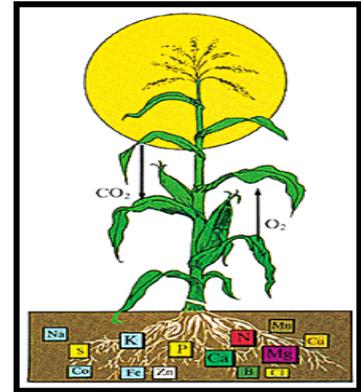


Trabajo Práctico Nº 6
Nutrición mineral en vegetales

Introducción:

Los tejidos vegetales están constituidos por sustancias sólidas y agua. Si un trozo de material vegetal fresco se seca en una estufa a 105 °C durante 24 hs., el material seco resultante constituiría entre el 5 al 90% del peso fresco inicial. La magnitud del peso seco dependerá de la especie vegetal considerada, del estado de madurez o del órgano de que se trate. Entre el 90-95% de este residuo seco constituye la fracción orgánica e incluye compuestos tales como azúcares simples (glucosa, fructosa, sacarosa), hidratos de carbono de alto peso molecular (fundamentalmente almidón y celulosa), lípidos, proteínas, ácidos orgánicos, pigmentos, vitaminas, etc. El resto del material seco constituye lo que denominamos el contenido mineral de la planta y que es obtenido del suelo. Esta fracción de elementos inorgánicos se encuentra formando sales, combinada con radicales orgánicos o formando parte de estructuras más complejas.



Sometiendo la planta a temperaturas más drásticas (1200°C: a mufla), la materia orgánica se descompone y se transforma en CO₂, H₂O y N. Las cenizas resultantes están constituidas por elementos inorgánicos. Algunos de estos elementos químicos serán esenciales para la vida del vegetal, mientras que otros no lo serán.

Es importante dejar bien claro cuáles son los criterios que nos permiten distinguir entre elementos **esenciales y no esenciales**.

- Cuando en ausencia de un elemento determinado, la planta no puede completar su ciclo biológico (ejemplo: formar semillas viables).
- Cuando la acción de un elemento no puede ser sustituida por otro, por ejemplo N en proteínas y Mg en clorofila.

Los elementos esenciales pueden a su vez subdividirse en **macronutrientes y micronutrientes**, según que sean requeridos por los vegetales en grandes o pequeñas cantidades.

No se considera esencial aquel elemento mineral que no puede generalizarse para la mayoría de las plantas superiores. Son ejemplo de ello el requerimiento de **Na** para algunas especies de ambientes desérticos como *Atriplex vesicaria* o de **Si** para las gramíneas.

El principal medio mineral de las plantas es el suelo; sin embargo, es un medio muy heterogéneo constituido por una fase sólida, una líquida y una gaseosa. **La fase gaseosa** aporta el oxígeno necesario, la **fase sólida** como reservorio de elementos minerales. Las partículas del suelo, orgánicas o inorgánicas, poseen carga negativa, lo que posibilita la adsorción de cationes sobre su superficie, que si bien no se remueven con facilidad, pueden ser intercambiados por otros cationes con mayor o menor intensidad (capacidad de intercambio catiónico de un suelo). Los aniones, que son repelidos por las micelas del suelo, permanecen en solución por lo cual son

susceptibles del lavado por los movimientos del agua (lixiviación), salvo en los casos en que puedan ligarse con partículas que contengan cationes como Al^{+3} o Fe^{+2} . La **fase líquida** constituye la fase salina involucrada directamente en la absorción al nivel de raíces.

El pH de la solución afecta el crecimiento de las raíces que se ve favorecido por valores levemente ácidos (5,5-6,5) y determina la disponibilidad de nutrientes de la planta. Por ejemplo a valores de pH mayores de 5 el Fe^{+3} (y otros cationes) precipita como óxido metálico insoluble al unirse a iones hidroxilo. Por lo tanto, si se quiere realizar algún tipo de estudio sobre nutrición mineral, se utilizan soluciones nutritivas que representan un excelente medio para regular la cantidad y proporción relativa de sales minerales y se contempla la incorporación de agentes quelantes que mantienen en solución a dichos iones. Un quelato común es el EDTA o ácido etilendiaminotetraacético.

