



Corpoica. Ciencia y Tecnología

Agropecuaria

ISSN: 0122-8706

revista_corpoica@corpoica.org.co

Corporación Colombiana de Investigación

Agropecuaria

Colombia

Ramírez Gómez, Margarita; Rodríguez Villate, Alia

Señales de reconocimiento entre plantas y hongos formadores de micorrizas
arbusculares

Corpoica. Ciencia y Tecnología Agropecuaria, vol. 11, núm. 1, enero-junio, 2010, pp. 53-

60

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria
Cundinamarca, Colombia

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=449945028007>

- ▶ Cómo citar el artículo
- ▶ Número completo
- ▶ Más información del artículo
- ▶ Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

ARTÍCULO CIENTÍFICO

Recognition Signalling Between Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) and Plants

A B S T R A C T

The arbuscular mycorrhizal association has been instrumental for plant adaptation to terrestrial ecosystems over the last 400 million years. It is known that more than 80% of plant families form this symbiosis. Thus, nutrient exchange and protection from pathogens are thought to be key elements in the symbiosis. For the establishment of the association, harmonic processes for recognition, colonization and nutrients exchange are required both at temporal and space level. Plants react against microorganisms attack by producing defense responses, however, in the case of AM association, plant responses are weak, localized and do not stop colonization by the fungus. Signals are observed along the whole symbiosis process, being the first one produced by the plant through root exudates as a response for P stress. Then, AMF activate genes involved in plant cellular changes required for arbuscule formation, pre-penetration apparatus and at cortex level, the formation of periarbuscular membrane for the bi-directional nutrient exchange. Interestingly, several hypotheses have been formulated to explain the plant defense attenuation. For example, the activation of defense suppressors, the existence of plants with no defence responses to AMF and the existence of plants that suppress their defense response, among others. It is unknown whether the fungi induce low response levels from the host defense system. This document focuses on the signaling recognition between AMF and plants in each symbiosis phase and on the regulation mechanisms of the plant defense responses for the symbiosis establishment.

Keywords: Arbuscular Mycorrhiza Fungi (AMF), Interaction Plant-AMF; Signs of Recognition.

Señales de reconocimiento entre plantas y hongos formadores de micorrizas arbusculares

Margarita Ramírez Gómez¹; Alia Rodríguez Villate²

RESUMEN

La asociación entre Hongo formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) y las plantas ha permitido la adaptación de éstas a ecosistemas terrestres, presentándose en más del 80% de las plantas. El hospedero suministra carbohidratos al hongo y éste transporta los nutrientes que la planta requiere. El establecimiento de la simbiosis requiere procesos armónicos a nivel espacio-temporal, que dependen de señales específicas, para reconocimiento, colonización e intercambio de nutrientes. Las plantas presentan respuestas de defensa frente a la posible invasión de microorganismos, sin embargo, en la simbiosis éstas son débiles, localizadas y no impiden la colonización del hongo. Estas señales se observan en todas las etapas de la simbiosis, siendo la primera señal enviada por la planta en exudados de la raíz, especialmente en condiciones de bajo fósforo. Posteriormente los HFMA activan la expresión de genes que favorecen cambios a nivel celular para la formación del apresorio, del aparato de pre-penetración y en células de la corteza, del arbúsculo y la membrana periarbuscular, para el intercambio de nutrientes. Un aspecto de interés está relacionado con los mecanismos de atenuación de las respuestas de defensa de la planta. Se han planteado diversas hipótesis para entender este fenómeno y aunque el control de la simbiosis está regulado principalmente por la planta, aún se desconoce si los HFMA generan señales que facilitan el debilitamiento de las respuestas de defensa del hospedero. Este documento está orientado a hacer una revisión de las señales de reconocimiento HFMA - plantas para cada fase de la simbiosis, así como de algunos mecanismos de regulación de las respuestas de defensa de la planta para el establecimiento de la simbiosis.

Palabras clave: Hongos Formadores de Micorriza Arbuscular, Interacción planta-HFMA; señales de reconocimiento.

INTRODUCCIÓN

La simbiosis entre los Hongos formadores de micorriza arbuscular (HFMA) y las plantas es una de las asociaciones más antiguas: más de 400 millones de años, y se sugiere que permitió la adaptación de plantas a los ecosistemas terrestres, considerándose la existencia de coevolución HFMA-plantas (Remy *et al.*, 1994; Bonfante

¹ Ramírez Gómez, María Margarita. Ingeniera Agrónoma. MPhil. Microbiología de Suelos. Investigador Máster. Corpóica. Bogotá. mramirezgomez@gmail.com

² Rodríguez Villate, Alia. Ingeniera Agrónoma Ph. D. Universidad Nacional. Facultad de Agronomía. Bogotá. alia.rodiguezvi@unal.edu.co

and Genre, 2008). El intercambio de nutrientes es la base de esta asociación, en donde la planta suministra al hongo carbohidratos para su metabolismo y el hongo facilita los nutrientes que la planta requiere, en ambientes donde la disponibilidad de éstos, especialmente Pi, es restrictiva para el crecimiento vegetal (Genre *et al.*, 2005). La simbiosis favorece la tolerancia de la planta a estrés biótico o abiótico (Smith and Gianinazzi-Pearson, 1988; Smith and Read, 2008), mejora las características físicas de los suelos (Smith and Read, 2008) y favorece la diversificación de especies vegetales en ecosistemas (Smith and Read, 2008; Van der Heijden and Sanders, 2002). Esta asociación está ampliamente distribuida en agroecosistemas y ecosistemas, y más del 80% de especies vegetales pueden asociarse a HFMA (Harley and Smith, 1983). Los HFMA son simbiontes obligados que desarrollan en las células de la corteza de la raíz, el arbúsculo, formando una interfase planta-hongo para el intercambio bidireccional de nutrientes (Gadkar *et al.*, 2001).

Relación HFMA – hospedero

Las plantas presentan respuestas de defensa frente a la posible invasión de microorganismos que impiden o dificultan la entrada de éstos en sus células; sin embargo, aunque en la asociación con HFMA, las plantas generan respuestas de defensa, éstas son débiles, localizadas en células específicas y no impiden la colonización del hongo (García-Garrido and Ocampo, 2002). Lo anterior puede estar asociado a mecanismos de regulación de las respuestas de las plantas o debido a la baja capacidad del hongo de inducir respuestas de la planta (García-Garrido and Ocampo, 2002).

