



PROTEÍNAS G HETEROTRIMÉRICAS: SEÑALIZACIÓN DE PLANTAS EN CONDICIONES DE ESTRÉS AMBIENTAL

HETEROTRIMERIC G PROTEINS: PLANT SIGNALING UNDER ENVIRONMENTAL STRESS CONDITIONS

Talia F. Martínez-Bastidas^{1,2}, Rafael A. Romero-Castillo³, Luis A. Amarillas-Bueno^{1,2}, Melina López-Meyer⁴, Karina Ramírez⁵, J. Adriana Sañudo-Barajas¹, Tomas Osuna-Enciso¹, J. Basilio Heredia¹, Luis A. Lightbourn-Rojas² y Josefina León-Félix^{1*}

¹Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. km 5.5 Carr. a Eldorado. Culiacán, Sinaloa, México. ²Instituto de Investigación Lightbourn. km 2.5 Carr. a las Pampas s/n Tierra y Libertad. Chihuahua, México. ³Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Boulevard Adolfo Ruiz Cortines No. 5010. Colonia Insurgentes Cuicuilco, Delegación Coyoacán, Cd. de México. ⁴Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. Boulevard Juan de Dios Bátiz Paredes #250. Colonia San Joachin, Guasave, Sinaloa. ⁵División de Estudios de Posgrado e Investigación, Instituto Tecnológico de Culiacán. Avenida Juan de Dios Bátiz 310 Pte. Colonia Guadalupe, Culiacán, Sinaloa.

*Autor para correspondencia (l Josefina@ciad.mx)

RESUMEN

Las proteínas G perciben el ambiente extracelular a través de receptores en la membrana plasmática transmitiendo señales hacia moléculas de señalización en el interior de las células conocidas como efectores. En las plantas, estos efectores comprenden algunas proteínas reguladoras de la transcripción, enzimas metabólicas, fosfolipasas y proteínas de andamiaje de la vía MAPK. Las proteínas G en las plantas presentan características parecidas a sus homólogos en el sistema animal; sin embargo, las plantas poseen dos clases de proteínas G estructuralmente diferentes, las cuales son específicas de éstas. Por otro lado, este es el mecanismo por el cual las proteínas G transmiten señales a otras moléculas intracelulares en eventos de desarrollo de las plantas, así como su adaptación a condiciones de estrés ambiental, difiere del mecanismo de señalización de las proteínas G en el modelo animal. En algunas especies de plantas el mecanismo para controlar el estado activo de las proteínas G es mediante un receptor acoplado a proteínas G y por medio de una proteína reguladora de la señalización de proteínas G. En esta revisión se abordan aspectos en la estructura de las proteínas G en plantas, su participación en la señalización, algunos mecanismos de regulación de la activación de las proteínas G, las moléculas que se han propuesto como efectores y la participación de las proteínas G en eventos de estrés ambiental.

Palabras clave: Estrés, receptor acoplado a proteínas G, proteínas G, plantas, proteína reguladora de señalización de proteínas G.

SUMMARY

G-proteins perceive the extracellular environment through receptors on the plasma membrane and transmit signals to signaling molecules inside the cells known as effectors. In plants, these effectors comprise some transcription regulatory proteins, metabolic enzymes, phospholipases and scaffold proteins of the MAPK pathway. G proteins in plants have characteristics similar to their counterparts in the animal system; however, plants possess two classes of structurally different and specific G proteins. The mechanism by which G-proteins transmit signals to other intracellular molecules during plant development, as well as their adaptation to conditions of environmental stress, differs from the signaling mechanism of G-proteins in the animal model. In some plant species the mechanism for controlling the active state of G proteins is by a G-protein coupled receptor and by means of a G-protein

signaling regulatory protein. This review addresses aspects in the structure of G proteins in plants, their participation in signalling, some mechanisms of regulation of the activation of the G proteins, the molecules that have been proposed as effectors and the participation of the G proteins in events of environmental stress.

Index words: Stress, G protein coupled receptor, G proteins, plants, regulator of G protein signaling.

INTRODUCCIÓN

Las plantas enfrentan una amplia variedad de factores ambientales (Koyro *et al.*, 2012). Estos factores incluyen intensidad de luz, temperaturas extremas, salinidad, sequía, nutrientes, ozono y estrés anaeróbico, entre otros (Suzuki *et al.*, 2014). Debido a que las plantas son organismos sésiles, éstas responden a las condiciones ambientales a través de sistemas muy eficientes de señalización a nivel de membrana. Dentro de estos sistemas de membrana plasmática, se encuentran caracterizados en plantas los receptores ligados a enzimas y los acoplados a proteínas G (Tuteja y Sopory, 2008). Las proteínas G son moléculas que físicamente acoplan una señal percibida por un receptor en la membrana plasmática, hacia enzimas efectoras dentro de la célula (Temple y Jones, 2007). La señalización a través de proteínas G está implicada en una amplia variedad de procesos de desarrollo de las plantas, actividad de hormonas y respuesta a estrés biótico y abiótico (Ma *et al.*, 2015). Sin embargo, el papel que juegan las proteínas G en las plantas no ha sido completamente caracterizado (Chakraborty *et al.*, 2015a). En esta revisión se pone en contexto la forma en que las proteínas G transmiten las señales extracelulares hacia el interior de las células vegetales.

PROTEÍNAS G HETEROTRIMÉRICAS

Las proteínas G heterotriméricas (proteínas G) se encuentran dentro de los principales componentes del sistema de transducción de señales de los organismos eucariotas. Su función es transmitir señales extracelulares a componentes de señalización intracelular y mediar diversas respuestas fisiológicas (Urano *et al.*, 2013; Wolfenstetter *et al.*, 2015). Las proteínas G constan de tres subunidades, α ($G\alpha$), β ($G\beta$) y γ ($G\gamma$). Son proteínas citoplasmáticas y están consideradas entre los principales moderadores metabólicos intracelulares (Ma *et al.*, 1990). De acuerdo con el modelo clásico de señalización de las proteínas G, un receptor transmembránico acoplado a proteínas G (GPCR, G-protein coupled receptor) permite el intercambio del guanósín difosfato (GDP) por guanósín trifosfato (GTP) sobre la proteína $G\alpha$, en respuesta a un estímulo de una señal extracelular, lo que provoca la disociación de $G\alpha$ -GTP del dímero $G\beta\gamma$. Cada una de estas entidades tiene la capacidad de activar diferentes moléculas de señalización dentro de la célula e iniciar una respuesta celular (Jones *et al.*, 2011; Pandey, 2011). El heterotrímero ($G\alpha\beta\gamma$) se inactiva por la hidrólisis del GTP a GDP, la cual es acelerada por una proteína reguladora de señalización (RGS, regulator of G-protein signaling) (Urano *et al.*, 2015).

En plantas, se sugiere que no todas las proteínas que aceleran la actividad GTPasa (GAPs) pertenecen a la familia de las RGSs (Khalil *et al.*, 2011) y que pueden jugar un papel opuesto al observado en células animales, ya que en *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana*), la activación de las proteínas G depende de la internalización de RGS (AtRGS1), una GAP que actúa como un regulador negativo que mantiene a $G\alpha$ unida a GDP (Wolfenstetter *et al.*, 2015). Las proteínas G están involucradas en múltiples respuestas fisiológicas en plantas, como las inducidas por ácido abscísico (ABA), giberelinas y brasinoesteroides (Izawa *et al.*, 2010), a la luz azul y a la radiación UV (Warpeha *et al.*, 2007; Warpeha *et al.*, 2008), al estrés biótico y abiótico (Bhardwaj *et al.*, 2012), así como en la regulación de la actividad de canales iónicos (Gao *et al.*, 2010). Los genes de $G\alpha$, $G\beta$ y $G\gamma$ se han identificado, secuenciado y aislado en diferentes especies de plantas, pero a diferencia de los sistemas animales, el número de genes que codifican para los componentes de proteínas G heterotriméricas es menor.

En mamíferos se han descrito alrededor de 16 genes $G\alpha$, cinco genes $G\beta$, y seis genes $G\gamma$ (Gao *et al.*, 2010), mientras que en *Arabidopsis* y arroz (*Oryza sativa*) hay sólo una copia de $G\alpha$ y $G\beta$ (Choudhury *et al.*, 2011; Zhu *et al.*, 2009), y tres copias del gen $G\gamma$ en ambas especies (Trusov *et al.*, 2012; Yadav *et al.*, 2014). La presencia de sólo una copia de $G\alpha$ y $G\beta$ en *Arabidopsis* y arroz sugiere la especificidad de señalización por proteínas G y es proporcionada principal-

mente por la multiplicidad de $G\gamma$ (Choudhury *et al.*, 2011). Sin embargo, en plantas como chícharo (*Pisum sativum* L.) se han encontrado dos genes $G\alpha$ (Marsh y Kaufman, 1999), en soya (*Glycine max* L.) hasta cuatro genes $G\alpha$ y $G\beta$ y diez $G\gamma$ (Bisht *et al.*, 2011; Choudhury *et al.*, 2011), mientras que en pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) existen al menos un gen $G\alpha$ y uno $G\beta$ y tres genes $G\gamma$ (Romero-Castillo *et al.*, 2015) (Cuadro 1).

