

Diversidad de compuestos químicos producidos por las plantas contra hongos fitopatógenos

Roberto Montes-Belmont

Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional. Apartado postal 24, Yautepec, Morelos. C. P. 62731

Chemical diversity in plants against phytopathogenic fungi

Abstract. An outlook of knowledge of the relationship between chemical diversity and defense mechanism in higher plants was reviewed. Chemical structure and biological properties of plant species are well know in just a minimal percentage of all plants of the world. Coevolutive process plant-fungi has allowed the development of complex and varied defense systems with both preformed antifungal compounds and induced substances by adverse factors. Between both groups of compounds there are not clear differences in chemical structure. All plants that had been studied showed that fungal properties are worldwide and ecological factors had been determinants in qualitative and quantitative chemical production. Until now only a few antimicrobial compounds are well know their modes of action. It is not rejected the possibility to develop in the future commercial fungicides from natural products with good perspectives in commercial market.

Key words: Antifungal metabolites, phytoalexins, inhibitins, phytoanticipins, defensins.

Resumen. Se presenta un panorama del conocimiento sobre la relación entre la diversidad química en las plantas superiores, sus mecanismos de defensa y sus posibles aplicaciones en agricultura. Sólo se ha estudiado un porcentaje mínimo de especies vegetales en relación a la estructura química y propiedades biológicas de sus compuestos. El proceso coevolutivo planta-hongo ha permitido el desarrollo de un sistema de defensa complejo y variado que abarca compuestos estructurales y compuestos inducidos por factores adversos, sin que haya una separación estricta entre ambos grupos en cuanto a su estructura química. Los diversos vegetales estudiados han mostrado que las propiedades antifúngicas están extendidas y que existen factores ecológicos que influyen cualitativa y cuantitativamente en su producción. Hasta ahora se conocen muy pocos de los mecanismos de acción de los compuestos antimicrobianos. No se descarta la posibilidad de que a mediano o largo plazo se puedan desarrollar fungicidas comerciales basados en productos naturales y con estabilidad en el mercado tanto para uso en Medicina, Medicina Veterinaria y Fitopatología.

Palabras clave: Metabolitos antifúngicos, fitoalexinas, inhibitinas, fitoanticipinas, defensinas.

Received 12 April 2008; accepted 15 April 2009.

Recibido 12 de abril 2008; aceptado 15 de abril 2009.

Introducción

Se calcula que en el mundo existen entre 200 mil y 500 mil

*Autor para correspondencia: Roberto Montes-Belmont
rbelmont@ipn.mx*

especies de plantas superiores (Wilson y Peter, 1988; Tivy, 1995) y en México la diversidad se estima entre 23 mil y 30 mil especies (Toledo, 1994). El conocimiento de la diversidad química de estas especies es hasta el momento limitado a nivel mundial, ya que se calcula que se conoce la estructura

química de alrededor de 100 mil metabolitos secundarios y podría haber al menos un millón de ellos en todas las especies que faltan por estudiar (Verpoorte, 1998). En algunas plantas estudiadas se ha trabajado en un grupo de compuestos (como por ejemplo alcaloides) y se desconocen los demás; dentro de los grupos más estudiados están los terpenoides y los alcaloides (Verpoorte, 2000). Con las propiedades biológicas de los metabolitos secundarios pasa algo similar, pues en la mayoría de los casos las investigaciones se centran en problemas prioritarios como por ejemplo la búsqueda de anticancerígenos y no se pretenden realizar estudios integrales sobre todas las propiedades biológicas. A pesar de todo esto, el conocimiento que se tiene en la actualidad de las propiedades de los fitoquímicos ha contribuido enormemente a resolver problemas de salud ya que una alta proporción de los medicamentos que se utilizan son derivados de plantas (Bourgaud *et al.*, 2001). En cuanto a la agricultura los primeros agroquímicos que se usaron fueron polvos o extractos de plantas, que se utilizaron antes del surgimiento de los compuestos orgánicos sintéticos en la primera mitad del siglo XX; entre estas plantas estuvieron el tabaco, el crisantemo y la rotenona que fueron usadas contra distintos insectos plaga (Rodríguez y Lagunes, 1992; Jacobson y Crosby, 1971). En este trabajo se revisa la diversidad de metabolitos secundarios en las plantas y su relación con mecanismos de defensa contra los hongos, desde perspectivas biológicas, ecológicas, bioquímicas, de los posibles mecanismos de acción de estos compuestos, además de sus posibles aplicaciones prácticas para el manejo de enfermedades de origen fúngico en los cultivos.