Con el reconocimiento del hongo formador de micorriza arbuscular (HFMA) se activa el sistema de defensa de la planta mediante señales específicas, elicidores, que pueden ser producidos por el microorganismo (exógenos) o por la planta (endógenos). Una vez percibido el elicitor ocurre una serie de cambios bioquímicos que permiten una rápida respuesta de la célula del hospedero y llevan a la activación de genes relacionados con la respuesta de defensa de la planta (Somssich and Hahlbrock, 1998).

La compatibilidad de las plantas con los HFMA depende de señales específicas bioquímicas y genéticas, en todas las fases de desarrollo de la simbiosis, que permiten el reconocimiento, la colonización y el intercambio de nutrientes (Kogel, 2008). La simbiosis HFMA-planta requiere de un reconocimiento y una armonización de procesos en el espacio y en el tiempo bastante complejos, que lleven al establecimiento de la simbiosis (Harrison, 2005; Requena *et al.*, 2007).

Señales de reconocimiento en la fase asimbiótica

La primera señal es dirigida por la planta al hongo por medio de exudados de la raíz, que se producen especialmente en plantas sometidas a estrés por Pi y que no están previamente micorrizadas (Marsh and Shultz, 2001; Akiyama *et al.*, 2005; Akiyama and Hayashi, 2006; Giovanetti *et al.*, 1996; Paszkowski, 2006).

En la fase asimbiótica se presentan señales bioquímicas relacionadas con compuestos volátiles que forman parte de los exudados de las raíces. Uno de ellos es el CO₂, que es fundamental para la germinación de esporas y el crecimiento de la hifa germinativa (Bécard and Piché, 1989). Estudios fisiológicos han mostrado que, aunque la espora tiene capacidad de almacenar carbohidratos en forma de lípidos y azúcares, el CO₂ es una de las fuentes de carbono necesario para el crecimiento de la hifa (Bago *et al.*, 2000).

Sin embargo, éste no es el único compuesto involucrado en esta fase. Los exudados de las raíces contienen diferentes tipos de compuestos y hormonas que favorecen la germinación de esporas, el crecimiento y ramificación de la hifa germinativa y la localización de las raíces del hospedero (Akiyama *et al.*, 2005; Hause *et al.*, 2007; Requena *et al.*, 2007). Antes de que la hifa agote sus reservas debe ser capaz de localizar las raíces e iniciar la formación del apresorio (Bécard and Piché, 1989), ya que aunque los exudados de las raíces estimulan el crecimiento de hifas, no pueden mantener en forma indefinida su crecimiento, ni inducen la formación del apresorio. Por lo anterior se plantea la existencia de señales tigmotróficas o metabolitos secundarios producidos por la planta, requeridos para el establecimiento de la simbiosis (Requena *et al.*, 2007). Aunque la colonización de las raíces es controlada por la planta (Bonfante *et al.*, 2000), el hongo debe ajustar su programa celular, lo cual se ha evidenciado con la identificación del gen GmGn1, posiblemente relacionado con señales de reconocimiento, el cual es sub-regulado bajo simbiosis (Requena *et al.*, 2002). Este gen tiene similaridad con GTPasas, que controlan apoptosis, sugiriendo que puede detener el crecimiento del hongo cuando no se encuentra un hospedero compatible o puede detectar la ausencia de señales de la planta, induciendo septación de la hifa germinativa (Requena *et al.*, 2002). La comunicación planta-hongo no sólo modifica la expresión de genes del hongo, sino que es capaz de inducir modificación transcripcional de proteínas del hongo (Requena *et al.*, 2007).

Otros compuestos de los exudados de las raíces, los flavonoides, favorecen ramificación de hifas (Vierheilig and Piché, 2002); sin embargo, raíces de maíz deficientes en producción de flavonoides, son colonizadas por HFMA,

mostrando que los flavonoides no son esenciales para este proceso (Siqueira *et al.*, 1991). Uno de los compuestos de los exudados de las raíces, denominado "factor de ramificación", que induce una amplia ramificación de hifas, fue identificado en *Lotus japonicus* como una strigolactona, la cual ha demostrado ser una señal de fundamental importancia en el desarrollo de la simbiosis (Akiyama *et al.*, 2005).

Las strigolactonas han sido aisladas de raíces de un gran número de plantas, a pesar de los bajos niveles en que se encuentran y de la inestabilidad del compuesto, encontrándose mayor concentración en plantas capaces de establecer simbiosis y en concentraciones bajas de Pi (Akiyama and Hayashi, 2006). La primera respuesta de HFMA es la inducción de una fuerte actividad mitocondrial y el incremento en respiración, antes de iniciar una fuerte ramificación de hifas (Akiyama and Hayashi, 2006). Las strigolactonas también parecen actuar como atrayentes químicos, con efectos quimiotróficos a distancias cercanas a 910 μ m (Akiyama and Hayashi, 2006). Aparentemente, el estímulo producido por la strigolactona en el hongo es necesario para que el hongo produzca los factores Myc y active la expresión de genes *ENDO11* (Kosuta *et al.*, 2003; Akiyama and Hayashi, 2006).

Hause y colaboradores (2007) presentan un resumen acerca del efecto de las hormonas en la micorrización de raíces, encontrándose que citoquininas y auxinas tienen un efecto positivo en el crecimiento del hongo, las giberelinas presentan respuestas tanto positivas como negativas en el hongo formador de MA, el ácido jasmónico muestra respuestas positivas cuando se encuentra en bajas concentraciones y negativas cuando las concentraciones son altas, el etileno presenta respuestas negativas y el ácido salicílico (AS) no afecta la micorrización.

