

# Efecto del ácido $\gamma$ -aminobutírico (GABA) en la síntesis y liberación de flavinas en raíces de *Medicago truncatula* deficientes en hierro

Montenegro J.<sup>1</sup>, Fraile L.<sup>1</sup>, Conde M.<sup>1</sup>, Rodríguez-Celma J.<sup>2</sup>, Gogorcena Y.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Genómica de Frutales y Vid, <sup>2</sup>Grupo de Fisiología de Estrés Abiótico, Estación Experimental de Aula-Dei-Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Avda. de Montañana 1005, E50059 Zaragoza, España.

Email: jmontenegro@eead.csic.es

## Resumen

La cuenca mediterránea presenta suelos alcalinos y calcáreos, los cuales dificultan la biodisponibilidad del hierro, micronutriente esencial para el desarrollo de las plantas. Todo ello implica importantes limitaciones para la producción agrícola. En situaciones de carencia de hierro en el medio, las plantas han desarrollado una serie de mecanismos para la captación del mismo, y dependiendo del modelo de respuesta, las plantas se pueden clasificar en dos grupos, plantas de estrategia I y de estrategia II. Nuestra planta modelo de estudio, *Medicago truncatula*, presenta la estrategia I, basada en la reducción del hierro pero ayudándose de la secreción al medio de compuestos como las flavinas que se ha demostrado que facilitan la captación del hierro del medio (Siso et al., 2015).

Muchos estudios se centran en la forma de paliar el estrés por la falta de hierro que provoca la clorosis férrica. Se sabe que un tratamiento exógeno con ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), puede participar en la respuesta de la planta ante diferentes tipos de estrés abiótico, incluyendo el estrés por falta de hierro (Guo et al., 2020, Zhu et al., 2021). El objetivo específico de este estudio ha sido observar cómo afecta un pretratamiento con GABA (1,5 mM) a la síntesis y secreción de flavinas en plantas de *Medicago truncatula* Gaertn. ecotipo Jemalong A17M crecidas en cultivo hidropónico en ausencia de hierro.

## Materiales y métodos

Las semillas se escarificaron, esterilizaron y germinaron en oscuridad a 14 °C durante 6 días (Fig.1). Las plántulas se crecieron en cubetas de 10 L en cultivo hidropónico con aireación en solución nutritiva ½ Hoagland con 45  $\mu$ M [Fe(III)-EDTA]. Tras 24 horas en el sistema hidropónico, la mitad de las plántulas se trataron con 1,5 mM GABA durante 3 días. Posteriormente, las plántulas, pretratadas o no con GABA, se transfirieron a botes de 500 mL en solución nutritiva con hierro o sin hierro (Fig. 1).

Durante 7 días se monitorizó la presencia de flavinas en raíz y en la solución nutritiva

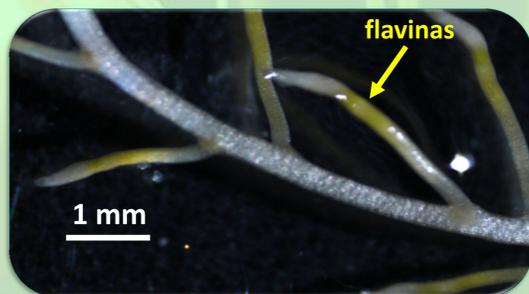


Fig. 2. Presencia de flavinas en raíces después de crecer 4 días en ausencia de Fe. Imagen obtenida por estereomicroscopía.