La subunidad α

La $G\alpha$ descrita en plantas, presenta un peso molecular aproximado de entre 39 y 52 kDa (Hossain *et al.*, 2003a; Kang *et al.*, 2001; Marsh y Kaufman, 1999; Saalbach *et al.*, 1999; Seo *et al.*, 1995). En su extremo amino, $G\alpha$ contiene sitios de interacción con el dímero $G\beta\gamma$ y sufre modificaciones postraduccionales de miristoilación/palmitoilación en su extremo amino, que le confieren afinidad con las membranas (Tuteja y Sopory, 2008). En este sentido, la presencia de sólo un tipo de modificación, ya sea miristoilación o palmitoilación es insuficiente para dirigir a $G\alpha$ a la membrana plasmática (Temple y Jones, 2007). Estructuralmente, $G\alpha$ contiene cinco regiones conocidas como cajas G (G1-G5) que están conservadas en las proteínas G y se encuentran involucradas con el enlace a GTP y su hidrólisis (Tuteja y Sopory, 2008; Urano *et al.*, 2013). La G1 puede unirse a grupos fosfato en los residuos de purina de las moléculas de GTP. La G2 es un sitio que permite la unión de $G\alpha$ con moléculas efectoras. La G3 participa en la unión a un ion Mg^{+2} asociado a un nucleótido.

Los residuos de la G4 hacen contacto con la guanina mediante puentes de hidrógeno, lo que exhibe alta afinidad a GTP sobre moléculas de ATP. Por su parte, en G5, existen aminoácidos que confieren especificidad con nucleótidos de guanina (Colicelli, 2004). En el extremo carboxilo de $G\alpha$ se ubican regiones interruptoras conocidas como Switch I, II y III (Figura 1). Estas regiones interruptoras interactúan con RGS cuando $G\alpha$ se encuentra en su estado de transición para la hidrólisis de GTP y tienen la función de terminar con la señalización y así inactivar a la proteína G (Soundararajan *et al.*, 2008). En el extremo carboxilo de $G\alpha$ se identificaron sitios *GoLoco* que evitan la liberación de GDP y el re-ensamble de $G\alpha$ con $G\beta\gamma$, lo que permite que $G\alpha$ permanezca unida al receptor y que $G\beta\gamma$ continúe interactuando con moléculas efectoras. Las moléculas reguladoras con sitios *GoLoco* actúan como inhibidores de la disociación de guanina (GDI, guanine nucleotide dissociation inhibitor) sobre $G\alpha$ (Kimple *et al.*, 2002).

El dímero $\beta\gamma$

La $G\beta$ tiene una masa molecular de alrededor de 35-36 kDa y pertenece a la familia de proteínas WD40 que

Cuadro 1. Componentes de proteínas G heterotriméricas en plantas.

Planta	Subunidad de proteínas G heterotriméricas			Referencia
	Gα	Gβ	Gγ	
Arabidopsis (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	GPA1	AGB1	AGG1	Ma <i>et al.</i> , 1990
			AGG2	Weiss <i>et al.</i> , 1994
			AGG3	Thung <i>et al.</i> , 2012
Arroz (<i>Oryza sativa</i>)	RGA1	RGB1	RGG1	Seo <i>et al.</i> , 1995
			RGG2	Ishikawa <i>et al.</i> , 1996
			RGG3	Yadav <i>et al.</i> , 2012
Pimiento (<i>Capsicum annuum</i>)	CaGα	CaGβ	CaGγ1	Romero-Castillo <i>et al.</i> , 2015
			CaGγ2	
			CaGγ3	
Chícharo (<i>Pisum sativum</i>)	PsGα1	PsGβ	PsGγ1	Misra <i>et al.</i> , 2007
	PsGα2		PsGγ2	
Trigo (<i>Triticum aestivum</i>)	TaGA1	TaGB1	-	Hossain <i>et al.</i> , 2003a
	TaGA2		-	Hossain <i>et al.</i> , 2003b
Tabaco (<i>Nicotiana tabacum</i>)	NtGPα1	NtGB3	-	Saalbach <i>et al.</i> , 1999
			-	Ando <i>et al.</i> , 2000
Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>)	TGA1	SIGB1	SIGGA1	Ma <i>et al.</i> , 1991
			SIGGB1	Subramaniam <i>et al.</i> , 2016
			SIGGB2	
			SIGGC1	
Papa (<i>Solanum tuberosum</i>)	STGA2	STGB2	-	Kang <i>et al.</i> , 2001
Maíz (<i>Zea mays</i>)	ZGA1	ZGB1	-	Weiss <i>et al.</i> , 1994
			-	Bommert <i>et al.</i> , 2013
Soya (<i>Glycine max</i>)	GmGα1	GmGβ1	GmGγ1	Bisht <i>et al.</i> , 2011
	GmGα2	GmGβ2	GmGγ2	Choudhury <i>et al.</i> , 2011
	GmGα3	GmGβ3	GmGγ3	
	GmGα4	GmGβ4	GmGγ4	
			GmGγ5	
			GmGγ6	
			GmGγ7	
			GmGγ8	
			GmGγ9	
			GmGγ10	

presentan un dominio de 40 aminoácidos, el cual a menudo termina en un dipéptido de triptófano (W)- ácido aspártico (D). Este dominio está relacionado con interacciones proteína-proteína (Tuteja y Sopory, 2008). El dominio WD40 se encuentra en el extremo carboxilo de Gβ y contiene los sitios de unión con moléculas efectoras y con Gα. La interacción con Gα ocurre en su estado inactivo unida a GDP, mientras que la interacción con efectores puede ocurrir después de la disociación con Gα (Urano *et al.*, 2013). En el extremo amino de Gβ se encuentra una estructura helicoidal que permite la interacción con Gγ, que es esencialmente irreversible bajo condiciones no desnaturizantes (Temple y Jones, 2007) (Figura 1). Por su parte, Gγ es

la subunidad más pequeña (de 6 a 10 kDa) y diversa desde un punto de vista estructural (Trusov *et al.*, 2012; Tuteja y Sopory, 2008). En su extremo amino forma una estructura en espiral con Gβ (Pellegrino *et al.*, 1997). La subunidad Gγ es esencial en el heterotrímero, no sólo por su estrecha unión a Gβ, sino por mantener al dímero Gβγ unido a la membrana plasmática (Trusov *et al.*, 2012). Algunas Gγ contienen en su extremo carboxilo una región factible de ser modificada postraduccionalmente por prenilación, crucial para su anclaje a la membrana plasmática (Temple y Jones, 2007; Urano *et al.*, 2013; Wolfenstetter *et al.*, 2015). Aunque varias Gγ en plantas no presentan esta región de prenilación en su extremo carboxilo, se ha propuesto una

clasificación con base en su estructura (Urano *et al.*, 2013). La clase A incluye Gy pequeñas que contienen el sitio de prenilación CaaX (CaaX significa Cisteína, dos residuos con cadenas laterales alifáticas y X es cualquier residuo). La clase B está conformada por subunidades parecidas a la clase A, pero no contienen el sitio CaaX, por lo cual se presume que los dímeros G $\beta\gamma$ formados con esta clase de subunidad γ , podrían no localizarse en la membrana plasmática. La clase C, corresponde a las subunidades que contienen un dominio amino terminal similar a las clásicas Gy, un dominio transmembranal y un dominio carboxilo terminal rico en cisteínas, lo cual podría conferirles una localización extracelular (Botella, 2012; Urano *et al.*, 2013) y, por lo tanto, capaces de percibir y transmitir señales extracelulares (Wolfenstetter *et al.*, 2015) (Figura 1).

