



Foto 1. Ensayo de lechuga en cámara de crecimiento (2017. Dpto. Técnico y de Desarrollo de TIMAC AGRO y Universidad de Navarra).

El efecto de los antioxidantes sobre el estrés oxidativo en los cultivos

El estrés oxidativo es una de las principales causas que afecta directamente al correcto desarrollo de los cultivos. La planta, que invierte su energía en defenderse de dicho estrés, presenta problemas de absorción y metabolismo de los nutrientes, reduciendo su potencial de crecimiento considerablemente.

Numerosos estudios demuestran que una correcta bioestimulación de la planta es muy beneficiosa para prevenir e incluso revertir dichos estreses, logrando así desarrollar todo el potencial vegetativo de los cultivos. En este trabajo se estudió el efecto de un inductor antioxidante en dos especies, lechuga 'Matinale' y naranjo 'Pineapple', donde se analizó la actividad de diferentes enzimas relacionadas con la síntesis de ROS. Dicho inductor aumentó significativamente la actividad catalasa, peroxidasa y superóxido dismutasa en ambas especies.

A. Vicent Civera

Centro para el
Desarrollo de
Agricultura Sostenible.
IVIA. Moncada
(Valencia).

J. Sancho Ortega, R. Baigorri Ekisoain y S. San Francisco Elia

Departamento Técnico
y de Desarrollo.
Timac AGRO. Lodosa
(Navarra).

En los últimos cincuenta años se ha desarrollado un interés creciente por los problemas relacionados con el estrés oxidativo, los radicales libres, las especies reactivas del oxígeno (ROS por sus siglas en inglés) y los antioxidantes. Todo ello es debido a la importancia que poseen en la bioquímica, la biología, la medicina e incluso en la cosmética. Su aplicación en agronomía ofrece también grandes expectativas.

El estrés oxidativo es todo estrés en el que se genera un desequilibrio entre la producción de Especies reactivas del oxígeno (ROS) y la capacidad de un sistema biológico de decodificar rápidamente los reactivos que le hagan frente (antioxidantes) o reparar el daño resultante. Estos desequilibrios 'ROS vs. antioxidantes' causan el daño oxidativo cuando los ROS reaccionan con el sustrato oxidable (proteínas, lípidos, hidratos de carbono e incluso las propias moléculas de ADN) (Blokhina y col., 2003; Møller y col., 2007; Imlay, 2008).

Es un concepto poco empleado en agronomía pero que, en realidad, se produce con mucha frecuencia debido a sus causas tan comunes: los estreses abióticos.

En el mundo vegetal, las principales causas de estrés oxidativo son diferentes agresiones externas o estreses abióticos, como pueden ser el estrés hídrico, tanto por exceso (inundación/encharcamiento) como por defecto (sequía), las temperaturas extremas, la salinidad, la descompensación de nutrientes, la toxicidad por metales pesados, la alta insolación, los ataques de patógenos o incluso causadas por herbívoros, etc. Estas situaciones provocan una descompensación entre la síntesis de ROS (radicales libres, peróxidos e iones de oxígeno) respecto de la producción de antioxidantes que los inhiben (Mittler, 2002; Meyer, 2008).

Los ROS son las 'Especies de Oxígeno Reactivo' por sus siglas en inglés (Reactive Oxygen Species). Incluyen a los conocidos radicales libres (superóxido, hidroperóxido, hidróxilo), pero también peróxidos, iones de oxígeno, oxígenos singlete, alfa-oxígenos, etc. Son generalmente moléculas muy pequeñas, inestables y altamente reactivas debido a la presencia de un electrón impar. Por

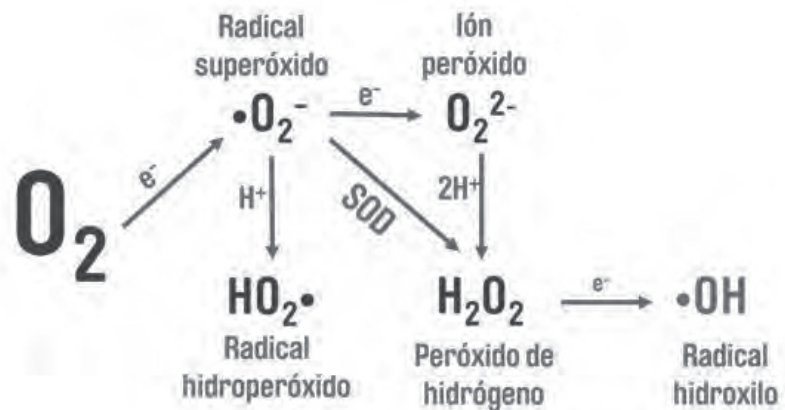


Figura 1. Producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) durante la reducción de oxígeno molecular (O₂) (Imlay, 2008; Gill y Tuteja, 2010).