Evolución y coevolución en las plantas y los hongos

Sin duda el grupo más numeroso de fitopatógenos lo constituyen los hongos, los que posiblemente aparecieron

antes que las plantas en la tierra y durante su proceso evolutivo se relacionaron con todos los demás grupos de seres vivos (Pirozynski y Hawksworth, 1988). En el caso particular de las plantas superiores se establecieron relaciones dinámicas de simbiosis, comensalismo y parasitismo y su influencia mutua fue enorme. De acuerdo a Alarcón *et al.* (2006) en el 85 % de las especies vegetales los hongos micorrízicos han sido factores determinantes en su evolución y en cuanto a los hongos fitopatógenos prácticamente no existe una especie vegetal que no sea parasitada por lo menos por un hongo y existen algunas que son hospederos de varias decenas de hongos; tan sólo en Estados Unidos Farr *et al.* (1989) reportan 137 especies de hongos asociados al cultivo de la papa; los parásitos o patógenos que atacan a los vegetales pueden eliminar especies vegetales de una localidad o pueden impedir su establecimiento en un área nueva (Espinosa-García, 2001). Existen antecedentes paleobotánicos de la presencia de hongos fitopatógenos desde hace alrededor de 400 millones de años (Swain, 1978) y las micorrizas también datan de esa época: periodo Selúrico-Devónico (Alarcón *et al.*, 2006). De los primeros estudios de la interacción genética planta-patógeno surgió la teoría gen a gen en el patosistema lino-roya en donde después de estudiar la herencia de la resistencia, se llegó a la conclusión de que por cada gen de resistencia en el hospedero existe un gen de virulencia en el patógeno y que el equilibrio entre ambos tipos de genes permite la relación permanente entre el lino y el hongo causante de la roya (Flor, 1947). Cada especie vegetal al tener una presión de selección de diferentes patógenos diversifica sus formas de defensa contra ellos.

Defensa vegetal y metabolitos secundarios

Aunque las plantas no tienen un sistema inmunológico como los animales superiores, sus mecanismos de defensa son complejos, variados y dinámicos resultado de un largo

proceso evolutivo. Las plantas resisten al ataque de patógenos mediante diferentes estrategias de defensa que pueden ser constitutivas (histológicas o químicas) o defensas inducidas por factores externos (Verpoorte, 2000). Las constitutivas incluyen barreras físicas, procesos de lignificación, suberización y formación de calosas; también hay la formación de metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas como parte de la estructura de los tejidos. La defensas inducidas son un sistema complejo que parte desde una señal química o elicitor que desencadena la producción de enzimas del metabolismo secundario cuyo resultado final sería la síntesis de compuestos antimicrobianos, los cuales, afectan además de los patógenos, a los consumidores de las plantas y a sus enemigos naturales (Krischik y Denno, 1983; Langenheim, 1994).

Las barreras físicas pueden estar presentes en determinadas etapas o en todo el ciclo biológico de la planta o bien formarse en respuesta al inicio del proceso infectivo. La cutícula gruesa en el caso de las plantas xerófitas, además de su papel para retener humedad, también sirve de barrera física para impedir la entrada de hongos y bacterias; una capa cerosa en la cutícula de las hojas de algunas especies de plantas, impide la formación de películas de agua en la superficie foliar después de las lluvias, lo que desfavorece la germinación de las esporas de hongos fitopatógenos (Agiros, 1996). Si se comparan especies xerófitas de plantas (nopal y agave) con especies subtropicales como el jitomate y la papa en cuanto a diversidad de fitopatógenos las diferencias son

Tabla 1. Diversidad de hongos patógenos en plantas cultivadas xerófitas y subtropicales en Estados Unidos (Adaptado de Farr *et al.*, 1989)

Género de planta	Espécies sobre partes aéreas	Clases de hongos
<i>Agave</i>	28	3
<i>Opuntia</i>	43	3
<i>Lycopersicon</i>	93	5
<i>Solanum</i>	83	6

notables ya que las especies subtropicales tienen tejidos más susceptibles a una mayor diversidad de patógenos y se desarrollan en condiciones climáticas más favorables para esos patógenos (Tabla 1).

La defensa mediante compuestos químicos tiene dos vertientes: aquellos compuestos antimicrobianos de bajo peso molecular que están estructuralmente presentes en todas las etapas del desarrollo de las plantas, en alguna fase de su ciclo biológico o bien que son producidos después de una infección pero a partir de compuestos ya existentes y que algunos autores llaman inhibitinas (Grayer y Harborne, 1994) y otros fitoanticipinas o también compuestos constitutivos (VanEtten *et al.*, 1994). Estos compuestos se pueden encontrar siempre en concentraciones suficientes para inhibir el desarrollo de los hongos como el ácido protocatéquico y catecol (en las cebollas moradas resistentes a la antracnosis), pueden estar en concentraciones bajas normalmente, pero incrementarse con la infección como ocurre con la cumarina escopolina y el ácido clorogénico en papas infectadas con *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary (Mansfield, 1983), o bien pueden encontrarse en las plantas sanas en una forma inactiva y después de la infección son convertidas en productos antifúngicos, pero por medio de reacciones bioquímicas cortas y simples como la hidrólisis enzimática; esto ocurre en algunas Poaceae como la avena y el sorgo que tienen en sus raíces glicósidos cianogénicos que después de ser atacadas por *Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) Arx & D. Oliver liberan HCN por intermedio de enzimas presentes en los tejidos sanos y destruyen al hongo (Grayer y Harborne, 1994). También aquí quedarían incluidos los isotiocianatos que son productos de la hidrólisis de los glucosinatos (que se encuentran en las familias Brassicaceae, Caparaceae y Caricaceae las que incluyen cerca de 3, 500 especies) por acción de las enzimas myrosinasas también llamadas tioglucosidasas (Rask *et al.*, 2000). En este grupo cuando la planta es dañada por cualquier factor (físico o biológico) la enzima y el substrato entran en contacto, los glucosinatos

