

DEFENSIVE MECHANISMS OF PLANTS BASED ON SECONDARY METABOLITES

Diana Ioana ALEXAN , Nicoleta IANOVICI

West University of Timisoara, Faculty of Chemistry, Biology, Geography, Department of Biology-Chemistry, Pestalozzi 16, Timișoara

*Corresponding author e-mail: diana.alexan98@e-uvt.ro

Received 18 December 2018; accepted 27 December 2018

ABSTRACT

The plants are surrounded, in any environment, by biotic and abiotic stressors. In order to protect themselves from the attack of herbivorous, fungal or bacterial infections, they synthesize secondary metabolites. The secondary metabolites may be terpenes, phenolic compounds or compounds containing N and S derived directly from amino acids. The content of this review about defensive byproducts aims to classify and explain the role and mechanism of their operation.

KEY WORDS: *secondary metabolites, terpenes, phenolics, defense mechanism, phytoalexins, environmental stress.*

INTRODUCERE

În orice ecosistem, plantele sunt expuse stresului și daunelor provocate de factorii de mediu biotici și abiotici. Dăunători precum virusurile, bacteriile, ciupercile sau consumatorii, insectele și mamiferele erbivore sunt cauza principală a micșorării ratei de succes a culturilor vegetale. Pentru a se proteja de acești factori, plantele sintetizează metaboliți secundari. La plantele superioare, metaboliții secundari sunt substanțe sintetizate din cei primari (carbohidrați, lipide și aminoacizi) (Ramakrishna & Gokare, 2011; Grudnicki & Ianovici, 2014). Aceste substanțe cu rol de apărare sunt: terpene, compuși fenolici, alcaloizi, steroli, compuși cu azot și sulf.

Cel mai frecvent, o varietate de factori de stres atacă planta simultan, așadar metaboliții secundari nu sunt produși specifici împotriva unui anumit patogen, ci în funcție de necesitatea de a rezista mai multor pericole. Așadar, pe lângă componenta de apărare cu ajutorul acestor metaboliți, se realizează și formarea de bariere din polimeri contra agenților patogeni sau sinteza unor enzime ce au capacitatea de a degrada peretele celular al patogenilor (Hammond et al., 1996). După eliminarea unei prime infecții, plantele dobândesc adesea imunitate pentru a suporta atacuri microbiene ulterioare (Putnam & Heisey, 1983; Putnam & Tang, 1986; Ianovici, 2011).

Produsele naturale ale plantelor le protejează împotriva prădătorilor și a patogenilor, împotriva stresului abiotic (raze UV, variații ale temperaturii, alcalinitatea sau aciditatea solului, salinitatea), dar le și facilitează procesele de comunicare cu alte plante. Metaboliții secundari contribuie și la formarea unor caracteristici ale plantelor, cum ar fi gust, miros sau culoare specifică (Ravishankar & Venkataram, 1990). Pe de altă parte, sunt neutilizabili pentru creștere și dezvoltare. Mai mult, este cunoscut faptul că sinteza de metaboliți secundari este foarte costisitoare, reducând capacitatea de creștere și înmulțire, sau că toxinele acestora ar putea afecta inclusiv planta care le produce și mediul înconjurător (Gershenzon, 1994). O modalitate de a scădea costurile energetice ar fi ca biosinteza substanțelor defensive să se inițieze după atacul patogenilor sau a consumatorilor. Riscul acestei strategii este faptul că atacul poate fi mult prea rapid sau efectele lui prea devastatoare pentru ca planta să se mai poată apăra (Ianovici et al, 2012).

Compușii care au efect negativ asupra dezvoltării, înmulțirii sau supraviețuirii altor organisme străine au toți statutul de toxine, cu rol în mecanismele de apărare (Gershenzon & Wittstock, 2002). Aceștia pot fi metaboliți secundari care reprezintă substanțe constitutive, numite fitoanticipine, sau induse, noi formate ca răspuns imun, numite fitoalexine. Fitoanticipinele sunt considerate prima barieră împotriva patogenilor, fitoalexinele fiind sintetizate ulterior, proces care poate dura câteva zile după inițierea atacului (Grayer & Harborne, 1994).

