

Efecto de las citocininas y el etileno en la senescencia de hojas.



Senescencia foliar: cambios que ocurren al final de la vida de una hoja, es parte normal de su desarrollo.

Senescencia foliar



Expresión de genes asociados a la senescencia
(SAG, Senescence Associated Genes)



Degradación de clorofila y proteínas (no de los
carotenoides = color amarillo)



Removilización de nutrientes hacia otros órganos

La senescencia foliar puede ocurrir en diferentes momentos del ciclo de vida de una planta

1. Senescencia foliar secuencial: ocurre en las hojas basales a medida que la planta crece. Las hojas basales quedan sombreadas y si permanecen un tiempo en esa situación comienzan a senescer.
2. Senescencia monocárpica: senescencia de las hojas y la planta entera en plantas anuales como consecuencia del desarrollo reproductivo al final del ciclo.
3. Senescencia estacional: senescencia de las hojas en árboles de hoja caduca en el otoño (en zonas de clima templado- frío) o en la estación seca (en zonas subtropicales o tropicales con estación seca). Se ha propuesto al fotoperíodo y la temperatura como señales que la desencadenan en algunos árboles.

Factores que afectan la senescencia foliar

1 . Cantidad de luz y la composición espectral de la misma (esto último se verá con mas detalle en el tema de fotomorfogénesis).

2. Disponibilidad de nutrientes, especialmente nitrógeno.

3. Hormonas que modulan la senescencia (la aceleran o la retrasan):

Retrasan la senescencia : citocininas.

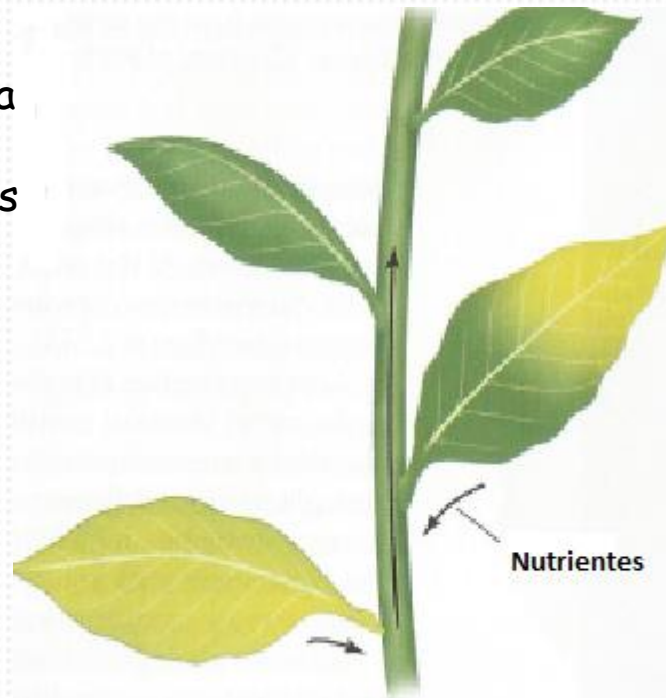
Aceleran la senescencia : etileno, ácido jasmónico, ácido abscísico.

4. Situaciones de estrés biótico o abiótico aceleran la senescencia foliar.

En la senescencia foliar se reconocen 3 fases:

1 - Fase de iniciación: -
#Transición de destino a
fuente de N
#Caída de la fotosíntesis

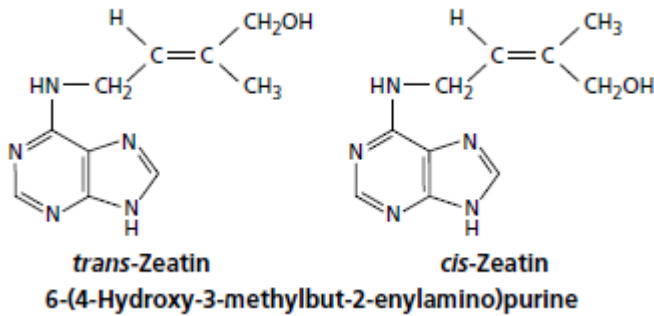
3 - Fase terminal:
#Pérdida de la
integridad celular
#Muerte celular



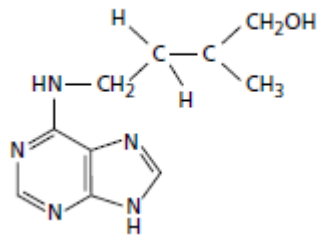
2 - Fase de reorganización:
#Desmantelamiento de
componentes celulares
#Degradación de
macromoléculas
#Removilización de
nutrientes (N, P, K, Mg,
algunos micronutrientes)