son hidrolizados en un compuesto inestable: la aglycona que cuando hay condiciones neutrales o alcalinas en el medio se transforma en un isotiocianato en función de la estructura del glucosilato que tiene propiedades antifúngicas. El antifúngico licina del ajo es producida cuando el tejido es dañado y el substrato alin (S-alil-l-cistein sulfoxido) se mezcla con la enzima alin-liasa. Otro grupo muy amplio serían los compuestos también de bajo peso molecular que únicamente son sintetizados en respuesta al ataque de un patógeno o una situación estresante y que su presencia está restringida al tejido dañado y las células circunvecinas, las llamadas fitoalexinas para las cuales si se requiere de la síntesis de un sistema enzimático como consecuencia de la infección. Este sería el grupo más estudiado. Dentro de esta clasificación también se encuentran los compuestos proteicos péptidos y proteínas de mayor peso molecular que también pueden ser compuestos constitutivos o inducidos en respuesta a un estímulo estresante biótico o abiótico. De acuerdo a Selitrennikoff (2001) estos compuestos se clasifican en trece clases que incluyen pequeñas proteínas o péptidos como las tioninas las proteínas de transferencia de lípidos y defensinas, además otras de mayor peso molecular como las enzimas del grupo de las glucanasas, quitinasas, proteínas relacionadas a la patogénesis (PR) y las inhibidoras de proteasas que tienen un amplio espectro de acción contra especies de hongos (De Lucca *et al.*, 2005, Lay y Anderson, 2005; Selitrennikoff, 2001). Los compuestos protéicos antifúngicos tienen una amplia distribución en muy diversos animales como insectos, anfibios y mamíferos (Islas-Flores *et al.*, 2006).

Para algunos compuestos es difícil determinar si son compuestos inducidos (fitoalexinas) o compuestos constitutivos; además puede ocurrir que el mismo compuesto puede ser una sustancia antifúngica estructural en unas especies y fitoalexinas en otras. Por ejemplo la flavanona sekurametina es constitutiva en *Ribes nigrum* L. e inducida en arroz (Grayer y Harborne, 1994). Un caso especial lo

constituyen los exudados que se generan en la superficie de las plantas y que consisten en compuestos orgánicos (azúcares, aminoácidos, ácidos orgánicos y enzimas) e inorgánicos; estos productos pueden tener una doble función, por un lado algunos de ellos son directamente tóxicos a los patógenos como los fenoles, el ácido málico y algunos aminoácidos (glicina metionina y fenilalanina) y por otro sirven de substrato a una microflora que impida la entrada de patógenos (Weinhold y Hancock, 1980).

Naturaleza química de los metabolitos antifúngicos

De acuerdo a Grayer y Harborne (1994) los antifúngicos constitutivos pertenecen a todas las principales clases de compuestos secundarios: terpenoides, iridoides, sesquiterpenos, saponinas, compuestos azufrados o nitrogenados (alcaloides, aminos, amidas), alifáticos (especialmente alcanos de cadena larga y ácidos grasos) y aromáticos (fenoles, flavonoides, estilbenos, bibenziles, xantonas y benzoquinonas). Dentro de las fitoalexinas se encuentran lactosas sesquiterpénicas, pterocarpanos, cumarinas, indoles, bibenzyles, derivados del ácido antranílico, estilbenos, flavanonas, diterpenos, antocianidinas, chromonas, isoflavonas, isoflavonoides, alcaloides, fenoles, antroquinonas, fenilpropanoides y sesquiterpenos. No existe una división estricta desde el punto de vista químico entre los metabolitos constitutivos y fitoalexinas.

Los metabolitos secundarios generalmente están presentes como mezclas de compuestos y los parásitos y patógenos pueden ser afectados diferencialmente por los compuestos individuales o por las mezclas en determinadas concentraciones y proporciones (Espinosa-García, 2001). Las especies de la leguminosa *Hymenea* tienen un compuesto antifúngico en las hojas que se denomina óxido de

cariofileno, el cual se encuentra dentro de una mezcla de sesquiterpenos. De toda esa mezcla ese compuesto es el único capaz de inhibir al hongo *Pestailopsis subcuticularis* (Guba) J. W. Wei & T. Xu. Por otra parte los monoterpenos de las hojas de la Cupressaceae *Sequoia sempervirens* Endl. necesitan estar en determinadas proporciones para inhibir a los hongos endófitos de esa especie y ninguno de ellos los puede inhibir individualmente (Espinosa-García y

Langenheim, 1991). Con monoterpenos usados experimentalmente se ha visto que actúan diferencialmente contra varias especies de hongos y algunas especies se inhiben con dosis bajas de monoterpenos, otras con dosis altas y otras más incluso son estimuladas por algunos compuestos (Hintikka, 1970).

