EDICIÓN XV

VADEMÉCUM AGRÍCOLA

Quick® Agro Ecuador

edifarm®

edifarm.com.ec

Sistemas de inducción de resistencia para el control de insectos y nematodos.

Jhon Jario Venegas[1]
Alexandra Bermudez[1,2]
y Antonio Leon-Reyes[1,2]

1Colegio de Ciencias e Ingeniería, departamento en Ingeniería en Agroempresas, Laboratorio de Biotecnología Agrícola y de Alimentos USFQ, Universidad San Francisco de Quito (USFQ), Quito, Ecuador.
2 Microtech Services Cia. Ltda. Quito-Ecuador.
Contacto: info@microtech.ec
aleon@usfq.edu.ec

Plantas e insectos han coexistido por al menos 350 millones de años. En este periodo han desarrollado una variedad de interacciones diferentes (Gatehouse, 2002). En algunos casos estas interacciones han sido benéficas para las plantas como en la polinización y dispersión de semillas, en otros casos de manera perjudicial cuando son constantemente atacadas por insectos herbívoros (Dicke and Van Poecke, 2002).

Una manera sencilla para evitar ser devoradas por insectos es poseer compuestos tóxicos o menos palatables, además de las defensas químicas (Pasteels, 2007). Así, las plantas han desarrollado un gran conjunto de defensas químicas que provocan una efectiva y drástica reducción en sus atacantes insectiles, así como atacantes de tipo nematodos. La activación de respuestas de defensa especificas requieren reconocimiento eficiente del agresor, conversión de la señal percibida y transmisión de estas señales, para dar lugar al comienzo de reacciones apropiadas contra el enemigo (Maffei et al., 2007).

Las estrategias que las plantas han desarrollado para defenderse ellas mismas contra insectos fitófagos y nematodos incluyen: las defensas que están constitutivamente presentes como barreras físicas y por medio de mecanismos de defensa que son inducidos en el ataque como fitoquimicos (Dicke and Van Poecke, 2002; Van Loon, 2000).

Los principales actores de la regulación de las redes de señalización implicadas en la defensa inducida son las hormonas de la planta: ácido salicílico (SA), ácido jasmónico (JA), y el etileno (ET). Estas vías metabólicas se han descubierto en investigaciones con *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., una planta de la familia Brassicaceae, que es un modelo que presenta potenciales ventajas y ha servido para dilucidar tanto la fisiología como los mecanismos relacionados en la defensa de las plantas (Pieterse and Dicke, 2007; Leon-Reyes, 2009).

La defensa inducida contra insectos herbívoros se activa al empezar el ataque y consta de dos componentes: la defensa directa, con la producción de productos químicos que actúan como toxinas o disuasorias para la alimentación (Howe, 2004; Kessler and Baldwin, 2002), y la defensa indirecta, con la producción de una mezcla de volátiles que atraen a los enemigos carnívoros de los herbívoros (Takabayashi and Dicke, 1996).

Fitoquímicos para la defensa pertenecen a diferentes clases de metabolitos secundarios como son los fenilpropanoides, alcaloides y terpenoides o ácidos grasos derivados (Mithöfer et al., 2009).

RECONOCIMIENTO Y SEÑALIZACIÓN: Las plantas están equipadas con un sofisticado sistema sensorial para percibir señales del ambiente y de ese modo detectan enemigos potenciales y traducen cada señal en una apropiada respuesta bioquímica o fisiológica. La señal de percepción en las células de la planta puede depender de la presencia de un receptor específico para señales químicas o el proceso de reconocimiento general que depende de una herida localizada en la planta. En principio los herbívoros combinan dos diferentes aspectos en el proceso de alimentación. Primero, hay herida mecánica en el tejido infestado y segundo, la introducción de secreciones orales en el tejido herido. Así, se encuentran ambos aspectos mecánico y químico (Mithöfer et al., 2009).

