

Galindo Brito, A. (2014). Metabolitos secundarios y defensas de las plantas. En Afonso-Carrillo, J. (Ed.), *Cien años de Don Tele: celebrando y recordando al sabio y la persona*, pp. 39-80. Actas IX Semana Científica Telesforo Bravo. Instituto de Estudios Hispánicos de Canarias. Puerto de la Cruz. 157 pp. ISBN 978-84-617-1648-7

2. Metabolitos secundarios y defensas de las plantas

Antonio Galindo Brito

*Catedrático jubilado de Química Orgánica,
Universidad de La Laguna
antoniogalindobrito@gmail.com*

En su hábitat natural, las plantas se hallan rodeadas de un enorme número de enemigos potenciales, pues casi todos los ecosistemas contienen una amplia variedad de bacterias, virus, hongos, nemátodos, arácnidos, insectos, mamíferos y muchos animales herbívoros. Por su naturaleza intrínseca, las plantas no pueden defenderse de los herbívoros y patógenos a través del movimiento, es decir, huyendo de ellos. Sin embargo, de esto no debemos concluir que están indefensas ante el ataque de sus enemigos, ya que efectúan su protección a través de otros caminos. La primera línea de defensa de las plantas está constituida por su superficie y así, la cutícula (una capa externa cerosa) y la peridermis (tejido protector secundario), comienzan por retardar la pérdida de agua, proporcionando una barrera pasiva a la entrada de bacterias y hongos. Un grupo amplio de compuestos presentes en las plantas, comúnmente conocidos como metabolitos secundarios (MS), también actúan como agentes de defensa de las plantas frente a una gran variedad de herbívoros y microbios patógenos. Varios MS juegan otras importantes funciones tales como proporcionar soporte estructural como ocurre con las ligninas o actuando como pigmentos como es el caso de las antocianinas.

Cuando mi buen amigo Julio Afonso Carrillo me invitó a participar en la Semana Científica que anualmente organiza el Instituto de Estudios Hispánicos (IHEC) del Puerto de la Cruz, no lo dudé ni un solo instante y

rápidamente acepté el ofrecimiento, puesto que se trataba de un acontecimiento muy especial ya que en ella se rendía un sentido y merecido homenaje a la figura de un excepcional portuense, Telesforo Bravo, que me honró con su amistad. Mi primer contacto con nuestro homenajeado fue por los años 57-58 del pasado siglo, cuando yo acababa de terminar el bachillerato y oía hablar de la figura de un estudioso geólogo portuense que se hallaba en Oriente Medio trabajando para una empresa estadounidense que buscaba agua. Aquello era tan exótico, que me recordaba los famosos cuentos de Las Mil y Una Noches y la noticia estaba teñida de una aureola mítica que exaltaba aún más la figura de D. Telesforo.

Posteriormente, coincidimos como profesores universitarios en la vetusta Facultad de Ciencias de la Universidad de La Laguna y tuvimos alguna esporádica conversación. Finalmente, nuestro pleno encuentro se produjo cuando nuestro común amigo Manuel López García, que por entonces era el Presidente del IHEC, me invitó a formar parte de la junta directiva del IHEC, en la que junto a D. Telesforo Bravo se encontraba otro destacado portuense, D. Celestino González Padrón, de quienes aprendí lecciones de amor a nuestro pueblo común. Cuando finalmente accedí al cargo de presidente de la citada institución, ya cimentamos sólidamente nuestra amistad y ello me permitió conocer más a fondo el perfil científico y humano de este excepcional portuense a quien hoy dedico estas humildes páginas como un pequeño homenaje.

Cutinas, ceras y suberina

Todas las partes de la planta expuestas a la atmósfera están cubiertas por capas de material lipídico que reducen la pérdida de agua y ayudan a bloquear la entrada de hongos patógenos y bacterias. Los principales constituyentes de estas cubiertas son cutina, suberina y ceras. La cutina se encuentra en la mayoría de las partes aéreas de la planta; la suberina está presente en las partes subterráneas, tallos leñosos y heridas cicatrizadas, y finalmente las ceras están asociadas con la cutina y la suberina.

• Formadas por compuestos hidrofóbicos

La **cutina** es una macromolécula, es decir, un polímero que consta de muchos ácidos grasos de cadena larga que están unidos entre si por enlaces tipo éster, formando una red tridimensional rígida. Los ácidos grasos de la cutina tienen grupos hidroxilo (OH) o epóxido situados bien en la parte media de la cadena, bien en el extremo opuesto al grupo carboxilo:

(A) Ácidos grasos hidroxilados que polimerizan para forman la cutina:

$\text{HOCH}_2(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$ Ácido 16-hidroxi-decahexanoico

$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{CHOH}(\text{CH}_2)_5\text{COOH}$ Ácido 7-hidroxi-hexadecanoico

(B) Componentes comunes de las ceras:

(B1) Alcanos de cadena lineal: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{27}\text{CH}_3$; $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{29}\text{CH}_3$

(B2) Ésteres de ácido grasos: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COO}(\text{CH}_2)_{25}\text{CH}_3$

(B3) Ácido graso de cadena larga: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$

(B4) Alcohol de cadena larga: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{24}\text{CH}_2\text{OH}$

(C) Ácidos grasos hidroxilados que polimerizan junto con otros compuestos para formar la suberina:

(C1) $\text{HOCH}_2(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$

(C2) $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$ (un ácido dicarboxílico)

La cutina es el constituyente principal de la cutícula, una estructura multicapa que cubre las paredes celulares externas de la epidermis en las partes aéreas de todas las plantas herbáceas. La cutícula está compuesta por una capa superior de cera, una capa media gruesa que contiene cutina embebida en la cera (la cutícula propiamente dicha) y una capa inferior formada de cutina y cera, mezclada con pectinas, celulosas y otros hidratos de carbono de la pared celular (la capa cuticular). Recientemente se ha afirmado que además de la cutina, la cutícula puede contener un segundo polímero lipídico, formado por largas cadenas hidrocarbonadas que han sido denominadas cutano.

Las **ceras** no son macromoléculas, sino mezclas complejas de lípidos de cadena larga extremadamente hidrófoba. Los componentes más comunes de las ceras son alcanos de cadena lineal y alcoholes de 25 a 35 átomos de carbono. También se han encontrado aldehídos de cadena larga, cetonas, ésteres y ácidos grasos libres. Las ceras de la cutícula son sintetizadas por las células epidérmicas y secretadas como gotas que cruzan los poros de la pared celular por un mecanismo desconocido. La cubierta de la cutícula cerosa con frecuencia cristaliza en un complicado patrón de varas, tubos o placas.

La **suberina** es un polímero cuya estructura es muy poco conocida. Al igual que la cutina, la suberina está formada por hidroxi- o epoxi ácidos grasos unidos por enlaces tipo éster. Sin embargo, parece que la suberina difiere de la cutina en que contiene ácidos grasos dicarboxílicos de cadena más larga y una parte significativa de compuestos fenólicos como parte de su estructura.

La suberina es un constituyente de la pared celular localizada en muchas partes en la planta. Es el principal componente de las paredes celulares exteriores de todos los órganos subterráneos y de las células de corcho de la peridermis, el tejido que forma la corteza exterior de los troncos y las raíces durante el crecimiento secundarios de las plantas

leñosas. La suberina también se forma en las zonas de abscisión de la hoja y en las partes aéreas dañadas por enfermedades o heridas.

- **Ayudan a reducir la transpiración y la invasión por patógenos**

La cutina, la suberina y sus ceras asociadas forman barreras entre la planta y su entorno que sirven para mantener el agua dentro y los patógenos fuera. La cutícula es muy efectiva limitando la pérdida de agua en las partes aéreas de la planta, aunque no bloquea completamente la transpiración, ya que se pierde algo de agua incluso con los estomas cerrados. El grosor de la cutícula varía dependiendo de las condiciones ambientales y así las especies vegetales nativas de zonas áridas tienen cutículas más gruesas que las de las plantas de regiones húmedas, aunque estas últimas con frecuencia desarrollan cutículas gruesas cuando crecen en ambientes secos.

La cutícula y el tejido suberificado son importantes en la exclusión de hongos y bacterias, aunque la resistencia a patógenos no parece ser tan importante como otras defensas que analizaremos posteriormente. Muchos hongos penetran directamente a través de la superficie vegetal de forma mecánica. Otros producen cutinasa, una enzima que hidroliza la cutina y facilita así la entrada en la planta.

Metabolitos Secundarios

Las plantas producen una amplia y diversa variedad de compuestos orgánicos que no parecen ejercer ninguna función importante en su crecimiento ni en su desarrollo. Estos compuestos son conocidos como metabolitos secundarios (MS) o también como productos naturales. A los MS no se le reconoce un papel directo en los procesos de fotosíntesis, respiración, transporte de soluto, translocación, síntesis de proteínas, asimilación de nutrientes, diferenciación y formación de los llamados metabolitos primarios (MP) [carbohidratos (HC), proteínas (P), ácidos nucleicos (AN) y lípidos (L)].

Los metabolitos secundarios también difieren de los metabolitos primarios en que tienen una distribución restringida en el reino vegetal. Así, por ejemplo, ciertos MS sólo se hallan en una especie de plantas o en todo caso en un grupo de especies relacionadas, mientras que los MP se encuentran distribuidos en todo el reino vegetal.

- **Los MS defienden a las plantas de herbívoros y patógenos**

Durante mucho tiempo la significación adaptativa de la mayor parte de los MS ha permanecido desconocida y se creyó que eran los productos finales de desecho del metabolismo vegetal. El estudio de estas sustancias ha sido llevado a cabo primordialmente por los químicos orgánicos a lo largo del siglo XIX y primera parte del XX, impulsados por el enorme interés que

mostraron como drogas medicinales (fármacos), venenos, aromas, sabores y materiales de interés industrial.

Actualmente empezamos a conocer con más detalle que los MS juegan un papel importante en las plantas ejerciendo funciones ecológicas trascendentales entre las que mencionaremos las tres siguientes:

- Protegen a las plantas del ataque de los herbívoros y de los agentes patógenos.
- Sirven como atrayentes (olor, color, sabor) de polinizadores y animales dispersores de semillas, lo que garantiza la perpetuación y transmisión de su especie.
- Actúan como agentes en la competición planta-planta y la simbiosis planta-microbio.

La habilidad de las plantas para competir y sobrevivir está por estas razones profundamente afectada por las funciones ecológicas que desempeñan los MS.

• **Las defensas vegetales son un producto de la evolución**

Podemos comenzar preguntándonos como llegaron las plantas a tener defensas. De acuerdo con las teorías evolucionistas, las defensas vegetales deben haber surgido a través de fenómenos de mutación hereditaria, selección natural y cambios evolutivos. Mutaciones al azar en las rutas metabólicas básicas darían lugar a la aparición de nuevos compuestos, que pudieron ser tóxicos o disuasorios para los herbívoros y microbios patógenos.

Como estos compuestos no eran tóxicos para la propia planta y el coste metabólico para producirlos no era excesivo, representaron una ventaja reproductiva para las plantas que los poseían frente aquellas que carecían de estas defensas. Así, las plantas con defensas generaron una descendencia mayor que las plantas sin estas defensas y transmitieron estos caracteres a las generaciones siguientes.

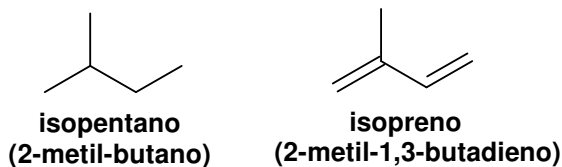
El ajuste reproductivo que supusieron estos compuestos de defensa al salvaguardar las plantas de herbívoros, bacterias y hongos, también las hizo indeseables como alimentos para los humanos. Muchos cultivos vegetales importantes han sido seleccionados artificialmente para producir niveles mínimos de estos compuestos, lo que ha provocado también que sean más susceptibles a los insectos y las enfermedades.

Los metabolitos secundarios de las plantas pueden ser divididos en tres grupos con características químicas diferentes: terpenos, fenoles y compuestos nitrogenados.

A. Terpenos

Este grupo de sustancias constituye el mayor grupo de PS y en general suelen ser insolubles en agua. Se biosintetizan a partir de Acetil-CoA o de intermedios glicolíticos.

