers J, van der Meer T, Testerink C (2020). How plants sense and respond to stressful environments. *Plant Physiol.* 182:1624–1635.
47. Larcher W (1980) *Physiological Plant Ecology*. 2a ed. Springer-Verlag, Berlin. p. 12-13.
48. Larkindale J, Huang B (2004) Changes of lipid composition and saturation level in leaves and roots for heat-stressed and heat acclimated creeping bentgrass (*Agrostis stolonifera*). *Environ. Exp. Bot.* 51:57-67.
49. Lee AG (2003) Lipid-protein interactions in biological membranes: A structural perspective. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* 1612:1-40.
50. Legris M, Klose C, Burgie ES, Rojas CC, Neme M, Hiltbrunner A, Wigge PA, Schäfer E, Vierstra RD, Casal JJ (2016) Phytochrome B integrates light and temperature signals in *Arabidopsis*. *Science.* 354:897–900.

51. Liang H, Yao N, Song JT, Luo S, Lu H, Greenberg JT (2003) Ceramides modulate programmed cell death in plants. *Genes Dev.* 17:2636–2641.
52. Lin J, Xu Y, Zhu Z (2020) Emerging plant thermosensors: From RNA to protein. *Trends Plant Sci.* 25:1187–1189.
53. Lisanti MP, Rodríguez-Boulan E (1990) Glycophospholipid membrane anchoring provides clues to the mechanism of protein sorting in polarized epithelial cells. *Trends Biochem. Sci.* 15:113–118.
54. Lohner K (1996) Is the high propensity of ethanolamine plasmalogens to form nonlamellar lipid structures manifested in the properties of biomembranes? *Chem. Phys. Lipids.* 81:167-184.
55. López C, Infante J, Trejos M (1986). La membrana plasmática. La relación estructura - función. *Revista de la Universidad de La Salle.* 12:25-50.
56. López-Matas MA, Nuñez P, Soto A, Allona I, Casado R, Collada C, Guevara MA, Aragoncillo C, Gomez L (2004) Protein cryoprotective activity of a cytosolic small heat shock protein that accumulates constitutively in chestnut stems and is up-regulated by low and high temperatures. *Plant Physiol.* 134:1708-1717.
57. Martínez-Abundis E y Zazueta-Mendizábal C (2008) Evidencias de la existencia de microdominios lipídicos en las membranas de organelos. *Medigraphic.* 33:164-170
58. Mohanty B, Mohanty S, Sahoo J, Sharma A (2010) Climate change: impacts on fisheries and aquaculture. En: *Climate change and variability.* InTech Publishing. 7:119-138.
59. Rey de las Moras MC (2008). Fisiología de cultivos. *Scientia Agropecuaria.* 2:920-922.
60. Rodríguez RM, Benito A, Portela A (2004) Meteorología y climatología. FECYT (Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología). Pág. 12-16.
61. Mamode Cassim A, Gouguet P, Gronnier J, Laurent N, Germain V, Grison M, Boutte Y, Gerbeau-Pissot P, Simon-Plas F, Mongrand S (2019) Plant lipids: key players of plasma membrane organization and function. *Prog. Lipid Res.* 73:1–27.
62. Markham JE, Jaworski JG (2007) Rapid measurement of sphingolipids from *Arabidopsis thaliana* by reversed-phase high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 21:1304-1314.
63. Markham JE, Li J, Cahoon EB, Jaworski JG (2006) Plant sphingolipids: separation and identification of the main classes of sphingolipids from leaves. *J. Biol. Chem.* 281:22684–22694.

