

## POLIAMINAS Y TOLERANCIA AL ALUMINIO EN VARIEDADES TOLERANTES Y SENSIBLES DE *Zea mays*

En suelos ácidos, la toxicidad por Al es un importante factor limitante de la productividad vegetal. Las poliaminas son conocidas desde hace muchos años pero sólo últimamente se les han atribuido funciones específicas. Algunas de estas funciones podrían estar involucradas en los mecanismos de tolerancia a la toxicidad por Al. Los niveles de poliaminas libres y ligadas muestran diferentes respuestas cuando las plantas son sometidas a estrés por Al y las ratios entre las diferentes poliaminas pueden ser útiles como bioindicadores de condiciones adversas de crecimiento de las plantas. Las poliaminas son policationes que mediante uniones a pared celular, membrana, proteínas y ácidos nucleicos podrían competir con los lugares de unión del Al y reducir sus efectos tóxicos. Para comprobar estas hipótesis, cinco variedades de *Zea mays*, tolerantes o sensibles al Al, fueron elegidas a fin de conocer las diferentes interacciones entre los daños por Al y los niveles de poliaminas de las distintas fracciones. Se han estudiado los niveles preexistentes en los controles o sintetizadas *de novo* frente a la toxicidad por Al. Como la toxicidad por Al sólo se da en substratos ácidos, los efectos del pH bajo también han sido estudiados.

Las dos variedades tolerantes estudiadas (ADOUR250 y BR201M), presentaban niveles más altos de poliaminas libres en los controles que las variedades sensibles. Las cuatro poliaminas estudiadas (Spm, Spd, Put y Dap) se situaban en niveles semejantes y los tratamientos con pH ácido o Al no producían aumentos significativos.

Las poliaminas libres de las variedades sensibles (HS7777, HS701B y BR201F) son bajas en los controles pero aumentan significativamente con pH ácido o Al, siendo Put y Dap los que presentan mayor respuesta.

Los niveles preexistentes de poliaminas ligadas a las diferentes macromoléculas, en las variedades tolerantes estudiadas son altos, mientras que en las variedades sensibles son casi inexistentes y en los tratamientos con pH ácido o Al nunca alcanzan valores significativos como para reducir estos efectos.

A dos variedades, una sensible (HS7777) y otra tolerante (ADOUR250) se les extrajo el DNA y una vez cuantificado se sometió a una hidrólisis enzimática con DNAsa para liberar las poliaminas unidas a él. Los resultados muestran que la variedad

tolerante parece tener su DNA mejor protegido por poliaminas que la sensible ya que presenta valores muy superiores de Spm ligada a DNA que la sensible.

Algunas de las bandas formadas durante la separación de las poliaminas por HPTLC fueron rascadas, purificadas y sometidas a la determinación de su peso molecular por electrospray. Este nuevo método fue útil en todas las poliaminas estudiadas y abre nuevas puertas para el estudio de otras sustancias dansiladas entre ellas posibles poliaminas “no comunes”.

Como conclusión, los niveles de poliaminas y su metabolismo parecen estar relacionados con la tolerancia o sensibilidad al Al.

## POLIAMINES AND ALUMINIUM TOLERANCE IN TOLERANT AND SENSITIVE CULTIVARS OF *Zea mays*

In acid soils, Al toxicity is an important plant growth limiting factor. Polyamines have been known for many years but just recently specific functions have been attributed to them, some of them could be involved in the tolerance mechanisms to Al toxicity. Bound and free polyamine levels show different responses when plants are submitted to Al stress, and the ratios between the different polyamines can be useful as bioindicators of adverse plant growth conditions. Polyamines are polycations and by binding cell walls, membranes, proteins and nucleic acids may reduce binding of Al and decrease their toxic effects. To test this hypothesis, five *Zea mays* cultivars, tolerant or sensitive to Al, were chosen in order to determine the different interaction between Al damage and polyamine fraction levels, both existing in non treated plants and synthesised in front of Al toxicity. As Al toxicity only occurs in acid substratum, the effects of low pH has also been studied.

The two tolerant cultivars studied (ADOUR250 and BR201M) show levels of free polyamines more high in controls than sensitive cultivars. Four studied polyamines (Spm, Spd, Put y Dap) were of similar level. The results found that the treatments with acid pH or Al did not produce significant increases.

Free polyamines of sensitive cultivars studied (HS7777, HS701B and BR201F) are low in controls but have significant increases with acid pH or Al. In this case Put and Dap are the polyamines that have been increased at a high rate.

Pre-existent levels of bound polyamines to different macromolecules in tolerant cultivars studied are high, while in sensitive cultivars they are almost non-existent. In the treatments with acid pH or Al they never reach significant levels to reduce these effects.

We have chosen two cultivars, one sensitive (HS7777) and other tolerant (ADOUR250). We extract the DNA and after quantification we subject it to enzymatic hydrolysis with DNase to free-up polyamines bound to them.

The results show that the DNA of tolerant cultivar seems to be better protected by polyamines than the sensitive. The reason for this is because the tolerant cultivar has higher levels of bound Spm to DNA than the sensitive.

Some of the bands formed during separation of dansyl polyamines by HPTLC were scraped, purified and subjected to molecular weight determination by electrospray. In this study of eight dansylated polyamines, the determination of molecular weight by the electrospray has been very successful. For this reason, there are many future possibilities for further research, in particular studies of non-common polyamines

In conclusion, there seems to be a common pattern arising. The polyamine levels and their metabolism seem to be related with the tolerance or sensitivity of AI. A possible reason for this could be the binding of polyamines with DNA.