

EL ACIDO SALICILICO ES UN AGENTE SEÑALIZADOR Y PROMOTOR DE RESISTENCIA BIOTICA Y ABIÓTICA EN LAS PLANTAS

SALICYLIC ACID AS SIGNALING COMPOUND AND INDUCTOR OF BIOTIC AND ABIOTIC RESISTANCE IN PLANTS

Adalberto Benavides Mendoza¹

¹Departamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coah. 25315 México.

RESUMEN

Este ensayo pretende ilustrar el estado actual de la investigación básica y aplicada respecto a las funciones del ácido salicílico (AS) en las plantas así como las posibles aplicaciones prácticas del AS en la actividad agrícola. El AS es un compuesto encontrado en todos los tejidos de las plantas. Su concentración se eleva cuando las células, órganos o plantas completas son sometidas a la acción de alguna clase de estrés sea este biótico o abiótico. En esas situaciones el ácido salicílico participa en forma importante en la cascada de señalización que da lugar a las respuestas de adaptación en ambientes extremos, a la expresión de los sistemas de control del daño oxidativo así como a la inducción de la resistencia sistémica adquirida en el caso de patogénesis. Actualmente se cuenta con análogos funcionales del AS que se utilizan con éxito a nivel comercial en el control y prevención de ciertos patógenos. Por otra parte, aunque el AS imparte cierta resistencia al estrés causado por temperaturas extremas, por presencia de metales pesados y por herbicidas sus aplicaciones en el alivio del estrés ambiental han sido poco estudiadas. Los resultados experimentales indican la potencial utilidad del mencionado compuesto, sus derivados y análogos en el manejo agronómico de cultivos. Se requiere, sin embargo, realizar gran cantidad de estudios para verificar la factibilidad de su aplicación en las condiciones ecológicas y en los cultivos y variedades de México.

PALABRAS CLAVE: Estrés, Inducción de resistencia, Resistencia Sistémica Adquirida, Salicílico.

ABSTRACT

This review looks to illustrate the current state of basic and applied research concerning the functions of salicylic acid (SA) in plants, as well as the possible practical applications of SA in the agricultural activity. SA is found in all the organs of plants and its concentration rises when the cells, organs or complete plants are subjected to biotic or abiotic stresses. In those situations the SA participates in signaling cascade that gives rise to the adaptation responses in extreme conditions, in the induction of biochemical antioxidant systems, as well as in the elicitation of the systemic acquired resistance in the case of pathogenesis. SA and their functional analogues are used with success at the commercial level in the control and prevention of certain pathogenic organisms. On the other hand, although SA imparts certain resistance to the damage caused by extreme temperatures, heavy metals and some herbicides, their applications in the alleviation of environmental stress have been little studied. The experimental results indicate the potential utility of SA, derived compounds and analogues in the agronomic handling of agronomic and horticultural crops. It is required, however, carry out great

amount of studies in order to verify the feasibility of application considering the ecological conditions and the vegetal species and varieties from Mexico.

KEYWORDS. Stress, Resistance induction, Systemic acquired resistance, Salicylic.

INTRODUCCION

El ácido salicílico (AS) es muy conocido gracias al extenso uso clínico de la aspirina o ácido acetilsalicílico. El nombre de ácido salicílico proviene de *Salix*, el árbol cuyas hojas y corteza tradicionalmente se utilizaban como cura para el dolor y fiebre, y de donde Johann Buchner en 1828 aisló la salicina. En 1874 se inició la producción comercial de AS en Alemania, mientras que el nombre comercial de aspirina, aplicado al ácido acetilsalicílico fue introducido en 1898 por la Bayer Company (Raskin, 1992).

El AS pertenece a un grupo muy diverso de sustancias conocidas como fenólicos. En las plantas los compuestos fenólicos, relacionados con el llamado metabolismo secundario, están involucrados en gran cantidad de actividades de regulación en las plantas. En particular diferentes estudios muestran la importancia de AS en los procesos fisiológicos y de adaptación de las plantas.

El AS se ha encontrado en todos los tejidos de las especies que han sido analizadas. Algunas especies de importancia económica como la soya, arroz y cebada contienen hasta $1\mu\text{g g}^{-1}$ de peso fresco.

Partiendo de la observación inicial de que la aspirina aumenta la vida en florero de las flores cortadas, probablemente por un efecto combinado de inhibición en la biosíntesis de etileno y celulasa en los tejidos (Ferrarese et al., 1996) y de acidificación del medio, se sabe que el AS presenta propiedades de retraso de la senescencia (Bourbouloux et al., 1998), inductor de floración y tuberización así como de compuesto termogénico y alelopático, entre otras (Raskin, 1992).

El AS aplicado de forma exógena en concentración de 10^{-2} a 10^{-8} M aumentó la biomasa de plantas de soya (Gutiérrez-Coronado et al., 1998), el rendimiento de trigo (López Tejeda et al., 1998) al igual que el rendimiento y la calidad de diversas hortalizas según se desprende de los resultados de diferentes trabajos experimentales del grupo de Gutiérrez Coronado adscrito al Instituto Tecnológico de Sonora.

Además de los anteriores resultados acerca de cómo el AS interviene modificando diferentes actividades fisiológicas y del desarrollo, existe otra vertiente de trabajo experimental acerca del papel del AS en las respuestas celulares relacionadas con el daño oxidativo, respuesta bioquímica que parece ser un factor común en las plantas sometidas a diversos tipos de estrés.

El objetivo del presente trabajo es contar con una revisión actualizada acerca del papel del AS como señalizador y regulador de las respuestas de las plantas a los patógenos y al estrés abiótico.

