

Fisiología de la latencia de las yemas de vid : hipótesis actuales

Manuel Pinto¹, Waldo Lira, Hector Ugalde y Francisco Pérez.

¹ Grupo de Investigación Enológica (GIE). Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Casilla 1004, Santiago, Chile, manpinto@uchile.cl, www.gie.uchile.cl.

Introducción

La latencia de las yemas es un estado característico de los frutales caducifolios que les permite sobrellevar las condiciones desfavorables del invierno (Saure, 1985). En la vid, luego del envero o pinta y durante la fase de madurez de los racimos, en las yemas ubicadas en las axilas de las hojas ocurren los cambios anatómicos y metabólicos que caracterizan al período de diferenciación floral. Al término de este período, se podría decir, se inicia el proceso de latencia en las yemas. Este se va desarrollando secuencialmente desde las yemas de la base hacia las de la punta del sarmiento. La diferenciación en vid dura aproximadamente hasta la madurez de las bayas, siendo las yemas de la base del sarmiento las que se diferencian primero. Debido a que la yema de la vid es una yema de tipo mixto (órganos reproductivos y vegetativos juntos), su diferenciación consiste básicamente en la organización de los meristemas y de los esbozos de hojas, racimos y zarcillos para que en la primavera siguiente den origen al nuevo brote cargador. Terminada la diferenciación de cada yema se inicia en ésta lo que se denomina etapa de **paralatencia**. Durante esta etapa gran parte de las yemas (en especial las basales) aún tienen la capacidad potencial de brotar pero permanecen en reposo, debido principalmente a la dominancia ejercida por la yema apical y las anticipadas de los sarmientos aún en crecimiento. Esta capacidad potencial de brotar se va perdiendo paulatinamente conforme se avanza en la estación y el sarmiento va madurando. Este va perdiendo desde la base su color verde por desintegración de la clorofila en las células epidérmicas y tornándose paulatinamente desde café claro a oscuro debido a la acumulación de lignina y otros compuestos fenólicos en las paredes celulares. Este período es conocido como *agostamiento*, y coincide con el término del crecimiento del sarmiento y el paso de las yemas a la etapa conocida como de **entrada en endolatenia**. Durante este período las yemas pierden en dos o tres semanas su capacidad de brotar entrando definitivamente a la etapa de **endolatenia**. Durante la endolatenia, a pesar de que no se observan cambios visibles, este es un estado fisiológico y bioquímicamente activo, durante el cual se producen cambios en el contenido de agua de las yemas y en los niveles de reguladores de crecimiento y otras sustancias químicas (Young y col., 1973; Seeley y Powell, 1981; Powell, 1987; Martin, 1991). Des este estado las yemas salen solo si han cumplido un mínimo de horas de frío que le permitan pasar a las etapas siguientes que son: la **salida de endolatenia** en la cual las yemas van paulatinamente recuperando de nuevo su capacidad potencial de brotar y la **ecolatenia**, en la que las yemas a pesar de poseer plenamente su capacidad de brotar, permanecen en reposo hasta que las mayores temperaturas de la primavera les permitan su salida de este estado y aseguren el normal desarrollo del nuevo brote (Lang, 1987).

Como ya se ha dicho, las yemas endolantes de vid poseen un requerimiento mínimo de frío para brotar el cual se satisface mediante exposiciones a bajas temperaturas (Kliewer y Soleimani 1972). Numerosos estudios se han efectuado para determinar el requerimiento de frío de la vid el cual se asume ser característico de cada variedad. Sin embargo, aún hoy existen inexactitudes en la determinación de estos requerimientos debido a factores ambientales de cada localidad y a los diferentes modelos usados en su cálculo.

La vid es uno de los cultivos con mayor variabilidad genética con una enorme cantidad de variedades existentes en la actualidad y repartidas en los más diversos climas. Esto explica en parte el amplio rango de requerimiento de frío que se le asigna a esta especie, el cual va entre las 150 y 1200 horas de frío. (Westwood, 1982; Lyon y col, 1989). Sin embargo, sus requerimientos promedios de todas maneras son inferiores a la mayoría de los frutales de hoja caduca (Chandler et al 1937 Westwood, 1982; Lyon et al, 1989).

La falta de frío invernal en la vid produce efectos como:

- a) retraso en la brotación de las yemas,
- b) brotación errática de éstas,
- c) disminución del número de brotes por sarmiento,
- d) disminución de racimos por sarmiento
- e) poca uniformidad en el desarrollo de los racimos y
- f) retraso en la maduración de las bayas

todo lo cual se traduce al final en producciones pobres, tardías y de baja calidad (Wicks et al 1984; Or et al, 2000).

Metabolismo energético de la yema de Vid

Como en todas las plantas superiores, en la vid es la respiración mitocondrial en última instancia la que proporciona la energía y las cadenas carbonadas para el metabolismo de las diversas etapas de las yemas de vid. Durante la diferenciación, esta energía, bajo forma de ATP y poderes reducidos (NADH^+), es directamente obtenida de la oxidación de la glucosa en las mitocondrias. En esta etapa, la glucosa es mayoritariamente obtenida de la fotosíntesis, la cual está en uno de sus períodos más activos debido a la gran demanda de fotoasimilados por parte de los racimos.

Durante la diferenciación de las yemas los requerimientos energéticos son principalmente debido a la división celular, necesaria a la formación de los distintos esbozos de órganos del futuro brote y a la mantención del funcionamiento celular. En efecto, durante este período las yemas de vid son activos centros de consumo de glucosa lo cual se evidencia por las significativas tasas de respiración observadas en ellas.

Estas tasas respiratorias van disminuyendo a medida que las yemas van entrando en la etapa de paralatencia para terminar en un nivel mínimo durante la endolatenia. Figura 1.

