



LA SINTOMATOLOGÍA DEL WOOD POCKET EN LIMÓN PERSA ESTÁ ASOCIADA A LA REPRESIÓN DE GENES ANTIOXIDANTES.

Ricardo Santillán Mendoza¹, Felipe R. Flores de la Rosa^{1*}, Cynthia G. Rodríguez Quibrera¹, Santiago Domínguez Monge¹, Cristian Matilde Hernández¹.

¹Campo Experimental Ixtacuaco, CIRGOC, INIFAP. *flores.felipe@inifap.gob.mx

INTRODUCCIÓN

Los cítricos son uno de los principales cultivos frutales con distribución mundial, de alta adaptabilidad a diversas condiciones climáticas. En México, la citricultura representa una actividad de gran importancia económica. La producción general de cítricos por estados es liderada por Veracruz, destacando el limón Persa debido a que la mayor parte de su producción se exporta [1]. Sin embargo, enfrenta diversas fuentes de estrés biótico y abiótico que merman su productividad. El Wood Pocket (WP) o manchado sectorial es una fisiopatía causada por estrés por calor y déficit hídrico que se caracteriza por la presencia de manchas cloróticas en las hojas pudiendo causar la muerte del árbol debido a que las ramas se vuelven quebradizas con lo cual se favorece la entrada de patógenos [2]. El objetivo del presente estudio se enfocó en comparar la expresión de genes codificantes de tres enzimas antioxidantes (APX, CAT y SOD) en hojas de árboles con y sin síntomas de WP de una misma planta de limón Persa.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se estableció durante el 2021 en una huerta en producción de seis años de edad del INIFAP Campo Experimental Ixtacuaco. El muestreo se dirigió a árboles con sintomatología de WP. Se seleccionaron tres árboles, de los cuales se obtuvieron tres hojas, dos con sintomatología WP y una sana. Las hojas seleccionadas eran fisiológicamente maduras, de tamaño homogéneo y libres de daño mecánico y de síntomas de otras enfermedades.

Las hojas colectadas fueron congeladas y se extrajo el ARN total, se cuantificó y se analizó su integridad. En seguida, la expresión de los genes se analizó mediante RT-PCR semicuantitativo, se sintetizó el cDNA utilizando la enzima retrotranscriptasa M-MLV (Promega) y oligo dT(18) (oligo T4). Se evaluó la expresión de tres genes: APX (Ascorbato Peroxidasa), CAT (Catalasa) y SOD (Super Óxido Dismutasa); como gen control se utilizó el gen *Actina*

Por último, para el análisis de la expresión génica, los productos de la RT-PCR fueron resueltos en gel de agarosa teñido con bromuro de etidio (1.8%, 75 V, 45 min) y visualizados en un fotodocumentador (Bio-Rad). Las imágenes de los geles fueron analizadas empleando un método densitométrico con el software ImageJ. Cada muestra se repitió dos veces.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los análisis de expresión mostraron claramente que las hojas con síntomas de WP tienen un nivel de actividad menor de los genes antioxidantes, siendo aproximadamente el doble la expresión en las hojas sanas que en las enfermas (Figura 1 a).

BIBLIOGRAFÍA

- [1]. Ruiz-Rodríguez, R., G. V. Vela-Hernández y R. G. Moreno-Luce. 2017. Exportación de cítricos mexicanos, alternativas para el mercado de exportación. Horizontes de la Contaduría en las Ciencias Sociales 3(6):77-85. [2]. Pitino, M., C. M. Armstrong and Y. Duan. 2017. Molecular mechanisms behind the accumulation of ATP and H₂O₂ in citrus plants in response to 'Candidatus Liberibacter asiaticus' infection. Hort. Res. 4: 17040. [3]. Flores-de la Rosa, F. R., R. Santillán-Mendoza, C. G. Rodríguez-Quibrera, A. Martínez-Ruiz, J. Adame-García and M. Luna-Rodríguez. 2021. Antioxidant gene expression, chlorophyll, and starch content in Persian lime (*Citrus latifolia* Tanaka Ex Q. Jiménez) trees with HLB by application of elicitors of plant resistance. Mex. J. Biotech. 6(2):86-102. [4]. Baulcombe, D. C. and C. Dean. 2014. Epigenetic Regulation in Plant Responses to the Environment. Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 6: a019471. [5]. Suzuki, N and R. Mittler. 2006. Reactive oxygen species and temperature stresses: A delicate balance between signaling and destruction. Physiol. Plant. 126:45-51. [6]. Liu, J., L. Feng, J. Li and Z. He. 2015. Genetic and epigenetic control of plant heat responses. Front. Plant Sci. 6:267.

Esto pone de manifiesto que la alteración fisiológica que genera el WP podría tener un origen epigenético en respuesta a las condiciones ambientales [4]. Resulta de especial interés que exista una diferencia en la expresión génica relacionada a enzimas antioxidantes en hojas sanas y con sintomatología de la misma planta, ya que esta expresión diferencial, específicamente represión (Figura 1 b) depende de la misma planta y no de algún factor externo [2,3].