BIOSINTESIS Y DEGRADACION DEL ACIDO SALICILICO

En las plantas superiores el AS parece derivar de la vía del shikimato-fenilpropanoides. Se han propuesto dos caminos de síntesis del AS a partir de la fenilalanina, la diferencia entre uno y otro se encuentra en el paso de hidroxilación del anillo aromático (Fig. 1). En una reacción mediada por la enzima fenilalanina-amonio-liasa (PAL) la fenilalanina es convertida en ácido cinámico, este último es transformado en ácido benzoico (AB) o en ácido orto-cumárico los cuales se supone son los precursores del AS (Raskin, 1992).

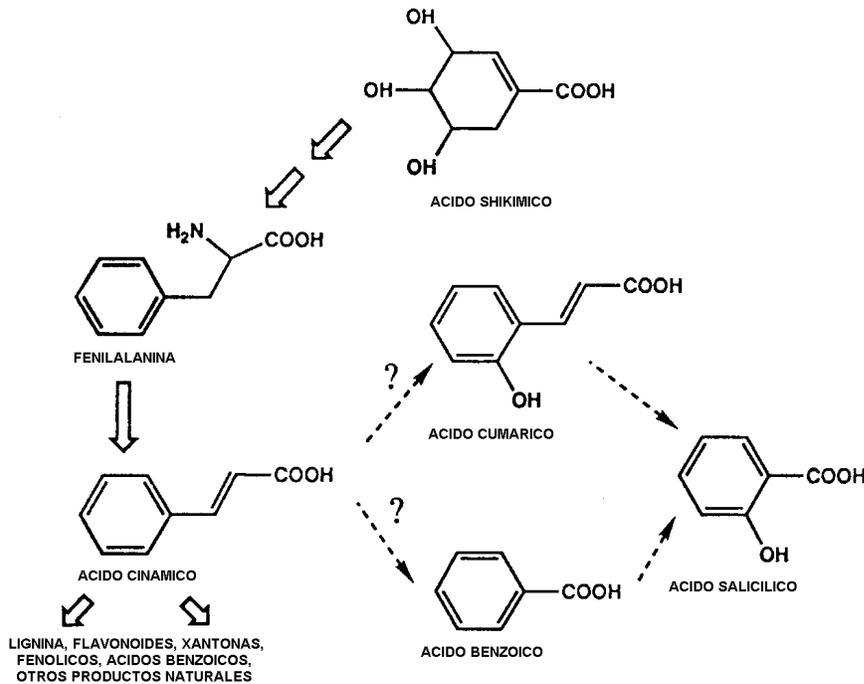


Figura 1. Vía propuesta de síntesis del ácido salicílico en plantas (modificado de Raskin, 1992).

El AS se encuentra en los tejidos de las plantas en forma libre o en forma conjugada. A excepción de unas pocas plantas como el arroz y la papa generalmente no se encuentra gran cantidad de AS endógeno en forma libre. Las formas conjugadas son glicósidos, ésteres, amidas y ácidos dihidroxibenzoicos. Se supone que cuando se requiere de AS una parte de ello proviene de las reservas de formas conjugadas (Hennig et al., 1993) mientras que otra parte proviene de la actividad de PAL (Raskin, 1992).

En cuanto a la distinción entre la aplicación de AS o de ácido acetilsalicílico en las plantas no se ha detectado diferencia importante entre uno y otro. Se supone que al acetilsalicílico es rápidamente convertido a AS en los tejidos tanto de plantas como de animales.

ACIDO SALICILICO Y DAÑO OXIDATIVO

El daño o estrés oxidativo se presenta cuando la producción de especies activas de oxígeno (EAO) rebasa la capacidad de los sistemas antioxidantes y de captura de radicales libres de la célula. Normalmente el nivel de EAO es alto cuando la planta se ve sometida a alguna condición de estrés biótico o abiótico. Aunque la presencia de EAO causa daño por oxidación de DNA, lípidos y proteínas, las plantas también hacen uso de las EAO en la disipación energética y como señalizadores desencadenantes de respuestas de adaptación y defensa (Draper, 1997). A su vez estas últimas se asocian con cambios morfológicos y fisiológicos de la planta (Inzé y Van Montagu, 1995). Es probable que el AS tenga algún papel regulador sobre el balance de

oxidación/reducción de las células vegetales, y ello tal vez explique la capacidad del AS de inducir respuestas tan variadas: fisiológicas, morfogénicas y adaptativas en las plantas. Lo anterior se sigue a partir del comprobado efecto del AS sobre la actividad de catalasa y otras enzimas que controlan el nivel de las EAO (Raskin, 1992) así como sobre la oxidasa alternativa mitocondrial (Murphy et al., 1999).

El AS comenzó a sobresalir como molécula señalizadora en plantas cuando se descubrió su papel como inductor de la termogénesis en plantas de la familia Araceae (Raskin, 1987). Poco después se demostró su importancia en las reacciones de defensa contra los patógenos (Malamy et al., 1990; Métraux et al., 1990). Asimismo el AS parece relacionarse con la adaptación de las plantas a los ambientes extremos, y esto pudiera convertir a este compuesto y sus derivados en herramientas para el manejo agronómico del estrés.

El modelo inicial propuesto sobre el mecanismo de acción del AS indicaba que era un inhibidor de la catalasa. Esta afirmación surgió del hecho de que esta enzima es inhibida *in vitro* por el AS (Raskin, 1992). Asimismo fue demostrado en *Arabidopsis*, tabaco, tomate y pepino, que la proteína receptora de AS es una catalasa con alta afinidad por el AS y que muestra inhibición en presencia de este último compuesto (Chen et al., 1993; Sánchez-Casas y Klessig, 1994).