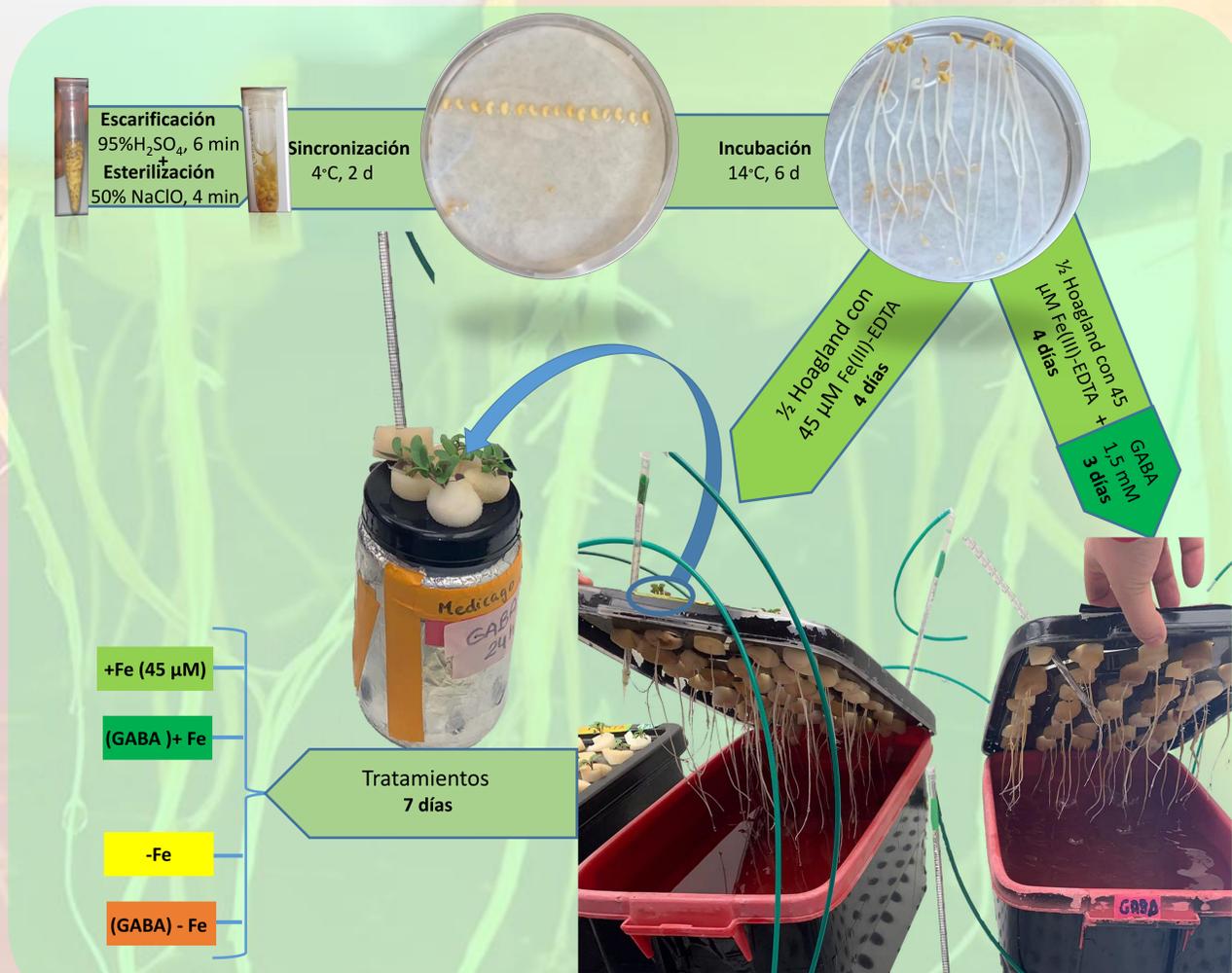


Fig. 1. Esquema de los tratamientos llevados a cabo en este experimento.

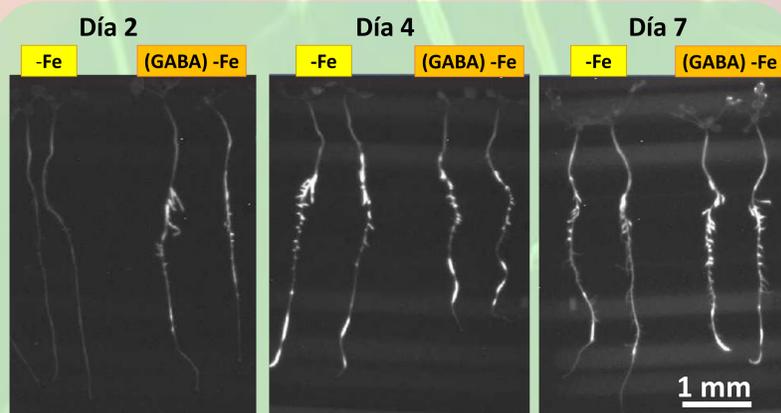


Fig. 3. Localización de flavinas (zonas claras) en raíces deficientes pretratadas o no con GABA a los 2, 4 y 7 días de crecimiento en ausencia de Fe en el medio. Imagen invertida tomada en un transiluminador con luz UV.

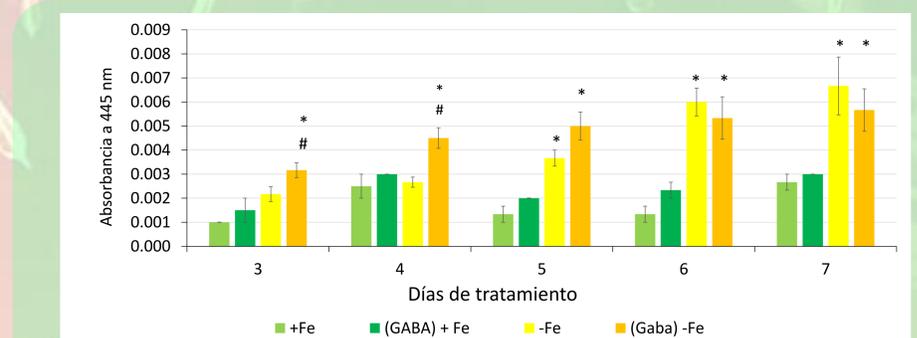


Fig. 5 Absorbancia a 445 nm indicando la presencia de flavinas en solución nutritiva en los distintos tratamientos. Se indica la significación: P\* < 0,05 con respecto a (+Fe); P # < 0,05 con respecto (-Fe) (t-Student).