Señales de reconocimiento en la Fase Simbiótica

La activación de expresión de genes *Endo* en el hospedero, producida por HFMA, permite a la planta localizar las células en las cuales las hifas del hongo hacen contacto para la formación del apresorio (Kosuta *et al.*, 2003). Esta señal, acompañada de factores Myc, activa una serie de cambios celulares que llevan a formar un aparato de pre-penetración (APP), especie de canal por donde la hifa fúngica posteriormente va a ingresar a la célula (Genre *et al.*, 2005). El proceso inicia con la localización del núcleo inmediatamente debajo del apresorio y su posterior movimiento a través de la célula, señalando la zona en la cual se debe formar el APP dentro de una columna de citoplasma, acompañada de un manojo de microtúbulos y microfilamentos que se localizan paralelos a la columna y asociado con una región densa de cisterna del retículo

endoplasmático. Una vez penetra en la célula, la hifa sigue el camino definido por el citoesqueleto y las estructuras del retículo endoplasmático al interior de la columna. Paralelamente, se produce la expresión de genes *Endo* en las células epidermales (Genre *et al.*, 2005).

Esta señal es repetida en las células de la epidermis marcando el camino de colonización de las hifas. Una vez que el hongo alcanza las células corticales se producen señales específicas para la formación del arbúsculo. En este punto la reorganización celular es más drástica para permitir la ramificación de la hifa que genera el arbúsculo y para la formación de la membrana peri-arbuscular, lugar de intercambio de nutrientes entre la planta y el hongo. Se observa fragmentación de la vacuola, migración del núcleo, reorganización del citoesqueleto, modificación de plastidios y activación de genes relacionados con el transporte de Pi (Genre *et al.*, 2005; Reinhardt, 2007). Una vez que el arbúsculo finaliza su ciclo, la célula recupera su estructura original (Genre *et al.*, 2005). Los cambios morfológicos están acompañados de cambios bioquímicos, expresión de genes que permiten la reorganización celular, la formación de membranas, el intercambio de nutrientes (Breuninger and Requena, 2004) y la producción de proteínas (Mathesius, 2009).

Para que los cambios a nivel de célula ocurran se requiere de la activación de genes mediante una cascada de señales; este proceso es similar al que ocurre en la simbiosis leguminosas-rizobio, por lo que se le ha llamado vía común Sym (Catoira *et al.*, 2000; Parniske, 2000). Esta similaridad se observa a nivel molecular, citológico y genético (Gianinazzi-Pearson and Dénarié, 1997; Parniske, 2000). Se ha encontrado que los factores Nod requeridos en la simbiosis leguminosa-rizobios también son requeridos en la asociación planta-HFMA (Oldroyd and Downie, 2006). En *Medicago trunculata* se han encontrado tres (3) genes (Catoira *et al.*, 2000) y en *L. japonicum*, siete (7) genes, involucrados en esta vía Sym y presentes en las dos simbiosis (Kistner *et al.*, 2005).

Oldroyd y Downie (2006), con base en la revisión de este proceso, proponen un modelo para la vía de señalización Sym, con la participación de receptores de quinasas específicos para rizobios (NFR1 y NFR5) asociados a la percepción de los factores Nod (en HFMA deben existir receptores similares para factores Myc, pero aún no se han identificado) y receptores DMI2/SYMRK que participan en las dos simbiosis. Una vez que se produce el reconocimiento de factores Nod (y posiblemente Myc) se genera una cascada de fosforilación en la membrana plasmática, posiblemente ligada a los cambios que sufre el calcio a nivel nuclear, con la participación de segundos mensajeros (productos de fosfolipasas C y D – PLC y

PLD), los cuales, además de regular la fosforilación, activan los canales de cationes DMI1/Pollux y Castor. Para la percepción de los factores Nod en la membrana plasmática se requiere la inducción de oscilaciones de Ca en el núcleo y la participación de un nucleoporin (NUP133) que permite la entrada del segundo mensajero al núcleo, para activar los canales de Ca en el interior y en el exterior de la membrana nuclear. Las bombas de Ca requieren ATP para su movilización en contra del gradiente de concentración y para mantener un nivel adecuado del elemento almacenado. Lo anterior genera la activación de proteína quinasa, dependiente de Ca y calmodulin (CCaMK), localizada en el núcleo, para regular la nodulación por medio de la activación de la expresión de genes nodulin. Genes de simbiosis temprana DMI3, codifican para la CCaMK, importante en la simbiosis, ya que regula la morfogénesis del nódulo y es requerida para la simbiosis con HFMA, posiblemente para activar la respuesta de la planta (Oldroyd and Downie, 2006). En la asociación con HFMA se activan genes que permiten la reorganización de las células del hospedero para la formación del APP y metabolismo (Reinhardt, 2007).

Expresión de genes

La similitud en los procesos de infección en las dos simbiosis, ha permitido conocer en forma más detallada, con el uso de plantas mutantes, los procesos de desarrollo de estas asociaciones (Marsh and Schultze, 2001). En etapas tempranas de la colonización se ha detectado que plantas con mutaciones (Myc⁻) en cuatro locus (SYM8, SYM9, SYM19 y SYM30) impiden la penetración de HFMA, debido al bloqueo en la formación de apresorio y en rizobios, de hilos de infección (Gianinazzi-Pearson *et al.*, 1991).

Por otra parte, mutaciones en los locus DMI1, DMI2 y DMI3, asociados con procesos de infección en ambas simbiosis, impiden la formación de genes nodulin y afectan la producción de factores Nod que inducen a la ramificación de pelos radicales (Catoira *et al.*, 2000). En *L. japonicum*, mutaciones en SYM2, SYM3 y SYM4 afectan la interacción temprana planta-HFMA y se considera que SYM4 participa en la acomodación del micro-simbionte en las células de la planta (Bonfante *et al.*, 2000). En mutantes de arveja, Myc⁻, la respuesta de defensa de la planta lleva a la formación de depósitos de materiales en la pared de las células que contienen hifas o arbúsculos (Gianinazzi-Pearson *et al.*, 1996), mientras que en un mutante Myc⁻ (SYM 30), se observa un incremento en el nivel de ácido salicílico (AS) endógeno, sugiriendo que los mecanismos de defensa asociados con barreras físicas y expresión de genes PR, pueden estar mediados por acumulación de AS y ser responsables de la incompatibilidad de mutantes (Nod-/Myc⁻) con los micro-simbiontes (Blilou *et al.*, 2000a).