Las catalasas pertenecen a un grupo de enzimas involucradas en la regulación de los niveles celulares de las especies activas de oxígeno. Se encuentran en todos los organismos aerobios convirtiendo el H_2O_2 en H_2O y O_2 , protegiendo así a las células de los efectos dañinos del H_2O_2 . Si bien los niveles altos de este compuesto son tóxicos, el H_2O_2 en baja concentración parece jugar un papel importante en la transducción de señales ambientales en plantas y animales (Prasad et al., 1994), esto es, el H_2O_2 en niveles no tóxicos parece relacionarse con la inducción de las respuestas de adaptación al estrés.

Ya que la producción de H_2O_2 es un proceso continuo en las plantas, la inhibición de la actividad de catalasa, una de las principales rutas de degradación del H_2O_2 , pudiera resultar en la acumulación de este compuesto. En relación a ello Chen et al. (1993) encontraron que el tratamiento de hojas de tabaco con AS dio lugar a niveles elevados de H_2O_2 *in vivo*. Por su parte Dat et al. (1998) observaron el mismo incremento endógeno de H_2O_2 al aplicar el AS en las hojas de *Sinapsis alba*.

Sin embargo, Ruffer et al. (1995) encontraron que más que unirse de manera específica a las catalasas, el AS se une a las enzimas que contienen hierro como las catalasas, aconitasas, lipoxidasas y peroxidasas. Asimismo otros resultados experimentales indican que el AS no siempre inhibe la actividad catalasa aunque se observe incremento en el nivel de H_2O_2 (Raskin, 1992). Probables explicaciones a esta discordancia son que el AS ejerce efectos más amplios que la mera inhibición de esta enzima o bien que las respuestas sean dependientes de la especie vegetal o de la edad de los tejidos u órganos utilizados en los estudios. Por otra parte algunos investigadores han propuesto un papel directo para el AS en potenciar la producción de H_2O_2 por medio de la activación de una NAD(P)H oxidasa de la membrana plasmática (Kauss y Jeblick, 1995, 1996; Willekens et al., 1995; Mur et al., 1996; Shirasu et al., 1997). Esto pudiera ser parte de la explicación de los resultados dispares entre presencia de AS y actividad de catalasa.

Como se mencionó, otra posibilidad respecto al AS es que actúe cambiando el balance redox celular por medio de la inducción del H_2O_2 o de otras EAO, así como por medio de la modificación en la síntesis y actividad de enzimas y compuestos antioxidantes.

Al respecto, Willekens et al. (1997) estudiaron el papel de la catalasa y el H_2O_2 en las plantas bajo estrés. Para ello utilizaron plantas transgénicas de tabaco con un 10% de actividad de catalasa en relación con las plantas silvestres. Las plantas deficientes en catalasa no mostraron desórdenes visibles al crecer en condiciones de baja irradiancia, sin embargo, bajo alta irradiancia las hojas desarrollaron lesiones necróticas. No se detectó acumulación de H_2O_2 durante el desarrollo de la necrosis, tal vez como resultado de una compensación que elevó los niveles de ascorbato peroxidasa y glutatión peroxidasa. La necrosis foliar mostró correlación positiva con el contenido de glutatión oxidado y correlación negativa con el nivel de ascorbato foliar, indicando que la catalasa es crítica para mantener el balance redox durante el estrés oxidativo. Asimismo el daño no se presentó en un medio enriquecido con CO_2 lo que indica una aparente dependencia de la actividad fotorespiratoria. Las plantas deficientes en catalasa revelaron mayor susceptibilidad al paraquat, salinidad y ozono pero no a las bajas temperaturas.

Otro resultado que indica el probable papel del AS en la modificación del balance redox celular fue el reportado por Chen et al. (1996). Ellos encontraron que el gene *GST6* de *Arabidopsis*, que expresa una glutatión-S-transferasa, es inducido por la aplicación de auxinas, AS ó H_2O_2 . Las glutatión-S-transferasas son una familia de enzimas involucradas en la destoxificación de xenobióticos y en la protección contra el daño oxidativo.

En cultivos celulares de soya la aplicación de AS y un inductor sintético, el BTH [benzo(1,2,3)thiadiazole-7-carbothioic acid S-methyl ester], dio lugar a un aumento de 2 a 8 veces en la cantidad de compuestos y enzimas antioxidantes. Asimismo la incubación con AS y BTH permitió que los cultivos celulares fueran más resistentes al herbicida oxyfluorfen, el cual se sabe actúa como agente peroxidante de los lípidos de membranas (Knörzera et al., 1999).

La aplicación foliar de AS en concentraciones de 10 a 100 μM aumentó la tolerancia al choque térmico (55° C por 1.5 h) en plántulas de *Sinapsis alba*. Esta respuesta fue análoga a la obtenida con un tratamiento de aclimatación a 45° C previa al choque térmico. Ambos tratamientos indujeron un aumento transitorio en la concentración endógena de H_2O_2 , seguida de una caída en la concentración del mismo debajo del testigo, así como disminución en la actividad de catalasa (Dat et al., 1998). Lopez-Delgado et al. (1998) obtuvieron igualmente termotolerancia en microplantas de papa desarrolladas en medio de cultivo con ácido acetilsalicílico en concentración de 10^{-6} a 10^{-5} M. Al parecer parte del efecto protector del AS se relaciona con su capacidad para inducir la expresión de las proteínas de choque térmico en las células vegetales, hecho demostrado en cultivos celulares de tomate por Cronjé y Bornman (1999). Por otro lado, se consiguió un aumento significativo en la tolerancia a la carencia de agua en plántulas de col y tomate al aplicarles una aspersion de ácido benzoico 10^{-4} M. Asimismo, la aplicación de AS como pretratamiento de la semilla (10^{-4} M por 6 horas) aumentó el éxito de germinación de las semillas de melón en soluciones de NaCl (Benavides, datos no publicados).