Citocininas

Naturales

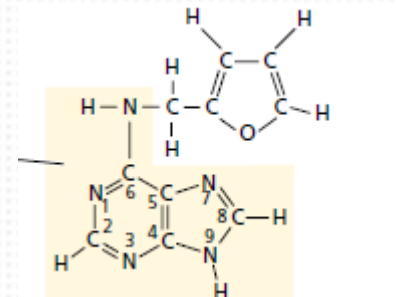


Zeatina

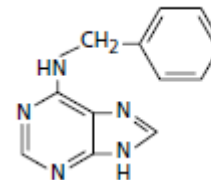


Dihidrozeatina

Reguladores



Cinetina



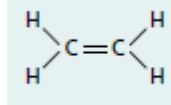
Bencilaminopurina (BAP)

Citocininas: principales efectos fisiológicos

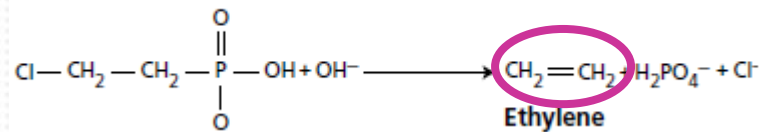
- Retrasan la senescencia foliar
- Regulación de la división celular
- Regulan la formación de órganos (junto con las auxinas) en cultivo in vitro
- Promueven la brotación de yemas laterales (rompen la dominancia apical)
- Promueven el movimiento de nutrientes hacia la hoja donde son aplicadas
- Promueven el desarrollo del cloroplasto (a partir de proplastidos)

Etileno: hormona gaseosa

Etileno



Ethrel o Etefón: regulador que se aplica como líquido



Citocininas: retrasan la senescencia foliar

- Reprimen la expresión de los genes relacionados a la senescencia (SAG)
- Aumentan la expresión de los genes relacionados con la fotosíntesis (Rubisco, etc)
- Aumentan la actividad metabólica del sitio donde son aplicadas (destino)
- Plantas transgénicas que sobreexpresan citocininas tienen senescencia foliar retrasada.

Etileno: promueve la senescencia foliar

- Mutantes insensibles al etileno (mutación en receptores) tienen senescencia foliar retrasada.
- La expresión de los genes de las enzimas de la ruta de síntesis y las moléculas de la vía de transducción de señales del etileno aumentan durante la senescencia.
- La aplicación de inhibidores de la síntesis o la acción del etileno retrasan la senescencia.

TP: Efecto de las citocininas y el etileno sobre la senescencia de hojas.

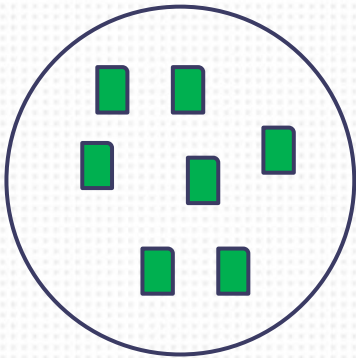
Objetivo: determinar el efecto del etileno, las citocininas y la luz sobre la senescencia de hojas cortadas.



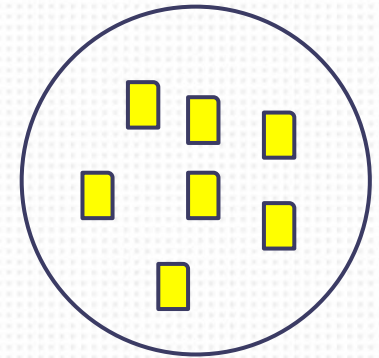
TP: Efecto de las citocininas y el etileno sobre la senescencia de hojas.

Evaluación de la senescencia: evaluación de la degradación de la clorofila (grado de verdor/amarillamiento) en hojas cortadas y colocadas en cajas de Petri

Verde: no senescente o menos senescente



Amarillo: senescente



TP: Efecto de las citocininas y el etileno sobre la senescencia de hojas

Materiales

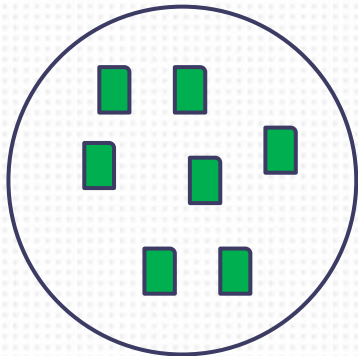
- Hojas de avena
- Cajas de Petri
- Papel de aluminio
 - Lámpara
 - Agua destilada
- Solución de BAP 100 ppm
- Etefón 500 ppm

Se colocan varios segmentos de hoja en cada en caja de Petri.