La variabilidad genética en un patógeno puede producir genotipos tolerantes a un grupo de monoterpenos

Tabla 2. Espectro de acción de plantas contra géneros de hongos fitopatógenos. Adaptado de Grainge y Ahmed (1988) y Rai y Mares (2003)

Especie de planta	Géneros de hongos	Principios activos
<i>Allium sativum</i> L.	<i>Alternaria</i> , <i>Botrytis</i> , <i>Colletotrichum</i> , <i>Helminthosporium</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Dreschlera</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Monilia</i> , <i>Pyricularia</i> , <i>Pseudoperonospora</i> , <i>Claviceps</i> , <i>Glomerella</i> , <i>Ustilago</i> , <i>Uromyces</i> .	Alicina (dialiltiosulfonato)
<i>Allium cepa</i> L.	<i>Alternaria</i> , <i>Botrytis</i> , <i>Ceratocystis</i> , <i>Colletotrichum</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Verticillium</i> , <i>Uromyces</i> .	n-propil disulfuro
<i>Thymus vulgaris</i> L.	<i>Alternaria</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Botrytis</i> , <i>Ceratocystis</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Claviceps</i> , <i>Diplodia</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Fusicladium</i> , <i>Giberella</i> , <i>Lentinus</i> , <i>Lenzites</i> , <i>Polyporus</i> , <i>Verticillium</i> , <i>Ustilago</i> .	Timol, carvacrol, α -pineno, limoneno, 1-8 cineol, linalol
<i>Anagallis arvensis</i> L.	<i>Bipolaris</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Exserohilum</i> , <i>Helminthosporium</i> , <i>Pythium</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Ustilago</i> .	Alcaloides
<i>Avena sativa</i> L.	<i>Alternaria</i> , <i>Bipolaris</i> , <i>Ceratocystis</i> , <i>Colletotrichum</i> , <i>Ophiobolus</i> , <i>Rhizoctonia</i> , <i>Verticillium</i> .	Avenacina
<i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume	<i>Alternaria</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Curvularia</i> , <i>Dreschlera</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Lentinus</i> , <i>Lenzites</i> , <i>Polyporus</i> .	Aldehido cinnámico, eugenol, camfor, o-metilcinamaldehido
<i>Azadirachta indica</i> A. Juss.	<i>Alternaria</i> , <i>Aphanomyces</i> , <i>Ascochyta</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Botrytis</i> , <i>Cercospora</i> , <i>Colletotrichum</i> , <i>Curvularia</i> , <i>Dreschlera</i> , <i>Diplocarpon</i> , <i>Erysiphe</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Helminthosporium</i> , <i>Macrophomina</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Phytophthora</i> , <i>Plasmopara</i> , <i>Puccinia</i> , <i>Pythium</i> , <i>Rhizoctonia</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Sclerotinia</i> , <i>Sclerotium</i> , <i>Septoria</i> , <i>Sphaerotheca</i> , <i>Uromyces</i> , <i>Verticillium</i> .	Azadiractina
<i>Ricinus communis</i> L.	<i>Colletotrichum</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Rhizoctonia</i> , <i>Pythium</i> , <i>Sphaerotheca</i> .	Alcaloide (ricina)

como ocurre con *Crumenulopsis sororia* (Karst.) Groves en pinos (Ennos y Swales, 1988) y a su vez la diversidad química en una población de una especie de planta puede impedir la evolución de cepas del patógeno capaces de atacar a todas las variantes químicas de una población (Pimentel y Bellotti, 1976).

Como se mencionaba anteriormente en general las propiedades de los metabolitos no se conocen en forma amplia y algunos pueden actuar de manera individual contra una o pocas especies de hongos y otros como la alicina del ajo pueden tener un amplio espectro de acción, no sólo contra especies de hongos fitopatógenos, zoopatógenos y de humanos sino también contra bacterias, nematodos e insectos (Isman, 2000). En la Tabla 2 se muestran algunas de las plantas con mayor espectro de acción contra hongos fitopatógenos. En el caso de los aceites esenciales cada planta puede tener hasta más de 60 componentes y de ellos puede haber varios con propiedades antifúngicas. No se conoce si la mayoría de las plantas han desarrollado metabolitos antifúngicos o si esta propiedad está restringida a determinadas especies y familias; hasta 1988 Grainge y Ahmed reportaban alrededor de 400 plantas de 60 familias con esa propiedad contra cerca de 140 hongos y desde entonces la lista ha crecido considerablemente. Gubanov *et al.*, mencionados por Schlösser (1980) encontraron que en Asia Central de 1730 plantas analizadas de 104 familias el 79 % contenían saponinas muchas de las cuales tienen propiedades antifúngicas. En relación a las fitoalexinas Grayer y Harborne (1994) mencionan que hasta 1995 se tenían datos sobre 31 familias de plantas, siendo la más estudiada la familia de las Fabaceae con alrededor de 600 especies, la gran mayoría de las cuales tiene una o dos fitoalexinas. Estudiando la presencia de aceites esenciales en 295 familias de plantas se encontró que el 30 % (87) tenían estos aceites siendo más frecuentes en Apiaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Pinaceae, Piperaceae, Rutaceae y Zingiberaceae (Wagner, 1993). Los

glicósidos cianogénicos se han encontrado en más de 200 especies incluyendo gimnospermas, helechos monocotiledóneas y dicotiledóneas (Morrissey y Osbourn, 1999). Los triterpenos limonoides solo se han encontrado en las familias del orden Rutales, principalmente en las Rutaceae y Meliaceae (Roy y Saraf, 2006). En las Solanaceae y Amaryllidaceae los alcaloides son frecuentes y algunos están relacionados con la defensa contra los hongos. En las Rosaceae los fenoles son comunes y en las Asteraceae las lactonas sesquiterpénicas son muy características (Rai *et al.*, 2003). En cuanto a las fitoalexinas los sesquiterpenoides son comunes en las Solanaceae y los isoflavonoides en las Leguminosas. En las Poaceae la diversidad de compuestos antifúngicos es amplia: saponinas, alcaloides, ácidos grasos y fenoles entre otros. Igual pasa en las Leguminosas en donde hay chalconas, flavonas, difenilpropeno, isoflavonas y saponinas. Generalmente especies del mismo género contienen compuestos relacionados (Grayer y Harborne, 1994) pero hay excepciones *Eucalyptus globulus* Labill. es rica en cineole, *E. dives* Baker en filandreno y *E. citriodora* Hook en citronelal (Pandey y Rai, 2003).

