

© 2024 Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.
Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).
TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 27: 1-17, 2024.
<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2024.641>

El papel del ion calcio y la autofagia en la regulación del hidrotropismo en raíces: el caso de *Arabidopsis thaliana*

Luis Castillo-Olamendi¹, Gladys Jiménez-Nopala² y Helena Porta^{1*}

¹Departamento de Biología Molecular de Plantas, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad # 2001, Cuernavaca 62210, Morelos, México. ²Centro de Ciencias Genómicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca 62210, Morelos, México. E-mail: *helena.porta@ibt.unam.mx

RESUMEN

Las plantas son organismos sésiles con diferentes mecanismos que intervienen durante la escasez de agua. Uno de ellos es el hidrotropismo que consiste en la modificación del crecimiento y movimiento de la raíz hacia zonas donde hay más agua. Este movimiento es fundamental para la supervivencia de la planta. Otro mecanismo es la autofagia descrita no sólo como una defensa ante la sequía sino también como un proceso catabólico conservado en la mayoría de las células eucariotas, a través del cual se transporta material citoplasmático no deseado o disfuncional a la vacuola de las células vegetales para su degradación y reciclamiento. En la respuesta hidrotropica, se presenta una acumulación de autofagosomas y H₂O₂ en la zona de curvatura de la raíz. Por esto la autofagia reduce el estrés oxidativo causado por el estrés hídrico durante el hidrotropismo.

El ion calcio (Ca²⁺) es un segundo mensajero que regula las reacciones al estrés. Cuando la célula percibe un estímulo como la escasez de agua, hay un aumento transitorio o sostenido de la concentración de Ca²⁺ en el citosol que desencadena procesos celulares temporales al ser detectado por las proteínas fijadoras de Ca²⁺ como la calmodulina, ubicada en la membrana plasmática y en la membrana de los organelos celulares. La curvatura de la raíz durante el hidrotropismo depende de la acumulación de Ca²⁺ en el citosol mediante el bloqueo de la ATPasa de Ca²⁺ ECA1 por la proteína MIZ1. Además, la proteína similar a la calmodulina 24, (CML24), potencialmente se une al Ca²⁺ en respuesta al estrés abiótico, y al interactuar con la proteína ATG4 de la autofagia, se puede afectar su progreso. En este trabajo se realizó una revisión de los conceptos básicos del hidrotropismo, la autofagia y el flujo de Ca²⁺ con la intención de ampliar el conocimiento sobre la interacción de estos procesos y la defensa celular de *Arabidopsis thaliana* ante la escasez de agua.

Palabras clave: hidrotropismo, autofagia, ion calcio, escasez de agua.

The Role of Calcium Ion and Autophagy in Regulating Hydrotropism in Roots: Insights from *Arabidopsis thaliana*

ABSTRACT

Plants are sessile organisms with different mechanisms that intervene during water scarcity. One of them is hydrotropism, which consists of modifying the growth and movement of the root towards areas where there is more water. This movement is essential for the survival of the plant. Another mechanism is autophagy, described not only as a defense against drought but also as a catabolic process conserved in most eukaryotic cells, through which unwanted or dysfunctional cytoplasmic material is transported to the vacuole of plant cells for degradation and recycling. In the hydrotropic response, an accumulation of autophagosomes and H₂O₂ occurs in the zone of root curvature. For this reason, autophagy reduces oxidative stress caused by water stress during hydrotropism.

The calcium ion (Ca²⁺) is a second messenger that regulates stress reactions. When the cell perceives a stimulus such as water scarcity, there is a transient or sustained increase in the concentration of Ca²⁺ in the cytosol that triggers temporary cellular processes when detected by Ca²⁺-binding proteins such as calmodulin, located in the plasma membrane and in the membrane of cellular organelles. Root curvature during hydrotropism depends on Ca²⁺ accumulation in the cytosol through blockade of the Ca²⁺ ATPase ECA1 by the MIZ1 protein. Moreover, calmodulin-like protein 24 (CML24) potentially binds Ca²⁺ in response to abiotic stress, and by interacting with the autophagy protein ATG4, may affect its progress. In this work, a review of the basic concepts of hydrotropism, autophagy and Ca²⁺ flow was carried out with the intention of expanding knowledge about the interaction of these processes and the cellular defense of *Arabidopsis thaliana* against water scarcity.

Keywords: hydrotropism, autophagy, calcium ion, water shortage.

Artículo recibido el 09 de noviembre del 2023.

Artículo aceptado el 17 de mayo del 2024.

INTRODUCCIÓN

Las plantas son organismos sésiles que en el medio ambiente se enfrentan a condiciones o factores favorables o desfavorables para su supervivencia, que aparecen repentina, y repetidamente. En general estos factores estresantes se dividen en bióticos o abióticos. El estrés biótico surge de la infección por patógenos o el ataque de herbívoros. El estrés abiótico incluye factores relacionados con el clima y la actividad humana como la sequía, el frío, la salinidad del suelo, el calor, la contaminación con metales pesados, la radiación ultravioleta (UV), y las inundaciones (Praveen, Dubey, Singh & Sharma, 2023).

Las plantas tienen la capacidad de protegerse ante la escasez de agua provocada por las sequías, las heladas y la salinidad a través de la reactivación de diversas funciones temporales (Claeys & Inze, 2013). Su objetivo es superar o evitar el estrés mediante un equilibrio entre la absorción y la pérdida de agua. La absorción de agua se favorece con la acumulación de solutos que reducen el potencial hídrico del tejido y mejoran el crecimiento de la raíz (Claeys & Inze, 2013); el cierre de los estomas para evitar la pérdida de agua; la restricción en el crecimiento de los brotes; la aceleración de la senescencia de la hoja; la desviación de carbono y energía para el almacenamiento y la biosíntesis de compuestos osmoprotectores como la prolina (Claeys & Inze, 2013). A nivel celular, el acceso limitado a una fuente de agua incrementa la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) con daño a los cloroplastos, las mitocondrias y los peroxisomas (Rodríguez, Córdoba, Ortega & Taleisnik, 2004). Para evitar el daño celular severo se activan mecanismos como la desintoxicación de las ERO, la síntesis de ácido abscísico (ABA), la acumulación de proteínas protectoras, como las proteínas de la Embriogénesis Tardía (LEA), y varios Factores Transcripcionales (FT) como los Elementos de Respuesta a la Sequía (DREB) (Claeys & Inze, 2013). Además, se ha observado que el Ca^{2+} y las moléculas que lo perciben, regulan una variedad amplia de blancos celulares, como transportadores, FT, cinasas y fosfatasa, proteínas del citoesqueleto y proteínas de unión al DNA. Estos componentes están implicados en la respuesta de defensa ante el estrés provocado por la escasez de agua (Pirayesh, Giridhar, Ben Khedher, Vothknecht & Chigri, 2021).

Ante el estrés hídrico, también las proteínas se dañan y al acumularse alteran la homeostasis celular. Por esto, el reciclaje intracelular es esencial para el control de estas circunstancias y al eliminar las moléculas u organelos dañados se reponen los nutrientes esenciales necesarios para el crecimiento y mantenimiento celular (Masclaux-Daubresse *et al.*, 2014). Las dos vías principales de degradación y reciclamiento de los componentes celulares en los organismos eucariotas son la autofagia y el proteasoma. La autofagia (“comerse a sí mismo”) es la degradación masiva de proteínas citosólicas de vida larga y organelos; el sistema degradador ubiquitina-proteasoma es

el principal responsable de la degradación y el reciclaje de proteínas de vida corta (Yin, Pascual & Klionsky, 2016). Por lo hasta aquí expuesto, se analizan en esta revisión los posibles vínculos entre el hidrotropismo, la autofagia y el ion calcio en la resistencia de las plantas a la escasez de agua.

METODOLOGÍA

La revisión bibliográfica se inició a partir del año 1998 hasta el año 2023. Se consultaron las páginas TAIR (<https://www.arabidopsis.org>), Plant Promoter Database (<https://ppdb.agr.gifu-u.ac.jp/ppdb/cgi-bin/index.cgi>) y Plant Pan (<http://plantpan.itsp.ncku.edu.tw/plantpan4/index.html>).

El hidrotropismo y la respuesta hidrotrópica

Los órganos de las plantas se mueven o desplazan en busca de agua, nutrientes y luz, factores esenciales para su crecimiento y desarrollo. En contraste, se alejan cuando se enfrentan a situaciones nocivas. A estos movimientos lentos y en ocasiones imperceptibles que permiten que las plantas se adapten al medio ambiente se les denomina tropismos e implican el crecimiento dirigido de ciertos órganos de las plantas en respuesta a estímulos como la gravedad (gravitropismo), la luz (fototropismo), el contacto (tigmotropismo) y el agua (hidrotropismo). Darwin, fue uno de los pioneros en el estudio de los tropismos. En la actualidad, el estudio de ellos impacta en temas como la mecánica vegetal, estrategias de manejo de cultivos, biología de sistemas y en genómica vegetal (Dietrich *et al.*, 2017); estos movimientos involucran la curvatura o flexión de los órganos de la planta e incluso la regulación del crecimiento, hacia o lejos del estímulo percibido (Cassab, Eapen & Campos, 2013).

