

FUNCIÓN DE LA PARED CELULAR DEL MAÍZ (*ZEAMAYS* L.) COMO MECANISMO DE DEFENSA FRENTE A LA PLAGA DEL TALADRO (*OSTRINIA NUBILALIS* HÜB. Y *SESAMIA NONAGRIOIDES* LEF.)*

Jaime Barros-Ríos, Rosa A. Malvar, Rogelio Santiago

Misión Biológica de Galicia (CSIC), Apartado 28, E-36080, Pontevedra, España.
Correo E: jbarros@mbg.csic.es

RESUMEN

El cultivo del maíz (*Zea mays* L.) figura como uno de los más importantes del mundo y la plaga del taladro (*Ostrinia nubilalis* Hüb. y *Sesamia nonagrioides* Lef.) es el factor biótico que mayores pérdidas provoca en su producción. El mejoramiento genético convencional es una alternativa efectiva y ampliamente utilizada para controlar los daños ocasionados por esta plaga. Desarrollar programas de mejoramiento genético eficaces requiere caracterizar y entender las causas de la resistencia. Dentro de los diversos mecanismos de defensa constitutivos del maíz, la estructura y composición de la pared celular han tenido un creciente interés científico en los últimos años. Hay evidencias de que las uniones entre polímeros de la pared mediante enlaces por puentes diferúlicos ejercen un papel determinante en la resistencia del maíz a la plaga del taladro. El presente trabajo revisa el conocimiento actual acerca de la estructura y composición de la pared celular del maíz como mecanismo de defensa frente a la plaga del taladro.

ABSTRACT

Maize (*Zea mays* L.) is one of the most important crops in the world, while corn borers (*Ostrinia nubilalis* Hüb. and *Sesamia nonagrioides* Lef.) are the biotic factor that more losses cause on its production. Classical breeding is an effective and widely used alternative for controlling damage caused by this pest. Developing effective breeding programs requires the understanding of resistance strategies underlined by the pest. Among the different maize constitutive defense mechanisms the cell wall structure and composition have been a rising scientific interest in the last years. There is evidence that cross linking between cell wall polymers through diferulates plays a key role in maize resistance to corn borers. The present work reviews the current knowledge on maize cell wall structure and composition as a defense mechanism against corn borers.

LA PLAGA DEL TALADRO DE MAÍZ

El maíz, *Zea mays* L., forma parte de la alimentación base de personas y es ampliamente usado como materia prima en procesos industriales. Junto con el trigo y el arroz, es uno de los cereales de mayor importancia a nivel mundial. Su producción y conservación están limitadas por

factores bióticos, siendo la plaga del taladro la que mayores pérdidas provoca a nivel mundial. Los principales insectos causantes de esta plaga en las zonas templadas del hemisferio norte son el taladro Europeo (TE), *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera: Crambidae) y el taladro Mediterráneo (TM), *Sesamia nonagrioides* Lefèbvre (Lepidoptera: Noctuidae) (Figs. 1A y 1B). Los adultos

PALABRAS

CLAVE:

Zea mays;
Ostrinia nubilalis;
Sesamia nonagrioides;
Resistencia;
Pared celular;
Ácido diferúlico.

KEY WORDS:

Zea mays;
Ostrinia nubilalis;
Sesamia nonagrioides;
Resistance;
Cell wall;
Diferulic acid.

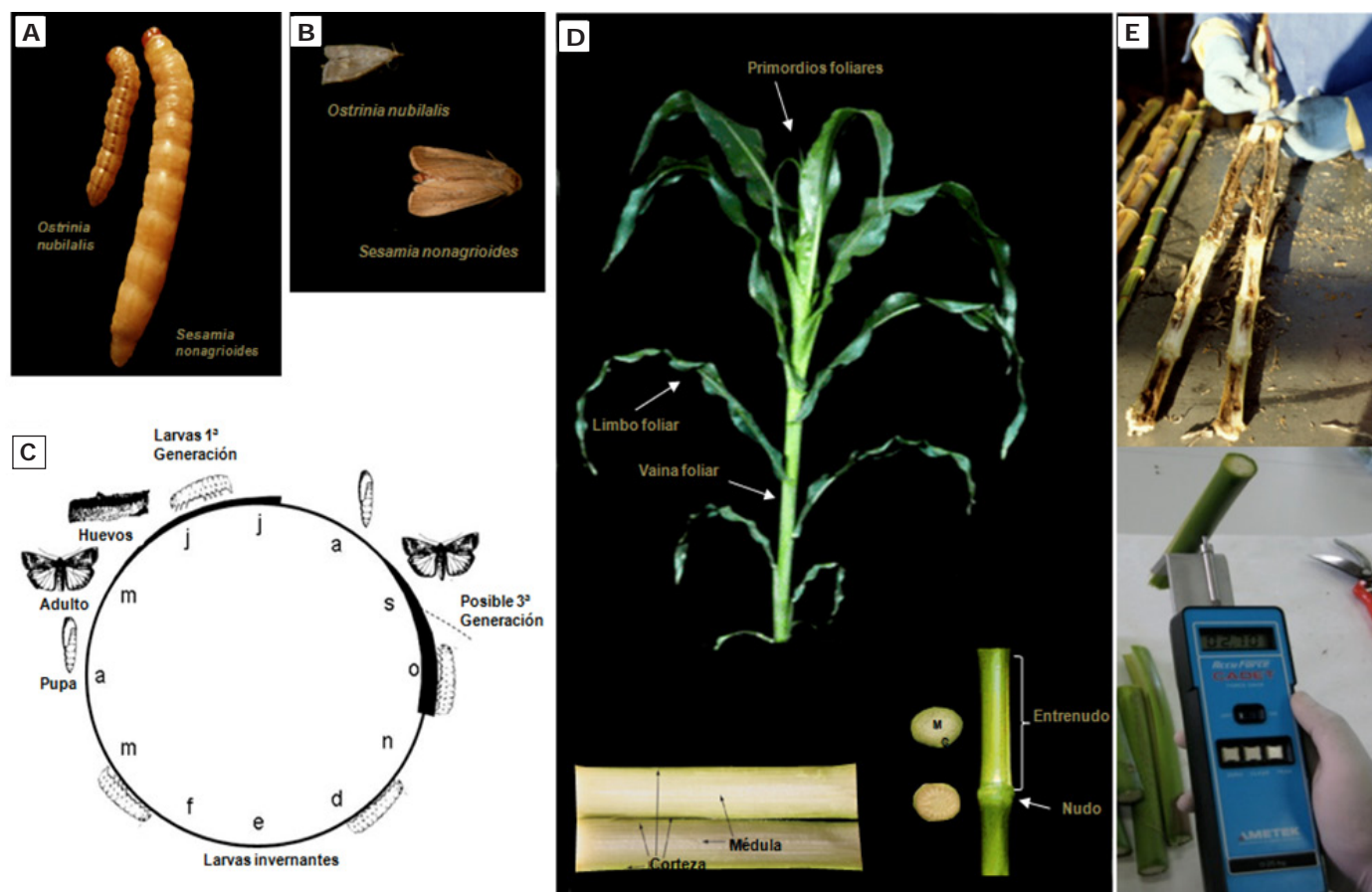
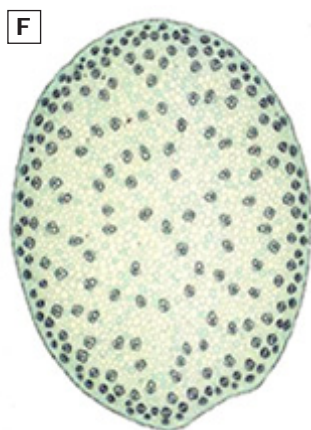


