

2021 ~ Año de homenaje
al Premio Nobel de Medicina
Dr. César Milstein



Esperanza, 24 de junio 2022

Sr. Decano de la Facultad de Ciencias Agrarias
M.Sc. Oscar Osan

Por la presente me dirijo a Ud. a fin de presentar el Trabajo Final Integrador denominado "PRODUCCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN CULTIVOS HORTICOLAS DE LAS FAMILIAS DE *BRASSICACEAE* Y *APIACEAE* FRENTE A CONDICIONES DE ESTRÉS" bajo la dirección de Dr. Fernando Muñoz de la carrera de posgrado Especialización en Cultivos Intensivos. Se adjunta los avales correspondientes.

Sin otro particular, lo saludo muy cordialmente.

Firma:

Aclaración:

Favaro, Mariana

DNI: 33.217.970

Correo electrónico: marianafavaro2009@hotmail.com

2021 ~ Año de homenaje
al Premio Nobel de Medicina
Dr. César Milstein



Sra. Directora de la Maestría en Cultivos Intensivos
Facultad de Ciencias Agrarias Universidad Nacional del Litoral
M.Sc. Marcela Buyatti

Esperanza, 24 de junio 2022

Por la presente me dirijo a Ud. para presentar mi aval como director del Trabajo Final Integrador de la Especialización en Cultivos Intensivos de la FCA-UNL del Trabajo Final integrador titulado "PRODUCCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN CULTIVOS HORTICOLAS DE LAS FAMILIAS DE *BRASSICACEAE* Y *APIACEAE* FRENTE A CONDICIONES DE ESTRÉS", realizado por la alumna Ing. Agr. Mariana Andrea Favaro, DNI 33217970.

Sin otro particular, la saludo atentamente.

Firma:

Aclaración: Dr. Fernando Muñoz

DNI: 28.935.276

Institución: FCA-UNL - CONICET

Correo electrónico: fermunoz81@gmail.com

2022

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

Trabajo Final para optar por el grado académico:

Especialista en Cultivos Intensivos

“Producción de metabolitos secundarios en
cultivos hortícolas de las familias botánicas
Brassicaceae y *Apiaceae* frente a condiciones
de estrés”

ALUMNA: Ing. Agr. Mariana Andrea Favaro

DIRECTOR: Dr. Fernando Muñoz

RESUMEN

Ante situaciones de estrés, las plantas desencadenan distintas respuestas entre las cuales se incluye la producción de metabolitos secundarios. En particular, se trata de compuestos fisiológicamente activos producto del metabolismo secundario de los vegetales, también denominados fitoquímicos. Estos compuestos no se consideran esenciales para los procesos vitales pero sí cumplen funciones importantes en la ecología de las plantas. Algunas células vegetales producen metabolitos secundarios durante las interacciones de la planta con el medio ambiente (protección frente a depredadores, patógenos o estrés ambiental) o durante la etapa reproductiva (atracción de insectos para la polinización). La biosíntesis de estos metabolitos secundarios suele estar restringida a estados específicos del desarrollo y a períodos de estrés en las plantas; y aparecen en forma dispersa variando entre las especies, familias, órganos o tejidos. Los metabolitos secundarios se clasifican de acuerdo a la vía biosintética requerida para su síntesis; y aun cuando probablemente los glucosinolatos sean los metabolitos secundarios más conocidos, otros metabolitos como los compuestos nitrogenados, fenoles y terpenos se destacan por presentar características interesantes desde el punto de vista tanto biológico como químico. Esta revisión tiene como objetivo recabar información sobre la síntesis de metabolitos secundarios ante distintas condiciones de estrés en las familias botánicas *Brassicaceae* y *Apiaceae*.

ÍNDICE

INTRODUCCION	1
OBJETIVO GENERAL	3
OBJETIVOS ESPECIFICOS	3
DESARROLLO Y DISCUSION	4
<i>BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FAMILIAS BOTÁNICAS ESTUDIADAS</i>	<i>4</i>
<i>DEFENSA DE LAS PLANTAS FRENTE A ESTRÉS.....</i>	<i>5</i>
<i>Rol de los metabolitos secundarios en las relaciones inter-específicas.....</i>	<i>6</i>
<i>Producción de los metabolitos secundarios ante condiciones abióticas</i>	<i>7</i>
<i>PRODUCCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN LAS FAMILIAS</i>	
<i>BRASSICACEAE Y APIACEAE FRENTE A CONDICIONES DE ESTRÉS.....</i>	<i>11</i>
CONCLUSIONES	19
GLOSARIO.....	20
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23

INTRODUCCIÓN

El metabolismo es el conjunto de reacciones químicas destinadas a obtener energía y elaborar distintos tipos de sustancias que sustentan las funciones vitales (Ávalos García & Pérez Urria Carril, 2009). A todas las funciones metabólicas universalmente reconocidas como fundamentales para la sobrevivencia de las plantas (como la división y crecimiento celular, la respiración, almacenamiento de nutrientes, reproducción y senescencia) se las ha llamado en conjunto metabolismo primario. Sin embargo, las plantas son poseedoras, casi exclusivas, de otras rutas metabólicas por las que sintetizan una gama extremadamente amplia de sustancias llamadas metabolitos secundarios (Figura 1).

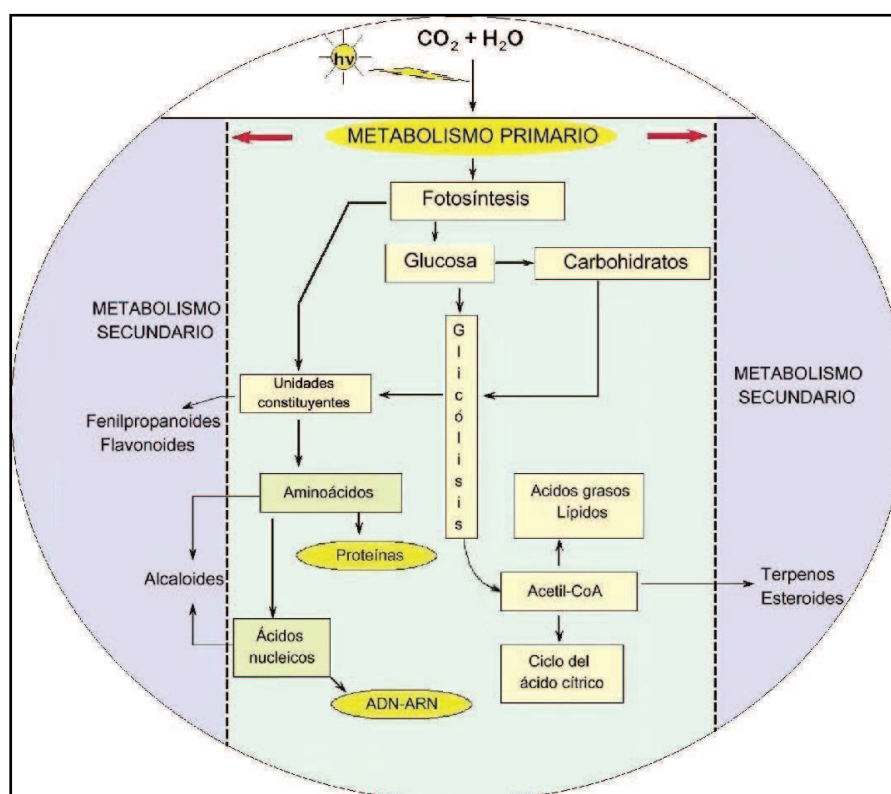


Figura 1. Elementos básicos del metabolismo primario y en relación con el metabolismo secundario de plantas. Fuente: Ávalos García & Pérez Urria Carril (2009).

Estos metabolitos secundarios son compuestos químicos que cumplen funciones no esenciales en ellas, ya que no intervienen en el metabolismo primario, y en muchos de los casos no se les ha atribuido un rol o función definitivo, pero les confieren claras ventajas evolutivas interviniendo en las interacciones ecológicas con su ambiente (Croteau *et al.*, 2000).

Por su parte, en el año 1891 Kossel definió por primera vez el término metabolismo secundario de la siguiente manera: “*Mientras que los metabolitos primarios están presentes*

en cada célula de la planta que es capaz de reproducirse, los metabolitos secundarios están presentes sólo accidentalmente y no son imprescindibles para la vida". Para Valares Masa (2011), muchos de estos metabolitos pueden ser secretados dentro de la célula o excretados como resinas o materiales estructurales (pared celular). Asimismo, este autor en su trabajo señala que el valor adaptativo de estos productos fue desconocido durante muchos años. Primeramente, fueron considerados como productos finales de otros procesos metabólicos, o bien, como desechos de la planta.

Como expresa Benavidez Mendoza (2002), estrés es aquel cambio a nivel funcional de un organismo sometido -de manera permanente o transitoria- a determinadas condiciones (bióticas o abióticas) por debajo de las óptimas, provocando diferentes respuestas a nivel bioquímico y fisiológico que afecta al desarrollo normal de las plantas.

Por otro lado, los autores Suarez Medina & Coy Barrera (2016) sostienen que los precursores de la biosíntesis de estos procesos metabólicos adaptativos son productos de rutas metabólicas primarias (shikimato, glucólisis, respiración) variando los lugares, tejidos, grupos taxonómicos y compuestos que son sintetizados.

Según el planteo de Pérez Alonso & Jiménez (2011), conforme a la ruta bio-sintética, los metabolitos secundarios se clasifican en compuestos orgánicos, compuestos fenólicos, terpenos y glucosinolatos; muchos de los cuales poseen gran valor comercial. Del mismo modo, Sierra Sarmiento *et al.* (2018) han señalado que los metabolitos secundarios presentan funciones ecológicas en la naturaleza como ser: alelopatías, estrategias reproductivas (polinización y dispersión de las semillas), de protección (competencia y herbívora) y de defensa frente a infecciones microbianas y virales (Figura 2). A lo largo de la historia de la humanidad el hombre ha hecho uso de los metabolitos secundarios con un sinnúmero de propósitos como fragancias, insecticidas, cosméticos, colorantes, drogas medicinales, entre otros (Vilella *et al.*, 2011).