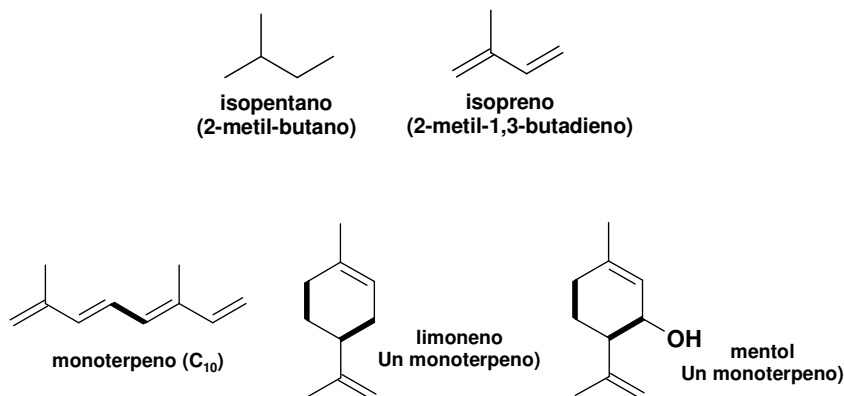
Todos los terpenos se forman a partir de la unión de elementos de cinco carbonos que tienen el esqueleto ramificado del isopentano:

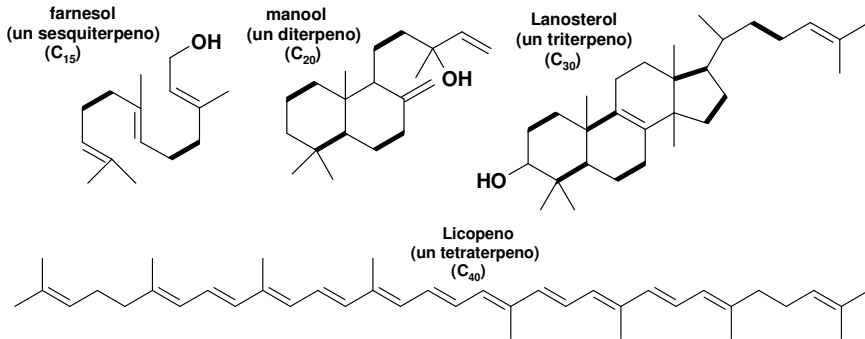


Con carácter general los terpenos se consideran formados por unidades de isopreno enlazadas entre si de manera repetitiva. Según el número de unidades enlazadas los terpenos se clasifican en:

- **Monoterpenos** (C_{10}), formados por dos unidades de isopreno.
- **Sesquiterpenos** (C_{15}), formados por tres unidades de isopreno.
- **Diterpenos** (C_{20}), formados por cuatro unidades de isopreno.
- **Triterpenos** (C_{30}) formados por seis unidades de isopreno.
- **Tetraterpenos** (C_{40}) formados por ocho unidades de isopreno.
- **Politerpenoides**, denominación que se aplica cuando el número de unidades de isopreno es superior a ocho.

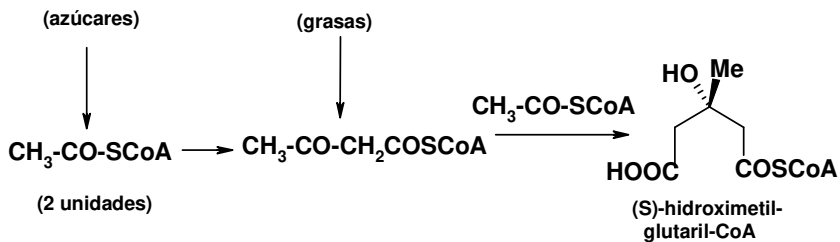
Es frecuente que a los terpenos se les denomine también como isoprenoides en clara alusión a que formalmente pueden considerarse formados por la unión de un número variable de unidades de isopreno que se enlazan cabeza-cola, es decir, la parte inicial de una molécula con la parte final de la otra:



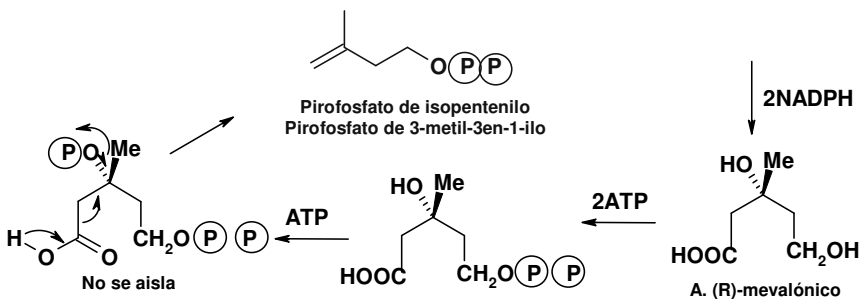


• Biosíntesis de terpenos

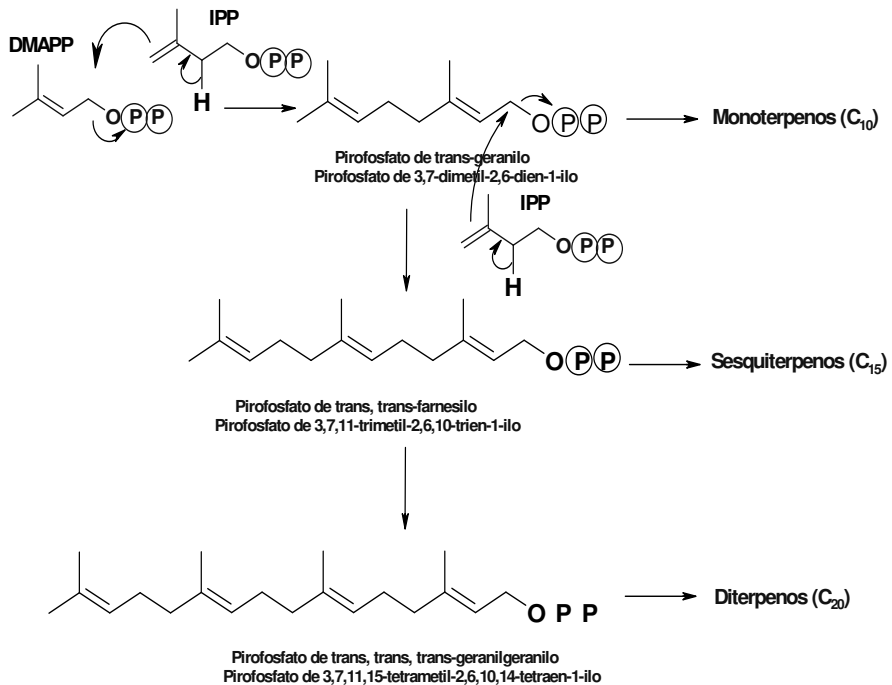
Como ya hemos mencionado, la biosíntesis de los terpenos puede comenzar a partir de tres unidades de Acetil-CoA (C₂), que procede de la oxidación de las grasas o de la condensación de dos unidades de Acetil-CoA, a la que sigue una condensación tipo aldólica con otra molécula más para generar ácido mevalónico (A. 3S, 3-metil-glutaril-CoA. El grupo éster de esta molécula es reducido por NADPH produciéndose R-mevalonato en un paso irreversible, por lo que el mevalonato ya sólo puede generar terpenos:



Posteriormente, el mevalonato se convierte en pirofosfato de isopentenilo (pirofosfato de 3-metil-3-buten-1-ilo) por fosforilación con ATP y descarboxilación:



El pirofosfato de isopentenilo (IPP) se transforma fácilmente en terpenos a través de una especie de condensación-polimerización en la que en primer lugar el IPP se isomeriza a pirofosfato de 3-metil-2buten-1-ilo (difosfato de dimetilalilo; DMAPP), compuesto que lleva un grupo saliente muy reactivo (por su condición de arílico al doble enlace).



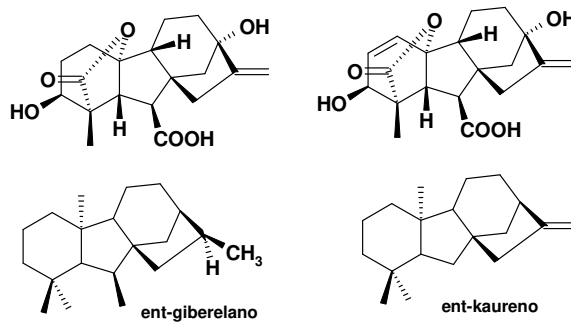
A continuación, ocurre la condensación entre el IPP y el DMAPP para originar pirofosfato de trans-geranilo (un sesquiterpeno en C₁₀, es decir un monoterpenos). Sucesivas transformaciones repitiendo el esquema primitivo, pero cambiando el IPP por pirofosfato de pirofosfato de trans-farnesilo (C₁₅) y pirofosfato de todo trans-geranilgeranilo (C₂₀), conducen a los precursores de los sesqui- y di-terpenos, respectivamente. De modo totalmente análogo se general los precursores de los tri- y tetra-terpenos.

• **Varios terpenos intervienen en el crecimiento y desarrollo de las plantas**

Varios terpenos tienen funciones muy bien caracterizadas en el crecimiento y desarrollo de las plantas de tal manera que pueden ser considerados más como metabolitos primarios que como metabolitos secundarios. Así, por ejemplo, las giberellinas constituyen un importante grupo de **diterpenos**

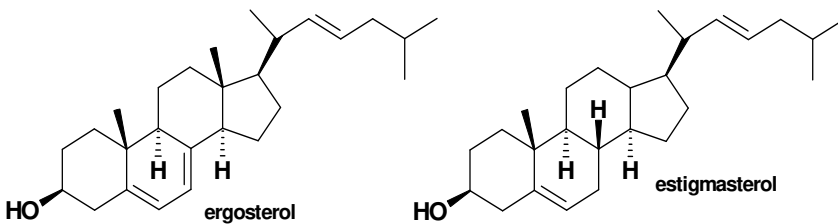
que ejercen funciones de fitohormonas. Estructuralmente derivan del ent-kaureno y tienen como estructura básica el ent-giberelano. Se producen en la zona apical, frutos y semillas y sus más importantes funciones son:

- Interrumpir el periodo de latencia de las semillas (germinación).
- Inducir la brotación de las yemas.
- Promover el desarrollo de los frutos (floración).

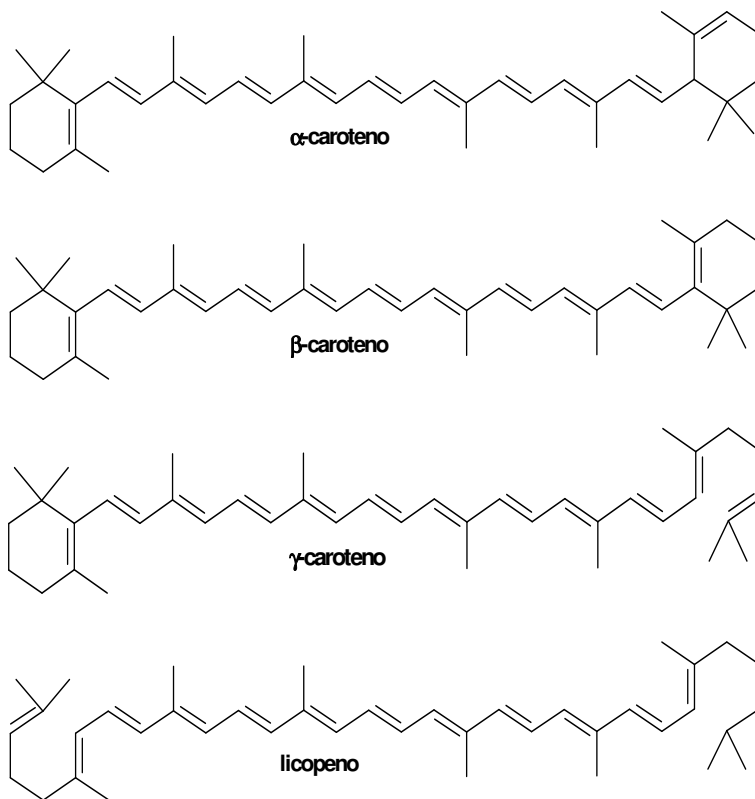


Los **brassinosteroides** constituyen otra clase de hormonas de plantas con estructura de **triterpenos** que actúan como hormonas ejerciendo funciones reguladoras del crecimiento.

Los **esteroles** son derivados **triterpénicos** que son componentes esenciales de las membranas celulares, a las que estabilizan interaccionando con los **esfingolípidos**. Algunos esteroides vegetales muy bien conocidos son el **ergosterol** (presenta en las levaduras) y el **estigmasterol** que está ampliamente distribuido por el reino vegetal:



Los **carotenoides** de colores rojos, naranjas y amarillos son **tetraterpenos (C₄₀)** que funcionan como pigmentos en las funciones de fotosíntesis y protegen los tejidos fotosintéticos de las fotooxidaciones. Los carotenoides más ampliamente distribuidos en el reino vegetal son el **α**-, **β**-, y **γ**-caroteno (color naranja; zanahoria), el **licopeno** (color rojo; tomates) cuyas estructuras son:



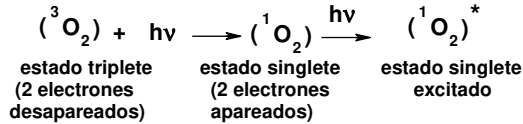
Además de su papel como pigmentos auxiliares, los carotenoides juegan un papel muy importante en la **fotoprotección**. Las membranas fotosintéticas pueden ser dañadas fácilmente por la gran cantidad de energía absorbida por los pigmentos si esa energía no puede ser almacenada fotoquímicamente; por ello es necesario un mecanismo de protección.

El mecanismo de fotoprotección es como una válvula de seguridad que elimina el exceso de energía antes de que esta pueda dañar al organismo. Cuando la energía almacenada en el estado excitado de las clorofilas es rápidamente disipada por transferencia de energía de excitación o fotoquímica, se dice que el estado excitado se ha desactivado.

Si el estado excitado de la clorofila no es desactivado rápidamente por transferencia de energía de excitación o fotoquímica, puede reaccionar con una molécula de oxígeno para formar un estado excitado del oxígeno llamado **singlete**. Recuérdese que el oxígeno en su estado fundamental es un dirradical, en que cada átomo posee un electrón desapareado, y es el estado fundamental en que se halla la molécula de oxígeno en la naturaleza.