El AS se ha aplicado en diferentes cultivos para aumentar el rendimiento y la calidad. De acuerdo con la información planteada el AS y sus derivados pueden también

pueden aplicarse como herramientas para la promoción y aumento de los mecanismos naturales de resistencia de las plantas, cuando estos involucren la participación de EAO. En este sentido se requiere realizar gran cantidad de investigación en diferentes especies, para estudiar en que forma las aplicaciones exógenas de AS y compuestos análogos como el metil-salicilato, el ácido benzóico, el BTH, etc. modifican los mecanismos de adaptación al estrés abiótico. Si fuese posible llegar a utilizar estos compuestos como potenciadores de los mecanismos naturales de adaptación, su bajo costo y el hecho de constituir productos naturales los convertiría en opciones atractivas para los productores agrícolas.

ACIDO SALICILICO Y RESISTENCIA A LOS PATOGENOS

La habilidad de una planta para responder a una infección es determinada por caracteres genéticos tanto del hospedero como del patógeno. Algunos mecanismos de resistencia son específicos para ciertos cultivares y cepas de patógenos: los genes de resistencia de la planta permiten el reconocimiento de moléculas específicas del patógeno que resultan de la expresión de los llamados genes de avirulencia. Estos desencadenan una cascada de señales que termina en una respuesta hipersensible, es decir, en la muerte estrictamente localizada de las células involucradas con el patógeno lo cual evita su crecimiento y diseminación. La muerte celular localizada genera los conocidos patrones de formación de lesiones o necrosis. Dichas interacciones gen-gene resultan en respuestas muy eficientes, pero también muy específicas, de resistencia a la patogénesis. Otro nivel de respuesta inducible del hospedero, llamada resistencia sistémica adquirida (RSA), se expresa en los diferentes órganos de la planta después de presentarse una necrosis localizada originada por organismos patógenos necrosantes como el virus del mosaico del tabaco (TMV) y *Colletotrichum* así como algunos organismos no patógenos. La RSA depende de un señalizador o señalizadores aún no identificados que se mueven de forma sistémica entre los diferentes órganos de la planta. La aplicación exógena de AS da lugar a una respuesta de RSA por lo cual se dice que el AS funciona como activador o inductor de este proceso. De hecho en el tabaco la aplicación de AS ó de partículas de TMV da lugar a la inducción de prácticamente las mismas proteínas de defensa (PR) como PR-1, quitinasa y β -1,3-gluconasa (Kang et al., 1998).

La RSA provee un tipo de respuesta de amplio espectro a largo plazo que recuerda a las respuestas inmunes de los animales. Un nuevo enfoque en el control y prevención de enfermedades es el uso de compuestos activadores de la RSA, tales como el AS, sus derivados y sus análogos funcionales como el BTH, el 2,6-dicloroisonicotínico, el 3-allyloxy-1,2-benzisotiazol-1,1-dioxido comercializado como probenazol, y el acibenzolar-S-metil comercializado como Bion. Estos activadores o inductores no tienen un efecto directo sobre el patógeno, protegen a la planta desencadenando las cascadas de señales que activan la RSA, actuando así de forma diferente a los agroquímicos convencionales (Gorlach et al., 1996; Stichter et al., 1997; Sakamoto et al., 1999; Gullino et al., 2000). Se sabe asimismo que dichos compuestos activadores de la RSA pueden impartir cierta protección contra el estrés oxidativo causado por herbicidas o metales como el cobre (Strobel y Kuc, 1995). En cuanto a los mencionados análogos funcionales del AS falta explorar el efecto de dichos compuestos sobre las respuestas de las plantas sometidas a estrés abiótico.

El AS es producido en las hojas de tabaco (Malamy et al., 1990) y pepino (Métraux et al., 1990) después de verse infectadas y previamente a la expresión de la resistencia sistémica. La producción de AS es bifásica, es decir, ocurre en forma de un incremento inicial transitorio seguido de un incremento sostenido. Se supone que tanto el pico inicial como la producción sostenida juegan papeles de señalización en los eventos de inducción de resistencia (Draper, 1997; Rao et al., 1997). En hojas infectadas de tabaco el AS producido de manera endógena puede alcanzar una concentración de 1×10^{-4} M (Durner y Klessig, 1996).

En el relativamente bien caracterizado sistema tabaco-TMV, la evidencia indica que el AS actúa como señal para desencadenar las respuestas locales y sistémicas de defensa (Gaffney et al., 1993). Sin embargo el AS no parece ser la señal primaria, transmisible entre diferentes tejidos a largas distancias, que desencadena la respuesta de resistencia, más bien parece actuar como señal local a un nivel de mensajero secundario (Narusaka et al., 1999; Martinez et al., 2000). Al respecto, en el pepino los experimentos de Smith-Becker et al. (1998) indicaron que la inoculación de los tejidos foliares con *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* da lugar a la transmisión de una señal endógena móvil, de identidad desconocida, entre 3 y 6 horas después de la exposición. Dicha señal resulta, entre 12 y 15 horas después de la inoculación, en la inducción de actividad de PAL y poco después en la acumulación en el floema de AS y ácido 4-hidroxibenzóico.

