

PROTEÍNAS QUE DEFENDEN LAS PLANTAS¹

Yael Meller

En las infecciones por microorganismos, las plantas producen súbitamente ciertas proteínas llamadas «PR ». Los investigadores empiezan a comprender su función en los mecanismos de defensa de los vegetales.

Las plantas, fijadas en el suelo mediante las raíces, han de hacer frente a las agresiones del medio exterior. Los mecanismos de autodefensa que han desarrollado a lo largo de la evolución para protegerse del estrés de carácter físico, químico o biológico que las amenazas son cada vez más conocidos (véase «Las elicinas, aliadas de las plantas contra los parásitos». Mundo Científico, no 144, marzo 1994).

Entre las variadas respuestas de defensa, ⁽¹⁾ los biólogos muestran un interés creciente por ciertas proteínas sintetizadas por la planta cuando es atacada por un microorganismo patógeno. Se trata de unas proteínas solubles, de masa molecular escasa y de estructuras y composiciones diversas. Dado que aparecen en la planta en condiciones patológicas, se han agrupado bajo el nombre genérico de *Pathogenesis-Related*, proteínas PR o de patogenicidad. Algunas investigaciones recientes efectuadas en Carolina del Norte por el grupo de John Ryals han demostrado que una de estas proteínas induce directamente una protección contra hongos patógenos. ⁽²⁾

Otros trabajos, llevados a cabo sobre todo en el Instituto Weizmann, de Israel, ^(3,4) han descubierto el mecanismo mediante el cual los genes que determinan la producción de

estas proteínas se regulan gracias a diferentes sustancias, especialmente hormonas, que participan, por tanto, en el arsenal defensivo de las plantas. Objetivo de estos trabajos a plazo medio: mejorar la resistencia de las plantas ante ciertos patógenos sensibles a estas proteínas.

Una marcha atrás puede ayudarnos a comprender cómo se ha llegado a estos resultados. La infección por el virus VMT (virus del mosaico del tabaco) de hojas de tabaco resistentes a este patógeno ocasiona a la planta unas consecuencias inmutables que A.F. Ross, de Estados Unidos, puso de manifiesto en 1961. ⁽⁵⁾

Después de necrosis tisulares, que aparecen en el punto de impacto del virus, se sintetiza una serie de veinte proteínas PR. Esto hace que el vegetal adquiera un estado de resistencia a cualquier infección posterior por un virus de la misma familia (lobamovirus).

Un fenómeno de estas características ha sugerido, a partir de los años sesenta, la intervención directa de las proteínas PR en los mecanismos de defensa de la planta. Esta hipótesis ha sido objeto de numerosos estudios, pero sus conclusiones se basan generalmente en resultados obtenidos *in vitro* más que en experimentos directos sobre las plantas. El caso de algunas de estas proteínas ha sido particularmente estudiado *in vitro*. Son unas β -glucanasas o quitinasas

¹Mundo Científico No. 147 Vol. 14 Pag 582-583

cuyos sustratos son polisacáridos presentes en cantidades importantes en las paredes celulares de los hongos, así como, en el caso de la quitina, en el exoesqueleto de los insectos. Los trabajos de Angela Schlumbaum, Félix Mauch y sus colegas, de la universidad de Basilea, a finales de los años 1980, establecieron que estas proteínas pueden, *in vitro*, actuar en sinergia para provocar la lesión de los extremos de hongos filamentosos patógenos. ^(6,7) Su función *in vivo* como agente de resistencia ya había sido postulada, aunque sin aportación de ninguna demostración directa. Fue en 1990 cuando el equipo de K. Broglie, de la universidad Rutgers, de New Jersey, demostró que las quitinasas reducen los daños causados por el hongo *Rhizoctonia solani*, responsable de una enfermedad de la patata, el rizoctón. ⁽⁸⁾ En 1993, el equipo de John Ryals, del que forma parte investigadores de las empresas Calgene (California) y Ciba Agricultural Biotechnology (Carolina del Norte), demostró que algunos tabacos transgénicos sintetizadores de grandes cantidades de proteína PR-la se hacían resistentes al ataque de dos hongos patógenos (*Peronospora tabacina* y *Phytophthora parasitica*). ⁽²⁾ Sin embargo, la mayor parte de las proteínas PR, cuya función metabólica sigue siendo desconocida, se consideran generalmente como moléculas concomitantes del estado de estrés, aunque la relación causal entre este estado y el efecto de resistencia sigue siendo un misterio. También las sintetiza la planta sana sometida a estrés físico o químico, ya sea en todo el organismo vegetal, ya sea sólo en ciertos tejidos. Estos tipos de estrés pueden consistir en lesiones o en la exposición a la radiación ultravioleta a ciertas sustancias. Además, algunas proteínas PR están presentes en tejidos específicos durante ciertos periodos de desarrollo. Esta característica indica que también tienen importancia en los procesos fisiológicos de la planta sana. Por

tanto, el descubrimiento de cierto tipo de glucanasas en el estilo de las flores de tabaco sugiere que estas proteínas desempeñan una función en los mecanismos de la floración o de la reproducción sexual. ⁽⁹⁾

Una hormona, el etileno, producida durante las infecciones, estimula la síntesis de ciertas proteínas pr.