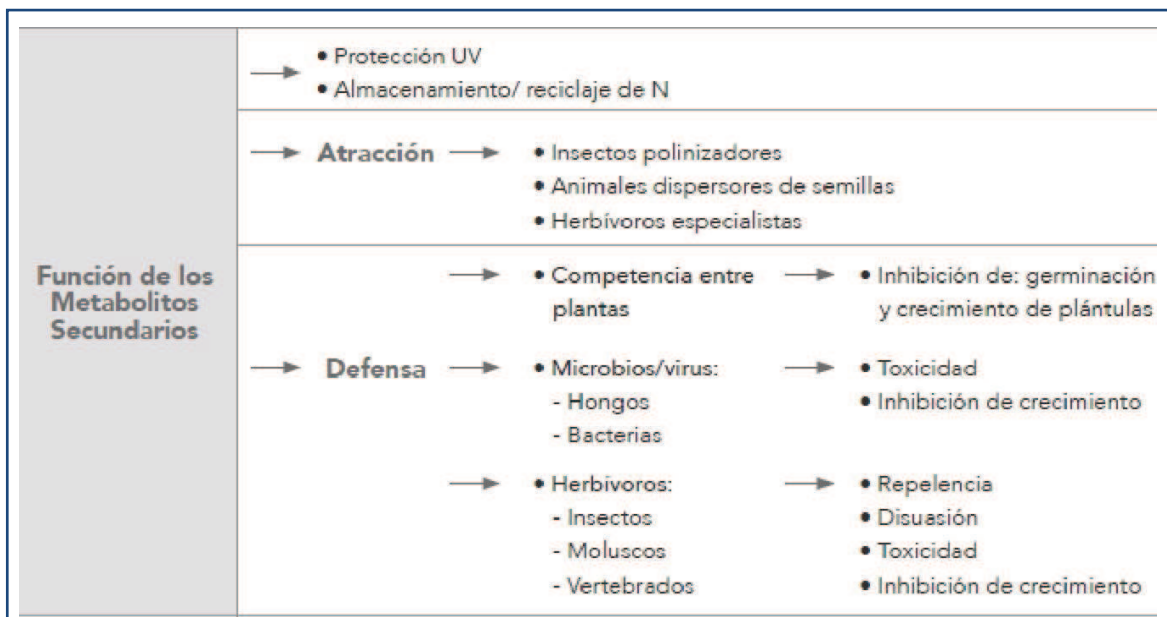


Figura 2. Función de los metabolitos secundarios. Fuente: Suarez Medina & Coy Barrera (2016).

Como consecuencia de estos nuevos aportes, surge la fitoquímica a mediados del siglo XX, como un nuevo campo de estudio (Suarez Medina & Coy Barrera, 2016).

Dentro de las distintas familias del reino vegetal se encuentran las *Brassicaceae* y *Apiaceae*, que pertenecen al orden Brassicales y Apicales respectivamente dentro de la clase Dicotiledóneas, subdivisión Angiospermas, división Espermatófitos del reino Plantae (Gutiérrez, 2020). Ambas familias se caracterizan por producir altos niveles de metabolitos secundarios ante distintas condiciones de estrés ambiental y presentan una reconocida importancia económica y ecológica. Algunos miembros de estas familias son utilizados como organismos modelos para distintos estudios y muchos otros son utilizados como alimentos.

OBJETIVO GENERAL

- Revisar conocimientos sobre la producción de metabolitos secundarios en las familias *Brassicaceae* y *Apiaceae* bajo condiciones de estrés.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analizar bibliografía actualizada sobre la temática planteada.
- Identificar las distintas condiciones de estrés que toleran las plantas como posibles desencadenantes en la producción de metabolitos secundarios.
- Relacionar las distintas condiciones de estrés con los metabolitos secundarios en las familias *Brassicaceae* y *Apiaceae*.

DESARROLLO Y DISCUSION

- Breve descripción de las familias botánicas estudiadas

En su trabajo, Vargas Rincón *et al.* (2013) describen que la familia *Brassicaceae* pertenece a la subdivisión de las Angiospermas, encontrándose distribuida en regiones montañosas y tropicales de la mayoría de los continentes, excepto en la Antártida. Estas plantas se encuentran bien definidas por la estructura particular de su flor. Asimismo, estos autores, explicitan que a esta familia se la conocía anteriormente como *Cruciferae*, ya que al mirar las flores desde arriba sus pétalos se muestran diagonalmente opuestos, similares a una cruz griega. Muchas de las especies contenidas dentro de esta familia cobran importancia científica, agronómica, económica y biológica tal como *Arabidopsis thaliana* y algunas especies del género *Brassica*, y otras que son cultivadas como alimentos (brócoli, canola, coliflor, colza, rábanos, entre otros). Dentro de esta familia existen taxones con distintas cualidades; como por ejemplo hiper acumular metales (*Arabidopsis spp.* y *Noccaea caerulescens*), autoincompatibilidad (*Arabidopsis lyrata* y *Arabidopsis suecica*), hábito e interacciones planta-insecto y planta-patógeno (*Arabis alpine*), adaptación al gradiente de agua (*Cardamine hirsute*), entre otras características (Anjum *et al.*, 2011; Franzke *et al.*, 2011).

Incluidas en esta familia, Vargas Rincón *et al.* (2013) indica que se encuentran más de 120 especies de malezas, considerándose algunas como malezas agrícolas cosmopolitas de importancia (*Sinapsis arvensis*), otras conforman complejos cultivos-malezas (*Raphanus sativus* - *Raphanus raphanistrum*), y otras que poseen la capacidad de intercambiar genes, incluidos transgenes, incrementando de esta manera el número de especies de malezas.

Como consecuencia de todo el estudio taxonómico realizado, se ha reportado en la familia *Brassicaceae* alrededor de 350 géneros siendo *Brassica* el más significativo (Warwick *et al.*, 2006).

Por su parte, en la familia *Apiaceae* se agrupan poco más de 400 géneros y aproximadamente 3000 especies encontrándose ampliamente difundidas por todo el mundo, aunque su origen se sitúa en las zonas templadas del hemisferio norte (Cronquist, 1993). En general, los miembros de esta familia se caracterizan por ser plantas herbáceas aromáticas, con olor y sabor anisado, arrosetadas y de hojas alternadas, de lámina finamente dividida y con pecíolo abrazador en la base. A su vez, las flores son actinomorfas, hermafroditas y están dispuestas en umbelas generalmente compuestas, y poseen un pequeño cáliz de 5 sépalos, una corola de 5 pétalos, 5 estambres alternados con los pétalos, y un ovario ínfero de dos carpelos, que una vez

fertilizado origina un fruto seco e indehisciente, llamado esquizocarpo (Vallejo Cabrera & Estrada Salazar, 2004).

Considerando la producción agrícola y a diferencia de otras familias con relevancia en diferentes rubros, esta familia solo tiene importancia hortícola como el caso de zanahoria (*Daucus carota*), eneldo (*Anethum graveolens*), perejil (*Petroselinum crispum*), apio (*Apium graveolens*), hinojo (*Foeniculum vulgare*), cilantro (*Coriandrum sativum*), entre las que se engloban algunas utilizadas como “condimentos” (Vallejo Cabrera & Estrada Salazar, 2004). Desde la antigüedad, a muchas especies de la familia *Apiaceae* se les ha atribuido propiedades medicinales, y en la actualidad existe un fuerte interés en la utilización de algunas especies como "nutracéuticos" para ayudar a la prevención de enfermedades (Vallejo Cabrera & Estrada Salazar, 2004).

- Defensa general de las plantas frente a estrés

Las plantas son organismos sésiles, sin habilidad para moverse en el entorno en el que crecen y desarrollan; por lo cual deben adaptarse a las diferentes situaciones -bióticas y abióticas- que el medio les plantea y responder frente a ellos (Núñez Cuerda, 2020). Existen dos tipos de respuestas ante estas situaciones que pueden ser mecánicas como las espinas, espigas, tricomas y pelos glandulares; y químicas en donde un estímulo externo induce distintas señales intercelulares que liberan sustancias que son sintetizadas para preservar la bioquímica normal de la planta o para activar sus mecanismos de defensa (Sepúlveda Jiménez *et al.*, 2003).

Como expresa Castaño Pulgarin (2018), estas sustancias son estructural y funcionalmente muy diversas pudiendo originarse del metabolismo primario o secundario. Asimismo, los metabolitos secundarios pueden ser inducidos, produciéndose luego de un estrés (ataque de herbívoros, estrés abiótico, etc.) o constitutivos, cuando se producen sin responder ante ningún estímulo (González Esquinca & Castro Moreno, 2008).

La gran diversidad fitoquímica y la evolución en el metabolismo de las plantas han resultado en una vasta complejidad de interacciones que son deslumbrantes desde el punto de vista biológico (Vivanco *et al.*, 2005). Respecto a la participación ecológica, tal como describen Sepúlveda Jiménez *et al.* (2003), los metabolitos secundarios intervienen en la atracción y repulsión de insectos polinizadores o dispersores de semillas y frutos, como así también frente a situaciones adversas como la herbivoría (por artrópodos y vertebrados), en ataque por microorganismos ya sean virus, bacterias y hongos; en la competencia por el espacio de

suelo, luz y los nutrientes entre las diferentes especies de plantas (alelopatía) y en la exposición a la irradiación solar u otros estreses abióticos.