El oxígeno en la naturaleza se encuentra en el estado **triplete**, que se caracteriza por poseer menor nivel energético y porque los espines

electrónicos de los dos electrones impares sobre los átomos de oxígeno se hallan apareados. En el estado singlete excitado los electrones siguen apareados pero se encuentran en un nivel superior de energía:



La elevada reactividad del oxígeno singlete permite que reaccione y dañe muchos compuestos celulares, especialmente a los lípidos. Los carotenoides ejercen su acción protectora desactivando rápidamente el estado excitado de la clorofila. Además, el estado excitado del carotenoide no posee energía suficiente como para formar oxígeno singlete, por lo que decae rápidamente a su estado fundamental, perdiendo esta energía en forma de calor.

Los organismos que carecen de carotenoides no pueden vivir en presencia de luz y de oxígeno molecular, una situación difícil para los organismos fotosintéticos productores de oxígeno. Para bacterias fotosintéticas que no generan oxígeno, los mutantes que carecen de carotenoides pueden vivir en condiciones de laboratorio si se elimina el oxígeno del medio de crecimiento.

El exceso de luz puede dañar los sistemas fotosintéticos y existen varios mecanismos que minimizan dicho daño. Los carotenoides actúan como agentes fotoprotectores que desactivan rápidamente el estado excitado de las clorofilas.

• **Algunas xantofilas participan en la disipación de la energía**

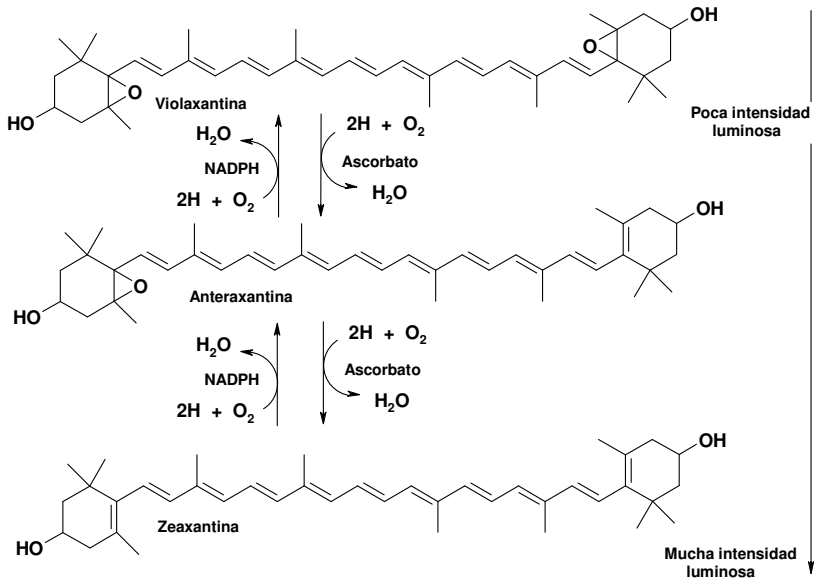
La atenuación no fotoquímica es el principal proceso de regulación de transferencia de energía de excitación al centro de reacción y puede ser considerada como un controlador que ajusta el flujo de excitación al centro reaccional del PSII a un nivel adecuado, dependiendo de la intensidad de la luz y de otras condiciones. El proceso parece jugar un papel esencial en la regulación de los complejos antena en la mayoría de algas y plantas.

La **atenuación no fotoquímica** (ANF), atenuación fluorescente de la clorofila por otros procesos diferentes del fotoquímico. Como consecuencia de la ANF, la mayor parte de las excitaciones en los complejos antena provocadas por una iluminación intensa, son desactivadas en forma de calor. Se cree que la ANF está implicada en la maquinaria de producción fotosintética frente a la sobreexcitación y el consiguiente daño.

El mecanismo molecular de la ANF no se conoce bien, aunque está claro que los factores más importantes son:

- El pH del lumen de los tilacoides.
- El estado de agregación de los complejos antena.

Tres carotenoides, denominados xantofilas, están implicados en la ANF: violaxantina, anteraxantina y zeaxantina:

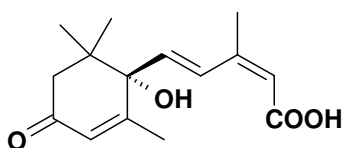


En presencia de luz muy intensa, la violaxantina es convertida en zeaxantina, a través de la anteraxantina como intermediario, por el enzima violaxantina depoxidasa. Cuando la intensidad luminosa disminuye, el proceso se invierte. Se cree que la unión de protones y zeoxantina a las proteínas del complejo antena, provoca cambios conformacionales que conducen a la desactivación y disipación en forma de calor.

La ANF parece estar asociada preferentemente a los complejos antena periféricos del fotosistema, las llamadas proteínas PsbS.

El ácido abscísico (ABA) es una hormona de naturaleza terpenoide (C_{15}) producida por degradación de un precursor con estructura de carotenoide. Su estructura se parece a la parte terminal de los carotenoides, que puede existir como dos diastereómeros del doble enlace que contiene el grupo carboxilo. En la práctica casi todo el ABA que se encuentra en la naturaleza es el diastereómero Z y por ello el término A. abscísico alude a ese diastereómero, siendo la configuración del único centro estereogénico que presenta es de configuración (S). Este es el único metabolito activo en las respuestas rápidas, tales como el cierre de estomas. En las respuestas a largo plazo, tales como la maduración de las semillas, son activos los dos

enantiómeros. Es interesante resaltar que los diastereómeros Z y E son fácilmente interconvertibles en condiciones naturales, pero no ocurre lo mismo con los dos enantiómeros (S) y (R). Este ácido estimula la producción de etileno actuando como una fitohormona, inhibiendo el crecimiento y la apertura estomática, particularmente cuando la planta se halla sometida a condiciones de estrés. Otra función importante es la regulación de la maduración de la semilla y la dormición, razón por la que algunos autores han sugerido (sin éxito) el nombre de dormina para esta hormona. El ABA se sintetiza a partir de la ruta de los carotenoides en cloroplastos y otros plastos.



A. abscísico (ABA) (C₁₅)

Finalmente, los alcoholes politerpénicos conocidos como **dolicoles** actúan como transportadores de azúcares en células y en la síntesis de glicoproteínas. Cadenas laterales derivadas de terpenos como las que contienen la clorofila y el fitol ayudan al anclaje de ciertas moléculas en las membranas.

La mayor parte de los terpenos, sin embargo, son metabolitos secundarios implicados en la defensa de las plantas.

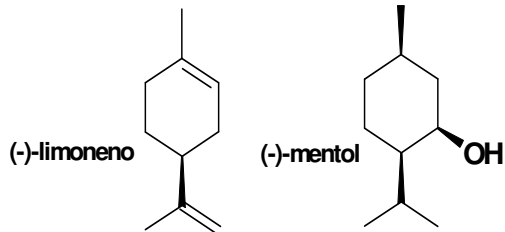
• Los terpenos defienden a las plantas frente al ataque de los herbívoros

Los terpenos son toxinas y repelentes de un gran número de insectos y mamíferos herbívoros, por lo que parecen jugar un importante papel defensivo en el reino vegetal. Por ejemplo, los ésteres de monoterpenos llamados **piretroides**, aislados de las hojas y flores de especie de *Chrysanthemum*, muestran potentes actividades insecticidas. Los piretroides naturales y los sintéticos son ingredientes frecuentes en diversos insecticidas comerciales a causa de su baja persistencia en el medio y su casi despreciable toxicidad frente a los mamíferos.

En coníferas como el pino y el abeto, los monoterpenos se acumulan en los conductos de resina en acículas, ramitas y troncos. Estos compuestos son tóxicos frente a muchos insectos incluyendo el escarabajo de la corteza, plaga que constituye una seria amenaza para diversas especies de coníferas a través de todo el mundo. Muchas coníferas responden a esta infestación produciendo cantidades adicionales de monoterpenos que actúan como defensa química.

Muchas plantas contienen mezclas de monoterpenos y sesquiterpenos volátiles, conocidos como **aceites esenciales**, que proporcionan un olor

característico a sus hojas. La menta, el limón, la albahaca y la salvia, son ejemplos de plantas que contienen aceites esenciales. El principal monoterpeneo constituyente del aceite de menta es el **mentol** y el del limón es el **limoneno**:



Los aceites esenciales son bien conocidos por sus propiedades repelentes de insectos. Con frecuencia se encuentran en los pelos glandulares que se proyectan desde la epidermis y sirven para avisar (prevenir a los predadores) de la toxicidad de la planta, actuando como un potencial repelente de herbívoros, antes de haber efectuado un mordisco de prueba. En los pelos glandulares los terpenos se almacenan en un espacio extracelular modificado de la pared celular.

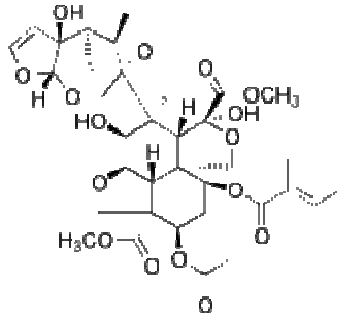
Los aceites esenciales pueden extraerse de la planta por destilación por arrastre en corriente de vapor y son comercialmente importantes como aromas alimentarios y para fabricar perfumes.

Investigaciones recientes han revelado una interesante peculiaridad en el papel de los terpenos volátiles para la protección de la planta. En maíz, algodón, tabaco silvestre y otras especies, ciertos monoterpenos y sesquiterpenos son producidos y emitidos una vez el insecto ha iniciado su ataque. Estas sustancias repelen insectos herbívoros ovíparos y atraen a sus enemigos naturales, como insectos predadores y parásitos, que matan a los insectos herbívoros, ayudándoles a minimizar los daños. Es decir, los terpenos volátiles no sólo suponen un método de defensa *per se*, sino que además proporcionan una llamada para ser defendidas por otros organismos. La capacidad de las plantas de atraer a los enemigos naturales de los insectos herbívoros se presenta como una nueva posibilidad en el control ecológico de las plagas.

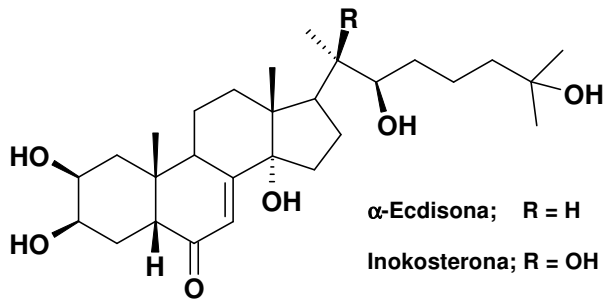
Entre los terpenos no volátiles antiherbívoros se encuentran los llamados **limonoides**, que son un grupo de triterpenos (C₃₀), conocidos como sustancias amargas de los cítricos. Quizás el más poderoso de los repelentes de insectos sea la **azadiractina**, un limonoide complejo presente en el árbol *Azadirachita indica* de África y Asia. La azadiractina es un tetranortriterpenoide altamente oxidado que tiene gran cantidad de funciones oxigenadas tales como enol éter, acetal, hemiacetal y oxirano

tetra sustituido como así también una variedad de ésteres carboxílicos. Se clasifica entre los insecticidas provenientes de las plantas.

Esta sustancia es un repelente alimentario de enorme potencia contra insectos a dosis tan bajas como 50 ppb que provoca numerosos efectos tóxicos. Tiene un considerable potencial como insecticida comercial para el control de plagas debido a su baja toxicidad en mamíferos. Actualmente hay preparaciones comerciales contenido azadiractina que están siendo usadas en Norte América e India.

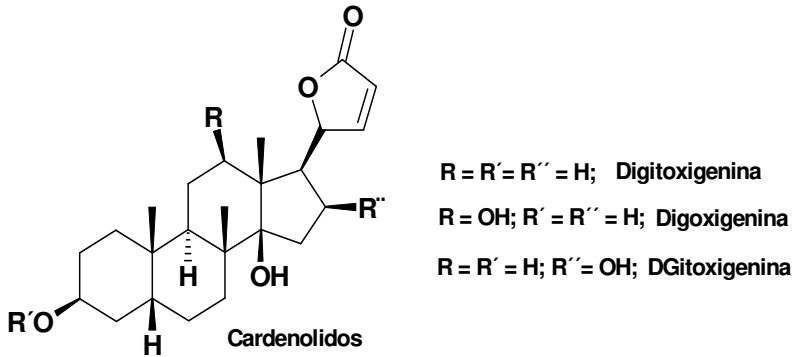


Las **fitoecdisonas**, que fueron aisladas inicialmente del helecho *Polypodium vulgare*, son un grupo de esteroides vegetales con la misma estructura básica que las hormonas de la muda de los insectos. La ingestión de fitoecdisonas por los insectos interrumpe la muda y otros procesos de desarrollo, teniendo con frecuencia efectos letales.