Figura 1. Larva (A), adulto (B) y ciclo biológico (C) de las especies de taladro estudiadas. Anatomía de una planta de maíz indicando algunos de los órganos/ tejidos de alimentación de las larvas (D). Medición del daño causado por las larvas del taladro (galerías) y de la resistencia a la penetración del tallo (E). Sección transversal del tallo de maíz y su composición de la pared celular primaria y secundaria aproximada.



	Pared Celular Primaria	Pared Celular Secundaria
Celulosa	23-30%	35-45%
Hemicelulosas		
GAX	20-40%	40-50%
β-Glucanos	10-30%	Menor
Pectinas	5%	0.1%
Lignina	Menor	20%
Ácidos hidroxicinámicos	1-5%	0.5-1.5%
Proteínas	1%	Menor

procedentes de las larvas invernantes empiezan a volar entre abril y junio y los de la primera generación entre julio y septiembre (Fig. 1C). Tras el apareamiento distribuyen sus puestas en las hojas, la eclosión de los huevos se produce aproximadamente 10 días después de la oviposición y las larvas de primera generación pueden alimentarse del limbo o las vainas de las hojas hasta su penetración en el tallo (Fig. 1D). Los daños de la primera generación de larvas se dan

en plantas de maíz jóvenes y el ataque de esta generación no suele ser importante. Los adultos de las demás generaciones buscan las plantas maduras más atractivas, particularmente aquellas que están en torno a la floración. Las larvas de la segunda generación perforan las plantas de maíz plenamente desarrolladas y excavan galerías longitudinales (Fig. 1E). Se destruye la médula y muchas veces perforan los nudos, con lo cual la planta, a falta de savia, permanece raquítica y el

rendimiento disminuye. Además, estos orificios hacen que la planta entera sea más susceptible a la rotura del tallo (encamado), así como al ataque de otros insectos o microorganismos.

MECANISMOS DE DEFENSA DEL MAÍZ FRENTE A LOS TALADROS

El control de la plaga del taladro se ha planteado mediante diversos métodos, entre ellos, la utilización de insecticidas, la lucha biológica (uso de parasitoides o confusión sexual), la modificación de las prácticas agronómicas y el control genético, ya sea con resistencias monogénicas (transgenes) o poligénicas (mejoramiento genético convencional) (Fig. 2). El mejoramiento genético convencional se perfila como una medida eficaz y con buena aceptación social a la hora de combatir el ataque de los taladros. Optimizar el desarrollo de nuevas variedades requiere entender y caracterizar los mecanismos de defensa natural del maíz frente a la plaga del taladro. Estos mecanismos han sido tradicionalmente divididos en estáticos o defensas constitutivas y activos o defensas inducidas. Los mecanismos de defensa constitutivos están

integrados por aquellos compuestos que la planta sintetiza, acumula y almacena durante el proceso de desarrollo normal, de esta forma, cuando la planta es atacada dispone de los medios para disuadir o matar al herbívoro. A diferencia de los mecanismos constitutivos, los mecanismos inducidos son aquellos en los que la síntesis de los compuestos de defensa es en respuesta al ataque del insecto. Dentro de los mecanismos de defensa inducidos en el maíz se ha estudiado la acumulación de metabolitos tóxicos o repelentes e inhibidores nutricionales como respuesta directa al ataque de la plaga de los taladros en el maíz, así como la atracción de enemigos naturales o la comunicación planta-planta como respuestas indirectas. En relación a los mecanismos de defensa constitutivos se han estudiado metabolitos repelentes o atrayentes por contacto o volátiles y compuestos antibióticos (proteínas, benzoxaciononas, ácidos fenólicos solubles), así como diferentes caracteres morfológico-estructurales de la planta (altura, dureza del tallo y de las hojas o presencia de tricomas)(1). Además, existe un interés científico creciente en el estudio de la estructura y composición de la pared celular (PC) como uno de los mecanismos de defensa cons-