Una sola mutación en genes *Sym* puede producir incompatibilidad y resistencia de la planta, ya que algunos de los genes necesarios para el establecimiento de la simbiosis están relacionados con la percepción de factores Nod en rizobios (Albrecht *et al.*, 1998; Catoira *et al.*, 2000); dada la similitud de las dos simbiosis, se sugiere que en HFMA pueden existir factores similares (Myc) que disparan el programa simbiótico (aun sin identificar) (Albrecht *et al.*, 1998, 1999; Catoira *et al.*, 2000; Vierheilig and Piché, 2002). Adicionalmente, los factores Nod están involucrados en la inhibición de la respuesta de defensa mediada por el AS, en alfalfa (Martínez-Abarca *et al.*, 1998). Otro aspecto es la participación de los productos de los genes *Sym* en la vía de señales de transducción (Catoira *et al.*, 2000). La mutación genera disrupción en algunos de los pasos en la cascada de señales, que impide la recepción, por parte de la planta, de la señal de simbiosis y genera respuestas de defensa. Los genes *Sym* pueden estar relacionados con la restricción de la respuesta de defensa de la planta inducida por el simbionte mediante dos posibles mecanismos: producción de un regulador negativo de la respuesta de defensa o la inducción de supresores específicos de la respuesta (Gianinazzi-Pearson, 1996).

Respuestas de la planta

Respuestas de defensa

La existencia de plantas no hospederas es una de las evidencias de que los HFMA pueden generar respuestas de defensa en las plantas y el uso de mutantes Myc⁻ ha permitido observar la acumulación de calosa, producción de proteína PR1 y fenoles, como respuesta a los HFMA. En estados tempranos, una vez se percibe el elicitor del hongo, se presentan señales de transducción y activación de genes de defensa (García-Garrido and Ocampo, 2002). *Glomus intraradices* produce un elicitor capaz de generar síntesis de fitoalexinas en soya y *Medicago truncatula* inmediatamente después del primer contacto con el HFMA (Bonanomi *et al.*, 2001). En *M. truncatula* se han reportado respuestas hipersensibles en células de ingreso de la hifa (Salzer *et al.*, 1999) y necrosis y muerte celular en puntos de infección de *Gigaspora margarita* (Douds *et al.*, 1998).

En etapas de formación de apresorio y penetración de hifas se observan otro tipo de respuestas de defensa, como son el incremento de la actividad de catalasas y peroxidases en tabaco (Blilou *et al.*, 2000a), cebolla y frijol (Spanu and Bonfante-Fasolo, 1988), las cuales pueden estar acompañadas de acumulación de AS y expresión de genes que codifican para proteínas de transferencia de lípidos (LPT) y fenilalanina amonio lipasa (PAL), como ocurre en tabaco y arroz, mostrando que la inducción de estos genes

(*Pal* y *Ltp*) está relacionada con respuestas de defensa de la planta (Blilou *et al.*, 2000b). Plantas de tomate micorrizadas muestran alteraciones en patrones de isoenzimas y cambios bioquímicos de enzimas relacionadas con mecanismos de defensa, quitinasa, quitosanasas y β -1,3 glucanasas (Pozo *et al.*, 1996, 1998).

La respuesta más fuerte se presenta en las etapas posteriores, la cual está localizada en las células que contienen arbúsculos, posiblemente como un mecanismo de control de la dispersión de hifas y formación de arbúsculos (García-Garrido and Ocampo 2002). Se encuentra una acumulación de mRNA de genes asociados con respuestas de defensa, dentro de los cuales es importante resaltar: las enzimas relacionadas con metabolismo de fenilpropanoides (flavonoides e isoflavonoides) (Harrison and Dixon, 1994); especies reactivas al oxígeno (ROS) (Blee and Anderson, 2000) e hidrolasas de plantas (Lambais and Mehdy, 1998; Salzer *et al.* 2000). Los incrementos en flavonoides e isoflavonoides dependen de los genotipos de los simbiontes (Harrison and Dixon, 1994), y en la asociación con rizobios estimulan la simbiosis, por lo que se considera que con HFMA puede ocurrir un proceso similar (Harrison, 1999).

Un aspecto importante es la presencia de transcriptores de catalasas y peroxidases en células con arbúsculos (Blee and Anderson, 2000), las cuales pueden estar asociadas al catabolismo del peróxido de hidrógeno o en reacciones cruzadas de proteínas-polisacáridos en la interfase arbúsculo-membrana plasmática. Se considera que la expresión de enzimas quitinasas y β -1,3-glucanasa durante la simbiosis, puede estar asociada con el control del crecimiento intrarradical del hongo (Lambais and Mehdy, 1998; Blee and Anderson, 1996; Salzer *et al.*, 2000), observándose que la acumulación de β -1,3-glucanasa, pero no de quitinasas, está inversamente relacionada con la concentración de Pi (Lambais and Mehdy, 1998).

La actividad enzimática y los patrones de acumulación de enzimas pueden formar parte de las respuestas de defensa de la planta. La inducción específica de genes de la familia quitinasa clase III en *M. truncatula* juega un papel en la supresión de respuestas de defensa de la planta en los estados tardíos de la simbiosis (Salzer *et al.*, 2000). Finalmente, en fases tardías de la simbiosis se encuentran genes relacionados con senescencia y estrés como glutathione-S-transferase (Prp1), que pueden estar relacionados con degradación del arbúsculo (Franken *et al.*, 2000).

Atenuación de los mecanismos de defensa

Para que la asociación planta-HFMA pueda establecerse se requiere una reducción de la respuesta de defensa de la

planta. Dentro de los posibles mecanismos, considerados en la revisión realizada por García-Garrido y Ocampo (2002), se encuentran: la degradación de elicidores exógenos y/o prevención de elicidores endógenos; alteración de la vía de señales de transducción, y flujos de nutrientes y de hormonas.

1. Degradación de las moléculas elicitoras: algunas hidrolasas se expresan durante la simbiosis y pueden actuar rompiendo las moléculas de los elicidores del HFMA, (Salzer *et al.*, 2000). Estas hidrolasas deben ser producidas por la planta y estar reguladas por los niveles de Pi, ya que la primera señal de reconocimiento hongo-planta se produce en condiciones de deficiencia de Pi (Giovanetti, *et al.*, 1996; Akiyama *et al.*, 2005). Este factor no ha sido identificado y por tanto la participación de quitinasas en la degradación del elicitor es objeto de controversia (Salzer *et al.*, 2000; Salzer and Boller, 2000). La prevención de la formación de elicidores endógenos no parece ser el mecanismo de atenuación, debido a que los HFMA producen cantidades muy bajas de enzimas capaces de degradar la pared celular del hospedero, las cuales son utilizadas para la penetración de la hifa (García-Garrido *et al.*, 2000).