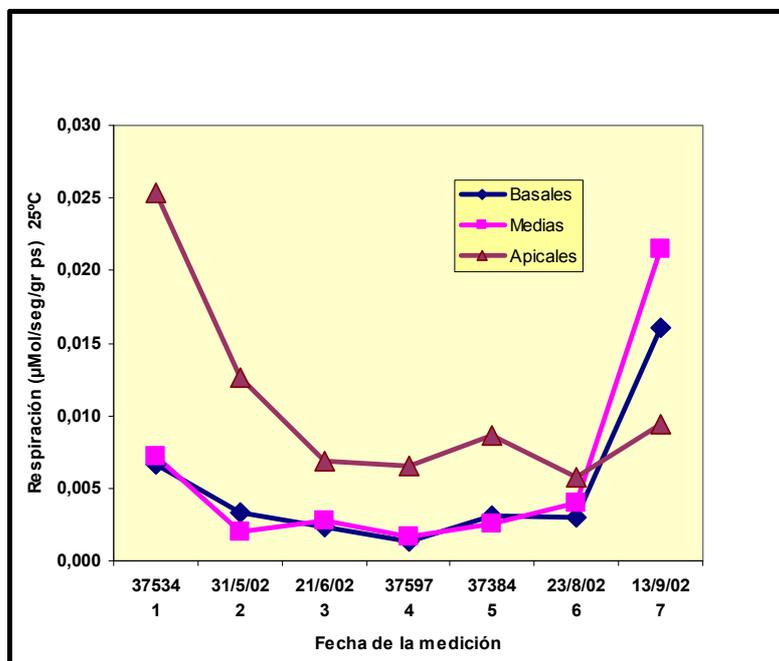


Figura 1.- Evolución de la respiración de yemas del cv Sultanina

Tasas de respiración elevadas durante la etapa de diferenciación y de paralatencia, evidencian que durante este período las yemas están consumiendo energía tanto para los procesos de crecimiento como para aquellos de mantención. En cambio durante la endolatenia las bajas tasa de respiración observadas indican que el consumo energético sería mínimo debido a que en su totalidad estaría destinado a los procesos de mantención. Se entiende por procesos de crecimiento todos aquellos relacionados con la división celular y la síntesis y acumulación de nuevos compuestos y por procesos de mantención, todos aquellos relacionados con la reposición de moléculas pre - existentes (proteínas) y mantención de la maquinaria metabólica y estructuras celulares. Así un órgano en pleno desarrollo consumirá proporcionalmente más energía para crecimiento que uno en latencia, el cual consumirá prácticamente toda la energía para mantener sus células viables hasta que las condiciones sean favorables para reiniciar su crecimiento.

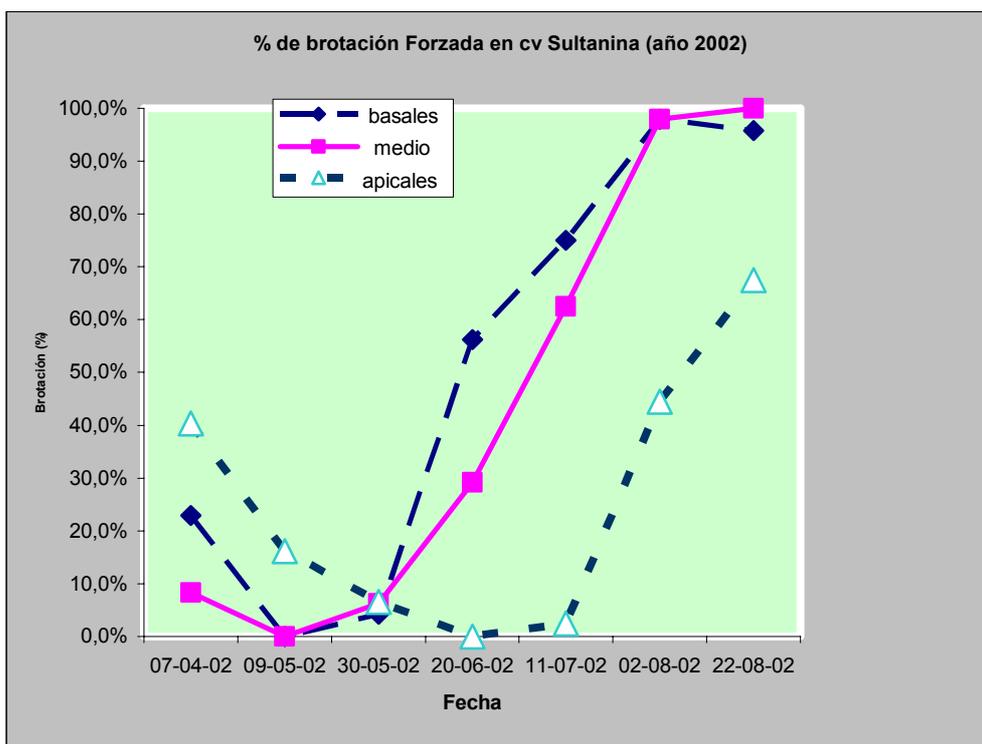


Figura 2.- Evolución de la capacidad de brotación de las yemas del cv Sultanina

En la Figura 2 se muestra la evolución de la brotación de yemas en el cv Sultanina obtenida mediante forzamiento en cámara de cultivo a 25° C y cultivadas en condiciones hidropónicas. De acuerdo con esos resultados, a inicios del mes de abril, las yemas apicales (sobre el 24 nudo) presentaron aproximadamente un 40% de capacidad para brotar. Por lo tanto, se podría decir que esta proporción de yemas estaba entrando a la etapa de paralatencia y que el resto (60 %) estaba ya entrando a la endolatenencia. En cambio las yemas basales e intermedias del sarmiento, a esa fecha estaban en cerca de un 80% en estado de endolatenencia ya que en promedio su capacidad para brotar fue muy reducida, menos de un 20%. Según estos mismos resultados la endolatenencia en este cultivar duraría en promedio unos 40 días tanto para las yemas basales como para las apicales. Entre éstas solo variaría las fechas en que este estado se produciría: en las basales e intermedias la endolatenencia se produjo entre el 10 de abril y el 30 de mayo y en las más apicales entre el 30 de mayo y el 11 de julio.

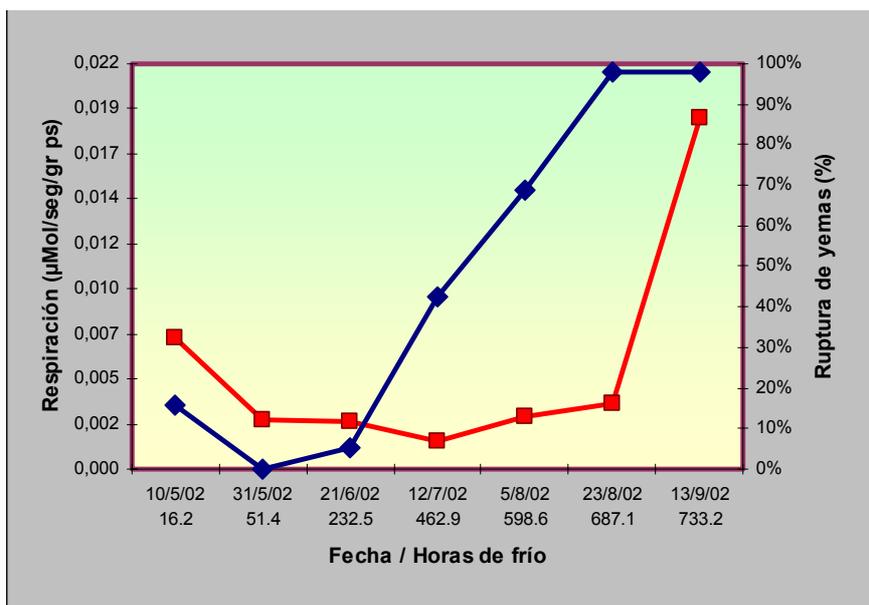


Figura 3 .- Comparación de la evolución de la capacidad de brotación (—◆—) con la evolución de la respiración mitocondrial (—■—) de yemas del cv Sultanina