Tratamiento de luz: cajas de Petri iluminada por una lámpara.

Tratamientos de oscuridad: las cajas de Petri se cubren con papel de aluminio.

6 tratamientos en cajas de Petri:



1 - Control (agua destilada) { Luz
Oscuridad

2 - BAP { Luz
Oscuridad

3 - Etefón { Luz
Oscuridad

TP: Efecto de las citocininas y el etileno sobre la senescencia de hojas.

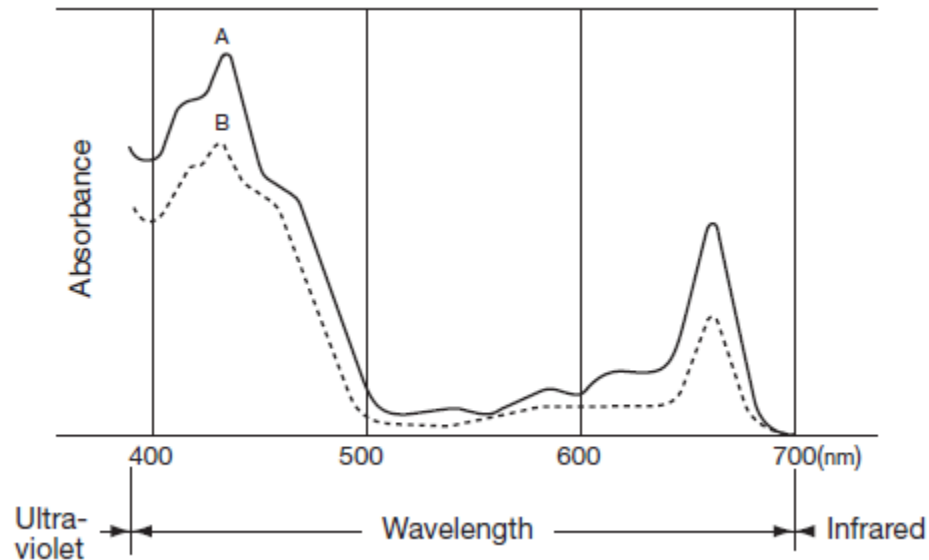
El contenido de clorofila se evalúa con un SPAD : medición rápida y no destructiva de la hoja



TP: Efecto de las citocininas y el etileno sobre la senescencia de hojas.

El SPAD ilumina la hoja con longitudes de onda en el rojo, y mide cuanto absorbe la hoja para estimar su contenido de clorofila.

¿Por qué rojo? Recordar TP Fotosíntesis.



TP: Efecto de las citocininas y el etileno sobre la senescencia de hojas.

El contenido de clorofila medido con un espectrofotómetro (eje x) tiene una relación lineal (para cierto rango de valores) con los valores de SPAD (eje y).

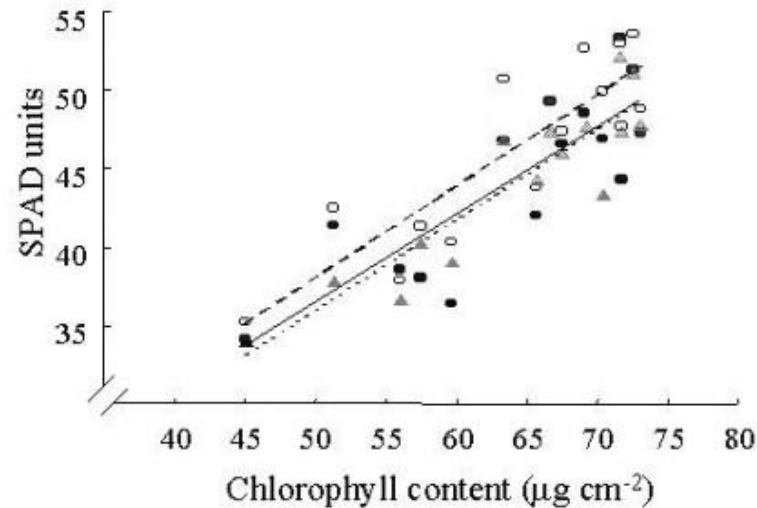
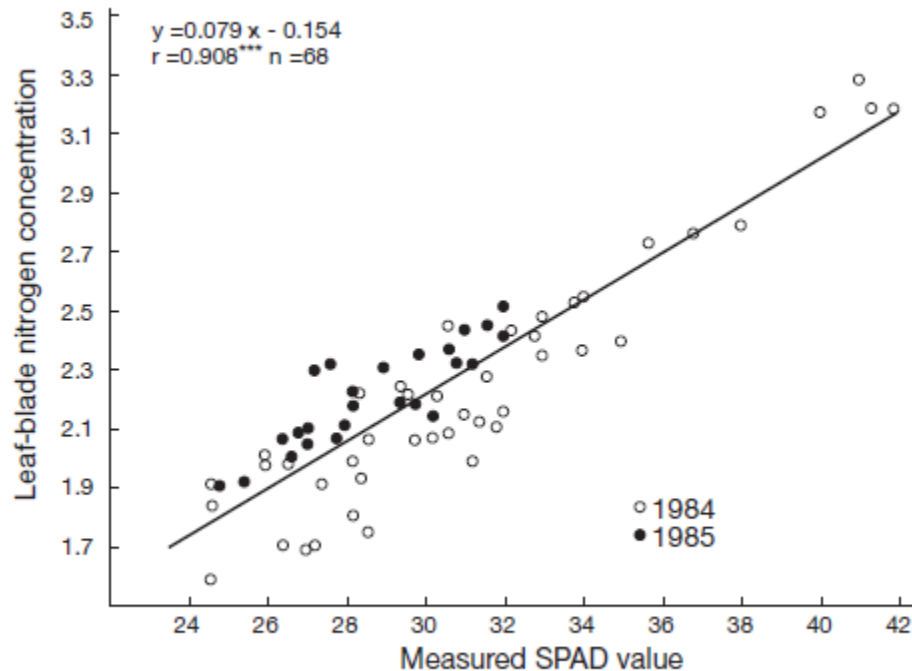