Ecología de las plantas productoras de metabolitos antifúngicos

Las regiones climáticas pueden ser determinantes en las características cualitativas y cuantitativas de los metabolitos. Levin y York (1978) sugieren que la concentración de alcaloides en el follaje de las plantas con alto contenido de estos compuestos puede ser mayor en regiones tropicales bajas que en regiones subtropicales y templadas. En la selva africana se ha determinado que en los ecosistemas oligotróficos las plantas tienen una mayor cantidad de fenoles que en los sistemas eutróficos ricos en nutrientes. Según Macias y Galindo (2001) los ecosistemas desérticos o semidesérticos son los sitios más adecuados para el desarrollo

de especies vegetales aromáticas por sus altas temperaturas, bajos índices de pluviosidad y nieblas o rocíos intensos y esas plantas suelen ser árboles o arbustos con marcado aroma que se acentúa conforme las condiciones se vuelven más adversas y en general sus compuestos volátiles se encuentran en los tricomas del envés de las hojas, un sitio que facilita su liberación al aire. En la isla de Creta se ha determinado que los aceites esenciales de *Coridothymus capitatus* L. y *Satureja thymbra* Briq. tienen un mayor contenido de carvacrol en las tierras altas que los lugares bajos (Karousou *et al.*, 2005).

Sitios de producción en la planta

Otro factor importante es el sitio de producción de los compuestos, en algunos casos pueden producirse en toda la planta; en otras especies puede haber producción selectiva de metabolitos antifúngicos en cada órgano de la planta como ocurre con la canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) que en corteza de su tallo produce altas concentraciones de aldehído cinámico y en sus hojas predomina el eugenol y en la corteza de sus raíces predomina el camfor (Senanayake *et al.*, 1978); en el caso de la avena (*Avena sativa* L.) y el sorgo (*Sorghum vulgare* L.) en las raíces se concentra la producción de avenacina dado que este compuesto actúa sobre el hongo *Gaeumannomyces graminis* (Mansfield, 1983); en cuanto a los sitios dentro de la célula, los sesquiterpenos, triterpenos y esteroides se producen en el retículo endoplásmico, mientras que los monoterpenos se originan en los plástidos y las aminas y alcaloides en las mitocondrias (Sepúlveda-Jiménez *et al.*, 2003).

Según Zangerl y Bazzaz (1992) las plantas durante su proceso evolutivo tienden a concentrar sus defensas en sus órganos reproductivos como ocurre con la mayoría de los terpenoides. La producción de metabolitos generalmente es cíclica y muchos de ellos se producen en mayor cantidad en la época de mayor actividad de los patógenos o parásitos como

ocurre con el alcaloide perlonina en la especie *Festuca arundinaceae* Schreb. (Macias y Galindo, 2001) cuya producción se concentra en julio y agosto. Las plantas de tomillo de 5 años de edad producen sólo un 0.15 % de aceite total y la mayor cantidad de timol y carvacrol la producen entre mayo y junio en tanto que las plantas de 2 años de edad tienen mayor producción de aceite (1.2 %) y el timol y el carvacrol se producen en mayor cantidad al terminar el ciclo vegetativo entre junio y julio (Hudaib *et al.*, 2002); el aceite esencial del pasto limón reduce su eficiencia en la India contra *Aspergillus flavus* Link: Fr. si es colectado durante los meses de enero a abril (Mishra y Duvey, 1994). En otros casos la producción puede variar incluso en un mismo día como ocurre con los alcaloides de la amapola *Papaver somniferum* L (Fairbarin y Wassel, 1964) o en el del huelle de noche (*Cestrum nocturnum* L.) cuya liberación de compuestos aromáticos es en la noche. La edad de los tejidos puede también influenciar su acción como ocurre en el aguacate que en las primeras etapas del desarrollo de sus frutos posee suficiente concentración de ácidos grasos involucrados en su resistencia a *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc., pero conforme el fruto madura se pierde esa resistencia; en cambio en *Arabidopsis* al madurar la planta aumentan los niveles de ácido salicílico, lo cual ocasiona resistencia a la bacteria *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* van Hall (Hammerschmidt, 2004).

