

# Función de la Lignina en la Interacción Planta-Nematodos Endoparásitos Sedentarios

## Role of Lignin in the Plant- Sedentary Endoparasitic Nematodes Interaction

**Erika Lagunes-Fortiz y Emma Zavaleta-Mejía**, Laboratorio de Fisiología y Fitopatología Molecular, Especialidad de Fitopatología, Instituto de Fitosanidad, Colegio de Posgraduados, km 36.5 Carretera México- Texcoco, Montecillo, Texcoco, Estado. México, CP 56230, México. Correspondencia: (zavaleta@colpos.mx).

**Recibido:** 1 de Julio, 2015.

**Aceptado:** 16 de Noviembre, 2015.

Lagunes-Fortiz E y Zavaleta-Mejía E. 2016. Función de la Lignina en la Interacción Planta-Nematodos Endoparásitos Sedentarios. *Revista Mexicana de Fitopatología* 34, 43-63.

DOI: [10.18781/R.MEX.FIT.1506-7](https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1506-7)

Primera publicación DOI: 26 de Noviembre, 2015.

First DOI published: November 26, 2015.

**Resumen.** Los nematodos endoparásitos sedentarios introducen en el hospedante, a través de su estilete, moléculas efectoras que son previamente sintetizadas en sus glándulas esofágicas, las cuales inducen una reprogramación de la expresión génica en las células del hospedante para provocar modificaciones en el metabolismo, fisiología y estructura celular del hospedante, necesarios para la formación de sitios especializados de alimentación. La planta responde expresando mecanismos de defensa como el incremento de la actividad de enzimas clave de la ruta de los fenilpropanoides, mediante la cual se sintetizan metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas y monómeros que conforman la lignina, que tienen un papel estructural y de defensa en las plantas. Dependiendo de los cambios que se induzcan en su síntesis será el tipo de interacción planta-nematodo que se

**Abstract.** Sedentary endoparasitic nematodes introduce into their host, through its stylet, effector molecules that are previously synthesized in their esophageal glands, which induce reprogramming of gene expression in the host cells to promote changes in their metabolism, physiology and structure, necessary for the formation of the specialized feeding sites. The plant responds by expressing defense mechanisms such as the increase in the activity of key enzymes in the phenylpropanoid pathway, involved in the synthesis of secondary metabolites with antimicrobial properties and monomers that make up the lignin, which has a structural and defense roles in plants. The plant-nematode interaction established (compatible or incompatible), will depend on whether the changes induced in the lignin synthesis are favorable or not for the differentiation of the specialized feeding site. The aim of this review is to present information on the biosynthesis, composition and deposition of lignin, as well as the updated knowledge on its role as a potential physical barrier against the establishment of phytonematodes in incompatible interactions and their possible participation in the formation of specialized feeding sites in compatible interactions.

establezca (comptible o incompatible), en función de si los cambios son o no favorables para la diferenciación del sitio especializado de alimentación. Esta revisión tiene como objetivo presentar información sobre la biosíntesis, composición y deposición de lignina, así como el conocimiento que a la fecha se tiene, en su función como barrera física potencial contra el establecimiento de nematodos fitopatógenos en interacciones incompatibles, y su posible participación durante el proceso de formación de los sitios especializados de alimentación en las compatibles.

**Palabras clave adicionales:** lignina; monolignoles, pared celular, interacciones, nematodos endoparásitos.

La lignina es un polímero tridimensional complejo cuyas subunidades aromáticas son sintetizadas a través de la ruta de los fenilpropanoides (Dixon *et al.*, 2002), es además un componente fundamental que refuerza y proporciona rigidez a los tejidos vegetales (Dixon *et al.*, 2002; Weng y Chapple, 2010) y se deposita de manera abundante en células específicas de las plantas como las escleridas, traqueidas, elementos de los vasos, y fibras del xilema y floema (Vance *et al.*, 1980; Dixon *et al.*, 2002). La lignina se considera también un mecanismo de defensa importante, su biosíntesis y deposición en paredes celulares se incrementa cuando las plantas son sometidas a estrés de tipo biótico o abiótico (Weng y Chapple, 2010). Por si misma, la lignina constituye una barrera física inicial contra el ingreso de fitopatógenos en el hospedante y en algunos casos limita su crecimiento o los confina (Wuyts *et al.*, 2006). Al depositarse en las paredes celulares incrementa su resistencia a la degradación por enzimas (Wuyts *et al.*, 2006; Menden *et al.*, 2007), limita la difusión de toxinas secretadas por el patógeno y la de nutrientes del hospedante

**Additional key words:** lignin, monolignols, cell wall, interactions, endoparasitic nematodes.

Lignin is a complex three-dimensional polymer, whose aromatic subunits are synthesized through the phenylpropanoid pathway (Dixon *et al.*, 2002). It is also a basic component that reinforces and provides rigidity to plant tissues (Dixon *et al.*, 2002; Weng and Chapple, 2010) and is deposited abundantly in specific plant cells such as scleroids, tracheids, elements of the vessels, and xylem and phloem fibers (Vance *et al.*, 1980; Dixon *et al.*, 2002). Lignin is also considered an important defense mechanism; its biosynthesis and deposition in cell walls increases when plants undergo biotic or abiotic stress (Weng and Chapple, 2010). On its own, lignin is an initial physical barrier against the entry of pathogens in the host and, in some cases, it limits their growth or confines them (Wuyts *et al.*, 2006). Deposited on cell walls, it increases its resistance to degradation by enzymes (Wuyts *et al.*, 2006; Menden *et al.*, 2007), it limits the diffusion of toxins secreted by the pathogen and of nutrients from the host to the pathogen, and is also a source for the production of toxic precursors and free radicals (Nicholson and Hammerschmit, 1992).

In plant-nematode interactions, the stylets of nematodes participate in the penetration of the cell walls of its host, they help ingest the cell content and inject the effectors produced in their esophageal glands, to induce the modification of the host cells to form feeding cells. In the case of root-knot nematodes, they are known as giant cells, and are basically a product of repeated nuclear divisions without cytokinesis, whereas those induced by cyst nematodes are known as syncytia, and are a result of the fusion between protoplasts and the gradual breakup of the walls of cells that form them; both specialize feeding sites (SFS) make up a highly metabolic and multinucleated structure which will be the nematode's food source, and it

hacia el patógeno, constituye además una fuente para la producción de precursores tóxicos y radicales libres (Nicholson y Hammerschmit, 1992).

En las interacciones planta-nematodo, el estilete de los nematodos participa en la penetración de las paredes celulares de su hospedante, ayuda a ingerir el contenido celular y sirve además como canal conductor de los efectores producidos en sus glándulas esofágicas, los cuales inducen la modificación de las células de alimentación de los nematodos, en el caso de los nematodos agalladores se conocen como células gigantes y básicamente son producto de divisiones nucleares repetidas sin citocinesis, mientras que los inducidos por nematodos enquistadores se conocen como sincitios, y son producto de la fusión de protoplastos y la disolución gradual de las paredes de las células que los integran; ambos sitios especializados de alimentación (SEA) constituyen células de alimentación altamente metabólicas y multinucleadas, que serán la única fuente de alimentación del nematodo y le aportarán los nutrientes requeridos para su crecimiento y desarrollo (Hussey, 1989; Ithal *et al.*, 2007; Gheysen y Mitchum, 2011; Mitchum *et al.*, 2013). Una modificación importante que ocurre en las células hospedantes es la alteración en la lignificación de las paredes celulares; de la formación exitosa del SEA dependerá que el nematodo pueda establecerse y completar su ciclo de vida. En la presente revisión se describe la biosíntesis, estructura y composición de la lignina y el conocimiento que a la fecha se tiene de su función en la interacción planta-nematodo, tanto compatible como incompatible.

### **Biosíntesis y composición de la lignina**

La lignina es un componente fundamental de la pared celular (PC) vegetal; la PC es un complejo extracelular dinámico, que además de la lignina, está básicamente formada por celulosa, hemicelulosa, pectina, proteínas, cutina, suberina y sales

will provide the nutrients required for its growth and development (Hussey, 1989; Ithal *et al.*, 2007; Gheysen and Mitchum, 2011; Mitchum *et al.*, 2013). An important modification that takes place in the host cells is the alteration in the lignification of cell walls; whether the nematode will stay and complete its life cycle will depend on the successful formation of the SFS. This review describes the biosynthesis, structure, and composition of lignin and the knowledge there is to this day on its function in the plant-nematode interaction, both compatible and incompatible.

### **Biosynthesis and Composition of Lignin.**

Lignin is a basic component of the cell wall (CW) in plants; the CW is a dynamic, extracellular complex that is formed by lignin, but also by cellulose, hemicellulose, pectin, proteins, cutin, suberin, mineral salts, and others (Bonawitz and Chapple, 2010).

Lignin biosynthesis implies the participation of two metabolic pathways, starting with the shikimate pathway for the production of L-phenylalanine and L-tyrosine, and the phenylpropanoid pathway from L-phenylalanine to the final biosynthesis of the cinnamyl alcohols (Figure 1.) (Boerjan and Baucher, 2003); in the latter pathway, not only lignin is synthesized; also, other phenolic compounds, such as (e)-stilbenes, coumarins, flavonoids and some phytoalexins (Dixon *et al.*, 2002).