Terminada la endolatenia, bajo condiciones controladas (25°C) se reinició activamente la brotación. Esta recuperación de la capacidad de brotar en las yemas basales e intermedias se produjo cuando las yemas habían acumulado aproximadamente 230 horas de frío (base 7° C) Figura 3. Sin embargo, las yemas que permanecieron en la planta en el campo, a pesar de tener la capacidad de brotar, permanecieron en ecolatenia debido a las bajas temperaturas. Esto último se evidencia por las reducidas tasas de respiración observadas, las cuales se mantuvieron en un nivel mínimo hasta que las horas de frío acumuladas alcanzaron un valor aproximado de 690 H el 23 de Agosto.

Así, cuando los requerimientos de frío se han cumplido y la etapa de endolatenia ha terminado, si las condiciones de temperatura no son favorables a la brotación, las yemas permanecerán en ecolatenia con requerimientos energéticos bajos similares a los del período de endolatenia. Estos requerimientos energéticos aumentan drásticamente cuando se rompe la latencia y se reinicia el crecimiento del nuevo brote, Figura 3.

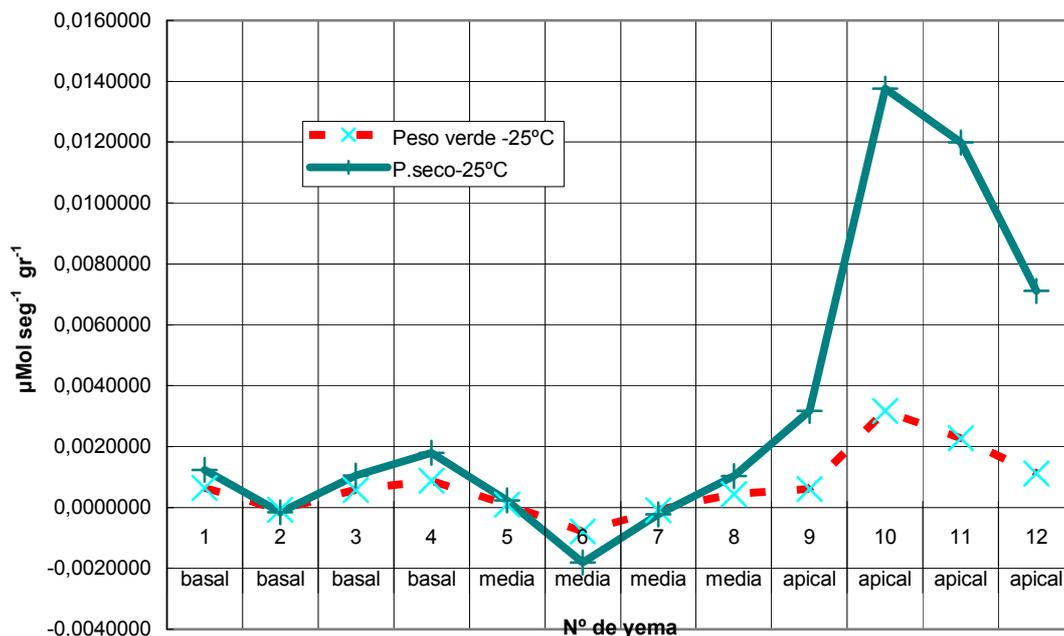


Figura 4- Evolución de la respiración de yemas de vid variedad Sultanina ubicadas en diferente posición dentro del sarmiento.

En la Figura 4 se presenta la respiración de las yemas a lo largo del sarmiento durante la 1ª semana de abril, cuando aún no se iniciaba la senescencia de las hojas y el brote estaba a la mitad maduro. A esta fecha tanto las yemas basales como las intermedias ya están con una actividad metabólica mínima a diferencia de las más apicales que aún presentan altas tasas respiratorias.

A diferencia de lo que sucede durante la diferenciación y la paratencia, en donde el sustrato respiratorio (glucosa) lo suministra esencialmente la fotosíntesis, durante las etapas de endolencia; ecolencia y desarrollo inicial del brote, éste sustrato lo suministran las reservas de la parra, principalmente constituidas por almidón (Figura 5). El suministro de glucosa a partir de las reservas de almidón continuará durante toda la etapa heterotrofa del brote la cual dura hasta que sus primeras hojas hayan alcanzado $\frac{3}{4}$ partes de su desarrollo final. En general se estima que a partir de este momento las hojas de vid comienzan a fotosintetizar suficientes asimilados como para suplir sus propias necesidades y las de las hojas en desarrollo de la punta del brote. Bajo tales condiciones se estima que el brote ha alcanzado su autonomía en cuanto a suministro de fotoasimilados y por lo tanto, es autótrofo.

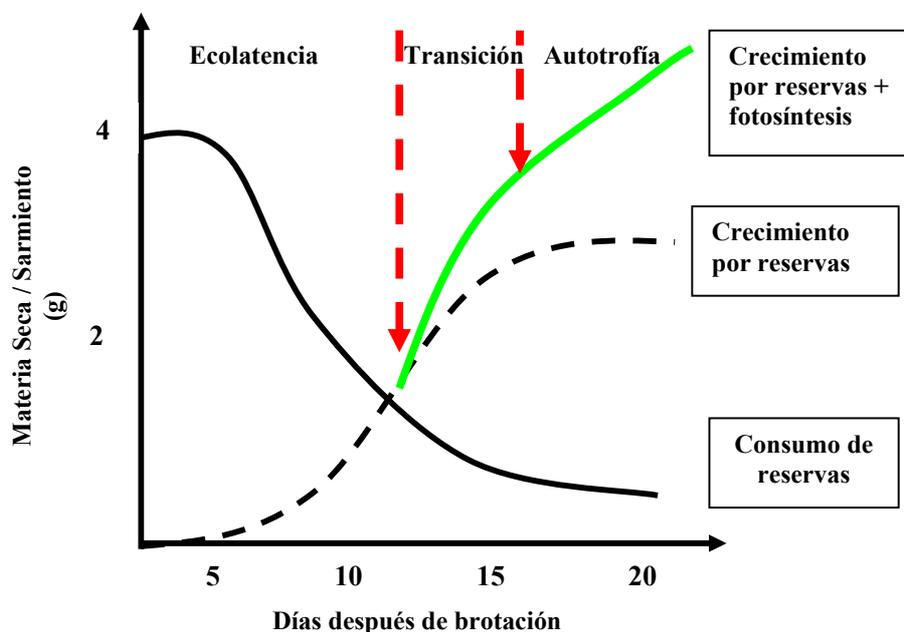


Figura 5.- Fases entre la ecotlatencia y la entrada en autotrofia de un brote de vid