La importancia del AS en el fenómeno de la RSA se aprecia en los resultados de Lawton et al. (1995), quienes obtuvieron plantas transgénicas que expresaban de forma constitutiva el gene bacteriano nahG, que codifica la enzima salicilato hidroxilasa, la cual impide la acumulación de AS. Estas plantas nahG fueron incapaces de iniciar la respuesta de RSA al ser sometidas a un estímulo biótico o al realizar una aplicación exógena de AS. Del mismo modo Chivasa y Carr (1998) observaron que al transformar con nahG a un cultivar de tabaco resistente al TMV estas plantas eran incapaces de restringir la propagación de las necrosis, resultando en necrosis generalizada en vez de daño necrótico localizado en los sitios de infección. Curiosamente, la capacidad de mantener localizado el daño por el TMV fue restaurada al tratar las plantas con KCN y dicha restauración fue abolida al aplicar ácido salicilhidroxámico (SHAM), un inhibidor de la oxidasa alternativa (AOX) mitocondrial. Estos resultados apuntan hacia un papel de la AOX más amplio que la termogénesis y la adaptación al estrés de baja temperatura (Murphy et al., 1999). Datos análogos fueron reportados por Naylor et al. (1998) quienes encontraron que en la planta de tabaco el AS indujo resistencia a los virus TMV, mosaico del pepino y virus X de la papa, inhibiendo la replicación y el transporte a larga distancia de los virus, siendo eliminado el efecto del AS por la aplicación de SHAM. Es probable que el AS regule la expresión y/o la actividad de la AOX y que dicha enzima actúe, en una forma aún mal entendida, sobre las actividades de los virus.

Al igual que con el estrés inducido por factores abióticos, una de las respuestas primarias de las plantas a los patógenos microbianos es la producción de EAO tales como el anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (Levine et al., 1994). Esta acumulación inicial de EAO genera un choque oxidativo (oxidative burst) que viene siendo el prelude de las respuestas de defensa celular contra los patógenos. El choque oxidativo se presenta a los pocos minutos de iniciada la infección, requiere del reconocimiento del patógeno e involucra una serie de eventos de transducción de

señales que, típicamente, incluyen a las fosfolipasas, proteínas de unión con GTP, flujos de Ca^{+2} y otros iones, así como quinasas y fosfatasa (Yang et al., 1997).

Los estudios de varias combinaciones planta-patógeno han revelado una fuerte correlación entre el perfil de formación de EAO en cultivos celulares y el resultado final de la interacción (resistencia o susceptibilidad) en la planta completa. Las interacciones planta-patógeno que inducen una respuesta hipersensible dan lugar a una producción bifásica y sostenida de EAO, mientras que las interacciones que dan lugar a enfermedad, es decir, a la diseminación del patógeno, provocan un choque oxidativo monofásico (Draper, 1997). Estas observaciones apuntan hacia que la formación sostenida de EAO es crítica para establecer la resistencia a las enfermedades durante la respuesta hipersensible. Ello lleva a pensar en la posibilidad de utilizar las EAO como herramienta de trabajo agronómico. Al respecto se ha observado que la exposición al ozono y radiación UV, factores relacionados con el incremento celular de EAO, dan lugar a un fenómeno conocido como resistencia cruzada, en donde la planta muestra acumulación de AS y resistencia a diferentes patógenos sin antes verse expuesta a los mismos (Sharma et al., 1996; Bowler y Fluhr, 2000).

No queda aún muy clara la relación causal, si es que esta existe, entre el H_2O_2 y el AS. Es probable que, más que ocurrir precedencia de un compuesto sobre otro, lo que se tiene sean dos vías independientes de señalización con estrecho traslape. La aplicación exógena o producción endógena de H_2O_2 induce la síntesis de AS así como las posteriores respuestas de resistencia; sin embargo la aplicación de AS da lugar también la síntesis de H_2O_2 , el posterior choque oxidativo y a la inducción de la resistencia (Van Camp et al., 1998).

En el estudio de Martinez et al. (2000) sobre la respuesta hipersensible del algodónero frente a *Xanthomonas campestris* se observó que la acumulación de AS fue dependiente de la presencia de H_2O_2 , y que el AS fue el controlador local de la actividad de generación de O_2^- . Este anión superóxido es una EAO que causa estrés oxidativo y puede por ello inducir la respuesta hipersensible. Según los resultados de Rao et al. (1997) la aplicación prolongada de AS en *Arabidopsis* es capaz de inducir mayor daño oxidativo que la aplicación de H_2O_2 , a pesar de que en este último caso los niveles endógenos de H_2O_2 sean hasta dos veces mayores que los observados con AS. Sin embargo, según los autores, la acción del AS requirió de la presencia de H_2O_2 . La dependencia de la síntesis de AS sobre la presencia del H_2O_2 fue también observada por Chamnongpol et al. (1998) quienes utilizaron como modelo de estudio plantas de tabaco transgénicas deficientes en catalasa. Al exponer estas plantas a radiación de alta fluencia se generó gran cantidad de H_2O_2 endógeno el cual indujo daño en los tejidos, síntesis de AS y etileno así como síntesis de proteínas PR tal y como se observa en la respuesta hipersensible. La síntesis de proteínas PR fue observada también en las hojas no sometidas a la radiación y que no presentaron daño en los tejidos, lo cual indicó la acción de un mecanismo de inducción sistémico. Curiosamente la exposición por corto tiempo al H_2O_2 causó una respuesta análoga a la observada en las hojas no sometidas a la radiación de alta fluencia, no observándose daño en los tejidos pero si activación de los mecanismos de defensa. Estos resultados indican la probable acción de una señal móvil que induce cambios en el ambiente redox o en la concentración de EAO en los tejidos alejados del sitio de inducción primaria, pero de nuevo dejan sin clarificar la relación entre el AS y el H_2O_2 .