Figure 1. The effects of relative water content (RWC) on the relationship between extractable chlorophyll content and SPAD readings in wheat leaves. SPAD readings were made on fresh leaves (mean RWC = 94%, filled circles, continuous line, $y = 0.56x + 8.54$, $R^2 = 0.69$), dehydrated segments (RWC = 87%, empty circles, dashed line, $y = 0.49x + 15.48$, $R^2 = 0.68$) and dehydrated segments allowed to rehydrate in distilled water for 4 h (filled triangles, dotted line, $y = 0.58x + 6.85$, $R^2 = 0.83$).

Los distintos símbolos indican diferentes tratamientos. La relación lineal se mantiene a pesar de los cambios en el estado hídrico de las hojas.

TP: Efecto de las citocininas y el etileno sobre la senescencia de hojas.

El SPAD indica un valor numérico (eje x) que, dentro de cierto rango, correlaciona con el contenido de de nitrógeno (eje y) de la hoja. Los diferentes símbolos indican mediciones realizadas en diferentes años.



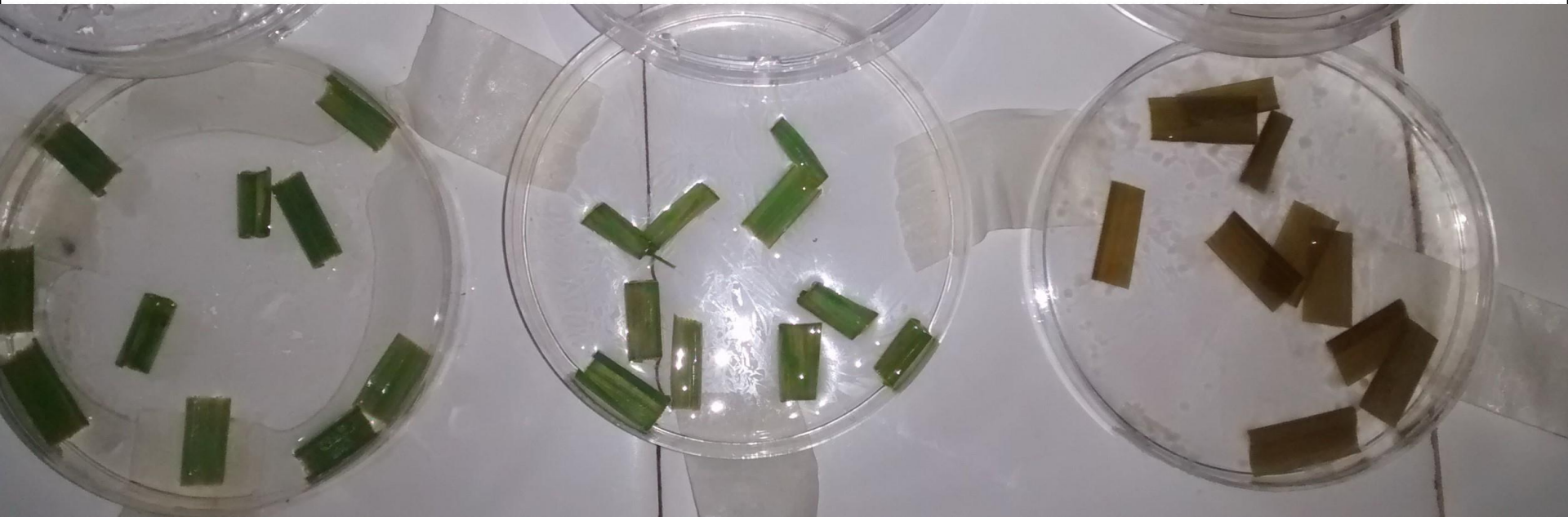
TP: Efecto de las citocininas y el etileno sobre la senescencia de hojas

