



Sociedad
Española
de **Ciencias
Hortícolas**

91

Octubre 2022



ACTA DE HORTICULTURA

**Comunicaciones Técnicas
Sociedad Española de
Ciencias Hortícolas**

IV Jornadas del Grupo de Viticultura

Editores:

**Gonzaga Santesteban
Nazareth Torres**

26-28 de octubre 2022, Pamplona/Iruña

Análisis metabolómico de la interacción patrón-variedad en vid

S. Tedesco¹, A. Erban², J. Kopka², P. Fevereiro^{1,3}, F. Kragler², A. Pina^{4,5*}

¹ Plant Cell Biotechnology Laboratory, Instituto de Tecnologia Química e Biológica António Xavier (Green-It Unit), Avenida da República, Estação Agronómica Nacional, 2780-157 Oeiras, Portugal

² Applied Metabolome Analysis Laboratory, Max Planck Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie, Wissenschaftspark Golm, Am Mühlenberg 1, 14476 Potsdam-Golm, Alemania

³ InnovPlantProtect CoLab, Estrada de Gil Vaz Apartado 72, 7351-901 Elvas, Portugal

⁴ Departamento de Ciencia Vegetal, Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA), Avenida Montañana 930, 50059, Zaragoza, España

⁵ Instituto Agroalimentario de Aragón–IA2 (CITA–Universidad de Zaragoza), Calle Miguel Servet, 177, 50013, Zaragoza, España

* A. Pina: apina@cita-aragon.es

Resumen

En viticultura, el injerto se utiliza para propagar vides europeas susceptibles a la filoxera (*Daktulosphaira vitifoliae*) utilizando patrones americanos resistentes. Aunque la señalización recíproca patrón-variedad es esencial para la formación de una unión vascular adecuada y un crecimiento coordinado, el conocimiento de las interacciones patrón-variedad a nivel metabolómico es muy limitado. En este estudio, para dilucidar el contenido de metabolitos y los cambios producidos por la interacción patrón-variedad en vides injertadas en vivero, se ha analizado el metaboloma de las hojas de 11 combinaciones de homo y heteroinjertos con distinto grado de compatibilidad en un estadio temprano de desarrollo de la unión. Las combinaciones estuvieron formadas por seis cultivares de *V. Vinifera spp.* injertados sobre distintos portainjertos ‘Richter-110’ (110R) y *V. rupestris* (RUP). La comparación del metaboloma entre homo y heteroinjertos reveló un aumento de azúcares en las hojas del homoinjerto, mientras que los ácidos carboxílicos y el metabolismo fenólico aumentaron en los heteroinjertos. Estos resultados confirman que la presencia de dos genotipos diferentes formando una combinación de injerto induce una respuesta relacionada con la defensa. Sin embargo, no se encontraron perfiles de metabolitos secundarios comunes entre combinaciones compatibles e incompatibles, formadas por diferentes cultivares de *V. Vinifera spp.*, sugiriendo que la incompatibilidad de injerto se produce debido a reacciones específicas de patrón-variedad que no son generalizables a diferentes combinaciones. Estos resultados proporcionarán un valioso recurso de metabolómica para los estudios de interacción patrón-variedad y facilitarán los esfuerzos futuros en la identificación de marcadores metabólicos para características agronómicas importantes en vides injertadas.

Palabras clave: Heteroinjerto, hojas, incompatibilidad, perfiles metabólicos, *V. vinifera spp.*