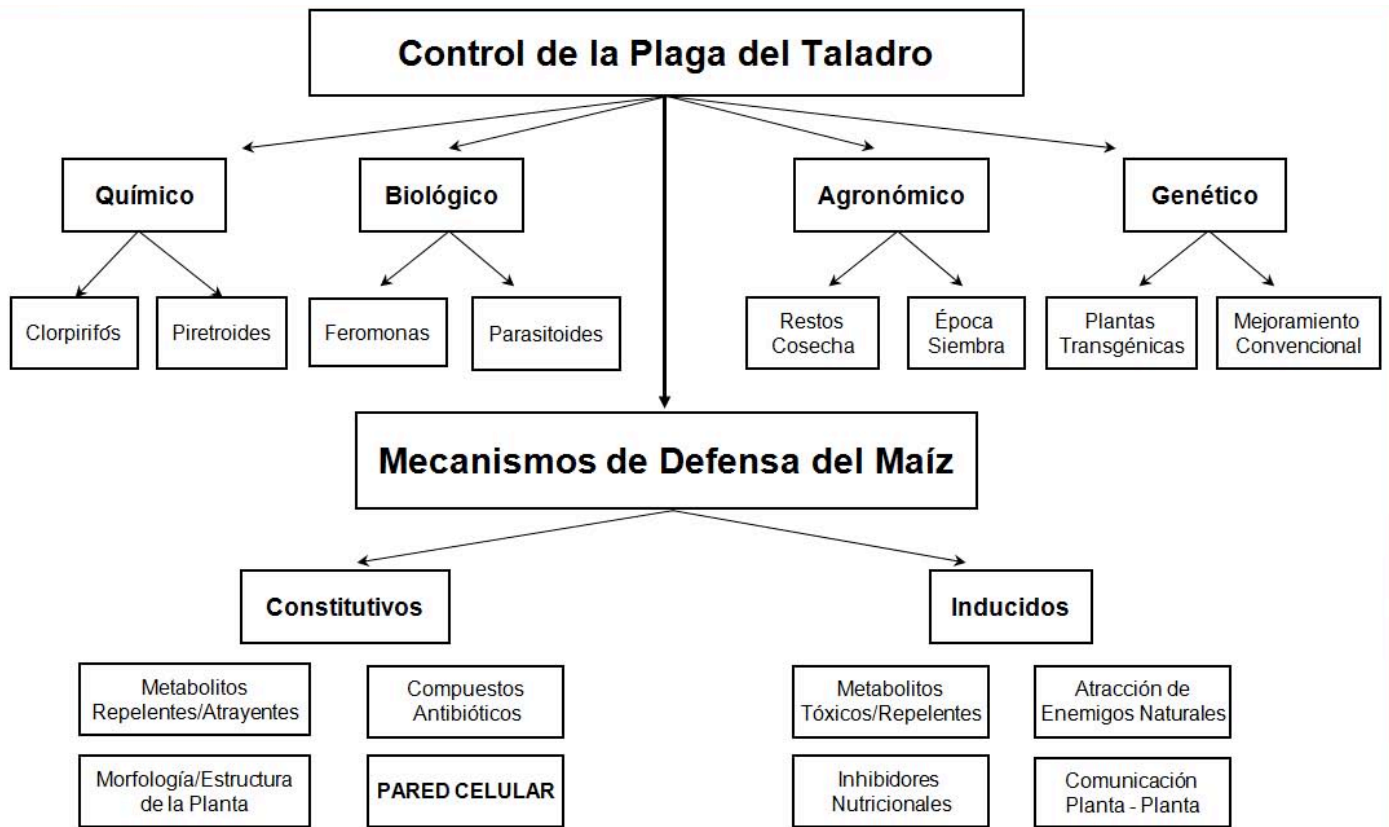


Figura 2. Métodos de control y mecanismos de defensa del maíz frente a la plaga del taladro.

titutivos estructurales más prometedores frente al ataque de la segunda generación de las larvas de la plaga del taladro.

LA PARED CELULAR. ESTRUCTURA, COMPOSICIÓN Y BIOSÍNTESIS

En la familia de las gramíneas que comprende los cereales, entre ellos el maíz, la pared celular (PC) primaria está compuesta por microfibrillas de celulosa encajadas en una matriz de hemicelulosa (principalmente glucuronoarabinosilanos (GAX), y β -glucanos con enlaces mixtos), compuestos fenólicos como los ácidos hidroxicinámicos (ácidos ferúlico y *p*-cumárico), pectinas (homogalacturonanos y ramnogalacturonanos) y proteínas estructurales, enzimas y proteínas involucradas en señalización. Por su parte, la PC secundaria está formada mayormente por celulosa, GAX, ácidos hidroxicinámicos y lignina (Fig. 1F).

Las propiedades estructurales y funcionales de la PC vegetal están controladas por la composición y organización de cada uno de sus componentes individuales. Se considera que los enlaces entre los componentes de la PC tienen una marcada influencia en numerosas propiedades como la accesibilidad, extensibilidad, diferenciación, plasticidad, digestibilidad y adherencia, cuyas aplicaciones son de considerable interés en los campos de la nutrición y la tecnología alimentaria humana y animal, pero también en disciplinas afines como la fisiología vegetal, la producción de biocombustibles o la protección de cultivos.

Celulosa

La celulosa es el biopolímero más abundante de la naturaleza y está presente en la pared primaria y secundaria actuando como principal polímero estructural. Su estructura consta básicamente de una cadena lineal de moléculas de D-glucopiranosas unidas por un enlace glucosídico de tipo $\beta(1\rightarrow4)$. Estas cadenas de $\beta(1\rightarrow4)$ D-glucanos mantienen enlaces estables por puente de hidrógeno intramoleculares (entre las distintas moléculas de glucosa de una misma cadena) e intermoleculares (entre moléculas de glucosa de distintas cadenas). Esta estructura, basada en enlaces no covalentes, confiere una elevada resistencia a la tracción, insolubilidad, estabilidad química y una resistencia excepcional al ataque químico o enzimático. La celulosa se sintetiza en la membrana plasmática, en estructuras denominadas rosetas o complejos terminales que contienen abundantes unidades de la enzima celulosa sintasa (CesA) que sintetiza las unidades de $\beta(1\rightarrow4)$ D-glucanos.

Hemicelulosas

A diferencia de la celulosa, los polisacáridos de hemicelulosa son sintetizados en el aparato de Golgi y secretados en vesículas a la pared. La mayoría de las dicotiledóneas y monocotiledóneas no comelinidas tienen polímeros basados en glucanos o mananos como principal polisacárido y contienen concentraciones considerables de pectina lo que se define como pared de tipo I. La composición de la hemicelulosa en el maíz y otras especies del orden Poales contiene glucuronoarabinosilanos (GAX) como principal polisacárido hemicelulósico lo que se define como pared de tipo II. Los β -glucanos con enlaces mixtos son también polisacáridos hemicelulósicos únicos del orden Poales y más abundantes en la PC primaria del maíz.

Glucuronoarabinosilanos (GAX)

La estructura base de los GAX es una cadena lineal de residuos de xilosa con enlaces $\beta(1\rightarrow4)$ y sustituciones de α -L-arabinosa y α -D-ácido glucurónico. Los residuos de α -L-arabinosa están unidos al residuo de xilosa en la posición *O*-3, y los de α -D-ácido glucurónico en la posición *O*-2 (Fig. 3A). Como se muestra más en detalle en el apartado de ácidos hidroxicinámicos, la unidad de arabinosa puede ser sustituida con ácido ferúlico. La biosíntesis de GAX y las enzimas responsables de la inclusión de residuos de arabinosa en las cadenas de xilanos en maíz está siendo actualmente estudiada. Es probable que las enzimas responsables de la síntesis de las cadenas de xilanos (glicosiltransferasas) sean codificadas por diferentes genes *Csl* que se expresan de forma distinta en los diferentes tejidos y en función del estado de madurez de la planta.

β -glucanos con enlaces mixtos $\beta(1\rightarrow4)$ y $\beta(1\rightarrow3)$

Los β -glucanos con enlaces mixtos consisten en residuos de D-glucosa sin sustituciones. Las unidades que los conforman son celotriosa y celotetraosa en una proporción de 2:1. Los residuos de glucosa dentro de las unidades de celotriosa y celotetraosa están unidos por enlaces $\beta(1\rightarrow4)$ y los enlaces entre las unidades de celotriosa y celotetraosa son de tipo $\beta(1\rightarrow3)$ (Fig. 3B). La familia de genes *CslF* catalizan la biosíntesis de β -glucanos mixtos en el arroz y probablemente en el maíz.

