

RESILIENCIA VEGETAL POR HOMEOPATÍA: *breaking paradigms*

por IRENE GARCÍA Y LUIS C. ROMERO

INSTITUTO DE BIOQUÍMICA VEGETAL Y FOTOSÍNTESIS (IBVF), CSIC-UNIVERSIDAD DE SEVILLA, AMÉRICO VESPUCIO, 49,
41092-SEVILLA, SPAIN

IRENE.GARCIA@IBVF.CSIC.ES, LROMERO@IBVF.CSIC.ES

Resumen: Las plantas han desarrollado mecanismos de señalización y respuesta muy precisos para adaptar su fisiología a entornos cambiantes y, a menudo, hostiles. Uno de los mecanismos de señalización involucra moléculas gaseosas, de pequeño tamaño, que son tóxicas a concentraciones moderadas. Nuestro trabajo ha demostrado que el cianuro es una molécula señal capaz de producir respuestas en las plantas, mediante una modificación de proteínas nueva denominada *S*-cianilación.

Abstract: *Plants have developed highly precise signaling and response mechanisms to adapt their physiology to changing and often hostile environments. One of the signaling mechanisms involves small-sized gaseous molecules that are toxic at moderate concentrations. Our work has demonstrated that cyanide is a signaling molecule capable of eliciting responses in plants through a novel protein modification, the S-cyanylation.*

Palabras clave: señalización, cianuro, *S*-cianilación.

Keywords: signaling, cyanide, *S*-cyanylation

Introducción

El ser humano ha aprendido a domesticar las plantas en su intento por alimentar a una población creciente y a sacar el máximo provecho a los cultivos, aunque haya sido, en un primer término, en detrimento de los ecosistemas naturales y el medio ambiente. Hoy día, nos planteamos el **reto** de producir más alimentos sin dañar al medio ambiente, con la complicación añadida del cambio climático, que produce situaciones extremas frecuentes y estrés (ansiedad) vegetal. Esto genera un problema de grandes dimensiones, pues las plantas son de especial relevancia en el planeta Tierra, ya que representan más del 80 % de la biomasa total del planeta y, junto con algas y cianobacterias, son las productoras primarias de materia orgánica y de oxígeno. Son, además, el origen de alrededor del 40 % de los medicamentos, regulan el ciclo del agua y el clima, son esenciales para el alimento de los animales, y sustentan los hábitats y el paisaje. ¿Cómo gestionan el estrés las plantas? ¿Qué las diferencia de los animales?

Los animales somos capaces de huir, con más o menos éxito, de los lugares y las situaciones que nos generan estrés, tales como un lugar seco, frío o demasiado cálido, o una inundación. Las plantas, sin embargo, se mueven muy poco y, por supuesto, no se desplazan. Para aguantar el estrés con estas

limitaciones, han desarrollado una alta plasticidad fenotípica que les permite generar rápidas respuestas de adaptación a entornos agresivos o cambiantes. En las condiciones de una planta, la detección de los cambios en las condiciones externas adquiere una especial relevancia y, sobre todo, los **mecanismos de señalización** que desencadenan una respuesta encaminada a restablecer la homeostasis (bienestar) o adecuar su fisiología a las nuevas condiciones. Los mecanismos moleculares que subyacen a la señalización en plantas constituyen un tema central de la investigación en la biología de las plantas.

Para la regulación de procesos fisiológicos, de desarrollo y de respuesta a cambios externos, las plantas (y los animales) poseen moléculas que actúan como señales que les permiten responder dinámicamente a su entorno y regular su crecimiento y desarrollo de manera eficiente. Entre estas moléculas podemos destacar, entre otras, las fitohormonas, tales como el etileno (el que hace madurar los frutos) o el ácido salicílico (sí, el de la aspirina), y ciertas proteínas que transducen una señal de un lugar a otro y suelen culminar en la expresión de genes de respuesta al estímulo en cuestión.

Nuestro trabajo en el laboratorio está centrado en una pequeña molécula gaseosa que actúa como señal, del tipo de los gasotransmisores. A menudo en colaboración con hormonas u otras moléculas se-

ñal, los gasotransmisores actúan como mensajeros en la señalización celular, al desencadenar una rápida respuesta para coordinar procesos fisiológicos y adaptativos. Algunos son tóxicos a concentraciones moderadas, como el óxido nítrico, el sulfuro de hidrógeno o nuestro objetivo de trabajo: el cianuro de hidrógeno, o, más familiarmente, cianuro.

¿Cianuro y vida?

La palabra «cianuro» proviene del griego *kyanos*, que significa azul. Esto se debe a que muchas sales de cianuro son de color blanco o incoloras, pero cuando están expuestas al aire presentan un color azul característico. El cianuro huele a almendras amargas, pero, como curiosidad, no todas las personas pueden detectar su olor, e incluso se conoce el gen, asociado al cromosoma X, que determina esta capacidad. Es un veneno conocido desde tiempos antiguos y se ha utilizado de manera vergonzosa en las cámaras de gas de los campos de exterminio nazi.