În continuare, vom descrie tipurile de metaboliți secundari și rolul fiecăruia asupra mecanismelor de apărare împotriva factorilor de mediu biotici și abiotici. Metaboliții pot fi împărțiți pe grupuri variate, în funcție de compoziția lor chimică, acțiunea defensivă, sau locul de depozitare la nivelul organelor vegetale. Compoziția chimică îi clasifică în 3 clase mari: produși care conțin terpene, care conțin fenoli și cei care conțin azot și sulf.

Terpenele

Reprezintă cea mai mare clasă de compuși secundari de apărare și acționează împotriva atacului insectelor și mamiferelor erbivore, constituind toxine pentru acestea. Aceste substanțe sunt compuse din unități 5-C izopentanoice, biosinteza lor realizându-se din acetyl-coA și intermediari glicolitici (Gershenzon et al., 1991; Grayson, 1998; Fraga, 1988; Croteas, 1988; Loomis & Croteas, 1980; Robinson, 1980). Terpenele se împart în 5 subclase: monoterpene, sesquiterpene, diterpene, triterpene, politerpene.

Monoterpenele (C₁₀) constituie agenți toxici pentru insecte. Esterii monoterpeni, numiți piretroide, se localizează în frunzele și florile unor specii ale genului *Chrysanthemum*. Aceștia au acțiune de neurotoxină la viespi, molii sau gândaci și sunt folosiți în insecticide comerciale datorită efectului negativ

minim pe care îl au asupra mediului și mamiferelor (Turlings et al., 1995). Monoterpenele sunt prezente și la specii de pinofite (brad, pin) acumulate în canalele de rășină din frunze și trunchiuri. La aceste gimnosperme, terpenele se găsesc sub formă de: limonen, myrecen, α și β -pinen (Turlings et al., 1995).

Sesquiterpenele (C15) reprezintă esteri ciclici care protejează plantele de diverși patogeni, de insecte și mamifere erbivore (Picman, 1986). Un complex de 4 fitoalexine sesquiterpene a fost identificat într-o plantă de bumbac rezistentă la infecția cu *Verticillium dahliae* (Garas & Waiss, 1986).

Diterpenele (C20), cum ar fi acidul abietic, prezent în canalele secretoare ale pinilor și ale unor pomi fructiferi, descurajează chimic hrănirea insectelor ce perforează canalele (Bardley et al., 1992). Forbolul, ester diterpenic întâlnit la Euphorbiaceae, produce iritații cutanate și intoxicații interne mamiferelor consumatoare. Diterpenele pot avea și efecte pozitive directe asupra funcțiilor plantei care le conține. Astfel, fitolul din clorofilă sporește eficiența procesului de fotosinteză prin fixarea optimă a CO₂ și producerea maximă de biomasă (Jagendorf, 1967).

Triterpenele (C30), reprezentate de steroli, au un rol important în menținerea permeabilității moleculelor mici la nivelul plasmalemei, deoarece scad mișcările lanțurilor de acizi grași (Mazid et al., 2011). Triterpena numită limnoid este un complex de substanțe amare, prezent la citrice. Acesta intoxica erbivorele (Mordue & Blackwell, 1993).

Politerpenele ((C5)_n) au greutate moleculară mare. Din această subclasă fac parte tetraterpenele. Pigmenții carotenoizi și cauciucul sunt astfel de tetraterpene, acțiunea lor oferind protecție plantelor și o bună funcționare a proceselor metabolice. Cauciucul localizat în canalele laticifere vindecă rănilor produse la nivelul organelor plantei și o apără de erbivore (Eisner et al., 1995; Klein, 1987).

Compușii fenolici

Este cunoscut faptul că producția de compuși fenolici cu rol în apărarea plantelor este strâns corelată și direct proporțională cu cantitatea de lumină la care sunt expuse organismele vegetale (Chalker & Fenchgami, 1989). De asemenea, cantitatea de ozon din atmosferă susține și ea biosinteza acestora (Saviranta et al., 2010).