En el caso de las raíces, los tropismos condicionan la dirección y el grado de crecimiento hacia o en contra de estímulos como la gravedad, la luz, los gradientes de agua, los nutrientes, los patógenos o los cambios en la temperatura y ayudan al desarrollo del sistema radicular, fundamental para el anclaje de la planta al suelo y la adquisición del agua y los nutrientes, que es importante para evitar los efectos negativos de la sequía (Moriwaki, Miyazawa, Fujii & Takahashi, 2014). Por consiguiente, cuando las plantas perciben escasez de agua, se condiciona el crecimiento de la parte aérea, y del sistema radicular, aunque en algunos casos el crecimiento de la raíz es para optimizar la búsqueda del agua (Sharp *et al.*, 2004). El hidrotropismo es el tropismo que responde al estrés hídrico, lo que implica el movimiento genéticamente regulado de las raíces en busca de ambientes con un contenido óptimo o con menos limitantes de agua (Moriwaki *et al.*, 2014). La respuesta hidrotrópica, es el movimiento que realizan las raíces de las plantas durante el hidrotropismo visible como la curvatura de las raíces en reacción a los gradientes de humedad o al potencial hídrico (Moriwaki *et al.*, 2014).

En el hidrotropismo las hormonas vegetales tienen un papel fundamental para un funcionamiento correcto. El

ácido abscísico (ABA), es la hormona por excelencia y un pequeño número de genes, que codifican a los transductores de la señal del ABA, *GNOM/MIZ2*, y el gen específico del hidrotropismo *MIZ1* intervienen en la respuesta hidrotrópica de *Arabidopsis thaliana* (Arabidopsis) (Miyazawa & Takahashi, 2020). Además, las auxinas que regulan el hidrotropismo en Arabidopsis y en otros tipos de plantas, también participan en la división celular y el alargamiento de los órganos vegetales como la raíz, el tallo, la hoja, y el fruto; reprimen la senescencia y participan en el gravitropismo (movimiento de las raíces relacionado con la gravedad) (Garay-Arroyo, de la Paz Sánchez, García-Ponce, Álvarez-Buylla & Crisanto, 2014). En el chícharo, el pepino, el arroz, el maíz y *Lotus japonicus*, estudiosos en el tema mencionan que la inhibición del transporte de auxinas cancela las respuestas hidrotrópica y gravitrópica, (Miyazawa & Takahashi, 2020) y que, en el chícharo y el maíz, la cofia de la raíz se requiere para la percepción de los estímulos que dirigen la respuesta hidrotrópica y gravitrópica, y con su eliminación se suprime toda reacción (Jaffe, Takahashi & Biro, 1985), (Takahashi & Scott, 1993). Igual observaron que en las raíces de las plántulas de arroz, al cortar la cofia de las raíces se impedía la respuesta gravitrópica, aunque esto no tuvo efecto en la respuesta hidrotrópica (Nakajima *et al.*, 2017). En las raíces de *L. japonicus*, al retraerse la síntesis de auxinas, mediante el uso de quinurenina, aunque se evitó el desarrollo de la curvatura hidrotrópica, no se afectó el crecimiento de las raíces (Nakajima *et al.*, 2017). En general, estas observaciones en los diferentes tipos de plantas mencionadas dieron lugar a pensar en la probable existencia e intervención de otros mecanismos en la distribución diferencial de las auxinas, incluso en ausencia de las células de la cofia de la raíz.

El hidrotropismo en *Arabidopsis thaliana*

Los genes *MIZU-KUSSEI1 (MIZ1)* y *GNOM/MIZ2* son esenciales para el hidrotropismo en Arabidopsis (Kobayashi *et al.*, 2007) (Miyazawa, Takahashi, Kobayashi, Kaneyasu, Fujii & Takahashi, 2009). *MIZ1* se localiza en la corteza de la zona de elongación de la raíz y es indispensable para el hidrotropismo, ya que permite la acumulación de Ca^{2+} en el citoplasma, necesario para la curvatura (Kobayashi *et al.*, 2007; Shkolnik, Nuriel, Bonza, Costa & Fromm, 2018). *GNOM/MIZ2* se expresa en la epidermis, en la corteza y en la estela de la raíz. La proteína que codificada este gen está relacionada con el tráfico vesicular cuya función mejor conocida es el transporte polar de las proteínas PIN (relacionadas al transporte de auxinas) a la membrana plasmática (Miyazawa *et al.*, 2009).

En las plantas silvestres y en la presencia de un gradiente de humedad, la raíz de Arabidopsis se curva hacia la zona con mayor disponibilidad de agua; esto no sucede en las raíces de las mutantes *miz-1* y *miz-2*. Sin embargo, las mutaciones en estos genes reducen el fototropismo porque las hojas de la planta no giran para evitar el exceso de luz, por esto los autores

del estudio consideran que *MIZ1* y *GNOM/MIZ2* regulan el hidrotropismo y el fototropismo en Arabidopsis (Moriwaki *et al.*, 2014). Adicionalmente, otros autores demostraron que en las células de la corteza de la zona de elongación se perciben los cambios en el gradiente del potencial hídrico mediante un mecanismo aún desconocido que, al provocar la curvatura de la raíz, se le relaciona con la actividad de la cinasa SnRK2.2 y de la proteína *MIZ1*; ambas localizadas en las células de la corteza de la zona de elongación (Dietrich *et al.*, 2017).

El balance de especies reactivas de oxígeno (ERO) regula el hidrotropismo

Como se mencionó, el suministro limitado de agua incrementa la producción de las ERO, como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el ion superóxido (O_2^-) y el radical hidroxilo (OH^\cdot) que se producen en los cloroplastos, las mitocondrias y los peroxisomas dañándolos, igual que a otros organelos celulares (Rodríguez *et al.*, 2004). A nivel molecular, el aumento en la concentración de las ERO afecta la estructura de las macromoléculas celulares como las proteínas, los lípidos y los ácidos nucleicos. Efectos que dañan a los lípidos de las membranas y ocasionan una fuga de moléculas que normalmente no la cruzan sino a través de canales específicos; también se presenta una inactivación de receptores y de enzimas debido a la carbonilación de las proteínas, haciéndolas más susceptibles a degradarse (Moller, Jensen & Hansson, 2007), y una reducción de la síntesis de proteínas que afecta el crecimiento y el desarrollo de todo el organismo por oxidación del DNA (Tuteja, Singh, Misra, Bhalla & Tuteja, 2001). Por otra parte, se ha descrito que las ERO también funcionan como moléculas señalizadoras que regulan las rutas de entrada del Ca^{2+} a través de la membrana plasmática (MP) (Demidchik, Shabala, Coutts, Tester & Davies, 2003). En las raíces de Arabidopsis, el H_2O_2 extracelular regula en específico la activación de los canales de Ca^{2+} de la MP de las células epidérmicas maduras, así como también el de las células de la corteza y en menor grado en las células de la epidermis de la zona de elongación (Demidchik *et al.*, 2003). Igual el OH^\cdot extracelular provoca una entrada mayor de Ca^{2+} a través de la MP en las células de la epidermis que en el periciclo (Demidchik *et al.*, 2003), (Foreman *et al.*, 2003).

En los experimentos con Arabidopsis las raíces que actúan hidrotrópicamente no tienen una distribución asimétrica transitoria de las ERO (Krieger, Shkolnik, Miller & Fromm, 2016) y estas al retraerse mediante el uso de un antioxidante como el ascorbato de sodio o un inhibidor de la generación de las ERO como el yoduro de fenilo, el gravitropismo se atenúa en contraste con un incremento del hidrotropismo (Krieger *et al.*, 2016). También, las mutantes en la NADPH oxidasa RBOH C revelan una mayor curvatura hidrotrópica (Krieger *et al.*, 2016), con la posibilidad de que el H_2O_2 , promueva el gravitropismo y frene el hidrotropismo (Krieger *et al.*, 2016).

El Ca^{2+} es un segundo mensajero que regula la respuesta hidrotrofica

El calcio es esencial para el funcionamiento de las plantas y transformado el ion Ca^{2+} es un mensajero intracelular dinámico. Una diversidad de estreses bióticos y abióticos, así como diversos procesos del desarrollo, provocan un aumento en los niveles de Ca^{2+} en el citosol con su entrada controlada desde las reservas externas, el apoplasto e internas, el RE (Kudla, Batistic & Hashimoto, 2010; McAinsh & Pittman, 2009; Batistic & Kudla, 2012). Además, la señalización de Ca^{2+} no se limita al citosol, también ocurre en los organelos que son: el núcleo, los cloroplastos, las mitocondrias, los peroxisomas y el sistema de endomembranas.

El Ca^{2+} es una molécula que actúa como segundo mensajero. Los segundos mensajeros son pequeñas moléculas o iones que transmiten señales recibidas por los receptores de la superficie celular a las proteínas efectoras. El Ca^{2+} participa en la señalización de numerosos procesos del desarrollo y la defensa, específicamente, se le relaciona con la regulación de diferentes respuestas al estrés de las plantas (Carroll & Peralta, 1998).

La célula tiene una serie de bombas y canales que regresan el Ca^{2+} a sitios de almacenamiento como RE, el apoplasto, la vacuola, el aparato de Golgi, el cloroplasto, el peroxisoma y el núcleo (Pirayesh *et al.*, 2021). La señalización de Ca^{2+} se caracteriza por una serie de eventos: i) un aumento transitorio o sostenido en su concentración libre inducido por un estímulo, ii) la detección de sus cambios a través de proteínas sensores de Ca^{2+} , iii) una respuesta celular río abajo desencadenada por la acción de estas proteínas sensores y iv) la remoción del Ca^{2+} localizado en el citosol al terminar con el proceso de señalización que produjo su cambio transitorio. El movimiento del Ca^{2+} hacia el interior (influjo) y el exterior (eflujo) de la célula, así como desde el citosol a los organelos que lo almacenan se encuentra regulado por canales iónicos localizados en las membranas celulares. Los canales de calcio son proteínas transmembranales que constituyen la vía más importante para su ingreso a la célula.