Como buen veneno, tiene su modo de acción: reacciona con iones metálicos di- y trivalentes presentes en algunas proteínas y les altera la función. Entre otras, se une a proteínas que contienen hierro, cobre o sulfuro requeridas para el transporte de oxígeno a las células. En la mitocondria, inhibe la acción de la citocromo *c* oxidasa, con lo que bloquea la respiración celular y, por lo tanto, la obtención de energía a partir de azúcares y oxígeno, lo que a su vez produce una hipoxia citotóxica que conduce a la muerte del organismo.

A pesar de su toxicidad, el cianuro está presente en los organismos de todos los reinos, incluidas bacterias, hongos, insectos y plantas. Incluso se ha descrito también en algunas células de mamíferos, como es el caso de la producción de cianuro en las neuronas tras la activación de los receptores de opióceos en presencia de dichos alcaloides. También producen cianuro los fagocitos de la sangre durante la fagocitosis. Considerando el pKa de 9,2 del cianuro, a pH fisiológico de 7, casi todo el cianuro (el 99 %) está disociado en su forma aniónica como CN^- . En general, la función del cianuro en los seres vivos se asocia a mecanismos de toxicidad para la defensa frente a organismos perjudiciales, pero se han descrito también otras funciones. En algunas bacterias podría servir como fuente o reservorio de nitrógeno; asimismo, participa en los mecanismos de biocontrol de algunas cepas de bacterias patógenas, tanto de mamíferos como de plantas. Se ha descrito también que el cianuro y algunas moléculas que lo contienen podrían funcionar como feromonas durante el apareamiento de algunas especies de mariposas. El cianuro producido

por las neuronas activa los receptores involucrados en la transmisión del estímulo nervioso en las sinapsis y se necesita para la acción analgésica de los opioides. En la sangre, el cianuro producido por los fagocitos podría desempeñar un papel directo antipatogénico y también se ha sugerido que podría poseer un efecto vasodilatador. En las plantas, además del efecto protector de los compuestos cianogénicos, muy evidente en las llamadas plantas cianogénicas como la almendra o la yuca, el cianuro interviene decisivamente en algunos procesos biológicos fundamentales.

¿Cómo estudiamos la función del cianuro en las plantas?

Existen numerosas aproximaciones para averiguarla. Una de ellas consiste en añadir exógenamente este compuesto y observar. Esta aproximación se ha utilizado en diferentes especies y se ha comprobado que el cianuro induce la germinación de las semillas al romper la dormancia o dormición, una característica muy interesante que tienen las semillas, que se encuentran en un estado parecido al de hibernación hasta que ocurre algo (el paso por un periodo de frío, por ejemplo) que les señala que pueden germinar. El cianuro, por otra parte, mejora la respuesta contra los patógenos víricos y fúngicos cuando se añade exógenamente.

Nuestro grupo de investigación, en cambio, se interesa por la función que tiene el cianuro que se sintetiza en las células. Para eso hemos desarrollado una estrategia basada, principalmente, en el estudio de plantas mutantes de una enzima que desintoxica el cianuro: la CAS, o β -cianoalanina sintasa. La planta que utilizamos es *Arabidopsis thaliana*, que no tiene interés agronómico, pero sí, y mucho, en la generación de conocimiento, ya que existen numerosas herramientas moleculares que permiten conseguir casi cualquier mutante, así como el análisis masivo de proteínas, genes, metabolitos, etc, que necesitamos para nuestro trabajo. Así pues, disponemos de plantas mutantes en el gen de una CAS de la mitocondria, el gen *CAS-C1*. Estas plantas acumulan entre un 20 y un 40 % más de cianuro que las silvestres y sólo presentan un defecto serio en la elongación de los pelos radicales. Con esta herramienta hemos podido demostrar también que durante algunas interacciones planta-bacteria compatibles (que dan lugar a una enfermedad) e incompatibles (que dan lugar a una respuesta de resistencia de la planta), la acumulación de cianuro y la expresión de *CAS-C1* se regulan de manera opuesta: aumenta la concentración de cianuro y baja la expresión de *CAS-C1* en el caso de las interacciones de resistencia. Además, las plantas

mutantes son más resistentes a esta bacteria (y a virus y hongos) que las silvestres, pero eso no se debe a un efecto directo tóxico del cianuro, sino a que influyen en las rutas de señalización de respuesta a patógenos, al inducirla antes de la infección de modo que la respuesta, una vez en presencia de los patógenos, es más efectiva. Cabe destacar que este efecto se puede reproducir también al añadir concentraciones muy bajas de cianuro (del orden de $1 \mu\text{M}$), que es la concentración media de cianuro en las células vegetales.

