

## ESTUDIO DEL ESTRÉS OXIDATIVO ASOCIADO A LA INTERACCIÓN PATRÓN-VARIEDAD EN FRUTALES

Irisarri P., Errea P., Pina A.

Unidad de Fruticultura, CITA de Aragón. Avda de Montañana 930. 50059 Zaragoza. España

**Palabras clave:** enzimas antioxidantes, especies reactivas de oxígeno (ERO), incompatibilidad, peral, uniones de callo

### INTRODUCCIÓN

Diferentes estudios han demostrado que las especies reactivas de oxígeno (ERO) desempeñan funciones importantes en procesos tales como la señalización hormonal, la muerte celular programada, y la respuesta celular a distintos tipos de estreses bióticos y abióticos (Hossain et al., 2009). El exceso de ERO generado es debido al fallo en el sistema redox a favor de las formas oxidativas tales como el radical superóxido ( $O_2^-$ ), el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) o el radical hidroxilo ( $OH^\cdot$ ). Estas formas oxidativas pueden producir daños en las células tales como peroxidación de la membrana lipídica, oxidación de proteínas, inhibición de enzimas y daños en el ADN y ARN. Recientemente, se plantea la hipótesis de que el estrés oxidativo podría desencadenar cambios celulares asociados a la reacción de incompatibilidad patrón-variedad en fases tempranas de la formación del injerto y que potencialmente afectan al destino del mismo (Aloni et al., 2008). Para reparar y mitigar el daño producido por las ERO, ciertas especies han desarrollado mecanismos de protección antioxidante como son las enzimas: superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y ascorbato peroxidasa (APX), localizadas en diferentes compartimentos celulares. El principal objetivo de este trabajo ha sido el estudio de distintas enzimas antioxidantes en combinaciones peral/membrillero de distinto grado de compatibilidad en estados tempranos del desarrollo.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha establecido *in vitro* tejido de callo de peral (*Pyrus communis* L.) de los cultivares 'Conference' ('Co') y 'Williams' ('Wi'), y de membrillero (*Cydonia oblonga* Mill. clon 'Ba29'). A partir de este tejido se realizaron las siguientes combinaciones como se describe en Pina y Errea (2008): homoinjertos (Co/Co, Wi/Wi, Ba29/Ba29), heteroinjertos (Co/Ba29, Wi/Ba29) y se obtuvieron también muestras de callo control. Una vez transcurridos 10 días después de la unión fueron congelados en  $N_2$  líquido en tres secciones diferentes correspondientes a la variedad, zona de unión y patrón de tres muestras biológicas. Se realizó la extracción de proteínas y se determinaron las actividades enzimáticas siguiendo protocolos previamente descritos: SOD (SOD assay kit de Sigma), APX (Mittler y Zilinskas, 1991) y CAT (Fernández-García et al., 2004).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este trabajo se ha evaluado la importancia de distintas enzimas antioxidantes (CAT, SOD y APX) en el desarrollo de distintas combinaciones con distinto grado de compatibilidad. Las actividades fueron determinadas en tejido de callo de tres genotipos diferentes, cultivares de peral de tendencia compatible e incompatible al injerto ('Co' y 'Wi', respectivamente), así como en el patrón 'Ba29' de membrillero y en sus combinaciones homoinjertos (Co/Co, Wi/Wi, Ba29/Ba29) y heteroinjertos (Co/Ba29, Wi/Ba29) 10 días después del establecimiento de la unión. Los resultados han revelado una mayor actividad en CAT y APX para el genotipo 'Co' que para los genotipos 'Wi' y 'Ba29', mientras que, la mayor actividad en SOD se ha

observado en el genotipo 'Ba29' Asimismo, de las tres zonas estudiadas (variedad, zona de unión y patrón), en las diferentes combinaciones se ha observado que hay un menor nivel de actividad antioxidante en la zona de unión patrón-variedad que en el tejido perteneciente al patrón o a la variedad. En concreto, la combinación incompatible (Wi/Ba29) ha mostrado el menor nivel de actividad en esa zona con respecto a las otras combinaciones heteroinjerto compatible (Co/Ba29) y homoinjertos (Co/Co, Wi/Wi, Ba29/Ba29) para todas las enzimas estudiadas, aunque el efecto fue mayor para la enzima APX y CAT. Estos resultados sugieren que debido a la interacción incompatible patrón-variedad disminuye la actividad de estas enzimas antioxidantes, de tal forma que no se contrarresta los efectos negativos del estrés oxidativo. En este sentido, otros estudios realizados en plantas herbáceas han puesto de manifiesto que los procesos oxidativos producidos durante la interacción patrón/variedad podrían desencadenar procesos de degradación celular en la zona de unión de injertos incompatibles de melón sobre distintos tipos de cucurbitáceas (Aloni et al., 2008). Una menor actividad antioxidante en la zona de unión de combinaciones incompatibles en frutales podría estar acompañada de una mayor acumulación de ERO en la zona de unión produciendo el deterioro de la zona e impidiendo un desarrollo normal de esas células. Actualmente, se está evaluando la acumulación de estas especies en la zona de contacto patrón-variedad de las mismas combinaciones con métodos de detección *in vivo*.

### AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha sido financiada por el proyecto n.º RTA2009-00128 del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), fondos FEDER y por el Gobierno de Aragón (grupo consolidado de Aragón A12).

### REFERENCIAS

- Aloni, B., Karni, L., Deventurero, G., Levin, Z., Cohen, R., Katzir, N., Lotan-Pompan, M., Edelstein, M., Aktas, H., Turhan, E., Joel, D.M., Horev, C. and Kapulnik, Y. 2008. Physiological and biochemical changes at the rootstock-scion interface in graft combinations between Cucurbita rootstocks and a melon scion. *J. Hort. Sci. Biotech.* 83: 777-783.
- Fernández-García, N., Carvajal, M., and Olmos, E. 2004. Graft union formation in tomato plants: Peroxidase and catalase involvement. *Ann. Bot.* 93: 53-60.
- Hossain, Z., Lopez-Climent, M.F., Arbona, V., Perez-Clemente, R.M., and Gomez-Cadenas, A. 2009. Modulation of the antioxidant system in citrus under waterlogging and subsequent drainage. *J. Plant Physiol.* 166: 1391-1404.
- Mittler, R., and Zilinskas, B.A. 1991. Purification and characterization of pea cytosolic ascorbate peroxidase. *Plant Physiol.* 97: 962-968.
- Pina, A., and Errea, P. 2008. Differential induction of phenylalanine ammonia-lyase gene expression in response to 'in vitro' callus unions of *Prunus* spp. *J. Plant Physiol.* 165: 705-714.