INTRODUCCIÓN

El injerto de *V. vinifera* sobre portainjertos americanos permitió la continuidad de la viticultura después la introducción de la filoxera en Europa (Tedesco et al., 2022). Sin embargo, el injerto entre diferentes genotipos de cultivares y portainjertos implica complejos mecanismos fisiológicos, bioquímicos y moleculares que afectan la formación del injerto, la compatibilidad y el rendimiento de la vid, que aún no son bien entendidos por la comunidad científica (Rasool et al., 2020). En este trabajo, el principal objetivo fue comprender qué cambios metabólicos se producen en las hojas de seis cultivares de *V. vinifera* al injertar con dos portainjertos americanos. En particular, se investigaron los cambios metabólicos que diferencian homo y heteroinjertos y combinaciones de injerto con distinto grado de compatibilidad, así como los cambios en las hojas de *V. vinifera* debido a la interacción con distintos patrones.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se ha llevado a cabo con dos portainjertos americanos: ‘Richter-110’ (110R, *V. berlandieri* × *V. rupestris*) y *V. rupestris* (RUP) y seis cultivares de *V. vinifera*: cv. ‘Syrah’, clones 383 y 470 (SY383 y SY470, clones ENTAV-INRA/FR), cv. ‘Touriga National’, clones 21 y 112 (Clones TN21 y TN112, ISA/PT y JBP/PT, respectivamente), cv. Alfrocheiro (ALF) y *V. vinifera* subsp. *Silvestris* (SYLV). Las plantas utilizadas se certificaron libres de virus. Diferentes estudios han descrito problemas de incompatibilidad de injerto para el cv. SY383 injertado en 110R (SY383/110R) (Renault-Spilmont et al., 2005) y para TN112/110R (Assunção et al., 2019). Se realizaron combinaciones de homo- y heteroinjertos entre estas plantas usando la técnica de injerto en omega en un contexto de vivero y se mantuvieron en un invernadero hasta que se recolectaron las hojas (5 repeticiones biológicas, siendo cada repetición un grupo de 5 plantas) entre 5 y 6 meses después del injerto. Después de la extracción y derivatización de metabolitos polares, las muestras fueron analizadas por GC-EI-TOF/MS para identificar los perfiles de metabolitos, siguiendo los protocolos descritos en Tedesco et al. 2021. La anotación de metabolitos se realizó mediante coincidencia entre el espectro de masas y el índice de retención, y el análisis estadístico de todas las masas anotadas se realizó en R utilizando el paquete MetaboAnalyst R. Los datos obtenidos se analizaron mediante análisis ANOVA unidireccional y el test de Tukey (diferencias significativas a $p < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados mostraron 23 metabolitos consistentes y significativamente diferentes entre hojas de combinaciones de homo- y heteroinjertos (Fig. 1). Los homoinjertos revelaron un aumento de azúcares como disacáridos, carbohidratos y azúcares conjugados y de algunos compuestos relacionados con los ácidos carboxílicos, como un conjugado de ácido propanodioico, ácido butano(di)oico y ésteres carboxílicos en comparación con los heteroinjertos. En los heteroinjertos, varios ácidos, incluidos los ácidos carboxílicos, como el ácido butanodioico y los compuestos fenólicos como la epigalocatequina/galocatequina, el ácido benzoico hidroxilo y el ácido shikímico aumentaron en comparación con los homoinjertos (Fig. 1). Este estudio confirma que la presencia de dos genotipos diferentes formando una combinación de heteroinjerto induce una respuesta relacionada con la defensa, no solo en la zona del injerto como se describe en estudios previos (Cookson et al., 2014), sino también en las hojas de la variedad. En cuanto a las diferencias encontradas al comparar



cloness más y menos compatibles al injerto de ‘Touriga Nacional’, se detectó un aumento de aminoácidos en las hojas de la combinación más compatible (Fig. 2), sugiriendo un mejor aprovechamiento o una mayor translocación de nitrógeno por encima de la unión del injerto. Por el contrario, en la combinación de ‘Syrah’ menos compatible (SY383/110R), diferentes metabolitos secundarios (ácido hidroxifenilpirúvico, ácido propanoico, conjugado), posiblemente involucrados en el metabolismo de los fenoles, aumentaron en comparación con la combinación más compatible (Fig. 2), lo que podría indicar una respuesta relacionada con la defensa (Tedesco et al. 2021). Las diferencias en los perfiles metabólicos no fueron comunes en las dos combinaciones más (o en las dos menos) compatibles entre los cultivares ‘Touriga Nacional’ y ‘Syrah’, confirmando que la incompatibilidad surge de reacciones específicas de patrón-variedad que no son generalizables (Gainza et al., 2015). Asimismo, se detectó un número relativamente alto de cambios consistentes en las hojas que dependían del patrón, por lo que las hojas parecen ser un buen tejido para buscar marcadores metabólicos de la interacción patrón-variedad. Estudios previos pusieron de manifiesto que el uso de distintos patrones inducen diferentes estrategias de defensa en las hojas de vid, y se sospecha que están involucrados en el fenómeno de ‘priming’, en el que la planta se encuentra en un estado persistente de mayor preparación para la defensa (Chitarra et al., 2017). Sin embargo, queda por demostrar si las respuestas relacionadas con la defensa inducidas en las variedades por el patrón mejoran la tolerancia al estrés o si estas respuestas de defensa responden directamente a la percepción de un genotipo de injerto diferente (o a su bioma).

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por la Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT), número de subvención PD/BD/128399/2017 y por el Gobierno de Aragón—Fondo Social Europeo, Unión Europea (Grupo Consolidado A12).