Resultados

Se determina el contenido de clorofila (indicador del grado de senescencia) al comienzo del tratamiento (Día 0) y luego de 5 días. Se promedian los valores de clorofila de todos los segmentos de cada caja de petri y se completa el cuadro:

Tratamiento	SPAD Día 0	SPAD Día 5
Control Luz	31,1	24,7
Control Oscuridad	30,9	10,2
BAP Luz	30,3	29,5
BAP Oscuridad	30,8	27
Etefón Luz	31,2	3,2
Etefón Oscuridad	30,7	2,6

Resultados de las cajas de Petri mantenidas a la luz por 5 días.



BAP

Control

Etefón

Resultados de las cajas de Petri mantenidas en oscuridad por 5 días.



Control

BAP

Etefón

Preguntas

1. ¿Cuál es el efecto de las citocininas, el etileno y la luz sobre la senescencia de hojas? (conclusión del TP).

2. Cuando se cosechan verduras de hoja, se desencadena la senescencia de las mismas (senescencia postcosecha), lo cual limita la "vida en estante" y reduce las posibilidades de comercialización.

En base a los resultados del TP y sus conocimientos de Fisiología Vegetal, indique cómo afectarán las siguientes prácticas la senescencia postcosecha de verduras de hoja.

2.1. Comercialización de plantas de lechuga enteras (incluyendo raíces) cultivadas en hidroponía, en vez de sólo las hojas. ¿Qué efecto tendrá sobre la senescencia y a través de qué hormona?



2.2. Verduras de hoja cortadas comercializadas en recipientes con atmósfera modificada. ¿Qué gases modificaría y qué hormona se vería afectada?



3. En este ensayo (Tesis doctoral de Gustavo Gergoff) se probó el efecto de distintos tratamientos sobre la senescencia de hojas cortadas de espinaca, medida como el contenido de clorofila con un SPAD. Luego de la cosecha las hojas se colocaron en bolsas y se mantuvieron a 23°C por 3 días con 4 tratamientos: control, pulsos de 15 minutos de luz cada 2 h, pulsos de 15 minutos de luz cada 6 h. La irradiancia de los pulsos corresponde al PC lumínico de la hoja. Luego las bolsas se almacenaron en oscuridad total a 4° C por 7 días.

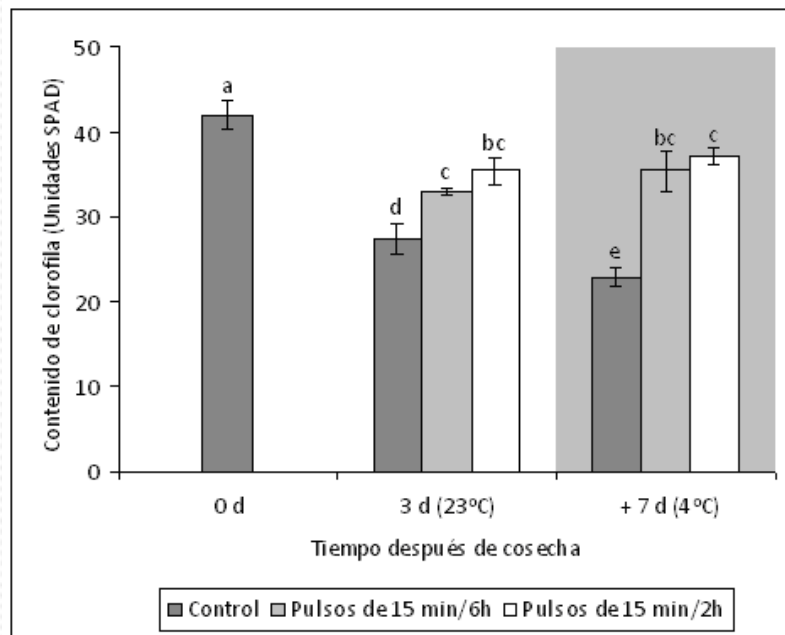


Figura 5.2 Contenido de clorofila en hojas maduras de espinaca tratadas con pulsos de 15 min con una frecuencia de 2 y 6 h por 3 d a 23 °C y luego mantenidas por una semana más en oscuridad a 4 °C. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA $P \leq 0,05$)

Comparando los valores de clorofila luego de los 3 días de tratamiento y los 7 de almacenamiento con los del momento de la cosecha (día 0):

¿Cuál tratamiento es más eficiente en retrasar la senescencia de la hoja de espinaca?