Los triterpenos activos contra herbívoros vertebrados incluyen los **cardenólidos** y las **saponinas**. Los primeros son **glicósidos** que confieren un sabor amargo y son extremadamente tóxicos en los animales superiores. En el hombre sus efectos son dramáticos en el músculo del corazón por su acción sobre las Na^+/K^+ - ATPasas. En dosis cuidadosamente reguladas, ralentizan y refuerzan el latido del corazón, por lo que los cardenólidos

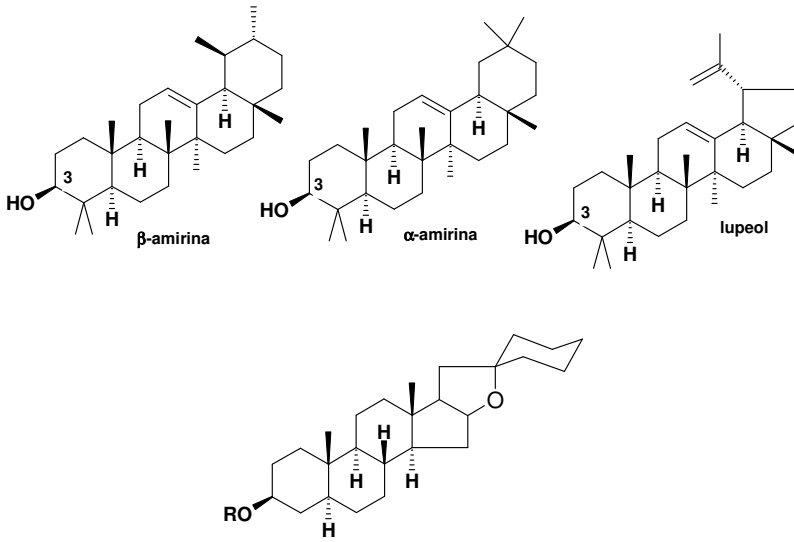
extraídos de especies de *Digitalis* son recetados a millones de pacientes para el tratamiento de enfermedades cardíacas. En lo referente a su estructura contienen un esqueleto esteroidal (llamado **genina**) unido a un resto de azúcar (mono, di o trisacárido) por un enlace O-glicosídico. Se conocen varias geninas (**digitoxigenina**, **digoxigenina**, **gitoxigenina**, etc.) cuyas estructuras a continuación exponemos:



Las saponinas son **esteroides** y **glucósidos triterpénicos** que deben su nombre a sus propiedades jabonosas. La presencia en una única molécula de elementos solubles en lípidos (el esteroide o el triterpeno) y en agua (el azúcar) confiere a las saponinas propiedades detergentes, formando una cubierta jabonosa cuando se agitan en agua. Se cree que la toxicidad de las saponinas se debe a su capacidad para formar complejos con los esteroides, lo que permite que puedan interferir con la absorción de estos esteroides en el aparato digestivo o bien romper membranas celulares una vez han sido incorporadas al torrente sanguíneo.

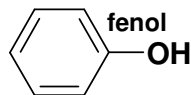
Las saponinas vegetales suelen derivar de los triterpenos α - y β -amirina y del lupeol, que se hallan unidos a un resto azúcar a través del hidroxilo de C-3 por un enlace O-glicosídico y se encuentran preferentemente en plantas dicotiledóneas, mientras que las saponinas esteroidales presentan el clásico esqueleto tetracíclico típico de los esteroides que se halla unido a un resto azúcar unido sobre C-3, que suele ser de hasta cinco moléculas (glucosa, arabinosa, ácido glucurónico, xilosa y ramnosa), y es interesante señalar que algunas saponinas esteroidales presentan un resto de azúcar adicional que se sitúa sobre C-26 o C-28. Las saponinas esteroidales se hallan más frecuentemente en las plantas monocotiledóneas.

A continuación mostramos las estructuras de ejemplos de saponinas esteroidales triterpénica (amirinas y lupeol) y esteroidales (tomatina, gzonina, α -digitonina, α -chaconina, y avenacina). Estos compuestos presentan una notable actividad antifúngica.



B. Compuestos fenólicos

Las plantas producen una gran variedad de productos secundarios que contienen un grupo fenol. Estas sustancias se clasifican como productos fenólicos y forman un grupo heterogéneo de casi 10.000 compuestos, algunos de los cuales son solubles en disolventes orgánicos, otros son glicósidos y ácidos carboxílicos solubles en agua, mientras que otros son grandes polímeros muy insolubles.

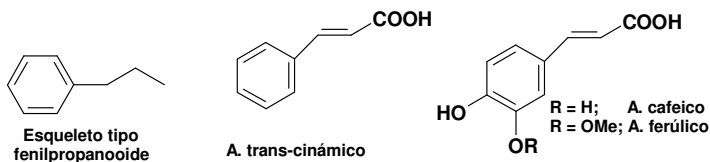


De acuerdo con su diversidad química los fenoles tienen funciones muy diversas en las plantas y así, algunos tienen función de defensa contra herbívoros y patógenos, otros participan en soportes mecánicos, como atrayentes de polinizadores, dispersante de frutos, en la absorción de radiación ultravioleta dañina o en la reducción del crecimiento de las plantas competidoras próximas.

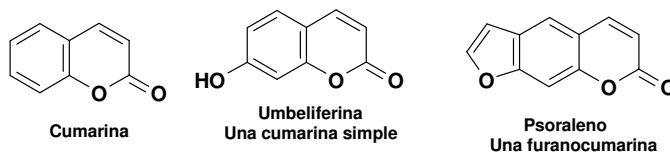
• Ciertos compuestos fenólicos son activados por la luz ultravioleta

Los compuestos fenólicos simples están muy extendidos en las plantas vasculares y parecen funcionar de diferente manera. Entre sus estructuras destacaremos las siguientes:

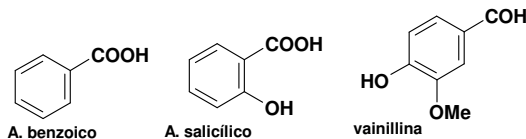
- **Fenilpropanoides simples**, tales como el ácido trans-cinámico, el ácido p-cumárico y sus derivados (como los ácido cafeico y ferúlico), que tienen un esqueleto carbonado básico tipo fenilpropanoide:



- **Lactonas fenilpropanoides, conocidas como cumarinas**, que contienen un anillo de δ -lactona sobre un esqueleto de fenilpropanoide, de las que citaremos la **umbeliferina** y el **psoraleno**:



- **Derivados del ácido benzoico**, que esencialmente son fenilpropanoides cuyo esqueleto ha perdido dos átomos de carbono entre los que citaremos el **Ácido salicílico** y la **vainillina**:



Muchos compuestos fenólicos simples tienen funciones importantes en las plantas como defensas frente a insectos, herbívoros y hongos.

Tienen especial interés la fototoxicidad de ciertas cumarinas, concretamente las llamadas furanocumarinas, que estructuralmente contienen un anillo tipo furano condensado sobre el anillo cumarínico, tal ocurre con el psoraleno. Estos compuestos no son tóxicos hasta que son activados por la luz. La luz solar en la región ultravioleta (320-400 nm) provoca que algunas furanocumarinas pasen del estado fundamental a un estado electrónico excitado de mayor energía y estas furanocumarinas activadas pueden introducirse en la doble hélice del DNA y unirse a las bases pirimidínicas (citosina y timina) bloqueando así la transcripción y la reparación lo que provoca la muerte de la célula.

Las furanocumarinas fototóxicas son especialmente abundantes en las plantas pertenecientes a la familia Umbelliferae, que incluye especies como el apio, la chirivía y el perejil. En el apio el nivel de estos compuestos

puede aumentar hasta 100 veces si la planta se halla sometida a estrés o enfermedades. Se ha descrito la aparición más o menos súbita de erupciones cutáneas en los recolectores de apio y algunas verduleras, lo que se atribuye al manejo de plantas de apio enfermas o estresadas.

Algunos insectos se han adaptado a sobrevivir en plantas que sintetizan furanocumarinas y otros compuestos fotóxicos, viviendo en telaraña donde no reciben las longitudes de onda activadoras.

• **La liberación de compuestos fenólicos al suelo limita el crecimiento de otras plantas**

Las plantas liberan al entorno una gran variedad de productos a través de las hojas, raíces y los restos que caen al suelo. La investigación de los efectos de estos compuestos en las plantas vecinas es conocida como **alelopatía**. Si una planta puede reducir el crecimiento de las plantas vecinas por liberación de productos químicos al suelo, puede aumentar su disponibilidad de luz, agua y de nutrientes y, por tanto, su ventaja evolutiva. En general el término alelopatía se ha aplicado a los efectos dañinos de las plantas sobre sus vecinas, aunque la definición precisa incluye también los efectos beneficiosos.

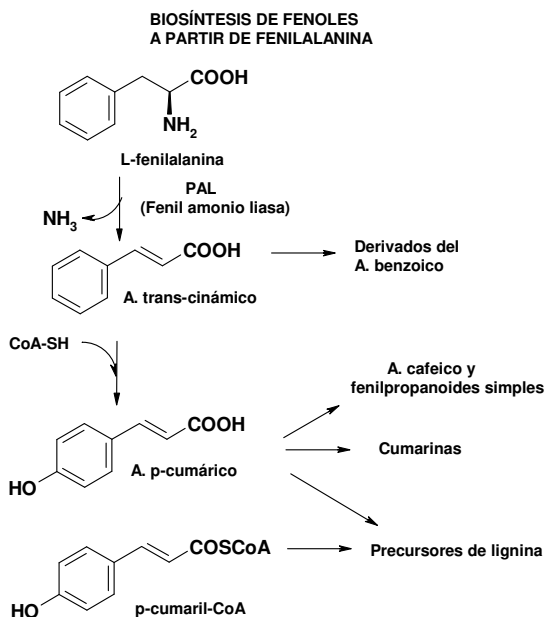
Los fenilpropanoides simples y derivados del ácido benzoico son descritos frecuentemente como poseedores de una actividad alelopática. Compuestos como el ácido cafeico y el ácido ferúlico se encuentran en el suelo en cantidades apreciables y, en experimentos de laboratorio, se ha demostrado su papel como inhibidores de la germinación y del crecimiento de muchas plantas.

A pesar de estos resultados, la importancia de la alelopatía en los ecosistemas naturales es controvertida. Muchos científicos dudan que la alelopatía sea un factor significativo en las interacciones planta-planta, debido a la dificultad de obtener pruebas evidentes de este fenómeno. Es fácil demostrar que, extractos o compuestos purificados de una planta pueden inhibir el crecimiento de otra planta en experimentos de laboratorio, pero es muy difícil demostrar que estos compuestos están presentes en el suelo en concentraciones adecuadas como para inhibir el crecimiento. Además, algunas sustancias orgánicas del suelo están con frecuencia unidas a partículas del mismo, por lo que pueden ser degradadas fácilmente por microbios.

A pesar de la falta de evidencias que la apoyen, el gran interés sobre la alelopatía deriva de sus potenciales aplicaciones agrícolas. Puede que, en algunos casos, las reducciones en el rendimiento de las cosechas sean provocadas por la alelopatía de malas hierbas o residuos de un cultivo anterior. Un interesante proyecto de futuro es el desarrollo de cultivos vegetales modificados genéticamente para ser alelopáticos de las malas hierbas.

• **La lignina es una macromolécula fenólica compleja**

Después de la celulosa, la sustancia orgánica más abundante en las plantas es la **lignina**, un polímero altamente ramificado de los grupos fenilpropanoides que desempeña funciones tanto primarias como secundarias. No se conoce la estructura precisa de la lignina, debido a la dificultad de extraerla de las plantas, ya que se encuentra unida de manera covalente a la celulosa y otros polisacáridos de la pared celular.



La lignina está formada generalmente tres derivados fenilpropanoides diferentes: los alcoholes **coniferílico**, **cumárico** y **sinapílico**, sintetizados a partir de la **fenilalanina** a través de varios derivados del **ácido cinámico**. Los alcoholes anteriores se unen formando un polímero por la acción de enzimas que generan intermedios con estructura de radicales libres. Las proporciones de las tres unidades monoméricas en la lignina varían entre especies, órganos vegetales e incluso entre las capas de una pared celular. En este polímero, con frecuencia hay muchos enlaces C-C y C-O-C de cada unidad de alcohol fenilpropanoide, generando una estructura compleja que se ramifica en tres dimensiones.

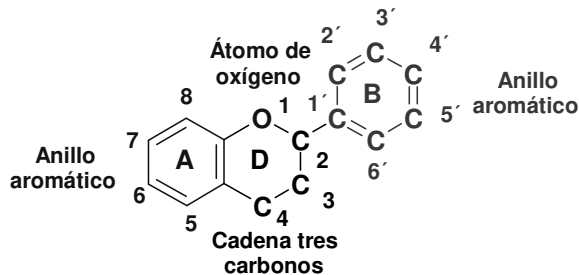
A diferencia de polímeros como almidón, caucho o celulosa, las unidades de lignina no parecen estar unidas de un modo único y repetitivo. Sin embargo, investigaciones recientes sugieren que una proteína guía puede unir las unidades fenilpropanoide durante la biosíntesis, dando lugar a una estructura que dirige la formación de una gran unidad repetitiva.

La lignina se encuentra en la pared celular de varios tipos de tejidos de soporte y de transporte, sobre todo, en las traqueidas y en los elementos de los vasos del xilema. Se deposita principalmente en la pared secundaria engrosada, pero también se encuentra en la pared primaria y en la lámina media, en estrecho contacto con las celulosas y las hemicelulosas presentes. La rigidez mecánica de la lignina fortalece los tallos y tejidos vasculares, permitiendo el crecimiento vertical y la conducción del agua y los minerales a través del xilema bajo presión negativa sin colapsar el tejido. Dado que la lignina es un componente clave en los tejidos de transporte de agua, la capacidad de síntesis de lignina es una de las adaptaciones más importantes que permitieron a las plantas primitivas colonizar la tierra firme.