Pectinas

Las pectinas son polímeros ramificados e hidratados ricos en D-ácido galacturónico. Afectan

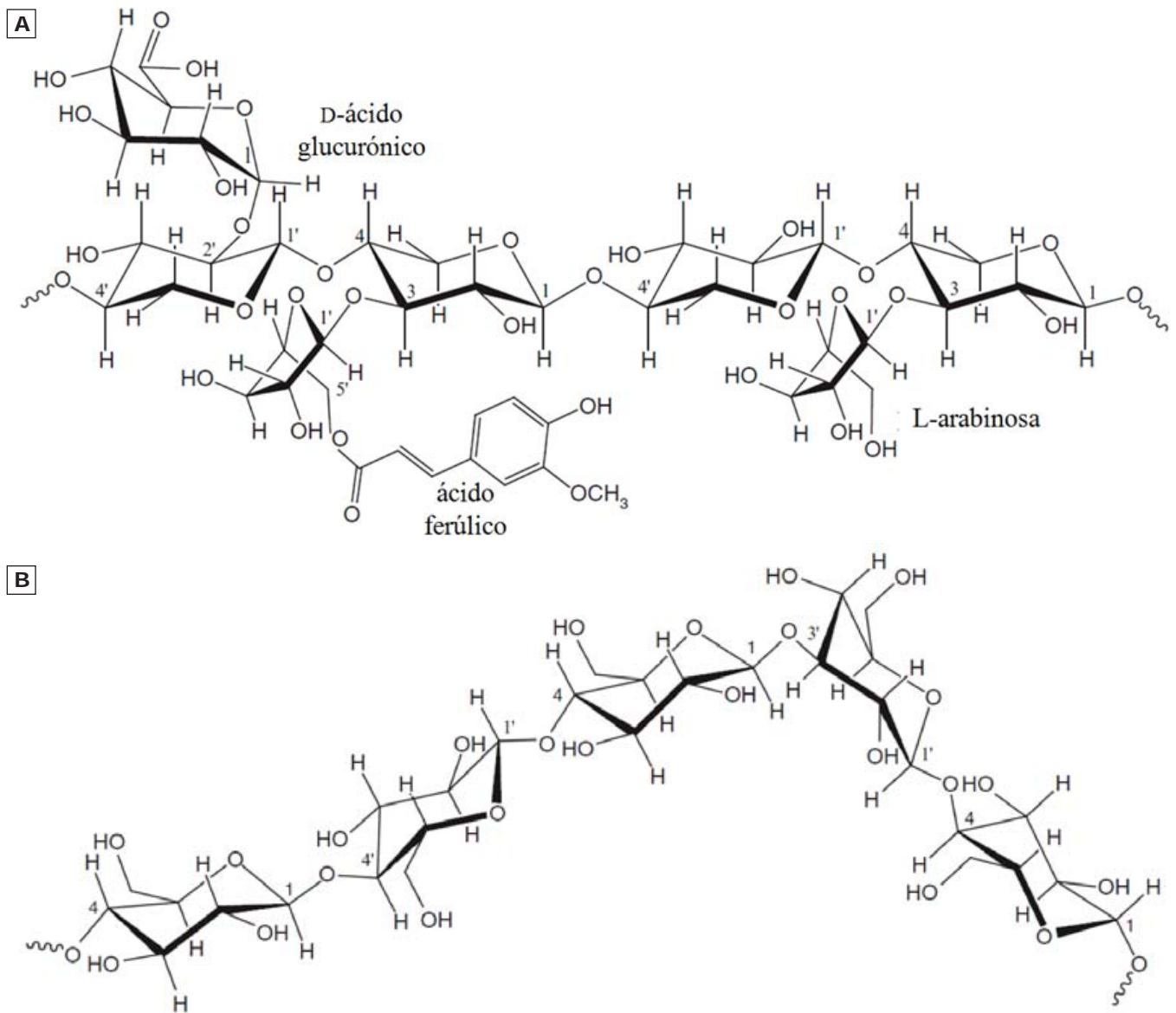


Figura 3. Hemicelulosas: (A) glucuronoarabinoxilanos (GAX), principales polisacáridos hemicelulósicos, consisten en una cadena de xilanos, con sustituciones de arabinosa, ácido glucurónico y ácido ferúlico y (B) β -glucanos con enlaces mixtos, consisten en unidades de celotriosa y celotetraosa unidas por enlaces $\beta(1\rightarrow4)$ que se entrelazan vía enlaces $\beta(1\rightarrow3)$.

al tamaño de poro de la pared (porosidad), la carga (y por ello, a la capacidad de secuestrar proteínas), así como al pH de la pared. La lámina media formada después de la división celular está mayormente formada por pectinas. Hay tres tipos de polímeros pécticos, los homogalacturanos son polímeros largos (más de 100 nm) y simples constituidos por cadenas lineales de residuos de D-ácido galacturónico unidos mediante enlaces $\alpha(1\rightarrow4)$, los ramnogalacturanos I son repeticiones del disacárido $2\text{-}\alpha\text{-D-ramnosa-(1-4)-}\alpha\text{-D-ácido galacturónico-(1-}$ que pueden presentar varias sustituciones con cadenas de arabinanos, galac-

tanos y arabinogalactanos y los ramnogalacturanos II y xilogalacturanos son modificaciones de homogalacturanos con cadenas laterales diversas y que pueden dimerizar a través de un enlace diestérico de boro. La biosíntesis de pectinas es compleja y no está bien comprendida todavía. Se ha propuesto que la síntesis de las cadenas de homogalacturanos está controlada por una o varias enzimas celulosa sintasa (CSL) y que la sustitución de la cadena está regulada por las mismas glicosiltransferasas (GT) que las usadas en la biosíntesis de los polisacáridos hemicelulósicos (2). Como se ha comentado anteriormente, la PC del maíz tiene

un bajo contenido en pectinas en relación con la mayoría de las dicotiledóneas.

Proteínas de la pared celular

La PC del maíz contiene proteínas estructurales y no estructurales. Las proteínas estructurales se acumulan en la pared en diferentes etapas de desarrollo y en respuesta a diferentes condiciones de estrés. Entre ellas están las glicoproteínas ricas en hidroxiprolina (HRPGs), en glicina (GRPs), en prolina (PRPs) y proteínas arabinogalactanas (AGPs). Las proteínas no estructurales incluyen una gran variedad de enzimas que intervienen en la biosíntesis y reorganización de los polímeros de la PC, tales como peroxidasas, expansinas, hidrolasas y transferasas. Para una revisión más completa acerca de la composición y funciones de las proteínas de la PC (3).