Metabolismo del Frío Invernal en Yemas de Vid

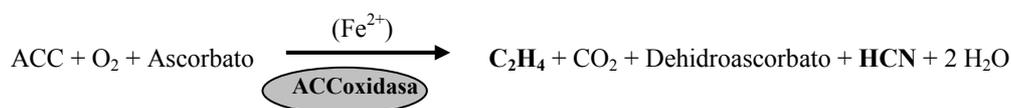
La latencia de las yemas está controlada genéticamente y es naturalmente inducida por el fotoperíodo y las bajas temperaturas. Su término ocurre en la primavera después que las yemas han acumulado una cierta cantidad de horas frío. (Scalaberilli y Couvillon, 1986; Rodríguez et al., 1994).

Originalmente se pensó que el estado de latencia de las yemas estaba regulado hormonalmente, en particular por el ácido abscísico (ABA). En efecto correlaciones positivas entre el contenido de ABA, el número de horas de frío y el estado de latencia de yemas de diferentes especies hicieron pensar en la directa participación de este compuesto en la regulación de la latencia de yemas. En vid por ejemplo, en la variedad Cabernet Sauvignon, Ricouard et al (1994) relacionan la entrada en latencia con altos niveles de ABA y bajos de putrecina, una poliamina asociada a procesos de floración y senescencia. Por el contrario, la salida de latencia en esta variedad fue acompañada con bajos niveles de ABA y altos de putrecina. Similares resultados han sido reportados por Or et al (2000) respecto de la entrada en endolatenia en la variedad Perlette. La concentración de ABA aumenta significativamente hasta llegar a un máximo cuando se alcanzó el estado de endolatenia. Sin embargo, posteriormente estos autores observaron una baja correlación entre el contenido de ABA y el rompimiento de la latencia. Observaciones similares efectuadas por otros autores hacen por lo

tanto, pensar que al menos en el rompimiento de la latencia otros compuestos diferentes al ABA estarían involucrados. Así, algunos autores han obtenido positivas correlaciones entre el rompimiento de la latencia y el contenido de etileno (C_2H_4) en yemas de vid (Blendpied 1977; Thobe et al 1992; Gemma 1995). Resultados obtenidos en vid Delaware por Gemma (1995) indican que el ácido 1-aminocycloprano -1-carbónico (ACC), precursor en la síntesis del etileno se acumula en yemas y sarmientos hasta el momento de la endolatenia para luego ir gradualmente disminuyendo a medida que se acumulan horas de frío.

Aplicaciones de este ácido provocaron rompimiento de latencia en esta variedad, sin embargo, aplicaciones de etileno (Ethepon) fueron ineficaces en este sentido (Mochioka et al 1998). Por lo tanto, estos resultados inducen a pensar que tampoco el etileno es el responsable final del rompimiento de las yemas sino que probablemente compuestos precursores o derivados de su síntesis.

Al observar la reacción que conduce a la transformación del ACC en etileno:



se tiene que su síntesis es dependiente del oxígeno; que necesita ascorbato; que la reacción es catalizada por la ACC oxidasa (altamente dependiente de O_2 y el CO_2) y que entre sus productos está el hidrogeno de cianuro (HCN) compuesto altamente oxidante y que ha sido señalado como estimulante de la síntesis de glutathione reducido (GSH). El glutathion es un tripéptido que en los vegetales cumple funciones de detoxificación, e n particular de compuestos altamente oxidantes que como el HCN y el peroxido de hidrógeno (H_2O_2) se producen bajo condiciones de stress. En efecto, el HCN es altamente tóxico e inhibe la cadena transportadora de electrones en la mitocondria haciendo bajar la producción de ATP y el H_2O_2 es una de las especies derivadas del O_2 más reactivas que de no eliminars puede dañar seriamente a proteínas y lípidos de membranas y otras reacciones metabólicas. Por otra parte estudios efectuados por Tohbe et al (1998) señalan que aplicaciones de glutathion reducido a yemas de vid producen un significativo rompimiento de la latencia en el cv Delaware lo que viene a aportar más antecedentes a lo postulado por Prasad (1996) en el sentido que los efectos del frío en las yemas estarían mediado por la generación de especies reactivas de O_2 entre los cuales el H_2O_2 sería el más activo.

Orígenes del H_2O_2 en los vegetales.

Diversas reacciones que ocurren en el metabolismo de las células vegetales pueden conducir a la producción de especies reactivas de oxígeno como el radical hidroxilo ($OH\bullet$), el radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), el peróxido de hidrógeno y el oxígeno singlete. En general, estas especies se forman por transferencia de un electrón desde una molécula donora al oxígeno, generando el radical superóxido, que posteriormente es dismutado a H_2O_2 . Uno de los casos mas conocido de generación de radicales $O_2^{\cdot-}$, es el de la ferredoxina en el fotosistema I, que en ausencia de NADP disponible transfiere el electrón al O_2 (Asada y col., 1974). Sin embargo, existen muchas otras posibles fuentes de especies reactivas de oxígeno que son resumidas en el siguiente esquema.