La resistencia a los patógenos, mediada por diferentes proteínas PR, parece ser activada a través de distintas vías, unas dependientes de AS, otras de ácido jasmónico (JA), óxido nítrico (NO) o etileno (Pieterse et al., 1998; Terras et al., 1998; Thomma et al., 1998). En el caso de aplicación exógena de compuestos activadores se sabe que cada compuesto químico induce la expresión de diferentes proteínas PR. Esto fue confirmado en *Vitis vinifera* en donde la aplicación foliar exógena de AS y un activador preparado a partir de la pared celular de levaduras indujeron la expresión de dos tipos de quitinasa, mientras que la aplicación de BTH y 2,6-dicloroisonicotínico indujeron la expresión de una sola clase de quitinasa (Busam et al., 1997). Al respecto, se supone que ocurre una gran cantidad de intercomunicación y cierto grado de traslape entre las diferentes vías de señalización para conseguir que la planta responda a los diferentes estímulos bióticos o abióticos (Bowler y Fluhr, 2000; Paul et al., 2000).

Por otra parte, no todas las respuestas de expresión de genes relacionados con la patogénesis parecen depender de la acción de los compuestos inductores mencionados. Para el caso del trigo Molina et al. (1999) encontraron que los genes PR1.1 y PR1.2, que se expresan en presencia del hongo *Erysiphe graminis*, no fueron inducidos por el AS, el BTH o el ácido isonicotínico (INA). En *Arabidopsis* (Van Wees et al., 1997; Pieterse et al., 1998) y en *Raphanus sativus* (Terras et al., 1998) también se encontró que la presencia de rizobacterias no patógenas indujo resistencia sistémica por una vía independiente de AS.

Además de participar en las interacciones planta-patógeno el AS juega un papel en las relaciones simbióticas entre plantas y microorganismos. Ello fue ilustrado en el trabajo de Bilou et al. (1999). Estos autores demostraron que los mutantes P2 de *Pisum sativum*, incapaces de formar simbiosis con rizobia y hongos micorrízicos, muestran una producción constante y en alta cantidad de AS en los sitios de infección, en tanto que el tipo silvestre que forma simbiosis normalmente no mostró esta característica. Igualmente fue demostrado que todas las cepas (efectivas e inefectivas) de *Rhizobium leguminosarum* indujeron la síntesis de AS en los mutantes P2, previniendo de esta forma el inicio de la infección, mientras que únicamente las cepas inefectivas indujeron el AS en el tipo silvestre de *P. sativum*. Estos resultados parecen indicar que la supresión de la síntesis del AS forma parte de la estrategia de la planta para permitir el establecimiento de los simbiosis.

CONCLUSIONES

El panorama mostrado en esta revisión ilustra los grandes avances obtenidos en pocos años en relación con el papel del AS en las actividades fisiológicas y de adaptación de las plantas. Aunque visiblemente incompleto el cuerpo de conocimiento obtenido es valioso si se piensa en la implementación de nuevas técnicas de manejo de cultivos. Aún sin mencionar el importante adelanto en el estudio de los genes relacionados con la resistencia a los patógenos o la resistencia al estrés, así como el parcial esclarecimiento del papel fisiológico del AS, la aplicación práctica de los conocimientos sobre el papel de este compuesto y sus análogos funcionales en la inducción de respuestas adaptativas o respuestas de defensa promete ser relevante. Falta sin embargo gran cantidad de investigación utilizando mayor cantidad de especies vegetales, ampliar el rango de patógenos estudiados e incrementar los estudios en zonas tropicales y subtropicales ya que el grueso de la investigación procede de zonas templadas. Potencialmente puede desarrollarse una nueva tecnología que tome en

cuenta la inducción o potenciación de los mecanismos naturales de defensa de las plantas, utilizando compuestos ambientalmente inócuos, y ello requiere el esfuerzo combinado de investigadores, industriales de los agroquímicos y productores agrícolas.