Además de proporcionar soporte mecánico, la lignina tiene una función protectora significativa en las plantas. Su resistencia evita que las plantas sean alimento para animales y su estabilidad química hace que sea relativamente difícil de digerir para los herbívoros. Por unión a celulosa y proteínas, la lignina reduce la digestibilidad de estas sustancias. Finalmente, la lignificación bloquea el crecimiento de patógenos y es una respuesta frecuente ante una infección o una herida.

• **Flavonoides: sus clases**

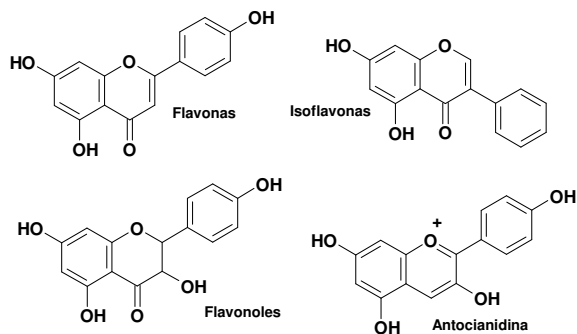
Los flavonoides son una de las principales clases de fenoles vegetales. El esqueleto básico de un flavonoide contiene quince átomos de carbono, repartidos entre dos anillos aromáticos A y B, que se unen entre sí a través de dos puentes, uno de ellos constituido por tres átomos de carbono y otro por un único átomo de oxígeno (D).



La estructura global de un flavonoide proviene de dos rutas biogénicas diferentes, una la ruta del ácido siquímico vía fenilalanina y el otro anillo aromático incluido el átomo de oxígeno proviene de la ruta del ácido malónico (el anillo aromático del que no se han destacado los C y el átomo de O).

Los flavonoides se clasifican en diferentes grupos, tomando como base el grado de oxidación del puente de tres carbonos: **flavonas**, **isoflavonas**,

flavonoles y **antocianidinas**. Las flavonas y las isoflavonas no presentan funciones hidroxilo sobre el puente de tres carbonos, mientras que los flavonoles presentan un hidroxilo sobre C-3. Finalmente, las antocianidinas carecen del grupo cetónico sobre C-4 y a cambio el anillo central se halla aromatizado, presentando una estructura de sal de pirilio:



Sobre el esqueleto aromático de los flavonoides suelen existir varios grupos hidroxilo, concretamente dos sobre las posiciones C-7, C-4 y C-5, aunque existen otros en los que los grupos hidroxilos se hallan en otras posiciones. Es frecuente además que los flavonoides se presenten como glicósidos.

Mientras que los grupos hidroxilos y los azúcares aumentan la solubilidad de los flavonoides en agua, otros sustituyentes como metoxilos (OMe) o unidades modificadas de isopentiolo hacen que los flavonoides tengan un marcado carácter lipófilo (hidrofóbico).

Los diferentes tipos de flavonoides realizan funciones muy diversas en las plantas, incluyendo la pigmentación y la defensa.

• Las antocianinas como atrayentes de animales

Además de la interacción depredador-presa, existen otras asociaciones entre plantas y animales. De hecho, paralelamente a la ingesta del néctar o la pulpa del fruto, los animales llevan a cabo un servicio extremadamente importante para las plantas como agentes transportadores del polen y las semillas. Los MS están implicados en estas interacciones planta-animal, ayudando a atraer a los animales a las flores y frutos o proporcionando señales visuales y olfativas.

Los pigmentos coloreados de las plantas pertenecen a dos tipos principales: **carotenoides** y **flavonoides**. Los primeros son compuestos amarillos, naranjas y rojos, que sirven como pigmentos auxiliares en la fotosíntesis y los segundos, como ya hemos visto, son pigmentos fenólicos que incluyen un amplio rango de sustancias coloreadas.

El grupo más extendido de flavonoides pigmentados es el de las **antocianinas**, responsables de la mayoría de los colores rojo, morado y azul de las plantas. Debido a que colorean flores y frutos, las antocianinas son muy importantes en la atracción de animales para la polinización y la dispersión de las semillas.

Las antocianinas son glicósidos que tienen un azúcar en C-3 y en ocasiones en alguna otra posición. Cuando carecen de azúcar se las conoce como **antocianidinas**. El color de estos compuestos depende de diversos factores, fundamentalmente:

- El número de hidroxilos y metoxilos en el anillo B de la antocianidina.
- La presencia de ácidos aromáticos esterificados en el anillo principal.
- El pH de las vacuolas celulares que almacenan estos pigmentos.

Las antocianinas también pueden presentarse como complejos supramoleculares junto a iones metálicos quelados y flaconas y se ha demostrado que los pigmentos azules de la comelina (*Commelina communis*) están formados por un gran complejo de seis moléculas de antocianinas, seis flavonas y dos cationes magnesio asociados.

Los colores de las antocianidinas dependen en parte de los sustituyentes del anillo B y así, un aumento en el número de grupos hidroxilo desplaza la absorción a una longitud de onda mayor, dando una coloración azul y la sustitución de un hidroxilo por un grupo metoxilo, desplaza la absorción a una longitud de onda más corta, proporcionando un color rojo.

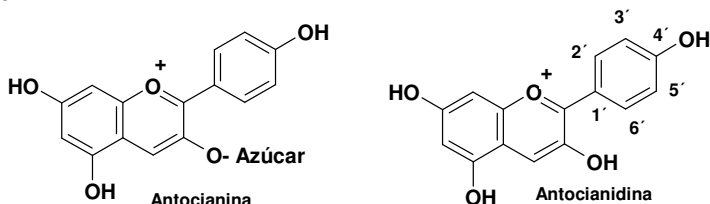


Tabla 1. Efectos de los sustituyentes del anillo en el color de las antocianidinas.

Antocianidina	Sustituyentes	Color
Pelargonidina	4'- OH	Rojo naranja
Cianidina	3'- OH; 4'- OH	Rojo púrpura
Delfinidina	3'- OH; 4'- OH; 5'- OH	Azul púrpura
Peonidina	3'- OCH ₃ ; 4'- OH	Rojo rosado
Petunidina	3'- OCH ₃ ; 4'- OH; 5'- OCH ₃	Púrpura

Teniendo en cuenta la gran variedad de factores que afectan la coloración en las antocianidinas y la posible presencia de carotenoides, no es sorprendente que en la naturaleza existan muchos colores de frutos y flores. La evolución del color de las flores ha podido estar determinada por

la presión selectiva de diferentes polinizadores que, con frecuencia, tienen preferencia por diferentes colores.

El color, desde luego, es un tipo de señal usado por las flores para atraer a los polinizadores. Los compuestos volátiles, particularmente los monoterpenos, proporcionan los olores atractivos.

• **Los flavonoides protegen del daño provocado por la luz ultravioleta**

Los otros dos grupos de flavonoides que se encuentran en las flores son las **flavonas** y los **flavonoles**. Estos flavonoides generalmente absorben luz a longitudes de onda más cortas que las antocianinas, por lo que no son visibles para los humanos. Sin embargo, los insectos como las abejas, que ven el rango UV del espectro, responden a flavonas y flavonoles como señales de atracción. Los flavonoles en una flor suelen formar patrones simétricos de rayas, manchas o círculos concéntricos llamadas **guías de néctar**. Estos patrones pueden ser visibles para los insectos y les ayudan a localizar el polen y el néctar.

Las flavonas y los flavonoles no están restringidos a las flores, sino que además están presentes en las hojas de casi todas las plantas verdes. Estas dos clases de flavonoides protegen a las células del exceso de radiación UV-B (280-320 nm) porque se acumulan en las capas epidérmicas de hojas y tallos y absorben intensamente en la región del UV-B permitiendo a la luz visible (fotosintéticamente activa) penetrar de forma ininterrumpida. Además, la exposición de las plantas a un incremento de luz UV-B incrementa la biosíntesis de flavonas y flavonoles.

Los mutantes de *Arabidopsis thaliana* que carecen del enzima chalcona sintasa no pueden producir flavonoides y al carecer de esta sustancia, las plantas son mucho más sensibles a la radiación UV-B que las plantas silvestres y crecen muy poco en condiciones normales. Cuando se elimina la luz UV-B crecen normalmente. En la protección frente a la radiación UV en *Arabidopsis* también son importantes un grupo de ésteres de fenilpropanoides sencillos.

Recientemente, se han descubierto otras funciones de los flavonoides. Por ejemplo, las flavonas y flavonoles secretadas al suelo por las raíces de las leguminosas median la interacción de las legumbres y los simbiontes fijadores de nitrógeno. Trabajos recientes sugieren que los flavonoides también juegan un papel regulador en el desarrollo vegetal como moduladores del transporte polar de auxinas.

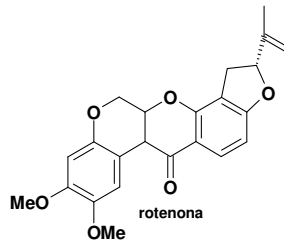
• **Los flavonoides tienen actividad antimicrobiana**

Las **isoflavonas** son un grupo de flavonoides en los que la posición del anillo aromático B está cambiada y en lugar de hallarse enlazado a C-2 se halla sobre C-3. Se encuentran frecuentemente en las legumbres y tienen

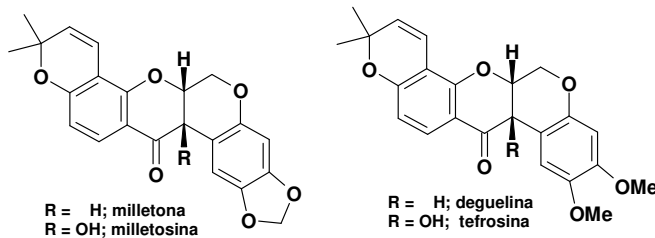
funciones diferentes. Algunos como los **rotenoides**, tienen una potente actividad insecticida y otros tienen actividad antiestrogénica y así, se sabe que el ganado que pascaba en campos con abundante trébol suele padecer de infertilidad. El sistema de anillos de los isoflavonoides tiene una estructura tridimensional similar a la de los esteroides, lo que permite a estas sustancias unirse a receptores de estrógenos.

Los isoflavonoides también pueden ser los responsables de las propiedades anticancerígenas de los alimentos preparados con soja. En los últimos años, los isoflavonoides que han llegado a conocerse mejor son las **fitoalexinas**, compuestos antimicrobianos sintetizados en respuesta a la infección fúngica o bacteriana que ayudan a limitar la invasión del patógeno y que serán analizadas más adelante.

Entre los rotenoides citaremos la **rotenona** presente en varias plantas (*Derris elliptica*, *Lonchocarpus* y *Tephrosia*) que entre otros efectos provoca, depresión de los movimientos respiratorios, disminución de los latidos cardiacos, con un bloqueo de la utilización de oxígeno. A continuación se muestra la estructura de la **rotenona**:



Otros rotenoides bioactivos han sido aislados de las raíces de *Lonchocarpus* y entre ellos citaremos **milletona**, **milletosina**, **deguelina** y **tephrosina** cuyas estructuras se muestran a continuación, siendo destacable su acción insecticida:

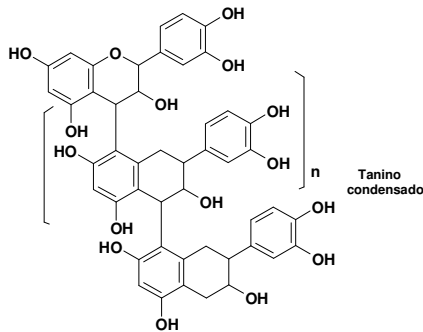


• Los taninos disuaden a los herbívoros

Una segunda clase de polímero fenólico vegetal con propiedades defensivas, además de la lignina, son los **taninos**. Este término fue usado por primera vez para describir aquellos compuestos que podían convertir la

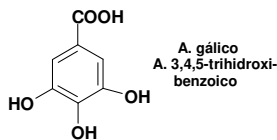
piel animal en cuero, en el proceso conocido como curtido, término que en inglés se expresa como “tanning”. Los taninos se unen al colágeno de las pieles animales, aumentando se resistencia al calor, al agua y a los microbios.

Hay dos clases de **taninos** conocidos unos como **condensados** y otros como **hidrolizables**. Los taninos condensados son compuestos formados por la polimerización de unidades de flavonoides y son constituyentes frecuentes de las plantas leñosas. Dado que los **taninos condensados** al ser tratados con ácidos fuertes se hidrolizan convirtiéndose en **antocianidinas**, se les ha designado en ocasiones como **proantocianidinas**.



Los **taninos hidrolizables** son polímeros heterogéneos que contienen ácidos fenólicos, sobre todo **ácido gálico** y **azúcares simples**. El ácido gálico es un compuesto aromático que posee una estructura fenólica y que formalmente deriva del ácido benzoico, por lo que su nombre sistemático es ácido 3,4,5-trihidroxi-benzoico.