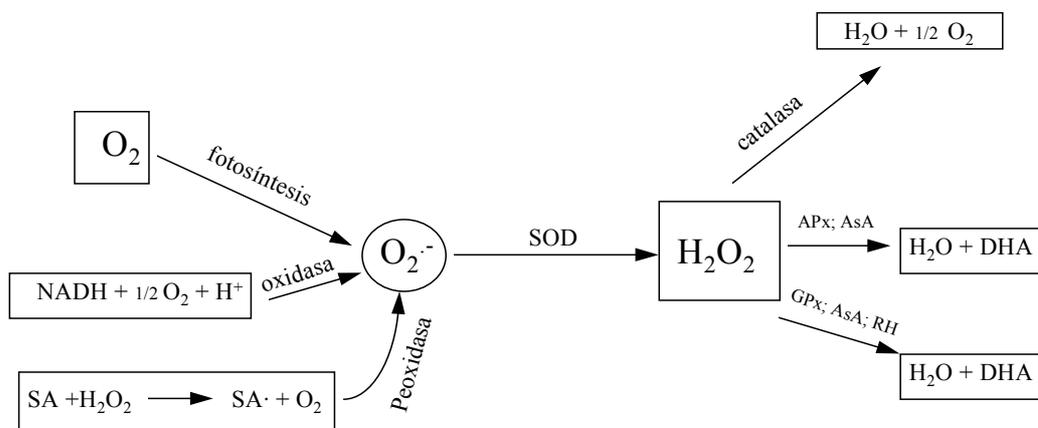


Figura 6.- Orígenes del $O_2^{\cdot-}$ en las células vegetales

En la Figura 6 se observa que la principal fuente de H_2O_2 en las células vegetales proviene de la dismutación del radical superóxido por acción de la enzima superóxido dismutasa (SOD). En vegetales el radical $O_2^{\cdot-}$ puede provenir de diversas fuentes. Una de ellas y que ya se mencionó, es el proceso de la fotosíntesis, en especial cuando ocurre bajo altas intensidades de luz (Asada et al., 1974). Otro origen del $O_2^{\cdot-}$ es el daño de tejidos por patógenos u elicitores que activan una NADPH oxidasa unida a membrana que es muy similar a la que opera en los neutrófilos activos en los seres humanos y que da origen al estrés oxidativo característico de las respuestas hipersensibles (HR) y de resistencia sistémica adquirida (SAR) (Lamb y Dixon, 1997). Una tercera posible fuente de $O_2^{\cdot-}$ puede provenir de la oxidación del ácido salicílico por acción de peroxidasas generando el radical que traspa su electrón al O_2 (Kawano y Muto, 2000). Las peroxidasas también pueden catalizar la formación de $O_2^{\cdot-}$ y H_2O_2 a través de una reacción compleja en la cual el NADH es oxidado a $NAD\cdot$ que a su vez reduce al O_2 , esta reacción es estimulada por monofenoles y Mn^{+2} (Halliwell, 1978). En yemas de uva en estado de endodormancia la actividad de la fotosíntesis debe ser nula, por lo cual, es probable que el origen del H_2O_2 en estos tejidos provenga de reacciones catalizadas por peroxidasas cuya actividad podría ser inducida por la exposición al frío o la aplicación de cianamida a las yemas. A este respecto, es interesante señalar que en otros tejidos de uva como hojas y pedicelos la actividad de peroxidasas básicas es inducida por estímulos exógenos como luz y ácido gibérelico (Pérez y Morales, 1999; Pérez y col., 2001). Más aún, trabajos realizados por Razeto y Espinoza (1990) demuestran claramente que las aplicaciones de ácido gibérelico por aspersión a toda la planta aumentan significativamente la infertilidad de las yemas, de allí que se recomienda la aplicación localizada de esta hormona. Este efecto del ácido gibérelico sobre la infertilidad de yemas, podría deberse a una estimulación excesiva a destiempo de la actividad peroxidasa en las yemas, lo que podría provocar un estrés oxidativo prolongado que conduciría a la muerte del tejido. Por otra parte, las plantas disponen de una batería de enzimas destinadas a reducir los niveles de H_2O_2 en los tejidos, como la catalasa que no utiliza un reductor adicional (Willekens y col., 1995), la ascorbato peroxidasa (APx) que

utiliza ácido ascórbico (AsA) como reductor (Durner y Klessig, 1995) y las guaiacol peroxidases que en presencia de AsA y fenoles o flavonoides reducen el H_2O_2 (Pérez y col., 2001). En consecuencia, los niveles de H_2O_2 en los tejidos vegetales pueden ser aumentados ya sea por la acción de algún tipo de estrés o por una disminución de la actividad de las enzimas detoxificadoras. El doble rol del H_2O_2 como molécula tóxica y como molécula señal, sugiere que pequeñas variaciones en su concentración en los tejidos debiera ser suficiente para activar el o los sistemas de transducción de señales conducentes a respuestas fisiológicas, ya que aumentos mayores podrían tener efectos tóxicos. Es así como, evidencias recientes indican que la tolerancia a estrés abióticos en plantas, pueden ser inducidos por aumentos pequeños en los niveles de H_2O_2 (Foyer y col., 1994, 1997; Willekens et al., 1995).

Control del nivel endógeno de H_2O_2 por la enzima catalasa

Antecedentes de la literatura indican que la exposición de las yemas al frío inhiben la actividad de la catalasa (EC 1.11.16) (Nir y col., 1986). La catalasa es una enzima que se encuentra presente en las células aeróbicas y que descompone el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en oxígeno molecular y H_2O .



Su rol fisiológico es eliminar el exceso de H_2O_2 producido durante el metabolismo celular evitando de este modo su acumulación y consiguiente daño celular. Sin embargo, durante el último tiempo han surgido múltiples evidencias que indican que el H_2O_2 es una molécula que actúa como señal química y que es generada por las plantas en respuestas a estreses tanto bióticos como abióticos (Prasad y col., 1994; Bartosz, 1997; Foyer y col., 1997).

Por otra parte, inhibición de la actividad de la catalasa también se ha observado luego de aplicaciones de cianamida hidrogenada (H_2CN_2) a las yemas de vid, Figura 7. En este sentido, la inhibición de la actividad catalasa ya sea por efecto de la exposición al frío o por aplicación de cianamida debiera producir un subsecuente aumento en los niveles de H_2O_2 en los tejidos de las yemas de uva, Figura 8.

Este aumento en los niveles de H_2O_2 podría iniciar un proceso de transducción de señales que como resultado de el fin del estado de endodormancia de las yemas, y así, bajo condiciones favorables iniciar la brotación. Al respecto cabe preguntarse. ¿Si el mínimo de horas frío necesario para que las yemas inicien su proceso de ruptura esta relacionado con un cierto nivel o umbral de H_2O_2 en los tejidos? ¿La disminución de la actividad catalasa se debe a una disminución de la cantidad de enzima o a la acción de algún inhibidor específico? ¿Otros inhibidores de la actividad catalasa como el ácido salísilico y el ácido 2,6-dicloroisonicotínico reproducen los efectos del frío y de la cianamida en las yemas de vid?