LITERATURA CITADA

- Blilou, I., J. Ocampo, and J. García-Garrido. 1999. Resistance of pea roots to endomycorrhizal fungus or Rhizobium correlates with enhanced levels of endogenous salicylic acid. *J. Exp. Bot.* 50:1663-1668.
- Bourbouloux, A., P. Raymond, and S. Delrot. 1998. Effects of salicylic acid on sugar and amino acid uptake. *J. Exp. Bot.* 49:239-247.
- Bowler, C. and R. Fluhr. 2000. The role of calcium and activated oxygens as signals for controlling cross-tolerance. *Trends Plant Sci.* 5:241-246.
- Busam, G., H.H. Kassemeyer, and U. Matern. 1997. Differential expression of chitinases in *Vitis vinifera* L. responding to systemic acquired resistance activators or fungal challenge. *Plant Physiol.* 115:1029-1038.
- Chamnongpol, S., H. Willekens, W. Moeder, C. Langebartels, H. Sandermann Jr., M. Van Montagu, D. Inzé, W. Van Camp. 1998. Defense activation and enhanced pathogen tolerance induced by H₂O₂ in transgenic tobacco. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:5818-5823.
- Chen, Z., H. Silva, and R.F. Klessi. 1993. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. *Science* 262:1883-1886.
- Chen, W., G. Chao, and K.B. Singh. 1996. The promoter of a H₂O₂-inducible, *Arabidopsis* glutathione S-transferase gene contains closely linked OBF- and OBP1-binding sites. *Plant J.* 10:955-966.
- Chivasa, S., and J.P. Carr. 1998. Cyanide restores N gene-mediated resistance to tobacco mosaic virus in transgenic tobacco expressing salicylic acid hydroxylase. *Plant Cell* 10:1489-1498.
- Cronjé, M.J. and L. Bornman. 1999. Salicylic acid influences Hsp70/Hsc70 expression in *Lycopersicon esculentum*: dose- and time-dependent induction or potentiation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 265:422-427.
- Dat, J.F., H. López-Delgado, C.H. Foyer, and I.M. Scott. 1998. Parallel changes in H₂O₂ and catalase during thermotolerance induced by salicylic acid or heat acclimation in mustard seedlings. *Plant Physiol.* 116:1351-1357.
- Draper, J. 1997. Salicylate, superoxide synthesis and cell suicide in plant defence. *Trends Plant Sci.* 2:162-165.
- Durner, J., and D.F. Klessig. 1996. Salicylic acid is a modulator of tobacco and mammalian catalases. *J. Biol. Chem.* 271:28492-28501.
- Ferrarese, L., P. Moretto, L. Trainotti, N. Rascio, and G. Casadoro. 1996. Cellulase involvement in the abscission of peach and pepper leaves is affected by salicylic acid. *J. Exp. Bot.* 47:251-257.
- Gaffney, T., L. Friedrich, B. Vernooij, D. Negrotto, G. Nye, S. Uknes, E. Ward, H. Kessman, J. Ryals. 1993. Requirement of salicylic acid for the induction of systemic acquired resistance. *Science* 261:754-756.
- Gorlach, J., S. Volrath, G. Knauf-Beiter, G. Hengy, U. Beckhove, K.H. Kogel, M. Oostendorp, T. Staub, E. Ward, H. Kessmann, J. Ryals. 1996. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. *Plant Cell* 8:629-643.

- Gullino, M.L., P. Leroux, and C.M. Smith. 2000. Uses and challenges of novel compounds for plant disease control. *Crop Protect.* 19:1-11.
- Gutiérrez-Coronado, M.A., C. Trejo-López, and A. Larqué-Saavedra. 1998. Effects of salicylic acid on the growth of roots and shoots in soybean. *Plant Physiol. Biochem.* 36:563-565.
- Hennig, J., J. Malamy, G. Gryniewicz, J. Indulski, and D.F. Klessig. 1993. Interconversion of the salicylic acid signal and its glucoside in tobacco. *Plant J.* 4:593-600.
- Inzé, D. and M. Van Montagu. 1995. Oxidative stress in plants. *Curr. Op. Biotech.* 6:153-158.
- Kang, M.K., K.S. Park, and D. Choi. 1998. Coordinated expression of defense-related genes by TMV infection or salicylic acid treatment in tobacco. *Mol. Cells* 31:388-392.
- Kauss, H., and W. Jeblick. 1995. Pre-treatment of parsley suspension cultures with salicylic acid enhances spontaneous and elicited production of H₂O₂. *Plant Physiol.* 108:1171-1178.
- Kauss, H., and W. Jeblick. 1996. Influence of salicylic acid on the induction of competence for H₂O₂ elicitation. *Plant Physiol.* 111:755-763.
- Knörzera, O.C., B. Lederera, J. Durnerb, and P. Bögera. 1999. Antioxidative defense activation in soybean cells. *Physiol. Plant.* 107:294-302.
- Lawton, K., K. Weymann, L. Friedrich, B. Vernooij, S. Uknes, J. Ryals. 1995. Systemic acquired resistance in *Arabidopsis* requires salicylic acid but not ethylene. *Mol. Plant Microbe Interact.* 8:863-870.
- Levine, A., R. Tenhaken, R. Dixon, and C. Lamb. 1994. H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell* 79:583-593.
- López-Delgado, H., J. Dat, C. Foyer, and I.M. Scott. 1998. Induction of thermotolerance in potato microplants by acetylsalicylic acid and H₂O₂. *J. Exp. Bot.* 49:713-720.
- López Tejada, R., V. Camacho Rodríguez y M.A. Gutiérrez Coronado. 1998. Aplicación de ácido salicílico para incrementar el rendimiento agronómico en tres variedades de trigo. *Terra* 16:43-48.
- Malamy, J., J.P. Carr, D.F. Klessig, and I. Raskin. 1990. Salicylic acid: a likely endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral infection. *Science* 250:1002-1004.
- Martinez, C., J.C. Baccou, E. Bresson, Y. Baissac, J.F. Daniel, A. Jalloul, J.L. Montillet, J.P. Geiger, K. Assigbetsé, and M. Nicole. 2000. Salicylic acid mediated by the oxidative burst is a key molecule in local and systemic responses of cotton challenged by an avirulent race of *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*. *Plant Physiol.* 122:757-766.
- Métraux, J.P., H. Signer, J. Ryals, E. Ward, M. Wyss-Benz, J. Gaudin, K. Raschdorf, E. Schmid, W. Blum, B. Inverardi. 1990. Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber. *Science* 250:1004-1006.
- Molina, A., J. Gorfach, S. Volrath, and J. Ryals. 1999. Wheat genes encoding two types of PR-1 proteins are pathogen inducible, but do not respond to activators of systemic acquired resistance. *Mol. Plant Microbe Interact.* 12:53-58.