todo ello, tienen una vida media corta y actúan cercano al sitio en que se forman, produciendo daño celular oxidativo, es decir, oxidan los diferentes componentes orgánicos de la planta a su paso (Imlay, 2008; Gill y Tuteja, 2010) (Figura 1).

Los ROS se producen por diferentes mecanismos naturales, generalmente asociados con las reacciones de oxidación, tanto en animales como vegetales. En el caso de los vegetales, se producen en mayor medida en los cloroplastos y las mitocondrias, pero también en la cadena de transporte de electrones y, en general, mediante cualquier reacción de oxidación.

Cada tipo de ROS tiene una forma de actuar concreta, diferenciándose principalmente por el tipo de tejido que son capaces de oxidar y por la movilidad que tienen. El más destacable es el Radical hidróxilo (OH), por ser el más reactivo de todos, capaz de oxidar todo tipo de macromoléculas, incluido el ADN y que no tiene ningún mecanismo enzimático de control. También destacan el radical superóxido (O₂⁻) y el peróxido de hidrógeno (H₂O₂), que afectan principalmente a la inactivación de enzimas, con una movilidad relativamente baja, pero que son clave, por ser fases previas al radical hidróxilo, donde sí existe la posibilidad de controlarlos enzimáticamente para evitar su formación (Karavangeli y col. 2005).

Los niveles celulares de ROS son estrictamente regulados por una compleja red de defensa antioxidante

Ciclo ascorbato-glutatión

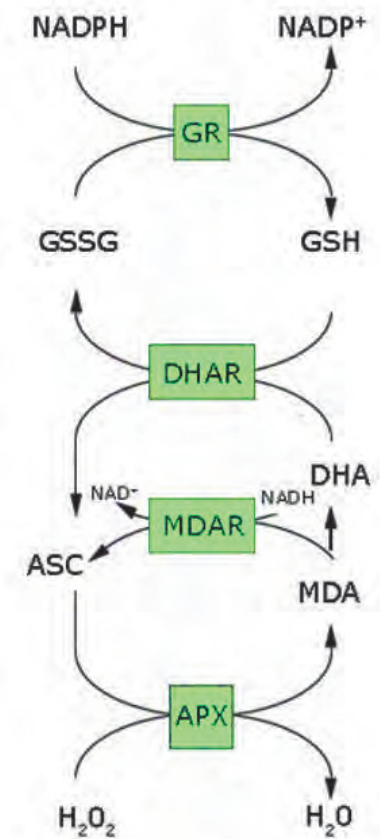


Figura 2. Ciclo Ascorbato-Glutatión.

para mantener la homeostasis en todos los compartimentos celulares. El sistema de defensa antioxidante está constituido por un grupo de sustancias que controlan las cascadas de oxidación y protegen el sustrato oxidable (envejecimiento celu-

lar). Los antioxidantes se adelantan y consiguen que los ROS interactúen con ellos más rápido que con el resto de moléculas presentes (Gratão y col., 2005). De este modo, la acción del antioxidante es sacrificar su propia integridad molecular para evitar las alteraciones de otras moléculas vitales o más importantes.

Los principales antioxidantes en vegetales son el glutatión y el ascorbato (Blokhina y col., 2003), que forman el ciclo del ascorbato-glutatión donde entra en funcionamiento catalasas y peroxidadasas con el fin de descomponer el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en agua y oxígeno. La SOD (superóxido dismutasa) también juega un papel importante precipitando el paso de radical superóxido ($\cdot O_2^-$) a peróxido de hidrógeno (H_2O_2), poniéndolo a disposición del ciclo del ascorbato-glutatión.