2. Alteración de la vía de señales de transducción mediante el bloqueo de alguno de los componentes, como el AS o ROS, implicados como segundos mensajeros en la simbiosis con HFMA. La producción de compuestos oxidativos en la colonización se refleja en alteraciones en los patrones de enzimas antioxidantes como catalasa y peroxidasa (Blilou *et al.*, 2000a; Lambais, 2000). La degradación de peróxido de hidrógeno por catalasas puede, potencialmente, ser un mecanismo para evadir la activación de genes de respuesta de defensa de las plantas; esta actividad está regulada por la capacidad de colonización del HFMA y por las concentraciones de Pi (Lambais, 2000). En el tabaco se ha observado que los incrementos transitorios en las actividades de catalasas y peroxidases se correlacionan con incrementos temporales de AS (Blilou *et al.*, 2000a). Aunque no se conoce claramente el papel del AS en la simbiosis, los incrementos en la concentración no impiden la formación de apresorio, pero producen una reducción transitoria de la micorrización de raíces, sugiriendo que la regulación de respuestas de defensas de la planta puede darse a través de la vía del AS (Blilou *et al.*, 2000b). Plantas de tabaco incapaces de acumular AS (NahG) presentaron mayor micorrización que plantas silvestres, y mutantes Nod⁺ y Myc⁺ de arveja, mostraron acumulación de AS a través del tiempo (Blilou *et al.*, 2000b).

3. Flujos de nutrientes y hormonas. Los niveles de fosfatos y carbohidratos en la planta están, respectiva-

mente, negativa y positivamente relacionados con la colonización de HFMA (Jasper *et al.*, 1979). Aunque el mecanismo preciso y las bases moleculares relacionadas con la posible inhibición de colonización en altos niveles de Pi se desconocen, es posible que exista un mecanismo de señalización que detecte los niveles de Pi, de forma tal que en plantas con altos niveles de fosfato se presente una sobreregulación de los genes asociados con la defensa de la planta (Lambais and Mehdy, 1998; Lambais, 2000). Por otra parte, las células con arbúsculos son los mayores vertederos de sucrosa, debido a las necesidades metabólicas de estas células y a los requerimientos del hongo. En estas células se presenta correlación positiva de los incrementos en flujos de sucrosa, glucosa y fructosa con aumentos en la activación de genes de defensa (Blee and Anderson, 2000) y con resistencia sistémica (Herbers *et al.*, 1996).

Los niveles de hormonas varían diferencialmente en la simbiosis, observándose reducción en los niveles de etileno (Vierheilig *et al.*, 1994) e incremento en los de citoquininas (Ginzberg *et al.*, 1998). Las citoquininas actúan como factores que suprimen la actividad quitinasa (Shinshi *et al.*, 1987) y los niveles elevados de citoquininas en raíces micorrizadas pueden suprimir la inducción de algunos genes que codifican proteínas PR, específicamente de quitinasa y glucanasa. Sin embargo, el papel de las hormonas en la regulación de las respuestas de defensa, en simbiosis, no es muy claro (Shaul *et al.*, 2000).

La respuesta de la planta se refleja en el tipo de colonización de las células de la corteza radical, encontrándose dos tipos de estructuras: hifas tipo "Paris" e hifas tipo "Arum" (Genre *et al.*, 2008). Por su parte, los HFMA también presentan diferentes patrones de crecimiento intrarradical, encontrándose que *Glomus* coloniza abundantemente las raíces y ubica su micelio extrarradical muy cerca de la raíz, mientras que *Gigaspora* o *Scutelospora* presentan pequeños parches de colonización en las raíces y su micelio extrarradical se expande ampliamente en la rizósfera (Dodd *et al.*, 2000; Parniske, 2004, 2008).

La reprogramación de la planta para lograr la compatibilidad con el HFMA, que sigue después de las señales de reconocimiento, probablemente explica la supresión de las defensas de las plantas, indicando que es la comunicación planta – hongo lo que prima en este tipo de interacción (Oldroyd *et al.*, 2009).

El control de la simbiosis está regulado por la planta, prácticamente en todas las fases de desarrollo. Es la planta la que genera la primera señal de reconocimiento y permite la entrada de HFMA a sus células, generando respuestas de defensa a niveles suficientemente bajos para no impedir el ingreso del hongo. Sin embargo, aún

se desconoce si HFMA generan señales que facilitan el debilitamiento de las respuestas de defensa de la planta.

CONCLUSIONES

El reconocimiento planta-HFMA es un proceso complejo en el que las señales emitidas y percibidas por cada uno de los simbiontes, en cada etapa, marcan el progreso y el éxito en el establecimiento de la simbiosis. Tanto para la planta como para los HFMA, el reconocimiento, establecimiento y funcionamiento de la simbiosis es fundamental para su crecimiento y desarrollo. Para la planta, el asociarse con HFMA le aporta una serie de ventajas que la llevan a iniciar la comunicación con el hongo. La planta prepara las células de la epidermis y de la corteza de la raíz para recibir al simbionte, sin que se afecte la célula. Sin embargo, la planta puede regular sus mecanismos de defensa y localizarlos a nivel celular para controlar la colonización y formación de arbúsculos de acuerdo con sus necesidades, de tal forma que aparentemente es la planta quien controla la simbiosis. El hongo, por su parte, no puede completar su ciclo de vida sin el hospedero. Desde este punto de vista, debe garantizar la asociación con la planta. Es posible, por tanto, que el hongo emita señales para debilitar las defensas de la planta, aunque hasta el momento no se ha podido evidenciar la existencia de este mecanismo.