En resumen son cuatro las acciones de la participación del Ca^{2+} como un segundo mensajero en un proceso celular: primero, la célula percibe un estímulo como la escasez de agua, el exceso de iluminación o la infección por un patógeno, lo que origina un aumento transitorio o sostenido de su concentración en el citosol; segundo, la detección de cambios en sus niveles citosólicos por proteínas que se le unen como las calmodulinas (CaMs), las proteínas similares a la calmodulina (CML), las proteínas cinasas que dependen de él (CDPK), proteínas similares a la calcineurina B (CBL) o la proteína cinasa interactiva (CIPK); tercero, el desencadenamiento de procesos celulares relacionados al metabolismo, la transcripción de genes o la modificación de proteínas; y cuarto, el regreso a

los niveles basales de Ca^{2+} en el citosol que oscilan alrededor de los 50-100 nM mediante su influjo en los diferentes compartimientos de la célula en donde se almacena (Pirayesh *et al.*, 2021).

En Arabidopsis, se han identificado familias de canales iónicos permeables al Ca^{2+} que son responsables del influjo de este ion. Entre éstos se incluyen a las anexinas (Richards *et al.*, 2014), los canales activados por nucleótidos cíclicos (CNGC) (Hamilton, Schlegel & Haswell, 2015), los receptores de glutamato (GLR) (Price, Jelesko & Okumoto, 2012), los canales de dos poros (TPC) (Morgan & Galione, 2014) y los canales mecano-sensibles, éstos últimos constituidos por los canales iónicos mecano-sensibles (MSC), los de actividad complementaria Mid1 (MCA), los canales Piezo (Hamilton *et al.*, 2015) y el canal reductor de la hiper-osmolalidad activado por un aumento en la concentración de Ca^{2+} intracelular (OSCA), (Yuan *et al.*, 2014). Previamente se describieron tres tipos diferentes de canales con base en los cambios en el potencial de membrana, a los que se les denominó canales activados por hiperpolarización (HACC), canales activados por depolarización (DACC) y canales independientes del voltaje (VICC). Estos canales se localizan en la MP de las células de la epidermis de la zona de elongación de la raíz de Arabidopsis y se activan por las ERO que se producen en situaciones de estrés abiótico (Wilkins, Matthus, Swarbreck & Davies, 2016). En los estudios reportados se propone que los HACC pueden ser anexinas y los VICC, GLR y DACC canales activados por CNGC (White & Broadley, 2003; Swarbreck, Colaco & Davies, 2013), (Figura 1; Tabla I).

Para recuperar el nivel de Ca^{2+} basal, existen en la célula sistemas que lo bombean a través de alguna membrana celular utilizando ATP o H^+ como fuente de energía. Estos transportadores son: los intercambiadores de $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ (CAX) (Manohar, Shigaki & Hirschi, 2011) y las ATPasas de Ca^{2+} tipo P, que incluyen a la Ca^{2+} -ATPasas auto-inhibida (ACA), la Ca^{2+} -ATPasas de RE (ECA) y la ATPasa I de metales pesados, P1-ATPasa (Bonza & De Michelis, 2011), (Figura 1; Tabla I). Las ATPasas de Ca^{2+} , como ACA y ECA son transportadores de alta afinidad ($K_m = 0,1-2 \mu\text{M}$) pero de baja capacidad, distintos a los CAX que son transportadores de baja afinidad ($K_m = 10-15 \mu\text{M}$) pero de alta capacidad (Bose, Pottosin, Shabala, Palmgren & Shabala, 2011). Además, una de las principales diferencias entre ACA y ECA son sus afinidades por el Ca^{2+} , que están en el rango micromolar para ACA y en el rango nanomolar para ECA (Bonza & De Michelis, 2011), (Meneghelli, Fusca, Luoni & De Michelis, 2008). Estos intercambiadores tienen diferentes especificidades para los cationes divalentes: ACA es altamente selectivo y transporta solo Ca^{2+} , sin embargo, ECA también pueden transportar Cd^{2+} , Mn^{2+} y Zn^{2+} (Meneghelli *et al.*, 2008). A ECA se le puede inhibir con el ácido ciclopiazónico (CPA) (Meneghelli *et al.*, 2008), ACA es particularmente sensible a la inhibición con los

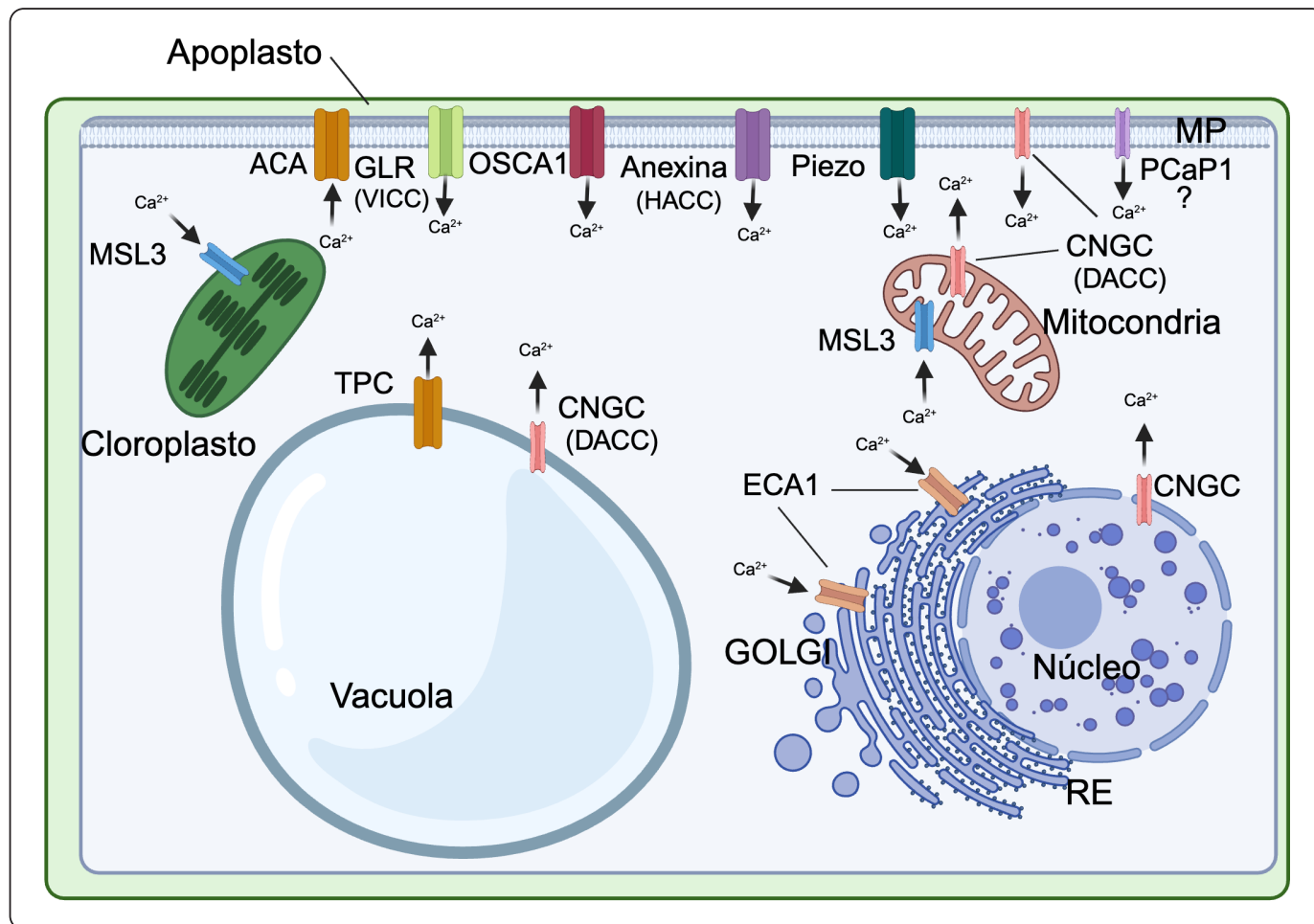


Figura 1. Proteínas transportadoras de Ca²⁺ en *Arabidopsis thaliana*.

En la Figura se muestra a las proteínas relacionadas con la señalización de Ca²⁺ de varios organelos descritos en el texto. GLR (receptores de Glu), CNGC (canales activados por nucleótidos cíclicos), TPC (canal de dos poros), ANEXINA, canales tipo Piezo, MSL3 (canal mecano-sensible3), ECA (Ca²⁺-ATPasa), ACA (Ca²⁺-ATPasas auto-inhibida), PCaP1 (Proteína de unión a Ca²⁺ asociada a la membrana plasmática) y OSCA (Canal reductor de la hiper-osmolalidad inducida por un aumento de concentración de Ca²⁺ en el citosol). Las flechas indican la dirección del flujo del Ca²⁺. Se ha descrito que las anexinas GLR, CNGC y TPC1 son HACC, VICC y DACC como se indica en esta Figura y en la Tabla I. ECA1 (Shkolnik *et al.*, 2018), PCaP1 (Tanaka-Takada *et al.*, 2019) y Osca1 (Yuan *et al.*, 2014) están relacionados con la respuesta hidrotrópica o el estrés hídrico. Imagen creada con Biorender.com.

derivados de la fluoresceína como la eritrosina B o la eosina Y (Bonza & De Michelis, 2011).

En general la señalización intracelular de Ca²⁺ en el citosol está determinada por la amplitud, duración y oscilación de su concentración en el citosol. La percepción de las señales genera rápidamente sus elevaciones transitorias que activan de manera concertada tanto su influjo pasivo a través de canales, como de sistemas activos de eflujo mediante bombas y transportadores, que temporalmente definen espacialmente su dinámica comúnmente denominada la firma del calcio (McAinsh & Pittman, 2009). Esta firma está impulsada por la apertura de canales localizados en la membrana plasmática permeables al Ca²⁺. Una vez que el estímulo cesa los intercambiadores y

las Ca²⁺-ATPasas transportan el exceso de su concentración en el citosol al RE, a la vacuola o al apoplasto, recuperándose así la concentración basal en el citosol (McAinsh & Pittman, 2009). A continuación, se describe su regulación del influjo y eflujo durante el hidrotropismo.