Se ha encontrado que en las hojas de frejol (*Phaseolus lunatus*), la simulación mecánica de daños de larvas provocaron casi la misma mezcla de volátiles que fueron detectados en los daños provocados por los herbívoros, aunque se observaron diferencias cuantitativas, se demostró que daño mecánico continuo fue suficiente para inducir emisión de volátiles tanto local como sistémica (Mithöfer et al., 2005).

Las secreciones orales de los insectos contienen compuestos específicos que actúan como inductores, por ejemplo enzimas como glucosa oxidasa, β-gluosidasa, y fosfatasa alcalina, son compuestos que activan la inducción de defensa (Mithöfer et al., 2009). Un inductor encontrado en *Spodoptera exigua* es la volicitina, N-(17-hidroxylinolenoyl)-L-glutamine, este compuesto exhibe alta actividad inductora de volátiles cuando es aplicado en plantas (Alborn et al., 1997). Recientemente dos inductores fueron aislados de secreciones orales de *Spodoptera frugiperda* y sus estructuras fueron determinadas, inseptinas, péptidos con puente bisulfide con fragmentos proteolíticos de ATPsintasa subunidad γ. Inseptinas desencadenan producción de etileno (ET), incrementando el nivel de ácido jasmonico (JA) mediando la percepción de las plantas e induciendo varias defensas en *Vigna unguiculata*, claramente inseptinas funcionan como iniciadores específicos de las señales de respuesta de la planta al ataque del insecto (Schmelz et al., 2006). Estos inductores actúan directamente sobre las membranas de la planta o interactúan con sitios específicos vinculantes o receptores en la planta que posteriormente traducen señales de defensa.

TRADUCCIÓN DE LA SEÑAL: La defensa de las plantas contra herbívoros esta mediada por una compleja red de interacción de señales, traducción de vías (SA, JA, ET), a sensores/receptores

que reconocen el ataque del herbívoro. Las fitohormonas juegan un rol importante en la traducción de señales, entre ellas SA, JA, ET tanto en monocotiledóneas como en dicotiledóneas. La expresión genética y otros estudios han mostrado que la via del SA es activada en respuesta a patógenos biotróficos, en contraste la via del JA/ET es inducida en respuesta a patógenos necrotróficos, ácaros e insectos (Leon-Reyes, 2009).
Cambios en la expresión de los genes mientras se induce la respuesta a los herbívoros y estudios de las respuestas a los insectos sugieren un patrón similar de independientes múltiples pero conectadas vías de defensa. (Van Oosten et al., 2008.)
El JA es la hormona más importante que maneja las respuestas de defensa contra insectos, ácaros y nematodos. El Ja activa los genes antinsectos así como proteínas antidigestivas y no palatables. En resumen, JA en la molécula central que protege a la planta de la infestación de insectos y patógenos necrotróficos que matan la célula hospedera después de su alimentación. Esta hormona activa la proteína regulatoria F-box COI1 que es parte de la ubiquitina E3 conteniendo complejo ligasa SCFCOI1 que entonces deja de represar los genes de respuesta de JA de la defensa de las plantas (Mithöfer et al., 2009).
JA y SA funcionan como moléculas señalizadoras que median las respuestas de inducción de las plantas a patógenos y herbívoros resultando en la activación de distintos conjuntos de genes de defensa. SA activa el SAR que afecta negativamente a la resistencia contra determinados insectos, causado por el efecto antagónico de SA en la señalización de JA (Van Oosten et al., 2008). En otras palabras, elevada activación de SA y SAR causan la inhibición de JA, el cual induce la defensa contra insectos y ácaros, dejando como consecuencia una planta débil frente a estos atacantes (Leon-Reyes, 2009).