Si bien el reconocimiento planta-hongo es el primer paso en el establecimiento de la simbiosis, el aseguramiento de la asociación debe superar las barreras de las respuestas de defensa de la planta, frente a una potencial invasión de un microorganismo. Las plantas producen respuestas de defensa de distinta intensidad, encontrándose que plantas no hospederas, o bien no son capaces de percibir las señales del HFMA o bien impiden por completo la interacción, mientras que otras plantas producen respuestas de mediana o baja intensidad, las cuales bajo simbiosis pueden atenuarse y localizarse específicamente en algunas células. Adicionalmente se plantea la posibilidad de la existencia de mecanismos que puedan inhibir los elicidores del HFMA para facilitar el establecimiento de la simbiosis.

En el estudio de las señales de reconocimiento y de respuestas de defensa de la planta en la simbiosis con HFMA, ha sido de gran ayuda la comparación con otras interacciones planta-microorganismo, como en el caso de la simbiosis leguminosa-rizobios, y de algunos hongos y nemátodos patógenos. Como en otras interacciones, los procesos de respuesta de la planta a HFMA están regulados tanto en el espacio como en el tiempo. Sin embargo, aún no están completamente claros los mecanismos de defensa activados bajo la simbiosis, y si la alteración de expresión de genes de defensa tiene un papel particular o funcional en el establecimiento de la simbiosis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akiyama, K.; Matsuzaki, K. and Hayashi, H. (2005). *Plant Sesquiterpenes Induce Hyphal Branching in Arbuscular Mycorrhizal Fungi*. *Nature* 435: 824-827.
- Akiyama, K. and Hayashi, H. (2006). *Strigolactones: Chemical Signals for Fungal Symbionts and Parasitic Weeds in Plant Roots*. *Annals of Botany*: doi:10.1093/aob/mcl063, available online at www.aob.oxfordjournals.org
- Albrecht, C.; Geurts, R.; Lapeyrière, F. and Bisseling, T. (1998). *Endomycorrhizae and Rhizobial Nod Factors Both Requi-re SYM8 to Induce the Expression of the Early Nodulin Genes PsENOD5 and PsENOD12A*. *Plant Journal* 15: 605-614.
- Albrecht, C.; Geurts, R. and Bisseling, T. (1999). *Legume Nodulation and Mycorrhizae Formation: Two Extremes in Host Specificity Meet*. *Embo J.* 18: 281-288.
- Bago, B.; Pfeffer, E. and Shachar-Hill, Y. (2000). *Carbon Metabolism and Transport in Arbuscular Mycorrhizas*. *Plant Physiology*. 124: 949-958.
- Bécard, G. and Piché, Y. (1989). *Fungal Growth Stimulation by CO₂ and Root Exudates in Vesicular-arbuscular Mycorrhizal Symbiosis*. *Appl Environ Microbiol* 55: 2320-2325.
- Blee, K.A.; Anderson, A.J. (1996). *Defense-related Transcript Accumulation in Phaseolus vulgaris L. Colonized by the Arbuscular Mycorrhizal Fungus Glomus Intraradices*, Schenck & Smith. *Plant Physiology*. 110: 675-688.
- Blee, K.A.; Anderson, A.J. (2000). *Defense Responses in Plants to Arbuscular Mycorrhizal Fungi*. In: Podila, G.K.; Douds, D., eds. *Current advances in mycorrhizae research*. Minnesota, USA: The Am. Phytopathol. Soc, 27-44.
- Blilou, I.; Ocampo, J.; García-Garrido, J. (2000a). *Induction of Catalase and Ascorbate Peroxidase Activities in Tobacco Roots Inoculated with Arbuscular Mycorrhizal Glomus Mosseae*. *Mycol. Res.* 104: 722-725.
- Blilou, I.; Ocampo, J.; García-Garrido, J. (2000b). *Induction of Ltp (Lipid Transfer Protein) and Pal (Phenylalanine Ammonialyase) Gene Expression in Rice Roots Colonized by the Arbuscular Mycorrhizal Fungus Glomus Mosseae*. *J. Exp. Bot.* 51: 1969-1977.
- Bonanomi, A.; Oetiker, J.H.; Guggenheim, R.; Boller, T.; Wiemken, A.; Vögeli-Lange, R. (2001). *Arbuscular Mycorrhizas in Mimi-mycorrhizotrons: First Contact of Medicago truncatula Roots with Glomus Intraradices Induces Chalcone Synthase*. *New Phytologist* 150: 573-582.
- Bonfante, P.; Genre, A.; Faccio, A.; Martini, I.; Schausler, L.; Stougaard, J.; Webb, J.; and Parniske, M. (2000). *The Lotus japonicus LjSym4 Gene is Required for the Successful Symbiotic Infection of Root Epidermal Cells*. *Mol. Plant Microbe Interact.* 13: 1109-1120.
- Bonfante, P. and Genre, A. (2008). *Plants and Arbuscular Mycorrhizal Fungi: an Evolutionary-developmental Perspective*. *Trends in Plant Science* 13: 9.
- Breuninger, M. and Requena, N. (2004). *Recognition Events in AM Symbiosis: Analysis of Fungal Gene Expression at the Early Appressorium Stage*. *Fungal Genetics and Biology*. 41: 794-80.