Los taninos hidrolizables son más pequeños que los taninos condensados y se hidrolizan más fácilmente en presencia de ácidos diluidos. La mayoría de los taninos hidrolizables tienen masas moleculares comprendidas entre 600 y 3000.



Los taninos se extraen de las plantas con agua o con una mezcla de agua y alcohol, que luego se decanta y se deja evaporar a baja temperatura hasta obtener el producto final. Los taninos tienen un ligero olor característico, sabor amargo y astringente, y su color va desde el amarillo hasta el castaño oscuro. Expuestos al aire se tornan oscuros y pierden su

efectividad para el curtido. Los taninos se utilizan en el curtido porque reaccionan con las proteínas de colágeno presentes en las pieles de los animales, uniéndolas entre sí, de esta forma aumenta la resistencia de la piel al calor, a la putrefacción por agua, y al ataque por microbios.

En las plantas cumplen funciones de defensa ante el herbivorismo. Los taninos en general son toxinas que reducen significativamente el crecimiento y la supervivencia de muchos herbívoros cuando se adicionan a su dieta. Además, tienen potencial de producir rechazo al alimento en una gran diversidad de animales. Los mamíferos como la vaca, el ciervo y el simio característicamente evitan a las plantas o partes de las plantas con alto contenido de taninos. Las frutas no maduras, por ejemplo, con frecuencia tienen altos contenidos de taninos, que pueden estar concentrados en las capas celulares más externas de la fruta.

Es interesante el dato de que los humanos usualmente prefieren un cierto nivel de astringencia en las comidas que contienen taninos, como las manzanas, las zarzamoras, y el vino tinto. Recientemente, los taninos del vino tinto mostraron poseer propiedades para bloquear la formación de endotelina-1, una molécula señal que produce la constricción de los vasos sanguíneos, lo cual disminuiría el riesgo de enfermedades cardíacas a aquellos que consuman vino tinto en forma moderada.

Si bien hay taninos específicos que pueden ser saludables para el hombre, en general son tóxicos, debido a las mismas propiedades que los hace buenos para la curtiembre: su capacidad de unir entre sí proteínas de forma no específica. Durante mucho tiempo se pensó que los taninos formaban complejos con las proteínas del intestino de los herbívoros formando puentes de hidrógeno entre sus grupos hidroxilo y los sitios electronegativos de la proteína, pero evidencia más reciente también avala una unión covalente entre los taninos (y otros compuestos fenólicos provenientes de las plantas) y las proteínas de los herbívoros que los consumen. El follaje de muchas plantas contiene enzimas que oxidan los fenoles a sus formas quinona en los intestinos de los herbívoros. Las quinonas son altamente reactivas, electrofílicas, y reaccionan con los grupos de proteínas nucleofílicos $-NH_2$ y $-SH$. Cualquiera sea el mecanismo por el que ocurra la unión proteína-tanino, este proceso tiene un impacto negativo en la nutrición de los herbívoros. Los taninos pueden inactivar las enzimas digestivas de los herbívoros y crear complejos agregados de taninos y proteínas de plantas que son difíciles de digerir.

Los herbívoros que habitualmente se alimentan de material rico en taninos parecen poseer algunas interesantes adaptaciones para eliminar los taninos de sus sistemas digestivos. Por ejemplo, algunos mamíferos como los ratones y los conejos, producen proteínas en la saliva que tienen un alto contenido de prolina (25-45%), que tiene una gran afinidad por los taninos. La secreción de estas proteínas es inducida por la ingestión de comida con

un alto contenido de taninos, y su efecto es la disminución en una medida importante de los efectos adversos de la ingestión de taninos. La alta cantidad de residuos de prolina le otorga a estas proteínas una conformación muy flexible y abierta, y un alto grado de hidrofobia que facilita su unión con los taninos.

Los taninos de las plantas también funcionan como defensas contra los microorganismos. Por ejemplo, el corazón de madera muerta de muchos árboles contiene altas concentraciones de taninos que ayudan a prevenir el desmoronamiento por ataques de hongos y bacterias patógenos.

C. Compuestos nitrogenados

Existe una gran cantidad de metabolitos secundarios que contienen nitrógeno en sus estructuras. En esta clase están incluidas las defensas contra herbívoros conocidas como **alcaloides** y **glicósidos cianogénicos**, que son de gran interés debido a su toxicidad para el hombre y a sus propiedades medicinales. Muchos metabolitos secundarios nitrogenados se biosintetizan a partir de aminoácidos comunes.

A continuación examinaremos las estructuras y propiedades biológicas de varios MS nitrogenados tales como **alcaloides**, **glicósidos cianogénicos**, **glucosinolatos** y **aminoácidos no proteicos**. Además, analizaremos la capacidad de la **sistemina**, una proteína liberada en las células dañadas, para actuar como señal de la existencia de una herida para el resto de la planta.




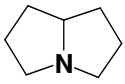
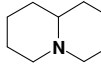
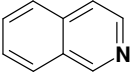
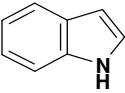
• Los alcaloides tienen efectos fisiológicos en los animales

Los **alcaloides** comprenden una gran familia de más de 15.000 MS que contienen N y se encuentran aproximadamente en un 20% en las especies de plantas vasculares. En estas sustancias, el átomo de N está formando parte de un **anillo heterocíclico**, es decir un ciclo que contiene átomos de N y de C. Como grupo químico, los alcaloides son los más conocidos por sus impresionantes efectos farmacológicos sobre los animales vertebrados.

Como su propio nombre indica, muchos alcaloides son bases. A los valores de pH normales del citosol (pH = 7,2) o de la vacuola (pH = 5-6), el átomo de N está protonado y por lo tanto el átomo de N está cargado positivamente y en general son solubles en agua.

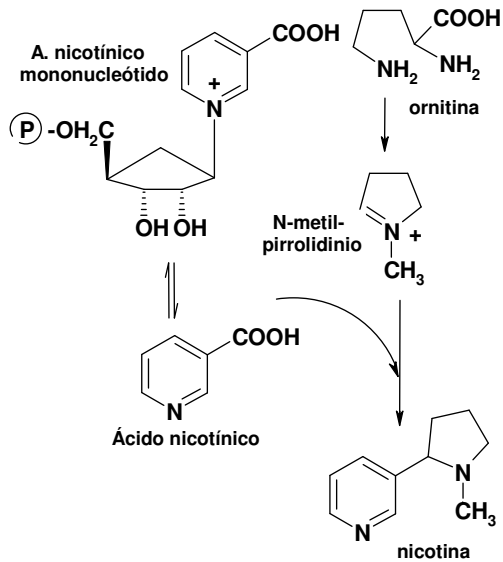
Los alcaloides se sintetizan normalmente a partir de unos pocos aminoácidos comunes, en concreto, lisina, tirosina y triptófano. Sin embargo, el esqueleto carbonado de algunos alcaloides contiene un componente carbonado derivado de la ruta de los terpenos. Los principales tipos de alcaloide, así como los aminoácidos precursores, se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Principales tipos de Alcaloides, sus aminoácidos precursores y ejemplos conocidos.

Clase	Estructura	Precursor	Ejemplos	Usos humanos
Pirrolidina		Ornitina (Aspartato)	Nicotina	Estimulante, calmante, tranquilizante
Tropano		Ornitina	Atropina Cocaína	Prevención espasmos intestinales, antídotos otros venenos, dilatación pupilas, estimulante del SNC, anestésico local
Piperidina		Lisina	Coniina	Veneno; paraliza las neuronas motoras
Pirrolidicina		Ornitina	¿Retrorsina?	Ninguno
Quinolicidina		Lisina	Lupinina	Restaura el ritmo cardiac
Isoquinolina		Tirosina	Codeína Morfina	Analgésico, tratamiento tos
Indol		Triptófano	Psococibina Reserpina Estricnina	Alucinógeno, Trto. hipertensión y psicosis, veneno ratas, trto. desórdenes oculares

Otros alcaloides, como la **nicotina** y compuestos relacionados derivan de la **ornitina**, un intermediario en la biosíntesis de la **arginina**. El **ácido nicotínico**, **vitamina B (niacina)** es un precursor del anillo de piridina de este alcaloide, mientras que el anillo de **pirrolidina** procede de la **ornitina**. El **ácido nicotínico** es también un constituyente del **NAD⁺** y **NADP⁺**, dos compuestos que actúan como transportadores de electrones en el metabolismo.

El papel de los alcaloides en las plantas ha sido objeto de especulación a lo largo de los últimos cien años. Durante un tiempo se pensó que los alcaloides eran desechos nitrogenados de modo similar a lo que son la urea y el ácido úrico en los animales, compuestos para el almacenamiento de N o reguladores del crecimiento, pero prácticamente no se tenían pruebas que apoyasen estas hipótesis. Actualmente, se cree que la mayoría de los alcaloides actúan como defensas frente a predadores, especialmente mamíferos, debido a su toxicidad y capacidad de disuasión.



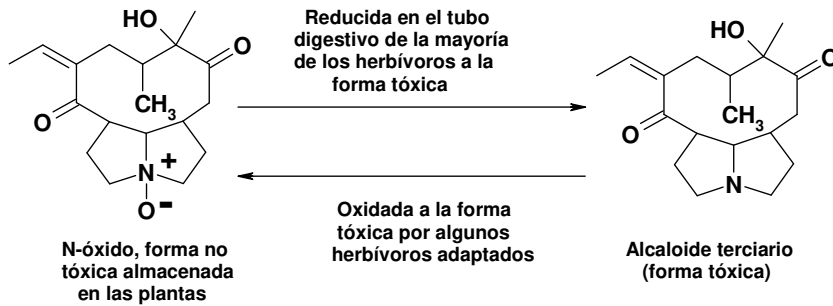
Se conoce muy bien que hay un considerable número de cabezas de ganado que mueren por la ingestión de plantas que contienen alcaloides. En USA, un porcentaje importante de ganado se envenena anualmente por consumo de grandes cantidades de plantas que contienen alcaloides, como son los altramuces (chochos; *Lupinus*), albarraz (*Delphinium*) y la hierba cana (*Senecio*). Este fenómeno puede deberse a que los animales de granja, a diferencia de los salvajes, no han estado sometidos a la presión de la selección natural para distinguir y evitar las plantas tóxicas. De hecho, el ganado prefiere las plantas que contienen alcaloides al forraje, menos dañino.

Casi todos los alcaloides son tóxicos para los humanos cuando se ingieren en cantidades suficientes. Por ejemplo, **estricnina**, **atropina** y **coniína** (del veneno cicuta) son alcaloides que actúan como venenos clásicos. Sin embargo, en pequeñas dosis, pueden ser útiles desde un punto de vista farmacológico. La **morfina**, **codeína** y **escopolamina** son de los alcaloides más usados en medicina. Otros alcaloides como **cocaína**, **nicotina** y **cafeína** no tienen usos médicos, pero su consumo está muy extendido como estimulantes o sedantes.

A nivel celular, el mecanismo de acción de los alcaloides en los animales es bastante variable. Muchos alcaloides interfieren con componentes del sistema nervioso, especialmente los transmisores químicos; otros, afectan al transporte a través de la membrana, a la síntesis de proteínas o a actividades enzimáticas diversas.

Otros grupo de alcaloides derivados de la **pirrolidina**, muestran como los herbívoros se han adaptado para tolerar las sustancias defensivas

vegetales e incluso para usarlas en su propia defensa. En las plantas, los alcaloides de la pirrolicidina se producen naturalmente como N-óxidos no tóxicos. En el tracto digestivo de los herbívoros, no obstante, son reducidos rápidamente a alcaloide terciarios hidrofóbicos no cargado, que atraviesan fácilmente las membranas y son tóxicos.



Algunos herbívoros como la mariposa *Tyria jacobea* han desarrollado la capacidad de reconvertir los alcaloides terciarios de la pirrolicidina en la forma N-óxido no tóxica, inmediatamente después de haberlos absorbido por su tracto digestivo. Estos herbívoros pueden almacenar los N-óxidos en sus cuerpos como defensas contra sus propios depredadores.

No todos los alcaloides que producen las plantas son producidos por ellas mismas. Muchas herbáceas hospedan simbiontes fúngicos endógenos que crecen en el apoplasto y sintetizan una gran variedad de alcaloides. Las herbáceas con hongos simbiontes suelen crecer mejor y estar mejor defendidas de los insectos y mamíferos herbívoros. Desafortunadamente, algunas herbáceas con simbiontes como la festuca (*Festuca arundinacea*), importantes en la hierba de pasto, pueden ser tóxicas para el ganado cuando su contenido en alcaloides es demasiado alto. Actualmente, las investigaciones están dirigidas a obtener festuca con niveles de alcaloides que no sean venenosos para el ganado, pero que sigan proporcionando protección contra los insectos.

