

Resumen

Los terpenos constituyen el mayor grupo de metabolitos secundarios, siendo componentes de las glándulas de aceites esenciales, de las flores y de las resinas defensivas de plantas aromáticas, a los que proporcionan sus aromas y sabores característicos. Los terpenos volátiles se asocian a la defensa de muchas especies de plantas, animales y microorganismos contra depredadores, patógenos y competidores. Por otra parte, estos compuestos parecen servir como señales para atraer a los polinizadores y agentes dispersores de semillas, así como a depredadores de plagas. El estudio de compuestos orgánicos volátiles emitidos durante el desarrollo del fruto y después del desafío con diferentes agentes bióticos puede ayudar a conocer las interacciones de los frutos carnosos no sólo con vertebrados dispersores y depredadores, sino también con insectos y microorganismos.

Los frutos carnosos son particularmente ricos en volátiles. En los frutos cítricos, los monoterpenos son los principales componentes de las glándulas del aceite esencial de la cáscara (flavedo), siendo el D-limoneno el más abundante (hasta 95% en la naranja). Esta característica hace que los cítricos sean un buen sistema modelo para el estudio de la función de los terpenos en los frutos. La biología molecular moderna permite la realización de experimentos para comprobar la función de terpenos por medio del uso de organismos transformados genéticamente en los que se han manipulado los niveles de acumulación de dichos compuestos. En este trabajo, se ha utilizado un plásmido que alberga el cDNA completo del gen de una limoneno sintasa de cítricos (*CITMTSE1*) en orientación antisentido (AS) o sentido (S) para modificar la expresión y la acumulación de D-limoneno en plantas de naranja dulce (*Citrus sinensis* L. Osb.). La acumulación de D-limoneno en las frutas AS se redujo drásticamente pero la acumulación de otros terpenos también se modificó, afectando a compuestos tales como alcoholes monoterpenos, cuya concentración se incrementó en la cáscara de las frutas. Las plantas transformadas fueron morfológicamente indistinguibles de las plantas control (WT) y de las plantas transformadas con el vector vacío (EV).

Los frutos transgénicos fueron desafiados con un insecto plaga y con diferentes patógenos para probar si la alteración de los niveles de acumulación de estos volátiles daba como resultado una mejora en la respuesta del flavedo frente a plagas y patógenos. Los machos de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata*) expuestos a las frutas AS y EV en ensayos en túnel de viento fueron significativamente más atraídos por el aroma de los frutos control EV. En otros experimentos de desafío con el hongo de la podredumbre verde *Penicillium digitatum* y la bacteria causante de la canchrosis de los cítricos *Xanthomonas axonopodis* subsp. *citri*, las frutas transgénicas con un contenido reducido de D-limoneno mostraron elevada resistencia a estos patógenos. El alto contenido en D-limoneno en la cáscara de naranjas maduras puede ser una señal para la atracción de plagas y microorganismos que podrían estar involucrados en la facilitación del acceso a la pulpa de los frugívoros dispersores de semillas.

El análisis de la expresión génica global en el flavedo de las frutas transgénicas vinculó la disminución de D-limoneno y la reducción de la expresión de genes del metabolismo de monoterpenos con la activación de la expresión de genes implicados en inmunidad innata, incluyendo factores de transcripción, genes de quinzas implicadas en la entrada de Ca^{2+} en la célula y genes implicados en la activación de las cascadas de MAPKs, con la consiguiente activación de la ruta de señalización de ácido jasmónico (JA), lo que provocó la activación del metabolismo de JA y un aumento drástico de la acumulación de JA en la cáscara de la naranja tras el desafío con *P. digitatum*, lo que explicaría la resistencia al menos a hongos necrotrofos observada en las frutas.

Estos resultados indican que la acumulación de D-limoneno en la cáscara de la naranja estaría implicada en la interacción trófica entre las frutas, insectos y microorganismos, lo cual proporciona una visión mucho más amplia de las funciones de los terpenos en la naturaleza. También representa una alternativa muy prometedora para incrementar la resistencia o tolerancia de las plantas frente a patógenos y plagas.