Resultados y discusión

Siguiendo la senda de esta investigación, TIMAC AGRO ha desarrollado una tecnología que se ha hecho realidad con el lanzamiento de Vitalfit. Esta novedosa solución actúa como Inductor Antioxidante con el objetivo de preparar a las plantas frente al estrés oxidativo. En este sentido, cabe destacar dos ensayos que avalan su eficacia:

Ensayo en lechuga

(Dpto. Técnico y de Desarrollo de Timac AGRO y Universidad de Navarra).

En este ensayo, bajo condiciones de cámara de crecimiento (15 horas de

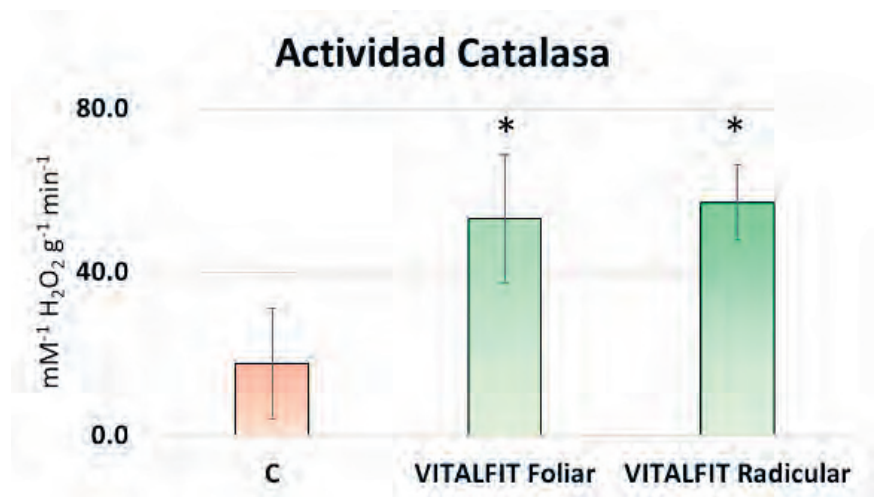


Figura 3. Actividad Catalasa. Ensayo en lechuga 'Matinale' en cámara de crecimiento (2017). Dpto. Técnico y de Desarrollo de TIMAC AGRO y Universidad de Navarra).

luz de día y 9 de noche, temperatura máxima de 15°C, mínima de 8°C, 70% HR y 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de PAR) (Foto 1), se realizaron tres tratamientos con diez lechugas 'Matinale' por tratamiento, en un sustrato alcalino (800 g suelo y 80 g perlita), a) Control, b) Vitalfit foliar y c) Vitalfit radicular. 60 días posttratamiento se realizaron mediciones de la actividad de catalasa en laboratorio en muestras de tejido foliar, triplicando la actividad de la catalasa en ambos tratamientos (Elavarthi y Martin, 2010). De este ensayo se puede concluir el incremento efectivo de los niveles de antioxidantes. Asimismo, se puede apreciar la sistemática derivada de la aplicación, puesto que ambos tratamientos incrementan muy considerablemente los valores en mediciones foliares y también podemos observar la persistencia del efecto en

lechuga de al menos 60 días en condiciones controladas (Figura 3).

Ensayo Cítricos

(IVIA. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias en colaboración, Universidad de Navarra y Departamento Técnico y de Desarrollo de Timac AGRO).

Se realizó un experimento en invernadero para evaluar el efecto sobre plantas con Vitalfit frente a plantas control, en cítricos. Se emplearon individuos de naranjo 'Pineapple' de 4-5 meses de edad (Foto 2) cultivadas en alveolos con una mezcla de turba y arena (3:1 vol/vol). En el experimento se evaluaron 85 plantas por tratamiento. En este ensayo se realizó una aplicación foliar y dos muestreos, un día y siete días post tratamiento. En las medidas se aprecian incrementos



Foto 2. Plantones de cítricos 'Pineapple' (2017). IVIA. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias).

notables en los niveles de actividad catalasa, peroxidasa y superóxido dismutasa. No obstante, es a los siete días post tratamiento cuando se observan diferencias significativas de todas las actividades enzimáticas en relación con el control (Figura 4).

Conclusión

Una óptima bioestimulación es capaz de activar el metabolismo de la planta para generar y acumular sustancias naturales antioxidantes capaces de enfrentar y anular los ROS que provocan envejecimiento celular prematuro y conllevan mermas en la actividad y el metabolismo de la planta. TIMAC AGRO ha desarrollado y patentado una tecnología capaz de enfrentar estas situaciones para dotar al agricultor de una solución innovadora y única en el mercado: el inductor antioxidante VITALFIT.