¿Cómo serían los resultados si en vez de almacenar a 4°C se almacenara a 23°C por 7 días? Explicar por qué.

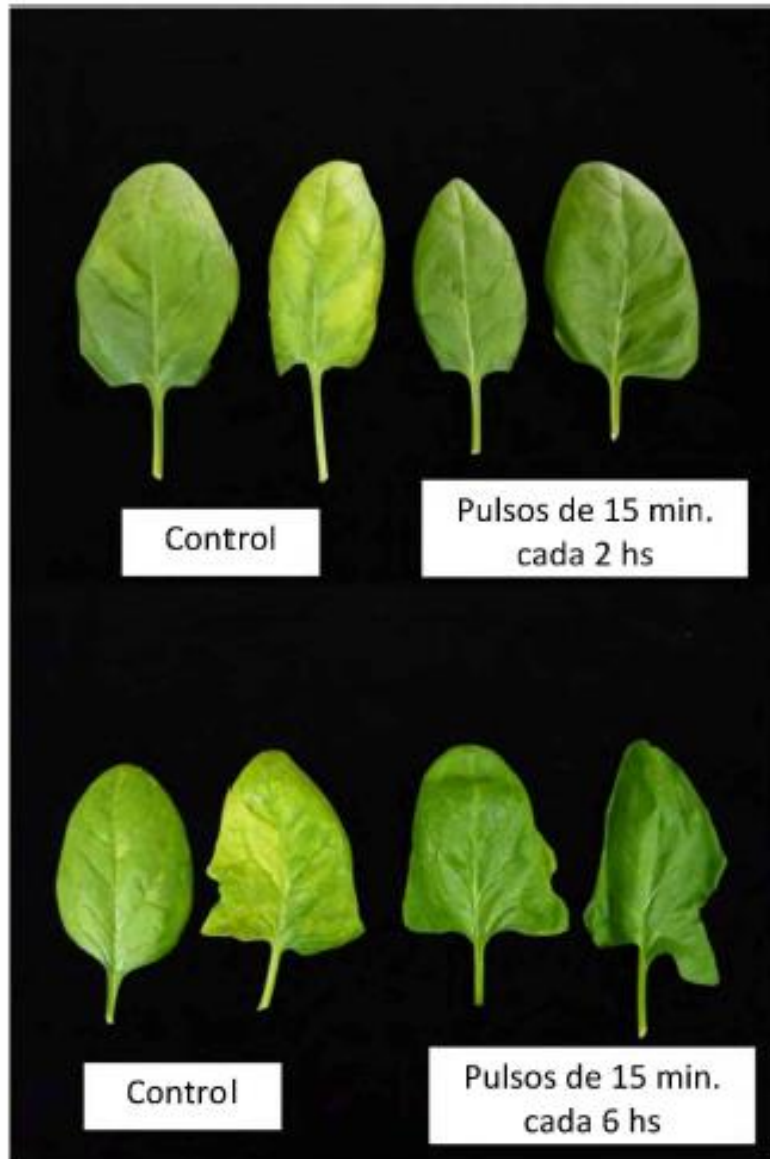


Figura 5.3 Hojas maduras de espinaca tratadas con pulsos de 15 min con una frecuencia de 2 y 6 h por 3 d a 23 °C y luego mantenidas por una semana más en oscuridad a 4 °C.

4. En este ensayo se incorporó otro tratamiento, la aplicación de 1-MCP y se utilizaron pulsos de luz de 7 minutos cada 2 h.

