

Curso de postgrado

Fisiología de la planta bajo estreses abióticos

Instituto de Fisiología Vegetal

Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales – Universidad Nacional de La Plata

Fecha de dictado: 9/10/17 – 13/10/17

Arancel: 1500 pesos

Contacto: posgrado@agro.unlp.edu.ar

Docentes: Dr Juan J Guiamet, Dr Carlos G Bartoli, Dr Eduardo Tambussi, Dra. Virginia Luquez y Dra. Corina Graciano.

Objetivos

- Discutir aspectos teóricos del funcionamiento de las plantas frente a un amplio rango de disponibilidad de recursos. Se analizará el concepto de estrés y sus limitaciones.
- Planificar estrategias para identificar y cuantificar las modificaciones en la fisiología de las plantas bajo estreses abióticos.
- Integrar las respuestas de las plantas a un ambiente cambiante en sus distintos niveles de organización: desde la célula a la población/cultivo, analizando los saltos de escala entre los diferentes niveles de organización.

Contenidos teóricos del curso

Unidad 1. Identificación y caracterización de modificaciones funcionales en plantas sometidas a limitaciones ambientales.

Modificaciones fisiológicas que ocurren en las plantas ante un amplio rango de disponibilidad de un recurso. El concepto de estrés en fisiología vegetal. ¿Cómo definirlo? Respuestas al estrés. Efecto deletéreo. Tolerancia cruzada. ¿Los factores de estrés actúan solos o en forma combinada? Aclimatación, adaptación y compensación

homeostática. Respuestas homeostáticas vs. ‘daño’. Tolerancia, evitación y escape ¿sólo una cuestión de semántica? Relevancia de estos conceptos en aspectos aplicados.

Unidad 2. Limitación en la disponibilidad de agua como caso de estudio.

2.1. La disponibilidad de agua como caso de estudio: Déficit hídrico suave, moderado y severo. La limitación hídrica y las principales repercusiones en la planta. Umbrales de sensibilidad de diferentes procesos. El estrés hídrico y el crecimiento. Turgencia y elongación celular. Ecuación de Lockhart. Umbrales de sensibilidad en el crecimiento de vástago y raíz. Causas y consecuencias.

2.2. Fotosíntesis en situación de sequía. Limitantes estomáticas y metabólicas de la fotosíntesis. Efectos en el área foliar: fotosíntesis a nivel del individuo. Transporte de electrones fotosintético y su regulación en situación de estrés hídrico. Destinos alternativos de electrones. Respiración, fotorrespiración y reacción de Mehler. Estrés oxidativo en situación de déficit hídrico. Discusión acerca del real impacto del estrés oxidativo en plantas en condiciones naturales y de cultivo en cámaras de crecimiento.

2.3. Estrategias generales de las plantas bajo condiciones de sequía. Mecanismos de escape: ajuste fenológico. Evitación: ajuste osmótico. Su papel como mecanismo homeostático en raíces. El ajuste osmótico y su impacto en plantas en condiciones naturales y de interés agronómico. Las raíces y la exploración del suelo. Otras estrategias de evitación (v.g plantas freatófitas). Tolerancia: plantas poiquilohídricas y reviviscentes.

2.4. Los distintos niveles de organización para abordar el problema. De la expresión génica a la población: dimensión genética, fisiológica y ecofisiológica. Ejemplos. Problemas de enfoque en el estudio del estrés vegetal. Saltos de escala (‘scaling-up’) entre diversos niveles de organización. Enfoques reduccionistas. Ejemplos en el caso del estudio del estrés hídrico. Artefactualidad de algunas aproximaciones experimentales.

Unidad 3. Bases fisiológicas del rendimiento en cultivos en condiciones de estrés hídrico.

Rendimiento agronómico bajo estrés: ¿mecanismos de tolerancia o de

evitación/escape? Ecuación de Passioura como modelo didáctico. Uso del agua, eficiencia del uso del agua y rendimiento. Efectos del déficit hídrico en los cultivos. Crecimiento, cuajado de granos, llenado. Mecanismos de compensación. El trigo como caso de estudio: removilización de asimilados pre-antesis. Rasgos fenológicos y rendimiento bajo estrés: tasa de desarrollo, vigor inicial, fecha de floración. Rasgos morfológicos: exploración del suelo por las raíces, propiedades del canopeo, balance relación raíz/parte aérea. Rasgos fisiológicos: eficiencia del uso del agua, mantenimiento de la turgencia. El ajuste osmótico y su rol en la tolerancia agronómica al estrés hídrico.