Cumarinele sunt compuși fenolici simpli, cu acțiune împotriva erbivorelor și fungilor. Derivate din acidul shikimic (Murray et al., 1982), sunt foarte active și au o mare putere antimicrobiană, protejând plantele de bacterii și fungi (Brooker et al., 2008). Derivații lor halogenați sunt folosiți în explorarea de noi compuși cu activitate antifungică, datorită comportamentului pesticid. Astfel, cumarinele 7-hidroxilate simple au acțiune defensivă contra parazitului

Orobanche cernua, inhibând germinarea acestuia și oprindu-i comunicarea vasculară la nivelul rădăcinii gazdei (Serghini et al., 2001).

Furano-cumarinele sunt răspândite în cadrul familiei Apiaceae (morcov, țelină etc.) și nu reprezintă toxine. Aceste substanțe sunt activate de razele ultraviolete de tip A, pătrund în interiorul moleculei de ADN a patogenilor, blocând procesul de transcriere și omorându-i, în final, celulele (Rice, 1987).

Lignina este un polimer fenolic, având ca precursori monomeri 3 alcooli: coniferil, cumaril și sinapil, distribuția cantității lor individuale fiind diferită atât de la o plantă la alta, cât și în compoziția aceluiași perete celular (Lewis & Yamamoto, 1990). Protecția oferită de această substanță constă în duritatea pe care o imprimă pereților celulari ai celulelor vegetale, îngreunând hrănirea erbivorelor. Lignina este, de asemenea, nedigerabilă pentru anumite insecte și animale (Mader & Fisher, 1982). Lignificarea plantelor reprezintă și un răspuns în urma infecțiilor și al rănirii lor (Ianovici, 2010).

Flavonoidele sunt derivați fenolici care nu îndeplinesc rolul de toxine, ci susțin planta îndeplinind funcții de pigmentare și apărare împotriva razelor UV dăunătoare, cele de tip B. Flavonele și flavonolii se acumulează la nivelul epidermei, absorbind, astfel, lungimile de undă vizibile și neîntrerupte ale razelor UV-B (Lake et al., 1983).

Isoflavonoidele sunt derivate din naringerină, un intermediar al flavonolului. Biosinteza și prezența lor în plantele leguminoase are rolul de a ajuta la formarea nodulilor de fixare ai azotului la nivel radicular, fixare realizată prin simbioza cu genul bacterian *Rhizobium* (Sreevidya et al., 2006).

Taninurile sunt polimeri fenolici, toxici, care au efect de respingere pentru multe erbivore. Datorită capacității acestor metaboliți de a lega proteinele, intră în contact cu acelea din saliva consumatorilor animalii și oferă o senzație neplăcută, înțepătoare și astringentă la nivelul cavității lor bucale. Astfel, erbivore precum bovine, ovine sau căprioare evită plantele cu conținut crescut de taninuri (Oates et al., 1980; Faur & Ianovici, 2004).

Metaboliții care conțin sulf

Derivați din aminoacizi, sunt cunoscuți pentru acțiunea lor antimicrobiană. Din această clasă fac parte: glutatationul, glucosinolații, fitoalexinele, defensinele, tioninele și lectinele.

Glutatationul (GSH) este o tripeptidă și aduce în plante o cantitate considerabilă de sulf organic. Este considerat un rezervor mobil de sulf, cu rol în creșterea și dezvoltarea plantelor (Kang et al., 2007). Acțiunea lui antioxidantă este prezentă ca răspuns la stresul oxidativ. Unele plante conțin celule specializate cu activitate enzimatică pentru biosinteza glutatationului și a altor fitochelatine, toate fiind benefice detoxifierii în urma acumulării metalelor grele (Gutierrez-Alcala et al., 2000). GSH-ul funcționează și ca mesager

referitor la informații despre atacurile fungice, acesta acumulându-se rapid în urma acestora. Astfel, informația se transmite și țesuturilor neinfectate (Foyer & Rennenberg, 2000).