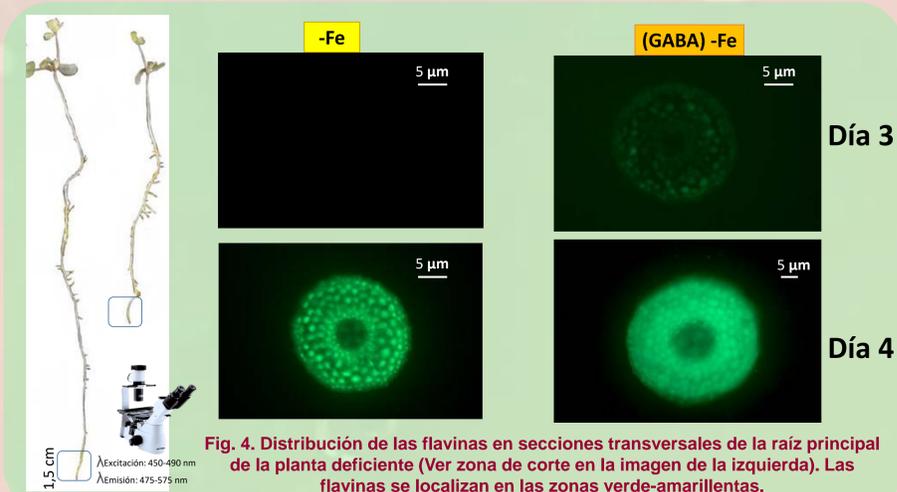


Fig. 4. Distribución de las flavinas en secciones transversales de la raíz principal de la planta deficiente (Ver zona de corte en la imagen de la izquierda). Las flavinas se localizan en las zonas verde-amarillentas.

## Resultados y discusión

En condiciones de deficiencia de hierro, *Medicago truncatula* sintetiza distintos tipos de flavinas, acumulándose en las puntas de las raíces (Fig. 2-4) y secretándolas al medio (Fig. 5), coincidiendo con lo descrito en Andaluz et al., 2009, Rodríguez-Celma et al., 2013, Román et al., 2023. La presencia de flavinas comienza a apreciarse antes en las plantas deficientes pretratadas con GABA que en las deficientes sin tratar. En las plantas pretratadas con GABA las flavinas aparecen en la raíz a los 2 días de ausencia de Fe en el medio (Fig. 3), mientras que en las deficientes sin tratar se aprecian mejor a los 4 días (Fig.3-4). A partir de los 4 días de tratamiento esta presencia de flavinas se iguala en ambos tratamientos (Ver corte en Fig. 4). Igualmente esta diferencia se mantiene en la solución nutritiva, donde las flavinas de plantas pretratadas con GABA se detectan desde el día 3 de tratamiento, mientras que en las soluciones de las plantas deficientes sin tratar se detectaron significativamente a partir del día 5 de tratamiento (Fig. 5).

## Conclusión

La aplicación exógena de GABA provocó una respuesta más temprana en la síntesis radicular de flavinas y secreción al medio. En base a estos resultados, podemos concluir que el GABA puede tener un efecto priming para mejorar la captación del hierro del medio y preparar a la planta para posibles condiciones de estrés por limitación de hierro.

## Referencias

- Andaluz et al., 2009. Plant Physiology and Biochemistry, 47, 1082–1088.
- Guo et al., 2020. Ecotoxicology and Environmental Safety, 192, 110285.
- Rodríguez-Celma et al. 2013. Plant Physiology, 162, 1473–1485.
- Román et al., 2023. Indole-3-acetaldoxime delays root iron-deficiency responses and modify auxin homeostasis in *Medicago truncatula* Plant Science (PSL-D-22-01519R2).
- Siso et al., 2015. New Phytologist, 209, 733–745.
- Zhu et al., 2021. International Journal of Molecular Sciences, 22, 220.

## Agradecimientos

Este trabajo fue parcialmente financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación de España (AGL-2017-83359-R, 2020AEP119 y A09\_20R). JM y MC recibieron una beca predoctoral concedida por el Gobierno de Aragón. Agradecer a los grupos de Fisiología de Estrés Abiótico y Biología de la Embriogénesis Gamética y Aplicaciones (EEAD-CSIC) por el uso de los equipos. Agradecer la financiación de asistencia a la Universidad de Zaragoza y a los organizadores de la X Jornadas Doctorales y V Jornadas de Divulgación Científica del G9.