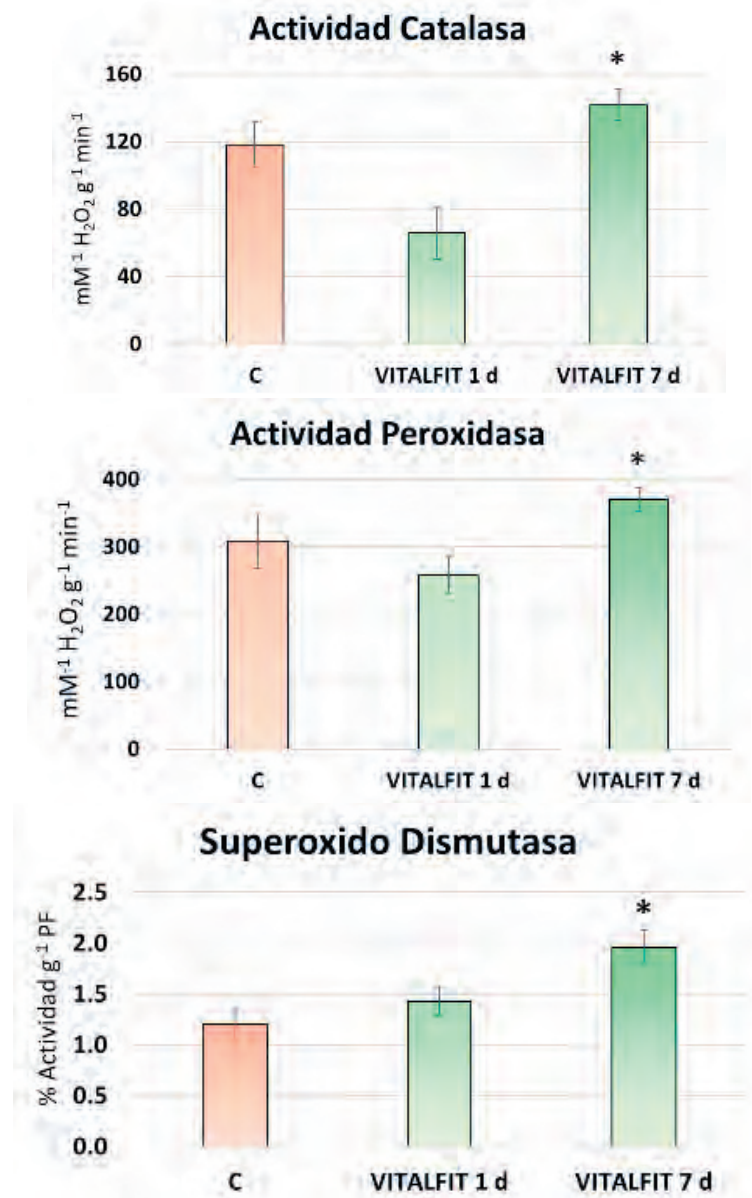


Figura 4. Actividades enzimáticas en cítricos (2017. IVIA. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias).

Bibliografía

- ! Blokhina, O., Virolainen, E. y Fagerstedt, K.V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany* 91, 179-194.
- Elavarthi, S., Martin, B. (2010). Spectrophotometric assays for antioxidant enzymes in plants. En: *Methods in Molecular Biology* (Editor: Clifton, N.J.). 639, 273-81.
- Gill, S.S. y Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 48, 909-930.
- Gratão, P., Polle, A., Lea, P.J. y Azevedo, R.A. (2005). Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. *Functional Plant Biology* 32, 481-494
- Imlay, J.A. (2008). Cellular defenses against superoxide and hydrogen peroxide. *Annual Review of Biochemistry* 77,755-776.
- Karavangeli, M., Labrou, N.E., Clonis, Y.D. y Tsaftaris, A. (2005). Development of transgenic tobacco plants overexpressing glutathione S-transferase I for chloroacetanilide herbicides phytoremediation. *Biomolecular Engineering* 22, 121-128.
- Meyer, A.J. (2008). The integration of glutathione homeostasis and redox signaling. *Journal of Plant Physiology* 165, 1390-1403.
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants y stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7,405-410.
- Møller, I.M., Jensen, P.E. y Hansson, A. (2007). Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annual Review of Plant Biology* 58, 459-481.