Glucosinolații (GSL) reprezintă un grup de glucozide acumulate în plantele superioare din familia Brassicaceae (muștar, varză, ridichi etc.), pe care le apără împotriva consumatorilor și paraziților. Acești metaboliți sunt eliberați ca substanțe volatile, toxice și neplăcute pentru prădători (Mitchen, 1992). Mirosurile volatile din GSL sunt catalizate de mirosinază, rezultând în urma scindării glucozei, produse pungente, izotiocianați și nitrili, care irită mucoasele animalelor.

Fitoalexinele sunt metaboliți secundari sintetizați în urma unui atac fungic sau bacterian, sau în urma unui stres determinat de agenții patogeni (Van Etten et al., 1994). Fitoalexinele familiei Brassicaceae au ca structură deosebită un sistem inelar (indol) și un atom de sulf. Acestea sunt sintetizate de plantele din familia Brassicaceae (Gross et al., 1993), dar sunt produși diferiți față de glucosinolații caracteristici aceleiași familii (Harborne, 1999).

Defensinele, tioninele și lectinele sunt proteine ale plantelor. Acestea nu au ca rol acumularea de sulf organic, la fel ca metaboliții mai sus menționați, însă acționează ca inhibitori pentru game largi de ciuperci. (Thomma et al., 2002). Defensinele au atât rol antifungic, cât și antibacterian. Tioninele sunt răspunzătoare de acțiuni împotriva infecțiilor, prin acumularea acestora în peretele celular al celulelor din vârfurile de grâu infectate cu *Fusarium culmorum*. Lectinele sunt proteine care se leagă de anumiți carbohidrați. Acțiunea lor defensivă se manifestă după ingerare, când blochează absorbția nutrienților la nivelul sistemului digestiv al consumatorilor (Peumansend Van Damme, 1995).

Metaboliții care conțin azot

Acești metaboliți sunt derivați din aminoacizi obișnuiți și au rol de toxine. Aparțin acestei clase: alcaloizii, glucozidele cianogene și aminoacizii neproteici.

Alcaloizii sunt răspândiți în proporție de 20% la plantele vasculare, în special la dicotiledonatele ierboase, fiind mai puțin întâlniți la gimnosperme și monocotiledonate (Hegnauer et al., 1988). Acești metaboliți secundari sunt sintetizați din acidul aspartic, lizină, tirozină și triptofan, toți fiind aminoacizi naturali (Pearce et al., 1991). Alcaloizii determină cele mai multe decese în rândul mamiferelor, deoarece ingestia plantelor ce îi conțin, cum ar fi genul *Lupinus* și *Delphinium* are urmări extrem de toxice (Keeler, 1975). Aceștia ori interferează cu neurotransmițătorii consumatorilor, ori afectează funcții vitale, precum sinteza proteinelor sau transportul membranelor (Creelman & Mullet, 1997).

Glicozidele cianogenice eliberează acid cianhidric și acid sulfhidric, substanțe otrăvitoare sub formă volatilă, în momentul în care plantele care le conțin sunt zdrobite. Sunt frecvente în rândul familiilor Poaceae, Rosaceae și Fabaceae (Seigler, 1991). Exemple de astfel de substanțe ar fi: amigdalina prezentă în semințele caiselor, piersicilor, cireșelor și durina din *Sorghum bicolor*. Fasolea neagră (*Phaseolus lunatus*) este cunoscută ca plantă model în studiile producției de metaboliți secundari datorită capacității impresionante de cianogeneză pe care o are (Ballhorn et al., 2009).

Aminoacizii non-proteici sunt ori încorporați în proteine, ori existenți ca produși defensivi în formă liberă (Johnson et al., 1989). Odată ingerați, se leagă de proteine existente în sistemul erbivorelor, ducând la formarea de proteine nefuncționale (ex.: canavanina se leagă de arginină).

CONCLUZII

În acest material au fost descrise mecanismele de apărare ale plantelor împotriva patogenilor, consumatorilor și factorilor abiotici, realizate pe baza biosintezei de metaboliți secundari.

Deși această sinteză consumă mult din resursele organismelor vegetale, ea este extrem de folositoare, protejând chimic plantele de pericolele naturale, îmbunătățind unele funcții, contribuind, astfel, la longevitatea lor.

