

## CAPÍTULO IV

Los niveles de **A**denilatos  
reflejan mayor actividad  
metabólica y capacidad respiratoria  
en la **R**emolacha **O**toñal respecto  
de la **P**rimaveral





## LOS NIVELES DE ADENILATOS REFLEJAN LA MAYOR ACTIVIDAD METABÓLICA Y CAPACIDAD RESPIRATORIA DE LA REMOLACHA OTOÑAL RESPECTO A LA PRIMAVERAL

Sofía García-Mauriño<sup>1</sup>, Eduardo T. Jiménez<sup>1</sup>, José A. Monreal<sup>1</sup>, Rodrigo Morillo-Velarde<sup>2</sup>,  
Cristina Echevarría<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biología Vegetal y Ecología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Avenida Reina Mercedes nº 6, 41012 Sevilla, España.

<sup>2</sup>AIMCRA (Asociación de Investigación para la Mejora del Cultivo de la Remolacha Azucarera), Delegación Sur, C/Metalurgia nº 36, 41080 Sevilla, España.

### INTRODUCCIÓN

La remolacha de **siembra primaveral** se cosecha a finales de otoño, cuando las temperaturas están en descenso y los fotoperiodos son progresivamente más cortos.

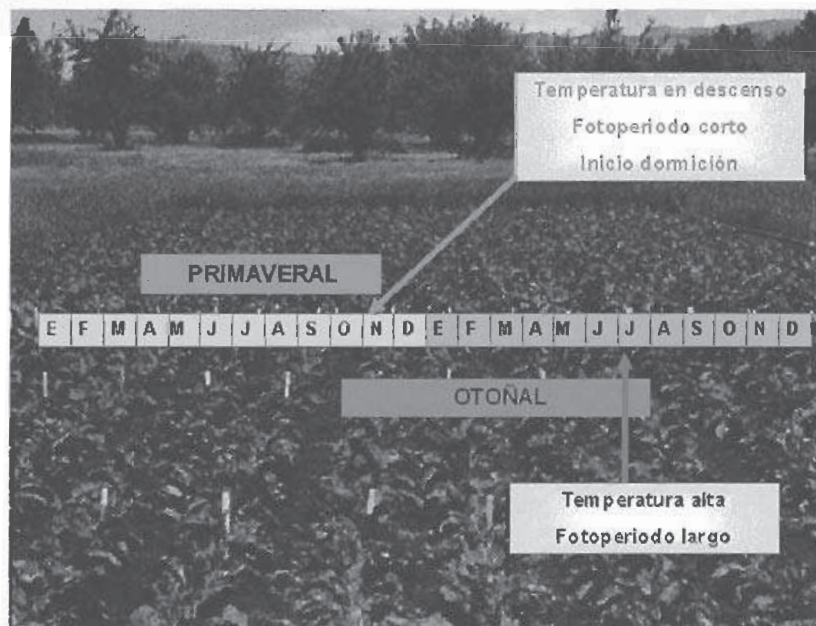


Figura 1. Representación de los factores ambientales existentes en el momento de la cosecha de la remolacha de siembra otoñal y de siembra primaveral.



## **Aspectos fisiológicos de la remolacha azucarera de siembra otoñal**

---

Temperaturas bajas y fotoperiodos cortos son señales ambientales que inducen el periodo de dormición que ocurre al final del primer año de cultivo de esta especie bianual. Por el contrario, la remolacha de **siembra otoñal** se cosecha en pleno verano, cuando las temperaturas son altas y los fotoperiodos largos. Por tanto, es de esperar que las plantas sometidas a las dos variantes de cultivo se encuentren en estados metabólicos distintos en el momento de ser cosechadas.

La última fase del metabolismo respiratorio de los carbohidratos está asociada a la síntesis de ATP en las mitocondrias. Si la demanda de ATP en la planta es alta, se respirarán los carbohidratos fotosintetizados para satisfacerla, siempre que haya ADP disponible para la síntesis de ATP. En general, una relación ATP/ADP alta sugiere una situación de alta actividad metabólica.

La variación en el contenido de adenilatos en las raíces de remolacha de **siembra primaveral** ha sido descrita por Shugaev y Bukhov (1997). El estadio pre-cosecha se caracteriza por un alto nivel de ADP y una relación ATP/ADP baja, es decir, una situación que concuerda con un estado de baja actividad metabólica atribuible a un sistema mitocondrial poco activo (Shugaev, 2001).