CARACTERIZACIÓN DE PROTEÍNAS G EN PLANTAS

Los genes de las subunidades α , β y γ de las proteínas G, se han aislado y caracterizado en diferentes especies de plantas. En 1990 se aisló el gen que codifica para la subunidad G α de *Arabidopsis*, llamado GPA1, el cual co-

difica una proteína de 383 aminoácidos (44.5 kDa). Esta proteína tiene 36 % de identidad con otras G α de mamíferos (Ma *et al.*, 1990). Posteriormente, se identificó el gen G α de tomate (*Solanum lycopersicum*), TGA1, que codifica una proteína de 384 aminoácidos (44.9 kDa) y tiene una identidad de 84.6 % con GPA1 (Ma *et al.*, 1991). Seo *et al.* (1995) aislaron el gen para G α de arroz, RGA1, que codifica un polipéptido de 380 aminoácidos (44.5 kDa) y presenta una identidad de 74.5 % con TGA1 y 73.9 % con GPA1. Weiss *et al.* (1994) aislaron de *Arabidopsis* y maíz (*Zea mays* L.) el gen de la subunidad β de proteínas G, denominados AGB1 y ZGB1, respectivamente. Los genes de AGB1 y ZGB1 codifican una proteína de 377 aminoácidos (40.9 kDa) y 380 aminoácidos (41.6 kDa), respectivamente, y presentan una identidad de 76 % entre ellos y una homología de 41 % con otras G β de humanos. El gen G β de arroz, RGB1, que codifica una proteína de 380 aminoácidos (41.7 kDa) fue identificado por Ishikawa *et al.* (1996). Por otro lado, en *Arabidopsis* se aisló el gen Gy (AGG1) que codifica una proteína de 98 aminoácidos (10.8 kDa) con regiones altamente conservadas con las Gy de mamíferos (Mason y Botella, 2000). Se caracterizaron dos genes G α en trigo

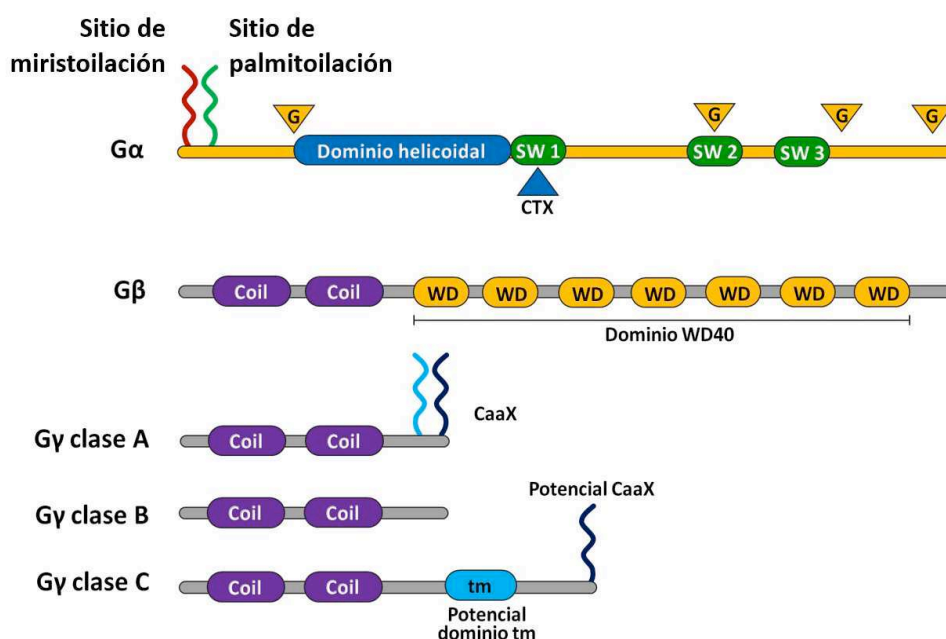


Figura 1. Estructura de las subunidades G α , G β y Gy de las proteínas G en plantas. G α contiene cinco regiones conocidas como Cajas G (G) relacionadas con la interacción de G α con GTP y efectores. En el extremo carboxilo de G α se encuentran regiones interruptoras conocidas como Switch I, II y III (SW 1, SW 2 y SW 3) relacionadas con la interacción con RGS. G β contiene un dominio WD40 (WD) en su extremo carboxilo, el cual contiene los sitios de unión con G α , y una estructura helicoidal (Coil) en su extremo amino que permite la interacción con Gy. Las subunidades Gy se clasifican en tres tipos: A, B y C, y presentan en su extremo amino una estructura en espiral (Coil) que le confiere afinidad con G β . Las Gy tipo C, son dos veces más grandes que el resto de las Gy, presentan una región transmembrana (tm) y un dominio carboxilo terminal rico en cisteínas extracelular (Modificada de Urano *et al.*, 2013).

(*Triticum* spp.), *TaGA1* y *TaGA2*, que codifican proteínas de 383 aminoácidos (51.3 kDa) y 390 aminoácidos (52.5 kDa), respectivamente (Hossain *et al.*, 2003a). Además de *Arabidopsis* y arroz, los componentes de proteínas G también han sido caracterizados completamente en algunas especies de plantas con importancia económica en la agricultura (Cuadro 1). La caracterización de los componentes de proteínas G heterotriméricas ha permitido entender su participación en la germinación, crecimiento de la raíz y en la respuesta de la planta a estrés biótico y abiótico (Perfus-Barbeoch *et al.*, 2004).

EFFECTORES EN PLANTAS

Cuando las proteínas G son activadas, $G\alpha$ -GTP y $G\beta\gamma$ se separan y cada una de estas moléculas puede interactuar con diferentes proteínas conocidas como efectores, para continuar una cascada de señalización en la célula (Cabrera-Vera *et al.*, 2003). Estos efectores de proteínas G en mamíferos se encuentran bien caracterizados, entre ellos algunas fosfolipasas, fosfodiesterasas, adenilil y guanilil ciclasas, y cinasas (Lapik y Kaufman, 2003). En plantas, la manera que las proteínas G transmiten las señales a otras moléculas es poco conocida (Lapik y Kaufman, 2003; Tuteja y Sopory, 2008). En *Arabidopsis* se identificó la proteína PRN1 que interactúa con GPA1 en la germinación y en la floración de la planta. PRN1 es un homólogo de la proteína Pirin en mamíferos, que interactúa físicamente con factores de transcripción de unión a la caja CAAT, lo que regula la actividad de un gran número de factores de transcripción. Es así, como la unión de GPA1 y PRN1 representa una forma de regulación transcripcional en plantas (Lapik y Kaufman, 2003).

Otro candidato como efector en plantas es la proteína RACK (receptor para cinasa C activada), regulada por $G\alpha$ durante el desarrollo embrionario y germinación de semillas en arroz (Komatsu *et al.*, 2005). THF1 (proteína de formación de tilacoide) es otro efector en plantas. En *Arabidopsis* se ha demostrado que THF1 interactúa con GPA1 en respuesta a altos niveles de azúcar. Las mutantes con pérdida de función de THF1 (*thf1*) en *Arabidopsis*, presentaron hipersensibilidad a D-glucosa exógena. THF1 es una proteína localizada en la membrana externa de los plastos e interactúa con GPA1 cuando la membrana del plasto está en contacto con la membrana plasmática, para mediar señales en procesos como la síntesis de almidón en plastos de la raíz (Huang *et al.*, 2006). Las fosfolipasas C (PLC) y D (PLD) son otro tipo de efectores regulados por proteínas G en plantas (Perfus-Barbeoch *et al.*, 2004). Durante la regulación de la apertura de estomas, PLC y PLD actúan como efectores en la respuesta a ABA (Jacob *et al.*, 1999; Wang *et al.*, 2001; Zhang *et al.*, 2004).

En *Arabidopsis* se identificaron dominios críticos para la interacción física entre GPA1 y un tipo de PLD, la PLD α 1 (Zhao y Wang, 2004). Adicionalmente, Gookin y Assmann (2014) demostraron la interacción de GPA1 y AGB1 de *Arabidopsis* con PLD α 1, donde GPA1 y AGB1 pueden regular de manera diferencial a PLD α 1, una vez disociadas del heterotrímero ($G\alpha$ y $G\beta\gamma$). Misra *et al.* (2007) documentaron que un tipo de PLC, la PLC δ , es otro efector de $G\alpha$ que estimula la actividad GTPasa de la misma. Por otro lado, una proteína citosólica identificada en *Arabidopsis*, llamada prefenato dehidratasa (PD1) que tiene interacción con GPA1, juega un papel en la síntesis de fenilpiruvato y subsecuente producción de fenilalanina, mediada por luz azul. Ante la exposición a esta luz se induce la activación de GCR1 (receptor acoplado a proteínas G) y GPA1, se activa a PD1 y se produce fenilalanina (precursor de fenilpropanoides) como protección de la planta ante el estrés (Warpeha *et al.*, 2006). PD1 es un efector de GPA1 en la cascada de señalización para desencadenar la resistencia a la radiación UV en *Arabidopsis*. La síntesis de fenilpropanoides como material de protección de la planta ante la radiación UV, sigue la ruta GCR1-GPA1-PD1 (Warpeha *et al.*, 2008). En este sentido, He *et al.* (2013) encontraron que la radiación UV-B provoca un incremento en la producción de H_2O_2 y subsecuente acumulación de óxido nítrico (NO) que induce el cierre estomático en *Arabidopsis*, respuesta mediada por GPA1.

