

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUCUMAN
FUNDACION E INSTITUTO MIGUEL LILLO

LILLOA

TOMO XXXIII: 8

S.O. TRIONE, G. ALMELA PONS y J.S. MOYANO - AMINO ACIDOS EN LA
SAVIA XILEMATICA ("LLORO") DE LA VID. II. FLUCTUACIONES HORARIAS EN LA
COMPOSICION AMINADA DURANTE UN CICLO DE 24 HORAS

(págs. 149-159 – 2 figs.)

TUCUMAN
REPUBLICA ARGENTINA

1972

AMINO ACIDOS EN LA SAVIA XILEMATICA ("LLORO") DE LA VID. II.

FLUCTUACIONES HORARIAS EN LA COMPOSICION AMINADA DURANTE UN CICLO DE 24 HORAS

por S.O. TRIONE, G. ALMELA PONS y J.S. MOYANO

SUMMARY

Amino acids in the bleeding sap of the grapevine. II. Hourly fluctuations in the amino acid composition during a 24 hours cycle.- The hourly diurnal and nightly changes in the free amino acids composition of the bleeding sap of *Vitis vinifera* L. cv. *Vigne de Michel*, were studied during one day of their bleeding period. The total soluble nitrogen content showed three maxima during the light period, viz., at 11 a.m., 5 p.m. and 7 p.m. During the night hours the nitrogen content remained rather low. Besides glutamine, glutamic and aspartic acid, which were the prominent compounds, 15 more amino acids were encountered. Two of them, lysine and arginine, appeared only during the night. Presence and absence of the different nitrogen compounds were observed throughout the samples examined. 67% of total-N appeared during the light hours, and this was mainly glutamine-N. Changes of volume in the hourly exuded sap also were recordered. The amount was higher at dawn and lower at noon and late afternoon. 40% of the total daily bleded sap was exuded at night hours.

The possible causes of the observed fluctuations were discussed.

El jugo xilemático que fluye a fines del invierno, antes de la brotación de las vides podadas, contiene cantidades apreciables de compuestos nitrogenados solubles, e.g., amino ácidos y amidas, cuyo porcentaje relativo varía considerablemente a nivel diario (15). Estos cambios se centran mayormente alrededor de la glutamina y ácido glutámico. Los niveles diarios de dichas fluctuaciones presentan una línea base sobre la cual se pueden esperar variaciones diurnas y nocturnas en el complemento nitrogenado soluble.

Este estudio, el segundo de la serie, describe, sobre la base de los cambios diarios, las variaciones horarias diurnas y nocturnas que experimenta la fracción de amino ácidos libres en la savia xilemática de la vid, durante uno de los días del período de "lloro".

MATERIAL Y METODOS

El material vegetal, forma de extracción y procesamiento de las muestras, se realizó de la misma manera que está descrito en el trabajo previo (15, cit.), con la diferencia que la toma de muestra del jugo xilemático se realizó a intervalo de una hora, a partir de las 8 horas hasta las 19 horas inclusive (período diurno), mientras que durante el período nocturno, desde las 19 horas hasta las 7 horas del día siguiente, se tomó todo en una sola muestra.

Los datos de nitrógeno soluble total están, igualmente, expresados en μg por 100 ml de savia xilemática, o por volumen total recogido en cada intervalo; y cada compuesto se representa, en un histograma, por su contenido de N como % del total, estando señalado por un número convencional de acuerdo a la siguiente clave:

2 - ácido aspártico	13 - arginina
3 - ácido glutámico	14 - metionina (sulfóxido)
4 - serina	15 - prolina
5 - glicina	16 - valina
6 - asparagina	18 - leucina
7 - treonina	19 - fenilalanina
8 - alanina	23 - ácido gamma-aminobutírico
9 - glutamina	26 - ácido pipecólico
12 - lisina	112 - etanolamina

RESULTADOS

A través del ciclo de 24 horas se observan 3 picos en la concentración del N-soluble total (fig. 1). Tales máximos se producen a las 11 horas, 17 horas y 19 horas del día, y sus valores van en aumento en el orden indicado. Muy poco nitrógeno aparece en las primeras horas que siguen al amanecer, durante el mediodía y parte de la tarde. Para las horas de obscuridad, el promedio horario calculado da un valor más bien bajo de concentración de nitrógeno (tabla I).