Por el contrario, no existe bibliografía referente al contenido de adenilatos de la remolacha de **siembra otoñal**. Presumiblemente, el distinto estado metabólico en el que se encuentran la remolacha de siembra primaveral y la de siembra otoñal debe reflejarse en diferentes niveles de adenilatos.

En este trabajo se han cuantificado adenilatos (ATP y ADP) en las raíces de remolacha para evaluar su estado metabólico y para analizar si existe una relación entre dicho estado y las diferencias observadas entre la remolacha de **siembra otoñal** y la de **siembra primaveral**.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

- **Material vegetal:** Se han empleado variedades comerciales de remolacha (Claudia, Ramona y Monatunno), que han sido cultivadas por AIMCRA en varias localidades próximas a Sevilla. Se presentan los resultados correspondientes a las campañas 1999/2000, 2000/2001 y 2001/2002.

- **Preparación de las muestras:** Cada muestra estaba formada por secciones delgadas de al menos tres raíces distintas, obtenidas tras la llegada de las remolachas al laboratorio e inmediatamente congeladas en nitrógeno líquido.

- **Cuantificación de adenilatos:** Los adenilatos se extrajeron con  $\text{HClO}_4$  0.6 M (Bukhov et al., 1995). La cuantificación de ATP se realizó en extractos neutralizados con  $\text{K}_2\text{CO}_3$  2 M usando un ensayo de bioluminiscencia de Sigma. En dicho ensayo, se produce una señal luminosa que se detecta y cuantifica en un luminómetro, y que es proporcional a la concentración de ATP en la muestra ensayada (Bukhov et al., 1995). De la misma

manera, se determinó la cantidad de ADP contenida en las muestras tras su conversión enzimática en ATP (Schultz et al., 1993). Todas las determinaciones se han realizado por triplicado y se presentan las medias de los datos obtenidos.

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la Fig. 2 se muestran los resultados obtenidos en raíces de **siembra otoñal** de cuatro ensayos de campo distintos, durante la campaña 1999/2000. ATP y ADP mostraban una tendencia a disminuir en las raíces, con valores mínimos en el periodo de cosecha, y siempre con valores de ADP inferiores a los de ATP, ocasionando una relación ATP/ADP relativamente alta. Estos datos sugerían un estado de actividad metabólica superior a la descrita para la remolacha primaveral.

El patrón general de las variaciones de adenilatos en la remolacha de **siembra otoñal** se analizó durante la campaña 2000/2001 durante todo el desarrollo de remolacha en ensayos de campo (Fig. 3) y cultivadas en paralelo en el invernadero de la Facultad de Biología (Fig. 4). Se observó un aumento inicial de ATP y ADP, seguido de un descenso de ADP que ocasionó un máximo en la relación ATP/ADP (fase de crecimiento exponencial y máxima actividad metabólica); a continuación, un descenso gradual de ambos adenilatos, con uno o más picos en la relación ATP/ADP en la fase

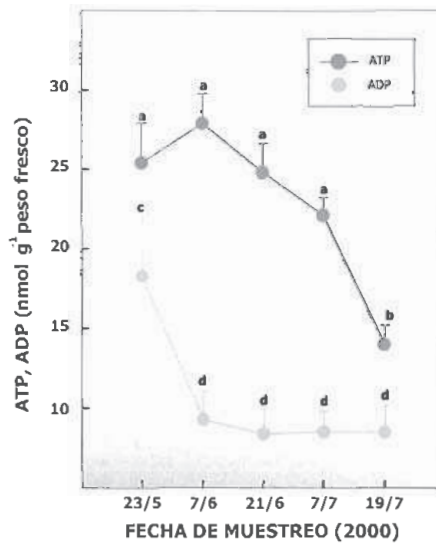


Figura 2. Contenido de ATP y ADP en raíces de remolacha de siembra otoñal en la campaña 1999/2000. Cada punto es la media ± ES de ocho muestras distintas. Las medias con la misma letra no difieren de forma significativa para P < 0.05.