Rol de los metabolitos secundarios en las relaciones inter-específicas: en cuanto al rol de los metabolitos secundarios en la naturaleza, las autoras González Esquinca & Castro Moreno (2008) mencionan que, dentro de las interacciones entre las plantas, la alelopatía se considera como un efecto adverso entre ellas, aunque se define así a cualquier interacción ya sea positiva o negativa que involucren a plantas, hongos, algas o bacterias en la que participan los metabolitos secundarios. Asimismo, concluyen que los exudados de las raíces en la rizósfera interaccionan positivamente con otros organismos, es decir, que existen metabolitos secundarios que son capaces de proteger al entorno beneficiando a otras especies cercanas. Tal es el caso de los flavonoides que mediante quimiotaxis atraen a rizobacterias interviniendo en la fijación del nitrógeno; y de esta manera mejoran el crecimiento y desarrollo de las plantas y de otras especies vecinas.

Por su parte, otro tipo de sustancias producidas por las plantas como los alcaloides median en la defensa de las mismas con una gran eficiencia ante una amplia variedad de herbívoros, pudiendo también aparecer en mezclas aumentando así su toxicidad y ejerciendo efectos sedantes sobre el sistema nervioso central de las plagas (González Esquinca & Castro Moreno, 2008).

Los compuestos fenólicos son otro tipo de metabolitos secundarios que se encuentran de manera abundante y reducen el nitrógeno disponible para los herbívoros. Estos compuestos producen cambios en la ingesta y se asocian a cambios en el pH, deshidratación, inhibición en la alimentación, o bien como es el caso de los taninos, que las proteínas no estén disponibles y por lo tanto no puedan ser aprovechadas por los animales (González Esquinca & Castro Moreno, 2008).

Otro grupo de metabolitos importantes son los glucosinolatos, los cuales pueden agruparse según el aminoácido precursor en tres grupos estructurales: glucosinolatos del indol derivados del triptófano, glucosinolatos alifáticos derivados de la metionina, y glucosinolatos aromáticos derivados de la fenilalanina o de la tirosina (Agerbirk & Olsen, 2012). En el interior de las células vegetales, los glucosinolatos pueden hidrolizarse por acción de la enzima mirosinasa en las heridas de las plantas cuando las células son dañadas, o bien durante el procesamiento mecánico de alimentos provocando la síntesis de compuestos bioactivos como isotiocianatos.

De igual forma, existen compuestos como los terpenos que son tóxicos para los animales y

otros como las saponinas que reducen la digestibilidad y palatabilidad de distintos tejidos de la planta dándole sabores que son poco apetecibles por los herbívoros, e influyendo en su dieta (González Esquinca & Castaño Moreno, 2008). Sin embargo, los autores Santacoloma Varón & Granados (2012) agregan que las saponinas pueden tener efectos positivos en el metabolismo de los rumiantes al formar distintos complejos con otros metabolitos de origen tóxico.

Por otro lado, es de importancia destacar el rol de los metabolitos secundarios en el proceso de polinización de las plantas; aunque en muchos casos la presencia de metabolitos secundarios en el néctar de las flores es otro mecanismo de defensa que poseen las mismas. El néctar es una sustancia químicamente compleja que contiene azúcares y aminoácidos como metabolitos primarios, cuya función es mejorar la eficiencia en la atracción de insectos polinizadores. Sin embargo, este tipo de sustancia también posee metabolitos secundarios, como alcaloides, fenoles y aminoácidos no proteicos que cumplen el rol de repeler a insectos que lo consumen pero que no polinizan (parásitos, herbívoros, entre otros) (Kessler & Baldwin, 2006).

Adicionalmente, las plantas frente al ataque de hongos y bacterias patógenas son capaces de sintetizar compuestos llamados fitoalexinas, con el propósito de inhibir el crecimiento de los mismos (Castaño Pulgarin, 2018; García Mateos & Pérez Leal, 2003). En este sentido, las fitoalexinas son consideradas metabolitos secundarios vinculados al estrés relacionado a procesos infecciosos causados por hongos y bacterias en las plantas. Estos componentes están presentes en plantas sanas en concentraciones bajas, aumentando debido a la infección y, en los sitios infecciosos deben acumularse a niveles inhibitorios para limitar el desarrollo de distintos patógenos y cumplir con el rol de resistencia (García Pineda & Castro Mercado, 2014).

En la actualidad, se ha descripto que existen más de 350 fitoalexinas en 30 familias de plantas, lo que nota la gran diversidad química presente en ellas (Castaño Pulgarin, 2018). Por su parte, se ha reportado una relación directa entre el tipo de fitoalexina y la quimio taxonomía para un género o familia dada. Por ejemplo, las fitoalexinas fenilpropanoide se encuentran principalmente en las familias *Leguminosae*, *Solanaceae*, *Convolvulaceae*, *Brassicaceae* y *Poaceae* (Castaño Pulgarin, 2018).

Por otro lado, según Castaño Pulgarin (2018) la familia *Apiaceae* posee una gran cantidad de metabolitos secundarios como terpenoides, saponinas triterpenoides, flavonoides, esteroides, poliacetilenos y cumarinas. Estas últimas ejercen un rol importante en la capacidad de actuar

frente a estreses bióticos (hongos y bacterias) o abióticos (heridas, radiación). Un ejemplo de ello es la capacidad antibacteriana en extractos de semillas de perejil (*Petroselinum crispum*) debido a la presencia de furanocumarinas, tal como lo ha demostrado Sayed-Ahmad *et al.* (2017) frente al ataque microbiano por *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* y *Saccharomyces cerevisiae*.

Producción de metabolitos secundarios ante condiciones abióticas: dentro de los factores abióticos que rigen el crecimiento y desarrollo de las plantas pueden mencionarse a la luz, la radiación ultravioleta, la disponibilidad de agua (por exceso o déficit), la temperatura y la composición del suelo (Suarez Medina & Coy Barrera, 2016).

En este sentido, se ha reportado que los vegetales acumulan distintos metabolitos secundarios con el propósito de protegerse del daño oxidativo ante un exceso de radiación UV. Entre los metabolitos implicados pueden encontrarse flavonoides, antocianinas, alcaloides, carotenoides o cumarinas (Molina, 2018).

Por su parte, algunos compuestos fenólicos debido a su variada estructura química, se sintetizan de acuerdo a la intensidad de la luz UV; tal es el caso de las cumarinas que se acumulan de manera no tóxica en los tejidos de las plantas, principalmente en las hojas (Ashihara *et al.*, 2008).

Asimismo, Suarez Medina & Coy Barrera (2016) dan a conocer que existen genes que se inducen por efecto de la radiación UV. Estos, una vez activos, desencadenan una cascada de señalización que determinan niveles no tóxicos de cumarina acumulados en los tejidos de la planta con el objetivo de protegerla; variando, además, según la etapa fenológica de la misma.

La radiación UV produce tanto efectos directos como indirectos en las plantas que pueden observarse en función de las horas o de los días de exposición a ésta. Estos cambios se asocian a alteraciones en el ADN, en la fotosíntesis, en la división celular y en otros procesos que afectan el desarrollo y crecimiento normal de las plantas (Surjadinata *et al.*, 2017). Así como fuera nombrado anteriormente a las cumarinas como metabolitos secundarios con el propósito de proteger a las plantas, los flavonoides (principalmente antocianinas) también se sintetizan para filtrar los rayos UV como mecanismo de defensa (Surjadinata *et al.*, 2017).

Por otra parte, muchas especies vegetales tienen sensibilidad a altas o bajas temperaturas en relación a los umbrales óptimos para cada una de ellas. Se define al estrés térmico como el aumento de la temperatura en un tiempo prolongado que provoca daños irreversibles en el

metabolismo de la planta, afectando su desarrollo; la respuesta al mismo depende si es transitorio o permanente (Chaves Barrantes & Gutiérrez Soto, 2017b). Existen cuatro tipos de estrés térmico: el provocado por temperaturas altas sostenidas; los episodios frecuentes de temperaturas altas (“*heat shock*”); el daño por enfriamiento (de 0 a 10°C) o “*chilling injury*” en numerosos frutos, follajes y flores tropicales; y los daños por congelamiento a temperaturas inferiores a los 0°C, que causan la formación de hielo en los tejidos de las plantas (Chaves Barrantes & Gutiérrez Soto, 2017a; Larcher, 1980).

Por otro lado, las plantas que sufren estrés por altas temperaturas desencadenan una serie de cambios en su anatomía y en su fisiología similares a los ocurridos por estrés hídrico como ser: disminución en el tamaño celular, cierre de estomas, cambios en la permeabilidad de las membranas, incrementos de la densidad de estomas y tricomas, y vasos del xilema de mayor tamaño (Chaves Barrantes & Gutiérrez Soto, 2017b). Consecuencia de ello, los cambios mencionados anteriormente pueden ser acumulativos, provocando un crecimiento deficiente y en consecuencia una baja productividad de las plantas.

Del mismo modo, las plantas sometidas a altas temperaturas desencadenan distintas señales que provocan la activación de genes y la síntesis de proteínas de estrés del tipo “*heat-shock proteins*” (HSPs) (Chaves Barrantes & Gutiérrez Soto, 2017a). Estos procesos tienen como función la protección de la maquinaria fotosintética y la estabilidad de las membranas. Sin embargo, las plantas han desarrollado mecanismos reguladores de protección enzimáticos y no enzimáticos con capacidad de aminorar el daño producido por especies reactivas del oxígeno (EROs) que son inducidas a partir del estrés oxidativo generado por calor (Almeselmani *et al.*, 2006). En este sentido, Rosabal Ayan *et al.* (2014) describen la participación de las peroxidasas junto a las superóxido dismutasas, las catalasas y otras enzimas en los sistemas antioxidantes enzimáticos; mientras que dentro de los antioxidantes no enzimáticos se encuentran metabolitos lipofílicos (tocoferoles, carotenoides, los polifenoles y los alcaloides) e hidrofílicos como el glutatión, el ascorbato, la prolina, las poliaminas y la cisteína.