MECANISMOS DE REGULACIÓN DE LAS PROTEÍNAS G HETEROTRIMÉRICAS

Las proteínas G heterotriméricas son mediadoras de estímulos extracelulares hacia el interior celular a través de receptores y efectores (Choudhury y Pandey, 2015; Offermanns, 2003; Schappi *et al.*, 2014). Este sistema de transducción de señales incluye además otros factores que intervienen en el proceso de la señalización, como las proteínas aceleradoras de la actividad GTPasa (GAPs) y las proteínas inhibidoras de la disociación del nucleótido guanina (GDIs), que regulan negativa y positivamente a $G\alpha$, respectivamente (Temple *et al.*, 2010). Entonces la subunidad $G\alpha$ puede ser activada por factores de intercambio del nucleótido guanina (GEFs) y su activación puede ser inhibida por GDIs, mientras que su desactivación puede ser acelerada por una RGS que se une a $G\alpha$ y acelera su actividad GTPasa (Offermanns, 2003; Sprang, 1997; Siderovski y Willard, 2005; Temple *et al.*, 2010). Aunado a lo anterior, existen estimuladores extracelulares, conocidos como ligandos, que se unen a los receptores y que provocan cambios en su conformación, lo que estimula el intercambio de nucleótidos en $G\alpha$ ($GDP \rightarrow GTP$). La unión de $G\alpha$ -GTP ocasiona la disociación del heterotrímero en $G\alpha$ -GTP y $G\beta\gamma$, cada entidad interactúa con los efectores y la señal es finalizada mediante la hidrólisis de GTP que puede ser

acelerada por una proteína RGS, lo que regresa a la proteína G a su estado inactivo (Pandey y Assmann, 2004).

Mecanismos mediados por un receptor acoplado a proteínas G y por una proteína reguladora de señalización

Los receptores acoplados a proteínas G o GPCRs son factores de intercambio del nucleótido guanina (GEF, guanine nucleotide exchange factor). Su principal característica es presentar un dominio que contiene siete regiones transmembranales (7TM) altamente conservadas (Urano y Jones, 2013). En *Arabidopsis* se encontró el gen *GCR1* que codifica una proteína con una alta similitud en su secuencia de aminoácidos a un GPCR de mamíferos, además de una estructura clásica 7TM con su extremo amino fuera y su extremo carboxilo dentro de la membrana plasmática, característica de los GPCRs (Josefsson y Rask, 1997). Así mismo, se demostró que *GCR1* interactúa físicamente con *GPA1* y actúa como regulador negativo en la respuesta a ABA en *Arabidopsis* (Pandey y Assmann, 2004). En otros trabajos, se reporta que *GCR1* participa junto con *GPA1* en una ruta de señalización responsable de la síntesis de fenilpropanoides mediada por luz azul (Warpeha *et al.*, 2006). Chicharo y arroz contienen un único gen que codifica para GPCR, denominados *PsGPCR* y *OsGPCR*, respectivamente; los cuales generan en su secuencia de aminoácidos una región 7TM (Misra *et al.*, 2007; Yadav y Tuteja, 2011). Otros candidatos a receptores tipo GPCR han sido propuestos en plantas, tales como *GTG1*, *GTG2* (Pandey *et al.*, 2009) y las proteínas *MLO* (Urano y Jones, 2013); sin embargo, las plantas utilizan un sistema de regulación de señales diferente al reportado en mamíferos.

En este mecanismo de señalización en plantas la proteína RGS juega un papel muy importante (Urano *et al.*, 2013). La proteína RGS en *Arabidopsis*, *AtRGS1*, tiene una topología parecida a un GPCR con un dominio 7TM, un extremo amino extracelular y un extremo carboxilo intracelular. El extremo carboxilo contiene una caja RGS que se caracteriza por unirse y acelerar la actividad GTPasa de *GPA1* (Chen *et al.*, 2003). Se han reportado genes que codifican para estas proteínas transmembránicas de 7TM-RGS en plantas vasculares, pero hasta el momento no se han reportado en plantas no vasculares y gramíneas (Phan *et al.*, 2013), donde aún se desconoce el mecanismo de regulación del estado activo de las proteínas G (Urano y Jones, 2014). En *Arabidopsis*, *GPA1* no requiere de un GEF para su activación, porque se disocia de manera espontánea de GDP y establece un fuerte enlace con GTP, donde *AtRGS1* actúa como una GAP regulada por glucosa (Johnston *et al.*, 2007). Con una D-glucosa u otro tratamiento como ligando, *AtRGS1* es fosforilada en su extremo C-terminal por una proteína quinasa de la familia de las WNK (*AtWNK8*),

que promueve la endocitosis de *AtRGS1*. La endocitosis de *AtRGS1* interrumpe su actividad de GAP y es probablemente el mecanismo utilizado para mantener activa la señalización por proteínas G en la membrana plasmática (Urano *et al.*, 2012; Urano *et al.*, 2013).

Debido a que *GPA1* no requiere un GEF para su activación, la existencia de un receptor acoplado a proteínas G (GPCR) ha sido una interrogante en el reino de las plantas. La utilización de diferentes servidores para predecir el plegamiento de una proteína (I-TASSER, LOMETS, HHpred, FUGUE y Phyre) indican que *GCR1* es el único candidato en plantas como posible GPCR (Taddese *et al.*, 2014). *GCR2* fue reportado como un homólogo humano de la lantionina sintetasa bacteriana (Gao *et al.*, 2007). *GTG1* y *GTG2* son homólogos de la proteína *GPR89a*, la cual es una proteína reguladora del pH del aparato de Golgi (Urano *et al.*, 2013). Por otro lado, las proteínas *MLO* presentan un dominio 7TM, pero no se ha podido confirmar su acoplamiento con proteínas G (Urano y Jones, 2013). En apoyo a la hipótesis de que *GCR1* es un GPCR en plantas, Chakraborty *et al.* (2015b) realizaron un análisis del transcriptoma bajo las mismas condiciones para *GPA1* y *GCR1* en el cual compararon los genes de respuesta identificados para *GPA1* y *GCR1*, en el que encontraron 104 genes en común, que corresponden a 26 y 30 % del total de los genes de respuesta identificados, respectivamente. Es decir, que *GCR1* y *GPA1* además de regular algunos genes en común, juegan un papel totalmente independiente entre sí.

Otros mecanismos de regulación de señales

La regulación de la señalización por proteínas G involucra dos familias de proteínas, la familia de las proteínas RGS y la familia de las proteínas que contienen el motivo *GoLoco* (Mendoza *et al.*, 2014). Como se mencionó anteriormente, las proteínas RGS tienen una actividad GAP, que acelera el cambio de GTP a GDP, lo que inactiva al heterotrímero (Jones *et al.*, 2011). Las plantas inferiores y las gramíneas no presentan RGS, por lo que se asume que tienen otro mecanismo de regulación del estado activo de Gq (Urano y Jones, 2014). No obstante, aunque se ha descrito que proteínas que contienen el motivo *GoLoco* pueden unirse a Gq-GDP e inhibir la disociación del heterotrímero, en plantas estas proteínas no han sido estudiadas (Kimple *et al.*, 2002). En arroz, la subunidad Gq presenta en el extremo amino de su secuencia de aminoácidos un motivo *GoLoco* lo cual indica que podría actuar como GDI (Yadav *et al.*, 2013). Por otro lado, la presencia de un dominio rico en cisteína en el extremo carboxilo de *AGG3* (Gy3 de *Arabidopsis*) la convierte en una subunidad atípica dentro de las Gy (Chakraborty *et al.*, 2011). El dominio CaaX rico en cisteína en el extremo carboxilo de *AGG3* posee una región extracelular que podría estar involucrada en la percepción

de estímulos extracelulares (Wolfenstetter *et al.*, 2015).

RESPUESTA A ESTRÉS ABIÓTICO MEDIADA POR PROTEÍNAS G HETEROTRIMÉRICAS

El estrés abiótico en las plantas puede ser ocasionado por factores ambientales como las temperaturas extremas, la baja o alta radiación, condiciones de sequía, escases de nutrientes en el suelo, o elevada salinidad en el suelo (Koyro *et al.*, 2012). Las plantas responden e incluso se adaptan a condiciones de estrés ambiental de una manera compleja e integrada (Öktem *et al.*, 2008). Algunas formas en que las plantas se adaptan y toleran el estrés incluyen cambios fisiológicos como reducción del área foliar, abscisión y marchitez de hojas, estimulación del crecimiento radicular, alteración en el contenido de agua, producción de especies reactivas de oxígeno, entre otras. Por otro lado, las respuestas moleculares de la planta al estrés abiótico incluyen la percepción y transducción de señales, expresión de genes y cambios metabólicos (Lata *et al.*, 2011). Este sistema de comunicación celular permite que las células coordinen estímulos ambientales e intracelulares, lo que integra las señales extracelulares a una respuesta intracelular mediante moléculas efectoras a través de las proteínas G, donde éstas llegan a regular alrededor del 80 % de las señales extracelulares a través de las membranas en las plantas (Yadav *et al.*, 2014). Las proteínas G están asociadas con la respuesta de la planta al estrés abiótico (Cuadro 2).