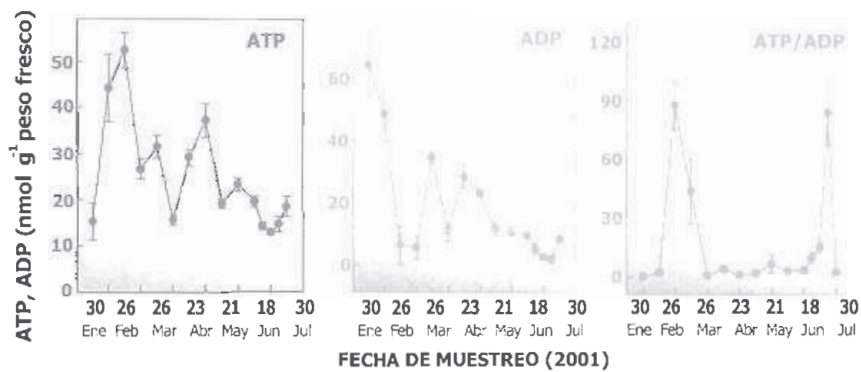


Figura 3. Contenido en ATP y ADP, y relación ATP/ADP en raíces de remolacha de siembra otoñal durante la campaña 2000/2001. Cada punto es la media ± ES de ocho muestras distintas.

### Aspectos fisiológicos de la remolacha azucarera de siembra otoñal

final causados, presumiblemente, por aumentos puntuales de la actividad respiratoria en respuesta a cambios ambientales. Este patrón se ha repetido en las tres campañas analizadas.

Durante la campaña 2001/2002, se cultivaron remolachas en **siembra primaveral** y en **siembra otoñal**, en la misma localidad, de manera que ambos cultivos estuviesen expuestos a las mismas condiciones ambientales. En el momento de la cosecha, se observa que el contenido en ATP y ADP (Fig. 5 y Fig. 6) era superior en las remolachas en siembra primavera. El ATP podría acumularse como consecuencia de una disminución de su uso, lo cual, unido a un aumento de ADP que no dispara la actividad mitocondrial (que causaría su descenso), sugiere un estado general de baja actividad metabólica.

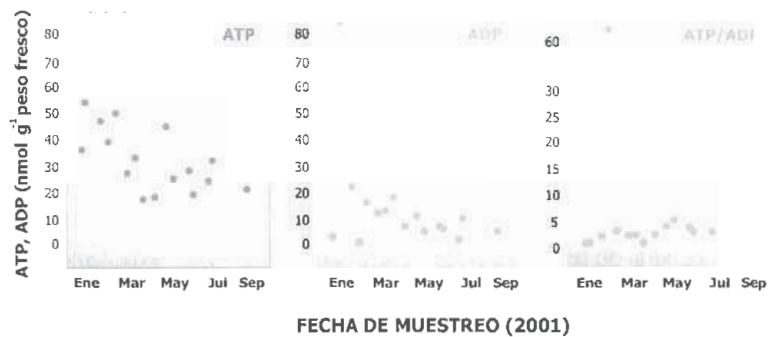


Figura 4. Contenido en ATP y ADP, y relación ATP/ADP en raíces de remolacha cultivada en invernadero durante la campaña 2000/2001.

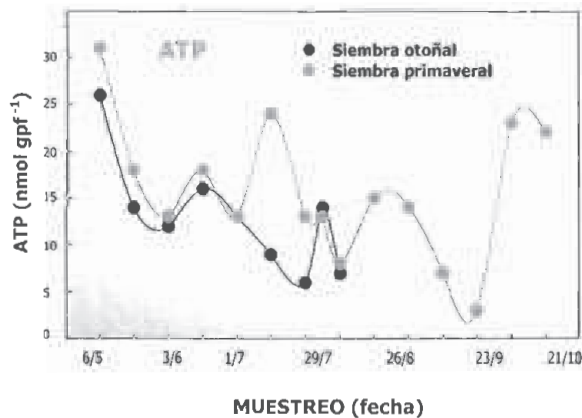


Figura 5. Contenido de ATP en raíces de remolacha de siembra otoñal y de siembra primaveral en la campaña 2001/2002. *B. vulgaris* cv. Ramona se cultivó en la misma finca en siembra otoñal (círculos negros) y siembra primaveral (círculos rojos).