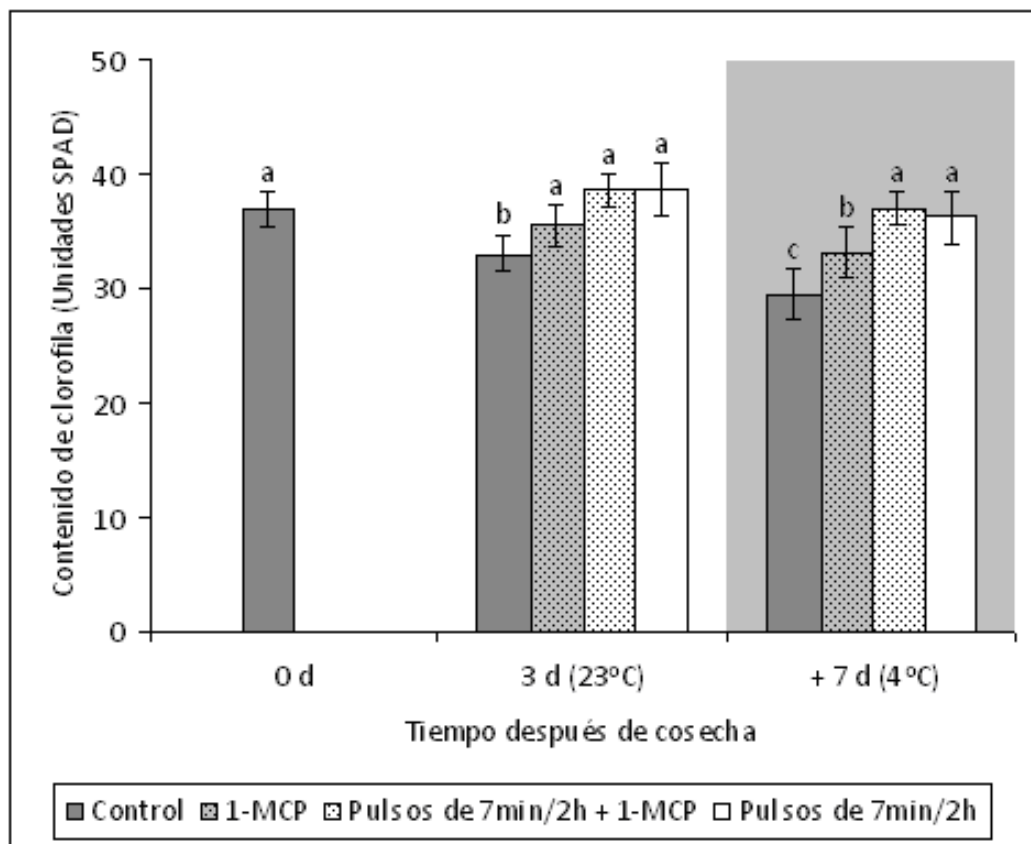


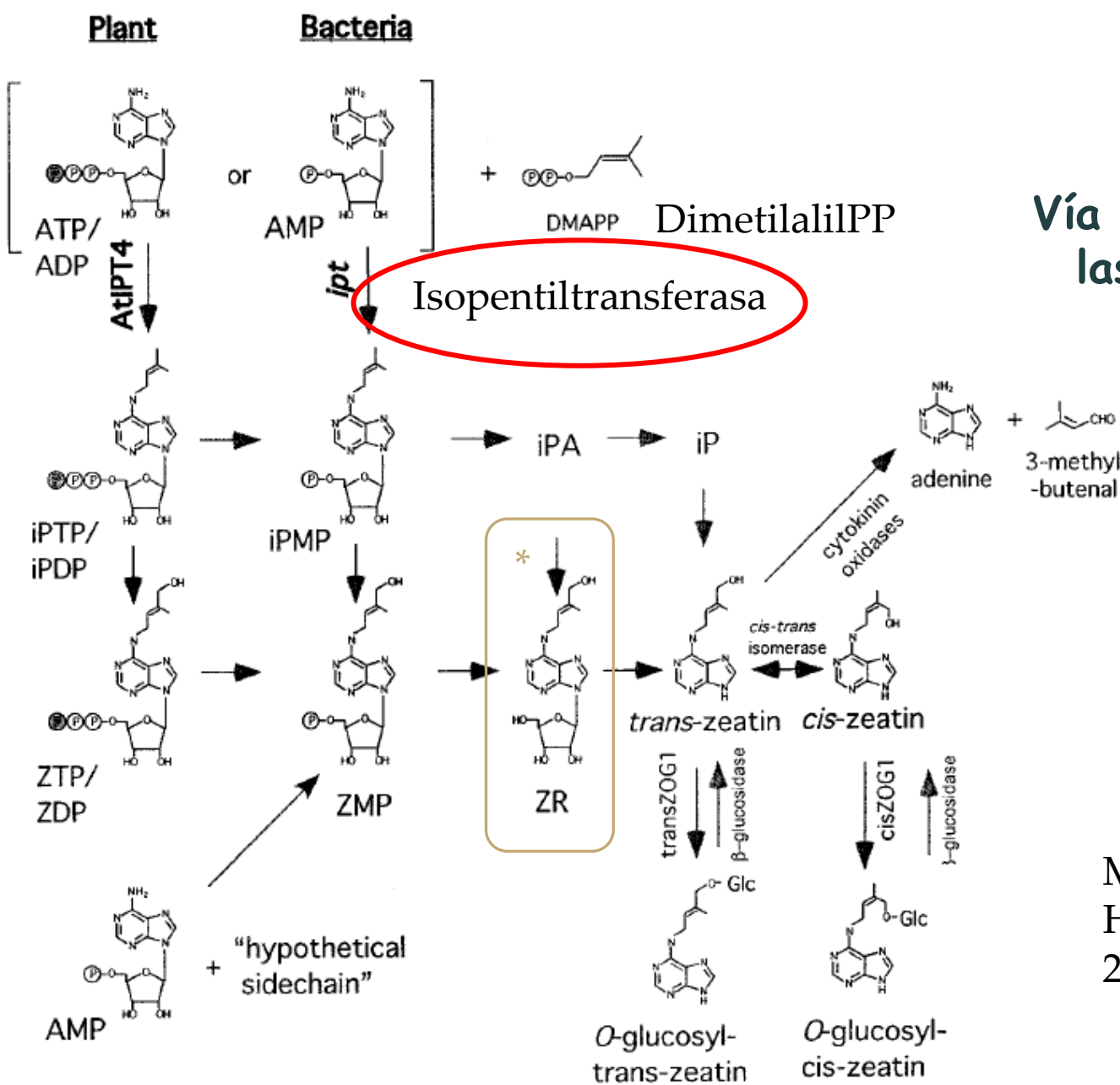
Figura 5.20 Contenido de clorofila en hojas maduras de espinaca tratadas con una aplicación de $1,0 \mu\text{L L}^{-1}$ de 1-MCP combinado con pulsos de 7 minutos con una frecuencia de 2 h por 3 d a 23°C y luego mantenidas por una semana más en oscuridad a 4°C . Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA $P \leq 0,05$)