- Mur, L.A.J., G. Naylor, S.A.J. Warner, J.M. Sugars, R.F. White, J. Draper. 1996. Salicylic acid potentiates defense gene expression in leaf tissue exhibiting acquired to pathogen attack. *Plant J.* 9:559-571.
- Murphy, A.M., S. Chivasa, D.P. Singh, and J.P. Carr. 1999. Salicylic acid-induced resistance to viruses and other pathogens: a parting of the ways? *Trends Plant Sci.* 4:155-160.
- Narusaka, Y., M. Narusaka, T. Horio, and H. Ishii. 1999. Comparison of local and systemic induction of acquired disease resistance in cucumber plants treated with benzothiadiazoles or salicylic acid. *Plant Cell Physiol.* 40:388-395.
- Naylor, M., A.M. Murphy, J.O. Berry, J.P. Carr. 1998. Salicylic acid can induce resistance to plant virus movement. *Mol. Plant Microbe Interact.* 11:860-868.
- Paul, N.D., P.E. Hatcher, and J.E. Taylor. 2000. Coping with multiple enemies: an integration of molecular and ecological perspectives. *Trends Plant Sci.* 5:220-225.
- Pieterse, C.M., S.C. van Wees, J.A. van Pelt, M. Knoester, R. Laan, H. Gerrits, P.J. Weisbeek, and L.C. van Loon. 1998. A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 10:1571-1580.
- Prasad, T.K., M.D. Anderson, B.A. Martin, C.R. Stewart. 1994. Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide. *Plant Cell* 6:65-74.
- Rao, M.V., G. Paliyath, D.P. Ormrod, D.P. Murr, and C.B. Watkins. 1997. Influence of salicylic acid on H₂O₂ production, oxidative stress, and H₂O₂-metabolizing enzymes. Salicylic acid-mediated oxidative damage requires H₂O₂. *Plant Physiol.* 115:137-149.
- Raskin, I. 1992. Role of salicylic acid in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43:439-463.
- Rüffer, M., B. Steipe, and M.H. Zank. 1995. Evidence against specific binding of salicylic acid to plant catalase. *FEBS Lett.* 377:175-180.
- Sakamoto, K., Y. Tada, Y. Yokozeki, H. Akagi, N. Ayashi, T. Fujimura, and N. Ichikawa. 1999. Chemical induction of disease resistance in rice is correlated with the expression of a gene encoding a nucleotide binding site and leucine-rich repeats. *Plant Mol. Biol.* 40:847-855.
- Sanchez-Casas, P., and D.F. Klessig. 1994. A salicylic acid-binding activity and a salicylic acid-inhibitable catalase activity are present in a variety of plant species. *Plant Physiol.* 106:1675-1679.
- Sharma, Y.J., J. León, I. Raskin, K.R. Davis. 1996. Ozone-induced responses in *Arabidopsis thaliana*: the role of salicylic acid in the accumulation of defense related transcripts and induced resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:5099-5104.
- Shirasu, K., H. Nakajima, V.K. Rajasekhar, R.A. Dixon, and C. Lamb. 1997. Salicylic acid potentiates an agonist-dependent gain control that amplifies pathogen signals in the activation of defense mechanisms. *Plant Cell* 9:261-270.
- Smith-Becker, J., E. Marois, E.J. Huguet, S.L. Midland, J.J. Sims, N.T. Keen. 1998. Accumulation of salicylic acid and 4-hydroxybenzoic acid in phloem fluids of cucumber during systemic acquired resistance is preceded by a transient increase in phenylalanine ammonia-lyase activity in petioles and stems. *Plant Physiol.* 116:231-238.
- Stichter, L., B.N. Mauch-Mani, and J.P. Métraux. 1997. Systemic acquired resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 35:235-270.

- Strobel, N.E., and A. Kuc. 1995. Chemical and biological inducers of systemic acquired resistance to pathogens protect cucumber and tobacco from damage caused by paraquat and cupric chloride. *Phytopatol.* 85:1306-1310.
- Terras, F.R., I.A. Penninckx, I.J. Goderis, and W.F. Broekaert. 1998. Evidence that the role of plant defensins in radish defense responses is independent of salicylic acid. *Planta* 206:117-124.
- Thomma, B.P.H.J., K. Eggermont, I.A.M.A. Penninckx, B. Mauch-Mani, R. Vogelsang, B.P.A. Cammue, W.F. Broekaert. 1998. Separate jasmonate-dependent and salicylate-dependent defense-response pathways in *Arabidopsis* are essential for resistance to distinct microbial pathogens. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:15107-15111.
- Van Camp, W., M. Van Montagu, and D. Inés. 1998. H₂O₂ and NO: redox signals in disease resistance. *Trends Plant Sci.* 3:330-334.
- Van Wees, S.C., C.M. Pieterse, A. Trijssenaar, Y.A. Van't Westende, F. Hartog, and L.C. Van Loon. 1997. Differential induction of systemic resistance in *Arabidopsis* by biocontrol bacteria. *Mol. Plant Microbe Interact.* 10:716-724.
- Willekens, H., D. Inzé, M. Van Montagu, and W. Van Camp. 1995. Catalases in plants. *Mol. Breeding* 1:207-228.
- Willekens, H., S. Chamnongpol, M. Davey, M. Schraudner, C. Langebartels, M. Van Montagu, D. Inzé, W. Van Camp. 1997. Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defence in C3 plants. *EMBO J.* 16:4806-4816.
- Yang, Y., J. Shah, and D.F. Klessig. 1997. Signal perception and transduction in plant defense responses. *Genes Dev.* 11:1621-1639.