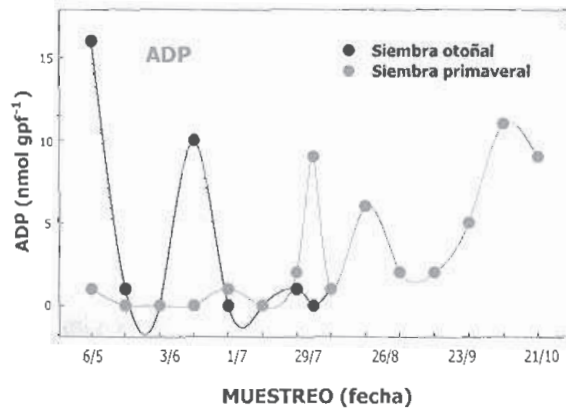


Figura 6. Contenido de ADP en raíces de remolacha de siembra otoñal y de siembra primaveral en la campaña 2001/2002. *B. vulgaris* cv. Ramona se cultivó en la misma finca en siembra otoñal (círculos negros) y siembra primaveral (círculos rojos).

Además, la relación ATP/ADP (Fig. 7) era baja y estable, lo que contrasta con la altamente variable observada en el caso de la remolacha de siembra otoñal. En el caso de la remolacha primaveral, la situación correspondía a plantas iniciando el periodo de dormición al final del primer año de cultivo. Por el contrario, los resultados obtenidos para la remolacha otoñal sugerían un sistema funcional y activo.

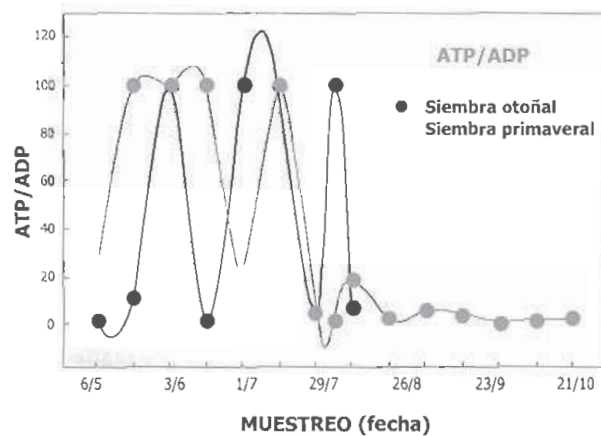


Figura 7. Contenido de ATP/ADP en raíces de remolacha de siembra otoñal y de siembra primaveral en la campaña 2001/2002. *B. vulgaris* cv. Ramona se cultivó en la misma finca en siembra otoñal (círculos negros) y siembra primaveral (círculos rojos).

### Aspectos fisiológicos de la remolacha azucarera de siembra otoñal

Las condiciones climáticas en el momento de la cosecha fueron muy distintas para ambos tipos de siembra. Cuando se cosecha la remolacha otoñal (verano), las condiciones climáticas (altas temperaturas y escasa o inexistente precipitación) propician que las plantas se vean sometidas a estrés hídrico y térmico. Por el contrario, cuando se cosecha la remolacha primaveral (finales de otoño) es improbable que se produzcan dichas situaciones de estrés. Por tanto, es de esperar una diferente actividad metabólica asociada a las **respuestas a estrés**, en ambos tipos de siembra. En la Tabla 1 se muestra que el contenido en glucosa y prolina era significativamente mayor en las raíces de siembra otoñal que en las raíces de siembra primaveral en el momento de la cosecha. La prolina es un osmolito compatible que se ha asociado al ajuste osmótico de las plantas en las respuestas a estrés hídrico (Yeo, 1998). Por otro lado, en las respuestas al estrés podría estar implicada una movilización de la sacarosa de reserva (por ejemplo, para sintetizar prolina u otros osmolitos compatibles), y acumularse glucosa en la raíz como remanente. Como un factor más del aumento de actividad metabólica que sería de esperar en las respuestas a estrés, se muestra en la misma Tabla que la tasa respiratoria en la remolacha otoñal era casi el doble de la correspondiente a la remolacha primaveral en sus respectivas épocas de cosecha.

**Tabla 1.** Prolina, glucosa y tasa respiratoria en raíces de remolacha de siembra otoñal y de siembra primaveral en el momento de la cosecha. La remolacha otoñal se muestreó desde el 15 de Julio al 12 de Agosto, y la primaveral desde el 7 de Octubre hasta el 6 de Noviembre de 2002. Se muestran las medias  $\pm$  ES (n = 6).