Lignina

Terminado el proceso de expansión celular, ciertos tipos de células desarrollan paredes secundarias que pueden acumular sustancias que afectan a sus propiedades físico-químicas. Entre estas modificaciones están el proceso de lignificación y la acumulación de compuestos minerales como sales orgánicas (sílice, carbonatos u oxalatos de calcio) que aumentan la resistencia mecánica, impermeabilidad y rigidez de la pared.

La lignina es un polímero de grupos fenilpropanoides (anillo bencénico y una cadena de 3 carbonos) altamente ramificado. Después de la celulosa, es el segundo biopolímero más abundante de la naturaleza y juega un papel fundamental en el soporte estructural de las plantas. Su complejidad química y la aparente falta de regularidad en su estructura hacen que la lignina funcione como una eficiente barrera física contra herbívoros y patógenos. El polímero de lignina es formado vía uniones oxidativas de los monolignoles o alcoholes fenilpropílicos: coniferílico, cumarílico y sinapílico, que son sintetizados a partir del aminoácido aromático fenilalanina vía varios derivados del ácido cinámico. Los productos intermediarios de la ruta de biosíntesis de los monolignoles sirven como precursores de los ácidos hidroxicinámicos y otros compuestos fenólicos. La hidroxilación del ácido cinámico mediante la enzima ácido cinámico 4-hidrolasa (C4H) resulta en la formación de *p*-CA. Los monolignoles y sus precursores son sintetizados en el citosol (aparato de Golgi) y son transportados a la PC donde la lignina se deposita. Dada su toxicidad, y aunque se desconoce el mecanismo

preciso, es probable que vesículas o glucósidos participen en el transporte de los monolignoles. Una vez localizados en la PC los monolignoles son convertidos en radicales monolignoles a través de la acción de peroxidasas y/o lacasas. Los residuos de lignina derivados de los alcoholes coniferílico, cumarílico y sinapílico se conocen como residuos *p*-hidroxifenil (H), guayacil (G) y siringil (S), respectivamente. La lignina se forma finalmente por la adición de los radicales de monolignoles en el creciente polímero y se considera que esta acción está controlada por procesos químicos más que bajo control biológico.

Ácidos hidroxicinámicos

Los ácidos hidroxicinámicos (ferúlico, *p*-cumárico y sináptico) (Fig. 4A) son componentes menores de la PC vegetal. Dependiendo del tejido y de su estado de desarrollo, las PC del maíz contienen más del 4% de ferulatos (FAs) (monómeros y dímeros) y más del 3% de *p*-cumaratos (*p*-CA). En las gramíneas, los monómeros de ferulato (FA) están unidos a los polímeros de hemicelulosa de la PC mediante enlaces tipo éster, a través de su grupo ácido carboxílico con el grupo hidroxilo del carbono 5 de las α -arabinosas en las cadenas de GAX (Fig. 4B). Se ha propuesto que las sustituciones de FA en los residuos de arabinosa sirven como sitios de nucleación donde comienza el proceso de lignificación (4). Las sustituciones de FA mantienen enlaces vía éter y C-C a la lignina, con su grupo hidroxilo unido covalentemente a los monómeros de lignina. El FA también puede formar enlaces entre polisacáridos y proteínas vía residuos de tirosina y cisteína. En relación al ácido *p*-CA, pequeñas cantidades están esterificadas a las cadenas de arabinoxilanos, y generalmente están unidos mediante enlaces tipo éster a la posición γ de las cadenas de fenilpropanoides en las unidades S de la lignina (5). La mayor parte de las acumulaciones de *p*-CA ocurren en tándem con la lignificación, haciendo la acumulación de *p*-CA un conveniente indicador de la deposición de lignina. Se ha sugerido que los sinapatos también están asociados en la PC vegetal, participando en la unión entre polisacáridos. La síntesis de ácido ferúlico y sináptico ha sido reconsiderada después de haber sido observado en *Arabidopsis* que el ácido ferúlico se sintetiza a partir del coniferaldehído y el ácido sináptico a partir del sinapaldehído, mediante oxidación directa por las enzimas coniferaldehído y sinapaldehído deshidrogenasas codificadas por el gen *reduced epidermal fluorescence 1 (REF1)* (6). En base al hecho de que extractos de las hojas de maíz