El compuesto nitrogenado más abundante, a través de la mayor parte del ciclo, es la glutamina, cuyo contenido de nitrógeno representa entre el 20% y más del 70% del N-soluble total, según la hora examinada. El ácido aspártico, para este cultivar, es particularmente abundante a comienzos

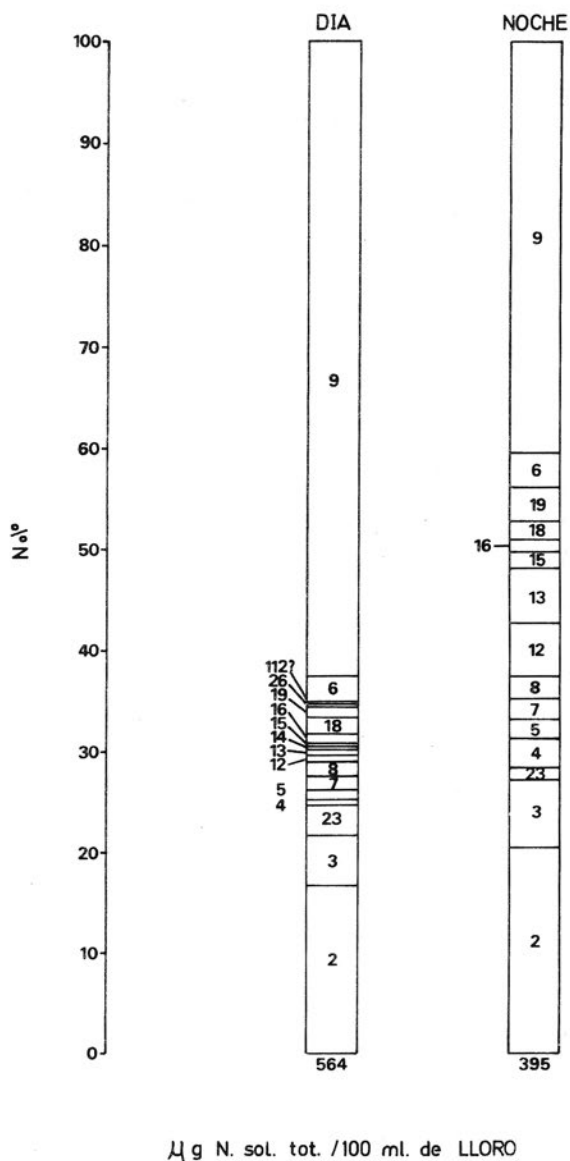


FIGURA 1. Variación de la composición y tamaño del compartimento nitrogenado soluble, en la savia xilemática exudada por plantas de *Vitis vinifera* cv. *Vigne de Michel*, durante las horas sucesivas de un día de su período de "lloro".

del día (50% del N-total es N-aspártico), declinando sostenidamente hacia el mediodía, para luego mantenerse más o menos constante. El ácido glutámico, por su abundancia relativa, se lo puede considerar en tercer término. El resto del nitrógeno está repartido entre ácido gamma-aminobutírico, valina, fenilalanina, serina, glicina, treonina, alanina, asparagina, leucina, metionina, prolina, ácido piperídico, lisina y arginina.

TABLA I

Fluctuaciones horarias diurnas y nocturnas en el volumen de savia xilemática exudada; contenido de N-total por 100 ml de "lloro" y por volumen exudado por plantas de *Vitis vinifera* L. cv. *Vigne de Michel*.

	HORAS DEL DIA (a partir de las 8 hs)											
	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	19 a 8
	(Prom.p/h)											
Vol. savia exudada (ml)	172	92	84	64	40	56	94	66	50	62	60	45
μ g N-tot./vol. exudado	290	16	1211	38	19	13	323	10	1194	42	1587	180
μ g N-tot./100ml exudado	169	17	1444	60	47	23	344	14	2387	67	2643	30

La característica sobresaliente de todos estos compuestos, es la de presentar "pulsos" de aparición y desaparición en la fracción nitrogenada soluble. Así, de todas las horas examinadas, las correspondientes a las 10, 14 y 16 horas, no acusan la presencia de glutamina. Un compuesto no del todo identificado, posiblemente etanolamina, se detecta en ausencia de glutamina y con muy bajo contenido de N-soluble total.