El estrés por alta temperatura y las condiciones de estrés abiótico, también inducen la producción de metabolitos secundarios en las plantas, entre los que se destacan los fenoles (flavonoides, antocianinas, ligninas, etc.), alcaloides, terpenoides, fitoalexinas, compuestos cianogénicos y los carotenoides. Así, la modulación de los niveles de carotenoides, antocianinas y fenoles solubles es de importancia en la prevención del estrés oxidativo (Wahid, 2007).

El agua es otro de los elementos más importantes que intervienen en el desarrollo de los vegetales, pues media en todos procesos químicos y bioquímicos que se producen en ellos. Ante situaciones de estrés hídrico las plantas han evolucionado generando distintos tipos de respuestas, tanto a nivel morfológico como anatómico y celular, que les permiten sobrevivir a ello, muchas de las cuales están relacionadas a una mayor habilidad en la absorción de agua o en su utilización más eficiente (Moreno, 2009).

Cuando las plantas están sometidas a situaciones de estrés por déficit hídrico se produce una disminución de la expansión de las hojas y un aumento en el crecimiento radical hacia zonas más profundas en detrimento del crecimiento aéreo (Moreno, 2009). A su vez, a nivel fisiológico se produce el cierre de los estomas, que son las estructuras responsables por donde las plantas pierden agua. Este déficit hídrico, además de producirse cuando hay baja disponibilidad de agua en el ambiente, se origina por bajas temperaturas o por una alta salinidad en el suelo (Moreno, 2009).

Por otra parte, Molina (2018) en su trabajo explica que el anegamiento también es otro factor que puede ser muy dañino para las plantas. Un exceso de agua por largos periodos induce a condiciones de hipoxia que genera un gran estrés en las raíces, afectando de esta manera la asimilación del carbono y posterior utilización de los productos de la fotosíntesis.

Asimismo, este autor expresa que una alta concentración de sales en el suelo provoca múltiples respuestas tanto bioquímicas como fisiológicas afectando todos los procesos de las plantas. La producción de metabolitos osmoprotectores y de sustancias antioxidantes son un mecanismo de defensa para contrarrestar los daños causados por salinidad (Munns *et al.*, 2008).

Del mismo modo, los movimientos provocados por el viento, las heridas o el golpeteo de las gotas de lluvia al caer sobre el follaje de las plantas pueden señalarse como desencadenantes de estrés mecánico. En este sentido, se observó que si se dañan plantas de mostaza marrón (*Brassica juncea*) con un escalpelo, la concentración de glucosinolatos se duplica a las 24 horas después de inducido el daño (Augustine & Bisht, 2015).

Por otra parte, la nutrición de las plantas es otro factor importante a tener en cuenta. En el trabajo de Munévar (2004) se destaca la importancia de la nutrición -que junto a otros factores- interviene en todos los procesos metabólicos afectando el crecimiento y rendimiento de los cultivos. Además, la nutrición mineral posee otros efectos secundarios a través del patrón de crecimiento, la forma y anatomía de los vegetales y su composición química. Por ejemplo, Isah (2019) se refiere a que los estreses producidos por nitrógeno, potasio y fósforo,

indujeron la síntesis de metabolitos secundarios como fenilpropanoides y fenoles. A su vez, este autor menciona al calcio (Ca) como una molécula con gran capacidad de señalar múltiples vías de transducción de señales en células vegetales *in vivo*, aumentando su concentración en respuesta a estreses por luz, salinidad, sequía o frío (Arruda *et al.*, 2000).

Volviendo al trabajo de Munévar (2004), se destaca que la producción de metabolitos secundarios como fenoles y flavonoides (con propiedades fungistáticas) se encuentra limitada cuando en las plantas existen deficiencias de algunos nutrientes como cobre (Cu) y boro (B).

Podríamos decir que la producción de metabolitos secundarios interviene en la prevención del daño originado por la producción de radicales libres frente a un estrés nutricional y se asocia frente a la respuesta de la defensa. Por lo tanto, una nutrición adecuada puede permitir que las plantas puedan sobrellevar situaciones de estrés nutricional inducidas por factores bióticos y abióticos.

- Producción de metabolitos secundarios en las familias Brassicaceae y Apiaceae frente a condiciones de estrés

Durante su desarrollo, los vegetales están sometidos a condiciones estresantes que promueven diversas respuestas en su fisiología interviniendo en el metabolismo tanto primario como secundario. Como expresa Pérez Balibrea (2011) estas respuestas activan múltiples factores de transcripción induciendo la expresión de genes relacionados con la defensa vegetal e implican cambios de las rutas biosintéticas con la subsiguiente producción de metabolitos secundarios y, por ende, beneficiando la acumulación de compuestos antioxidantes.

Dentro de los compuestos orgánicos que contienen nitrógeno o azufre en la familia *Brassicaceae*, los glucosinolatos son los metabolitos secundarios que aparecen en mayor cantidad; variando su producción según el órgano, la fenología y las características ambientales a las que está sometida la planta (Vargas Rincón *et al.*, 2013). Otros grupos químicos que caracterizan a esta familia botánica son los fenoles, sintetizados a partir de la ruta del ácido shikímico o la del ácido malónico; y los terpenoides sintetizados a partir de la ruta del mevalonato o la del metileritritol fosfato (Taiz & Zieger, 2010; Walters 2010). Éstos son precursores en la síntesis de sesquiterpenos, triterpenos, esteroides y politerpenos e isoprenos, monoprenos, diterpenos y carotenoides respectivamente (Lichtenthaler, 1999; Taiz & Zieger, 2010).

Por otro lado, sobre la base del trabajo de Castaño Pulgarin (2018), se destaca la importancia de la familia *Apiaceae* por la presencia de aceites esenciales que poseen diversas utilidades

tanto en la nutrición, como en la medicina, o en la industria farmacéutica. Además, radica como fuente potencial de químicos naturales por su actividad biológica con múltiples propiedades benéficas al ser ricas en metabolitos secundarios como terpenoides, saponinas triterpenoides, flavonoides, cumarinas, poliacetilenos y esteroides. Los compuestos fenólicos asociados con antioxidantes pueden incrementar su acumulación por heridas y otros estreses provocados en distintos cultivos. De esta manera, en el artículo publicado por Surjadinata *et al.* (2017) sobre el efecto de la luz UVA, UVB y UVC y la biosíntesis de antioxidantes en zanahoria (*Daucus carota*) cortada, se concluye que la combinación de diferentes intensidades en las heridas y la radiación de luz ultravioleta aumenta la concentración de metabolitos secundarios, principalmente fenoles (isocumarinas, ácido ferúlico y ácido clorogénico), como así también la capacidad antioxidante y la actividad fenilalanina amoníaco liasa (PAL) respecto al testigo (zanahorias enteras). Los compuestos fenólicos cumplen un rol importante en las plantas, ya que disminuyen la penetración de la radiación UV en los tejidos y actúan como antioxidantes limitando los daños producidos por la actividad de especies *EROs*. Estos compuestos también tuvieron diferencias de acuerdo al tipo de radiación al que eran sometidas las muestras. Además, las radiaciones UVB y UVC indujeron la acumulación de ácido clorogénico, en tanto que el ácido ferúlico fue inducido por todas las radiaciones a niveles comparables. Asimismo, las isocumarinas fueron sintetizadas principalmente por efecto de las radiaciones UVB y UVC respecto de UVA (Surjadinata *et al.*, 2017).

De la misma forma, Reyes *et al.* (2006), en su trabajo sobre el aumento de la capacidad antioxidante en distintos tejidos de frutas y verduras luego de una herida (trituration), concluyen que hubo un aumento de la actividad PAL en los cultivos bajo estudio por una activación de la ruta biosintética de fenoles. En cuanto a los compuestos fenólicos hubo un aumento en apio (*Apium graveolens*) y en zanahoria (*Daucus carota*); mientras que en rabanito (*Raphanus sativus L.*) y en repollo rojo (*Brassica oleracea var. capitata*) hubo una disminución de estos compuestos, y en repollo blanco se mantuvo sin cambios.

En cuanto a la capacidad antioxidante se reportó una tendencia similar a lo observado en los compuestos fenólicos; en apio, zanahoria y repollo blanco en donde se observó un aumento; mientras que en repollo rojo hubo disminución de la capacidad antioxidante; en rabanito en cambio fue similar entre el triturado y no triturado. Por lo tanto, se podría mencionar que la concentración de fenoles depende de cada cultivo y de la variedad estudiada (Reyes *et al.*, 2006).

Estos mismos autores indican que los fenoles abarcan una amplia gama de compuestos con distintas propiedades estructurales y funcionales, como la actividad antioxidante que depende de características estructurales y el número de grupos hidroxilo disponibles (Rice Evans *et al.*, 1996, 1997).

En cuanto al ácido ascórbico, hubo una disminución en apio y zanahoria después de la herida, mientras que en rabanito no hubo cambios en su contenido.

En repollo rojo hubo una disminución de antocianinas, mientras que la concentración de carotenos en zanahorias no disminuyó después del estrés por trituración. Los ligeros cambios en el contenido de antocianinas y carotenoides después de la herida podrían deberse a la oxidación de los tejidos inducidos por polifenoloxidasas o lipoxigenasas (Adams, 1991).