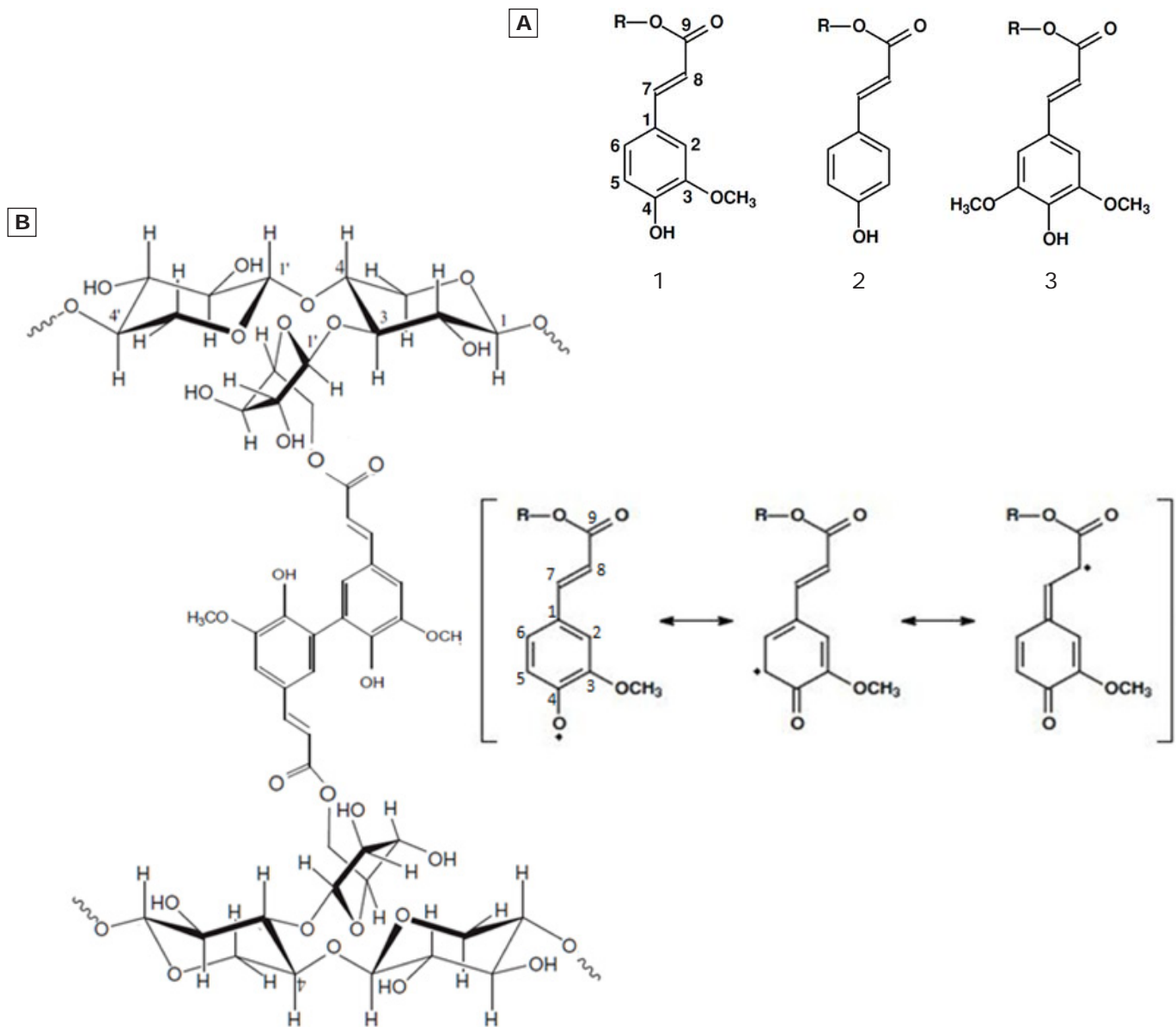


Figura 4. (A) Estructuras de los ácidos hidroxicinámicos en su configuración *trans* : 1-ácido ferúlico, 2- ácido *p*-cumárico y 3- ácido sináptico. Cuando estos compuestos están unidos mediante enlaces éster en la pared celular de las gramíneas, *R* podría representar una cadena de arabinoxilanos, *R* también podría representar un H en el caso de ácidos libres. (B) Enlace entre dos cadenas arabinoxilanos de la pared celular mediados por el ácido diferúlico 5-5- y combinación de enlaces posibles entre diferulatos. Las flechas más gruesas indican los grupos hidroxilo a los que se podrían unir covalentemente los monómeros de lignina (enlaces éter).

mostraron actividad de la enzima coniferaldehído deshidrogenasa, es probable que esta ruta exista también en el maíz.

La dimerización de FA es posible vía reacciones de radical oxidativo (catalizadas por peroxidases), y/o inducidas por luz (fotoquímicas) que pueden llevar a la formación de dímeros e incluso mayores oligómeros como trímeros y tetrámeros. Debido a la localización del radical en los enlaces entre dos FA pueden tener lugar teóricamente enlaces

8-8-, 8-5-, 8-*O*-4-, 5-5- y 4-*O*-5- (Fig. 4B). Más del 50% de los FA de la PC pueden ser dimerizados formando una larga colección de diferulatos (DFAs) unidos a su carbono 8- y menores cantidades de DFAs unidos a su carbono 5-. Esta variedad de oligómeros aseguran fuertes enlaces entre polímeros (hemicelulosa-hemicelulosa y hemicelulosa-lignina) proveyendo integridad estructural y una limitada degradabilidad a la PC (Fig. 5). La dimerización de FA en los residuos de

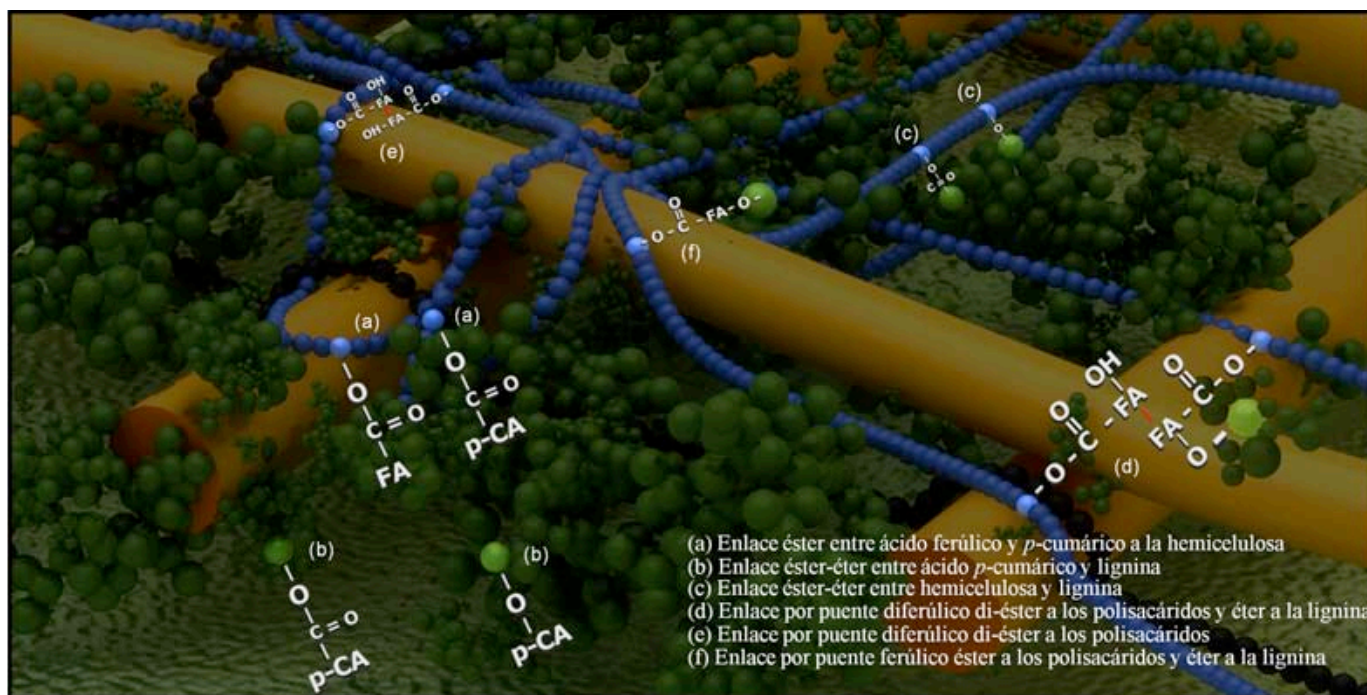


Figura 5. Modelo de la pared secundaria lignificada del maíz mostrando los enlaces entre polímeros que contribuyen a la fortificación de la pared (basado en la referencia 24).

arabinosa probablemente ocurre en la PC, aunque se ha observado que en tejidos más jóvenes parte de la dimerización puede ocurrir en el citosol (aparato de Golgi) antes de la deposición de GAX en la PC. En el caso de la formación de mayores oligómeros y dependiendo del tipo de enlace (intra- o intermolecular), hasta cuatro cadenas de polisacáridos podrían estar potencialmente unidas por un tetrámero, lo cual les conferiría una importante función estructural en la arquitectura de la PC. Actualmente, están siendo llevados a cabo experimentos de modelización molecular para estudiar en profundidad esta posibilidad.