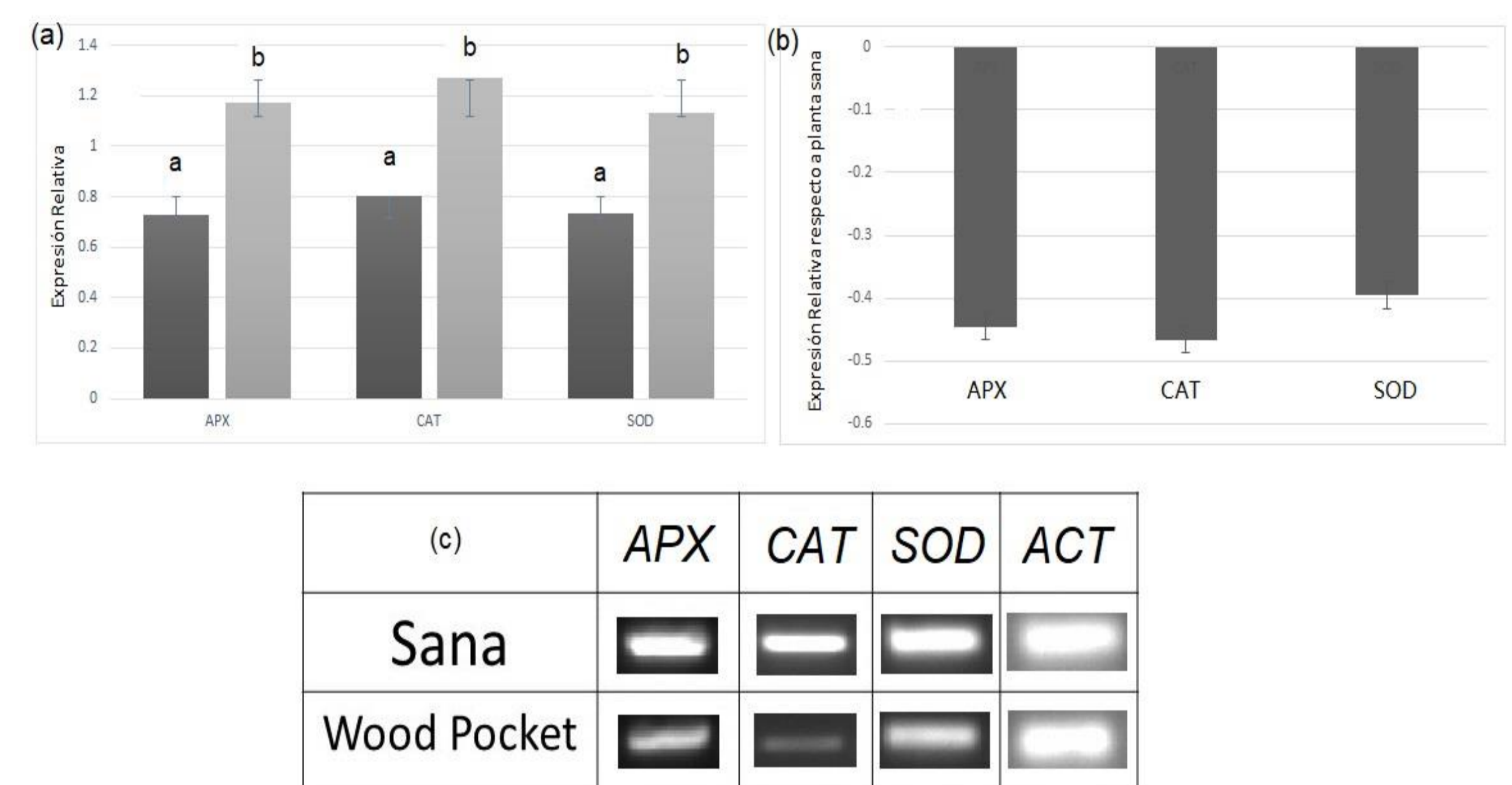


Figura 1. Análisis de expresión de genes antioxidantes en plantas de limón Persa con WP, a) comparación de la expresión relativa de tres genes antioxidantes entre hojas sanas (gris claro) y con síntomas de WP (gris oscuro). Letras diferentes muestran diferencia estadística significativa ($p < 0.05$), b) relación entre la expresión de hojas con síntomas de WP con respecto a las hojas sanas, donde al ser los valores negativos para los tres genes, se muestra que se reprimen, y c) patrones de bandas de amplificación RT-PCR de los diferentes genes en estudio.

La represión de las enzimas antioxidantes puede generar una acumulación de Especies Reactivas de Oxígeno (ERO), las cuales se sintetizan en respuesta a diferentes estímulos de estrés abiótico, incluido el calor y la sequía, sin embargo, una ligera descompensación en el equilibrio con las enzimas antioxidantes podría desencadenar alteraciones fisiológicas graves [5]. Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran claramente una expresión diferencial de los genes antioxidantes entre las hojas sanas y las que presentan síntomas de WP en una misma planta (Figura 1 C); por lo tanto, la hipótesis de la existencia de un factor epigenético afectando la expresión de estos genes a nivel transcripcional en zonas específicas en respuesta al calor, estrés hídrico o radiación solar [6] cobra relevancia al buscar los mecanismos moleculares que generan el WP y el posible diseño de estrategias para contrarrestarlos. Futuras investigaciones de las alteraciones globales de expresión y alteraciones epigenéticas podrían conducir a una mayor comprensión de esta fisiopatía que afecta en gran medida a la producción de limón Persa en México.

CONCLUSIÓN

Se observó una expresión diferencial de los genes antioxidantes APX, CAT y SOD entre las hojas sanas y las que presentan síntomas de WP (disminución del 50 % en la expresión relativa) en una misma planta, lo que puede sugerir alteraciones epigenéticas en esta fisiopatía.