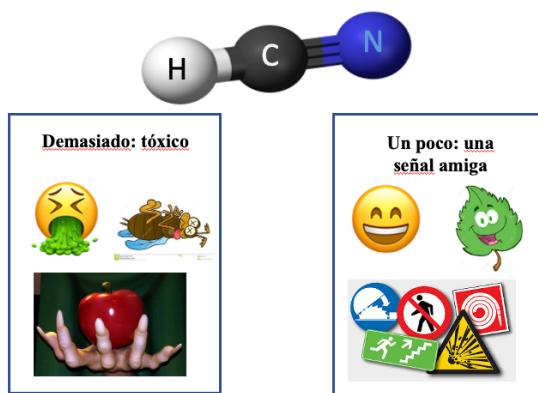


Figura 1. El cianuro es una molécula tóxica que ha experimentado un cambio de paradigma: durante el desarrollo de las plantas y en respuesta a los patógenos funciona también como molécula señalizadora.

Con este tipo de estudios podemos concluir que el HCN actuaría como molécula señalizadora en las plantas. Basándonos en el modo de acción de los gasotransmisores conocidos, que son capaces de producir modificaciones en las proteínas, nuestro grupo ha propuesto que el cianuro puede también alterar las proteínas al modular sus propiedades físico-químicas y, por lo tanto, su función biológica. Esta modificación, denominada *S*-cianilación, ha sido descrita por primera vez por nuestro grupo y consiste en la adición de un residuo de cianuro a uno de los aminoácidos de las proteínas, la cisteína. Con técnicas de análisis masivo, hemos detectado un centenar de proteínas *S*-cianiladas de manera natural en los tejidos vegetales. El análisis *in vitro* de algunas de las proteínas identificadas ha permitido demostrar que el tratamiento con cianuro produce *S*-cianilación y modifica la actividad de dichas proteínas, ya sea activándolas o inactivándolas. Estos hallazgos son de especial relevancia porque, en primer lugar, nunca antes se había descrito en ningún organismo (y eso constituye un importante reto) y, además, representan un nuevo mecanismo para desencadenar respuestas rápidas y eficientes destinadas a restaurar la homeostasis o

adaptar la fisiología de la planta a los entornos cambiantes, especialmente frecuentes hoy día debido al cambio climático.

¿Y en el futuro, qué?

En este momento nos enfrentamos a dos retos principales. El primero es de tipo técnico y consiste en desarrollar un método para marcar químicamente la modificación de las proteínas por cianuro, de manera que podamos diferenciarlas y aislarlas en una muestra compleja de proteínas. El segundo reto es comprender el fenómeno de resistencia a los patógenos inducido por cianuro en concentraciones casi homeopáticas, teniendo en cuenta los diferentes mecanismos de acción posibles de este compuesto. En cualquier caso, el cambio de paradigma está asegurado: en pequeñas dosis, el cianuro no es un veneno, sino una señal. Lo podríamos expresar también como «el veneno está en la dosis», ¿o eso está ya inventado?

Agradecimientos

Los autores agradecen la financiación de los proyectos PID2021-127450NB-I00 y TED2021-131443B-I00, financiado/a por MCIN/ AEI/10.13039/501100011033/ y la Unión Europea «NextGenerationEU»/PRTR, el proyecto No. 201840I085 del CSIC, el proyecto P20_00030 de la Junta de Andalucía, y a la Red de investigación 2022: Integración de la señalización redox en el desarrollo y la adaptación de las plantas al estrés medioambiental (RED2022-134072-T).

Para saber más

Garcia I, Castellano JM, Vioque B, Solano R, Gotor C, Romero LC. 2010. Mitochondrial beta-cyanoalanine synthase is essential for root hair formation in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell* 22, 3268–3279.

Garcia I, Arenas-Alfonseca L, Moreno I, Gotor C, Romero LC. 2019. HCN regulates cellular processes through posttranslational modification of proteins by S-cyanylation. *Plant Physiology* 179, 107–123.

Arenas-Alfonseca L, Gotor C, Romero LC, Garcia I. 2021. Mutation in *Arabidopsis* β -cyanoalanine synthase overcomes NADPH oxidase action in response to pathogens. *Journal of Experimental Botany* 72, 4535–4547.

- Díaz-Rueda P, Morales de Los Ríos L, Romero LC, García I. 2023. Old poisons, new signaling molecules: the case of hydrogen cyanide. *Journal of Experimental Botany* 74, 6040-6051.
- Gotor C, Garcia I, Aroca A, Laureano-Marin AM, Arenas-Alfonseca L, Jurado-Flores A, Moreno I, Romero LC. 2020. Signaling by hydrogen sulfide and cyanide through posttranslational modification. *Journal of Experimental Botany* 70, 4251–4265.
- Poulton JE. 1990. Cyanogenesis in plants. *Plant Physiology* 94, 401–405.