Aunque la mayor o menor importancia fisiológica individual de cada isómero de DFA ha sido poco estudiada, se han encontrado variaciones específicas en el contenido de isómeros concretos de DFA en tejidos de hoja, peciolo y raíz de remolacha (*Beta vulgaris* L.), sugiriendo variaciones correspondientes en los procesos de biosíntesis (7). Existen pocas pruebas de la participación del *p*-CA en la unión de cadenas de polisacáridos vía similares dehidrodimerizaciones. El mecanismo para la unión de polisacáridos mediante *p*-CA es vía dimerizaciones fotoquímicas para obtener ácidos truxillico y truxinico (8). Todavía se desconoce si este mecanismo es una estrategia desarrollada por la planta para conseguir este tipo de enlaces o si es resultado de reacciones paralelas causadas por radiaciones UV que ocurren en las muestras

después de su recolección para el análisis.

INTERVENCIÓN DE LA COMPOSICIÓN DE LA PARED CELULAR EN LA RESISTENCIA A LOS TALADROS

Fibra, lignina y sílice

La composición de la PC puede afectar a la alimentación de los insectos desde el punto de vista nutricional y físico. Elevados niveles de celulosa, hemicelulosa, lignina y/o sílice, pueden incrementar la mayor parte de la densidad de la dieta hasta el punto que los insectos son incapaces de ingerir suficientes cantidades de nutrientes y agua. Además las PC lignificadas forman tejidos más duros que son más resistentes a la acción de corte de las mandíbulas de los insectos.

El TE es uno de los insectos con los que más se ha trabajado en esta área de estudio. El contenido en sílice, fibra neutro detergente (suma de celulosa, hemicelulosa y lignina) y fibra ácido detergente (suma de celulosa y lignina) en diversos tejidos del maíz ha sido relacionado con la resistencia al TE (9), incluso después de varios ciclos de selección divergente para las concentraciones de fibra y lignina (10). Además, se han observado correlaciones altamente significativas entre la

susceptibilidad a la rotura del tallo, la resistencia a la penetración del tallo y el daño causado por la segunda generación del TE con la composición de las fibras de la pared celular del tallo en la caña de maíz (11), sugiriendo que la modificación en la composición de la PC juega un papel importante en el endurecimiento del tallo y puede contribuir en la resistencia del maíz al ataque del TE. Más recientemente, análisis de las regiones de actividad cuantitativa (QTL, acrónimo del inglés "quantitative trait locus") para la longitud de galerías causadas por el TE y la composición de la PC, mostraron agrupaciones de QTLs entre ambos caracteres (12). Estas observaciones sugieren que algunas de las regiones genéticas que contienen genes relacionados con la síntesis de celulosa, hemicelulosa y lignina podrían estar también involucradas en la resistencia a la plaga del taladro.

En relación a otras especies de taladro, diversos trabajos han evaluado la composición de la PC del maíz como posibles factores de resistencia. Trabajos previos (13) han observado que la cantidad relativa de hemicelulosa en la PC de las hojas parece estar negativamente asociada con la resistencia al gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* Smith) pero no con el taladro del suroeste (*Diatraea grandiosella* Dyar). El contenido en celulosa estuvo correlacionado con los pesos de ambas especies de taladro en los bioensayos pero no en los estudios de campo y la concentración de lignina no estuvo asociada con la resistencia a ninguna de las especies de taladro evaluadas. Más recientemente, otros trabajos observaron una mayor concentración de xilosa en la PC de la médula de las líneas resistentes al taladro TE y TM, mientras que las concentraciones de glucosa y lignina no mostraron diferencias significativas entre genotipos (14).

Ácidos hidroxicinámicos

La relación entre los enlaces de la PC y la resistencia a insectos fue inicialmente sugerida por el Dr. Stephen Fry en 1986 (15). Los primeros estudios que observan correlaciones negativas entre la concentración de DFAs en primordios foliares de maíz y el daño causado por la larva del TE fueron llevados a cabo por el grupo del Dr. Bergvinson (16). Una confirmación adicional de la función de los DFAs en la resistencia al taladro fue la observación del incremento en su concentración en diferentes tejidos a lo largo de varios ciclos de selección para la resistencia a TE (17). En el tejido de médula, la concentración de DFAs estuvo negativamente correlacionada con el número de túneles por tallo y en los tejidos de corteza, nudos


y médula, las concentraciones de DFAs y *p*-CA estuvieron negativamente correlacionadas con los parámetros de daño evaluados (número de larvas, número y longitud de las galerías y proporción de médula excavada por la larva). Esta investigación fue extendida en trabajos posteriores (18) que estudiaron la relación entre los DFAs en las hojas de maíz y la resistencia al taladro del suroeste y al taladro de la caña de azúcar *Diatraea saccharalis* Fabricius. En este estudio, *p*-CA y DFAs estuvieron correlacionados positivamente con la dureza de los tejidos, y se observaron correlaciones negativas entre las concentraciones de DFAs y el daño causado por las larvas de ambos insectos.

Se ha sugerido que la generación de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en la matriz extracelular es necesaria para que las peroxidases puedan unir oxidativamente los dos residuos de ácido ferúlico que forman los DFAs (15). Con el objetivo de incrementar la concentración de DFAs, se llevó a cabo una transformación genética en maíz para aumentar la concentración de H_2O_2 y evaluar la resistencia al taladro (19). Las plantas de maíz transformado con el gen de trigo oxalato oxidasa (*OxO*), bajo control del promotor *pActOXO* del arroz expresaron constitutivamente la actividad de la enzima. En evaluaciones de campo el transgénico mostró sustancialmente una menor longitud de galerías que los individuos no transgénicos. Sin embargo, la transformación no incrementó la formación de DFAs como se predecía y la resistencia fue asociada a los efectos directos de H_2O_2 en la fisiología de los insectos. Posteriormente, el mismo grupo encontró que los transgénicos *OxO* generan H_2O_2 como respuesta de defensa incrementando los contenidos de ácidos fenólicos solubles y activando la ruta de señalización del ácido jasmónico, cuyos precursores inhiben la capacidad de los insectos para digerir las proteínas.