Estudiar los mecanismos de síntesis de las proteínas PR bajo el efecto de los estímulos exteriores es una buena manera de comprender las funciones exactas que desempeñan en la planta. En efecto, según la naturaleza de estas proteínas, la actividad de los genes que las especifican (genes PR) está inducida por diferentes tipos de estrés. Por ejemplo, después de una lesión, las hojas de tabaco sintetizan específicamente proteínas PR de tipo básico, mientras que una exposición a los ultravioleta induce más bien la síntesis de proteínas PR de tipo ácido. Entre los múltiples productos químicos inductores de la síntesis de proteínas PR, el ácido salicílico, un compuesto muy próximo a la aspirina del que se piensa que actúa como una señal natural de la expresión de los genes PR, ⁽¹⁰⁾ induce preferentemente la síntesis de proteínas de tipo ácido. En cuanto al etileno, una hormona vegetal estrechamente asociada a los estados de estrés de la planta y sintetizada súbitamente por el vegetal atacado por un patógeno, induce específicamente la síntesis de las proteínas PR de tipo básico. Así, el gen PRB-1b, aislado en 1990 en el laboratorio de Robert Fluhr, del Instituto Weizmann, especifica una proteína PR-1 de tipo básico, cuya síntesis se multiplica por 10000 en las hojas de tabaco infectadas por el VMT. En este instituto, Y. Eyal y sus colaboradores, han demostrado recientemente que se activa en diferentes órganos de la planta si ésta se halla expuesta a un flujo de etileno exterior, independientemente de la fase de desarrollo de la planta (véase la figura). ⁽³⁾

La regulación de la expresión de los genes PR tiene lugar a nivel de la transcripción del

DNA en RNA. En ella interviene, como en cualquier gen eucariota, la interacción específica de proteínas, llamadas factores de transcripción, con secuencias de DNA reguladoras situadas antes de la secuencia codificadora, en lo que se llama el promotor del gen. Respecto a los genes PR, los científicos han intentado identificar las secuencias reguladoras que intervienen en la respuesta a un tipo de inductor determinado, por ejemplo, el etileno o el ácido salicílico. Gracias a la utilización de una técnica de electroforesis, se pueden poner de manifiesto *in vitro* las interacciones entre proteínas y DNA, así como definir las secuencias de DNA implicadas.

En 1993, el equipo del Instituto Weizmann, al cual yo mismo pertenecía, identificó tres regiones distintas correspondiente a un promotor necesario para la expresión del gen PRB-1b y con las cuales interaccionan las proteínas.⁽³⁾ Uno de los emplazamientos implicados existe en todos los promotores de los genes que especifican las proteínas PR producidas en presencia de etileno. Esto sugiere que este emplazamiento del DNA tiene un papel funcional en la respuesta de las células al etileno.⁽⁴⁾ Nuestro grupo confirmó esta hipótesis al demostrar que su modificación por mutagénesis dirigida en tabacos transgénicos reduce la respuesta al etileno. Otros estudios de este tipo permitirán, en un futuro próximo, descubrir nuevos factores de transcripción, especialmente los que interaccionan con las secuencias de DNA implicadas en la síntesis de las proteínas PR. Durante los últimos años, se han identificado en las plantas unos cuarenta genes que codifican factores de transcripción. Pero, al contrario de lo que ocurre en el mundo animal, sólo pocos de ellos han podido identificarse como agentes reguladores de las reacciones fisiológicas.

Estos trabajos son importantes, ya que la síntesis de las proteínas PR y su regulación forman parte del arsenal de las

respuestas moleculares provocadas por la invasión microbiana en una planta resistente. Una vez descubiertos totalmente los mecanismos moleculares que rigen la puesta en marcha de la síntesis de estas proteínas, sin duda podrán desarrollarse, especialmente gracias a plantas transgénicas, métodos destinados a estimular a todos los mecanismos que intervienen en las reacciones de defensa. Evidentemente, con ello se abrirá el camino hacia un mejor control de la resistencia de los vegetales a las enfermedades.

- (1) C.G. Lamb et al., Cell, 56, 215, 1989.
- (2) D. Alexander et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90, 7327, 1993.
- (3) Y. Eyal et al., Plant Journal, 4, 225, 1993.
- (4) Y. Meller et al., Plant Molec. Biol., 23, 453, 1993.
- (5) A.F. Ross, Virology, 14, 329, 1961.
- (6) A. Schlumbaum et al., Nature, 324, 365, 1986.
- (7) F. Mauch et al., Plant Cell. I., 447, 1988.
- (8) D. Roby et al, Plant Cell, 2, 999, 1990.
- (9) N. Ori et al., Embo J., 9, 3429, 1990.
- (10) J. Malamy et al., Science, 250, 1002, 1990.