The synthesis of lignin monomers (monolignols) begins with the de-amination of the phenylalanine to form cinnamic acid, and later a series of hydroxylations and subsequent *O*-methylation modify the aromatic rings of the cinnamic acid, reducing its lateral chain from an acid to an alcohol. This results in the production of monolignols: paracoumaryl alcohol (4-hidroxicinnamyl), conferyl alcohol (3-methoxy 4-hidroxicinnamyl), and sinapyl alcohol (3,5-dimethoxy

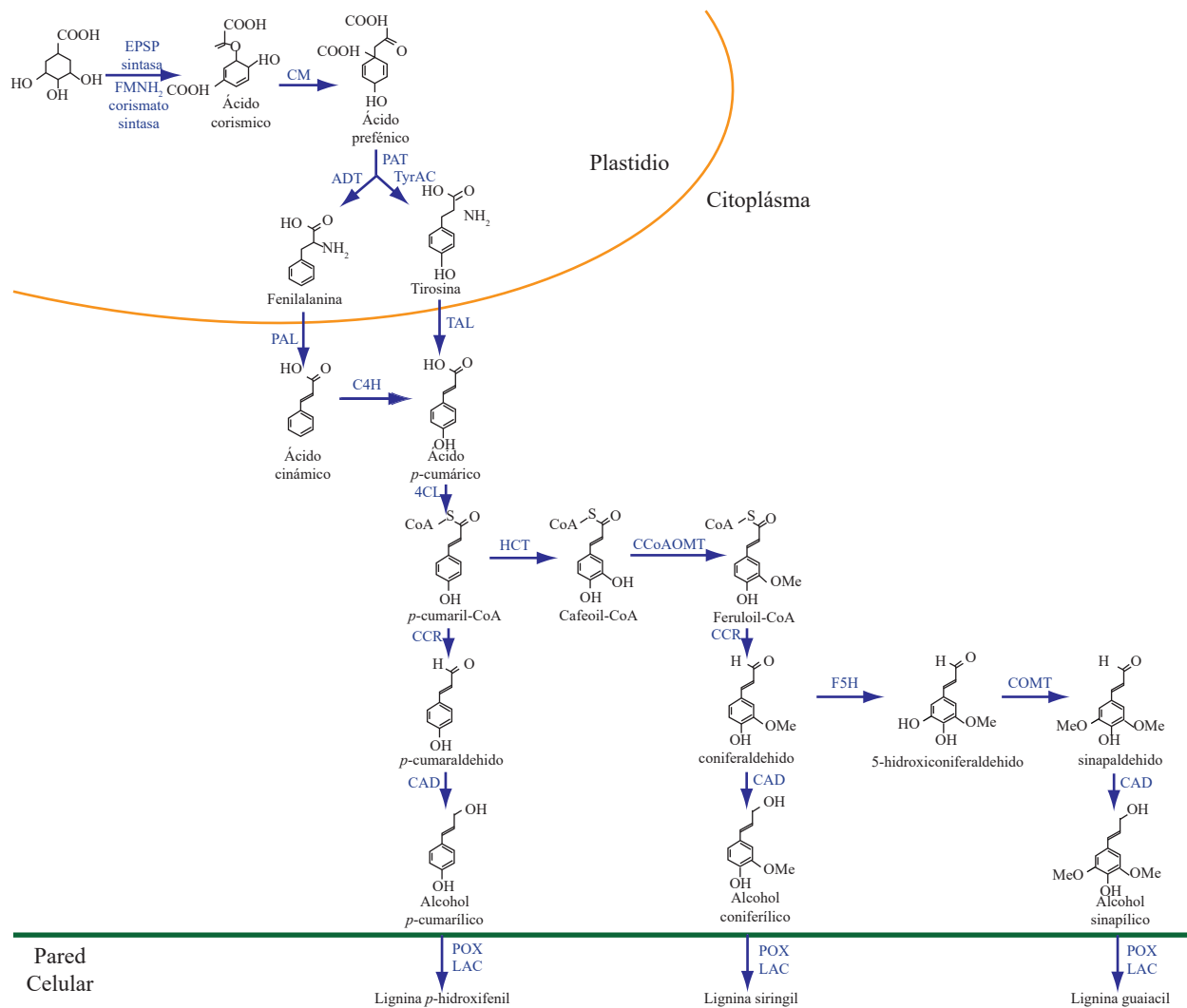
minerales, entre otros (Bonawitz y Chapple, 2010).

La biosíntesis de lignina implica la participación de dos rutas metabólicas comenzando por la ruta del shikimato para la producción de L-fenilalanina y L-tirosina, y la ruta fenilpropanoide desde la L-fenilalanina hasta la biosíntesis final de los alcoholes cinámicos (Figura 1) (Boerjan y Baucher, 2003); en esta última ruta, además de la lignina, también se sintetizan otros compuestos fenólicos, como estilbenos, coumarinas, flavonoides y algunas fitoalexinas (Dixon *et al.*, 2002).

La síntesis de los monómeros de lignina (monolignoles) comienza con la des-aminación de la fenilalanina para formar ácido cinámico, posteriormente una serie de hidroxilaciones y subsecuentes reacciones de *O*-metilación modifican los anillos aromáticos del ácido cinámico reduciendo su cadena lateral de un ácido a un alcohol. Esto da como resultado la producción de los monolignoles: alcohol *p*-coumarílico (4-hidroxicinámico), alcohol coniferílico (3-metoxi 4-hidroxicinámico) y alcohol sinapílico (3,5-dimetoxi 4-hidroxicinámico); éstos difieren en su grado de metoxilación, el alcohol coniferílico presenta un grupo metoxilo (-OCH<sub>3</sub>) en la posición 3 del anillo aromático, el sinapílico dos metoxilos en sus posiciones 3 y 5, y el *p*-coumarílico carece de sustituyentes en su anillo aromático. Después de su incorporación al polímero de lignina, estos monómeros se refieren como unidades *p*-hidroxifenil (H), guaiacil (G) y siringil (S), respectivamente, y su disposición y abundancia determinan las propiedades físicas de la PC (Rastogi y Dwivedi, 2007; Vanholme *et al.*, 2008; Bonawitz y Chapple, 2010; Vanholme *et al.*, 2010). En general, los monómeros G y S son los principales componentes de la lignina en dicotiledóneas angiospermas, mientras que en gimnospermas la lignina consiste principalmente de monómeros de G con bajos niveles de unidades H, en cambio los pastos contienen mayor cantidad de unidades H

4-hidroxicinnamyl); these differ in their degrees of methoxylation, coniferyl alcohol displays a methoxyl group (-OCH<sub>3</sub>) in the position 3 of the aromatic ring, sinapyl has two methoxyls in its positions 3 and 5, and paracoumaryl lacks substitutes in its aromatic ring. After their incorporation into the lignin polymer, these monomers are referred as *p*-hydroxyphenyl (H), guaiacol (G), and syringyl (S) units respectively, and their dispositions and abundance determine the physical properties of the CW (Rastogi and Dwivedi, 2007; Vanholme *et al.*, 2008; Bonawitz and Chapple, 2010; Vanholme *et al.*, 2010). In general, monomers G and S are the main components of lignin in dicotyledon angiosperms, whereas in gymnosperms, lignin consists mostly of G monomers with low levels of H units, and grasses contain more H units than dicotyledons (Bonawitz and Chapple, 2010). Although lignin is generally composed of H, G, and S units, in transgenic plants with alterations of the genes that codify for both *O*-methyltransferases: CCoAOMT and COMT; atypical lignin units have also been identified, such as catechol (C) and 5-hydroxy-guaiacyl (5H) (Marita *et al.*, 2003; Vanholme *et al.*, 2010; Weng and Chapple, 2010).

The biosynthesis of monolignols requires the participation of 10 enzymes: phenylalanine ammonia lyase (PAL), three cytochrome P450-monoxygenases (cinnamate-4-hydroxylase, *p*-coumarate-3-hydroxylase and ferulate-5-hydroxylase, C4H, C3H, and F5H, respectively), two methyltransferases (caffeoyl-CoA-*O*-methyltransferase and caffeic acid caffeate-*O*-methyltransferase, CCoAOMT and COMT, respectively), and two oxidoreductases (cinnamoyl-CoA-reductase and cinnamyl-alcohol dehydrogenase, CCR and CAD, respectively), as well as the enzymes 4-coumarate CoA ligase (4CL) and hydroxycinnamoyl-CoA shikimate (HCT), which are required for the synthesis of the



**Figura 1.** Rutas del shikimato (plastidio) y fenilpropanoide (citoplasma) para la biosíntesis de lignina. EPSP sintasa: ácido 5-enolpiruvilshikímico 3-P sintasa; FMNH<sub>2</sub> corismato sintasa: flavin mononucleótido corismato mutasa; CM: corismato mutasa; PAT: prefenato aminotransferasa; ADT: arogenato deshidratasa; TyrAC: arogenato deshidrogenasa; PAL: fenilalanina amonio liasa; TAL: tirosina amoniaco liasa; C4H: cinamato-4-hidroxilasa; 4CL: 4-cumarato:CoA ligasa; HCT: hidroxycinnamoyl transferasa; CCoAOMT: cafeoil CoA-*O*-metiltransferasa; CCR: cinamoyl-CoA reductasa; F5H: ferulato 5-hidroxilasa; COMT: ácido caféico *O*-metiltransferasa; CAD: cinamil alcohol deshidrogenasa; POX: peroxidasas; LAC: lacasas. Modificado de Liu (2012).

**Figure 1.** Pathways of shikimate (plastid) and phenylpropanoid (cytoplasm) for the biosynthesis of lignin. EPSP synthase: acid 5-enolpyruvylshikimate-3-P synthase; FMNH<sub>2</sub> chorismate synthase: flavin mononucleotide chorismate mutase; CM: chorismate mutase; PAT: prephenate aminotransferase; ADT: Arogenate dehydratase; TyrAC: arogenate dehydrogenase; PAL: phenylalanine ammonia lyase; TAL: tyrosine ammonia lyase; C4H: cinnamate-4-hydroxylase; 4CL: 4-coumarate:CoA ligase; HCT: hydroxycinnamoyl transferase; CCoAOMT: caffeoyl CoA-*O*-methyltransferase; CCR: cinnamoyl-CoA reductase; F5H: ferulate 5-hydroxylase; COMT: caffeic acid *O*-methyltransferase; CAD: cinnamyl alcohol-dehydrogenase; POX: peroxidases; LAC: lacasses. Modified from Liu (2012).

que las dicotiledóneas (Bonawitz y Chapple, 2010). Aunque la lignina generalmente se compone de las

different intermediaries that act as substrates in later reactions (Bonawitz and Chapple, 2010).

unidades H, G y S, en plantas transgénicas en las que se han alterado los genes que codifican para las dos enzimas *O*-metiltransferasas: CCoAOMT y COMT también se han identificado unidades atípicas de lignina como catecol (C) y 5-hidroxiguaiacil (5H) (Marita *et al.*, 2003; Vanholme *et al.*, 2010; Weng y Chapple, 2010).