¿Cuál es el mecanismo de acción del 1-MCP?

Si tuviera que elegir entre el tratamiento con luz y 1-MCP, describa las ventajas y desventajas de cada uno. Justifique su respuesta y cuál consideraría más adecuado.

Ayuda: además de los resultados mostrados, tenga en cuenta que el tratamiento elegido se debería aplicar sobre un atado de espinaca.

Vía de síntesis de las citocininas



Modificado de Haberer & Kieber, 2002. *Plant Physiol.*

* Zeatin ribosido
Transporte vía xilema

Citocininas y senescencia postcosecha

En este ejemplo, se creó una planta de lechuga transgénica que sobreexpresa el gen de la isopentenil transferasa, que es la primer enzima de la vía de síntesis de las citocininas, aumentando la producción de esta hormona. En la foto se ve que las hojas de las plantas transgénicas cortadas están menos senescentes que las plantas silvestres (no transformadas), luego de 7 días de cortadas y almacenadas a temperatura ambiente. Es la misma planta a la que se le van removiendo las hojas exteriores (de izquierda a derecha).



Reciclado de nutrientes durante la senescencia

En las plantas anuales, la senescencia de las hojas y de la planta entera ocurren al final del ciclo (senescencia monocárpica). Se produce la removilización de nutrientes desde las hojas (y en algunos casos el tallo) hacia las semillas. Estos nutrientes son utilizados posteriormente durante la germinación para el crecimiento inicial de la plántula.



A



B

Senescencia monocárpica de un cultivo de trigo

Reciclado de nutrientes durante la senescencia



En los árboles de hoja caduca, el nitrógeno proveniente de las hojas que senescen en otoño se almacena en las proteínas de almacenamiento de la corteza (BSP, Bark Storage Proteins) durante el invierno . En la primavera, estas proteínas se degradan y los aminoácidos se trasladan a través del floema hacia las yemas en crecimiento.

Bibliografía utilizada

- Guía de TP de Hormonas y de Aplicación de Reguladores de la cátedra.
- Buchanan et al. (2015) Biochemistry and Molecular Biology of plants. Second Edition. Wiley-Blackwell.
- Russell L. Jones, Helen Ougham, Howard Thomas, Susan Waaland (2012). The Molecular Life of Plants. Wiley-Blackwell.
- Lincoln Taiz, Eduardo Zeiger, Ian M. Møller, Angus Murphy (2015) Plant Physiology and Development, Sixth Edition. Sinauer Associates.
- Tesis Doctoral Gustavo Gergoff. Disponible en: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/83639>