Radiación

La radiación ultravioleta (UV) comprende alrededor del 8 % de la radiación solar total y se divide en tres tipos: UV-C, UV-B y UV-A, debido a su rango de longitud de onda. La radiación UV-B es de particular interés porque puede causar una variedad de daños en las plantas como inducción del cierre estomático que puede afectar la eficiencia del intercambio de gases, cambios en la anatomía y grosor de la hoja que pueden afectar el entorno de luz de la hoja, cambios en la morfología del dosel que pueden afectar la morfología de la planta (Hollósy, 2002). Las plantas responden a la radiación UV-B lo que estimula mecanismos de protección, el más común es la biosíntesis de compuestos fenólicos y flavonoides que absorben este tipo de radiación (Frohnmeier y Staiger, 2003).

Warpeha *et al.* (2006) demostraron que la luz azul induce la acumulación de fenilpiruvato y subsecuente fenilalanina (Phe) en plántulas etioladas de *Arabidopsis* mediante la acción de la pefenato dehidratasa (PD1). GCR1-GPA1-PD1 forman parte de una cadena de señalización, donde GPA1 interactúa con PD1, enzima responsable de la conversión de pefenato a fenilpiruvato. La radiación UV-B también puede estimular la actividad de PD1 mediante la misma ruta GCR1-GPA1-PD1, donde PD1 actúa como efector de GPA1 y son críticos para la síntesis de fenilpropanoides en la resistencia a los daños ocasionados por la radiación UV

Cuadro 2. Respuesta de las proteínas G a condiciones de estrés ambiental.

Proteínas G	Radiación	Temperatura	Salinidad
Subunidad G α	-Síntesis de pigmentos fenilpropanoides en <i>arabidopsis</i> -Producción de H ₂ O ₂ y NO asociados con el cierre de estomas en <i>arabidopsis</i>	-Respuesta a temperatura baja dependiente de ABA en arroz -Tolerancia a temperatura alta en chícharo -Tolerancia a temperatura alta en <i>arabidopsis</i> -Tolerancia a temperatura baja en <i>arabidopsis</i>	-Respuesta a concentraciones altas de Na ⁺ en arroz -Tolerancia a concentraciones altas de Na ⁺ en chícharo -Tolerancia a concentraciones altas de Na ⁺ en <i>arabidopsis</i> -Respuesta a concentraciones altas de K ⁺ en arroz
Subunidad G β		-Respuesta a temperatura baja independiente de ABA en arroz -Tolerancia a temperatura alta en chícharo	-Tolerancia a concentraciones altas de Na ⁺ en <i>arabidopsis</i> -Respuesta a concentraciones altas de Na ⁺ en canola
Subunidad G γ		-Respuesta a temperatura baja dependiente de ABA en arroz	-Respuesta a concentraciones altas de Na ⁺ en arroz

en *Arabidopsis* (Warpeha *et al.*, 2008). En *Arabidopsis*, el mecanismo de señalización a través de GCR1 y GPA1 puede redistribuir las señales a través de diferentes efectores en los estados de desarrollo de la planta, en diferentes tejidos y en respuesta al estrés abiótico (Warpeha *et al.*, 2007). Una respuesta de las plantas al efecto de la radiación UV fue observada en mutantes de *Arabidopsis*, donde GPA1 transmitió señales por radiación UV-B, lo cual indujo la síntesis de H_2O_2 que es esencial para la producción de NO que regula el cierre de los estomas en las hojas por el efecto de la radiación UV-B (He *et al.*, 2013).

Temperatura

El estrés ocasionado por las temperaturas extremas puede afectar el crecimiento y producción de las plantas (Zhang *et al.*, 2015). La temperatura puede detonar mecanismos de tolerancia en la planta para adaptarse al estrés ambiental. Estos mecanismos incluyen la activación de elementos que regulan la transcripción de genes y se ha reportado que a través del GPCR, las proteínas G heterotriméricas participan en la tolerancia al estrés abiótico en células vegetales (Yadav y Tuteja, 2011). Por otro lado, ABA interviene en el desarrollo de las plantas, así como en su adaptación al estrés abiótico provocado por bajas temperaturas, salinidad y sequía, además de ser un regulador de las vías de señalización mediadas por proteínas G (Alvarez *et al.*, 2011). En arroz se ha reportado que el gen *Ga* (*RGA1*) es sobre-regulado por el estrés ocasionado por el frío, mientras que el calor ocasiona una regulación baja de *RGA1*. La proteína *RGA1* participa en la respuesta al estrés ocasionado por la temperatura en rutas dependientes de ABA, lo que regula la transcripción de genes a través de elementos de respuesta a estrés presentes en la región promotora del gen (Yadav *et al.*, 2013).

Yadav *et al.* (2012) señalan que las subunidades Gy1 y Gy2 de arroz (*RGG1* y *RGG2*) pueden mostrar alta actividad en respuesta al estrés ocasionado por bajas temperaturas en la planta, mediante la activación de elementos de respuesta a estrés por temperaturas bajas (LTRs) presentes en la región promotora de los genes *RGGs*. *RGG1* y *RGG2*, al igual que *RGA1* siguen una ruta dependiente de ABA en la respuesta al estrés por temperatura en arroz. Por su parte, la señalización por el estrés ocasionado por calor en arroz, es independiente de *RGA1*, *RGG1* y *RGG2* (Yadav *et al.*, 2012; Yadav *et al.*, 2013). Por el contrario, las subunidades G α y G β de chícharo (PsG α y PsG β , respectivamente), confieren a la planta resistencia a temperaturas altas (Misra *et al.*, 2007). En arroz, la subunidad G β , RGB1, participa en la señalización del estrés ocasionado por frío a través de LTRs mediante vías independientes de ABA.

La localización de RGB1 en el núcleo revela que puede

jugar un papel más amplio y regular la expresión de ciertos genes (Yadav *et al.*, 2014). Al igual que RGB1, la subunidad G β de *Arabidopsis* (AGB1) ha sido localizada en el núcleo y la interacción de AGB1 con factores de transcripción ha sido reportada (Klopfleisch *et al.*, 2011), lo cual sugiere otra forma de regular la tolerancia al estrés abiótico en las plantas (Yadav *et al.*, 2014). Por otro lado, Chakraborty *et al.*, (2015c) encontraron que en *arabidopsis* tanto GCR1 como GPA1 regulan el incremento de los niveles de enzimas como la superóxido dismutasa, ascorbato peroxidasa y catalasa, las cuales mantienen niveles bajos de ROS (especies reactivas de oxígeno) como respuesta de la planta al estrés ocasionado principalmente por la temperatura baja seguido del estrés que ocasiona la temperatura alta.

Salinidad

La salinidad impone un efecto de escasez hídrica y de toxicidad iónica que altera los procesos primarios de transporte a través de desórdenes nutricionales, metabólicos, de crecimiento, de desarrollo y en la homeostasis (Khatri y Mudgil, 2015). Para atender los problemas que se presentan en los cultivos por efecto de la salinidad, es necesario un mejor entendimiento de las bases moleculares y fisiológicas que faciliten la ingeniería de los cultivos en la tolerancia al estrés salino (Colaneri *et al.*, 2014). En chícharo, se observó que PsG α confiere tolerancia a este tipo de estrés, mientras que PsG β no participa, donde, PLC aparece como una molécula efectora en la señalización mediada por G α en respuesta a la salinidad en chícharo (Misra *et al.*, 2007). En *Arabidopsis*, GCR1 y GPA1 responden a altas concentraciones de Na^+ , que regulan enzimas a nivel post-traducciona l y mantienen los niveles bajos de especies reactivas de oxígeno (ROS) durante la tolerancia de la planta al estrés por salinidad.

Por otro lado, AGB1 regula de manera positiva la expresión de genes involucrados en la síntesis de prolina para la regulación de la presión osmótica en respuesta al estrés por salinidad. Además AGB1 parece estar involucrado en rutas dependientes de ABA en la respuesta al estrés por salinidad, debido a la presencia de elementos de respuesta a ABA (ABRE) en la región promotora del gen (Ma *et al.*, 2015). Sin embargo, en arroz *RGA1*, *RGB1*, *RGG1* y *RGG2* presentan elementos de respuesta a ABA en la región promotora de sus genes y un elemento de respuesta inducida por salinidad (GT-1 motif). La exposición a condiciones de salinidad y ABA causa la expresión de *RGA1*, *RGG1* y *RGG2*. Esto sugiere la participación de *RGA1*, *RGG1* y *RGG2* en la tolerancia al estrés por salinidad en arroz y la posible función específica en vías de señalización reguladas por ABA en la respuesta a este tipo de estrés (Yadav *et al.*, 2012; Yadav *et al.*, 2013; Yadav *et al.*, 2014). Aunque el perfil de transcripción de RGB1 no mostró cambios significativos

en la exposición a ABA, el estrés por salinidad causó la expresión de *RGB1*, lo cual sugiere que *RGB1* transduce señales extracelulares por sí sola o mediante la interacción con factores de transcripción en el núcleo (Yadav *et al.*, 2014).