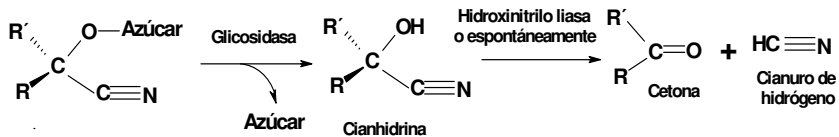
Como los monoterpenos en la resina de las coníferas y otros muchos compuestos de defensa de los herbívoros, los alcaloides aumentan en respuesta a un daño iniciado por un herbívoro, reforzando a la planta para el siguiente ataque. Por ejemplo, *Nicotiana attenuata*, una planta de tabaco silvestre que crece en los desiertos del Great Basin, produce niveles de nicotina después de ser atacada por los herbívoros. No obstante, cuando es atacada por gusanos tolerantes a la nicotina, no se produce un aumento del nivel de esta sustancia, y en su lugar se liberan terpenos volátiles que atraen a los depredadores de los gusanos. Es evidente, que el tabaco silvestre y otras plantas, tienen formas de determinar que tipo de herbívoro está atacando sus hojas. Los herbívoros señalan su presencia por el tipo de daño

que le infligen o por los compuestos químicos distintivos que liberan. Recientemente, se ha demostrado que las secreciones bucales de gusanos que se alimentan de hojas de maíz contienen conjugados de ácidos grasos y aminoácidos, que inducen a la planta a producir terpenos defensivos cuando se aplican a hojas cortadas.

• **Los glicósidos cianogénicos liberan cianuro de hidrógeno venenoso**

En las plantas existen varios compuestos nitrogenados protectores diferentes de los alcaloides. Dos de estos grupos de sustancias son los **glicósidos cianogénicos** y los **glucosinolatos**, compuestos que no son tóxicos por sí mismos, pero que se degradan rápidamente cuando la sustancia es aplastada, liberando venenos volátiles. Los glicósidos cianogénicos liberan un veneno muy conocido que es el gas cianuro de hidrógeno ($\text{H-C}\equiv\text{N}$).

La ruptura de los glicósidos cianogénicos en una planta es un proceso enzimático que tiene lugar en dos etapas. Las especies que producen glicósidos cianogénicos también poseen las enzimas necesarias para hidrolizar el azúcar y liberar el HCN. En el primer paso, el azúcar es liberado por una glucosidasa, una enzima hidrolítica que separa los azúcares de las moléculas a las que se hallan unidas. En la segunda etapa, el producto liberado en la hidrólisis, que es un α -hidroxinitrilo (cianhidrina), se descompone espontáneamente a baja velocidad para liberar HCN. Este segundo paso puede ser acelerado por la enzima hidroxinitrilo liasa.



En el esquema anterior R y R' pueden ser alquilos (restos de hidrocarburos alifáticos) o arilos (restos de hidrocarburos aromáticos). Si R es un fenilo, R' es un H y el azúcar es el disacárido β -gentobiosa, el compuesto es la amigdalina que se halla presente en las semillas de almendras, albaricoques, cerezas y melocotones.

Los glicósidos cianogénicos (GC), normalmente no se degradan en una planta intacta porque el glicósido y los enzimas degradantes están separados espacialmente, se hallan en diferentes compartimentos celulares o en tejidos distintos. En sorgo, el glicósido cianogénico **durrina** está presente en las vacuolas de las células epidérmicas, mientras que las enzimas hidrolíticas se encuentran en el mesófilo.

En condiciones normales, esta compartimentación evita la descomposición del glicósido. Sin embargo, cuando un herbívoro daña la hoja durante

la ingestión, los contenidos de los diferentes tejidos se mezclan y se forma el HCN. Los glicósidos cianogénicos (GC) están ampliamente distribuidos en el reino vegetal y se encuentran frecuentemente en leguminosas, herbáceas y otras especies de la familia de la rosa.

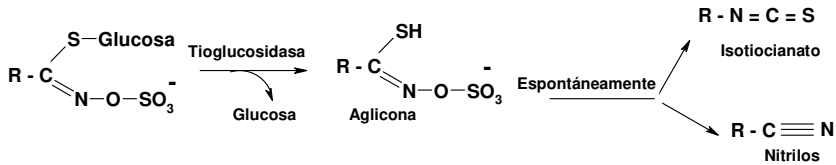
Existen evidencias importantes de que los GC tienen una función protectora en algunas plantas. El HCN es una toxina de acción rápida que inhibe metaloproteínas, como por ejemplo la citocromo oxidasa, enzima clave en la respiración mitocondrial. La presencia de GC evita que determinadas plantas sean el alimento de insectos y otros herbívoros como caracoles y babosas. No obstante, como ocurre con otras clases de MS, algunos herbívoros se han adaptado a alimentarse de plantas cianogénicas y toleran grandes dosis de HCN.

Los tubérculos de mandioca o yuca (*Manihot suculenta*), un alimento rico en hidratos de carbono, esencial en la dieta de muchos países tropicales, contiene altos niveles de GC. Los métodos de procesamiento tradicionales como el rayado, triturado, remojado y secado, eliminan o degradan una gran parte de los GC presentes en los tubérculos. Sin embargo, el envenenamiento crónico que produce una parálisis parcial de los miembros está todavía muy extendido en las regiones donde la mandioca es la principal fuente de alimento debido a que los métodos tradicionales de detoxificación de la mandioca no son completamente efectivos. Además, las poblaciones que consumen mandioca tienen una nutrición pobre, lo que agrava los efectos de los GC. Se están dirigiendo muchos esfuerzos a reducir el contenido de GC en la mandioca en aproximaciones tanto de mejora convencional como de ingeniería genética. Sin embargo, no se busca una completa eliminación de los GC ya que estas sustancias son probablemente las responsables de que la mandioca pueda ser almacenada durante mucho tiempo sin ser atacada por plagas de patógenos.

• Los glucosinolatos liberan toxinas volátiles

Una segunda clase de glicósidos vegetales son los **glucosinolatos** o **glicósidos del aceite de mostaza**, que se degradan para liberar sustancias de defensa volátiles. Se encuentran principalmente en las Brassicaceae y familias vegetales próximas y liberan los compuestos responsables del olor y el gusto de muchos vegetales como el repollo, el brócoli y los rábanos.

La liberación de compuestos volátiles olorosos de los glucosinolatos está catalizada por un enzima hidrolítico llamado **tioglucosidasa** o **mirosinasa**, que libera la glucosa de su unión de la molécula de azufre. La **aglicona** resultante, porción de la molécula que es un azúcar, se transpone, perdiendo un anión sulfato y generando productos de olor fuerte y químicamente reactivos, como son los **isocianatos** y **nitrilos**, dependiendo de las condiciones de hidrólisis.

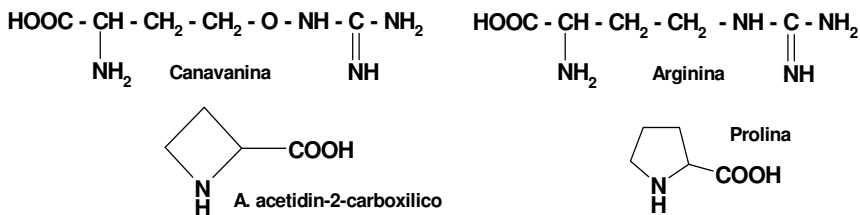


Al igual que con otros MS, algunos animales se han adaptado a alimentarse de plantas que contienen glucosinolatos sin que éstos les produzcan ningún daño. Para estos herbívoros adaptados, como la oruga del repollo, los glucosinolatos actúan como estimulante de la puesta de huevos y los isotiocianatos producidos después de la hidrólisis de los glucosinolatos actúan como atrayentes volátiles.

La mayor parte de las investigaciones recientes sobre la utilización de glucosinolatos en la defensa natural se ha centrado en la colza (*Brassica napus*), importante productor de aceite de Norte América y Europa. Los investigadores han intentado reducir los niveles de glucosinolatos de las semillas de colza, de manera que el elevado contenido en proteínas comestibles que quedan en la semilla después de la extracción del aceite, pueda ser utilizado como alimento para los animales. Las primeras variedades bajas en glucosinolatos probadas en el campo fueron incapaces de sobrevivir debido a serio problemas de plagas. A pesar de ello, recientemente se han desarrollado variedades con bajo nivel de glucosinolatos en semilla, pero con altos niveles de esta sustancia de defensa en hojas, que son capaces de defenderse del ataque de plagas y no obstante, proporcionan un residuo de semilla rico en proteína para la alimentación de animales.

• Los aminoácidos no proteicos defienden de los herbívoros

Las plantas y los animales incorporan los mismos 20 aminoácidos en sus proteínas. Sin embargo, muchas plantas contienen otros aminoácidos no comunes, llamados **aminoácidos no proteicos**, que no son incorporados a las proteínas, sino que están presentes en su forma libre o actúan como sustancias protectoras. Los aminoácidos no proteicos con frecuencia son similares a los proteicos comunes y así, la **canavanina** es un análogo de la **arginina** y el ácido **azetidin-2-carboxílico** tiene una estructura muy similar a la **prolina**:



Los aminoácidos ejercen su toxicidad de varias formas. Algunos bloquean la síntesis o incorporación de aminoácidos proteicos, mientras que otros como la canavanina, pueden incorporarse por error en las proteínas. Tras la ingestión, la canavanina es reconocida por los enzimas del herbívoro que normalmente unen arginina a su molécula de RNA de transferencia, de forma que es incorporado a las proteínas en lugar de la arginina. El resultado normalmente es una proteína no funcional porque su estructura terciaria o su sitio catalítico están alterados. La canavanina es menos básica que la arginina por lo que quizás pueda alterar la capacidad de la enzima de unir sustratos de catalizar reacciones químicas.

Las plantas que sintetizan aminoácidos no proteicos no son susceptibles a la toxicidad de estos compuestos. La judía sable (*Canavalia ensiformis*), que sintetiza grandes cantidades de canavanina en sus semillas, tiene una maquinaria de síntesis proteica capaz de distinguir entre la canavanina y la arginina, de forma que no incorpora canavanina en sus propias proteínas. Algunos insectos especializados en plantas con aminoácidos no proteicos presentan adaptaciones biológicas similares.

• **Ciertas proteínas vegetales inhiben la digestión en los herbívoros**

Entre los diversos componentes de los arsenales de defensa de las plantas se encuentran las proteínas de defensa que interfieren la digestión de los herbívoros. Por ejemplo, algunas leguminosas sintetizan inhibidores de α -amilasas que bloquean la acción de la enzima digestiva del almidón. Otras especies vegetales producen **lectinas**, que son proteínas de defensa que se unen a las células epiteliales que cubren el tracto digestivo e interfieren en la absorción de nutrientes.

Las proteínas no digeribles mejor conocidas en plantas son las **inhibidoras de proteinasas**, que se han encontrado en legumbres, tomate y otras plantas. Estas sustancias bloquean la acción proteolítica de las enzimas digestivas de los herbívoros. Una vez en el tracto digestivo de los herbívoros, inhiben la digestión proteica a través de una unión fuerte y específica al sitio activo de las enzimas, tales como la **tripsina** y la **quimotripsina**, que hidrolizan proteínas.

Los insectos que se alimentan de plantas que contienen inhibidores de proteínas tienen tasas de crecimiento reducidas y el desarrollo se puede compensar por la adición de aminoácidos suplementarios en su dieta.

La función defensiva de los inhibidores de proteinasas se ha confirmado en especies con plantas transgénicas de tabaco. Las plantas que habían sido transformadas para acumular niveles elevados de inhibidores de proteinasas sufrieron menos daños por los insectos herbívoros que las plantas control, no transformadas. Sin embargo, varios insectos herbívoros, se han adaptado a las plantas productoras de inhibidores de proteasas a

través de producir proteasas digestivas resistentes a los mecanismos de inhibición.

• **El ataque de los herbívoros inicia una compleja ruta de señalización**

Los inhibidores de proteinasas y otras defensas vegetales no están siempre presentes en las plantas, y sólo se sintetizan después del ataque inicial de un herbívoro o patógeno. En tomates, el ataque de insectos provoca una rápida acumulación de inhibidores de proteinasas en toda la planta, incluso en zonas alejadas del sitio dañado. La producción sistémica de los inhibidores de proteinasas en plantas de tomates jóvenes inicia una complicada secuencia de acontecimientos:

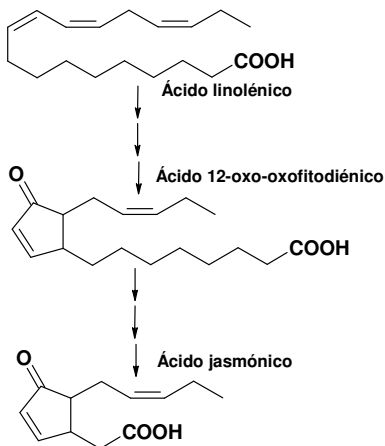
- Las hojas de tomate heridas sintetizan **prosistemina**, un precursor proteico de gran tamaño (200 aminoácidos).
- La **prosistemina** es procesada proteolíticamente para producir un polipéptido llamado **sistemina** (18 aminoácidos), que es el primer (y hasta el momento el único) péptido hormonal descubierto en plantas.
- La **sistemina** es liberada desde las células hasta el apoplasto.
- La **sistemina**, entonces es transportada desde la hoja dañada a través del floema.
- En las células diana, se postula que la **sistemina** se une al receptor en la membrana plasmática para iniciar la síntesis de **ácido jasmónico**, un regulador del crecimiento vegetal que tiene un amplio rango de efectos.
- El **ácido jasmónico** activa la expresión de genes que codifican para inhibidores de proteinasas. Otras señales, como el ABA (ácido abscísico), el ácido salicílico y los fragmentos de pectina de las paredes celulares dañadas, parecen participar en esta cascada de señalización por herida, aunque sus funciones específicas no se han esclarecido todavía.