BIBLIOGRAFIE

- Bennett RN, Wallsgrave RM. 1994. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. 127:617-33.
- Ballhorn DJ, Kautz S, Heil M, Hegeman AD. 2009. Cyanogenesis of wild lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) is an efficient direct defence in nature. *Plant Signaling and Behavior*, 4(8): 735-745.
- Chalker-Scott L, Fenchigami LH. 1989. The role of phenolic compounds in plant stress responses. In: Paul HL, Ed. *Low temperature stress physiology in crops*. Boca Raton, Florida: CRC Press Inc.
- Creelman RA, Mullet JE. 1997. Biosynthesis and action of jasmonates in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 48: 355-381.
- Eisner T, Meinwald J, 1995. *Chemical ecology: The chemistry of biotic interaction*. Eds, National Academy Press, Washington, DC.
- Faur A., Ianovici N. 2004. *Practicum de fiziologie vegetală*, Ed. Mirton, Timișoara, 102 p.
- Fraga BM, 1988. Natural sesquiterpenoids. *Natural Product Reports*, 5: 497-521.
- Garas NA, Weiss AC. 1986. Differential accumulation of antifungal sesquiterpenoids in cotton stems inoculated with *Verticillium dahliae*. *Phytopathology* 76: 1011-1017.
- Gershenzon J, Croteau R. 1991. Terpenoids. In *Herbivores their interaction with secondary plant metabolites*, Vol I: The chemical participants, 2nd ed., G.A. Rosenthal and M.R. Berenbaum, eds, Academic press, San Diego, pp: 165-219.
- Gershenzon J. 1994. Metabolic costs of terpenoid accumulation in higher plants. *J Chem Ecol*, 20:1281-1328
- Grayer RJ, Harborne JB. 1994. A survey of antifungal compounds from higher plants 1982– 1993. *Phytochemistry*, 37: 19-42.
- Grayson DH. 1998. Monoterpenoids. *Natural Product Reports*, 5: 497-521.
- Gross D, Porzel A, Schmidt J. 1994. Phytoalexine mit Indolstruktur aus Kohlrabi [Phytoalexins with indole structure from Kohlrabi]. *Zeitschrift für Naturforschung*, 49(5–6): 281–285.