Para la biosíntesis de monolignoles se requiere de la participación de 10 enzimas: fenilalanina amonio liasa (PAL), tres citocromo P450-monooxigenasas (cinamato-4-hidroxilasa, *p*-cumarato-3-hidroxilasa y ferulato-5-hidroxilasa, C4H, C3H y F5H, respectivamente), dos metiltransferasas (cafeoil-CoA-*O*-metiltransferasa y ácido caféico-*O*-metil-transferasa, CCoAOMT y COMT, respectivamente) y dos oxidoreductasas (cinamoil-CoA-reductasa y cinamoil alcohol deshidrogenasa, CCR y CAD, respectivamente), además de las enzimas 4-cumarato CoA ligasa (4CL) e hidroxicinamoil-CoA shikimato (HCT), las cuales son requeridas para la síntesis de los diferentes intermediarios que sirven como sustratos en reacciones posteriores (Bonawitz y Chapple, 2010).

Los monómeros de lignina se unen covalentemente a hemicelulosas y proveen de fuerza y rigidez a la PC de la planta y al sistema vascular le confieren la hidrofobicidad necesaria para el transporte de agua y solutos (Vanholme *et al.*, 2008); la lignina puede clasificarse en condensada y no condensada con base en el tipo de enlace que se establece entre los monolignoles y entre éstos y otros componentes de la PC (Cuadro 1). En la composición de la PC también participan los ácidos *p*-hidroxicinámicos (principalmente *p*-cumárico y ferúlico), los cuales contribuyen a la unión de la lignina con la hemicelulosa mediante enlaces éster y éter; el ácido ferúlico, es el principal responsable de los puentes entre la lignina y los polisacáridos, mientras que las uniones entre monómeros dan lugar a la conformación de una estructura tridimen-

Lignin monomers are bonded covalently to hemicelluloses and provide the plant's CW with strength and rigidity and gives the vascular system with the hydrofobicity it needs to carry water and solutes (Vanholme *et al.*, 2008); lignin can be classified as condensed and non-condensed, based on the type of bond established between the monolignols and between the former and latter components of the CW (Table 1). Also involved in the composition of the CW are *p*-hydroxycinnamic acids (mainly *p*-coumaric and ferulic acids) which contribute to the linkage of lignin with the hemicelulose by ester-ester bonds; ferulic acid is responsible for the bridges between lignin and polysaccharides, whereas bonds between monomers give way to the formation of a new three-dimensional structure (Sun *et al.*, 2002).

Both the lignification of the CW and the incorporation of each monomer are regulated in space and time and vary with the plant species, age, and tissue, and also depending on whether the cell walls are primary or secondary. In early stages of lignification, the coniferyl alcohol is copolymerized with small amounts of *p*-coumaryl in the primary wall to form lignins G and H and during the growth of the secondary CW the amount of sinapyl alcohol is copolymerized with the coniferyl alcohol to form lignin S and G (Grabber, 2005).

The monolignols precursors to lignina are synthesized in the endoplasmic reticulum of the cytosol and are later transported to the cell wall, where they are finally deposited (Santiago *et al.*, 2013). Given its relative toxicity for the cell, it has been suggested that they are exported in the form of monolignols-glucosides and once in the CW, they are converted by the action of peroxidases and/or laccases, to the units H, G, or S. The deposition of each unit in the plant tissue is controlled spacially and temporarily; first, the H units are deposited, followed by G, and finally, S (Dixon *et al.*, 2002; Bonawitz and Chapple, 2010; Santiago *et al.*,

**Cuadro 1.** Características de la lignina condensada y no condensada.**Table 1.** Characteristics of condensed and non-condensed lignin.

Características	Condensada	No condensada
Tipo de enlace entre monolignoles	Enlaces C-C ( $\beta$ -5, $\beta$ -1, 5-5 y $\beta$ - $\beta$ )	Enlaces aril-alquil éter ( $\beta$ -O-4 y 4-O-5)
Tipo de monolignoles	H y G	S
Estructura de la lignina	Ramificada	Lineal
Polimerización	Mayor polimerización	Menor polimerización
Degradabilidad	Más resistentes a la degradación, recalcitrante	Fácil degradación

C-C: enlaces carbono-carbono; H: *p*-hidroxifenil; G: guaiacyl; S: siringil / C-C: carbon-carbon bonds; H: *p*-hydroxyphenyl; G: guaiacol; S: syringyl.

sional (Sun *et al.*, 2002).

Tanto la lignificación de la PC como la incorporación de cada monómero están reguladas en el espacio y en el tiempo y varían de acuerdo a la especie de planta, edad y tejido, y de si se trata de paredes celulares primarias o secundarias. En etapas tempranas de lignificación, el alcohol coniferílico se copolimeriza con pequeñas cantidades de *p*-coumarílico en la pared primaria para formar ligninas G y H y durante el desarrollo de la PC secundaria, se incrementa el contenido de alcohol sinapílico que se copolimeriza con el coniferil alcohol para formar lignina S y G (Grabber, 2005).

Los monolignoles precursores de la lignina, se sintetizan en el retículo endoplásmico del citosol y posteriormente se transportan a la PC en donde finalmente se depositan (Santiago *et al.*, 2013). Dada su relativa toxicidad a la célula, se ha sugerido que se exportan en forma de monolignoles-glucósidos y ya en la PC son convertidos, mediante la acción de peroxidasas y/o lacasas, a las unidades H, G o S. La deposición de cada unidad en el tejido de la planta se controla espacial y temporalmente; primero se depositan las unidades H, enseguida las G y al final las S (Dixon *et al.*, 2002; Bonawitz y Chapple, 2010; Santiago *et al.*, 2013). La composición y características de la lignina, son determinadas por la abundancia de cada uno de los monolignoles y varían considerablemente entre taxones, tipos de células, e incluso entre capas de las paredes celulares

(2013). The composition and characteristics of lignin are determined by the abundance of each one of the monolignols and vary considerably between taxons, cell types, and even between layers of the cell walls; environmental factors and the growth of the plant itself also contribute (Boerjan and Baucher, 2003; Bonawitz and Chapple, 2010; Vanholme *et al.*, 2010; Weng and Chapple, 2010).

Lignification is a highly coordinated process, and is regulated by a set of harmonized metabolic events; so far the action of 10 enzymes have been identified in the monolignols synthesis process (Sattler and Funnell-Harris, 2013). In the different species of plants, the synthesis of most of these enzymes is directed by the action of different genes and proteins present in multiple isoforms that vary in their kinetic properties and their distribution in the plant; however, the large amount of substrates, as well as the extense family of genes has made it difficult to identify and characterize the isoforms that are specifically involved in the lignification process (Bonawitz and Chapple, 2010).

PAL participates in the syntheses of different compounds of the primary and secondary metabolism, it catalyzes the non-oxidative deamination of L-phenylalanine to *trans*-cinnamic acid and is involved in the biosynthesis of salicylic acid (SA) and other phenolic compounds such as chlorogenic acid and the phytoalexins, flavonoids with antimicrobial properties, all involved

res; también contribuyen los factores ambientales y el desarrollo mismo de la planta (Boerjan y Boucher, 2003; Bonawitz y Chapple, 2010; Vanholme *et al.*, 2010; Weng y Chapple, 2010).

La lignificación es un proceso altamente coordinado y regulado por un conjunto de eventos metabólicos armonizados, hasta ahora se ha identificado la acción de 10 enzimas durante el proceso de síntesis de monolignoles (Sattler y Funnell-Harris, 2013). En las diferentes especies de plantas, la síntesis de la mayoría de estas enzimas es dirigida por la acción de diversos genes y las proteínas presentan múltiples isoformas que varían en sus propiedades cinéticas y en su distribución en la planta; sin embargo, la gran cantidad de sustratos, así como la extensa familia de genes ha dificultado la identificación y caracterización de las isoformas que están específicamente involucradas en el proceso de lignificación (Bonawitz y Chapple, 2010).

La PAL, participa en la síntesis de diferentes compuestos del metabolismo primario y secundario, cataliza la des-aminación no oxidativa de la L-fenilalanina a ácido *trans*-cinámico y está involucrada en la biosíntesis de ácido salicílico (SA) y otros compuestos fenólicos como el ácido clorogénico y las fitoalexinas, flavonoides con propiedades antimicrobianas, todos ellos implicados en la defensa en las plantas (Huang *et al.*, 2010). Consecuentemente, alteraciones en la expresión del gen *PAL* tiene un impacto fundamental durante las interacciones planta-patógeno (Sattler y Funnell-Harris, 2013), ya que participa en la formación de complejos enzimáticos, conocidos como metabolones o compartimentos metabólicos, responsables de la canalización metabólica para la síntesis de los diversos compuestos fenólicos (Rasmussen y Dixon, 1999). La síntesis de la enzima es inducida por diferentes tipos de estrés biótico y abiótico (Dixon y Paiva, 1995; MacDonald y D’Cunha, 2007).

La enzima C4H cataliza la hidroxilación del cinamato para producir 4-Coumarato, también cono-

in the defense of plants (Huang *et al.*, 2010). Consequently, alterations in the expression of the gene *PAL* has a crucial impact during plant-pathogen interactions (Sattler and Funnell-Harris, 2013), since it participates in the formation of enzymatic complexes, known as metabolons or metabolic compartments, responsible for the metabolic channeling for the synthesis of the diverse phenolic compounds (Rasmussen and Dixon, 1999). The enzyme synthesis is induced by different types of biotic and abiotic stress (Dixon and Paiva, 1995; MacDonald and D’Cunha, 2007).

The enzyme C4H catalyzes the hydroxylation of the cinnamate to produce 4-Coumarate, also known as paracoumarate (Fraser and Chapple, 2011), which along with enzymes F5H and C3H are mono-oxygenases dependant on cytochrome P450 that are involved in the biosynthesis of monolignols (Ehlting *et al.*, 2006; Boudet, 2007).