Mecanismos de acción de los metabolitos antifúngicos

En cuanto los mecanismos de acción de los metabolitos todavía quedan muchas interrogantes. Se ha probado que los terpenos son los principales responsables de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales. Su efecto antimicrobiano está basado en su habilidad para dañar las biomembranas. En función de sus características lipofílicas

interactúan con las enzimas de la membrana e interfieren procesos vitales como la ósmosis, la síntesis de esteroides y fosfolípidos (Lucini *et al.*, 2006). Se ha demostrado que los alcoholes fenólicos (timol, carvacrol, eugenol) son los más fuertes inhibidores de los procesos enzimáticos. Esto se atribuye a su característica lipofílica y sus grupos OH libres. Se ha encontrado que los alcoholes no fenólicos (geraniol, linalol) tienen un efecto menor que los alcoholes fenólicos y su efecto es reducido por la esterificación de los grupos OH (Knoblock *et al.*, 1989; Pepeljnjak *et al.*, 2003). Se conoce que el cineol reduce la división celular y que el limoneno, el α -pineno y el β -pineno inhiben el consumo de oxígeno (Peñuelas *et al.*, 1996); también se sabe que el 1-8 cineol inhibe la respiración mitocondrial, la fosforilación oxidativa y la síntesis de ADN (Koitaishi *et al.*, 1996). Los isotiocianatos reaccionan con las proteínas de los hongos, ocasionando su inactivación mediante su unión al grupo amino del aminoácido lisina o con el grupo sulfhidrilo de la cisteína (Tiznado-Hernández *et al.*, 2006). El principal mecanismo de actividad antifúngica de las saponinas es debido a su habilidad de formar complejos con los esteroides en las membranas de los hongos lo cual ocasiona la desintegración de la membrana (Glauert *et al.*, 1962; Morrissey y Osbourn, 1999). Los compuestos fenólicos se ha demostrado que inhiben las enzimas reaccionando con los grupos sulfhidrilos de los aminoácidos (Murphy, 1999). Las quinonas, flavonas, flavonoides, taninos y flavonoles forman complejos con los aminoácidos nucleofílicos de las proteínas lo que conduce a su inactivación (Murphy, 1999). Dentro de los alcaloides los llamados cuaternarios se les atribuye la propiedad de intercalarse en el ADN lo que ocasiona múltiples efectos en el microorganismo. Muchos hongos fitopatógenos (a excepción de los biotróficos) secretan enzimas hidrolíticas que se difunden en las células del hospedero antes del avance de los microorganismos, lo cual puede ser inhibido por radicales libres de fenoles oxidados que funcionan como inhibidores no específicos, así como

taninos, cianidina, delfinidina y malvidina (Schlösser, 1980). El ácido gálico actúa sobre la polifenoloxidasas de algunos hongos saprófitos y fitopatógenos ocasionando la acumulación de productos de oxidación. Los tuliposidos del tulipán se considera que actúan inactivando las enzimas con grupos SH del hongo *Fusarium oxysporum* Schlechtend fsp. tulipae W. L. Gordon (Overeem, 1976). La alicina del ajo actúa uniéndose a los grupos tiol de las proteínas (Slusarenko, 2008). Las proteínas y los polipéptidos antifúngicos tienen mecanismos de acción muy variados, que incluyen la degradación de polímeros de la pared celular, de los canales de la membrana, la degradación de los ribosomas y la inhibición de la síntesis de ADN. Existen muchas proteínas cuyo modo de acción todavía no se conoce (Selitrennikoff, 2001).

Perspectivas del uso de metabolitos secundarios

Si bien podemos decir que ha habido grandes avances en el conocimiento de los metabolitos antifúngicos, el universo por estudiar todavía es grande, tanto en el aspecto de propiedades químicas como biológicas. A pesar de existir pocas evidencias experimentales, se puede afirmar que una alta diversidad química en una especie vegetal permite una mayor capacidad de defensa. Así como en el control biológico de hongos fitopatógenos donde ha sido difícil obtener productos comerciales estables y eficientes, después de alrededor de cincuenta años de investigación intensa, en el caso de los productos naturales para el control de plagas y enfermedades, también se han tenido ese tipo de dificultades. Quizá el problema estriba en que en ambos casos se ha pretendido generar productos similares a los agroquímicos o medicamentos sintéticos en sus etapas iniciales, es decir con un solo principio activo, pero esto ya se ha visto que en la naturaleza no funciona, por lo que los productos naturales

deberían estudiarse en combinaciones diversas para abrir nuevas perspectivas. También está la otra vertiente de codificar genes de las proteínas antifúngicas para poder crear plantas genéticamente modificadas que incrementen su resistencia al ataque de hongos, tarea en la cual están diversas empresas transnacionales, pero con el problema todavía no superado de su no aceptación hasta que se clarifiquen los riesgos que implican este tipo de materiales.