	Siembra otoñal	Siembra primaveral	t test (n=6)
Prolina ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ pf)	4.79 $\pm$ 0.17	1.79 $\pm$ 0.14	P < 0.001
Glucosa (mg g <sup>-1</sup> pf)	0.69 $\pm$ 0.16	0.30 $\pm$ 0.15	P = 0.017
Respiración ( $\mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ min}^{-1}$ )	93.33 $\pm$ 6.43	52.00 $\pm$ 5.82	P < 0.001

### CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos apoyan la hipótesis de la existencia de diferencias en el estado metabólico en ambos tipos de siembra. Dichas diferencias pueden estar relacionadas tanto con el estado de desarrollo de la planta (iniciando o no el periodo de dormición) como con las respuestas a estrés (ver esquema presentado en la Fig. 8). El estado metabólico de la remolacha de **siembra otoñal** (alta capacidad respiratoria y alta actividad metabólica) es totalmente distinto del de la de **siembra primaveral** (baja capacidad respiratoria y baja actividad metabólica) en el momento de la cosecha. Esta diferencia puede ser la base fisiológica que subyace en algunas de las diferencias que se observan entre los cultivos de remolacha en siembra otoñal y siembra primaveral.



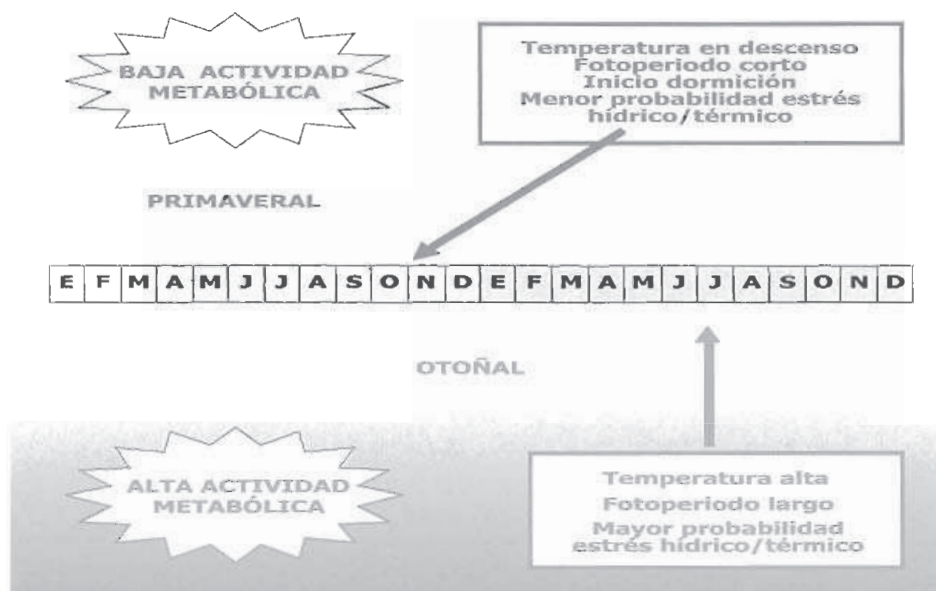


Figura 8. Representación de los factores ambientales existentes y de la situación metabólica resultante en el momento de la cosecha de la remolacha de siembra otoñal y de siembra primaveral.

## BIBLIOGRAFÍA

**Bukhov NG, Bondar VV, Drozdova IS (1995).** Long-term effects of blue or red light on ATP and ADP contents in primary barley leaves. *Planta* 196: 211-216

**Schultz V, Sussman I, Bokvist K, Tornheim K (1993).** Bioluminometric assay of ADP and ATP at high ATP/ADP ratios: assay of ADP after enzymatic removal of ATP. *Anal Biochem* 215: 302-304

**Shugaev AG (2001).** Developmental changes in the NAD content in sugar-beet root mitochondria and their effect on the oxidative activity of these organelles. *Russian J Plant Physiol* 48: 582-587

**Shugaev AG, Bukhov NG (1997).** Opposite trends of seasonal changes in ADP content and respiration rate in sugar beet roots. *J Plant Physiol* 150: 53-56

**Yeo A (1998).** Molecular biology of salt tolerance in the context of whole-plant physiology *J Exp Bot* 49: 915-929