64. Megías M, Molist P, A. Pombal M (2017) Cellular membrane. Atlas of Animal and Plant Histology. p.10-11.
65. Melser S, Batailler B, Peypelut M, Poujol C, Bellec Y, Wattelet-Boyer V, Maneta-Peyret L, Faure JD, Moreau P (2010) Glucosylceramide biosynthesis is involved in Golgi morphology and protein secretion in plant cells. *Traffic*.11: 479–490.
66. Miura K, Furumoto T (2013). Cold signaling and cold response in plants. *Int. J. Mol. Sci.* 14:5312-5337.
67. Mittler R, Finka A, Goloubinoff P (2012). How do plants feel the heat? *Trends Biochem Sci.* 37:118–125.
68. Moreau P, Bessoule JJ, Mongrand S, Testet E, Vincent P, Cassagne C (1998) Lipid trafficking of plant cells. *Science* 37:371-391.
69. Msanne J, Chen M, Luttgeharm KD, Bradley AM, Mays ES, Paper JM, Boyle DL, Cahoon RE, Schrick K, Cahoon EB (2015) Glucosylceramides are essential for cell type differentiation and organogenesis, but not for cell viability in Arabidopsis. *Plant J.* 84:188–201.
70. Murata N. y Los D.A. (1997) Membrane fluidity and temperature perception. *Plant Physiol.* 115: 875-879.
71. Niemelä PS, Hyvönen MT, Vattulainen I (2006) Influence of chain length and unsaturation on sphingomyelin bilayers. *Biophys. J.* 90:851-863.
72. Nicholson GL. 2014. The fluid mosaic model of membrane structure: still relevant to understanding the structure, function and dynamics of biological membranes after more than 40 years. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* 1838:1451-1466.
73. Ouellet F (2002) Out of the cold: unveiling the elements required for low temperature induction of gene expression in plants. *In vitro Cell. Dev. Biol.– Plant* 38:396–403.
74. Paul HL (1986) Classification of plant cell cryoprotectants. *J. Theor. Biol.*123:305-310.4
75. Peter BJ, Kent HM, Mills IG (2004). "Dominios BAR como sensores de la curvatura de la membrana: la estructura BAR anfifisina". *Ciencia.* 303:495–9.
76. Pike LJ (2006). Rafts defined: a report on the Keystone Symposium on Lipid Rafts and Cell Function. *J. Lipid Res.* 47:1597–1598.
77. Porch TG, Jahn M (2001) Effects of high-temperature stress on microsporogenesis in heat-sensitive and heat-tolerant genotypes of *Phaseolus vulgaris*. *Plant Cell Environ.* 24:723-731.

78. Reece JB, Urry LA, Cain ML, Wasserman SA, Minorsky PV, Jackson RB (2011). Membrane structure and function. *Campbell Biology* 10:127.
79. Sage R, Kubien D (2007) The temperature response of C3 and C4 photosynthesis. *Plant Cell. Env.* 30:1086-1106.
80. Singer SJ, Nicolson GL (1972) The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*.175:720-731.
81. Showalter, AM, 1993. Structure and function of proteins. *Plant Cell*. 5:19-23.
82. Siontorou C, Nikoleli G-P, Nikolelis D, Karapetis S (2017) Artificial lipid membranes: past, present, and future. *Membranes*. 7:38.
83. Sperling P, Franke S, Lühje S, Heinz E (2005) Plant sphingolipids: Their importance in cellular organization and adaption. *Plant Physiol. Biochem.* 43:1031-1038.
84. Su K, Bremer DJ., Jeannotte R, Welti R, Yang C (2009) Membrane lipid composition and heat tolerance in cool-season turf grasses, including a hybrid bluegrass. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 134:511-520.
85. Tenchov B, Koynova R (2012) Cubic phases in membrane lipids. *Eur. Biophys. J.* 41:841–850.
86. Thalhammer A e Hinch DK (2013) The function and evolution of COR / LEA proteins (cold-regulated / abundant in late embryogenesis) (cold-regulated/abundant in late embryogenesis) proteins in closely related in *Arabidopsis thaliana*. Springer NY. 8:89-105.
87. Uemura, M y Steponkus PL (1994) *Plant Physiol.* 104:479-96.
88. van Meer G, Voelker DR, Feigenson GW (2008). Membrane lipids: where they are and how they behave. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 9:112–124.
89. Vance JE (2015) Phospholipid synthesis and transport in mammalian cells. *Traffic*. 16:1.
90. Vítámvás P, Prášil IT, Kosová K, Planchon S, Renaut J (2012) Analysis of proteome and frost tolerance in chromosome 5A and 5B reciprocal substitution lines between two winter wheats during long-term cold acclimation. *Proteomics. Epub.* 12:68-85. doi: 10.1002/pmic.201000779.
91. Vlachonasios KE, Thomashow MF y Triezenberg SJ (2003). A cold-regulated nucleic acid-binding protein from winter wheat shares a domain with bacterial cold shock proteins. *Plant Cell*. 15:626–638.
92. Vu LD, Gevaert K, De Smet I (2019). Feeling the heat: searching for plant thermosensors. *Trends Plant Sci.* 24:210–219.

93. Wahid A, Gelani S, Ahsraf M, Fooland MR (2007) Heat tolerance in plants: an overview. *Environ. Exp. Bot.* 61:199-223.
94. Waterer DNT, Benning G, Wu X, Luo M, Gusta A, McHughen, Gusta LV (2010). Evaluation of abiotic stress tolerance of genetically modified potatoes (*Solanum tuberosum* cv. Desiree). *Mol. Breeding.* 25:527- 540.