Canales mecano-sensibles de Ca²⁺

En *Arabidopsis* los estudios indican que los canales similares a los mecano-sensibles de Ca²⁺ 2 y 3 se activan es respuesta al estrés osmótico (MSL2 y MSL3). MSL2 y MSL3 actúan como válvulas de seguridad para regular la homeostasis osmótica en los plastidios durante el crecimiento y el desarrollo de la planta (Hamilton *et al.*, 2015; McAinsh & Pittman, 2009; Peyronnet, Haswell, Barbier-Brygoo & Frachisse, 2008). La doble mutante

Tabla I. Papel de las proteínas transportadoras de Ca²⁺ en *Arabidopsis thaliana*. Se sugiere que las anexinas, GLR, CNGC y TPC1 son HACC, VICC y DACC como se indica en el cuerpo de la Tabla.

Proteínas transportadoras de Ca ²⁺	Número de genes en <i>Arabidopsis</i>	Localización	Proceso Biológico	Flujo	Referencias
GLR (receptores de Glu) (VICC canales de Ca ²⁺ independientes del voltaje)	20	Membrana plasmática	Defensa contra patógenos	Influjo	(Lee <i>et al.</i> , 2004; Wilkins <i>et al.</i> , 2016)
CNGC (canales activados por nucleótidos cíclicos) (VICC: canales de Ca ²⁺ independientes del voltaje)	20	Células guardia Células del mesófilo Membrana plasmática, Mitocondria Núcleo Vacuola	Defensa contra patógenos, Gravitropismo, Apertura de estomas	Influjo	(Gobert, Park, Amtmann, Sanders & Maathuis, 2006; Jammes, Yang, Xiao & Kwak, 2011; Duszyn, Swiezawska, Szmids-Jaworska & Jaworski, 2019; Wang <i>et al.</i> , 2013; Wilkins <i>et al.</i> , 2016)
TPC (canal de dos poros) (VGIC: canales iónicos dependiente de voltaje)	1	Membrana vacuolar	Respuesta osmótica, Señalización de Ca ²⁺	Influjo	(Morgan & Galione 2014; Wilkins <i>et al.</i> , 2016)
ANEXINA (HACCS: canales activados por hiperpolarización)	8	Membrana plasmática	Respuesta osmótica	Influjo	(Lee <i>et al.</i> , 2004; Zelman, Dawe, Gehring & Berkowitz, 2012; Wilkins <i>et al.</i> , 2016)
MSL3 (canal mecano-sensible 3)	10	Mitocondria, Cloroplasto Membrana plasmática	Balance de iones y agua en tubos polínicos, Regulación del potencial eléctrico en la membrana interna de la Mitocondria, Percepción mecánica en raíces y volumen del cloroplasto	Eflujo	(Hamilton, <i>et al.</i> , 2015; Lee <i>et al.</i> , 2016; Peyronnet <i>et al.</i> , 2008; Velej, Maksaej, Frick, January, Kloepper & Haswell, 2014)
ECA (Ca ²⁺ -ATPasas de RE)	4	Membrana RE, Golgi	Hidrotropismo	Eflujo	(García Bossi <i>et al.</i> , 2020; Shkolni <i>et al.</i> , 2018)
ACA (Ca ²⁺ -ATPasas auto-inhibida)	10	Membrana plasmática	Regula la inmunidad vegetal removiendo Ca ²⁺ del citosol	Eflujo	(García Bossi <i>et al.</i> , 2020; Yu, Yan, Du & Hua, 2018)
PCaP1 (Proteína de unión al Ca ²⁺ asociada a la membrana plasmática)	1	Membrana plasmática	Hidrotropismo	Influjo	(Tanaka-Takada <i>et al.</i> , 2019)
OSCA (Canal reductor de la hiper-osmolalidad inducida por un aumento de [Ca ²⁺] _{cit})	15	Membrana plasmática	Hidrotropismo	Influjo	(Yuan <i>et al.</i> , 2014; Akita & Miyazawa, 2022)

msl2/msl3 es más sensible a la limitación de agua. En apoyo a los datos, que están publicados, en nuestros estudios también hemos encontrado un incremento en la expresión de *MSL3* en las plantas de *Arabidopsis* silvestres creciendo en condiciones de estrés osmótico comparando con plantas cuyo desarrollo es en condiciones normales (datos no publicados), lo que sugiere una movilización de Ca^{2+} a través de *MSL3* para contender con el estrés hídrico. *MSL3* se localiza en la membrana externa del cloroplasto y la mitocondria. Sugerimos que en el cloroplasto su función puede estar relacionada con el cierre de los estomas que impide pérdida de agua, y en la mitocondria su función podría ser regular a las ERO producidas durante el estrés hídrico.

El canal permeable al Ca^{2+} OSCA1.1 participa en la regulación del hidrotropismo

OSCA1.1 es un canal catiónico no selectivo que se encuentra localizado en la membrana plasmática de las células guardia de los estomas de las hojas y también en las células de la epidermis de la raíz de *Arabidopsis* (Yuan *et al.*, 2014). En estudios realizados con la mutante *osca1.1* hubo una disminución de la concentración de Ca^{2+} en la raíz y las hojas, en respuesta al estrés osmótico generado con un gradiente de sorbitol. Además, la falta de función de OSCA1.1 redujo el influjo de Ca^{2+} en las células guardia y de la raíz en general, lo que ocasionó que la transpiración aminorara igual que el crecimiento de las raíces, bajo condiciones de estrés hiperosmótico generado con sorbitol (Yuan *et al.*, 2014). *osca1.1* mostró un incremento de 10 grados de curvatura hidrotropica comparada con la planta silvestre (Akita & Miyazawa, 2022). Resultados de un análisis transcripcional indicaron que OSCA1.1 es un regulador negativo de *MIZ1*, ya que los niveles del mRNA de *MIZ1* se incrementaron en la mutante *osca1.1* (Akita & Miyazawa, 2022). Con base en estos resultados los investigadores consideran que OSCA1.1 es relevante para el influjo del Ca^{2+} del apoplasto hacia el citosol no solamente en el hidrotropismo sino como una respuesta general al estrés hídrico (Yuan *et al.*, 2014).

PCaP1 es una proteína de unión al Ca^{2+} requerida para la curvatura hidrotropica

La proteína de unión al Ca^{2+} asociada a la membrana plasmática (PCaP1) es otro elemento involucrado en el hidrotropismo de las raíces de *Arabidopsis* (Tanaka-Takada, Kobayashi, Takahashi, Kamiya, Kinoshita & Maeshima, 2019). La mutante *pcap1* presentó un decremento en la curvatura hidrotropica en comparación a la planta silvestre en condiciones de estrés hídrico (Tanaka-Takada *et al.*, 2019). PCaP1-GFP además de estar en el citosol se encontró asociada con la membrana plasmática en la mayoría de las células de la raíz con excepción de las células de la endodermis de la zona de la curvatura. Por lo tanto, la re-localización de PCaP1 en el citosol de las células de la endodermis tiene un papel en el hidrotropismo (Tanaka-Takada *et al.*, 2019). La sobreexpresión de *MIZ1* en la mutante *pcap1* complementó el fenotipo no hidrotropico de está mutante lo que indicó que PCaP1 no está río abajo de la señalización de *MIZ1*

(Tanaka-Takada *et al.*, 2019). Con base en estos resultados la localización de PCaP1 en las células de la endodermis de la zona de elongación de la raíz está involucrada en el proceso hidrotropico; sin embargo, no se descarta la posibilidad de que PCaP1 contribuya al hidrotropismo a través de una vía independiente de *MIZ1* (Tanaka-Takada *et al.*, 2019).

La proteína transportadora de Ca^{2+} ECA1 regula la curvatura hidrotropica

ECA1 es una ATPasa que participa en el movimiento del Ca^{2+} del citosol hacia el RE, permitiéndole a la célula regresar a la homeostasis. En respuesta a las diferencias de potencial hídrico, los autores del estudio observaron el movimiento de una señal de Ca^{2+} lenta, asimétrica y de larga distancia desde la punta de la raíz hasta la zona de elongación (Figura 2, panel B número 7). Mediante ensayos de dos híbridos en levadura, vieron que al interactuar *MIZ1* con ECA1 disminuye su actividad de transportar Ca^{2+} al RE (Shkolnik *et al.*, 2018); esto generó un aumento de la concentración de Ca^{2+} en el citosol detectable en la zona de elongación, y ocasionó la curvatura hidrotropica (Shkolnik *et al.*, 2018).

Con base en lo anterior, la inhibición de ECA1 por *MIZ1* cambia el equilibrio entre la entrada y salida del Ca^{2+} citosólico y genera la señal de Ca^{2+} citosólico que regula la curvatura de la raíz hacia la zona más húmeda del medio (Shkolnik *et al.*, 2018). Hasta la fecha, *MIZ1* es el único regulador de las ATPasas tipo IIA transportadoras de Ca^{2+} identificado en plantas, por lo que sería muy interesante estudiar si *MIZ1* puede unirse y controlar también otras bombas ATPasas tipo IIA transportadoras de Ca^{2+} en diferentes contextos biológicos y ante diferentes estímulos.