REFERENCIAS

- Assunção, M., Santos, C., Brazão, J., Eiras-Dias, J.E., Fevereiro, P., 2019. Understanding the molecular mechanisms underlying graft success in grapevine. *BMC Plant Biol.* 19, 1–17.
- Chitarra, W., Perrone, I., Avanzato, C.G., Minio, A., Boccacci, P., Santini, D., Gilardi, G., Siciliano, I., Gullino, M.L., Delledonne, M., Mannini, F., Gambino, G., 2017. Grapevine Grafting: Scion Transcript Profiling and Defense-Related Metabolites Induced by Rootstocks. *Front. Plant Sci.* 8, 654.
- Cookson, S.J., Clemente Moreno, M.J., Hevin, C., Nyamba Mendome, L.Z., Delrot, S., Magnin, N., Trossat-Magnin, C., Ollat, N., 2014. Heterografting with nonself rootstocks induces genes involved in stress responses at the graft interface when compared with autografted controls. *J. Exp. Bot.* 65, 2473–2481.
- Gainza, F., Opazo, I., Muñoz, C., 2015. Graft incompatibility in plants: Metabolic changes during formation and establishment of the rootstock/scion union with emphasis on *Prunus* species. *Chil. J. Agric. Res.* 75, 28–34.
- Rasool, A., Mansoor, S., Bhat, K.M., Hassan, G.I., Baba, T.R., Alyemeni, M.N., Alsahli, A.A., El-Serehy, H.A., Paray, B.A., Ahmad, P., 2020. Mechanisms Underlying Graft Union Formation and Rootstock Scion Interaction in Horticultural Plants. *Front. Plant Sci.* 11.
- Renault-Spilmont, A.S.; Grenan, S.; Boursiquot, J.M., 2005. Syrah decline. *Progrés Agric. Vitic.* 122, 15–16.
- Tedesco, S., Erban, A., Gupta, S., Kopka, J., Fevereiro, P., Kragler, F., Pina, A. The Impact



of Metabolic Scion-Rootstock Interactions in Different Grapevine Tissues and Phloem Exudates. *Metabolites*. 11(6):349.

Tedesco, S., Fevereiro, P., Kragler, F., Pina, A., 2022. Plant grafting and graft incompatibility: A review from the grapevine perspective. *Sci. Hortic.* 299, 111019.

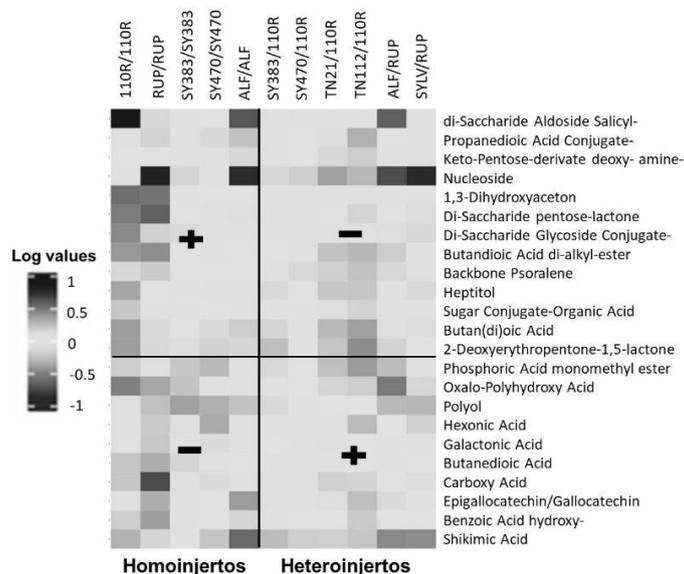


Fig. 1. ‘Heatmap’ representando homo- versus heteroinjertos en las hojas 5-6 meses después el injerto. Metabolitos que aumentaron (+) o disminuyeron (-) significativamente en al menos el 80 % de las combinaciones de homoinjertos y menos del 20 % de los heteroinjertos a $p < 0,05$ según la prueba *post-hoc* de Tukey. Se indican los valores medios transformados (\log_{10}) por combinación de injerto.

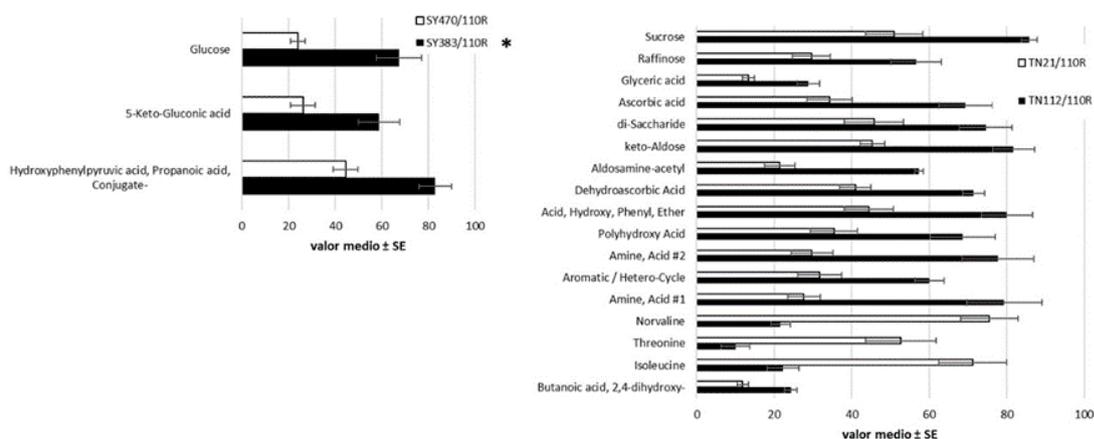


Fig. 2. Metabolitos significativamente diferentes a $p < 0,05$ según la prueba *post-hoc* de Tukey en las hojas entre combinaciones más y menos (*) compatibles. Gráficos de barras del valor medio \pm error estándar (SE).