Medidas integradoras en tiempo y espacio de la eficiencia del uso del agua. Discriminación isotópica del carbono. Discriminación del oxígeno 18. Termometría de infra-rojo: disminución de la temperatura del canopeo (CTD) y su correlación con el rendimiento en situaciones de estrés hídrico.

Transgénesis y tolerancia al estrés. ¿panacea o quimera?

Actividades prácticas: caracterización experimental del funcionamiento de las plantas bajo distinta disponibilidad hídrica.

Se darán los fundamentos teóricos, aplicaciones y limitaciones de las siguientes metodologías. Cada alumno se entrenará en el uso de algunos de estos métodos según su interés y la posibilidad de aplicarlos en sus líneas de trabajo.

- Estado hídrico de la planta: determinación del contenido relativo de agua (CRA) y el potencial agua. Medida de la actividad transpiratoria por porometría de estado estable. Conductividad hidráulica del xilema y resistencia a la cavitación.
- Metabolismo del carbono: Medición de la actividad fotosintética y respiratoria a través de las mediciones de intercambio de CO₂ (Infra Red Gas Analyser, IRGA). Medición de la actividad del fotosistema II por fluorescencia modulada de la clorofila.
- Parámetros integradores del funcionamiento de la planta entera: Intercepción de la luz por el canopeo, depresión de la temperatura del canopeo por termometría.

- Determinaciones de metabolismo oxidativo (producción de H₂O₂ y antioxidantes), análisis de proteínas (v.g. *western-blot* para detección de proteínas relacionadas con el estrés, tales como dehidrasas), medición de la producción de etileno por cromatografía gaseosa, y otros.

Seminario de integración de los conceptos teóricos y experimentales tratados previamente.

Como parte de esta actividad los alumnos deberán leer y analizar en forma individual y grupal trabajos científicos suministrados por los docentes. Luego se discutirán en forma plenaria para la elaboración de conclusiones. Se analizarán trabajos sobre:

- Análisis moleculares en el estudio de las respuestas al estrés hídrico (transcriptómica, proteómica, metabolómica).
- La discriminación isotópica del carbono como parámetro integrador en estudios del uso y eficiencia de uso del agua en cultivos y en ambientes naturales.
- Plantas transgénicas y tolerancia a la sequía.
- Rendimiento agronómico bajo estrés: ¿mecanismos de tolerancia o de evitación/escape?

Carga horaria y sistema de evaluación.

El tiempo completo del curso será de 50 horas (40 horas presenciales y 10 horas no-presenciales).

Para ser evaluados los alumnos deberán desarrollar y presentar por escrito un proyecto de investigación sobre un tema de su elección en el campo de la fisiología de las plantas sometidas a estrés abiótico. Es deseable que la evaluación permita resolver una problemática particular de su trabajo de investigación.

Equipamiento e infraestructura a utilizar

El curso se desarrollará en el Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE, UNLP-CONICET). Los equipos que se utilizarán son los siguientes:

- Medidor de clorofila SPAD 502 (Minolta)
- Medidor de Fluorescencia modulada de la clorofila Fluorescence Monitoring System 2, Hansatech

- Medidores de área foliar LI-COR LI-3000 y LI-3100
- Termómetro Infra-rojo Raytek
- CIRAS 2 - Sistema portátil para medición de fotosíntesis, PPSystems, UK
- Porómetro de estado estable SC1 Decagon
- Bomba de Scholander y determinación de conductividad hidráulica de xilema
- Medidor de Oxígeno, Hansatech