PERSPECTIVAS DE LAS PROTEÍNAS G EN LA AGRICULTURA

Las plantas interactúan con un gran número de factores ambientales y han desarrollado mecanismos que les permiten adaptarse a condiciones de estrés. El estrés abiótico es de los más importantes porque ocasiona pérdidas en el rendimiento de los cultivos (Rejeb *et al.*, 2014). Los mecanismos de respuesta de las plantas al estrés como la temperatura alta o baja, salinidad y sequía proveen información acerca de los cambios en las plantas a nivel fisiológico, bioquímico y de expresión de genes. El complejo heterotrimérico de proteínas G y el GPCR en las plantas encienden rutas de señalización como respuesta de las plantas durante la regulación del estrés abiótico (Chakraborty *et al.*, 2015c). Las proteínas G tienen una respuesta directa a la salinidad (Colaneri *et al.*, 2014; Misra *et al.*, 2007), sequía (Xu *et al.*, 2015), temperatura (Yadav *et al.*, 2012; Yadav *et al.*, 2013; Yadav *et al.*, 2014), radiación (Warpeha *et al.*, 2008), así como la señalización mediada por ABA (Alvarez *et al.*, 2011). Estos hallazgos han colocado a las proteínas G dentro de los blancos moleculares en la manipulación de los cultivos frente al estrés ambiental.

Por otro lado, la participación de otras moléculas dentro de esta compleja red de señalización extiende el abanico de oportunidades en la agricultura, ya que se ha encontrado que la presencia de la subunidad G β en el núcleo permite la transducción de estímulos que interactúan con factores de transcripción lo que regula la expresión de algunos genes (Yadav *et al.*, 2014). En *arabidopsis*, *AGB1* está implicada en la regulación de *AtMPK6* lo que modula la interacción de *AtMPK6* con otros componentes en respuesta a ABA y deshidratación (Xu *et al.*, 2015). En respuesta a salinidad, *AtRGS1* percibe Na⁺, el NaCl incrementa los niveles de azúcar en las células de hojas y raíz, lo cual ocasiona la internalización de *AtRGS1* y la consiguiente activación de las proteínas G que permiten la sobrevivencia de la planta al estrés por salinidad (Colaneri *et al.*, 2014). El análisis y la integración del conocimiento que ha sido generado a partir de la caracterización de las proteínas G y el resto de sus componentes de señalización han permitido identificar a este complejo sistema de transducción de señales como potenciales herramientas genéticas que puedan ser usados en la tolerancia de los cultivos al estrés ambiental.

CONCLUSIONES

El amplio conocimiento adquirido acerca de las proteínas G marca la pauta para individualizar su estudio en plantas. A pesar de las similitudes con sus homólogos en el modelo animal, el mecanismo de señalización a través de proteínas G difiere incluso entre diferentes grupos de plantas, ya que en cereales se desconoce la forma de regulación de la señalización por proteínas G; sin embargo, en arroz, la presencia de sitios GoLoco en G α , puede ser una forma de regulación de la señalización. En las plantas las proteínas G no dependen totalmente de un GPCR para activar a otras moléculas. La G γ podría jugar un papel importante, tanto de especificidad como de percepción de señales, al poseer una región extracelular. Aunque queda mucho por estudiar acerca de este complejo sistema de señalización, el acercamiento a potenciales blancos en la agricultura para desarrollar la tolerancia de las plantas a múltiples condiciones de estrés ambiental es a través del enfoque a estos estudios.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez S., L. M. Hicks and S. Pandey (2011) ABA-dependent and -independent G-protein signaling in *Arabidopsis* roots revealed through and iTRAQ proteomics approach. *Journal of Proteome Research* 10:3107-3122.
- Ando S., S. Takumi, Y. Ueda, T. Ueda, N. Mori and C. Nakamura (2000) *Nicotiana tabacum* cDNAs encoding α and β subunits of a heterotrimeric GTP-binding protein isolated from hairy root tissues. *Genes & Genetic Systems* 75:211-221.
- Bhardwaj D., S. Lakhanpaul and N. Tuteja (2012) Wide range of interacting partners of pea G β subunit of G-proteins suggests its multiple functions in cell signaling. *Plant Physiology and Biochemistry* 58:1-5.
- Bisht N. C., J. M. Jez and S. Pandey (2011) An elaborate heterotrimeric G-protein family from soybean expands the diversity of plant G-protein networks. *New Phytologist* 190:35-48.
- Bommert P., B. I. Je, A. Goldshmidt and D. Jackson (2013) The maize Ga gene COMPACT PLANT2 functions in CLAVATA signaling to control shoot meristem size. *Nature* 502:555-558, doi:10.1038/nature12583.
- Botella J. R. (2012) Can heterotrimeric G proteins help to feed the world? *Trends in Plant Science* 17:563-568.
- Cabrera-Vera T. M., J. Vanhauwe, T. O. Thomas, M. Medkova, A. Preininger, M. R. Mazzoni and H. E. Hamm (2003) Insights into G protein structure, function, and regulation. *Endocrine Reviews* 24:765-781.
- Chakraborty N., P. Sharma, K. Kanyuka, R. R. Pathak, D. Choudhury, R. Hooley and N. Raghuram (2015a) G-protein α -subunit (GPA1) regulates stress, nitrate and phosphate response, flavonoid biosynthesis, fruit/seed development and substantially shares GCR1 regulation in *A. thaliana*. *Plant Molecular Biology* 89:559-576, doi:10.1007/s11103-015-0374-2.
- Chakraborty N., P. Sharma, K. Kanyuka, R. R. Pathak, D. Choudhury, R. A. Hooley and N. Raghuram (2015b) Transcriptome analysis of *Arabidopsis* GCR1 mutant reveals its roles in stress, hormones, secondary metabolism and phosphate starvation. *PLoS ONE* 10:e0117819, doi: 10.1371/journal.pone.0117819.
- Chakravorty D., Y. Trusov, W. Zhang, B. Acharya, M. B. Sheahan, D. W. McCurdy, S. M. Assmann and J. R. Botella (2011) An atypical heterotrimeric G-protein γ -subunit is involved in guard cell K⁺-channel regulation and morphological development in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal* 67:840-851.