La autofagia como un mecanismo de defensa celular

La autofagia es un proceso catabólico conservado en la mayoría de las células eucariotas, a través del cual el material citosólico no deseado o disfuncional, como las proteínas, los complejos proteicos, los agregados de ácidos nucleicos e incluso los organelos completos, se transporta para su degradación y reciclaje al lisosoma en los animales y a la vacuola en la levadura y en las plantas (Bassham *et al.*, 2006).

Los genes *ATG* (AuTophagy), que codifican a las proteínas para la maquinaria de la autofagia, se describieron inicialmente en *Saccharomyces cerevisiae* y están prácticamente conservados en las células eucariotas. El estudio de los mutantes de *Arabidopsis* deficientes en los genes *ATG* confirmó que las proteínas *ATG* son necesarias para el desarrollo adecuado de la planta (Bassham *et al.*, 2006).

La característica más destacada de la autofagia es la formación de una estructura llamada autofagosoma, que consiste en una vesícula de doble membrana que se encuentra formando una copa conocida como fagóforo que se alarga y rodea a la carga o

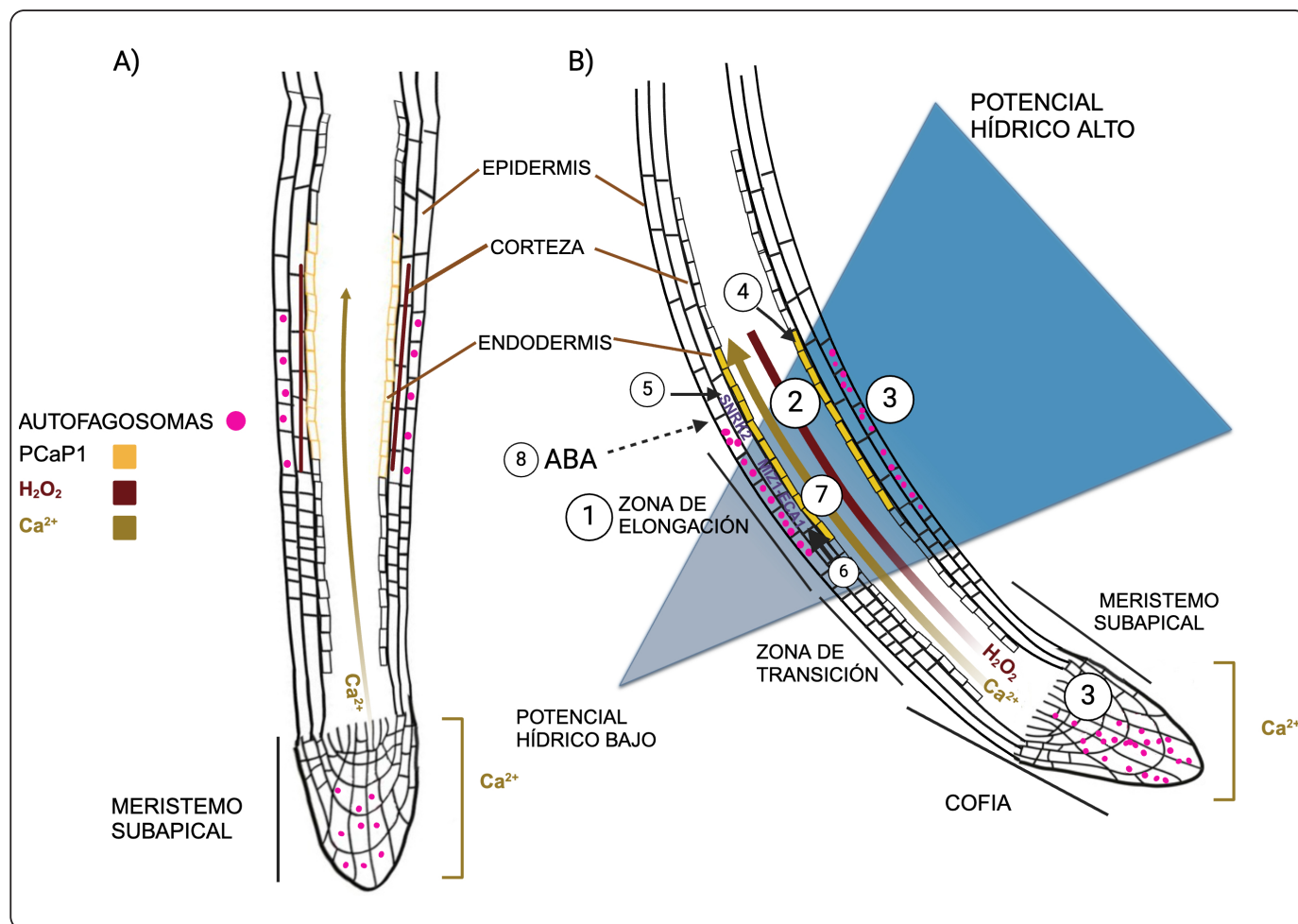


Figura 2. Descripción general de las moléculas y de las vías metabólicas y de señalización involucradas en el hidrotropismo de la raíz de *Arabidopsis thaliana*.

La numeración se hizo para facilitar el entendimiento del proceso, no implica que este sea el orden en que suceden los eventos señalados. A) y B) indican el estado de la raíz previo y durante el proceso de percepción de la escasez de agua, respectivamente. La descripción de los párrafos numerados se muestra en el panel B.

- 1) La zona de elongación tiene dos funciones en la respuesta hidrotropica: detecta un gradiente de potencial hídrico y posteriormente experimenta un crecimiento diferencial que ocasiona la curvatura hidrotropica (raíz y triángulo azul) (Dietrich *et al.*, 2017).
- 2) Acumulación de H_2O_2 en la curvatura de la raíz. Utilizando la línea Hyper que expresa un detector de H_2O_2 , se encontró a éste en la zona de la curvatura de la raíz (línea marrón) (Jimenez-Nopala *et al.*, 2018).
- 3) Acumulación de autofagosomas en la curvatura de la raíz. Empleando la línea transgénica GFP-ATG8a se observó la acumulación de autofagosomas en la zona de la curvatura de la raíz que coincide con la zona de elongación a un tiempo similar al de la aparición de H_2O_2 (círculos rosas) (Jimenez-Nopala *et al.*, 2018).
- 4) PCaP1 se moviliza de la membrana plasmática hacia el citosol en las células de la endodermis de la raíz durante la respuesta hidrotropica (Tanaka-Takada *et al.*, 2019).
- 5) El hidrotropismo depende de la cinasa SnRK2.2 regulada por ABA. SnRK2.2 y MIZ1, proteína específica del hidrotropismo, que dan lugar a la curvatura hidrotropica en respuesta al estrés hídrico. Ambas proteínas se localizan únicamente en las células de la corteza de la zona de elongación de la raíz (Dietrich *et al.*, 2017).
- 6) MIZ1 se une a ECA1 e inhibe su actividad. Esta unión modifica el equilibrio entre la entrada y salida de Ca^{2+} en el citosol. La acumulación de Ca^{2+} en el citosol regula la curvatura de la raíz (Shkolnik *et al.*, 2018).
- 7) El gradiente de potencial hídrico genera una señal citosólica de Ca^{2+} lenta y asimétrica de larga distancia en el floema, que alcanza su punto máximo en la zona de elongación, dispersándose lateral y asimétricamente a las células de la periferia de la zona convexa de la raíz, donde se produce el alargamiento celular y la curvatura de la raíz hacia la zona con mayor contenido de agua (Shkolnik *et al.*, 2018) (línea dorada).
- 8) Los estudios de expresión tejido-dirigida mostraron que la curvatura hidrotropica depende de la señalización de ABA a través de regular a la cinasa SnRK2.2 y a MIZ1, ambas actuando específicamente en las células corticales de la zona de elongación (Dietrich *et al.*, 2017). Imagen creada con Biorender.com.

componentes citosólicos que posteriormente serán degradados en la vacuola (Marshall & Vierstra, 2018).

En las levaduras, los autofagosomas se forman próximos a la membrana vacuolar, y en los mamíferos, las estructuras autofagosómicas tempranas se forman en el RE y en los sitios de contacto entre el RE y las mitocondrias (Yla-Anttila, Vihinen, Jokitalo & Eskelinen, 2009), (Hailey *et al.*, 2010). También, en las células de los mamíferos, la membrana plasmática contribuye directamente a la formación de precursores tempranos de autofagosomas (Ravikumar, Moreau, Jahreiss, Puri & Rubinsztein, 2010). Con base en la detección de la interacción de clatrina que es una proteína estructural participante en la formación de vesículas localizada en la membrana plasmática, y Atg16L1, un componente del complejo de elongación de la autofagia, se vio la formación del fagóforo, una estructura que marca el inicio de la aparición del autofagosoma (Ravikumar *et al.*, 2010). También se menciona que la existencia de esta estructura desde la membrana plasmática puede ser importante durante períodos en los que se requiere de una cantidad importante de autofagosomas, ya que por ser un gran reservorio de membrana permite a las células la generación de autofagosomas a niveles más altos que en condiciones basales, sin comprometer otros procesos celulares (Ravikumar *et al.*, 2010).

En resumen, se presume que en las células de los mamíferos los sitios de formación de los autofagosomas y las fuentes de membrana podrían variar en distintas condiciones fisiológicas y tipos de células (Rubinsztein, Shpilka & Elazar, 2012). En las plantas se considera que estos fragmentos provienen del RE, la mitocondria o la membrana plasmática (Yang & Bassham, 2015), (Zhuang *et al.*, 2017).

Una vez formado el autofagosoma con su carga, su membrana externa se fusiona con el tonoplasto (la membrana vacuolar) y entra al lumen de la vacuola, como una estructura de una sola membrana denominada cuerpo autofágico, que se lisa junto con su carga para reciclar los productos de la degradación (Soto-Burgos, Zhuang, Jiang & Bassham, 2018). En cada uno de los pasos de la autofagia participan varios complejos proteicos conformados por las proteínas ATG (Porta & Jimenez-Nopala, 2019).