Enzyme 4CL catalyzes the formation of ATP dependant on the CoA thioester 4-coumaroyl CoA (*p*-coumaroylCoA). This enzyme not only is the point of entry for the biosynthesis of phenylpropanoids compounds, but also for other types of secondary metabolites such as proanthocyanidins, tannins, flavonoids, isoflavonoids, and phytoalexins (Allina *et al.*, 1998; Ehlting *et al.*, 1999; Ehlting *et al.*, 2001; Fraser and Chapple, 2011). Like PAL and C4H, 4CL exists as a family of multigenes, and although its resulting isoforms have not been fully characterized, they seem to have different functions in the secondary metabolism of plants; since its activity in different substrates and space and time expression patterns suggest different physiological functions (Ehlting *et al.*, 1999; Ehlting *et al.*, 2001; Raes *et al.*, 2003; Costa *et al.*, 2005). For example, in *Arabidopsis* isoforms *At4CL1* and *At4CL2* seem to be involved in lignification, whereas *At4CL3* acts in the biosynthesis of flavonoids (Ehlting *et al.*, 1999) and *At4CL4* probably acts in the activation of sinapate (Hamberger and Hahlbrock, 2004). During



cido como *p*-coumarato (Fraser y Chapple, 2011), ésta y las enzimas F5H y C3H son monooxigenasas dependientes del citocromo P450 que están involucradas en la biosíntesis de monolignoles (Ehlting *et al.*, 2006; Boudet, 2007).

La enzima 4CL cataliza la formación de ATP dependiente del CoA tioester 4-coumaril CoA (*p*-coumaroil CoA). Esta enzima además de representar el punto de entrada para la biosíntesis de compuestos fenilpropanoides, también lo es para otro tipo de metabolitos secundarios, como las proantocianidinas, taninos, flavonoides, isoflavonoides y fitoalexinas (Allina *et al.*, 1998; Ehlting *et al.*, 1999; Ehlting *et al.*, 2001; Fraser y Chapple, 2011). Al igual que PAL y C4H, 4CL existe como una familia de multigenes y aunque sus isoformas resultantes no han sido del todo caracterizadas parecen tener diferentes funciones en el metabolismo secundario de las plantas; pues su actividad en diferentes sustratos y patrones de expresión espacio-temporales, sugieren distintas funciones fisiológicas (Ehlting *et al.*, 1999; Ehlting *et al.*, 2001; Raes *et al.*, 2003; Costa *et al.*, 2005). Por ejemplo, en *Arabidopsis* las isoformas *At4CL1* y *At4CL2* parecen estar involucradas en la lignificación, mientras que *At4CL3* actúa en la biosíntesis de flavonoides (Ehlting *et al.*, 1999) y *At4CL4* probablemente participa en la activación de sinapato (Hamberger y Hahlbrock, 2004). Durante la última etapa de la biosíntesis de monolignoles en gimnospermas, los aldehídos *p*-coumarílico, coniferílico y sinapílico, son transformados a su correspondiente alcohol por la enzima CAD (Fraser y Chapple, 2011), mientras que en angiospermas SAD (sinapil alcohol deshidrogenasa) es requerida para la biosíntesis de unidades S (Li *et al.*, 2001).

#### **Modificaciones de la PC durante la formación del SEA inducido por nematodos endoparásitos sedentarios.**

Aunque en etapas tempranas las células que dan

the last stage of the biosynthesis of monolignols in gymnosperms, aldehydes *paracoumaryl*, *coniferyl*, and *sinapyl* aldehydes are transformed into their corresponding alcohol by the enzyme CAD (Fraser and Chapple, 2011), while in angiosperms SAD (sinapyl alcohol dehydrogenase) is required for the biosynthesis of S units (Li *et al.*, 2001).

#### **Modifications of the CW during the formation of the SFS induced by Sedentary Endoparasitic Nematodes.**

Although in early stages the cells that give way to the formation of giant cells and the syncytia undergo similar changes, throughout the period of formation of SEAs the progressive molecular dialog between the nematode and its host presents distinctive features, depending on whether it is a nematode that induces the formation of giant cells or syncytia; this in turn produces structural differences between both types of SFS. Changes in the CW include modifications in the thickness and extension of the CW, as well as the formation of invaginations in areas adjacent to the xylem vessels, both in giant cells and in syncytia.

In the formation of giant cells, the initial expansion zones where the thickening of the CW begins, are the first to form; these changes then extend to cover large areas of it (Rodiuc *et al.*, 2014). The mechanisms used to regulate the deposition of new material to the CW and its thickening vary, and as the giant cells form, highly reticulated regions are created from these expansion zones that resemble CW labyrinths called “invaginations”, through which the transportation of solutes into and out of the giant cell intensifies (Vieira *et al.*, 2012; Rodiuc *et al.*, 2014). Such invaginations develop throughout the process of maturation of the nematode and degenerate once it reaches its maturity and completes its life cycle (Rodiuc *et al.*, 2014).

lugar a la formación de las células gigantes y los sincitios sufren cambios similares, a lo largo del periodo de formación de los SEA, el diálogo molecular progresivo entre el nematodo y su hospedante, presenta particularidades dependiendo de si se trata de un nematodo que induce la formación de células gigantes o de sincitio; esto a su vez genera diferencias estructurales entre ambos tipos de SEA. Los cambios en la PC incluyen modificaciones en el engrosamiento y extensión de la PC, así como la formación de invaginaciones en zonas contiguas a los vasos del xilema, tanto en células gigantes como en sincitios.

En la diferenciación de las células gigantes primero se forman zonas iniciales de expansión donde comienza el engrosamiento de la PC, estos cambios se extienden para abarcar grandes regiones de la misma (Rodiuc *et al.*, 2014). Los mecanismos mediante los cuales se regula la deposición de nuevo material a la PC así como su engrosamiento son variables, y a medida que la formación de las células gigantes progresa, a partir de esas zonas de expansión se generan regiones altamente reticuladas que asemejan laberintos de PC llamadas “invaginaciones”, a través de las cuales se intensifica el transporte de solutos hacia adentro y afuera de la célula gigante (Vieira *et al.*, 2012; Rodiuc *et al.*, 2014). Dichas invaginaciones se desarrollan a lo largo del proceso de maduración del nematodo y degeneran una vez que éste alcanza su madurez y completa su ciclo de vida (Rodiuc *et al.*, 2014).

Existen reportes que revelan la importancia de los plasmodesmos durante la formación de los SEA. Los plasmodesmos son canales de membrana localizados en las paredes celulares y aportan continuidad citoplasmática entre las células, conformando una red de intercambio intercelular. De manera natural estos plasmodesmos se encuentran distribuidos en la PC de forma dispersa, mientras que en el caso de las células gigantes se forma una

There are reports that reveal the importance of the plasmodesmata during the formation of the SFS. Plasmodesmata are membrane canals located in the cell walls, which provide cytoplasmic continuity between cells, creating a network of intercellular exchange. In a natural way, these plasmodesmata are found dispersed in the CW, while in the case of giant cells, a large amount of them is formed between the walls of giant cells and on the walls that surround them (Hofmann *et al.*, 2010). This suggests the existence of a massive solute transportation system via symplast (Hofmann *et al.*, 2010; Vieira *et al.*, 2012). In addition, the flow of nutrients to and from the giant cells can also be mediated by specialized transport proteins located in the membrane (Rodiuc *et al.*, 2014).

From the beginning of the formation of the syncytium, the dissolution of cell walls, alterations in their configuration, and increases in their syntheses are evident. These changes are necessary for both the formation of invaginations in areas near the xylem and for the thickening of the CW that surrounds the syncytium (Golinowski *et al.*, 1996; Rodiuc *et al.*, 2014); since although the cell walls that make up the syncytium break, the cell walls that confine it extend and thicken to resist the increase in pressure created inside the SFS (Golinowski *et al.*, 1996). In addition, the deposition of new material obstructs the existing plasmodesmata and some neighboring cells divide and fuse and others differentiate in the new xylem (vessels) and phloem (sieve tube elements) tissues (Hoth *et al.*, 2008; Rodiuc *et al.*, 2014). As in giant cells, during the conformation of the syncytium, CW invaginations takes place near the xylem and phloem, which are elongated, branched, and form sophisticated reticulations that expand apically, making the basal parts of the invaginations fuse and wide CW thicknesses form. However, these invaginations are only evident 5 to 7 days after the

gran cantidad de ellos entre las paredes de las células gigantes y también en las paredes de las células que las rodean (Hofmann *et al.*, 2010). Lo anterior sugiere la existencia de un sistema de transporte masivo de solutos vía simplasto (Hofmann *et al.*, 2010; Vieira *et al.*, 2012). Adicionalmente, el flujo de nutrientes fuera y dentro de las células gigantes también puede estar mediado por proteínas de transporte especializadas localizadas en la membrana (Rodiuc *et al.*, 2014).

Durante el inicio de la formación del sincitio son evidentes la disolución de las paredes celulares, las alteraciones en su configuración y los incrementos en su síntesis. Estos cambios son necesarios tanto para la formación de invaginaciones en regiones próximas al xilema, como para el engrosamiento de la PC que rodea al sincitio (Golinowski *et al.*, 1996; Rodiuc *et al.*, 2014); pues aunque las paredes de las células que integran el sincitio se rompen, las paredes celulares que lo delimitan se extienden y engrosan para resistir el aumento de presión generado dentro del SEA (Golinowski *et al.*, 1996). Adicionalmente la deposición de nuevo material obstruye los plasmodesmos existentes, algunas células vecinas se dividen y fusionan y otras se diferencian en nuevo tejido de xilema (vasos) y floema (elementos cribosos) (Hoth *et al.*, 2008; Rodiuc *et al.*, 2014). Al igual que en las células gigantes, durante la conformación del sincitio ocurre la formación de invaginaciones de PC cerca del xilema y floema, las cuales son elongadas, ramificadas y forman sofisticadas reticulaciones que se expanden apicalmente, haciendo que las partes basales de las invaginaciones se fusionen, conformándose amplios engrosamientos de PC; sin embargo, éstas invaginaciones sólo son evidentes a los 5 ó 7 días después de ocurrida la infección, una vez que el proceso de formación del SEA está avanzado (Golinowski *et al.*, 1996). Parece ser que en los sincitios la formación de invaginaciones en PC es una respuesta secundaria y sin relación con la dife-

infection occurs, once the process of SEA formation has advanced (Golinowski *et al.*, 1996). It seems that in the syncytia the formation of invaginations in the CW is a secondary reaction, unrelated to the differentiation of the syncytium and could be caused by an increase in the flow of solutes to the SFS (Golinowski *et al.*, 1996; Rodiuc *et al.*, 2014).