Si consideramos la composición nitrogenada del jugo xilemático colectado durante las horas del día (luz) y durante el período nocturno (fig. 2), podemos apreciar que a lo largo del día fluye aproximadamente el 67% del N-total de un ciclo de 24 horas (tabla II). El porcentaje relativo de glutamina secretado durante la noche decrece en un 27% con respecto al secretado de día. En cambio, los amino ácidos dicarboxílicos aspártico y glutámico no modifican substancialmente sus proporciones relativas. Sorpresivamente los compuestos de características básicas lisina y arginina, son secretados únicamente durante las horas de obscuridad.

En cuanto al volumen de "lloro" que fluye horariamente, tampoco presenta regularidad. Es mayor en las primeras horas de la mañana, decre

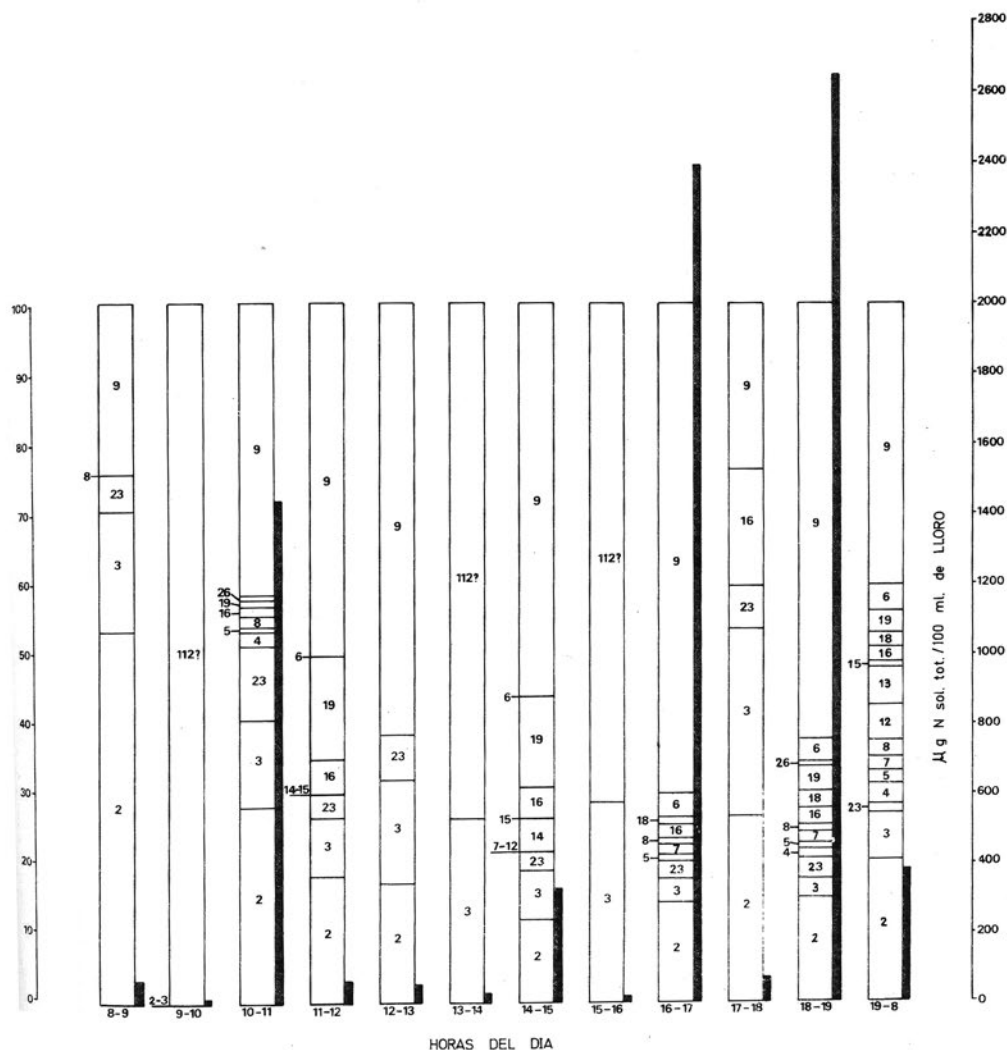


FIGURA 2. Comparación del espectro de amino ácidos y amidas libres en la savia xilemática exudada por plantas de *Vitis vinifera* cv. *Vigne de Michel*, durante las horas de luz y de oscuridad de un día de su período de "lloro".

ciendo hacia el mediodía y últimas horas de la tarde. Durante el día se exuda aproximadamente el 60% del volumen total del "lloro" diario.