ESTRATEGIAS DE DEFENSA: Los productores primarios como las plantas son comidas por un amplio rango de herbívoros incluyendo nematodos, artrópodos, moluscos y mamíferos, y han desarrollado un amplio espectro de estrategias fisicoquímicas para defenderse por sí mismas del ataque de organismos en su ambiente. Los mecanismos de defensa de las plantas pueden ser clasificados en constitutivos e inducidos. La constitutiva incluye características morfológicas y estructurales como también productos de defensa constitutivos. La defensa inducida es por contraste activada después del ataque de herbívoros y puede ser clasificada en modos de protección a sí mismas directa e indirecta. La defensa directa actúa inmediatamente sobre la sobrevivencia o el ataque del organismo e incluye la acumulación inducida de toxinas o disuasorios de la alimentación, fortificación de las paredes celulares y la reacción de hipersensibilidad. La defensa indirecta es mayormente asociada con la defensa contra herbívoros y protege a la planta a través de la manipulación del comportamiento de los predatores o parasitoides de un atacante herbívoro. Así la defensa indirecta emplea un tercer nivel trófico por la atracción natural de enemigos de los atacantes de las plantas (Takabayashi and Dicke, 1996; Kessler and Baldwin, 2002). La defensa indirecta también incluye la oferta de alojamiento a carnívoros y de alternativas fuentes de alimentación como el néctar floral. Ambas defensas directa e indirecta pueden ser constitutivas o inducidas (Mithöfer et al., 2009).

DEFENSA CONSTITUTIVA: Barreras constitutivas físicas como espinas pueden disuadir a los herbívoros, mientras las paredes celulares o cutículas espesas, altos niveles de lignificación o acumulación de resinas pueden impedir la penetración de pequeños herbívoros. Tricomas presentan una barrera mecánica, también son estructuras secretoras, produciendo y acumulando compuestos antimicrobianos, disuasorios de la alimentación y ovoposición o toxinas (Mithöfer et al., 2009). Las plantas pueden también resistir el ataque de los herbívoros produciendo reductores de la digestibilidad incluyendo taninos, resinas, inhibidores de la proteinasa (PIs) y sílice. Estos compuestos pueden disminuir el desarrollo de los herbívoros por reducción de la eficiencia digestiva, reduciendo el desarrollo y limitando la fecundidad.

Con frecuencia las defensas constitutivas permiten a plantas ser resistentes a insectos plaga específicos, en algunos casos algunos insectos han evolucionado desarrollando adaptaciones que permiten alimentarse o defenderse químicamente de las plantas sin efectos negativos (Gatehouse, 2002).