Elementos esenciales y concentraciones adecuadas en la planta

| <i>Elemento</i> | <i>Forma utilizable</i> | <i>Concentraciones % de tejido seco</i> |
|-----------------|---|---|
| Hidrógeno (H) | H_2O | 6 |
| Carbono (C) | CO_2 | 45 |
| Oxígeno (O) | $\text{O}_2 - \text{H}_2\text{O}$ | 45 |
| Nitrógeno (N) | $\text{NO}_3^- - \text{NH}_4^+$ | 1,5 |
| Potasio (K) | K^+ | 1,5 |
| Calcio (Ca) | Ca^{2+} | 0,5 |
| Magnesio (Mg) | Mg^{2+} | 0,2 |
| Fósforo (P) | $\text{H}_2\text{PO}_4^- - \text{HPO}_4^{=}$ | 0,2 |
| Azufre (S) | $\text{SO}_4^{=}$ | 0,1 |
| Cloro (Cl) | Cl^- | 0,01 |
| Hierro (Fe) | $\text{Fe}^{2+} - \text{Fe}^{3+}$ | 0,01 |
| Zinc (Zn) | Zn^{2+} | 0,002 |
| Boro (B) | $\text{BO}_3^{3-} - \text{B}_4\text{O}_7^{=}$ | 0,002 |
| Manganeso (Mn) | Mn^{2+} | 0,005 |
| Cobre (Cu) | $\text{Cu}^{2+} - \text{Cu}^+$ | 0,0006 |
| Molibdeno (Mo) | $\text{MoO}_4^{=}$ | 0,00001 |

Los requerimientos de cada nutriente por la planta difieren en cuanto a la concentración. Asimismo, la posibilidad de asimilarlo esta condicionado a la forma química en que se encuentre en la solución en el suelo de acuerdo al cuadro anterior. Algunos se incorporan siempre en forma de cationes (potasio, calcio, magnesio) y otros normalmente como aniones (fósforo, azufre, cobre).

Los primeros nueve elementos (C, H, O, N, P, S, Ca, Mg, K) se consideran MACRONUTRIENTES y son requeridos en concentraciones del orden de los 1000 mg/kg de materia seca o g/l de solución nutritiva. Los últimos elementos se denominan MICRONUTRIENTES: son necesarios en concentraciones del orden de los 100 mg/kg de materia seca de tejido o partes por millón (1 mg/kg o 1 mg/l= 1 ppm).

Llamamos **síntoma de deficiencia** a las anomalías morfológicas externas y/o internas que presenta el vegetal con déficit de algún nutriente. Las zonas apicales serán las primeras en

manifestar deficiencia en el caso de **nutrientes con baja movilidad**. (Ej.: Ca, Fe, B). Lo contrario ocurre cuando el elemento es **móvil** (Ej. N, P, K) y éste puede trasladarse hacia el ápice al ser removilizado de los órganos más viejos, mostrando éstos los síntomas de deficiencia; por constituir los tejidos jóvenes destinos tanto de fotoasimilados como de nutrientes.

El reconocimiento de los síntomas característicos de deficiencia para cada elemento constituye la base del **método de Diagnóstico Visual** (se adjunta al final).

Distintas técnicas y equipos permiten medir la concentración de los elementos en plantas (análisis químicos foliares), suelos y soluciones nutritivas:

- a) Estudio de cenizas
- b) Capacidad de las plantas de crecer en soluciones con diferentes sales
- c) Espectrómetros de absorción atómica en la modalidad de absorción de llama.

Cuando se dispone de todos los instrumentos, la elección dependerá de los factores de calidad relativa de los instrumentos, precisión y sensibilidad requeridas, número de muestras, facilidad relativa de uso del instrumento.

Esquema resumido de los síntomas a observar para cada deficiencia.