TABLA II

Comparación entre el volumen de savia xilemática; N-total por volumen exudado y N-total por 100 ml de exudado durante el día y la noche por plantas de *Vitis vinifera* L. cv. *Vigne de Michel*.

	DIA		NOCHE	
	total	por hora	total	por hora
Vol. savia exudada (ml)	840	76	590	45
μg N-total/vol. exudado	4743	431	2331	180
μh N-total/100 ml jugo	564	51	395	30

DISCUSION

Los cambios diarios de la concentración de nitrógeno y porcentaje relativo de los compuestos aminados solubles determinados en el trabajo previo (15) resultaron muy aparentes y era de esperar que dichos cambios fueran un reflejo de las variaciones diurnas y nocturnas. Efectivamente, el modelo de fluctuaciones horarias, tanto del contenido de N-total como del espectro de amino ácidos, resultó muy similar al de las fluctuaciones diarias.

La periodicidad diurna en la cuota de exudación, parece ser una propiedad constante del "llanto" xilemático (6, 8, 9, 12). Otro tanto podría decirse en cuanto a la calidad y cantidad de compuestos nitrogenados, pues Stoev et al. (14) constataron, durante el curso de tres meses, en la savia exudada por vides sin yemas de verano y sin hojas, un número de amino ácidos diferentes, fundamentalmente glutamina y ácido glutámico, que estaban sometidos a variaciones diurnas.

Un dilema que surge de la presente experiencia, es dar la explicación más plausible de los, relativamente altos, niveles de glutamina y ácido glutámico encontrados constantemente en la savia xilemática, las irregulares fluctuaciones a que están sometidos y el papel que dichos metabolitos deben necesariamente desempeñar.

Ante todo, se hace necesario destacar la dificultad de atribuir dichas

fluctuaciones a una sola causa, y a la vez se hace difícil poder conciliar los cambios diurnos de la composición nitrogenada con los cambios meteorológicos.

Algunas rutas metabólicas fueron postuladas previamente (15). Otras posibles explicaciones pueden añadirse en relación al fenómeno. Así, las fluctuaciones pueden ser el resultado de una falta de sincronización entre las actividades metabólicas de la raíz y del tallo, por estar ambas regiones sometidas a muy diferentes condiciones ambientales. Sobre todo, los tejidos del tallo están más expuestos que los de la raíz a las variaciones diurnas y nocturnas de los factores meteorológicos. A menudo, los factores ambientales hacen sentir sus efectos en el área celular donde se entrecruzan el metabolismo de los amino ácidos y amidas con el de los hidratos de carbono (2, 16). Fluctuaciones horarias meteorológicas pueden, indirectamente, provocar variaciones en el contenido de compuestos íntimamente relacionados, como glutámico-glutamina, alterando la actividad del sistema enzimático de amidación, es decir, provocando cambios a nivel de precursor y producto.

Determinaciones de amino ácidos en distintas regiones de la planta de vid durante su ciclo vegetativo anual (11), han puesto de manifiesto que en los tejidos de la raíz, el nitrógeno soluble comprende del 46% al 65% del N-total, y en tejidos del tallo del 20% al 47%, siendo la arginina el principal compuesto acumulado. Como hacia la época de brotación se opera una disminución de N-insoluble concomitantemente con un incremento del N-soluble, cabría esperar un desdoblamiento de la fracción proteica global de dichas regiones morfológicas. Teniendo en cuenta que la arginina se encuentra en la ruta metabólica del glutámico-glutamina (7), es lícito suponer que tal metabolito se comporte como precursor de la glutamina. Además, está probado en otras especies (3, 4, 5), que la amplitud de los cambios de concentración de arginina reflejan muy marcadamente los efectos de los cambios ambientales.

La presencia dominante de glutamina en el "llanto", puede tener su explicación como principal metabolito donador de nitrógeno para la síntesis de amino ácidos proteicos (13), en relación al fenómeno de crecimiento inmediato de las yemas.

La periodicidad puesta de manifiesto, también podría estar asociada a los cambios de permeabilidad al agua por parte de las células de los tejidos radicales (10), cambios éstos que responden a condiciones externas y factores fisiológicos endógenos, los cuales se modifican con el tiempo, dando exudaciones cíclicas (6).