Estudios recientes han evaluado la concentración de DFAs como mecanismo de defensa contra el TM en tejidos de médula y vainas de hojas de maíz. Las concentraciones de *p*-cumaratos, FA, 8-5-DFA, 8-*O*-4-DAF, y 8-5-b-DFA (forma benzofurano) en la médula estuvieron correlacionadas con el nivel de resistencia de los genotipos evaluados, mostrando los genotipos resistentes mayores concentraciones de estos compuestos (20). Además se encontraron correlaciones negativas significativas entre el peso de las larvas alimentadas con tejidos de vaina de las hojas y su contenido en DFAs en seis de los siete genotipos evaluados (21). El mismo grupo observó recientemente mayores concentraciones de 8-*O*-4-DFA en las líneas resistentes, y una correlación negativa entre la concentración de DFAs totales, 8-5-DFA y *p*-cumaratos con la longitud de

galerías causadas por el TE y TM (14), sugiriendo que los DFAs unidos por su carbono 8- podrían tener una función más importante en la defensa que los 5-5-DFAs debido a su capacidad para formar enlaces intermoleculares entre las cadenas de GAX (22).

La relación real entre el contenido de DFAs y la resistencia a los taladros podría ser sesgada debido a diferencias en el fondo genético de los genotipos evaluados. Con el propósito de eliminar esta posibilidad varios ciclos de selección para la resistencia al TM en la población sintética del

genotipo EPS12 fueron evaluados para la concentración de compuestos fenólicos ligados a la PC en tejidos de médula (23). Una vez más en este estudio vuelve a asociar la mayor concentración de DFAs totales con la reducción en la longitud de galerías y el número de larvas de TM en el tallo. Actualmente estamos desarrollando un programa de selección para concentraciones divergentes de DFAs totales que permitirá dar una respuesta definitiva al papel de los DFAs en la resistencia del maíz a la plaga del taladro. 

REFERENCIAS

1. Malvar RA, Butrón A, Ordás B, Santiago R (2008) Causes of natural resistance to stem borers in maize. In: Burton EN, Williams PV (Eds.), *Crop Protection Research Advances*. Nova Science Publishers, Inc., NY, USA, pp 57-100.
2. Scheller HV, Jensen JK, Sørensen SØ, Harholt J, Geshi N (2007) Biosynthesis of pectin. *Physiol. Plant.* 129:283-295.
3. Cassab GI (1998) Plant cell wall proteins. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49:281-309.
4. Ralph J, Grabber JH, Hatfield RD (1995) Lignin ferulate cross-links in grasses: active incorporation of ferulate polysaccharide esters into ryegrass lignins. *Carbohydr. Res.* 275:167-178.
5. Ralph J, Hatfield RD, Quideau S, Helm RF, Grabber JH, Jung HG (1994) Pathway of p-coumaric acid incorporation into maize lignin as revealed by NMR, *J. Am. Chem. Soc.* 116:9448-9456.
6. Nair RB, Bastress K L, Ruegger MO, Denault JW, Chapple C (2004) The *Arabidopsis thaliana* REDUCED EPIDERMAL FLUORESCENCE1 gene encodes an aldehyde dehydrogenase involved in ferulic acid and sinapic acid biosynthesis. *Plant Cell* 16:544-554.
7. Wende G, Waldron KW, Smith AC, Brett CT (2000) Tissue-specific developmental changes in cell-wall ferulate and dehydrodiferulates in sugar beet. *Phytochemistry* 55:103-110
8. Ford CW, Hartley RD (1989) GC/MS characterization of cyclodimers from p-coumaric and ferulic acids by photodimerization-a possible factor influencing cell wall biodegradability. *J. Sci. Food Agr.* 46:301-310
9. Buendgen MR, Coors JG, Grombacher AW, Russell WA (1990) European corn borer resistance and cell wall composition of tree maize populations. *Crop Sci.* 30:505-510.
10. Ostrander BM, Coors JG (1997) Relationship between plant composition and European corn borer resistance in three maize populations. *Crop Sci.* 37:1741-1745.
11. Martin SA, Darrah LL, Hibbard BE (2004) Divergent selection for rind penetrometer resistance and its effects on European corn borer damage and stalk traits in corn. *Crop Sci.* 44:711-717.
12. Krakowsky MD, Lee M, Holland JB (2007). Genotypic Correlation and Multivariate QTL Analyses for Cell Wall Components and Resistance to Stalk Tunneling by the European Corn Borer in Maize. *Crop Sci.* 47:485-490.
13. Williams WP, Davis FM, Buckley PM, Hedin PA, Barker GT, Luthe DS (1998) Factors associated with resistance to Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) and Southwestern Corn Borer (Lepidoptera: Crambidae) in corn at different vegetative stages. *J. Econ. Entomol.* 91:1471-1480.
14. Barros-Ríos J, Malvar RA, Jung HJG, Santiago R (2011). Cell wall composition as a maize defense mechanism against corn borers. *Phytochemistry* 72:365-371
15. Fry SC (1986) Cross-linking of matrix polymers in the growing cell walls of angiosperms. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 37:165-186.
16. Bergvinson DJ, Arnason JT, Hamilton RI, Mihm JA, Jewell DC (1994) Determining leaf toughness and its role in maize resistance to the European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Econ. Entomol.* 1994 87:1743-1748.
17. Bergvinson DJ, Arnason JT, Hamilton RI (1997) Phytochemical changes during recurrent selection for resistance to the European corn borer. *Crop Sci.* 37:1567-1572.
18. Ramputh AI (2002) Soluble and cell wall Bound phenolic-mediated insect resistance in corn and sorghum. Ph.D. dissertation, Ottawa-Carleton Institute of Biology, Ontario, Canada.
19. Ramputh AI, Arnason JT, Cass L, Simmonds JA (2002) Reduced herbivory of the European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) on corn transformed with germin, a wheat oxalate oxidase gene. *Plant Sci.* 162:431-440.

20. Santiago R, Butrón A, Arnason JT, Reid LM, Souto XC, Malvar RA (2006a) Putative role of pith cell wall phenylpropanoids in *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance. *J. Agric. Food Chem.* 54:2274-2279.
21. Santiago R, Butrón A, Reid LM, Arnason JT, Sandoya G, Souto XC, Malvar RA (2006b) Diferulate content of maize sheaths is associated with resistance to the Mediterranean corn borer *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae). *J Agric. Food Chem.* 54: 9140-9144.
22. Hatfield RD, Wilson JR, Mertens DR (1999) Composition of cell walls isolated from cell types of grain sorghum stems. *J. Sci. Food Agric.* 79:891-899.
23. Santiago R, Sandoya G, Butrón A, Barros J, Malvar RA (2008) Changes in phenolic concentrations during recurrent selection for resistance to the Mediterranean corn borer (*Sesamia nonagrioides* Lef.). *J. Agric. Food Chem.* 56:8017-8022.