- Catoira, R.; Galera, C.; Billy, F.; Pennetisa, R.V.; Journet, E.; Maillet, F.; Rosenberg, C.; Cook, D.; Gough, C.; Denarie, J. (2000). *Four Genes of Medicago truncatula Controlling Components of a Nod Factor Transduction Pathway*. *Plant Cell*. 12:1647-65.
- Dodd, J.C.; Boddington, C.; Rodríguez, A.; González-Chávez, C. and Mansur, I. (2000) *Mycelium of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) From Different Genera: Form, Function and Detection*. *Plant and Soil*. 226 (2): 131-151.
- Douds, D.D.; Galvez, L.; Bécard, G.; Kapulnik, Y. (1998). *Regulation of Arbuscular Mycorrhizal Development by Plant Host and Fungus Species in Alfalfa*. *New Phytologist*. 138: 27-35.
- Franken, P.; Requena, N.; Bütehorn, B.; Krajinski, F.; Kuhn, G.; Laponin, L.; Mann, P.; Rhody, D.; Stommel, M. (2000). *Molecular Analysis of the Arbuscular Mycorrhizas Symbiosis*. *Archives of Agronomy and Soil Science*. 45: 271-286.
- Gadkar, V.; Schwartz, R.; Kunik, T. and Kapulnik, Y. (2001). *Arbuscular Mycorrhizal Fungal Colonization. Factors Involved in Host Recognition*. *Plant Physiology*. 127: 1493-1499.
- García-Garrido, J.M. and Ocampo, J.A. (2002). *Regulation of the Plant Defense Response in Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis*. *Journal of Experimental Botany*. 53 (373): 1377-1386.
- García-Garrido, J.M.; Tribak, M.; Rejón-Palomares, A.; Ocampo, J.A.; García-Romero, I. (2000). *Hydrolitic Enzymes and Ability of Arbuscular Mycorrhizal Fungi to Colonize Roots*. *J. of Experimental Botany*. 51: 1443-1448.
- Genre, A.; Chabaud, M.; Timmers, T.; Bonfante, P. and Barker, D. (2005). *Arbuscular Mycorrhizal Fungi Elicit a Novel Intracellular Apparatus in M. truncatula Root Epidermal Cells before Infection*. *Plant Cell*. 17: 3489-3499.
- Genre, A.; Chabaud, M.; Faccio, A.; Barker, D. and Bonfante, P. (2008). *Prepenetration Apparatus Assembly Precedes and Predicts the Colonization Patterns of Arbuscular Mycorrhizal Fungi within the Root Cortex of Both *Medicago truncatula* and *Daucus carota**. *The Plant Cell*. 20:1407-1420.
- Gianinazzi-Pearson, V.; Gianinazzi, S.; Guillemin, J.P.; Trouvelot, A.; Duc, G. (1991). *Genetic and Cellular Analysis of Resistance to Vesicular Arbuscular (VA) Mycorrhizal Fungi in Pea Mutants*. In: Hennecke, H.; Verma, D.P.S. eds. *Advances in Molecular Genetics of Plant-microbe Interactions*. Dordrecht, Kluwer Acad. Publishers, 336-342.
- Gianinazzi-Pearson, V. (1996). *Plant Cell Responses to Arbuscular Mycorrhizal Fungi: Getting to the Root of the Symbiosis*. *Plant Cell*. 8: 1871-1883.
- Gianinazzi-Pearson, V. and Dénarié, J. (1997). *Red Carpet Genetic Programmes for Root Endosymbiosis*. *Trends Plant Sci*. 2: 371-372.
- Ginzberg, I.; David, R.; Shaul, O.; Elad, Y.; Wninger, S.; Ben-Dor, B.; Badani, H.; Fang, Y.; van Rhijn, P.; Li, Y.; Hirsch, A.; Kapulnik, Y. (1998). *Glomus Intraradices Colonization Regulates Gene Expression in Tobacco Roots. Symbiosis*. 25: 145 p.
- Giovanetti, M.; Sbrana, C.; Citernesi, A.S.; Avio, L. (1996). *Analysis of Factors Involved in Fungal Recognition Responses to Host Derived Signals by Arbuscular Mycorrhizal Fungi*. *New Phytol*. 133: 65-71.
- Guenoune, D.; Galili, S.; Phillips, D.; Volpin, H.; Chet, I.; Okon, Y.; Kapulnik, Y. (2001). *The Defense Response Elicited by the Pathogen Rhizoctonia Solani is Suppressed by Colonization of the AM-fungus G. Intraradices*. *Plant Sci*. 160: 925-932.
- Harley, J.L. and Smith, S.E. (1983). *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press, London
- Harrison M and Dixon R, 1994. Spation Patterns of Expression of Flavonoid/isoflavonoid Pathway Genes During Interactions Between Roots of *Medicago truncatula* and the Mycorrhizal Fungus *G.versiforme*. *Plant J*. 6: 9-20.
- Harrison, M.J. (2005). *Signaling in the Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis*. *Annu Rev Microbiol*, 59: 19-42.
- Harrison, M. (1999). *Molecular and Cellular Aspects of the Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis*. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50:361-389.
- Hause, B.; Mrosk, C.; Isayenkov, S. and Dieter, S. (2007). *Jasmonates in Arbuscular Mycorrhizal Interactions*. *Phytochem*. 68: 101-110.
- Herbers, K.; Meuwly, P.; Frommer, W.B.; Metraux, J.P.; Sonnewald, U. (1996). *Systemic Acquired Resistance Mediated by the Ectopic Expression of Invertase, Possible Hexose Sensing in the Secretory Pathway*. *The Plant Cell*. 8: S.P.
- Jasper, D.A.; Robson, A.D.; Abbott, L.K. (1979). *Phosphorus and the Formation of Vesicular-arbuscular Mycorrhizas*. *Soil Biology and Biochemistry*. 11: 501-505.