Literatura citada

- Agrios, G. N., 1996. Fitopatología. Ed. Limusa México, D.F. 838 p.
- Alarcón, A., M. C. A. González-Chávez, R. Ferrera-Cerrato, 2006. Aspectos ecológicos y aplicación de hongos micorrízicos arbusculares en agroecosistemas. In: Fuentes-Dávila, G., Ferrera-Cerrato, R. (eds.). Ecología de la raíz. Sociedad Mexicana de Fitopatología. Ciudad Obregón, Sonora. pp. 27-46.
- Bourgaud, F., A. Gravot, S. Milesi, E. Gontier, 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science* 161: 839-851.
- De Lucca, A. J., T. E. Cleveland, D. E. Wedge, 2005. Plant-derived antifungal proteins and peptides. *Canadian Journal of Microbiology* 51(12): 1001-1014.
- Ennos, R. A., K. W. Swales, 1988. Genetic variation in tolerance to host monoterpene in populations of the ascomycete canker pathogen *Crumenulopsis sororia*. *Plant Pathology* 37: 407-416.
- Espinosa-García, F. J., 2001. La diversidad de los metabolitos secundarios y la teoría de la defensa vegetal. In: Anaya A. L., F. J. Espinosa-García, R. Cruz-Ortega. (Coordinadores). Relaciones químicas entre organismos. Aspectos básicos y perspectivas. Instituto de Ecología. Plaza y Valdés S. A. de C. V. México D. F. 733 p.
- Espinosa-García, F. J., J. H. Langenheim, 1991. Effect of some essential oil phenotypes coastal redwood on the growth of several fungi with endophytic stages. *Biochemical Systematic and Ecology* 19: 643-650.
- Fairbarin, J., W. G. Wassel, 1964. The alkaloids of *Papaver somniferum* L. Evidence for a rapid turnover of the major alkaloids. *Phytochemistry* 3: 38-46.
- Farr, D. F., G. F. Bills, G. P. Chamuris, A. Y. Rossman, 1989. Fungi on plants and plant products in the United States. APS Press. St. Paul, Minnesota. 1252 p.
- Flor, H. H., 1947. Host parasite interactions in flax rust. Its genetics and other implications. *Phytopathology* 45: 680-685.
- Glauert, A. M., J. T. Dingle, J. A. Lucy, 1962. Action of saponin on biological cell membranes. *Nature* 196: 953-955.
- Grainge, M., S. Ahmed, 1988. Handbook of plants with pest control properties. John Wiley and sons. N. Y. 470 p.
- Grayer, R. J., J. B. Harborne, 1994. A survey of antifungal compounds from higher plants, 1982-1993. *Phytochemistry* 37: 19-42.
- Hammerschmidt, R., 2004. Secondary metabolites and resistance: more evidence for a classical defense. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 65: 169-170.
- Hintikka, V., 1970. Selective effects of terpenes on wood decomposing Hymenomycetes. *Karstenia* 11: 28-32.
- Hudaib, M., E. Speroni, A. M. Di Pietra, V. Cavrini, 2002. GC/MS evaluation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variations during the vegetative cycle. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 29: 691-700.
- Islas-Flores I., Minero-García Y., A. C. James, 2005. Proteínas contra las infecciones de las plantas. *Ciencia* 3: 64-74.
- Isman, M. B., 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection* 19: 603-608.
- Jacobson, M., D. G. Crosby, 1971. Naturally occurring insecticides. Marcel Dekker, N. Y. 585 p.
- Karousou, R., D. N. Koureas, S. Kokkini, 2005. Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra* in natura 2000 sites of Crete. *Phytochemistry* 66: 2668-2673.
- Knoblock, K., A. Pauli, B. Ibler, H. Weigand, N. Weiss, 1989. Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *Journal of Essential Oil Research* 1: 119-128.
- Koitaishi, R., T. Suzuki, T. Kawazu, A. Sakai, H. Kuroiwa, T. Kuroiwa, 1997. 1,8-cineole inhibits root growth and DNA synthesis in the root apical meristem of *Brassica campestris* L. *Journal of Plant Research* 110: 1-6.
- Krischik, V. A., R. F. Denno, 1983. Individual, population, and geographic patterns in plant defense. In: Denno, R. F., M. McClure (eds.), Variable plants and herbivores in natural and managed systems. Academic Press. N. Y. 463-512.
- Langenheim, J. H., 1994. Higher plants terpenoids: a phyto-centric overview of their ecological roles. *Journal of Chemical Ecology* 20: 1223-1280.
- Lay, F. T., M. A. Anderson, 2005. Defensins-components of the innate immune system in plants. *Current Protein Peptide Science* 6: 85-101.
- Levin, D. A., B. M. York, 1978. The toxicity of plant alkaloids: an ecogeographic perspective. *Biochemistry, Systematics and Ecology* 6: 61-76.
- Lucini, E. I., Zunino M. P., López M. L., A. Zygadlo, 2006. Effect of monoterpenes on lipid composition and sclerotial development of *Sclerotium cepivorum* Berk. *Journal of Phytopathology* 154: 441-446.
- Macias, A. F., C. G. J. Galindo, 2001. Terpenoides alelopáticos: estructura, actividad y aplicaciones. In: Anaya A. L., F. J. Espinosa-García, R. Cruz-Ortega. (Coordinadores). Relaciones químicas entre organismos. Aspectos básicos y perspectivas. Instituto de Ecología. Plaza y Valdés S. A. de C. V. México D. F. 137-161.
- Mansfield, J. W., 1983. Antimicrobial compounds. In: Callow (ed.). *Biochemical Plant Pathology*. John Wiley and sons. N. Y. 237-263.
- Mishra, A. K., N. K. Duvey, 1994. Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. *Applied and Environmental Microbiology* 60: 1101-1105.
- Morrissey, J. P., A. Osbourn, 1999. Fungal resistance to plant antibiotics as mechanism of pathogenesis. *Microbiology and Molecular Reviews* 63: 708-724.
- Murphy, C. M., 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12: 564-582.
- Overeem, J. C., 1976. Pre-existing antimicrobial substances in plants and their role in plant disease resistance. In: Friend, J., R. Thelal, *Biochemical aspects of plant parasite relationships*. Academic Press. N. Y. 195-206.
- Pandey, A. K., M. Rai, 2003. Antimycotic potential in some naturally occurring essential oils. In: Rai, M., D. Mares (eds.), *Plant-derived Antimicrobials*. Current trends and future prospects. Haworth Press. Binghampton, N. Y. 343-356.
- Peñuelas, J., M. Ribas-Carbo, L. Giles, 1996. Effects of allelochemicals on plant respiration and oxygen isotope fractionation by the alternative oxidase. *Journal of Chemical Ecology* 22: 801-805.
- Pepeljnjak S., I. Kosalec, Z. Kalodera, D. Kustrak, 2003. Natural antimicrobials from Croatian plants. In: Rai, M., D. Mares (eds.), *Plant-derived antimicrobials*. Current trends and future prospects. Hartworth Press. N. Y. 49-79 p.
- Pimentel, D., A. C. Belloti, 1976. Parasit-host population system and genetic stability. *American Naturalist* 110: 877-888.
- Pirozynski, K. A., D. L. Hawksworth, 1988. Coevolution of fungi with plants and animals. Academic Press. London. 285 p.
- Rai, M., D. Acharya, P. Wadegaonkar, 2003. Plant-derived antimicrobials: potential of Asteraceae plants. In: Rai, M., D. Mares, (eds.). *Plant-derived antimicrobials*. Current trends and future prospects. Hartworth Press. N. Y. 165-195.
- Rask, L., E. Andreasson, B. Ekborn, S. Eriksson, B. Pontoppidan, J. Meijer, 2000. Myrosinase: gene family evolution and herbivore defense in Brassicaceae. *Plant Molecular Biology* 42: 93-113.
- Rodriguez, C., A. Lagunes, 1992. Plantas con propiedades insecticidas. *Agroproductividad* 1: 17-25.
- Roy, A., S. Saraf, 2006. Limonoids: overview of significant bioactive triterpenes distributed in plant kingdom. *Biological Pharmaceutical Bulletin* 29: 191-201.
- Schlösser, F. W., 1980. Preformed internal chemical defenses. In: Horsfall, J. G. and G. Cowling. (eds.). *Plant Disease*. Vol. V. Academic Press. NY. 161-177.