No se descarta la posibilidad de la existencia de ritmos endógenos, similares a los observados en ciertos parámetros metabólicos de varios sistemas biológicos (1). Sin embargo, el alcance de la influencia de los ritmos endógenos sobre los cambios diurnos en el nitrógeno soluble de la savia xilemática de la vid, todavía no han sido evaluados.

Finalmente, es útil señalar por otra parte, que los cambios diurnos puestos aquí de manifiesto, reflejan claramente los altos niveles diarios de glutamina libre y advierte del cuidado que debe tenerse de sacar conclusiones, en términos de contenido y calidad de amino ácidos libres, cuando se quiere evaluar la respuesta a nutrientes minerales o a otros factores ambientales, por el análisis de los jugos traqueales.

BIBLIOGRAFIA

- 1 - BUENNING, E. 1964. The physiological clock. Acad. Press, New York.
- 2 - CRANE, F.A. and F.C. STEWARD, 1962. Effect of day length and of calcium and potassium on the nitrogenous metabolites of *Mentha piperita* L. Part IV.- Mem. Cornell Univ. agric. Exp. Stn 379, Ithaca, New York.
- 3 - DURZAN, D.J. 1968. Nitrogen metabolism of *Picea glauca*. I. Seasonal changes of free amino acids in buds, shoot apices, and leaves, and the metabolism of uniformly labelled ^{14}C -L-arginine by buds during the onset of dormancy.- Can. J. Bot. 46: 909-919.
- 4 - 1968. II. Diurnal changes of free amino acids, amides and guanidino compounds in roots, buds, and leaves during the onset of dormancy of white spruce sapling.- Ibid. 46: 921-928.
- 5 - 1968. III. Diurnal changes of amino acids, amides, protein, and chlorophyll in leaves of expanding buds.- Ibid. 46: 929-937.
- 6 - FENSON, D.S. 1958. The bio-electric potentials of plants and their functional significance. II. The patterns of bio-electric potential and exudation rate in excised sunflower roots and stems.- Can. J. Bot. 36: 367-383.
- 7 - FOWDEN, L. 1965. Amino acids biosynthesis. En: Biosynthetic pathways in higher plants. Ed. J.B. Pridham and T. Swain. Acad. Press, New York: 73-99.
- 8 - GROSSENBACHER, K.A. 1938. Diurnal fluctuations in roots pressure.- Pl. Physiol. 13: 669-676.
- 9 - 1939. Autonomic cycle of rate of exudation in plants.- Am. J. Bot. 26: 107-109.
- 10 - JACKSON, J.E. and P.E. WEATHERLY, 1962. The effect of hydrostatic pressure gradients in the movement of potassium across the root cortex.- J. exp. Bot. 13: 128-143.
- 11 - KLIEWER, W.M. 1967. Annual cyclic changes in the concentration of free amino acids in grapevines.- Amer. J. Enol. Vitic. 18 (3): 126-137.

- 12 - REALTE, M.H. y R.J. HELDER, 1969. El llanto de los vegetales.- *Endeavour* 28 (103): 35-39.
- 13 - STEWARD, F.C. and D.J. DURZAN, 1965. Metabolism of nitrogenous compounds. En: *Plant physiology, a treatise*. Ed. F.C. Steward. Vol. IV-A: 379-636. Acad. Press. New York.
- 14 - STOEVE, K.D., DOBREVA, S.I. und G. WOSTENINEZ, 1966. Ueber die Synthese von Aminosäuren im Wurzelsystem der Rebe.- *Vitis* 5: 267-287.
- 15 - TRIONE, S.O. y G. ALMELA PONS, 1972. Amino ácidos en la savia xilemática ("lloro") de la vid. I. Cambios diarios en el complemento nitrogenado soluble.- *Lilloa* 33, 7: 137-147.
- 16 - TRIONE, S.O. 1968. Estudios sobre el metabolismo del nitrógeno en plantas de papa decaídas ecológicamente por acción de altas temperaturas.- *Revta Fac. Cienc. agrar. Univ. nac. Cuyo* 14 (1-2): 39-57.

*Instituto de Biología Vegetal,
Facultad de Ciencias Agrarias (UNC),
Mendoza, Argentina.*