A su vez, existen distintos tipos de tratamientos pos-cosecha realizados en los vegetales para mejorar la calidad nutracéutica y que inducen al aumento de la síntesis de fitoquímicos. La autora Dalponte (2019) menciona en su trabajo de investigación que los tratamientos físicos (tratamientos de conservación “limpios”) no dejan residuos después de su aplicación. Ejemplo de ellos son las atmósferas controladas o modificadas (Kader *et al.*, 1989). Además, pueden incluirse dentro de esta categoría los tratamientos térmicos -en agua o aire caliente- (Lurie, 1998) o con radiación (Costa *et al.*, 2006), entre otros. En el último tiempo, debido a la inocuidad y a los costos de mantenimiento e instalación, se observó un creciente uso de la radiación visible de diversas longitudes de onda y tiempo de exposición con resultados interesantes, mejorando la calidad del producto (por ejemplo, retrasando la senescencia y aumento en la concentración de antioxidantes). En este sentido, se pudo observar que la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles (ácido clorogénico, ferúlico y cumárico) aumentaron significativamente en el cultivo de cilantro (*Coriandrum sativum* L.), después de una semana que las muestras fueran tratadas con luz LED A (azul) y BA (blanca/azul) (Dalponte, 2019). La calidad de la luz incidente en los vegetales (principalmente la radiación en el espectro del azul), establece la activación de determinadas rutas metabólicas encargadas de la síntesis de los compuestos fenólicos. Sin embargo, no se han reportado cambios significativos en la pos-cosecha de brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) al aplicar luz LED BA, respecto a los controles (Hasperué *et al.*, 2016).

Respecto al contenido de carotenoides, en todos los tratamientos se observó un comportamiento similar con algunas excepciones; al día 7, el contenido de carotenos con luz LED AB sufrió una mayor disminución a comparación de la luz LED A, B y control (en oscuridad); y al día 15, en todos los tratamientos hubo una disminución de los pigmentos con

una concentración similar en todos ellos (Dalponte, 2019).

Por otro lado, el autor Maestro Duran *et al.* (1993) en su trabajo sobre la inducción de las respuestas de defensa de vegetales frente a situaciones de estrés biótico, hacen mención a un experimento en plantas de perejil (*Petroselinum crispum*) que fueron inoculadas con zoosporas del hongo patógeno *Phytophthora megasperma* (Jahnen & Hahlbrock, 1988). En condiciones de humedad relativa alta y 16 horas de iluminación se produjeron reacciones de resistencia frente a la infección; con la posterior aparición de pequeñas lesiones locales producto de la muerte de células por respuesta hipersensible al patógeno. Este tipo de respuesta estaría relacionada con la producción de fitoalexinas del tipo de las furanocumarinas en los tejidos afectados (Knogge *et al.*, 1987). Asimismo, se han encontrado cumarinas y otros compuestos fenilpropanoides (ésteres del ácido ferúlico) en tejidos de perejil cuando eran manipuladas con hongos que inducen la síntesis y acumulación de fitoalexinas (Maestro Duran *et al.*, 1993).

Por otro lado, en la nutrición mineral de las plantas se sabe que el Cu es un elemento esencial que se requiere en concentraciones traza (León Morales & Sepúlveda Jiménez, 2012). Sin embargo, el exceso de este elemento durante el ciclo de vida de las plantas produce efectos que son tóxicos, como la disminución del crecimiento en las raíces y brotes (Pasternak *et al.*, 2005; Groppa *et al.*, 2008; Lequeux *et al.*, 2010; Zhao *et al.*, 2010).

Para evitar la acumulación de Cu, las plantas a lo largo de su evolución, han adquirido mecanismos adaptativos internos, externos y de defensa que les permiten contrarrestar los efectos dañinos. Cabe resaltar que el sistema antioxidante enzimático se activa por la exposición a altas concentraciones de Cu que genera elevadas concentraciones de EROs. De igual modo, la síntesis de metabolitos secundarios (compuestos fenólicos, poliaminas y flavonoles) podría estar implicada en la respuesta antioxidante para sobrellevar el efecto por oxidación producido por las altas concentraciones de este elemento (León Morales & Sepúlveda Giménez, 2012).

En el trabajo “*El daño por oxidación causado por cobre y la respuesta antioxidante de las plantas*” se menciona que en brotes de rabanito el contenido de derivados hidroxilados de los ácidos cinámico y benzoico, como así también el nivel de ácido ascórbico aumentan conforme el Cu es acumulado; por lo que en este estudio proponen que el H₂O₂ generado por la exposición a Cu podría ser detoxificado por los ácidos fenólicos a través de una reacción catalizada por una peroxidasa. Los radicales generados por esta reacción podrían ser reducidos por el ácido ascórbico, que se regenera en el citosol. Esta serie de reacciones

probablemente ocurran en el apoplasto y en la vacuola, que son los compartimentos celulares donde hay una mayor concentración de compuestos fenólicos (León Morales & Sepúlveda Giménez, 2012).

Asimismo, en un estudio sobre el comportamiento de compuestos fitoquímicos bioactivos en brotes de brócoli mediante tratamientos inductores de estrés se pudo establecer la influencia del genotipo en el contenido de glucosinolatos y antioxidantes (vitamina C y fenoles) (Pérez Balibrea, 2011). Por ejemplo, el contenido de vitamina C fue significativamente mayor en brotes de los cultivares 'Marathon' y 'Viola' que en 'Nubia'.

Respecto al contenido de compuestos fenólicos, las semillas y brotes del cultivar 'Viola' fueron significativamente mayores al tercer, séptimo y decimocuarto día que 'Nubia' y 'Marathon'. También se determinaron diferencias significativas a nivel de glucosinolatos individuales y totales. En el caso de los glucosinolatos alifáticos, más afectados por factores genéticos, 'Nubia' y 'Marathon' fueron 64% más ricos en glucorafanina (precursor del isotiocianato sulforafano) que 'Viola'. Los brotes de 3 días de 'Marathon' presentaron las mayores concentraciones de glucosinolatos totales y glucorafanina. Sin embargo, al final del periodo estudiado (14 días) fueron los brotes de 'Viola' los que registraron la mayor concentración de glucosinolatos totales.

Lo anterior indica que los brotes de brócoli poseen una fuente interesante de fitoquímicos, y que las diferencias en la concentración hallada depende de cada genotipo estudiado (Charron *et al.* 2005a; Pérez Balibrea, 2011).

A su vez, mediante el análisis del efecto del régimen de luz sobre la producción de compuestos fitoquímicos se observó que las condiciones lumínicas tuvieron un efecto positivo, ya que los brotes germinados con luz registraron un 83% más de vitamina C, 33% más de glucosinolatos y 62% más de fenoles por cada 100 gramos de peso fresco en comparación a los brotes germinados en oscuridad (Pérez Balibrea, 2011).

Por otro lado, la distribución relativa y porcentual entre órganos fue muy similar en las distintas condiciones de germinación, representando la parte comestible del brote (hipocótilo y cotiledón) más del 90% del contenido fitoquímico, debido principalmente a las elevadas concentraciones presentes en los cotiledones. En condiciones de luz el contenido en vitamina C de los cotiledones representó el 63% de la concentración presente en los brotes; sin embargo, en condiciones de oscuridad la distribución porcentual de vitamina C representó el 37% tras 14 días de germinación, observándose además una redistribución de la vitamina C en los brotes germinados en ausencia de luz (Pérez Balibrea, 2011).

A partir de la descripción anterior podría sugerirse que el control del régimen lumínico es una tecnología para incrementar la calidad nutricional en los brotes de brócoli.

Por último, se analizó el efecto de las condiciones de envasado en la calidad nutricional de brotes de brócoli, utilizándose distintos tipos de plásticos durante su almacenamiento a baja temperatura (1°C) (Pérez Balibrea, 2011). De esta manera, el autor del trabajo pudo observar que la concentración de glucosinolatos en brotes envasados con plástico macroperforado fue mayor que en los brotes envasados con plástico de permeabilidad alta, media y baja. Asimismo, la preservación del contenido de vitamina C fue mayor en los envases de plástico macroperforado durante el periodo de almacenamiento, respecto a las demás condiciones de envasado. La utilización de plásticos macroperforados para envasado, que permitan el intercambio de gases (21% O₂ + 0,04% CO₂) entre el interior y exterior del envase, es una tecnología adecuada en la preservación de la calidad organoléptica y microbiológica de los brotes. Esto también permite mantener la concentración de los compuestos bioactivos en el periodo pos- cosecha de brócoli (Pérez Balibrea, 2011).

Por otro lado, Martínez Ballestra *et al.* (2008) en su estudio sobre brócoli en aguas salinas mencionan que la calidad del cultivo, además de la fertilización y el agua de riego, depende de las características del suelo. En estudios previos se ha determinado la incidencia del tipo de fertilización en los compuestos bioactivos. Así, estos autores afirman que ante una fertilización con azufre, las plantas incrementan la concentración de glucosinolatos y plantean que ante una disminución en el agregado de nitrato, las concentraciones de glucosinolatos también aumentan, probablemente por un incremento de las proteínas que no contienen azufre y que favorecen la disponibilidad de metionina. De esta manera, se sugiere que para que sea beneficiosa la fertilización con nitrógeno en la producción de metabolitos secundarios debe acompañarse con azufre; con el propósito de que se sinteticen compuestos azufrados (glucosinolatos).

No obstante, otros factores como la disponibilidad y la calidad del agua de riego también influyen en la concentración de metabolitos secundarios en las plantas. Según Martínez Ballestra *et al.* (2008) pueden incrementarse los contenidos de glucosinolatos y compuestos fenólicos regulando el aporte de agua en brócoli. Esto podría explicarse como una respuesta adaptativa ante condiciones de estrés hídrico. Del mismo modo, podría mencionarse que existen distintos cultivares con diferentes niveles de tolerancia a la salinidad que se traducen en variaciones en los contenidos de glucosinolatos (Qasim *et al.*, 2003; Brown *et al.*, 2003). Asimismo, en el trabajo de Martínez Ballestra *et al.* (2008), se agrega que los mayores

contenidos de glucosinolatos se encuentran en los órganos reproductivos como semillas, flores o frutos, seguidamente por hojas jóvenes, raíces y hojas más viejas, tal vez como mecanismo de defensa ante condiciones salinas.