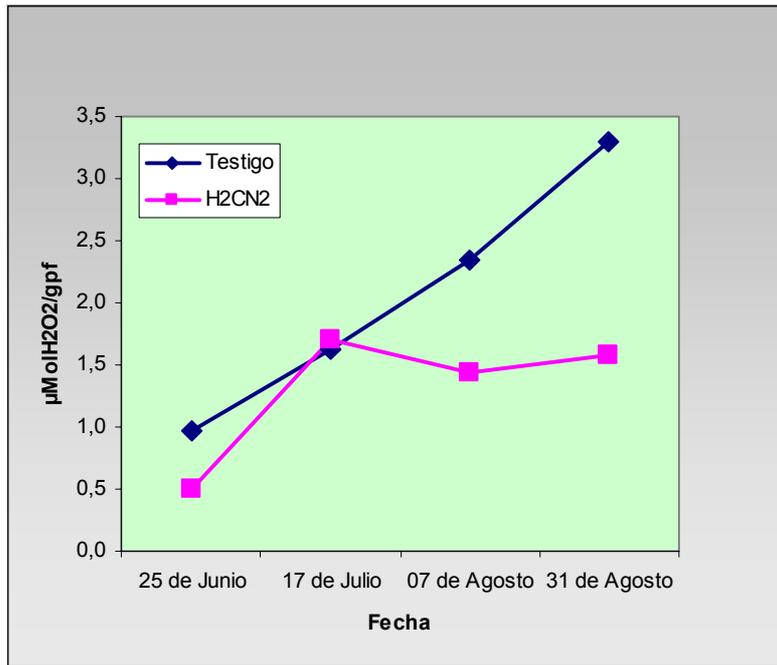


Figura 7.- Efecto de la aplicación de Cianamida sobre la actividad de la enzima catalasa en vid cv Sultanina

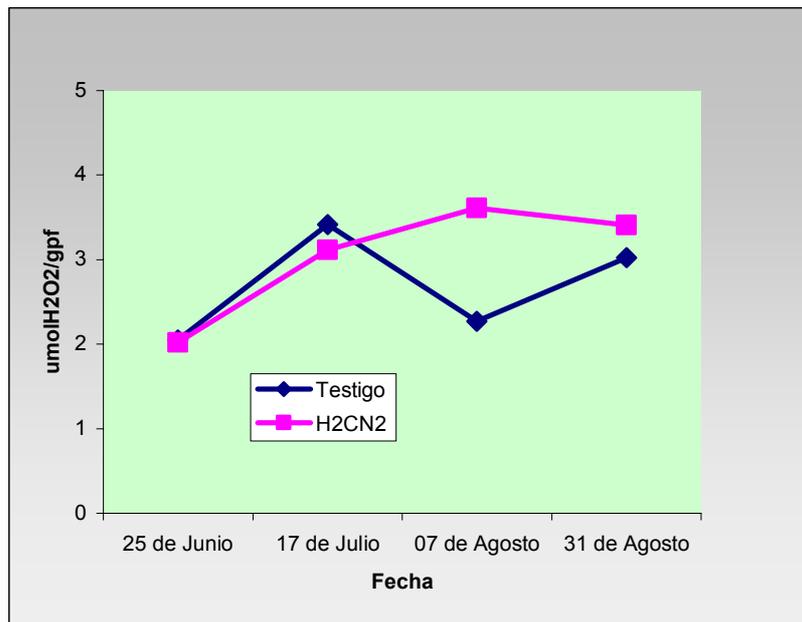


Figura 8.- Efecto de la aplicación de cianamida sobre el nivel de H₂O₂ en yemas de vid cv Sultanina

La cianamida hidrogenada es un compuesto altamente tóxico para el ser humano que puede causar daño a los tejidos verdes de los vegetales, pero que al ser aplicado a las yemas en estado de endolatenencia induce la ruptura de ésta, favoreciendo la brotación de las yemas en zonas con déficit en horas de frío (Shulman y col, 1986; Erez 1987). Así, mediante su correcto uso en estas zonas, este producto produce adelanto en la brotación de las yemas y finalmente en la madurez de las bayas lo cual resulta económicamente beneficioso (Erez, 1987; Ortiz 1987; Montes 1990; Pinilla 1993; Sanchez 1998; Or et al, 2000). La falta de suficiente frío invernal se produce en regiones templadas y desérticas con otoños e inviernos cortos y cálidos en donde las horas de frío no superan las 200 a 300 H. En Chile esto sucede en la zona de los valles transversales (III y IV regiones) donde las prácticas para la obtención de cosechas tempranas son altamente deseables. Este problema plantea, por lo tanto, la necesidad de obtener variedades de vid con bajos requerimientos de frío, sin embargo, a falta de ellas, actualmente el uso de productos que como la cianamida hidrogenada (H_2CN_2) induzcan en forma artificial la ruptura de la latencia de las yemas resultan ser determinantes.

H_2O_2 como molécula señal.

El H_2O_2 ha sido involucrado como mediador en una serie de respuestas de las plantas frente a diversos estrénes ya sean de carácter biótico como abiótico. Se ha demostrado por ejemplo que aplicaciones exógenas de H_2O_2 confieren tolerancia al estrés por frío en coleóptilos de maíz, y que en coleóptilos aclimatados los niveles endógenos de H_2O_2 aumentan significativamente (Prasad et al, 1994). También se ha demostrado que el H_2O_2 al igual que el ácido salicílico (SA) inducen termotolerancia en microplantas de papa, y que tallos de microplantas crecidos en medios que contienen SA poseen niveles significativamente mayores de H_2O_2 y menores niveles de actividad catalasa (Lopez-Delgado et al., 1998). Por otra parte, existe una amplia literatura sobre los mecanismos de defensa de las plantas frente al ataque por patógenos, que incluye la respuesta hipersensible (HR) y la resistencia sistémica adquirida (SAR) donde generalmente se involucra la participación de H_2O_2 y del radical superóxido O_2^- (Lamb y Dixon, 1997). Si bien existen sólidas evidencias que indican que el H_2O_2 actúa como una señal química que responde frente a diversos estímulos, la pregunta que corresponde formular a continuación es ¿Como se transduce esa señal (aumento de la concentración de H_2O_2) en una respuesta celular dada?. Al respecto caben al menos dos alternativas, una es que el H_2O_2 active directamente la expresión o represión de genes, y la otra, es que actúe en forma indirecta, como por ejemplo provocando cambios metabólicos que sean detectados por algún tipo de molécula (receptor y o factor de transcripción) que active o reprima la expresión de genes. En cultivos en suspensión de *Arabidopsis thaliana* se ha demostrado la activación directa de una MAP-kinasa por H_2O_2 (Desikan et al, 1999). Las enzimas kinasas en general están involucradas en la mayoría de los procesos de transducción de señales en células eucarióticas (Hirt, 1997; Sanssich, 1997; Mizogushi y col, 1997). En yemas de uva recientemente se ha identificado un transcrito que es inducido por aplicaciones de cianamida que correspondería a una proteína kinasa del tipo SNF (Or y col., 2000). La actividad de las proteína-kinasas del tipo SNF es regulada por la relación AMP/ATP intracelular, esto llevo a Trewavas y Mahlo (1997) a postular que este tipo de kinasas podrían actuar como potenciales pseudo-receptores de alteraciones respiratorias. Por otra parte, se ha demostrado que el H_2O_2 en levaduras provoca una represión metabólica rápida de las enzimas involucradas en