En las plantas se han descrito tres tipos distintos de degradación: El primer tipo, la microautofagia, se caracteriza por una invaginación directa del tonoplasto para absorber los componentes celulares destinados a la degradación. El segundo tipo, la macroautofagia (denominada autofagia), es la forma predominante de la autofagia y la más estudiada, tanto en las levaduras, como en los animales y en las plantas. Una vertiente de la macroautofagia es la autofagia selectiva que es un proceso que involucra el engullimiento en autofagosomas de sustratos marcados específicamente para su deterioro como, por ejemplo:

las proteínas (proteafagia), los peroxisomas (pexofagia), las mitocondrias (mitofagia) o los ribosomas (ribofagia) (Bu, Yang, Guo, Huang & Chen, 2020). La autofagia selectiva al igual que la autofagia canónica forma autofagosomas para la degradación de su carga en la vacuola y contribuyen a la homeostasis celular y al control de calidad de las proteínas y los organelos (Zaffagnini & Martens, 2016).

El tercer tipo de autofagia es la mega autofagia, una forma extrema de autofagia que hasta ahora solo se ha descrito en las plantas (van Doorn & Papini, 2013). Durante la mega autofagia, la membrana vacuolar se permeabiliza y se rompe, liberando grandes cantidades de hidrolasas en el citosol, lo que provoca una degradación indiscriminada de los materiales citosólicos (van Doorn & Papini, 2013). A diferencia de la autofagia canónica, la mega autofagia no implica la captura de componentes celulares en la vacuola y aparentemente no participan genes ATG (Bassham, 2009).

Regulación de la autofagia por el calcio

Dentro de las proteínas de unión al calcio que participan en la percepción de este ion se han reportado proteínas similares a la calmodulina relacionadas con la regulación de la autofagia (Tsai, Koo, Delk, Gehl & Braam, 2013). Empleando cultivos de células de tabaco hubo una interacción de CML24, un canal mecano-sensible de unión al Ca^{2+} , con la proteína de la autofagia ATG4b (Tsai *et al.*, 2013). En la secuencia primaria de ATG4b se identificaron dos sitios de unión a CaM; sin embargo, se desconoce si éstos son relevantes para la interacción con CML24 (Tsai *et al.*, 2013). Adicionalmente, en las mutantes de *CML24* aumentó la formación de autofagosomas caracterizados por GFP-ATG8e (Tsai *et al.*, 2013). Cabe destacar que la mutante *cml24* de *Arabidopsis* muestra una mayor acumulación de autofagosomas en comparación con la planta silvestre, lo cual sugiere que CML4 actúa como un regulador negativo de la autofagia (Tsai *et al.*, 2013). Mediante técnicas de expresión transitoria y ensayos de dos híbridos en la levadura el Ca^{2+} no regula esta interacción. Sin embargo, es posible que la unión de Ca^{2+} con CML24 regule su actividad y su función indirectamente (Tsai *et al.*, 2013). ATG4 es una proteasa de cisteína con una función dual tanto en la "lipidación" como en la deslipidación de autofagosomas para el reciclaje de ATG8. ATG8 es esencial para la biogénesis del autofagosoma (Perez-Perez, Lemaire & Crespo, 2021). La regulación de la autofagia por Ca^{2+} es un campo de investigación novedoso y estos procesos en conjunto impactarían en el hidrotropismo.

La autofagia y las ERO se activan durante la respuesta hidrotrópica

La autofagia tiene un papel central en la respuesta hidrotrópica de *Arabidopsis*. El hecho es que las plantas de *Arabidopsis* portadoras de mutaciones en genes de la autofagia como *atg2*, *atg5*, *atg9*, *atg8b* y *atg8i* no desarrollaron la curvatura

hidrotópica característica al utilizar un gradiente de agua generado con agar-sorbitol (Jimenez-Nopala *et al.*, 2018). Así mismo, mediante el uso de una línea transgénica que expresaba constitutivamente el gen *GFP-ATG8a*, observaron la acumulación de autofagosomas en la zona de la curvatura utilizando en el mismo sistema hídrico estresante generado con sorbitol (Jimenez-Nopala *et al.*, 2018). Estos resultados señalan que la autofagia está en la vía de señalización que induce la respuesta hidrotópica (Jimenez-Nopala *et al.*, 2018).

Mediante el uso de la línea transgénica Hyper, que expresa una molécula detectora de H₂O₂, los autores de la investigación encontraron una acumulación de ésta ERO y de autofagosomas en la zona de la curvatura de la raíz a un tiempo similar (Jimenez-Nopala *et al.*, 2018). La acumulación simultánea del H₂O₂ y de autofagosomas denota que la autofagia regula el daño oxidativo al degradar los productos oxidados por acumulación de H₂O₂ (Jimenez-Nopala *et al.*, 2018).

Se tiene el conocimiento de que en la levadura *Saccharomyces* y en el alga verde *Chlamydomonas reinhardtii* la proteína ATG4 se activa por reducción y se inhibe reversiblemente por oxidación, indicativo de una modificación redox postraduccional (Perez-Perez *et al.*, 2021). En detalle, la Cys-proteasa ATG4 escinde a la proteína ATG8 en el extremo C-terminal, liberando así un residuo de cisteína en ATG8. Este proceso permite la conjugación de ATG8 con fosfatidiletanolamina (PE) a través del sistema de conjugación similar a la ubiquitinación, compuesto por ATG7 y ATG3. La conjugación de ATG8-PE es crucial para la integración de ATG8 en la doble membrana del autofagosoma. Posteriormente, en el autofagosoma maduro, ATG4 libera a ATG8 de su membrana externa. Esta liberación permite la fusión de la membrana externa del autofagosoma con el tonoplasto lo que libera y degrada al cuerpo autofágico en la vacuola. Así concluye el proceso de la autofagia. Este proceso se describe como la “lipidación” y deslipidación de ATG8, respectivamente y se regula por modificaciones redox de ATG4 (Perez-Perez *et al.*, 2021). Las proteínas ATG4 se han conservado a través de la evolución en diferentes eucariotas, por lo tanto, es muy probable que este mecanismo de regulación de ATG4 por el sistema redox se encuentre conservado en *Arabidopsis* y en otras plantas.

CONCLUSIONES

La información analizada en esta revisión señala la participación de las ERO y del Ca²⁺ en la regulación de la autofagia y del hidrotropismo. En la Figura 2 se muestra un modelo de la curvatura hidrotópica con los componentes que participan en su regulación. La producción de las ERO y la liberación de Ca²⁺ son respuestas básicas de la célula que modulan mecanismos de defensa como lo muestran las modificaciones que sufre la curvatura hidrotópica cuando hay un desbalance de las ERO o un aumento en la concentración de Ca²⁺ en el citosol (Jimenez-Nopala *et al.*, 2018; Shkolnik *et al.*, 2018).

Así mismo, OSCA1.1 y PCaP1 contribuyen a la respuesta hidrotópica, sin embargo, lo hacen de manera independiente de la vía de señalización que incluye a MIZ1 y ECA1 (Akita & Miyazawa, 2022), (Tanaka-Takada *et al.*, 2019).

En la zona de la curvatura de la raíz coinciden la acumulación de las ERO, de autofagosomas y de Ca²⁺ (Figura 2, panel B, números 2, 6 y círculos color rosa), por consiguiente, la autofagia canónica contiene con las macromoléculas y organelos oxidados, y por tanto dañados, durante la respuesta hidrotópica (Jimenez-Nopala *et al.*, 2018). Por otra parte, la interacción entre ECA1 y MIZ1 regula el tránsito de regreso del Ca²⁺ del citosol al RE (Dietrich *et al.*, 2017), lo que parece indicar que la autofagia selectiva (reticulofagia) participa en la regulación de la homeostasis de Ca²⁺ a través de la interacción de ECA1 o MIZ1 con las proteínas ATG8, para el tránsito de regreso del Ca²⁺ del citosol al RE, a través de la generación o liberación de ECA1.

Así mismo, la región reguladora de la transcripción de algunos genes de la maquinaria de la autofagia contiene sitios hipotéticos de unión a la calmodulina, proteína de unión al Ca²⁺, lo que indica una posible regulación de la autofagia por el Ca²⁺. El descubrimiento futuro de la interacción entre la autofagia, el Ca²⁺ y el H₂O₂ durante la respuesta hidrotópica serán elementos clave que aporten una mayor información del comportamiento de la raíz en condiciones de escasez de agua y con elementos que permitan una mejor selección de plantas resistentes a esta.

Los autores declaran que no hay conflicto de intereses.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo recibió el apoyo del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, Universidad Nacional Autónoma de México (IN204220 and IN215523). Luis Castillo Olamendi y Gladys Jiménez Nopala cuentan con becas de doctorado y posdoctorado, respectivamente, otorgadas por CONAHCyT.