The CW of immature syncytia thickens in a uniform manner, except in sections of the wall that are in direct contact with the sieve tubes, the walls of which remain thin until the neighboring walls thicken (Grundler *et al.*, 1998). Plasmodesmata are important points of initial degradation of cell walls, and are therefore essential for the formation and expansion of the syncytium (Hofmann *et al.*, 2010); in early stages of the syncytium formation, due to the temporary deposition on callose, nutrients are transported from the phloem apoplastically through transmembrane transporters (Hofmann and Grundler, 2006; Rodiuc *et al.*, 2014); between 4 and 7 days after inoculation (dai), the amount of plasmodesmata increases and the deposition of callose decreases (Hofmann and Grundler, 2006), and in later stages, after 10 dai, the syncytia connect through the plasmodesmata, making the transfer of nutrients possible (Hofmann and Grundler, 2006; Hofmann *et al.*, 2010).

The modifications that take place during the formation of the SFS could be the result of coordinated alterations induced by the nematode through the manipulation of the expression of host genes that codify for proteins such as extensins (*EXT*), expansins ( $\alpha$ - y  $\beta$  *expansinas*), pectin acetyltransferases (*PAE*), pectate lyases (*PEL*), and endoglucanases (*endo- $\beta$ -1,4-glucanases*), which participate in the modification of cell walls in giant cells, whereas in syncytia it is attributed to the participation of genes that codify for expansins ( $\alpha$ - and  $\beta$  *expansins*), endoglucanases (*endo- $\beta$ -1,4-glucanases*), *EXT*, polygalacturonases (*PG*) y pectin acetilases (*PE*) (Rodiuc *et al.*, 2014).

renciación del sincitio y podría ser causada por un aumento en el flujo de solutos al SEA (Golinowski *et al.*, 1996; Rodiuc *et al.*, 2014).

La PC de los sincitios inmaduros se engrosa de manera uniforme, excepto en aquellos fragmentos de pared que están en contacto directo con los tubos cribosos, cuyas paredes permanecen delgadas hasta que las de las células vecinas al tubo se engrosan (Grundler *et al.*, 1998). Los plasmodesmos representan importantes puntos de inicio de degradación de paredes celulares, por lo que son esenciales para la formación y expansión del sincitio (Hofmann *et al.*, 2010); en etapas tempranas de formación del sincitio, debido a la deposición temporal de calosa, los nutrientes son transportados desde el floema de forma apoplástica a través de transportadores transmembranales (Hofmann y Grundler, 2006; Rodiuc *et al.*, 2014); entre los 4 y 7 después de la inoculación (ddi), incrementa la cantidad de plasmodesmos y disminuye la deposición de calosa (Hofmann y Grundler, 2006), y en etapas posteriores, después de los 10 ddi, los sincitios se conectan a través de los plasmodesmos haciendo posible la transferencia de nutrientes (Hofmann y Grundler, 2006; Hofmann *et al.*, 2010).

Las modificaciones que se suscitan durante la formación del SEA podrían ser el resultado de alteraciones coordinadas inducidas por el nematodo a través de la manipulación de la expresión de genes de su hospedante que codifican para proteínas tales como: extensinas (*EXT*), expansinas ( $\alpha$ - y  $\beta$  *expansinas*), pectin acetilesterasas (*PAE*), pectato liasas (*PEL*) y endoglucanasas (*endo- $\beta$ -1,4-glucanasas*), que participan en la modificación de paredes celulares en células gigantes, mientras que en el caso de los sincitios se atribuye la participación de genes que codifican para expansinas ( $\alpha$ - y  $\beta$  *expansinas*), endoglucanasas (*endo- $\beta$ -1,4-glucanasas*), *EXT*, poligalacturonasas (*PG*) y pectin acetilasas (*PE*) (Rodiuc *et al.*, 2014).

### **Modifications in the synthesis and accumulation of lignin in the SFS.**

SFS are the only food source for sedentary endoparasitic nematodes and are essential for their growth and reproduction, which is why nematodes, through the induction of extensive changes in the gene expression, must include complex changes in the morphology, metabolism, and physiology of host cells, for their formation. SFS are found in the vascular cylinder, ensuring the necessary contact with the xylem and phloem to provide the SFS with nutrients, therefore alterations in the morphology, thickness, and composition of the CW are a necessary requirement for the formation of the SFS, and therefore, for the successful establishment of sedentary endoparasitic nematodes.

The effectors, synthesized in the oesophageal glands and secreted through the stylet of nematodes, induce the de-differentiation and re-differentiation of the root cells in SFS, although the identification of these secretions is limited (Mitchum *et al.*, 2013). It is known that of the three oesophageal glands, the two subventrals have a greater activity during the invasion of the root and the migration of the nematodes in early stages, whereas the dorsal gland increases its activity during the formation and maintenance of the SFS, that is, in the nematode's sedentary stage (Davis *et al.*, 2008; Mitchum *et al.*, 2013).

Nematodes such as *Rotylenchulus* spp., *Tylenchulus* spp., *Nacobbus* spp., and *Xiphinema* spp. Also induce the formation of SFS in the roots of hosts, although they have been studied little in comparison to those induced by the root-knot nematodes *Meloidogyne* spp. (giant cells) and those that form cysts (*Globodera* spp. and *Heterodera* spp., syncytiums). Both types of SFS share some structural characteristics, yet their ontogeny is different (Jones and Northcote, 1972; Rodiuc *et al.*,

### Modificaciones en la síntesis y acumulación de lignina en los SEA.

Los SEA constituyen la única fuente de alimentación para los nematodos endoparásitos sedentarios y resultan esenciales para su crecimiento y reproducción, por ello los nematodos, a través de la inducción de cambios extensivos en la expresión de genes, deben inducir complejos cambios en la morfología, metabolismo y fisiología de las células hospedantes, para su conformación. Los SEA se localizan en el cilindro vascular, asegurando el contacto necesario con el xilema y floema para proveer al SEA de nutrientes, por lo tanto, alteraciones en la morfología, grosor y composición de la PC, son un requisito necesario para la formación y mantenimiento del SEA y por consiguiente, para el establecimiento exitoso de los nematodos endoparásitos sedentarios.

Los efectores, sintetizados en las glándulas esofágicas y secretados a través del estilete de los nematodos inducen la des-diferenciación y re-diferenciación de las células de la raíz en SEA, sin embargo la identificación de estas secreciones es limitada (Mitchum *et al.*, 2013). Se sabe que de las tres glándulas esofágicas, las dos subventrales tienen mayor actividad durante la invasión de la raíz y la migración de los nematodos en etapas tempranas, mientras que la glándula dorsal incrementa su actividad durante la formación y mantenimiento del SEA, es decir, en la etapa sedentaria del nematodo (Davis *et al.*, 2008; Mitchum *et al.*, 2013).

Nematodos como *Rotylenchulus* spp., *Tylenchulus* spp., *Nacobbus* spp. y *Xiphinema* spp. también inducen la formación de SEA en las raíces de sus hospedantes, aunque han sido poco estudiados en comparación con aquellos inducidos por los nematodos agalladores *Meloidogyne* spp. (células gigantes) y los que se enquistan (*Globodera* spp. y *Heterodera* spp., sincitios). Ambos tipos de SEA

2014). Root-knot nematodes induce the formation of giant cells when the J2 are hosted in the area of differentiation of the vascular cylinder and each individual induces the differentiation of five to seven parenchymal cells in giant multinuclear cells (Abad *et al.*, 2009). The syncytium, in turn, is formed when the J2 are hosted near the vascular cylinder and from only one cell begins the progressive thickening or narrowing of the plasmodesmata, until the cell from which the SFS formation began fuses with neighboring cells by the CW dissolution to form a large multinuclear syncytium (Turner and Rowe, 2006). In both feeding sites there is an increase in metabolic activity and cytoplasmic density, numerous small vacuoles, proliferation of organelles, particularly of the Golgi apparatus, mitochondria, plastids, ribosomes, and endoplasmic reticula (Rodiuc *et al.*, 2014).

Nematode infection promotes the synthesis of phenylpropanoids compounds (Edens *et al.*, 1995; Balbridge *et al.*, 1998). The induction of lignin biosynthesis occurs as a response to biotic and abiotic stress and is considered an important defense mechanism during the plant-pathogen interaction. Although it is true that this induction will occur in every plant-nematode interaction, it is also true that the regulation of its synthesis will vary, depending on whether the interaction is compatible or incompatible. In order for the restructuring of host cells to take place during the formation of the SFS, changes in the expression in a large number of genes are crucial. In this regard, Jammes *et al.* (2005) carried out a global analysis of the *A. thaliana* transcriptome during its compatible interaction with *M. incognita* and found that out of 22089 genes monitored, 15% displayed a differential expression during the development of giant cells; the expression of genes involved in the regulation of the cell cycle, DNA processing,

comparten algunas características estructurales pero su ontogenia es diferente (Jones y Northcote, 1972; Rodiuc *et al.*, 2014). Los nematodos agalladores inducen la formación de las células gigantes cuando los J2 se alojan en la zona de diferenciación del cilindro vascular y cada individuo induce la diferenciación de cinco a siete células parenquimatosas en células gigantes multinucleadas (Abad *et al.*, 2009). El sincitio en cambio es formado cuando los J2 se alojan cerca del cilindro vascular y a partir de una sola célula ocurre el ensanchamiento o dilatación progresiva de los plasmodesmos, hasta que la célula a partir de la cual se inició la formación del SEA, se fusiona con sus células vecinas por la disolución de las paredes celulares para constituir un gran sincitio multinucleado (Turner y Rowe, 2006). En ambos sitios de alimentación existe un incremento en la actividad metabólica y densidad citoplásmica, numerosas vacuolas pequeñas, proliferación de organelos, particularmente del aparato de Golgi, mitocondrias, plastidios, ribosomas y retículo endoplásmico (Rodiuc *et al.*, 2014).