- Chakraborty N., N. Singh, K. Kaur and N. Raguram (2015c) G-protein signaling components GCR1 and GPA1 mediate responses to multiple abiotic stresses in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Sciences* 6:1000, doi:10.3389/fpls.2015.01000.
- Chen J., F. Willard, J. Huang, J. Liang, S. A. Chasse, A. M. Jones and D. P. Siderovski (2003) A Seven-Transmembrane RGS protein that modulates plant cell proliferation. *Science* 301:1728-1731.
- Choudhury S. R. and S. Pandey (2015) Phosphorylation-dependent regulation of G-protein cycle during nodule formation in soybean. *The Plant Cell* 27:3260-3276, doi:10.1105/tpc.15.00517.
- Choudhury S. R., N. C. Bisht, R. Thompson, O. Todorov and S. Pandey (2011) Conventional and novel G γ protein families constitute the heterotrimeric G-protein signaling network in soybean. *PLoS ONE* 6:e23361, doi:10.1371/journal.pone.0023361.
- Colaneri A. C., M. Tunc-Ozdemir, J. P. Huang and A. M. Jones (2014) Growth attenuation under saline stress is mediated by the heterotrimeric G protein complex. *BMC Plant Biology* 14:129.
- Colicelli J. (2004) Human RAS superfamily proteins and related GTPases. *Science's STKE* 2004.
- Frohnmeier H. and D. Staiger (2003) Ultraviolet-B radiation-mediated responses in plants. Balancing damage and protection. *Plant Physiology* 133:1420-1428 pp: re13.
- Gao Y., T. Li, Y. Liu, C. Ren, Y. Zhao and M. Wang (2010) Isolation and characterization of gene encoding G protein α subunit protein responsive to plant hormones and abiotic stresses in *Brassica napus*. *Molecular Biology Reports* 37:3957-3965.
- Gao Y., Q. Zeng, J. Guo, J. Cheng, B. E. Ellis and J. G. Chen (2007) Genetic characterization reveals no role for the reported ABA receptor, GCR2, in ABA control of seed germination and early seedling development in *Arabidopsis*. *The Plant Journal* 52:1001-1013.
- Gookin T. E. and S. M. Assmann (2014) Significant reduction of BiFC non-specific assembly facilitates *in planta* assessment of heterotrimeric G-protein interactors. *The Plant Journal* 80:553-567.
- He J. M., X. G. Ma, Y. Zhang, T. F. Sun, F. F. Xu, Y. P. Chen, X. Liu and M. Yue (2013) Role and interrelationship of G α protein, hydrogen peroxide, and nitric oxide in ultraviolet B-induced stomatal closure in *Arabidopsis* leaves. *Plant Physiology* 161:1570-1583.
- Holl  s F. (2002) Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron* 33:179-197.
- Hossain S., T. Koba and K. Harada (2003a) Cloning and characterization of two full-length cDNAs, *TaGA1* and *TaGA2*, encoding G-protein α subunits expressed differentially in wheat genome. *Genes and Genetic Systems* 78:127-138.
- Hossain S., T. Koba and K. Harada (2003b) Cloning and characterization of a cDNA (*TaGB1*) encoding β subunit of heterotrimeric G-protein from Common Wheat cv. S615. *Plant Biotechnology* 20:153-158.
- Huang J., J. P. Taylor, J. G. Chen, J. F. Uhrig, D. J. Schnell, T. Nakagawa, K. L. Korth and A. M. Jones (2006) The plastid protein THYLAKOID FORMATION1 and the plasma membrane G-protein GPA1 interact in a novel sugar-signaling mechanism in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* 18:1226-1238.
- Ishikawa A., Y. Iwasaki and T. Asahi (1996) Molecular cloning and characterization of a cDNA for the β subunit of a G protein from rice. *Plant and Cell Physiology* 37:223-228.
- Izawa Y., Y. Takayanagi, N. Inaba, Y. Abe, M. Minami, Y. Fujisawa, H. Kato, S. Ohki, H. Kitano and Y. Iwasaki (2010) Function and expression pattern of the α subunit of the heterotrimeric G protein in rice. *Plant and Cell Physiology* 51:271-281.
- Jacob T., S. Ritchie, S. M. Assmann and S. Gilroy (1999) Absciscic acid signal transduction in guard cells is mediated by phospholipase D activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96:12192-12197.
- Johnston C. A., J. P. Taylor, Y. Gao, A. J. Kimple, J. C. Grigston, J. G. Chen, D. P. Siderovski, A. M. Jones and F. S. Willard (2007) GTPase acceleration as the rate-limiting step in *Arabidopsis* G protein-coupled sugar signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104:17317-17322.
- Jones J. C., B. R. Temple, A. M. Jones and H. G. Dohlman (2011) Functional reconstitution of an atypical G protein heterotrimer and regulator of G protein signaling protein (RGS1) from *Arabidopsis thaliana*. *The Journal of Biological Chemistry* 286:13143-13150.
- Josefsson L. and L. Rask (1997) Cloning of a putative G-protein-coupled receptor from *Arabidopsis thaliana*. *European Journal of Biochemistry* 249:415-420.
- Kang S. G., H. J. Lee, E. H. Park and S. G. Suh (2001) Molecular cloning and characterization of cDNAs encoding heterotrimeric G protein α and β subunits from potato (*Solanum tuberosum* L.). *Molecules and Cells* 13:99-106.
- Khalil H. B., Z. Wang, J. A. Wright, A. Ralevski, A. O. Donayo and P. J. Gulick (2011) Heterotrimeric G α subunit wheat (*Triticum aestivum*), GA3, interacts with the calcium-binding protein, Clo3, and the phosphoinositide-specific phospholipase C, PI-PLC1. *Plant Molecular Biology* 77:145-158.
- Khatir N. and Y. Mudgil (2015) Hypothesis: ND1 proteins function in stress responses by regulating microtubule organization. *Frontiers in Plant Sciences* 6:947.
- Kimple R. J., M. E. Kimple, L. Betts, J. Sondek and D. P. Siderovski (2002) Structural determinants for GoLoco-induced inhibition of nucleotide release by G α subunits. *Nature* 416:878-881.
- Komatsu S., F. Abassi, E. Kobori, Y. Fujisawa, H. Kato and Y. Iwasaki (2005) Proteomic analysis of rice embryo: an approach for investigating G α protein-regulated proteins. *Proteomics* 5:3932-3941.
- Klopfleisch K., N. Phan, K. Augustin, R. S. Bayne, K. S. Booker, J. R. Botella, N. C. Carpita, T. Carr, J. G. Chen, T. R. Cooke, A. Frick-Cheng, E. J. Friedman, B. Fulk, M. G. Hahn, K. Jiang, L. Jorda, L. Kruppe, C. Liu, J. Lorek, M. C. McCann, A. Molina, E. N. Moriyama, M. S. Muktar, Y. Mudgil, S. Pattathil, J. Schwarz, S. Seta, M. Tan, U. Temp, Y. Trusov, D. Urano, B. Welter, J. Yang, R. Panstruga, J. F. Uhrig and A. M. Jones (2011) *Arabidopsis* G-protein interactome reveals connections to cell wall carbohydrates and morphogenesis. *Molecular Systems Biology* 7:532, doi:10.1038/msb.2011.66.
- Koyro H. W., P. Ahmad and N. Geissler (2012) Abiotic stress responses in plants: an overview. In: Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change. P. Ahmad and M. N. V. Prasad (eds.). Springer-Verlag. New York. USA. pp:1-28, doi:10.1007/978-1-4614-0815-41.
- Lapik Y. R. and L. S. Kaufman (2003) The *Arabidopsis* cupin domain protein AtPir1 interacts with the G protein α -subunit GPA1 and regulates seed germination and early seedling development. *The Plant Cell* 15:1578-1590.
- Lata C., A. Yadav and M. Prasad (2011) Role of plant transcription factors in abiotic stress tolerance. In: Abiotic Stress Response in Plants - Physiological, Biochemical and Genetic Perspectives. A. K. Shanker and B. Venkateswarlu (eds.). In Tech, Rijeka, Croatia. pp:269-296.
- Ma H., M. F. Yanofsky and H. Huang (1991) Isolation and sequence analysis of *TGA1* cDNAs encoding a tomato G protein α subunit. *Gene* 107:189-195.
- Ma H., M. F. Yanofsky and E. M. Meyerowitz (1990) Molecular cloning and characterization of *GPA1*, a G protein α subunit gene from *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87:3821-3825.
- Ma Y., M. Chen, D. B. Xu, G. N. Fang, E. H. Wang, S. Q. Gao, Z. S. Xu, L. C. Li, X. H. Zhang, D. H. Min and Y. Z. Ma (2015) G-protein β subunit AGB1 positively regulates salt stress tolerance in *Arabidopsis*. *Journal of Integrative Agriculture* 14:314-325.
- Marsh J. F. and L. S. Kaufman (1999) Cloning and characterization of *PGA1* and *PGA2*: two G-protein α -subunits from pea that promote growth in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *The Plant Journal* 19:237-247.
- Mason M. G. and J. R. Botella (2000) Completing the heterotrimer: isolation and characterization of an *Arabidopsis thaliana* G protein γ -subunit cDNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97:14784-14788.
- Mendoza A., A. Seb  -Pedr  s and I. Ruiz-Trillo (2014) The evolution of the GPCR signaling system in eukaryotes: modularity, conservation, and the transition to metazoan multicellularity. *Genome Biology and Evolution* 6:606-619.
- Misra S., Y. Wu, G. Venkataraman, S. K. Sopory and N. Tuteja (2007) Heterotrimeric G-protein complex and G-protein-coupled receptor from a legume (*Pisum sativum*): role in salinity and heat stress and cross-talk with phospholipase C. *The Plant Journal* 51:656-669.
- Offermanns S. (2003) G proteins as transducers in transmembrane signalling. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 83:101-130.