DEFENSAS INDUCIDAS: En procesos de inducción, el reconocimiento de un ataque de insecto y su consecuente alarma de señales, es un requisito para una defensa rápida y eficiente. Algunas formas de resistencia inducida no son restringidas a una respuesta local en el sitio de daño, sino que son detectadas sistemáticamente a través de la planta, así las defensas inducidas supone la síntesis y acumulación de varios metabolitos secundarios que influyen en la atracción/disuasión de los insectos como la inhibición del crecimiento y desarrollo (Mithöfer et al., 2009).
Además proteínas como inhibidoras de la proteinasa (PIs), polifenoloxidasas (PPOs) y deaminasa treonina (TD) inhiben las enzimas digestivas de los insectos y/o disminuyen el valor nutritivo de los tejidos de las plantas, actuando como defensas directas (Baldwin et al., 2001), activadas por la vía de señalización del JA.
En tomate (*Lycopersicum esculentum*), PIs fueron probados por su tripsina con *Helicoverna armígera* con actividad de inhibidor de la proteinasa en diferentes órganos de la planta, observaciones en el campo revelaron que larvas de *H. armígera* infestaron hojas y frutos pero no flores, un hecho que fue correlacionado con los altos niveles de PIs en los tejidos de las flores (Damle et al., 2005).
En respuesta a herbívoros, las plantas liberan compuestos orgánicos volátiles, que pueden transportar diferentes tipos de información: (a) a los herbívoros para localizar a su hospedante, (b) a la defensa indirecta empleando un tercer nivel trófico por atracción de enemigos naturales de los atacantes de la planta, y (c) a distintas partes de la misma planta o plantas vecinas para ajustar su fenotipo defensivo.
Volátiles químicos pertenecen a un gran grupo de terpenoides (mono-, di-, sesqui- y homoterpenoides) ácidos grasos derivados, compuestos aromáticos, algunos alcanos, alquenos y alcoholes (Holopainen, 2004). En algunos sistemas, la cantidad de compuestos volátiles emitidos por las plantas esta correlacionado con la densidad de insectos fitófagos sobre la planta (Schmelz et al., 2006). Estos volátiles afectan el comportamiento de los parasitoides que son atraídos hacia las plantas. Los animales usualmente requieren información acerca del estado actual de su hábitat para optimizar su comportamiento, para esto ellos usan un proceso de aprendizaje a través del cual se actualizan constantemente de acuerdo a lo que ellos perciben (Mithöfer et al., 2009).
La resistencia inducida es asociada con la rápida y fuerte activación de las defensas sobre el ataque del insecto o patógeno, este estado fisiológico es conocido como "priming" en el cual se ahorran los costos metabólicos de mantener activas las defensas, ya que solo se activan sobre el ataque (Conrath et al., 2006).
El aumento en la resistencia contra insectos plaga o nemátodos, puede darse por la infección con cepas no patogénicas, colonización de rizobacterias o la aplicación de diversos compuestos naturales o sintéticos como el JA, BABA, quitosan, riboflavina, ácido hexanoico, entre otros (Kuć, 2001).
Entre otros casos, se ha encontado que la aplicación de BABA redujo el agallamiento como el número de huevos del nematodo *Meloidogyne javanica* en tomate debido a que fue menos atractivo, físicamente más duro y algunas sustancias inhibieron el desarrollo del nemátodo (Oka et al., 1999). Además se reporta que la aplicación de ácido hexanoico a las raíces de tomate, inhibe la germinación de las esporas y el micelio de *Botrytis cinerea* y reduce la incidencia de *Pseudomonas syringae* debido a la callosa y las oxylipinas (Leyva et al., 2008). Así mismo el quitosan redujo significativamente la incidencia de *Fusarium oxysporum f.* sp. *radicis-lycopersici*, reduciéndose el número de lesiones en la raíz de tomate (Benhamou et al., 1994).

Es así que las moléculas inductoras de resistencia son las sustancias químicas que actúan en diversos puntos de las vías de señalización implicadas en la resistencia a enfermedades y plagas. Esta resistencia inducida es de amplio espectro y de larga duración. (Walters et al., 2005), siendo una herramienta útil para emplearse dentro del Manejo Integrado de Plagas.

BIBLIOGRAFÍA:

- Alborn, H., Turlings, T., Jones, T., Stenhagen, G., Loughrin, J. and Tumlinson, J. (1997). An elicitor of plant volatiles from beet armyworm oral secretion. Science 276, 945-949.
- Baldwin, I., Halitscheke, R., Kessler, A., and Schittko, U. (2001). Merging molecular and ecological approaches in plant-insect interactions. Curr. Opin. Plant Biol. 4, 351-358.
- Benhamou, N. ; Lafontaine, P. ; Nicole, M.; (1994). Induction of systemic resistance to fusarium crown and root rot in tomato plants by seed treatment with chitosan. Biochemestry and cell biology: vol.84 No.12 1432-1444
- Conrath, U., Beckers, G.J.M., Flors, V., García-Agustín, P., Jakab, G., Mauch, F., Newman, M.-A., Pieterse, C.M.J., Poinssot, B., Pozo, M.J., Pugin, A., Schaffrath, U., Ton, J., Wendehenne, W., Zimmerli, L., and Mauch-Mani, B. (2006). Priming: getting ready for battle. Mol. Plant-Microbe Interact. 19, 1062-1071.
- Damle, M., Giri, A., Sainani, M. and Gupta, V. (2005). Higger accumulation of proteinase inhibitors in flowers than leaves and fruits as a possible basis for differential feeding preference of Helicoverpa armigera on tomato (Lycopersicum esculentum Mill, Cv. Dhanashree). Phytohemistry 66, 2659-2667.
- Dicke, M., and Van Poecke, R. M. P. (2002). Signaling in plant-insect interactions: Signal transduction in direct and indirect plant defence. Pages 289-316 in: Plant Signal Transduction: Frontiers in Molecular Biology. D.Scheel and C. Wasternack, eds. Oxford University Press, Oxford.
- Gatehouse, J.A. (2002). Plant resistance towards insects herbivores: a dynamic interaction. New Phytol. 156, 145-169.
- Holopainen, J. (2004). Multiple functions of inducible plant volatiles. Trends Plant Sci. 9, 529-522.
- Howe, G. A. (2004). Jasmonates as signals in the wound response. J. Plant Growth Regul. 23:223-237.
- Kessler, A., and Baldwin, I. T. (2002). Plant responses to insect herbivory: The emerging molecular analysis. Annu. Rev. Plant Biol. 53:299-328.
- Kuć J. (2001). Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. European Journal of Plant Pathology 107: 7–12, 2001.
- Leon-Reyes, A. (2009). Making sense out of signaling during plant defense. Ph.D. Thesis. Utrecht University. ISBN: 978-90-39350973. Utrecht, The Netherlands.
- Leyva, M. O., Vicedo, B., Finiti, I., Flors, V., Del Amo, G., Real, M. D., García-Agustín, P. and González-Bosch, C. (2008), Preventive and post-infection control of Botrytis cinerea in tomato plants by hexanoic acid. Plant Pathology, 57: 1038–1046.
- Maffei, M., Mithöfer, A., and Boland, W. (2007). Insects feeding on plants: rapid signals and responses preceding the induction of phytochemical release. Phytochemistry 68, 2946-2959.
- Mithöfer, A., Boland, W. and Maffei, M. (2009). Chemical ecology of plant-insect interactions. Annual Plant Reviews 34, 261-291.
- Mithöfer, A., Wanner, G., and Boland, W. (2005). Effects of feeding Spodoptera littoralis on lima bean leaves. II. Continuous mechanical wounding resembling insect feeding is sufficient to elicit herbivory-related volatile emission. Plant Physiol. 137, 1160-1168.
- Oka, Y., Cohen, Y., and Spiegel, Y. (1999). Local and systemic induced resistance to the root-knot nematode in tomato by DL-b-amino-n-butyric acid. Phytopathology 89:1138-1143.
- Pasteels, J.M. (2007). Chemical defense, offence and alliance in ants-aphids-ladybirds relationships. Popul. Ecol. 49, 5-14.
- Pieterse, C. M. J., and Dicke, M. (2007). Plant interactions with microbesand insects: From molecular mechanisms to ecology. Trends Plant Sci. 12: 564-569.
- Schmelz, E., Carroll, M., LeClere, S., Phipps, S., Meredith, J., Chourey, P. (2006). Fragments of ATP synthase mediated plant perception of insect attack. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 103, 8894-8899.
- Takabayashi, J., and Dicke, M. (1996). Plant-carnivore mutualism through herbivore-induced carnivore attractants. Trends Plant Sci. 1:109-113.
- Van Loon, L. C. (2000). Systemic induced resistance. Pages 521-574 in: Mechanisms of Resistance to Plant Diseases. A. J., Slusarenko, R. S. S Fraser, and L. C. Van Loon, eds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Van Oosten, V.R., Bodenhausen, N., Reymond,P., Van Pelt, J., Van Loon, L., Dicke, M. and Pieterse, C. (2008). Differential Effectiveness of Microbially Induced Resistance Against Herbivorous Insects in Arabidopsis. MPMI Vol. 21, No. 7, 2008, The American Phytopathological Society. pp. 919–930.
- Walters, D., Walsh, D., Newton, A., and Lyon, G. (2005). Induced resistance for plant disease control: Maximizing the efficacy of resistance elicitors. Phytopathology 95 :1368-1373.
- Williamson, V., and Hussey, R., (1996). Nematode pathogenesis and resistance in plants. Plant Cell, vol. 8, 1735-1745.