- Kistner, C.; Winzer, T.; Pitzschke, A.; Mulder, L.; Sato, S.; Kaneko, T.; Tabata, S.; Sandal, N.; Stougaard, J.; Webb, K.J. (2005). *Seven Lotus japonicus Genes Required for Transcriptional Reprogramming of the Root During Fungal and Bacterial Symbiosis*. *Plant Cell*. 17: 2217.
- Kogel, K.H. (2008). *Compatible Host–microbe Interactions: Mechanistic Studies Enabling Future Agronomical Solutions*. *Journal of Plant Physiology*. 165: 1-8.
- Kosuta, S.; Chabaud, M.; Lougnon, G.; Gough, C.; Dénarié, J.; Barker, D. and Bécard, G. (2003). *A Diffusible Factor from Arbuscular Mycorrhizal Fungi Induces Symbiosis-Specific MtENOD11 Expression in Roots of Medicago truncatula*. *Plant Physiol*, 131: 952-962.
- Lambais, M.R.; Mehdy, M.C. (1998). *Spatial Distribution of Chitinases and β -1,3-Glucanase Transcripts in Bean Arbuscular Mycorrhizal Roots Under Low and High Soil Phosphate Conditions*. *New Phytologist*. 140: 33-42.
- Marsh, J. and Shultz, M. (2001). *Analysis of Arbuscular Mycorrhizas Using Symbiosis-Defective Plant Mutants*. *New Phytol*. 150: 525-532.
- Martínez-Abarca, F.; Herrera-Cervera, J.; Bueno, P.; Sanjuan, J.; Bisseling, T.; Olivares, J. (1998). *Involvement of Salicylic Acid in the Establishment of the *R. meliloti*-Alfalfa Symbiosis*. *Molecular Plant – Microbe Interaction*. 11: 153-155.
- Mathesius, U. (2009). *Comparative Proteomic Studies of Root–microbe Interactions*. *Ulrike J. Proteomics*. 72: 353-366.
- Oldroyd, G. and Downie, J.A. (2006). *Nuclear Calcium Changes at the Core of Symbiosis Signaling*. *Current Opinion in Plant Biology*. 9: 351-357.
- Oldroyd, G.; Harrison, M.; Paszkowski, U. (2009). *Reprogramming Plant Cells for Endosymbiosis*. *Science*. 324: 753-754.
- Paszkowski, U. (2006). *Mutualism and Parasitism: the Yin and Yang of Plant Symbioses*. *Curr Opinion in Plant Biol*. 2006: 9: 364-37.
- Parniske, M. (2000). *Intracellular Accommodation of Microbes by Plants: A Common Developmental Program for Symbiosis and Disease?* *Curr. Opin. Plant Biol*. 3: 320-328.
- Parniske, M. (2004). *Molecular Genetics of the Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis*. *Curr Opinion Plant Biol*. 7: 414- 421.
- Parniske, M. (2008). *Arbuscular Mycorrhiza: the Mother of Plant Root Endosymbioses*. *Nat Rev. Microbiol*. 6: 10 – 763.
- Pozo, M.J.; Dumas-Gaudot, E.; Slezack, S.; Cordier, C.; Asselin, A.; Gianinazzi, S.; Gianinazzi-Pearson, V.; Azcón-Aguilar, C.; Barea, J.M. (1996). *Detection of New Chitinase Isoforms in Arbuscular Mycorrhizal Tomato Roots: Possible Implications in Protection Against Phytophthora nicotianae var. parasitica*. *Agronomie* 16: 689-697.
- Pozo, M.J.; Dumas-Gaudot, E.; Azcón-Aguilar, C.; Barea, J.M. (1998). *Chitosanase and Chitinase Activities in Tomato Roots During Interactions with Arbuscular Mycorrhizal Fungi or Phytophthora parasitica*. *J. Exp Bot*. 49: 1729-1739.
- Reinhardt, D. (2007). *Programming Good Relations-development of the Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis*. *Current Opinion in Plant Biology*. 10: 98-105.
- Remy, W.; Taylor, T.N.; Hass, H.; Kerp, H. (1994). *Four Hundred million Year Old Vesicular Arbuscular Mycorrhizae*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 91: 11841-11843.
- Requena, N.; Serrano, E.; Oco'n, A.; Breuninger, M. (2007). *Plant Signals and Fungal Perception During Arbuscular Mycorrhizae Establishment*. *Phytochemistry*. 68: 33-40.
- Requena, N.; Mann, P.; Hampp, R.; Franken, P. (2002). *Early Developmentally Regulated Genes in the Arbuscular Mycorrhizal Fungus Glomus Mosseae: Identification of GmGin1 a Novel Gene with Homology to the C-terminus of Metazoan Hedgehog Proteins*. *Plant Soil* 244: 129–139.
- Salzer, P.; Corbière, H.; Boller, T. (1999). *Hydrogen Peroxide Accumulation in *Medicago Truncatula* Roots Colonized by the Arbuscular Mycorrhiza-forming Fungus *Glomus Mosseae**. *Planta* 208: 319–325.
- Salzer, P.; Boller, T. (2000). *Elicitor Induced Reactions in Mycorrhizae and their Suppression*. In: Podila, G.K.; Douds, D.D. eds. *Current Advances in Mycorrhizae Research*. APS Press, St. Paul, pp. 1-10.
- Shaul, O.; David, R.; Sinvani, G.; Ginzberg, I.; Ganon, D.; Wininger, S.; Ben-Dor, B.; Badani, H.; Ovdat, N.; Kapulnik, Y. (2000). *Plant Defense Responses During Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis*. In: Podila, G.K.; Douds, D.D. eds, *Current Advances in Mycorrhizae Research*. APS Press, St. Paul, MN, pp. 61-68.
- Shinshi, H.; Mohnen, D.; Meins, F. (1987). *Regulation of a Plant Pathogenesis-related Enzyme: Inhibition of Chitinase and Chitinase mRNA Accumulation in Cultured Tobacco Tissues by Auxin and Cytokinin*. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. 84: 89-93.
- Siqueira, J.O.; Nair, M.G.; Hammerschmidt, R.; Safir, G.R. (1991). *Significance of Phenolic Compounds in Plant Soil Microbial Systems*. *Crit Rev Plant Science*. 10: 63-121.
- Smith, S.E. and Gianinazzi-Pearson, V. (1988). *Physiological Interactions Between Symbionts in Vesicular-arbuscular Mycorrhiza Plants*. *Ann Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol*. 39: 221-244.
- Smith, S.D. and Read, D.J. (2008). *Mycorrhizal Symbiosis*. (Ed 3). Academic Press.
- Somssich, I.; Hahlbrock, K. (1998) *Pathogen Defense in Plants: a Paradigm of Biological Complexity*. *Trends in Plant Sci*. 3: 86–90.
- Spanu, P.; Bonfante-Fasolo, P. (1988). *Cell Wall-bound Peroxidase Activity in Roots of Mycorrhizal *Allium porrum**. *New Phytologist*. 109: 119–124.
- Van der Heijden and Sanders, I. (2002). *Mycorrhizal Ecology*. *Ecological Studies* 157. Springer Ed. 469 p.
- Vierheilig, H.; Alt, M.; Mohr, U.; Boller, T.; Wiemken, A. (1994). *Ethylene Biosynthesis and Activities of Chitinase and β -1,3-Glucanase in the Roots of Host and Non-host Plants of Vesicular-arbuscular Mycorrhizal Fungi After Inoculation with *Glomus mosseae**. *J. of Plant Physiology*. 143: 337–343.
- Vierheilig, H.; Piché, Y. (2002). *Signaling in Arbuscular Mycorrhiza: Facts and Hypotheses*. In: Manthey, J.; Buslig, B. eds. *Flavonoids in the Living System*. New York: Plenum Press.