- Grudnicki M., Ianovici N. 2014. *Noțiuni teoretice și practice de Fiziologie vegetală*, Ed. Mirton, Timișoara, 289 p., ISBN 978-973-52-1490-6
- Hammond-Kosack KE, Jones JDG. 1996. Resistance gene dependent plant defence responses. *Plant Cell*, 8: 1773-1791.
- Hegnauer R. 1988. Biochemistry, distribution and taxonomic relevance of higher plant alkaloids. *Phytochemistry*, 27: 2423-2427.
- Ianovici N. 2010. *Citohistologie și morfoanatomia organelor vegetative*, Ed. Mirton, Timișoara, 385 p.
- Ianovici N. 2011. Histoanatomical and ecophysiological studies on some halophytes from Romania - *Plantago schwarzenbergiana*, *Annals of West University of Timișoara*, ser. Biology, 14: 53-64
- Ianovici N., Ciocan G.V., Matica A., Scurtu M., Șesan T.E. 2012. Study on the infestation by *Cameraria ohridella* on *Aesculus hippocastanum* foliage from Timișoara, Romania, *Annals of West University of Timișoara*, ser. Biology, XV (1): 67-80
- Jagendorf AT. 1967. Acid base transition and photophosphorylation by chloroplast. *Federation Proceedings*, 26: 1361-1369.
- Johnson R, Narvaez J, An G, Ryan C. 1989. Expression of proteinase inhibitors I and II in transgenic tobacco plants: Effects on natural defence against *Manduca sexta* larvae. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 86: 9871-9875.
- Kang SY, Kim YC. 2007. Decursinol and decursin protect primary cultured rat cortical cells from glutamate-induced neurotoxicity. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 59(6): 863-870.
- Keeler RF. 1975. Toxins and teratogens of higher plants. *Lloydia*, 38: 56-86.
- Klein RM. 1987. *The green world: An introduction to plants and people*. New York: Harper and Row.
- Lake JA, Field KJ, Davey MP, Beerling DJ, Lomax BH. 2009. Metabolomic and physiological responses reveal multi-phasic acclimation of *Arabidopsis thaliana* to chronic UV radiation. *Plant, cell & environment*, 32(10): 1377-1389.
- Lewis NG, Yamamoto E. 1990. Lignin: Occurrence, biogenesis and biodegradation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 41: 455-496.
- Mithen R. 1992. Leaf glucosinolate profiles and their relationship to pest and disease resistance in oilseed rape. *Euphytica*, 63: 71-83.
- Mordue AJ, Blackwell A. 1993. Azadirachtin: an update. *Journal of Insect Physiology*, 39: 903-924.
- Murray RDH, Mendez J, Brown SA. 1982. *The natural coumarins*, Wiley, New York.
- Oates JF, Waterman PG, Choo GM. 1980. Food selection by the south Indian leaf-monkey, *Presbytis johnii*, in relation to leaf chemistry. *Oecologia*, 45: 45-56.
- Pearce G, Strydom D, Johnson S, Ryan CA. 1991. A polypeptide from tomato leaves induces wound inducible proteinase inhibitor proteins. *Science*, 253: 895-898.
- Peumans WJ, Van Damme EJM. 1995. Lectins as plant defence proteins. *Plant Physiology*, 109: 347-342.
- Picman AK. 1986. Biological activities of sesquiterpene lactones. *Biochemical systematics and Ecology*, 14: 255-281.
- Putnam AR, Heisey RM. 1983. Allelopathy chemical interaction between plants. *What's New in Plant Physiology*, 14: 21-24.
- Putnam AR, Tang CS. 1986. *The science of allelopathy*, Wiley New York.
- Ramakrishna Akula & Gokare Aswathanarayana Ravishankar. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants, *Plant Signaling & Behavior*, p. 1720-1731
- Ravishankar GA, Venkataraman LV. 1990. Food applications of plant cell cultures. *Curr Sci*; 57:381-3
- Rice EL. 1984. *Allelopathy*, second edition. Academic Press, New York.
- Savirata NM, Jukunen-Titto R, Oksanen E, karjalainen RO. 2010. Leaf phenolic compounds in red clover (*Trifolium Pratense* L.) induced by exposure to moderately elevated ozone. *Environmental Pollution*, 158(2): 440-446.
- Seigler DS. 1981. Secondary metabolites and plant systematic. Conn EE (ed), *The biochemistry of plants*, Vol 7. Secondary plant products. Plenum, New York and London, pp: 139-176.
- Serghini K, Perez De Luge A, Castejon MM, Garcia TL, Jorin JV. 2001. Sunflower (*Helianthus annuus* L.) response to broomrape (*Orobancha cernua* loefl.) parasitism: induced synthesis and excretion of 7-hydroxylated simple coumarins. *Journal of Experimental Botany*, 52: 227-234.

ALEXAN & IANOVICI: Defensive mechanisms of plants based on secondary metabolites

- Sreevidya VS, Srinivasa RC, Rao C, Sullia SB, Ladha JK, Reddy PM. 2006. Metabolic engineering of rice with soyabean isoflavone synthase for promoting nodulation gene expression in rhizobia. *Journal of Experimental Botany*, p. 1957-1969.
- Thomma BPHJ, Cammue BPA, Thevissen K. 2002. Plant defenses. *Planta*, 216(2): 193–202.
- Turlings TCJ, Loughrin JH, McCall PJ, Roese USR, Lewis WJ, Tumlinson JH. 1995. How caterpillardamaged plants protect themselves by attracting parasitic wasps. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the USA*, p. 4169-4174.
- Wittstock U, Gershenzon J. 2002. Constitutive plant toxins and their role in defense against herbivores and pathogens. *Current Opinion in Plant Biology*, p. 1369-1386.
- Van Etten HD, Mansfield JW, Bailey JA, Farmer EE. 1994. Two classes of plant antibiotics: Phytoalexins versus “phytoanticipins”. *Plant Cell*, p. 1191-1192.