la glicolisis y en el ciclo de Krebs y una redirección del flujo de carbono hacia el ciclo de las pentosas para la regeneración de NADPH y sobrellevar de esta forma el estrés oxidativo (Godon et al 1998).

En base a los antecedentes expuestos, se puede postular que la ruptura de la endolatenia en las yemas de uva se produciría por una acumulación de H_2O_2 en sus tejidos. Este aumento en los niveles de H_2O_2 sería provocado por la inhibición de la actividad catalasa o por la acción de peroxidasa que oxidan NADH. Ambos fenómenos serían estimulados por la exposición al frío de los tejidos o por la acción de agentes químicos como la cianamida hidrogenada.

El aumento en los niveles de H_2O_2 provocaría alteraciones respiratorias transitorias inhibiendo enzimas de la glicolisis y del ciclo de los ácidos tricarbóxicos (TCA), favoreciéndose de este modo la vía fermentativa y provocando además una reorientación del flujo de carbono hacia el ciclo de las pentosas.

Todas estas alteraciones metabólicas tendrían como consecuencia un aumento en los niveles de la relación AMP/ATP intracelular que induciría la expresión de proteína-quinasas del tipo SNF, las cuales formarían parte del sistema de transducción de la señal que pondría término a la endolatenia de las yemas.

Es por lo tanto, probable que la activación de genes relacionados con la biosíntesis de hormonas como las giberelinas y citoquininas sean activados durante este proceso, ya que durante la brotación de las yemas se inician procesos de división celular, desdoblamiento de almidón y de crecimiento en general que están regulados por estas hormonas (ver Fig. 9)

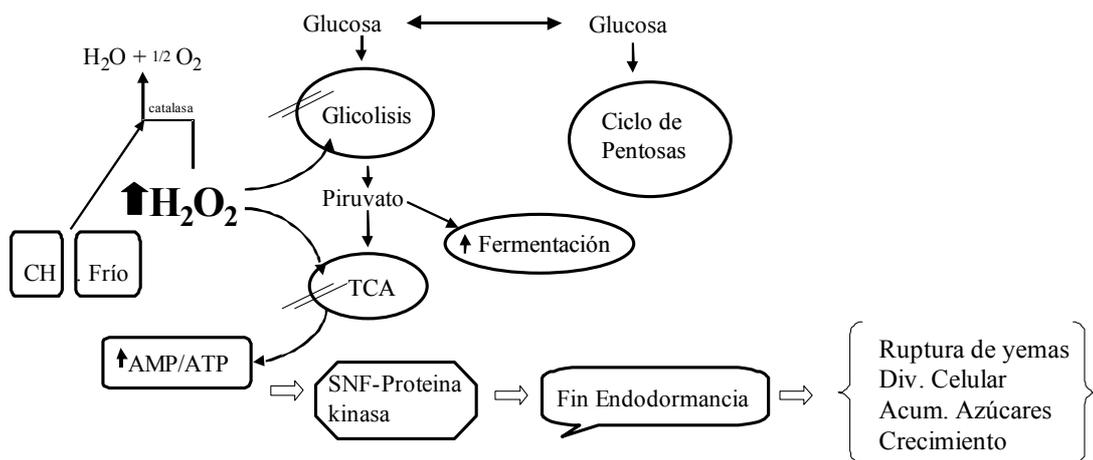


Figura 9.- Posible acción del H_2O_2 en la ruptura de la latencia de las yemas de vid

Agradecimientos: Proyecto Fondecyt 1020096 y Exportadora Excel Ltda..

Literatura citada.

1. Asada K, Kiso K, Yoshikawa K (1974) Univalent reduction of molecular oxygen by spinach chloroplast. *J. Biol. Chem* 249: 2175
2. Bartosz G (1997). Oxidative stress in plants. *Acta Physiologia Plantarum* 19: 47
3. Conrath U, Chen Z, Ricigliano R, and Klessig D (1995). Two inducers of plant defense responses, 2,6-dichloroisonicotinic acid and salicylic acid, inhibit catalase activity in tobacco. *Proc. Natl Acad. Sci* 92: 7143
4. Chandler , W.H., M.H. Kimball, G.L Phillip, W.P Tufts and G.P. Weldon. 1937. Chilling requirements for opening of buds on deciduous orchard trees and some other plant in California . Univ. of California College Agr. Exp. Sta. Bul. 611
5. Desikan R, Clarke A, Hancock JT and Neill SJ (1999) H₂O₂ activates a MAP kinase-like enzyme in *Arabidopsis thaliana* suspension cultures. *J. of Exp. Botany* 50:1863
6. Durner J and Klessig DF (1995) Inhibition of ascorbate peroxidase by salicylic acid and 2,6-dichloroisonicotinic acid, two inducers of plant defense responses. *Proc. Natl. Acad. of Sci* 92: 11312
7. Erez A (1987) Chemical control of bud break. *Hort. Science* 22: 1240
8. Foyer CH, Lopez-Delgado H, Dat JF, Scott MI (1997) Hydrogen peroxide and glutathione associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signalling. *Physiologia Plantarum* 100: 241
9. Foyer CH, Descourvieres P and Kunert KJ (1994) Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants. *Plant Cell and Envi* 17: 507
10. George AP, Nissen RJ and Baker JA (1986) Low chill peach and nectarine cultivars. *Agric. J.* 112: 27
11. Gemma H (1995) Rest breaking in Delaware grape *Acta Hort* 395: 127 - 133
12. Godon C, Lagniel G, Lee J, Buhler J, Krieffler S, Perrot M, Boucherie H, Toledano MB, and Labarre J (1998) The H₂O₂ stimulon in *Saccharomyce cerevisiae*. *J. Biol. Chem.* 273: 22480
13. Hansen E (1999). Gibberellins and subapical cell divisions in relation to bud set and bud break in *Salix*
14. Pentondra. *J. of plant growth regulation* 18 (4): 167
15. Hirt H (1997) Multiple roles of AMP kinase in plant signal transduction. *Trends in Plant Science* 2: 11
16. Kawano T and Muto S (2000). Mechanism of peroxidase actions for salicylic acid-induced generation of active oxygen species and an increase in cytosolic calcium in tobacco cell suspension culture. *J. of Exp. Botany* 51: 685