La infección por nematodos promueve la síntesis de compuestos fenilpropanoides (Edens *et al.*, 1995; Balbridge *et al.*, 1998). La inducción de la biosíntesis de lignina ocurre como respuesta a estrés biótico y abiótico y se la considera un importante mecanismo de defensa durante la interacción planta-patógeno; si bien es cierto que en toda interacción planta-nematodo ocurrirá su inducción, también es cierto que la regulación de su síntesis variará dependiendo de si la interacción es compatible o incompatible. Para que ocurra la reestructuración de las células del hospedante durante la formación de los SEA, son esenciales cambios en la expresión de una gran cantidad de genes. Al respecto, Jammes *et al.* (2005) realizaron un análisis global del transcriptoma de *A. thaliana* durante su interacción compatible con *M. incognita* y encontraron que de 22089 genes monitoreados, el 15% de

protein synthesis and energy presented high levels of expression, as well as the expression of genes related to the metabolism of the cell wall that codify for pectate lyases, expansins, glycoside hydrolases, xyloglucan endotransglycosylases and one glucose oxidase; in contrast, two genes related to defense, patatin and a protein similar to germin, turned out to be the most strongly repressed; however, they do not report the monitoring of genes specifically involved in the biosynthesis of lignin.

Ithal *et al.* (2007) reported that in soya plants inoculated with the nematode *Heterodera glycines* the activity of genes implied in the pathway of the phenylpropanoids, favoring the synthesis of a wide variety of secondary metabolites in plants, such as flavonoids and anthocyanins, and lignin and suberin, which make up the cell walls. The accumulation of phytoalexins, the deposition of lignin and the accumulation of phenolic compounds are characteristic of the defense response in plants; however, the functions of these secondary metabolites in the plant-nematode interactions are not entirely clear, since although its overexpression could be a part of the response of the plant to the infection by the nematodes in an incompatible interaction, these components could play another part in a compatible interaction (Ithal *et al.*, 2007).

During the development of syncytia, the extensive thickening of its cell walls takes place, and although the composition of the new material deposited has not been characterized, histological studies show that the center of the external cortical walls, as well as the center of some fragments of cell wall inside the syncytia, become dyed with toloum chloride, indicating the presence of lignin and some polyphenoles (Jones and Northcote, 1972). In this way, the increase in the synthesis and accumulation of lignin, not only becomes part of the plant's defense against infection by nematodes, but can also contribute to the formation of the cell

ellos desplegaron una expresión diferencial durante el desarrollo de las células gigantes; la expresión de genes involucrados en la regulación del ciclo celular, procesamiento de DNA, energía y síntesis de proteínas presentaron altos niveles de expresión así como la expresión de aquellos genes asociados al metabolismo de la pared celular que codifican para pectato liasas, expansinas, glucósido hidroxilasas, xiloglucano endotransglucosilasas y una glucosil oxidasa; en contraste, dos genes relacionados con defensa, patatina y una proteína similar a la germina, resultaron ser los más fuertemente reprimidos; sin embargo, no reportan el monitoreo de genes específicamente involucrados en la biosíntesis de lignina.

Ithal *et al.* (2007) reportaron que en plantas de soya inoculadas con el nematodo *Heterodera glycines* se estimuló la actividad de genes implicados en la vía de los fenilpropanoides, favoreciendo la síntesis de una amplia variedad de metabolitos secundarios en las plantas, como flavonoides y antocianinas, y lignina y suberina componentes de las paredes celulares secundarias. La acumulación de fitoalexinas, la deposición de lignina y la acumulación de compuestos fenólicos caracterizan la respuesta de defensa de las plantas; sin embargo, las funciones de estos metabolitos secundarios en las interacciones planta-nematodo no están del todo claras, pues aunque su sobreexpresión podría ser parte de la respuesta de la planta a la infección por los nematodos en una interacción incompatible, estos componentes podrían desempeñar otro papel en una interacción compatible (Ithal *et al.*, 2007).

Durante el desarrollo de sincitios ocurre el engrosamiento extensivo de las paredes celulares del mismo, y aunque la composición del nuevo material depositado no ha sido caracterizado, estudios histológicos muestran que el centro de las paredes corticales externas, así como en el centro de algunos fragmentos de pared celular, dentro de los sin-

wall *de novo*, to help protect and strengthen the syncytium (Ithal *et al.*, 2007). The transcription of *POX* genes that codify for peroxidases has been reported to increase during the formation of syncytia. Peroxidases not only eliminate the oxygen-reactive species produced typically as a plant's early defense response against a wide variety of pathogens (Marrs, 1996; Blokhina *et al.*, 2003), but they also seem to be involved in strengthening the cell wall of the syncytium by the crossing of cell wall polymers (Schopfer, 1996; Darley *et al.*, 2001), or by its contribution to polymerization of extensins and to the crossing of polysaccharides by the dimerization of phenols (Darley *et al.*, 2001).

The fact that most of the genes that codify for enzymes involved in the biosynthesis of lignin (*PAL*, *C4H*, *C3H*, *F5H*, *CCoAOMT*, *COMT*, *CCR*, and *CAD*) have been overexpressed in soybean during the formation of syncytium at 2, 5, and 10 days after infection by *H. glycines*, indicates that these genes also have an important function in the formation of SFS (Ithal *et al.*, 2007). In *Arabidopsis thaliana* plants that overexpressed the *C4H* (early enzyme in the pathway of the phenylpropanoids) and *F5H* (enzyme that catalyzes the irreversible hydroxylation of G precursors toward the biosynthesis of S units) enzymes, in which the production of G units was inhibited and the amount of S units increased by 50%, as compared to the wild plants, the nematode reproduction was significantly reduced (Wuyts *et al.*, 2006). The increase of S lignin in the vascular bundles might have inhibited the flow of nutrients towards the giant cells or impeded nematode feeding (Wuyts *et al.*, 2006). Similarly when the content of S units was reduced by 10% in tobacco plants in which the expression of the enzyme isoflavona O-metiltransferasa (OMT) was blocked, *M. incognita* completed its life cycle in a shorter time and there was a higher number of juveniles as compared to the plants where OMT

citios, se tiñen con azul de toluidina, indicando la presencia de lignina y algunos polifenoles (Jones y Northcote, 1972). Así el incremento en la síntesis y acumulación de la lignina, no sólo forma parte de la defensa de la planta contra la infección por nematodos, sino que también puede contribuir a la formación de pared celular *de novo*, para ayudar a proteger y fortalecer el sincitio (Ithal *et al.*, 2007). Se ha reportado que la transcripción de genes *POX* que codifican para peroxidasas, se incrementa durante la formación de sincitios; las peroxidasas, además de eliminar las especies reactivas de oxígeno producidas típicamente como respuesta de defensa temprana de las plantas, contra una amplia variedad de patógenos (Marrs, 1996; Blokhina *et al.*, 2003), también parecen estar involucradas en el fortalecimiento de la pared celular del sincitio a través del entrecruzamiento entre polímeros de pared celular (Schopfer, 1996; Darley *et al.*, 2001), o por su contribución a la polimerización de extensinas y al entrecruzamiento de polisacáridos mediante la dimerización de fenoles (Darley *et al.*, 2001).

El hecho de que la mayoría de los genes que codifican para enzimas involucradas en la biosíntesis de lignina (*PAL*, *C4H*, *C3H*, *F5H*, *CCoAOMT*, *COMT*, *CCR* y *CAD*) se hayan sobre-expresado en soya, durante la formación del sincitio a los 2, 5, y 10 días posteriores a la infección con *H. glycines*, indica que estos genes también tienen una importante función para la formación de los SEA (Ithal *et al.*, 2007). En plantas de *Arabidopsis thaliana* en las que se sobre-expresaron las enzimas *C4H* (enzima temprana en la ruta de los fenilpropanoides) y *F5H* (enzima que cataliza la hidroxilación irreversible de precursores G hacia la biosíntesis de unidades S), hubo un incremento del 50 % en el contenido de unidades S, en comparación con las plantas silvestres; mientras que la producción de unidades G se inhibió, ocasionando que en las plantas modificadas la reproducción del nemato-

was not blocked (Wuyts *et al.*, 2006). In contrast to the above, Quentin *et al.* (2009) found that in *A. thaliana* plants in which the levels of S lignin fell due to the blockage of activity in enzyme COMT, the growth of the nematode and its life cycle were similar to that observed in control plants in which the enzyme was not blocked. However, *A. thaliana* is, by nature, susceptible to *M. incognita*, and therefore in this case the differences in the content of lignin monomers (G or S) in the plant tissues did not influence the infection and life cycle of the nematode in *A. thaliana*, although one cannot exclude the possibility that in other plants, changes in the activity of enzyme COMT can determine the type of interaction (compatible or incompatible) (Pegard *et al.*, 2005).

Based on investigations cited, it is possible to infer that it is very likely that the type and predominance of the monolignols that form the lignin, specifically the type of monomeric unit (S, G, or H) deposited, can influence the infection and reproduction of sedentary endoparasitic nematodes during its interaction with its host, since these nematodes establish their SFS inside the vascular cylinder, where there is an abundant deposition of polymers for the formation of secondary walls and a high lignification of roots.