En el ensayo que realizaron estos autores, las plantas que no recibieron condiciones de salinidad, no presentaron diferencias en el contenido de glucosinolatos entre las hojas jóvenes y viejas, mientras que aquellas que recibieron los tratamientos salinos tuvieron un incremento significativo de estos metabolitos en las hojas jóvenes e inflorescencia. Esto puede ser por la activación de la ruta biosintética o quizás a la activación del transporte que va desde las hojas más viejas hasta las inflorescencias. Podría decirse entonces, que en hojas inmaduras el aumento en la concentración de los glucosinolatos estaría afectado por el estrés salino, confiriéndole así claras ventajas sobre la calidad nutricional del brócoli (Martínez Ballestra *et al.*, 2008).

A su vez, los vegetales bajo condiciones estresantes sintetizan fenoles no sólo como protección contra los radicales libres, sino también contra la deshidratación de las células al intercalarse en la bicapa lipídica. En este sentido, pese a que se observó una disminución de estos metabolitos en la hoja de brócoli, en la inflorescencia se observó un aumento del ácido clorogénico y sinápico bajo condiciones de salinidad con respecto al control (Martínez Ballestra *et al.*, 2008). Esta respuesta sugiere un beneficio del contenido nutricional del brócoli. Por su parte, Agarwal & Pandey (2004) sostienen que el contenido de vitamina C en especies sensibles a la salinidad disminuye frente a condiciones salinas.

Por otra parte, en el trabajo de Gonzalez Fandos & Simón (2016) sobre el efecto de la cocción en agua y la capacidad antioxidante de coliflor (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis*) envasado en atmosfera modificada (5,7-2,3% de CO₂ y 17,6-19,7% de O₂) y almacenado a 5°C durante 13 días, se observó que el proceso de cocción produjo lixiviación de metabolitos secundarios; que fueron mayores en el coliflor almacenado respecto al recién cosechado (19% y 13% respectivamente para el ácido ascórbico y 31% y 28% respectivamente para los polifenoles). Las pérdidas por lixiviado en coliflor almacenado podrían explicarse por cambios provocados en las estructuras de las células durante su almacenamiento. El tiempo de cocción (15 minutos) como el tamaño de fracción cocida, puede tener relación con la perdida de estos compuestos. No obstante, no se observaron cambios en la capacidad antioxidante del coliflor inicial cocido respecto al coliflor inicial fresco (crudo); mientras que en el coliflor almacenado la variación fue del 16%. Esto indicaría que el coliflor almacenado y cocido posee una capacidad antioxidante similar al del coliflor fresco (crudo).

De manera similar, en otro estudio se analizó el efecto de diferentes métodos de cocción en el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante en brócoli y coliflor (López Hernández, 2017). El autor del trabajo concluye que las muestras analizadas de brócoli tenían mayor concentración de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en comparación con el coliflor y que éstos fueron afectados según distintos métodos (hervido, al vapor y microondas), tiempo y temperatura de cocción. Sin embargo, la mayor disminución en la concentración de compuestos fenólicos y actividad antioxidante se presentó en las pellas hervidas. El contenido de compuestos fenólicos (polifenoles totales e individuales) y la actividad antioxidante en brócoli y coliflor se incrementaron y conservaron con una cocción al vapor por un tiempo de 10 minutos, por lo que los tratamientos térmicos moderados podrían sugerirse como una herramienta que permita mejorar la concentración de compuestos bioactivos aumentando las propiedades nutricionales en estas hortalizas.

Por último, los factores medioambientales como moduladores de la fisiología de nuevas variedades de brócoli (*B. oleracea var. itálica cv. Viola*) también fueron analizados. En el estudio del autor Rodríguez Hernández (2013) se determinó el contenido de glucosinolatos y compuestos fenólicos en hojas, tallos e inflorescencias en tres nuevos subcultivares de brócoli púrpura. La concentración de glucosinolatos y compuestos fenólicos fue mayor en aquellas plantas que estaban al aire libre que en plantas desarrolladas bajo invernadero. Sin embargo, el subcultivar EP (*Early Purple Sprouting*) mostró una concentración más alta de glucosinolatos en plantas desarrolladas bajo invernadero, mientras que en los tallos del subcultivar LP (*Late Purple*) no tuvo diferencias entre ambas condiciones. Por su parte, la concentración de compuestos fenólicos encontrados en hojas no mostró diferencias entre los subcultivares en la misma condición de cultivo. Como contrapartida, en las muestras de tallos del subcultivar LP, no se mostraron diferencias entre las dos condiciones, aunque en los subcultivares EEP (*Extra Early Purple Sprouting*) y EP la cantidad de compuestos fenólicos fue mayor al aire libre que en invernadero. Tampoco hubo diferencias significativas en el contenido de glucosinolatos y de compuestos fenólicos en las pellas de los subcultivares EEP y el EP. Cabe destacar que la inflorescencia fue el tejido que concentró la mayor cantidad de glucosinolatos y compuestos fenólicos del vegetal.

CONCLUSIONES

Al recopilar y analizar la información sobre el tema abordado, podemos comprender cómo los factores bióticos y abióticos a los que están sometidos las plantas a lo largo de su vida, originan estreses que desencadenan distintas respuestas. Un ejemplo de ello es la producción de una serie de compuestos conocidos como metabolitos secundarios de gran importancia ecológica y con una amplia complejidad en la relación entre la planta y su entorno. Los sitios de síntesis de estos compuestos varían de acuerdo al órgano o tejido, unidades sistemáticas y estadios de desarrollo de las plantas.

Asimismo, con esta revisión podemos distinguir cuáles son los metabolitos secundarios característicos de cada familia botánica analizada, siendo los glucosinolatos característicos de la familia *Brassicaceae*, mientras que los terpenoides lo son de la familia *Apiaceae*; inclusive existen otros metabolitos secundarios como los fenoles y compuestos nitrogenados con gran importancia química y biológica en ambas familias.

Una de las dificultades encontradas es que la bibliografía consultada muestra que la mayoría de los estreses son producidos en condiciones de laboratorio, y no en condiciones “naturales” a campo. Sobre esto, se destaca que no hay demasiada información sobre estrés bióticos y abióticos en cultivos hortícolas de las familias *Brassicaceae* y *Apiaceae* y se remarca que la mayoría de la bibliografía disponible y actualizada corresponde a la familia *Brassicaceae* y en menor medida a *Apiaceae*.

Por último, sería interesante abordar estudios que se enmarquen en la producción de metabolitos secundarios en plantas de importancia hortícola frente a condiciones bióticas y abióticas de cultivo, y el estudio en profundidad de las plantas consideradas como “biofábricas”, ya que la mayoría de los metabolitos secundarios de origen vegetal ocupan en la actualidad un lugar significativo con un amplio abanico de usos.

GLOSARIO

COMPUESTOS FENOLICOS: son compuestos de estructura aromática con uno o varios grupos hidroxilo, libres o sustituidos. El compuesto básico es el fenol, pero la mayor parte de estos compuestos son polifenoles. Entre los polifenoles vegetales, de los que actualmente se conocen más de 8000, figuran las quinonas fenólicas, las cumarinas, los lignanos, los estilbenos y los flavonoides. Además de las estructuras monoméricas y diméricas, existen importantes grupos de polímeros fenólicos, como las ligninas y los taninos. También se encuentran unidades fenólicas entre los compuestos nitrogenados, de los que un buen ejemplo es el aminoácido aromático tirosina (Sierra Sarmiento *et al.*, 2018).

COMPUESTOS NITROGENADOS: son principalmente los alcaloides y glucósidos cianogénicos. Los alcaloides son un diverso grupo de compuestos con aproximadamente 4000 estructuras conocidas. Estos son fisiológicamente activos en humanos (cocaína, nicotina, morfina) y de gran interés para la industria farmacológica. Por otra parte, los glucósidos cianogénicos, se consideran posiblemente los metabolitos secundarios con mayor relación en las funciones de defensa (Sierra Sarmiento *et al.*, 2018).

FITOALEXINAS: Son metabolitos secundarios de naturaleza química diversa, principalmente flavonoides, de bajo peso molecular, que se sintetizan en los vegetales después de una infección microbiana. La síntesis se puede disparar por la acción de factores como elicitores o inductores, tanto exógenos, producidos por patógenos, agentes químicos, daños mecánicos; como endógenos, producidos por las plantas en respuesta a determinadas situaciones de estrés (García Mateos & Pérez Leal, 2003).

FITOQUIMICA: Es el estudio de los componentes químicos de las plantas y sus propiedades. Las técnicas más comunes para obtener los Principios Activos (PA) a partir de plantas son conocidas como extracción, separación, purificación y caracterización química de las moléculas (García Mateos & Pérez Leal, 2003).

FITOQUIMICO: Los fitoquímicos corresponden a metabolitos secundarios sintetizados por las plantas que incluyen terpenos, ácidos fenólicos y tiólicos, lignanos y flavanoides, siendo estos últimos los más relevantes en términos cuali-cuantitativos. Son responsables de proteger a las plantas frente a distintos tipos de estrés, tanto biótico como abiótico, incluyendo infecciones, depredadores, radiación ultravioleta, estrés hídrico o salino, además de entregarles colores y sabores a frutas y verduras. Se estima que existen miles de fitoquímicos distintos en la naturaleza, la mayoría aún por descubrir. Son actualmente

considerados como no nutrientes beneficiosos para la salud y se recomienda el consumo regular y abundante de vegetales que los contengan en altas concentraciones (Gasaly *et al.*, 2020).