17. Kliewer W.M. and A. Soleimani 1972. Effect of chilling on budbreak in Thompson seedless and Carignan grapevines. Amer J. Enol. Viticult. 23:31 –34)
18. Lang GA (1987) Dormancy: a new universal terminology. Hort Science 22: 817
19. Lamb C and Dixon RA (1997) The oxidative burst in plant disease resistance. Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 48: 251
20. Lopez-Delgado H, Dat JF, Foyer CH and Scott I (1998). Induction of thermotolerance in potato microplants by acetylsalicylic acid and H₂O₂. J. of Exp. Botany 49: 713
21. Martin GC (1991) Bud dormancy in deciduous fruit trees. In : FC Steward ed Plant Physiology: A treatise, Vol X: Growth and Development, Academic Press, NY 183.
22. Martin BA and Stewart CR (1994). Evidence for chilling-induced oxidative stress and a regulatory role for hydrogen peroxide. The Plant Cell 6: 65
23. Mizoguchi T, Ichimura K and Shinozaki K (1997) Environmental stress response in plants: the role of mitogen-activated protein kinases. Trends in Biotechnology 15: 15
24. Mochioka Horiouchi R, Ogata S, Shiozaki T; Kurooka S. (1998) The influence of substances related to ethylene biosynthesis on breaking bud dormancy in grapevines Journal of the Japanese Society for Horticultural Sciences 67 (6) 902 - 906
25. Montes E (1990) Efecto de la cianamida hidrogenada sobre la brotación de dos cultivares de vid, Sultanina y Ribier, en la localidad de Palqui, IV región de Chile. Memoria de título Ing. Agrónomo. Univ. de Chile
26. Nir G, Shulman Y, Fanberstein L and Lavee S (1986). Changes in the activity of catalase in relation to the dormancy of grapevine (*Vitis vinifera* L) buds. Plant Physiol 81: 1140
27. Or E, Vilozny Y, Nir G, Ogradovitch A and Belauso E (2000). Timing of hydrogen cyanamide application to grapevine buds. 4th International symposium on table grape. La Serena, Chile.
28. Or E, Vilozny I, Eyal Y and Ogradovitch A (2000). The transduction of the signal for grape bud dormancy breaking induced by hydrogen cyanamide may involve the SNF-like protein kinase GDBRPK. Plant Molecular Biology 43: 483
29. Ortiz JE (1987) Efecto de la cianamida hidrogenada sobre la brotación de vid (*Vitis vinifera* L) en condiciones de la zona central de Chile. Memoria de título Ing. Agrónomo. Univ. de Chile.
30. Prasad KT, Anderson MD, Martin BA, and Stewart CR (1994). Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide. The Plant Cell 6: 65
31. Pérez FJ, Meza M, Berti M and Pinto M (2000). Effect of carbon source and sucrose concentration on growth and hexose accumulation of grape berries cultured in vitro. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 61: 111
32. Pérez FJ, Villegas D and Mejia N (2001). Guaiacol type peroxidase in the presence of ascorbic acid and phenols or flavonols can detoxify H₂O₂ in grape leaves. J of Exp. Botany submitted
33. Pinilla CE (1993) Efectos de la aplicación de cianamida hidrogenada mas aceite mineral en *Vitis vinifera* cv. Thompson seedless. Memoria de título Ing. Agrónomo, Universidad de Chile

34. Razeto B y Espinoza M (1990). Efecto del ácido gibérelico y su forma de aplicación sobre las yemas y frutos de vid cultivar Sultanina. *Investigación Agrícola* 10: 13
35. Ricouard N., Broquedis M; Bouard J (1994). Abscisic acid and putrecine contents in buds at different stages of grafted vine multiplication *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* 28:293-302, 389.
36. Powell LE (1987) Hormonal aspects of bud and seed dormancy in temperate zone woody plants. *Hort Science* 22: 845
37. Rodríguez AJ, Sherman WB, Scorza R, Okie WR and Wisniewski M (1994) Evergreen peach and its inheritance. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 119: 789
38. Sanchez P(1998) Efectos de la aspersión invernal de compuestos nitrogenados en la brotación de la vid var. Sultanina. Memoria de título Ing. Agrónomo, Univ. de Chile
39. Saure M (1985). Dormancy release in deciduous trees. *Hort. Rev.* 7: 239
40. Tohbe, M., Mochioka R., Horiouchi R, Ogata S, Shiozaki T; Kurooka S. (1998) Roles of ACC and glutathione during breaking of dormancy in grapevine buds by high temperature treatment. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Sciences* 67 (6) 897 - 901
41. Young LCT, Winneberger JT and Bennet JP (1973). Growth of resting buds. *J. Am. Soc. Hort. Sci* 99: 146
42. Scalaberilli G and Couvillon GA (1986). The effect of temperature and bud type on rest completion and the GDH °C requirement for bud break in Redhaven peach. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 112: 537
43. Seeley SD, and Powell LE (1981). Seasonal changes of free and hydrolyzable abscisic acid in vegetative apple buds. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 106: 405
44. Shulman Y, Nir G, and Lavee S (1986). Oxidative process in bud dormancy and the use of cyanamide in breaking dormancy. *Acta Hort.* 179: 141
45. Willekens H, Inze D, Van Montagu M and van Camp W (1995). Catalase in plants. *Molecular Breeding* 1: 207
46. Wicks A.S., J.O. Johnson, E. Bracho, F.L. Jensen, R.A. Neja, L.A. Lider and R.J. Weaver 1984. Induction of early and more uniform budbreak in *Vitis vinifera* L. cvs Perlette, Thomson seedless, and Flame seedless, p48 – 58. In R.J. Weaver (ed) *Proceedings of bud dormancy in grapevine: Potential and practical use of hydrogen cyanamide on grapevine*. Univ. of California, Davis