- Öktem H. A., F. Eyidogan, F. Selcuk, M. T. Öz, J. A. Teixeira da Silva and M. Yücel (2008) Revealing response of plants to biotic and abiotic stresses with microarray technology. *Genes, Genomes and Genomics* 2:14-48.
- Pandey S. (2011) More (G-proteins) please! Identification of an elaborate network of G-proteins in soybean. *Plant Signaling and Behavior* 6:780-782.
- Pandey S. and S. M. Assmann (2004) The *Arabidopsis* putative G protein-coupled receptor GCR1 interacts with the G protein α subunit GPA1 and regulates abscisic acid signaling. *The Plant Cell* 16:1616-1632.
- Pandey S., D. C. Nelson and S. M. Assmann (2009) Two novel GPCR-type G proteins are abscisic acid receptors in *Arabidopsis*. *Cell* 136:136-148.
- Pellegrino S., S. Zhang, A. Garritsen and W. F. Simonds (1997) The coiled-coil region of the G protein β subunit. Mutational analysis of G γ and effector interactions. *The Journal of Biological Chemistry* 272:25360-25366.
- Perfus-Barbeoch L., A. M. Jones and S. M. Assmann (2004) Plant heterotrimeric G protein function: insights from *Arabidopsis* and rice mutants. *Current Opinion in Plant Biology* 7:719-731.
- Phan N., D. Urano, M. Srba, L. Fischer and A. M. Jones (2013) Sugar-induced endocytosis of plant 7TM-RGS proteins. *Plant Signaling and Behavior* 8:e22814, doi:10.4161/psb.22814.
- Rejeb I. B., V. Pastor and B. Mauch-Mani (2014) Plant responses to simultaneous biotic and abiotic stress: molecular mechanisms. *Plants* 3:458-475.
- Romero-Castillo R. A., R. Choudhury, J. León-Félix and S. Pandey (2015) Characterization of the heterotrimeric G-protein family and its transmembrane regulator from capsicum (*Capsicum annum* L.). *Plant Science* 234:97-109.
- Saalbach G., G. Natura, W. Lein, P. Buschmann, I. Dahse, M. Rohrbeck and F. Nagy (1999) The α -subunit of a heterotrimeric G-protein from tobacco, NtGPa α , functions in K $^{+}$ channel regulation in mesophyll cells. *Journal of Experimental Botany* 50:53-61.
- Schappi J. M., A. Krbanjevic and M. M. Rasenick (2014) Tubulin, actin and heterotrimeric G proteins: coordination of signaling and structure. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes* 1838:674-681, doi:10.1016/j.bbmem.2013.08.026.
- Seo H. S., H. Y. Kim, J. Y. Jeong, S. Y. Lee, M. J. Cho and J. D. Bahk (1995) Molecular cloning and characterization of RGA1 encoding a G protein α subunit from rice (*Oryza sativa* L. IR-36). *Plant Molecular Biology* 27:1119-1131.
- Siderovski D. P. and F. S. Willard (2005) The GAPs, GEFs, and GDIs of heterotrimeric G-protein α subunits. *International Journal of Biological Sciences* 1:51-66.
- Soundararajan M., F. S. Willard, A. J. Kimple, A. P. Turnbull, L. J. Ball, G. A. Schoch, C. Gileadi, O. Y. Fedorov, E. F. Dowler, V. A. Higman, S. Q. Hutsell, M. Sundström, D. A. Doyle and D. P. Siderovski (2008) Structural diversity in the RGS domain and its interaction with heterotrimeric G protein α -subunits. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105:6457-6462.
- Sprang S. R. (1997) G protein mechanisms: insights from structural analysis. *Annual Review of Biochemistry* 66:639-78.
- Subramaniam G., Y. Trusov, C. López-Encina, S. Hayashi, J. Batley and J. R. Botella (2016) Type B heterotrimeric G protein γ -subunit regulates auxin and ABA signaling in tomato. *Plant Physiology* 170:1117-1134.
- Suzuki N., R. M. Rivero, V. Shulaev, E. Blumwald and R. Mittler (2014) Biotic and abiotic stress combination. *The New Phytologist* 203:32-43.
- Taddese B., G. J. G. Upton, G. R. Bailey, S. R. D. Jordan, N. Y. Abdulla, P. J. Reeves and C. A. Reynolds (2014) Do plants contain G protein-coupled receptors? *Plant Physiology* 164:287-307.
- Temple B. R. and A. Jones (2007) The plant heterotrimeric G-protein complex. *Annual Review of Plant Biology* 58:249-66.
- Temple B. R., C. D. Jones and A. M. Jones (2010) Evolution of a signaling nexus constrained by protein interfaces and conformational states. *PLoS Computational Biology* 6:e1000962, doi:10.1371/journal.pcbi.1000962.
- Thung L., Y. Trusov, D. Chakravorty and J. R. Botella (2012) G γ 1 + G γ 2 + G γ 3 = G β : the search for heterotrimeric G protein γ subunits in *Arabidopsis* is over. *Journal of Plant Physiology* 169:542-545.
- Trusov Y., D. Chakravorty and J. R. Botella (2012) Diversity of heterotrimeric G-protein γ subunits in plants. *BMC Research Notes* 5:608, doi:10.1186/1756-0500-5-608.
- Tuteja N. and S. Sopory (2008) Plant signaling in stress: G-protein coupled receptors, heterotrimeric G-proteins and signal coupling via phospholipases. *Plant Signaling and Behavior* 3:79-86.
- Urano D. and A. M. Jones (2013) "Round up the usual suspects": a comment on nonexistent plant G protein-coupled receptors. *Plant Physiology* 161:1097-1102.
- Urano D. and A. M. Jones (2014) Heterotrimeric G protein-coupled signaling in plants. *Annual Review of Plant Biology* 65:365-384.
- Urano D., J. Chen, J. R. Botella and A. M. Jones (2013) Heterotrimeric G protein signalling in the plant kingdom. *Open Biology* 3:120186, doi:10.1098/rsob.120186.
- Urano D., T. Dong, J. L. Bennetzen and A. M. Jones (2015) Adaptive evolution of signaling partners. *Molecular Biology and Evolution* 32:998-1007.
- Urano D., N. Phan, J. C. Jones, J. Yang, J. Huang, J. Grigston, J. P. Taylor and A. M. Jones (2012) Endocytosis of seven-transmembrane RGS protein activates G protein coupled signaling in *Arabidopsis*. *Nature Cell Biology* 14:1079-1088.
- Wang X. O., H. Ullah, A. M. Jones and S. M. Assmann (2001) G protein regulation of ion channels and abscisic acid signaling in *Arabidopsis* guard cells. *Science* 292:2070-2072.
- Warpeha K. M., J. Gibbons, A. Carol, J. Slusser, R. Tree, W. Durham and L. S. Kaufman (2008) Adequate phenylalanine synthesis mediated by G protein is critical for protection from UV radiation damage in young etiolated *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Plant, Cell and Environment* 31:1756-1770.
- Warpeha K. M., S. S. Lateef, Y. Lapik, M. Anderson, B. S. Lee and L. S. Kaufman (2006) G-protein-coupled receptor 1, G-protein G α -subunit 1, and prephenate dehydratase 1 are required for blue light-induced production of phenylalanine in etiolated *Arabidopsis*. *Plant physiology* 140:844-855.
- Warpeha K. M., S. Upadhyay, J. Yeh, J. Adamiak, S. I. Hawkins, Y. R. Lapik, M. B. Anderson and L. S. Kaufman (2007) The GCR1, GPA1, PRN1, NF-Y signal chain mediates both blue light and abscisic acid responses in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 143:1590-1600.
- Weiss C. A., C. W. Garnaat, K. Mukai, Y. Hu and H. Ma (1994) Isolation of cDNAs encoding guanine nucleotide-binding protein β subunit homologues from maize (ZGB1) and *Arabidopsis* (AGB1). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91:9554-9558.
- Wolfenstetter S., D. Chakravorty, R. Kula, D. Urano, Y. Trusov, M. B. Sheahan, D. W. McCurdy, S. M. Assmann, A. M. Jones and J. R. Botella (2015) Evidence for an unusual transmembrane configuration of AGG3, a class C G γ subunit of *Arabidopsis*. *The Plant Journal* 81:388-398.
- Xu D. B., M. Chen, Y. N. Ma, Z. S. Xu, L. C. Li, Y. F. Chen and Y. Z. Ma (2015) A G-protein β subunit, AGB1, negatively regulates the ABA response and drought tolerance by down-regulating AtMPK6-related pathway in *Arabidopsis*. *PLoS ONE* 10:e0116385, doi:10.1371/journal.pone.0116385.
- Yadav D. K. and N. Tuteja (2011) Rice G-protein coupled receptor (GPCR) In silico analysis and transcription regulation under abiotic stress. *Plant Signaling and Behavior* 6:1079-1086.
- Yadav D. K., S. M. Shahinul I. and N. Tuteja (2012) Rice heterotrimeric G-protein gamma subunits (RGG1 and RGG2) are differentially regulated under abiotic stress. *Plant Signaling and Behavior* 7:733-740.
- Yadav D. K., D. Shukla and N. Tuteja (2013) Rice heterotrimeric G-protein alpha subunit (RGA1): In silico analysis of the gene and promoter and its upregulation under abiotic stress. *Plant Physiology and Biochemistry* 63:262-271.
- Yadav D. K., D. Shukla and N. Tuteja (2014) Isolation, in silico characterization, localization and expression analysis of abiotic stress-responsive rice G-protein β subunit (RGA1). *Plant Signaling and Behavior* 9:e28890, doi:10.4161/psb.28890.
- Zhang W., C. Qin, J. Zhao and X. Wang (2004) Phospholipase D α 1-derived phosphatidic acid interacts with ABI1, phosphatase 2C and regulates abscisic acid signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101:9508-9513.

- Zhang Z., J. Li, H. Liu, K. Chong and Y. Xu (2015) Roles of ubiquitination-mediated protein degradation in plant responses to abiotic stresses. *Environmental and Experimental Botany* 114:92-103.
- Zhao J. and X. Wang (2004) *Arabidopsis* phospholipase D α 1 interacts with the heterotrimeric G-protein α -subunit through a motif analogous to the DRY motif in G-protein-coupled receptors.

- The Journal of Biological Chemistry* 279:1794-1800.
- Zhu H., G. J. Li, L. Ding, X. Cui, H. Berg, S. M. Assmann and Y. Xia (2009) *Arabidopsis* extra large G-protein 2 (XLG2) interacts with the G β subunit of heterotrimeric G protein and functions in disease resistance. *Molecular Plant* 2:513-525.