ESPECIES REACTIVAS DEL OXÍGENO (EROs): El término EROs incluye no solo a los radicales de oxígeno (superóxido e hidroxilo), sino también algunos derivados no radicales de oxígeno molecular, tales como peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Las EROs son potencialmente perjudiciales para todos los compuestos celulares e influyen negativamente en el metabolismo celular. Las plantas han desarrollado estrategias complejas que le ayudan en su desintoxicación; esta respuesta surge luego de que aumentan los niveles de EROs y básicamente se refiere a la expresión y actividad de enzimas y metabolitos antioxidantes cuya finalidad es mantener la homeostasis redox (Peralta-Pérez & Volke-Sepúlveda, 2012).

ESTRÉS OXIDATIVO: El estrés oxidativo se define como el efecto tóxico provocado por especies químicas altamente reactivas producidas durante la reducción del oxígeno molecular (O_2) en los organismos aerobios, que pueden ser o no radicales libres y se conocen como EROs (Peralta-Pérez & Volke-Sepúlveda, 2012).

FENILALANINA AMONIO-LIASA (PAL): Es una enzima involucrada en la vía fenilpropanoide. Participa de manera determinante en la generación de compuestos fenólicos y estructuras de defensa, y es probable que su regulación coordinada durante el evento de la interacción contra microorganismos patógenos sea clave en la activación de los mecanismos de defensa vegetales. La PAL es la enzima que, al catalizar la primera reacción de la ruta fenilpropanoide, se ha encontrado que puede regular la generación de los diferentes metabolitos obtenidos por esta vía bio-sintética y ha sido relacionada, por ello, con mecanismos de defensa que se activan en otros modelos (Ardila *et al.*, 2007).

TERPENOS: constituyen el grupo más numeroso de metabolitos secundarios (más de 40000 moléculas diferentes). La ruta biosintética de estos compuestos da lugar tanto a metabolitos primarios como secundarios de gran importancia para el crecimiento y supervivencia de las plantas. Entre los metabolitos primarios se encuentran hormonas (giberelinas, ácido abscísico y citoquininas), carotenoides, clorofilas y plastoquinonas (fotosíntesis), ubiquinonas (respiración) y esteroides (de gran importancia en las estructuras de membranas). Suelen ser insolubles en agua y derivan todos ellos de la unión de unidades de isopreno (García Mateos & Pérez Leal, 2003).

QUIMIOTAXIS: Es un mecanismo por el cual las bacterias responden eficientemente y rápidamente a cambios en la composición química en su ambiente. La quimiotaxis, al igual que otras taxis, permite a las bacterias acercarse y permanecer en ambientes favorables y escapar de los hostiles. Este mecanismo es un movimiento activo y dirigido de las bacterias a través de un gradiente químico (Galicia-Jiménez *et al.*, 2011).

RIZOBACTERIAS: Es un tipo de bacteria que coloniza las raíces de algunas plantas en una relación simbiótica beneficiosa para ambas partes (mutualismo). Las rizobacterias de mayor interés para la agricultura son las fijadoras de nitrógeno, que se estima proveen el 65% de los requerimientos de este nutriente por los cultivos mundiales (Davison, 1988).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, J. B. 1991. Significance of enzymes in individual vegetables. In P.F. Fox (Ed.). Food enzymology. New York. Elsevier Science Publishing Company Inc. 1:499-543.
- Agarwal, S.; Pandey, V. 2004. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. *Biologia Plantarum*. 48:555-560.
- Agerbirk, N.; Olsen, C. 2012. Glucosinolate structures in evolution. *Phytochemistry*. 96:466-467.
- Almeselmani, M.; Deshmukh, PS.; Sairam, RK.; Kushwaha, SR.; Singh, TP. 2006. Protective role of antioxidant enzymes under high temperature stress. *Journal Plant Science*. 171:382- 388.
- Anjum, NA.; Gill, SS.; Ahmad, I.; Pacheco, M.; Duarte, AC.; Umar, S.; Khan, NA.; Pereira, ME. 2011. The Plant Family *Brassicaceae*: An introduction. En: Anjum NA, Ahmad I, Pereira ME; Duarte, AC; Umar, S; Khan, NA. (Eds.). *The Plant Family Brassicaceae*. Springer, The Netherlands. Pp.: 1-33.
- Ardila, H.; Baquero, B.; Martínez, S. 2007. Inducción de la actividad de la enzima fenilalanina amonioliasa en clavel (*Dianthus caryophyllus L.*) por elicitores del hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *Dianthi* raza 2. *Revista colombiana de química*. 36(2):151-167.
- Arruda, SCC.; Souza, GM.; Almeida, M.; Gonçalves, AN. 2000. Anatomical and biochemical characterization of the calcium effect on *Eucalyptus urophylla* callus morphogenesis in vitro. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 63(2):142-54.
- Ashihara, H.; Sano, H.; Crozier, A. 2008. Caffeine and related purine alkaloids: biosynthesis, catabolism, function and genetic engineering. *Phytochemistry*. 841-856.
- Augustine, R.; Bisht, NC. 2015. Biotic elicitors and mechanical damage modulate Glucosinolate accumulation by co-ordinated interplay of glucosinolate biosynthesis regulators in polyploid *Brassica juncea*. *Phytochemistry*. 117(1):43-50.

Ávalos García, A.; Pérez Urria Carril, E. 2009. Metabolitos secundarios de plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. 2(3):119-145.

Benavidez Mendoza, A. 2002. Eco fisiología y bioquímica del estrés en las plantas. En: Benavidez Mendoza, A. Concepto de Estrés. Departamento de Horticultura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Buenavista. México. Pp.: 6-7.

Brown, PD.; Tokuhsa, JG.; Reichelt, M.; Gershenzon, J. 2003. Variación de la acumulación de glucosinolatos entre diferentes órganos y etapas de desarrollo de *Arabidopsis thaliana*. Fitoquímica. 62:471-481.

Castaño Pulgarin, L. 2018. Evaluación de derivados sintéticos de núcleos básicos presentes en fitoalexinas propias de *Apiaceae*, *Fabaceae*, *Rutaceae* y *Musaceae* como defensa alternativa contra hongos fitopatógenos. [Online] Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín Facultad de Ciencias Escuela de Química. Montevideo.

Charron, CS.; Saxton, AM.; Sams, CE. 2005a. Relationship of climate and genotype to seasonal variation in the glucosinolate-myrosinase system. Glucosinolate content in ten cultivars of *Brassica oleracea* grown in fall and spring seasons. Journal of the Science of Food and Agriculture. 85:671-681.

Chaves Barrantes, N.; Gutiérrez Soto, M. 2017a. Respuestas al estrés por calor en los cultivos. I. Aspectos moleculares, bioquímicos y fisiológicos. Revista Agronomía Mesoamericana. 28(1):237-253.

Chaves Barrantes, N.; Gutiérrez Soto, M. 2017b. Respuestas al estrés por calor en los cultivos. II. Tolerancia y tratamiento agronómico. Revista Agronomía Mesoamericana. 28(1):255-271.

Costa, L.; Vicente, A.; Civello, P.; Chaves, A.; Martínez, G. A. 2006. UV-C treatment delays postharvest senescence in broccoli florets. Postharvest Biology and Technology. 39(2)204- 210.

Cronquist, A. 1993. The evolution and classification of flowering plants. 2nd ed. The New

World Botanical Garden, Bronx. New York. Pp.: 410-414.

Croteau, R.; Kutchan, TM.; Lewis, NG. 2000. Biochemistry and Molecular Biology of Plants. In: Buchanan, BB.; Gruissem, W.; and Jones, RL. editors. Natural Products Secondary Metabolites. Maryland, USA: Edition American Society of Plant Physiologists. Pp.: 1250-1319.

Dalponde, M. 2019. Impacto del tratamiento con luz LED sobre la calidad poscosecha de hierbas aromáticas frescas. [PhD Thesis]. [La Plata]: Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Exactas.

Davison, J. 1988. Plant beneficial bacteria. Nature Biotech. 6:282-286.

Franzke, A.; Lysak, M.; Al-Shehbaz, IA.; Koch, MA.; Mummenhoff, K. 2011. Cabbage family affairs: the evolutionary history of *Brassicaceae*. Trends Plant Science. 6(2):108-116.

Galicia-Jiménez, M.; Sandoval-Castro, C.; Rojas-Herrera, R.; Magaña-Sevilla, H. 2011. Quimiotaxis bacteriana y flavonoides: perspectivas para el uso de probióticos. Revista Tropical and Subtropical Agroecosystems. Mérida. 14(3).

García Mateos, R.; Pérez Leal, R. 2003. Fitoalexinas: Mecanismo de defensa de las plantas. Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente. Universidad Autónoma de Chapingo. México. 9(1):5-10.

García Pineda, E.; Castro Mercado, E. 2014. En: Rivera Heredia, ME y Villaseñor Cendejas, LM, editores. ¿Ya te enteraste? Investigación científica 1. Las fitoalexinas: antimicrobianos de plantas con efectos benéficos sobre la salud humana. Michoacán: Editado por Academia Michoacana de Ciencias, A. C. Pp.: 96-104.

Gasaly, N.; Riveros, K.; Gotteland, M. 2020. Fotoquímicos: una nueva clase de prebióticos. Revista chilena de nutrición. 47(2).

González Esquinca, AR.; Castro Moreno, MC. 2008. Papel ecológico de los metabolitos

secundarios. La Candonia. Revista Ciencias. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.

México. 1(2):123-130.

González Fandos, E.; Simón, A. 2016. Effect of cooking on antioxidant capacity and sensorial quality of minimally processed cauliflower. Hospital Nutrition. 33(2):373-378.

Groppa, MD.; Zawoznik, MS.; Tomaro, ML.; Benavides, MP. 2008. Inhibition of root growth and polyamine metabolism in sunflower (*Helianthus annuus*) seedlings under cadmium and opper stress Biological Trace Element Research. 126: 246-256.

Gutiérrez, H. 2020. Botánica sistemática de las plantas con semillas. 1era Edición. Santa Fe: Ediciones UNL. 207 pp.