REFERENCIAS

- Akita, K. & Miyazawa, Y. (2022). The mechanosensitive Ca²⁺ channel, OSCA1.1, modulates root hydrotropic bending in *Arabidopsis thaliana*. *Environmental and Experimental Botany*, **197**, 104825. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2022.104825>
- Bassham, D. C. (2009). Function and regulation of macroautophagy in plants. *Biochim Biophys Acta*, **1793**(9), 1397-1403. DOI:10.1016/j.bbamcr.2009.01.001
- Bassham, D. C., Laporte, M., Marty, F., Moriyasu, Y., Ohsumi, Y., Olsen, L. J. & Yoshimoto, K. (2006). Autophagy in development and stress responses of plants. *Autophagy*, **2**(1), 2-11. DOI:10.4161/auto.2092

- Batistic, O. & Kudla, J. (2012). Analysis of calcium signaling pathways in plants. *Biochim. Biophys. Acta*, **1820**(8), 1283-1293. DOI:10.1016/j.bbagen.2011.10.012
- Bonza, M. C. & De Michelis, M. I. (2011). The plant Ca^{2+} -ATPase repertoire: biochemical features and physiological functions. *Plant Biol. (Stuttg)*, **13**(3), 421-430. DOI:10.1111/j.1438-8677.2010.00405.x
- Bose, J., Pottosin, II., Shabala, S. S., Palmgren, M. G. & Shabala, S. (2011). Calcium efflux systems in stress signaling and adaptation in plants. *Front Plant Sci.*, **2**, 85. DOI:10.3389/fpls.2011.00085
- Bu, F., Yang, M., Guo, X., Huang, W. & Chen, L. (2020). Multiple Functions of ATG8 Family Proteins in Plant Autophagy. *Front Cell Dev. Biol.*, **8**, 466. DOI:10.3389/fcell.2020.00466
- Carroll, R. C. & Peralta, E. G. (1998). The m3 muscarinic acetylcholine receptor differentially regulates calcium influx and release through modulation of monovalent cation channels. *EMBO J.*, **17**(11), 3036-3044. DOI:10.1093/emboj/17.11.3036
- Cassab, G. I., Eapen, D. & Campos, M. E. (2013). Root hydrotropism: an update. *Am. J. Bot.*, **100** (1), 14-24. DOI:10.3732/ajb.1200306
- Claeys, H. & Inze, D. (2013). The agony of choice: how plants balance growth and survival under water-limiting conditions. *Plant Physiol.*, **162** (4), 1768-1779. DOI:10.1104/pp.113.220921
- Demidchik, V., Shabala, S. N., Coutts, K. B., Tester, M. A. & Davies, J. M. (2003). Free oxygen radicals regulate plasma membrane Ca^{2+} - and K^{+} -permeable channels in plant root cells. *J. Cell Sci.*, **116**(Pt 1), 81-88. DOI:10.1242/jcs.00201
- Dietrich, D., Pang, L., Kobayashi, A., Fozard, J. A., Boudolf, V., Bhosale, R., Antoni, R., Nguyen, T., Hiratsuka, S., Fujii, N., Miyazawa, Y., Bae, T. W., Wells, D. M., Owen, M. R., Band, L. R., Dyson, R. J., Jensen, O.E., King, J. R., Tracy, S. R., Sturrock, C.J., Mooney, S. J., Roberts, J. A., Bhalerao, R. P., Dinneny, J. R., Rodriguez, P. L., Nagatani, A., Hosokawa, Y., Baskin, T. I., Pridmore, T. P., De Veylder, L., Takahashi, H. & Bennett, M. J. (2017). Root hydrotropism is controlled via a cortex-specific growth mechanism. *Nat. Plants*, **3**, 17057. DOI:10.1038/nplants.2017.57
- Duszyn, M., Swiezawska, B., Szmids-Jaworska, A. & Jaworski, K. (2019). Cyclic nucleotide gated channels (CNGCs) in plant signalling-Current knowledge and perspectives. *J. Plant Physiol.*, **241**, 153035. DOI:10.1016/j.jplph.2019.153035
- Foreman, J., Demidchik, V., Bothwell, J. H., Mylona, P., Miedema, H., Torres, M. A., Linstead, P., Costa, S., Brownlee, C. & Jones, J. D. (2003). Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth. *Nature*, **422**(6930), 442-446
- Garay-Arroyo, A., de la Paz Sánchez, M., García-Ponce, B., Álvarez-Buylla, E. R. & Crisanto, G. (2014). La Homeostasis de las Auxinas y su Importancia en el Desarrollo de *Arabidopsis thaliana*. *Rev. Educ. Bioquím.*, **33**(1), 13-22
- García Bossi, J., Kumar, K., Barberini, M. L., Domínguez, G. D., Rondón Guerrero, Y. D. C., Marino-Buslje, C., Obertello, M., Muschietti, J. P. & Estevez, J. M. (2020). The role of P-type IIA and P-type IIB Ca^{2+} -ATPases in plant development and growth. *Journal of Experimental Botany*, **71**(4), 1239-1248
- Gobert, A., Park, G., Amtmann, A., Sanders, D. & Maathuis, F. J. (2006). *Arabidopsis thaliana* cyclic nucleotide gated channel 3 forms a non-selective ion transporter involved in germination and cation transport. *J. Exp. Bot.*, **57**(4), 791-800. DOI:10.1093/jxb/erj064
- Hailey, D.W., Rambold, A.S., Satpute-Krishnan, P., Mitra, K., Sougrat, R., Kim, P. K. & Lippincott-Schwartz, J. (2010). Mitochondria supply membranes for autophagosome biogenesis during starvation. *Cell*, **141**(4), 656-667. DOI:10.1016/j.cell.2010.04.009
- Hamilton, E. S., Schlegel, A. M. & Haswell, E. S. (2015). United in diversity: mechanosensitive ion channels in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **66**, 113-137. DOI:10.1146/annurev-arplant-043014-114700
- Jaffe, M. J., Takahashi, H. & Biro, R. L. (1985). A Pea Mutant for the Study of Hydrotropism in Roots. *Science*, **230**(4724), 445-447. DOI:10.1126/science.230.4724.445
- Jammes, F., Yang, X., Xiao, S. & Kwak, J. M. (2011). Two *Arabidopsis* guard cell-preferential MAPK genes, MPK9 and MPK12, function in biotic stress response. *Plant Signal Behav.*, **6**(11), 1875-1877. DOI:10.4161/psb.6.11.17933
- Jimenez-Nopala, G., Salgado-Escobar, A. E., Cevallos-Porta, D., Cardenas, L., Sepulveda-Jimenez, G., Cassab, G. & Porta, H. (2018). Autophagy mediates hydrotropic response in *Arabidopsis thaliana* roots. *Plant Sci.*, **272**, 1-13. DOI:10.1016/j.plantsci.2018.03.026
- Kobayashi, A., Takahashi, A., Kakimoto, Y., Miyazawa, Y., Fujii, N., Higashitani, A. & Takahashi, H. (2007). A gene essential for hydrotropism in roots. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **104**(11), 4724-4729
- Krieger, G., Shkolnik, D., Miller, G. & Fromm, H. (2016). Reactive Oxygen Species Tune Root Tropic Responses. *Plant Physiol.*, **172**(2), 1209-1220. DOI:10.1104/pp.16.00660
- Kudla, J., Batistic, O. & Hashimoto, K. (2010). Calcium signals: the lead currency of plant information processing. *Plant Cell*, **22**(3), 541-563. DOI:10.1105/tpc.109.072686
- Lee, C. P., Maksae, G., Jensen, G. S., Murcha, M. W., Wilson, M. E., Fricker, M., Hell, R., Haswell, E. S., Millar, A. H. & Sweetlove, L. J. (2016). MSL1 is a mechanosensitive ion channel that dissipates mitochondrial membrane potential and maintains redox homeostasis in mitochondria during abiotic stress. *Plant J.*, **88**(5), 809-825. DOI:10.1111/tj.13301
- Lee, S., Lee, E. J., Yang, E. J., Lee, J. E., Park, A. R., Song,