On the other hand Wuyts *et al.* (2007) point out that it is possible for the pathway of phenylpropanoids to be redirected towards the synthesis of compounds related to resistance. In this way, the hydroxycinnamic acids covalently bonded to the polysaccharides of the CW constitute a possible second physical (and chemical) barrier to the nutrition and migration of the nematodes in the cortex of the roots. Given the physiological importance of the products in the pathway of the phenylpropanoids in the plant-sedentary endoparasitic nematode, the pathway seems to be directed, in the new CW synthesis, towards the



do *M. incognita* fuera menor en comparación con las plantas silvestres (Wuyts et al., 2006). Posiblemente el incremento de lignina S en los haces vasculares, impidió el flujo de nutrientes hacia las células gigantes o que los nematodos se alimentaran de las células gigantes (Wuyts et al., 2006). De manera similar cuando el contenido de unidades S se redujo en 10 %, en plantas de tabaco en las que se bloqueó la expresión de la enzima isoflavona O-metiltransferasa (OMT), disminuyó el tiempo en que *M. incognita* completó su ciclo de vida y hubo un mayor número de juveniles en comparación con las plantas en las que no se bloqueó al gen OMT (Wuyts et al., 2006). En contraste con lo anterior, Quentin et al. (2009) encontraron que en plantas de *A. thaliana* en las que el nivel de lignina S se redujo debido al bloqueo de la actividad de la enzima COMT, el desarrollo del nematodo y el tiempo que le llevó completar su ciclo de vida fue similar al observado en plantas testigo, en las que no se bloqueó a la enzima; esto es, la reducción del sirigil no agregó ni positiva ni negativamente el establecimiento del nematodo. Se menciona que *A. thaliana* es por naturaleza susceptible a *M. incognita*, lo que podría explicar porque en este caso las diferencias en el contenido de los monómeros de lignina (G o S) en los tejidos de la planta, no influyó en la infección y ciclo de vida del nematodo. Sin embargo, puede ser que en otras plantas modificaciones en la actividad de la enzima COMT determinen el tipo de interacción (compatibilidad o incompatibilidad) (Pegard et al., 2005).

Con base en las investigaciones referidas se infiere que es muy probable que el tipo y predominancia de los monolignoles que forman a la lignina, específicamente el tipo de unidad monomérica (S, G o H) depositada, puede influir en la infección y reproducción de los nematodos endoparásitos sedentarios durante su interacción con su hospedante, ya que estos nematodos establecen sus SEA dentro

formation of the monomers that form a type of lignin that favors the formation of functional SFS. As opposed to what occurs in incompatible ones, the pathway is directed towards the biosynthesis of lignin, which is a barrier for physical defense and secondary metabolites with antimicrobial properties.

## CONCLUSIONS

The changes that take place in plant cells as a result of the reprogramming of the genetic expression induced by the nematode in the root of its host are perfectly coordinated and synchronized. Metabolic, physiological, and structural alterations also include the modification of the components of the plant's CW. Lignin is more frequently conceived as a potential physical barrier against pathogens. In the plant-sedentary endoparasitic nematode interaction, its biosynthesis, deposition, and composition are a part of the modifications involved in the restructuring of the cell walls of the host's roots. This process is crucial for the formation of the specialized functional nutrition site, which will allow the nematode to complete its life cycle. In the particular case of lignin, the nematode modifies the abundance and disposition of the monolignols that compose it, and depending on the dialog that takes place between plant and nematode (compatible or incompatible interaction) the lignin will contribute to the creation of a favorable environment for the successful establishment of the nematode or an environment that hinders its growth and life cycle completion. The potential of nematodes is well-known for modifying important metabolical pathways during its interaction with its host, such as the pathway of phenylpropanoids. However, given the complexity of the pathway, due, on one hand, to the existence of multiple

del cilindro vascular, sitio en el que ocurre abundante deposición de polímeros para la formación de paredes secundarias y alta lignificación de raíces.

Por otro lado Wuyts *et al.* (2007) señalan que es posible que la ruta de los fenilpropanoides se redireccione hacia la síntesis de compuestos relacionados con la resistencia. Así los ácidos hidroxiciánicos unidos covalentemente a los polisacáridos de la PC, constituyen una posible segunda barrera física (y química) para la alimentación y migración de los nematodos en el cortex de las raíces. Dada la importancia fisiológica de los productos de la ruta de los fenilpropanoides, en las interacciones planta-nematodos endoparásitos sedentarios, la ruta parece ser dirigida, durante la síntesis nueva de PC, hacia la formación de los monómeros que forman un tipo de lignina que favorece la formación de SEA funcionales. En contraste en las incompatibles, la ruta se dirige hacia la biosíntesis de lignina que constituye una barrera física de defensa y de metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas.

## CONCLUSIONES

Los cambios que se suscitan en las células vegetales, resultado de la reprogramación de la expresión génica inducida por el nematodo en la raíz de su hospedante, están perfectamente coordinados y sincronizados; las alteraciones metabólicas, fisiológicas y estructurales también incluyen la modificación de los componentes de la PC vegetal. Con más frecuencia se concibe a la lignina como una barrera física potencial contra la invasión por fitopatógenos; en la interacción planta-nematodos endoparásitos sedentarios su biosíntesis, deposición y composición, son parte de las modificaciones involucradas en la reestructuración de las paredes de las células de la raíz del hospedante. Este

isoforms of the genes responsible for codifying the enzymes involved, and on the other hand, to the abundant variation of metabolites produced through it, it has become difficult to elucidate the behavior and function of the genes implied in the pathway during the plant-nematode interaction. The functional characterization of these genes and the explanation of the part they play in the biosynthesis and deposition of monolignols is a challenge that has begun to be tackled using techniques such as infrared spectroscopy, separation by gas chromatography (GC) and identification by mass spectrometry (MS). Likewise, molecular techniques such as hybridation with microarrangements, which helps compare the genic expression of a set of genes in different conditions, and the availability of new sequencing equipment can contribute to the identification and characterization of the isoforms implied in the biosynthesis of monolignols. In this way, it will be possible to know more about the role played by lignin in the plant-nematode interactions, which could provide elements for the design of new ways to control these plant pathogens.