Hasperué, J.; Guardianelli, L.; Rodoni, L.; Chaves, A.; Martínez, G. 2016. Continuous white-blue LED light exposition delays postharvest senescence of broccoli. LWT-Food Science and Technology. 65:495-502.

Isah, T. 2019. Estrés y respuestas de defensa en la producción de metabolitos secundarios de la planta. Biological Research. 52(1):39.

Jahnen, W.; Hahlbrock, K. 1988. Cellular localization of nonhost resistance of parsley (*Petroselinum crispum*). Planta 173:197-204.

Kader, A.; Zagory, D.; Kerbel, E.; Wang, C. 1989. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. Critical Reviews in Food Science & Nutrition. 28(1)1-30.

Kessler, D.; Baldwin, I. 2006. Making sense of nectar scents: the effects of nectar secondary metabolites on floral visitors of *Nicotiana attenuate*. Department of Molecular Ecology. The Plant Journal. Germany. 49:840-854.

Knogge, W.; Kombrink, E.; Schmelzer, E.; Hahlbrock, K. 1987. Occurrence of phytoalexins and other putative defense-relates substances in uninfected parsley plants. Planta 171:279- 287.

Kossel, A. 1891. Über die Chemische Zusammensetzung der Zelle. Archiv für Physiologie. 4:181-186.

Larcher, W. 1980. Physiological plant ecology. 2 ed. Springer-Verlag. Germany.

León Morales, JM.; Sepúlveda Jiménez, G. 2012. El daño por oxidación causado por cobre y la respuesta antioxidante de las plantas. Inter ciencia: Revista de ciencia y tecnología de América. 37(6):805-811.

Lequeux, H.; Hermans, C.; Lutts, S.; Verbruggen, N. 2010. Response to copper excess in *Arabidopsis thaliana*: Impact on the root system architecture, hormone distribution, lignin accumulation and mineral profile. Plant Physiology Biochemistry. 48:673-682.

Lichtenthaler, HK. 1999. The 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants. Annual Review of Plant Physiology. 50:47-65.

López Hernández, A. 2017. Efecto de diferentes métodos de cocción en el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante en brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) y coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*). [PhD Thesis]: [Monterrey]. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Salud Pública y Nutrición.

Lurie, S. 1998. Postharvest heat treatments. Postharvest biology and technology. 14(3):257- 269.

Maestro Durán, R.; León, R.; Ruiz Gutiérrez, V. 1993. Los compuestos fenólicos en la autodefensa de los vegetales. Instituto de la Grasa y sus Derivados (CSIC). Sevilla. 44(6):365-369.

Martínez Ballestra, MC.; López Pérez, L.; Pérez Balibrea, S.; Moreno, C.; García Viguera C., Caravajal Alcaraz, M. 2008. El cultivo del brócoli en aguas salinas ¿es posible algún beneficio? Agrícola vergel: Fruticultura, horticultura, floricultura. 27(315):132-137.

Molina, A. 2018. La influencia del estrés abiótico en la síntesis de metabolitos secundarios de plantas medicinales. [PhD Thesis]. [Tenerife]. Universidad de la Laguna. Facultad de Ciencias de la Salud, Sección Farmacia. Dpto. Botánica, Ecología y Fisiología Vegetal.

Moreno, LP. 2009. Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión. Revista Agronomía Colombiana 27(2):179-191.

Munévar, F. 2004. Relación entre la nutrición y las enfermedades de las plantas. Revista Palmas. 25:171-178.

Munns, R.; Tester, M. Mechanisms of Salinity Tolerance. 2008. Annual Review of Plant Physiology. 59(1):651-81.

Núñez Cuerda, E. 2020. Respuestas a la salinidad en varias especies halófitas adaptadas a diferentes hábitats. [PhD Thesis]. [Andalucía]: Universidad de Jaén.

Pasternak, T.; Rudas, V.; Potters, G.; Jansen, MAK. 2005. Morphogenic effects of abiotic stress: reorientation of growth in *Arabidopsis thaliana* seedlings. Environmental and Experimental Botany. 53:299-314.

Peralta-Pérez, M del R.; Volke-Sepúlveda, T. 2012. La defensa antioxidante en las plantas: Una herramienta clave para la fitorremediación. Revista Mexicana de Ingeniería Química. 11(1).

Pérez Alonso, N; Jiménez, E. 2011. Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante cultivo *in vitro*. Biotecnología Vegetal. 11(4):195-21.

Pérez Balibrea, S. 2011. Incremento de compuestos fitoquímicos bio-activos en brotes de brócoli mediante tratamientos inductores de estrés. [PhD Thesis]. [Murcia]: Dpto. Ciencia y Tecnología de Alimentos, CEBAS-CSIC.

Qasim, M.; Ashraf, M.; Ashraf, M.Y.; Rehman, S.U.; Rha, E.S. 2003. Salt indujo cambios en dos cultivares de canola que difieren en la tolerancia a la sal. Biological Plantarum. 46:629- 632.

Reyes, F.; Villarreal, J.; Cisneros Zevallos, L. 2006. The increase in antioxidant capacity after wounding depends on the type of fruit or vegetable tissue. *Journal of Plant Physiology*. 101(3):1254-1262.

Rice-Evans, CA.; Miller, NJ.; Paganga, G. 1996. Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*. 20:933-956.

Rice-Evans, CA.; Miller, NJ.; Paganga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*. 2:152-159.

Rodríguez Hernández, MC. 2013. Respuestas fisiológicas, moleculares y fitoquímicas de variedades de *Brassica oleracea* (Grupo Itálica) sometidas a estrés abiótico. [PhDThesis]. [Murcia]: Dpto. de Nutrición Vegetal y Dpto. de Ciencia y Tecnología de Alimentos, CEBAS-CSIC.

Rosabal Ayan, L.; Martínez González, L.; Reyes Guerrero, Y.; Dell'Amico Rodríguez, J.; Núñez Vázquez, M. 2014. Aspectos fisiológicos, bioquímicos y expresión de genes en condiciones de déficit hídrico. Influencia en el proceso de germinación. *Revista Cultivos Tropicales*. 35(3):24-35.

Santacoloma Varón, LE; Granados, JE. 2012. Interrelación entre el contenido de metabolitos secundarios de las especies *Gliricidia sepium* y *Tithonia diversifolia* y algunas propiedades fisicoquímicas del suelo. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente. Bogotá, Colombia. Pp.: 53-62.

Sayed Ahmad, B.; Talou, T.; Saad, Z; Hijazi, A.; Merah, O. 2017. The *Apiaceae*: Ethno medicinal family as source for industrial uses. *Industrial Crops and Products*. (109):661-671.

Sepúlveda Jiménez, G.; Porta Ducoing, H.; Rocha Sosa, M. 2003. La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. Sociedad Mexicana de Fitopatología. México. 21(3):355-363.

Sierra Sarmiento, M.; Barros Algarra, R.; Gómez Paternina, D.; Mejía Terán, A.; Suarez Rivero, D. 2018. Productos naturales: metabolitos secundarios y aceites esenciales. Colombia: Entrelibros e-book Solutions. 52pp.

Suarez Medina, K.; Coy Barrera, E. 2016. Diversidad de los compuestos orgánicos bio- activos de origen natural: una singularidad manifestada por la plasticidad en el metabolismo secundario. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*. 2(6):252-269.

Surjadinata, B.; Jacobo Velázquez, D.; Cisneros Zevallos, L. 2017. UVA, UVB and UVC Light Enhances the Biosynthesis of Phenolic Antioxidants in Fresh-Cut Carrot through a Synergistic Effect with Wounding. *Multidisciplinary Digital Publishing Institute*. 22(4):1-13.

Taiz, L.; Zeiger, E. 2010. *Plant Physiology*. 5Th edition. The Benjamin/Cummings. Redwood City, California. USA.

Valares Masa, C. 2011. Variación del metabolismo secundario en plantas debida al genotipo y ambiente. [PhD Thesis]. [Badajoz]: Departamento de Biología Vegetal, Ecología y Ciencias de la Tierra.

Vallejo Cabrera, F.; Estrada Salazar, E. 2004. El cultivo de cilantro para follaje. En: *Producción de hortalizas de clima cálido*. Cali: Universidad Nacional de Colombia. Editorial UNE. Pp.: 290-310.

Vargas Rincón, C.; Sánchez León, G.; Jiménez, P. 2013. La Producción de Metabolitos Secundarios en la Familia *Brassicaceae*. *Universidad Militar Nueva Granada*. 9(2):282-305.

Vilella, A.; González Paleo, L.; Ravetta, D. 2011. Metabolismo secundario de plantas leñosas de zonas áridas: mecanismos de producción, funciones y posibilidades de aprovechamiento. *Asociación Argentina de Ecología*. Pp.: 1-7.

Vivanco, J.; Cosio, E.; Loyola Vargas, V.; Flores, H. 2005. Mecanismos químicos de defensa de las plantas. *Revista de Investigación y Ciencia*. México. 341(2):68-75.

Wahid, A. 2007. Physiological implications of metabolite biosynthesis for net assimilation and heat-stress tolerance of sugarcane (*Saccharum officinarum*) sprouts. *J. Plant Research*. 120:219-228.

Walters, D. 2010. ¿What defenses do plants use? En: Walters D. (Ed.). *Plant defense: Warding*

off attack by pathogens, pests and vertebrate herbivores. Wiley-Blackwell, USA.Pp.: 15-75.

Warwick, SI.; Francis, A.; Al-Shehbaz, IA. 2006. *Brassicaceae*: Species checklist and database on CD-Rom. Plant Systematic and Evolution. 259: 249-258.

Zhao, S.; Liu, Q.; Qi, Y.; Duo L. 2010. Responses of root growth and protective enzymes to copper stress in turf grass. Acta Biologica Cracoviensia. Series Botanical. 52:7-11