• **El ácido jasmónico es una hormona vegetal del estrés que activa numerosas respuestas de defensa**

Los niveles de ácido jasmónico aumentan de manera vertiginosa en respuesta al daño causado por diferentes herbívoros e inicia la formación de diferentes clases de defensas vegetales, además de los **inhibidores de proteinasas**, incluyendo terpenos y alcaloides.

La estructura y biosíntesis del ácido jasmónico (AJ) ha intrigado a los biólogos vegetales debido a sus similitudes con la de algunos eicosanoides, que son el centro de las respuestas inflamatorias y otros procesos

fisiológicos en mamíferos. En las plantas, el AJ se sintetiza a partir del ácido linolénico que se libera de las membranas lipídicas y es convertido en AJ a través de una ruta compleja como se esquematiza anteriormente.



Se sabe que el ácido jasmónico induce la transcripción de genes implicados en el metabolismo de defensa de plantas. Los mecanismos para la activación génica se van esclareciendo lentamente. Por ejemplo, en investigaciones recientes en la vincapervinca de Madagascar (*Catharanthus roseus*), que produce algunos alcaloides anticancerígenos muy valiosos, se identificó un factor de transcripción que responde al AJ por activación de la expresión de varios genes que codifican los genes biosintéticos de los alcaloides. Cabe destacar que este factor de transcripción también activa los genes de ciertas rutas metabólicas primarias que proporcionan precursores para la formación de alcaloides, por lo que parece que sea el principal regulador del metabolismo de la vincapervinca de Madagascar.

La demostración directa del papel del AJ en la resistencia a insectos procede de las investigaciones con líneas de mutantes de *Arabidopsis* que producen muy bajos niveles de AJ. Estos mutantes pueden morir fácilmente por plagas que normalmente no dañan a *Arabidopsis*. Sin embargo, la aplicación del AJ exógeno puede reestablecer la resistencia casi a los niveles de la planta silvestre.

Defensa vegetal contra patógenos

Aunque las plantas carecen de sistema inmunitario, muestran una sorprendente resistencia a enfermedades producidas por hongos, bacterias, virus y nemátodos presentes en el ambiente. Examinaremos a continuación diferentes mecanismos desarrollados por las plantas para resistir a la

infección, incluyendo la producción de agentes microbianos y un tipo de muerte celular programada llamada respuesta hipersensible. También discutiremos dos tipos especiales de inmunidad de las plantas conocidos como **resistencia sistémica adquirida** y **resistencia sistémica inducida**.

- **Los patógenos han desarrollado varias estrategias para invadir plantas anfitrionas**

Las plantas han estado y están continuamente expuestas a una gran panoplia de patógenos. Para tener éxito en sus invasiones a las plantas los patógenos han desarrollado varias estrategias, entre las que destacaremos:

- Penetración directa a través de la cutícula y las células por medio de la secreción de enzimas líticas, capaces de digerir estas barreras mecánicas.
- Invasión de las plantas a través de aperturas naturales como estomas y lenticelas.
- Invasión de la planta a través de heridas causadas por los estiletes del insecto, tal como ocurre con algunos herbívoros.
- Varios virus y también algunos tipos de patógenos son transferidos por insectos herbívoros que actúan como vectores e invaden la planta a través del sitio donde come el insecto. Comedores de floema como mariposas blancas y áfidos depositan directamente patógenos en el sistema vascular, para que luego puedan desplegarse a través de toda la planta utilizando este mismo sistema vascular.

Una vez están en el interior de la planta, los patógenos usan una de las tres estrategias que comentaremos a continuación para utilizar la planta anfitrión como un sustrato para su progresión:

- Los **patógenos necrotróficos** atacan a su anfitrión segregando enzimas degradantes de células o toxinas, que eventualmente pueden afectar a las células de la planta, conduciendo a un masivo desgarro (laceración) de los tejidos. Los tejidos muertos son posteriormente colonizados por el patógeno y le sirven como una fuente de alimento.
- Los **patógenos biotróficos** utilizan una estrategia diferente. Después de la infección, los tejidos de la planta permanecen vivos durante un tiempo, y sólo pueden observarse mínimos daños celulares mientras que el patógeno continúa alimentándose de los sustratos que proporciona el anfitrión.
- Los **patógenos hemibiotróficos** tienen un estado inicial tipo biotróficos, en el que las células del anfitrión permanecen vivas, tal como se describe en el apartado anterior. A este estado le sigue una etapa necrotrófica, en la que el patógeno causa un extenso y profundo daño celular.

Aunque estas invasiones y estas estrategias de infección puedan ser exitosas, las enfermedades epidémicas de las plantas son raras en los

ecosistemas naturales, a causa de que las plantas han desarrollado estrategias de defensa muy efectivas frente a una gran variedad de patógenos. Algunas de estas estrategias las discutimos a continuación.

- **Algunos compuestos antimicrobianos se sintetizan antes del ataque por patógenos**

Se han ensayado diversas clases de MS comprobándose que tienen una fuerte actividad antimicrobiana *in vitro*, por lo que se ha propuesto que funcionan como defensas contra patógenos en las plantas intactas. Entre ellos están las **saponinas**, un grupo de triterpenos que se cree que alteran las membranas fúngicas al unirse a **esteroles**.

En experimentos llevados a cabo en el laboratorio de Anne Osbourn en el John Innes Centre (Norwich, Inglaterra), se utilizaron aproximaciones genéticas para demostrar el papel de las saponinas en la defensa contra patógenos de avena. Las líneas de mutantes de avena con niveles reducidos de saponinas, presentaron mucho menos resistencia a los patógenos fúngicos que las avenas de tipo silvestre. Es interesante destacar que una cepa fúngica, que normalmente crece en avena, fue capaz de detoxificar una de las principales saponinas de la planta. Sin embargo, mutantes de esta cepa que no podían detoxificar saponinas fueron capaces de infectar avena, aunque podían crecer satisfactoriamente sobre trigo, que no contiene ninguna saponina.

- **La infección induce defensas antipatógenos adicionales**

Después de haber sido infectadas por patógenos, las plantas despliegan un amplio espectro de defensas frente a los microbios invasores.

Una defensa común es la conocida como **respuesta hipersensitiva**, con la que las células que se hallan rodeando inmediatamente al sitio de la infección mueren rápidamente, estrategia que persigue privar al patógeno de los nutrientes necesario evitando así su expansión. Posteriormente a una respuesta hipersensitiva realizada con éxito, en la zona de la invasión queda situada una pequeña región de tejido muerto, permaneciendo no afectada el resto de la planta.

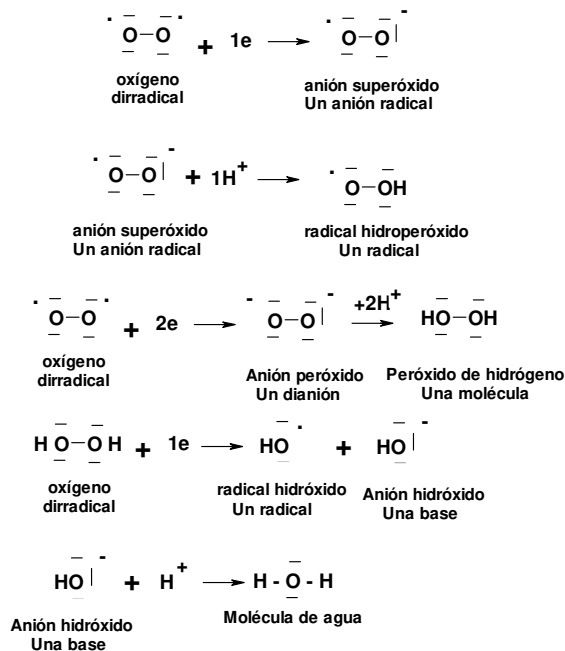
La respuesta hipersensitiva con frecuencia está precedida por la producción y rápida acumulación de especies reactivas de oxígeno y óxido nítrico (NO). Las células próximas a la infección sintetizan una enorme cantidad de compuestos tóxicos formados por la reducción del oxígeno molecular, incluidas el anión superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo (HO^*). Se cree que una oxidasa dependiente de NADPH localizada en la membrana plasmática produce el anión superóxido, que es convertido posteriormente en el radical hidroxilo y en peróxido de hidrógeno.

El anión superóxido es un anión radical (tiene un electrón desapareado sobre un oxígeno y una carga negativa sobre el otro), que se forma por la captación de un electrón por una molécula de oxígeno, que como sabemos en su estado fundamental es un dirradical (tiene dos electrones desapareados con el mismo espín uno sobre cada átomo de oxígeno). La producción del anión superóxido en las plantas se realiza mediante una reacción enzimática que involucra a la enzima NADPH oxidasa localizada en la membrana plasmática de las células. Posteriormente el anión superóxido es convertido en peróxido de hidrógeno y radical hidroxilo.

De las tres especies anteriormente comentadas, la de mayor capacidad oxidante es el radical hidroxilo cuya vida media se estima que no rebasa los microsegundos y debe su extraordinaria reactividad a la presencia de un electrón desapareado, lo que trae consigo que tenga gran afinidad por captar átomos de hidrógenos de moléculas neutras a las que oxida. Se cree que interacciona con los lípidos de la membrana para degenerar los ácidos grasos contenidos en ella, provocando la peroxidación de los lípidos, la inactivación enzimática y la degradación de los ácidos nucleicos.

Estas especies reactivas oxigenadas (ROS), pueden contribuir bien matando a las células del anfitrión situadas en el sitio de infección o actuando a través de matar directamente al patógeno, todo lo cual forma parte de la llamada **respuesta hipersensitiva**.

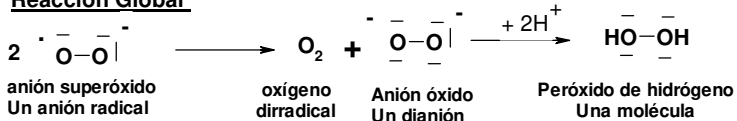
A continuación, comentamos brevemente los aspectos estructurales de las especies químicas que intervienen en la respuesta hipersensitiva.



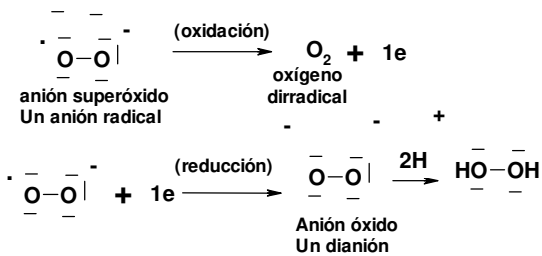
La adición de dos electrones al oxígeno molecular seguida de la captación de dos protones conduciría al peróxido de hidrógeno, una molécula con todos sus electrones apareados. Finalmente, la adición de un nuevo electrón al peróxido de hidrógeno conduciría a la formación del radical hidroxilo y del anión hidróxido que se convierte rápidamente en agua por ganancia de un protón.

Una alternativa a la formación del peróxido de hidrógeno es la dismutación (un proceso de oxidación reducción de la misma especie) del anión superóxido, un proceso que ocurre por la acción de la **enzima superóxido dismutasa** y que se encuentra en el citoplasma, en los cloroplastos y en las mitocondrias de las plantas. En esencia y de manera global, lo que ocurre es que el radical anión superóxido (2 moles) se dismutan (es decir, sufren un proceso redox), convirtiéndose en oxígeno birradical y en el anión óxido, que finalmente gana dos protones generando peróxido de hidrógeno. A continuación, planteamos de manera hipotética lo que debe estar ocurriendo a través de dos semirreacciones, una de oxidación, en la que el anión superóxido se convierte en oxígeno molecular por pérdida de un electrón y otra de reducción, en la que el anión superóxido se convierte en anión óxido por ganancia de un electrón.

Reacción Global

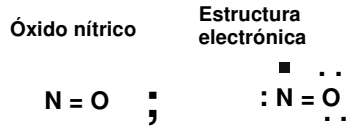


Reacciones Parciales



La producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), se ve acompañada por la producción de óxido nítrico (NO), una molécula que puede actuar como oxidante abstrayendo átomos de hidrógeno, a través de su capacidad para actuar como radical, dado que contiene un electrón desapareado en su última capa. A continuación, mostramos la estructura electrónica del óxido nítrico destacando en mayor tamaño, el electrón impar del átomo de nitrógeno. La presencia de este electrón confiere una gran reactividad al óxido nítrico y su capacidad para actuar como especie

oxidante. La formación del óxido nítrico se efectúa a partir del aminoácido arginina por la acción de la enzima **NO sintetasa**:



El NO actúa como un segundo mensajero señalando caminos biosintéticos y es interesante resaltar que para la efectividad de la respuesta hipersensitiva se requiere un incremento en la concentración de calcio (II) en el citosol. Es necesario la activación conjunta tanto de las especies ROS como del NO, pues si no se efectúa la activación conjunta de estos dos grupos de especies la respuesta hipersensitiva se ve muy disminuida con lo que se pierde efectividad para conseguir la muerte celular de la zona infectada.

Varias especies reaccionan a la invasión por hongos o bacterias sintetizando **lignina** o **callosa**, dos polímeros que actúan como barreras, aislando al patógeno del resto de la planta y bloqueando físicamente su expansión. Otra respuesta relacionada con la anterior es la modificación de las paredes celulares de proteínas.