## Acknowledgements

We would like to thank the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) for the scholarship granted to Erika Lagunes Fortiz, as well as the Fideicomiso Revocable de Administración e Inversión No. 167304 para el Establecimiento y Operación de los Fondos para la Investigación Científica y Desarrollo Tecnológico del Centro Público Colegio de Postgraduados.

~~~~~ End of the English version ~~~~~

proceso es fundamental para la formación del sitio especializado de alimentación funcional, que le permitirá al nematodo completar su ciclo de vida. En el caso particular de la lignina, el nema-

todo modifica la abundancia y disposición de los monolignoles que la integran, y dependiendo del diálogo que se establezca entre el nematodo y la planta (interacción compatible o incompatible) la lignina contribuirá a la creación de un medio favorable para el establecimiento exitoso del nematodo o un ambiente que le impida desarrollarse y completar su ciclo de vida. A la fecha se tiene conocimiento del potencial que tienen los nematodos para modificar importantes rutas metabólicas durante la interacción con su hospedante, como la de los fenilpropanoides. No obstante, dada la complejidad de la ruta, debido por un lado, a la existencia de múltiples isoformas de los genes responsables de codificar a las enzimas involucradas y por el otro, a la abundante variación de metabolitos que son producidos a través de ella, ha resultado difícil elucidar el comportamiento y función de los genes implicados en la ruta durante la interacción planta-nematodo. La caracterización funcional de estos genes y el esclarecimiento del papel que juegan en la biosíntesis y deposición de monolignoles constituye un reto que se ha empezado a abordar mediante técnicas como la espectroscopía infrarroja, separación por cromatografía gaseosa (GC) e identificación por espectrometría de masa (MS); así mismo, técnicas moleculares como la hibridación con microarreglos, que permite la comparación de la expresión génica de un conjunto de genes en condiciones distintas, y la disponibilidad de nuevos equipos de secuenciación pueden contribuir a la identificación y caracterización de las isoformas implicadas en la biosíntesis de monolignoles. De esta manera se podrá avanzar en el conocimiento del papel de lignina en las interacciones planta-nematodo, mismo que podría aportar elementos para el diseño de nuevas formas de control de estos fitopatógenos.

#### Agradecimientos

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

(CONACYT) por el apoyo económico brindado para la realización de estudios de posgrado de la primera autora, así como al Fideicomiso Revocable de Administración e Inversión No. 167304 para el Establecimiento y Operación de los Fondos para la Investigación Científica y Desarrollo Tecnológico del Centro Público Colegio de Postgraduados.

## LITERATURA CITADA

- Abad P, Castagnone-Sereno P, Rosso MN, de Almeida EJ and Favary B. 2009. Invasion, feeding and development. In: Perry RN, Moens M and Starr JL. 2009. Root-knot nematodes. CAB International, Wallingford, UK. pp:163-181.
- Allina SM, Pri-Hadash A, Theilmann DA, Ellis BE and Douglas CJ. 1998. 4-Coumarate: Coenzyme A ligase in hybrid poplar. Properties of native enzymes, cDNA cloning, and analysis of recombinant enzymes. *Plant Physiology*. <http://dx.doi.org/10.1104/pp.116.2.743>
- Balbridge GD, O'Neill NR and Samac DA. 1998. Alfalfa (*Medicago sativa* L.) resistance to root-lesion nematode, *Pratylenchus penetrans*: defense-response gene mRNA and isoflavonoid phytoalexin levels in roots. *Plant Molecular Biology*. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1006182908528>
- Blokhina O, Virolainen E and Fagerstedt KV. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*. <http://dx.doi.org/10.1093/aob/mcf118>
- Boerjan W and Baucher MR. 2003. Lignin Biosynthesis. *The Annual Review of Plant Biology*. <http://dx.doi.org/10.3114/sim.2007.58.01>
- Bonawitz ND and Chapple C. 2010. The genetics of lignin biosynthesis: connecting genotype to phenotype. *Annual Review of Genetic*. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-genet-102209-163508>
- Boudet AM. 2007. Evolution and current status of research in phenolic compounds. *Phytochemistry*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.06.012>
- Costa MA, Bedgar DL, Moinuddin SG, Kim KW, Cardenas CL, Cochrane FC, Shockey JM, Helms GL, Amakura Y, Takahashi H, Milhollan JK, Davin LB, Browse J and Lewis NG. 2005. Characterization in vitro and in vivo of the putative multigene 4-coumarate:CoA ligase network in Arabidopsis: Syringyl lignin and sinapate/sinapyl alcohol derivative formation. *Phytochemistry*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.06.022>
- Darley CP, Forrester AM and McQueen-Mason SJ. 2001. The molecular basis of plant cell wall extension. *Plant Molecular Biology*. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1010687600670>
- Davis EL, Hussey RS, Mitchum MG and Baum TJ. 2008. Parasitism proteins in nematode plant interactions. *Current Opinion in Plant Biology*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbi.2008.04.003>
- Dixon RA and Paiva N. 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell*.

- <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.7.7.1085>  
Dixon RA, Achnine L, Kota P, Liu CJ, Reddy MSS, and Wang L. 2002. The phenylpropanoid pathway and plant defence—a genomics perspective. *Molecular Plant Pathology*. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1364-3703.2002.00131.x>.
- Edens RM, Anand SC and Bolla RI. 1995. Enzymes of the phenylpropanoid pathway in soybean infected with *Meloidogyne incognita* or *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology*. Disponible en línea: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19277292>
- Ehltling J, Büttner D, Wang Q, Douglas CJ, Somssich IE and Kombrink E. 1999. Three 4-coumarate: Coenzyme A ligases in *Arabidopsis thaliana* represent two evolutionarily divergent classes in angiosperms. *The Plant Journal*. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-313X.1999.00491.x>
- Ehltling J, Hamberger B, Million-Rousseau R and Werck-Reichhart D. 2006. Cytochromes P450 in phenolic metabolism. *Phytochemistry Reviews*. <http://dx.doi.org/10.1007/s11101-006-9025-1>
- Ehltling J, Shin, JK and Douglas CJ. 2001. Identification of 4-coumarate:Coenzyme A ligase (4CL) substrate recognition domains. *The Plant Journal*. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-313X.2001.01122.x>
- Fraser CM and Chapple C. 2011. The Phenylpropanoid Pathway in *Arabidopsis*. *The Arabidopsis Book*. e0152. <http://dx.doi.org/10.1199/tab.0152>
- Gheysen G and Mitchum M G. 2011. How nematodes manipulate plant development pathways for infection. 2011. *Current Opinion in Plant Biology*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbi.2011.03.012>
- Golinowski W, Grundler FMW and Sobczak M. 1996. Changes in the structure of *Arabidopsis thaliana* during female development of the plant parasitic nematode *Heterodera schachtii*. *Protoplasma*. <http://dx.doi.org/10.1007/BF01273172>
- Grabber JH. 2005. How do lignin composition, structure, and cross-linking affect degradability? A review of cell wall model studies. *Crop Science*. <http://dx.doi.org/10.2135/cropsci2004.0191>
- Grunder FMW, Sobczak M and Golinowski W. 1998. Formation of cell wall openings in root cells of *Arabidopsis thaliana* following infection by the plant parasitic nematode *Heterodera schachtii*. *The European Journal of Plant Pathology*. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1008692022279>
- Hamberger B and Hahlbrock K. 2004. The 4-coumarate:CoA ligase gene family in *Arabidopsis thaliana* comprises one rare, sinapate-activating and three commonly occurring isoenzymes. *Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America*. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0307307101>
- Hofmann J and Grundler FMW. 2006. Females and males of root parasitic cyst nematodes induce different symplasmic connections between their syncytial feeding cells and the phloem in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology and Biochemistry*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2006.06.006>
- Hofmann J, Banora MY, de Almeida-Engler J and Grundler FMW. 2010. The role of callose deposition along plasmodesmata in nematode feeding sites. *Molecular Plant-Microbe Interactions Journal*. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-23-5-0549>
- Hoth S, Stadler R, Sauer N and Hammes UZ. 2008. Differential vascularization of nematode induced feeding sites. *Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America*. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0803835105>
- Huang J, Gu M, Lai Z, Fan B, Shi K, Zhou YH, Yu JQ and Chen Z. 2010. Functional analysis of the *Arabidopsis* PAL gene family in plant growth, development, and response to environmental stress. *Plant Physiology*. <http://dx.doi.org/10.1104/pp.110.157370>
- Hussey RS. 1989. Disease-inducing secretions of plant-parasitic nematodes. *Annual Review of Phytopathology*. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.py.27.090189.001011>
- Ithall N, Recknor J, Nettleton D, Maier T, Baum TJ and Mitchum MG. 2007. Developmental transcript profiling of cyst nematode feeding cells in soybean roots. *Mol. Plant-Microbe Interactions*. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0510>
- Jammes F, Lecomte P, de Almeida-Engler J, Bitton F, Martin-Magniette ML, Renou JP, Abad P and Favery B. 2005. Genome-wide expression profiling of the host response to root-knot nematode infection in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-313X.2005.02532.x>
- Jones MGK and Northcote DH. 1972. Nematode induced syncytium - a multinucleate transfer cell. *Journal of Cell Science* 10:789-809. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5038416>
- Li L, Cheng, XF, Leshkevich J, Umezawa T, Harding SA and Chiang VL. 2001. The Last Step of Syringyl Monolignol Biosynthesis in Angiosperms Is Regulated by a Novel Gene Encoding Sinapyl Alcohol Dehydrogenase. *The Plant Cell*. <http://dx.doi.org/10.1105/TPC.010111>
- Liu CJ. 2012. Deciphering the enigma of lignification: precursor transport, oxidation, and the topochemistry of lignin assembly. *Molecular Plant*. <http://dx.doi.org/10.1093/mp/ssr121>
- MacDonald MJ and D’Cunha GB. 2007. A modern view of phenylalanine ammonia lyase. *Biochemistry and Cell Biology*. <http://dx.doi.org/10.1139/O07-018>
- Marita JM, Ralph J, Hatfield RD, Guo D, Chen F and Dixon RA. 2003. Structural and compositional modifications in lignin of transgenic alfalfa down-regulated in caffeic acid 3-O-methyltransferase and caffeoyl coenzyme A 3-O-methyltransferase. *Phytochemistry*. [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00434-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00434-X)
- Marrs KA. 1996. The functions and regulation of glutathione S-transferases in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.arplant.47.1.127>
- Menden B, Kohlhoff M and Moerschbacher B. 2007. Wheat cells accumulate a syringyl-rich lignin during the hypersensitive resistance response. *Phytochemistry*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.11.011>
- Mitchum MG, Hussey RS, Baum TJ, Wang X, Elling AA, Wubben M and Davis EL. 2013. Nematode effector proteins: an emerging paradigm of parasitism. *New Phytologist*.

- <http://dx.doi.org/10.1111/nph.12323>  
Nicholson RL and Hammerschmidt R. 1992. Phenolic compounds and their role in disease resistance. Annual Review of Phytopathology.  
<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.py.30.090192.002101>
- Pegard A, Brizzard G, Fazari A, Soucaze O, Abad P and Djian-Caporalino C. 2005. Histological characterization of resistance to different root-knot nematode species related to phenolics accumulation in *Capsicum annuum*. Phytopathology. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-95-0158>
- Quentin M, Allasia V, Pegard A, Allais F, Ducrot PH, Favery B, Levis C, Martinet S, Masur C, Ponchet M, Roby D, Schlaich NL, Jouanin L and Keller H. 2009. Imbalanced Lignin Biosynthesis Promotes the Sexual Reproduction of Homothallic Oomycete Pathogens. Plos Pathogens. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1000264>
- Raes J, Rohde A, Christensen JH, Peer YV and Boerjan W. 2003. Genome-wide characterization of the lignification toolbox in *Arabidopsis*. Plant Physiology. <http://dx.doi.org/10.1104/pp.103.026484>
- Rasmussen S and Dixon RA. 1999. Transgene-mediated and elicitor-induced perturbation of metabolic channeling a the entry point into the phenylpropanoid pathway. The Plant Cell. <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.11.8.1537>
- Rastogi S y Dwivedi UN. 2007. Manipulation of lignin in plants with special reference to O-methyltransferase. Plant Science. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2007.11.014>
- Rodiuc N, Vieira P, Banora MY y de Almeida-Engler J. 2014. On the track of transfer cell formation by specialized plant-parasitic nematodes. Frontiers in Plant Science. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2014.00160>
- Santiago R, Barros-Rios J and Malvar RA. 2013. Impact of Cell Wall Composition on Maize Resistance to Pests and Diseases. International Journal of Molecular Sciences. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms14046960>
- Sattler SE and Funnell-Harris DL. 2013. Modifying lignin to improve bioenergy feedstocks: strengthening the barrier against pathogens?. Frontiers in Plant Science. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2013.00070>
- Schopfer P. 1996. Hydrogen peroxide-mediated cell-wall stiffening in vitro in maize coleoptiles. Planta. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00196879>
- Sun RC, Sun XF, Wang SQ, Zhu W y Wang XY. 2002. Ester and ether linkages between hydroxycinnamic acids and lignins from wheat, rice, rye, and barley straws, maize stems, and fast-growing poplar wood. Industrial Crops and Products. [http://dx.doi.org/10.1016/S0926-6690\(01\)00112-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0926-6690(01)00112-1)
- Turner SJ and Rowe JA. 2006. Cyst nematodes. In: Perry RN y Moens M. 2006. Plant nematology. CAB International. Wallingford, UK. Pp:91-122.
- Vance CP, Kirk TK and Sherwood RT. 1980. Lignification as a mechanism of disease resistance. Annual Review of Phytopathology. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.py.18.090180.001355>
- Vanholme R, Demedts B, Morreel K, Ralph J and Boerjan W. 2010. Lignin biosynthesis and structure. Plant Physiology. <http://dx.doi.org/10.1104/pp.110.155119>
- Vanholme R, Morreel K, Ralph J and Boerjan W. 2008. Lignin engineering. Current Opinion in Plant Biology. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbi.2008.03.005>
- Vieira P, Engler G and de Almeida Engler J. 2012. Whole mount confocal imaging of nuclei in giant feeding-cells induced by root knot nematodes in *Arabidopsis*. New Phytologist. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04175.x>
- Weng JK and Chapple C. 2010. The origin and evolution of lignin biosynthesis. New Phytologist. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03327.x>
- Wuyts N, Lognay G, Swennen R and Waele D. 2006. Nematode infection and reproduction in transgenic and mutant *Arabidopsis* and tobacco with an altered phenylpropanoid metabolism. Journal of Experimental Botany. <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/erl044>
- Wuyts N, Lognay G, Verscheure M, Marlier M, De Waele D and Swennen R. 2007. Potential physical and chemical barriers to infection by the burrowing nematode *Radopholus similis* in roots of susceptible and resistant banana (*Musa spp.*). Plant Pathology. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3059.2007.01607.x>