Bibliografía

Libros y capítulos de libros

- Buchanan B., Gruissem W., Jones R.L. (2000) Biochemistry and Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Biologists, Rockville, MD, EEUU.
- Lambers H., Chapin F.S. III, Pons T.L. (1998) Plant Physiological Ecology. New York: Springer-Verlag
- Loomis RS, Connor D.J. (1992) Crop Ecology. Cambridge University Press.
- Pask, A.J.D., Pietragalla, J., Mullan, D.M., Reynolds, M.P. (Eds.) (2012) Physiological Breeding II: A Field Guide to Wheat Phenotyping. Mexico, D.F.: CIMMYT.
- Pate J.S. (2001) Carbon isotope discrimination and plant water-use efficiency. In Stable Isotope Techniques in the Study of Biological Process and Functioning of Ecosystems, pp. 19–36. Eds M.J. Unkovich, J.S. Pate, A. McNeill and J. Gibbs. the Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Reynolds, M.P., Pask, A.J.D., Mullan D.M. (Eds.) (2012) Physiological Breeding I: Interdisciplinary Approaches to Improve Crop Adaptation. Mexico, D.F.: CIMMYT.
- Richards, R.A., Condon, A.G., Rebetzke, G.J. (2001) Traits to improve yield in dry environments. In Reynolds M.P., Ortiz-Monasterio J.I., McNab A (Eds.), Application of physiology in wheat breeding, CIMMYT, México DF. pp. 88-100.
- Taiz L., Zeiger E., Moller I.M., Murphy A. (2015) Plant Physiology and Development, Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA, EEUU.

Artículos seleccionados

- Araus J.L., Slafer G.A., Reynolds M.P., Royo C. (2002) Plant breeding and drought in C3 cereals: what should we breed for? *Annals of Botany* 89: 925–940.
- Beikircher B., Mayr S. (2008) The hydraulic architecture of *Juniperus communis* L. ssp. *communis*: shrubs and trees compared. *Plant, Cell & Environment* 31, 1545-1556.
- Bell L, Williams A, Ryan M, Ewing M (2007) Water relations and adaptations to increasing water deficit in three perennial legumes, *Medicago sativa*, *Dorycnium hirsutum* and *Dorycnium rectum*. *Plant and Soil* 290, 231-243.
- Blum A. (1998) Improving wheat grain filling under stress by stem reserve mobilisation. *Euphytica* 100: 77-83.
- Brini F., Hanin M., Mezghani, I., Berkowitz G.A., Masmoudi, K. (2007) Overexpression of wheat Na⁺/H⁺ antiporter TNH1 and H⁺-pyrophosphatase TVP1 improve salt- and drought-stress tolerance in *Arabidopsis thaliana* plants. *J. Exp Bot.* 58: 301-308.
- Canham C A, Froend R H, Stock W D (2009) Water stress vulnerability of four *Banksia* species in contrasting ecohydrological habitats on the Gnamara Mound, Western Australia. *Plant, Cell & Environment* 32, 64-72.
- Castro-Diez P, Navarro J (2007) Water relations of seedlings of three *Quercus* species: variations across and within species grown in contrasting light and water regimes. *Tree Physiol* 27, 1011-1018.
- Condon A.G., Richards R.A., Rebetzke G.J., Farquhar G.D. (2004) Breeding for high water-use efficiency. *Journal of Experimental Botany* 55: 2447–2460.
- Coyle DR, Aubrey DP, Coleman MD (2016). Growth responses of narrow or broad site adapted tree species to a range of resource availability treatments after a full harvest rotation. *Forest Ecology and Management* 362: 107–119.
- Egawa C, Tsuyuzaki S (2015). Occurrence patterns of facilitation by shade along a water gradient are mediated by species traits. *Acta Oecologica* 62: 45–52.
- Ehdaie B., Alloush G.A., Waines J.G. (2008) Genotypic variation in linear rate of grain growth and contribution of stem reserves to grain yield in wheat. *Field Crops Research* 106, 34-43.

Freschet GT, Swart EM, Cornelissen JHC. 2015. Integrated plant phenotypic response to contrasting above- and below-ground resources: key roles of specific leaf area and root mass fraction. *New Phytologist*.

Fromm J, Lautner S (2016). Abiotic Stresses on Secondary Xylem Formation. In: *Secondary Xylem Biology*. 59–71.

Harayama H, Ikeda T, Ishida A, Yamamoto S-I (2006) Seasonal variations in water relations in current-year leaves of evergreen trees with delayed greening. *Tree Physiol* 26, 1025-1033.

Harvey H P, Van den Driessche R (1997) Nutrition, xylem cavitation and drought resistance in hybrid poplar. *Tree Physiology* 17, 647-654.

Lafitte R (2002) Relationship between leaf relative water content during reproductive stage water deficit and grain formation in rice. *Field Crops Research* 76, 165-174.