- W. H. & Park, O. K. (2004). Proteomic identification of annexins, calcium-dependent membrane binding proteins that mediate osmotic stress and abscisic acid signal transduction in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, **16**(6), 1378-1391. DOI:10.1105/tpc.021683
- Manohar, M., Shigaki, T. & Hirschi, K. D. (2011). Plant cation/H⁺ exchangers (CAXs): biological functions and genetic manipulations. *Plant Biol. (Stuttg)*, **13**(4), 561-569. DOI:10.1111/j.1438-8677.2011.00466.x
- Marshall, R. S. & Vierstra, R. D. (2018). Autophagy: The Master of Bulk and Selective Recycling. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **69**, 173-208. DOI:10.1146/annurev-arplant-042817-040606
- Masclaux-Daubresse, C., Clement, G., Anne, P., Routaboul, J. M., Guiboileau, A., Soulay, F., Shirasu, K. & Yoshimoto, K. (2014). Stitching together the Multiple Dimensions of Autophagy Using Metabolomics and Transcriptomics Reveals Impacts on Metabolism, Development, and Plant Responses to the Environment in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, **26**(5), 1857-1877. DOI:10.1105/tpc.114.124677
- McAinsh, M. R. & Pittman, J. K. (2009). Shaping the calcium signature. *New Phytologist*, **181**(2), 275-294
- Meneghelli, S., Fusca, T., Luoni, L. & De Michelis, M. I. (2008). Dual mechanism of activation of plant plasma membrane Ca²⁺-ATPase by acidic phospholipids: evidence for a phospholipid binding site which overlaps the calmodulin-binding site. *Molecular Membrane Biology*, **25**(6-7), 539-546
- Miyazawa, Y., Takahashi, A., Kobayashi, A., Kaneyasu, T., Fujii, N. & Takahashi, H. (2009). GNOM-mediated vesicular trafficking plays an essential role in hydrotropism of *Arabidopsis* roots. *Plant Physiol.*, **149**(2), 835-840. DOI:10.1104/pp.108.131003
- Miyazawa, Y. & Takahashi, H. (2020). Molecular mechanisms mediating root hydrotropism: what we have observed since the rediscovery of hydrotropism. *J. Plant Res.*, **133**(1), 3-14. DOI:10.1007/s10265-019-01153-3
- Moller, I. M., Jensen, P. E. & Hansson, A. (2007). Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **58**, 459-481. DOI:10.1146/annurev-arplant.58.032806.103946
- Morgan, A. J. & Galione, A. (2014). Two-pore channels (TPCs): current controversies. *Bioessays*, **36**(2), 173-183. DOI:10.1002/bies.201300118
- Moriwaki, T., Miyazawa, Y., Fujii, N. & Takahashi, H. (2014). GNOM regulates root hydrotropism and phototropism independently of PIN-mediated auxin transport. *Plant Sci.*, **215**-216, 141-149. DOI:10.1016/j.plantsci.2013.11.002
- Moulton, D. E., Oliveri, H. & Goriely, A. (2020). Multiscale integration of environmental stimuli in plant tropism produces complex behaviors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **117**(51), 32226-32237. DOI:10.1073/pnas.2016025117
- Nakajima, Y., Nara, Y., Kobayashi, A., Sugita, T., Miyazawa, Y., Fujii, N. & Takahashi, H. (2017). Auxin transport and response requirements for root hydrotropism differ between plant species. *Journal of Experimental Botany*, **68**(13), 3441-3456. DOI:10.1093/jxb/erx193
- Perez-Perez, M. E., Lemaire, S. D. & Crespo, J. L. (2021). The ATG4 protease integrates redox and stress signals to regulate autophagy. *J. Exp. Bot.*, **72**(9), 3340-3351. DOI:10.1093/jxb/erab063
- Peyronnet, R., Haswell, E. S., Barbier-Brygoo, H. & Frachisse, J.-M. (2008). AtMSL9 and AtMSL10: Sensors of plasma membrane tension in *Arabidopsis* roots. *Plant signaling & Behavior*, **3**(9), 726-729
- Pirayesh, N., Giridhar, M., Ben Khedher, A., Vothknecht, U. C. & Chigri, F. (2021). Organellar calcium signaling in plants: An update. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res.*, **1868**(4), 118948. DOI:10.1016/j.bbamcr.2021.118948
- Porta, H. & Jimenez-Nopala, G. (2019). Papel de las hormonas vegetales en la regulación de la autofagia en plantas. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, **22**, 1-11. DOI: 10.22201/fesz.23958723e.2019.0.160
- Praveen, A., Dubey, S., Singh, S. & Sharma, V. K. (2023). Abiotic stress tolerance in plants: a fascinating action of defense mechanisms. *3 Biotech*, **13**(3), 102. DOI:10.1007/s13205-023-03519-w
- Price, M. B., Jelesko, J. & Okumoto, S. (2012). Glutamate receptor homologs in plants: functions and evolutionary origins. *Front Plant Sci.*, **3**, 235. DOI:10.3389/fpls.2012.00235
- Ravikumar, B., Moreau, K., Jahreiss, L., Puri, C. & Rubinsztein, D. C. (2010). Plasma membrane contributes to the formation of pre-autophagosomal structures. *Nat. Cell Biol.*, **12**(8), 747-757. DOI:10.1038/ncb2078
- Richards, S. L., Laohavisit, A., Mortimer, J. C., Shabala, L., Swarbreck, S. M., Shabala, S. & Davies, J. M. (2014). Annexin 1 regulates the H₂O₂-induced calcium signature in *Arabidopsis thaliana* roots. *The Plant Journal*, **77**(1), 136-145
- Rodriguez, A. A., Cordoba, A. R., Ortega, L. & Taleisnik, E. (2004). Decreased reactive oxygen species concentration in the elongation zone contributes to the reduction in maize leaf growth under salinity. *J. Exp. Bot.*, **55**(401), 1383-1390. DOI:10.1093/jxb/erh148
- Rubinsztein, D. C., Shpilka, T. & Elazar, Z. (2012). Mechanisms of autophagosome biogenesis. *Curr. Biol.*, **22**(1), R29-34. DOI:10.1016/j.cub.2011.11.034
- Sharp, R. E., Poroyko, V., Hejlek, L. G., Spollen, W. G., Springer, G. K., Bohnert, H. J. & Nguyen, H. T. (2004). Root growth maintenance during water deficits: physiology to functional genomics. *J. Exp. Bot.*, **55**(407), 2343-2351. DOI:10.1093/jxb/erh276
- Shkolnik, D., Nuriel, R., Bonza, M. C., Costa, A. & Fromm, H. (2018). MIZ1 regulates ECA1 to generate a slow, long-distance phloem-transmitted Ca²⁺ signal essential for root water tracking in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **115**(31), 8031-8036. DOI:10.1073/pnas.1804130115

- Soto-Burgos, J., Zhuang, X., Jiang, L. & Bassham, D. C. (2018). Dynamics of Autophagosome Formation. *Plant Physiol.*, **176**(1), 219-229. DOI:10.1104/pp.17.01236
- Swarbreck, S. M., Colaco, R. & Davies, J. M. (2013). Plant calcium-permeable channels. *Plant Physiol.*, **163** (2), 1514-522. DOI:10.1104/pp.113.220855
- Takahashi, H. & Scott, T. K. (1993). Intensity of hydrostimulation for the induction of root hydrotropism and its sensing by the root cap. *Plant Cell Environ.*, **16**, 99-103. DOI:10.1111/j.1365-3040.1993.tb00850.x
- Tanaka-Takada, N., Kobayashi, A., Takahashi, H., Kamiya, T., Kinoshita, T. & Maeshima, M. (2019). Plasma Membrane-Associated Ca²⁺-Binding Protein PCaP1 is Involved in Root Hydrotropism of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.*, **60**(6), 1331-1341. DOI:10.1093/pcp/pcz042
- Tsai, Y. C., Koo, Y., Delk, N. A., Gehl, B. & Braam, J. (2013). Calmodulin-related CML24 interacts with ATG4b and affects autophagy progression in *Arabidopsis*. *Plant J.*, **73**(2), 325-335. DOI:10.1111/tpj.12043
- Tuteja, N., Singh, M. B., Misra, M. K., Bhalla, P. L. & Tuteja, R. (2001). Molecular mechanisms of DNA damage and repair: progress in plants. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, **36**(4), 337-397. DOI:10.1080/20014091074219
- van Doorn, W. G. & Papini, A. (2013). Ultrastructure of autophagy in plant cells. *Autophagy*, **9** (12), 1922-1936. DOI:10.4161/autophagy.26275
- Veley, K. M., Maksaeve, G., Frick, E. M., January, E., Klopper, S. C. & Haswell, E. S. (2014). *Arabidopsis* MSL10 has a regulated cell death signaling activity that is separable from its mechanosensitive ion channel activity. *The Plant Cell*, **26**(7), 3115-3131
- Wang, Y. F., Munemasa, S., Nishimura, N., Ren, H. M., Robert, N., Han, M., Puzorjova, I., Kollist, H., Lee, S., Mori, I. & Schroeder, J. I. (2013). Identification of cyclic GMP-activated nonselective Ca²⁺-permeable cation channels and associated CNGC5 and CNGC6 genes in *Arabidopsis* guard cells. *Plant Physiol.*, **163**(2), 578-590. DOI:10.1104/pp.113.225045
- White, P. J. & Broadley, M. R. (2003). Calcium in plants. *Ann. Bot.*, **92**(4), 487-511. DOI:10.1093/aob/mcg164
- Wilkins, K. A., Matthus, E., Swarbreck, S. M. & Davies, J. M. (2016). Calcium-mediated abiotic stress signaling in roots. *Frontiers in Plant Science*, **7**, 1296
- Yang, X. & Bassham, D. C. (2015). New Insight into the Mechanism and Function of Autophagy in Plant Cells. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.*, **320**, 1-40. DOI:10.1016/bs.ircmb.2015.07.005
- Yin, Z., Pascual, C. & Klionsky, D. J. (2016). Autophagy: machinery and regulation. *Microb. Cell*, **3**(12), 588-596. DOI:10.15698/mic2016.12.546
- Yla-Anttila, P., Vihinen, H., Jokitalo, E. & Eskelinen, E. L. (2009). 3D tomography reveals connections between the phagophore and endoplasmic reticulum. *Autophagy*, **5**(8), 1180-1185. DOI:10.4161/auto.5.8.10274
- Yu, H., Yan, J., Du, X. & Hua, J. (2018). Overlapping and differential roles of plasma membrane calcium ATPases in *Arabidopsis* growth and environmental responses. *J. Exp. Bot.*, **69**(10), 2693-2703. DOI:10.1093/jxb/ery073
- Yuan, F., Yang, H., Xue, Y., Kong, D., Ye, R., Li, C., Zhang, J., Theprungsirikul, L., Shrift, T., Krichilsky, B., Johnson, D. M., Swift, G. B., He, Y., Siedow, J. N. & Pei, Z. M. (2014). OSCA1 mediates osmotic-stress-evoked Ca²⁺ increases vital for osmosensing in *Arabidopsis*. *Nature*, **514**(7522), 367-371. DOI:10.1038/nature13593
- Zaffagnini, G. & Martens, S. (2016). Mechanisms of Selective Autophagy. *J. Mol. Biol.*, **428**(9 Pt A), 1714-1724. DOI:10.1016/j.jmb.2016.02.004
- Zelman, A. K., Dawe, A., Gehring, C. & Berkowitz, G. A. (2012). Evolutionary and structural perspectives of plant cyclic nucleotide-gated cation channels. *Front. Plant Sci.*, **3**, 95. DOI:10.3389/fpls.2012.00095
- Zhuang, X., Chung, K. P., Cui, Y., Lin, W., Gao, C., Kang, B. H. & Jiang, L. (2017). ATG9 regulates autophagosome progression from the endoplasmic reticulum in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* **114**(3), E426-E435. DOI:10.1073/pnas.1616299114