- Selitrennikoff, C. P., 2001. Antifungal proteins. *Applied and Environmental Microbiology*: 2883-2894.
- Senanayake, U. M., T. H. Lee, R. B. H. Wills, 1978. Volatile constituents of cinnamom (*Cinnamomum zeylanicum*) oils. *Journal of Agriculture Food Chemistry* 26: 822-824.
- Sepúlveda-Jiménez, G., H. Porta-Ducoing, M. Rocha-Sosa, 2003. La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21: 355-363.
- Slusarenko, A. J., Patel A., D. Portz, 2008. Control of plant diseases by natural products: allicin from garlic as a case study. *European Journal of Plant Pathology* 121: 313-322.
- Swain, T., 1978. Plant-animal coevolution; a synoptic view of the Paleozoic and mezoic. In: Harborne, J. B. (ed.). *Biochemical aspects of plant and animal coevolution*. Academic Press, London. 324 p.
- Tivy, J., 1995. *Biogeography, a study of plants in the ecosphere*. Essex, Longman House, Burnt Mill, Harlow. p 12.
- Tiznado-Hernández, M. E., R. Troncoso-Rojas, 2006. Control of fungal diseases with isothiocyanates. www.stewartpostharvest.com.
- Toledo, V. M., 1994. La Biodiversidad Biológica de México. Nuevos retos para la investigación en los noventas. *Ciencias* 34: 43-59.
- Vanetten, H. D., J. W. Mansfield, J. A. Bailey, E. E. Farmer, 1994. Two classes of plant antibiotics: phytoalexins versus "phytoanticipins". *Plant Cell* 6: 1191-1192.
- Verpoorte, R., 1998. Exploration of nature's chemodiversity: the role of secondary metabolites as leads in drug development. *DDT* 3: 232-238.
- Verpoorte, R., 2000. Secondary metabolism. In: Verpoorte, R. and Alfermann, A. W. (eds.). *Metabolic engineering of plant secondary metabolism*. Kluwer Academic Publishers. Dredrecht. pp. 1-29.
- Wagner, H., 1993. *Pharmazeutische biologie. 2. Drogen und ihre inhalstoffe*. Gustav Fisher Verlag. Stuttgart-New York. USA. 55-62.
- Weinhold, A. R., J. G. Hancock, 1980. Defense at the perimeter: extruded chemicals. In: Horsfall, J. G. and Cowling G. (Eds.). *Plant Disease*. Vol. V Academic Press. N. Y.: 121-137.
- Wilson, E. O., F. M. Peter, 1988. *Biodiversity*. National Academic Press. N. Y. USA. 439 p.
- Zangerl, R. A., F. A. Bazzaz, 1992. Theory and pattern in plant defense allocation. In: Fritz, R. S., E. L. Simms (eds.) *Plant resistance to herbivores and pathogens*. Ecology, Evolution and Genetics. University of Chicago Press. 345-362.