Lawlor DW, Tezara W (2009) Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes. *Annals of Botany* 103: 561-579.

Li Y, Sperry J S, Taneda H, Bush S E, Hacke U G (2008) Evaluation of centrifugal methods for measuring xylem cavitation in conifers, diffuse- and ring-porous angiosperms. *New Phytologist* 177, 558-568.

López-Castañeda, C., Richards, R.A., Farquhar, G.D. (1995) Variation in early vigour between wheat and barley. *Crop Science* 35, 472-479.

López-Castañeda, C., Richards, R.A., Farquhar, G.D. (1996) Seed and seedling characteristic contributing to variation in seedling vigor among temperate cereals. *Crop Science* 36, 1257-1266.

Lovisol C, Perrone I, Hartung W, Schubert A (2008) An abscisic acid-related reduced transpiration promotes gradual embolism repair when grapevines are rehydrated after drought. *New Phytologist* 180, 642-651.

Meinzer F C, Campanello P I, Domec J-C, Gatti M G, Goldstein G, Villalobos-Vega R, Woodruff D R (2008) Constraints on physiological function associated with branch architecture and wood density in tropical forest trees. 28, 1609-1617.

Merchant A, Callister A, Arndt S, Tausz M, Adams M (2007) Contrasting physiological responses of six *Eucalyptus* species to water deficit. *Ann Bot* 100, 1507-1515.

- Monneveux P., Reynolds M.P., Trethowan R., González- Santoyo H., Peña R.J., Zapata F. (2005) Relationship between grain yield and carbon isotope discrimination in bread wheat under four water regimes. *European Journal of Agronomy* 22: 231–242.
- Nardini A, Gortan E, Ramani M, Salleo S (2008) Heterogeneity of gas exchange rates over the leaf surface in tobacco: an effect of hydraulic architecture? *Plant, Cell & Environment* 31, 804-812.
- Pammenter N W, Van der Willigen C (1998) A mathematical and statistical analysis of the curves illustrating vulnerability of xylem to cavitation. *Tree Physiol* 18, 589-593.
- Rivero, R.M., Kojima M., Gepstein, A., Sakakibara H., Mittler R., Gepstein S., Blumwald E. (2007) Delayed leaf senescence induces extreme drought tolerance in a flowering plant. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 104: 19631–19636
- Saito T, Naiola B P, Terashima I (2007) Conservative decrease in water potential in existing leaves during new leaf expansion in temperate and tropical evergreen *Quercus* species. *Ann Bot* 100, 1229-1238.
- Scoffoni C, Kunkle J, Pasquet-Kok J, Vuong C, Patel AJ, Montgomery RA, Givnish TJ, Sack L (2015). Light-induced plasticity in leaf hydraulics, venation, anatomy, and gas exchange in ecologically diverse Hawaiian lobeliads. *New Phytologist* 207: 43–58.
- Sperry J S, Nichols K L, Sullivan J E M, Eastlack S E (1994) Xylem embolism in ring-porous, diffuse-porous, and coniferous trees of northern Utah and interior Alaska. *Ecology* 75, 1736-1752.
- Taneda H, Sperry J S (2008) A case-study of water transport in co-occurring ring- versus diffuse-porous trees: contrasts in water-status, conducting capacity, cavitation and vessel refilling. 28, 1641-1651.
- Toscano S, Farieri E, Ferrante A, Romano D (2016). Physiological and Biochemical Responses in Two Ornamental Shrubs to Drought Stress. *Frontiers in Plant Science* 7: 645.
- Tyree M T, Salleo S, Nardini A, Lo Gullo M A, Mosca R (1999) Refilling of embolized vessels in young stems of laurel. Do we need a new paradigm? *Plant Physiol.* 120, 11-22.
- Voesenek LACJ, Bailey-serres J (2015). Flood adaptive traits and processes : an overview. *New Phytologist* 206: 57–73.
- Vogt U K (2001) Hydraulic vulnerability, vessel refilling, and seasonal courses of stem water potential of *Sorbus aucuparia* L. and *Sambucus nigra* L. *J. Exp. Bot.* 52, 1527-1536.

Zwieniecki M A, Melcher P J, Holbrook M N (2001) Hydrogel control of xylem hydraulic resistance in plants. *Science* 291, 1059-1062.