1- Síntomas en hojas viejas (elementos móviles)

1a. Efectos generalizados:

Plantas enanas:

- ♦ Color verde claro.....**Nitrógeno**
- ♦ Color verde oscuro, con pecíolos y nervaduras rojizas o violetas.....**Fósforo**

1b. Efectos localizados:

- ♦ Moteado clorótico, con necrosis en puntas y márgenes de hojas.....**Potasio**
- ♦ Clorosis internerval, puntas y márgenes de hojas no necrosadas.....**Magnesio**

2- Síntomas en hojas jóvenes (elementos poco móviles)

2a. El brote terminal muere:

- ♦ Necrosis en puntas y márgenes del brote terminal.....**Calcio**
- ♦ Necrosis en la base del brote terminal.....**Boro**

2b. El brote terminal no muere:

- ♦ Láminas cloróticas, con manchas necróticas en brote terminal y en nervaduras verdes.....**Manganeso**
- ♦ Láminas cloróticas sin necrosis en el brote:
 - ♦ nervaduras verdes.....**Hierro**
 - ♦ nervaduras cloróticas.....**Azufre**

Necrosis: tejido muerto, de color marrón

Clorosis: amarillamiento por falta de clorofila

Objetivo:

Identificar, por observación, los síntomas de deficiencia en plantas de los principales nutrientes minerales.

Metodología:

Materiales:

Medio de cultivo de MURASHIGE Y SKOOG

Macronutrientes: **(A)** NH_4NO_3165 gr/l
(B) NO_3K190 gr/l
(C) $\text{Cl}_2\text{Ca} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$44 gr/l
(D) $\text{SO}_4\text{Mg} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$37 gr/l
(E) PO_4KH_217 gr/l

De cada solución madre colocar 10 ml por litro de solución nutritiva

Micronutrientes: (F)

| | |
|---|-------------|
| BO_3H_3 | 0,62 gr/l |
| $\text{SO}_4\text{Mn} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 2,23 gr/l |
| $\text{SO}_4\text{Zn} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0,86 gr/l |
| KI..... | 0,083 gr/l |
| $\text{MoO}_4\text{Na} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 0,025 gr/l |
| $\text{SO}_4\text{Cu} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 0,0025 gr/l |
| $\text{Cl}_2\text{Co} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | 0,0025 gr/l |

Se prepara la solución y del total se toma 1 ml para preparar 1 lt de solución nutritiva

Stock de Fe: (G)

| | |
|--|-----------|
| $\text{SO}_4\text{Fe} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 5,57 gr/l |
| EDTA Na..... | 7,45 gr/l |

Se prepara la solución y del total se toman 5 ml para preparar 1l de solución nutritiva .

Tiamina 0,4 g/l. Se toma 1 ml para preparar 1 l de medio.

Se pesan (x l de medio): **sacarosa** 30 g; **Myoinositol**: 0,1 g; **Agar**: 6-7 g.

Agua destilada estéril 250 ml; 25 tubos de ensayo; Tapones de algodón estériles

***Alcohol ***

Vaso de precipitado; Cajas de Petri estériles; Gradillas

Plantas de papa (*Solanum tuberosum*) micropropagadas

***Pinza y bisturí estériles** (dejar al menos 24 hs en la estufa a 100 °C)

Procedimiento:

Preparar el medio de cultivo, distribuir en tubos de ensayo estériles variando la formulación del mismo según el diseño que sigue (100 ml de c/u), cerrar con tapones de algodón estériles y llevar a autoclave (1 atm. durante 20 minutos).

| Soluciones nutritivas | Tubos |
|------------------------------|--------------|
| Completa | 5 |
| Sin N | 5 |
| Sin K | 5 |
| Sin Ca | 5 |
| Sin P | 5 |

- En condiciones de esterilidad sacar las plántulas micropropagadas del tubo. Seccionar la raíz.
- Cortar esquejes uninodales (con una hoja y una yema axilar) y con la pinza estéril introducir en el tubo con medio fresco.
- Etiquetar los tubos sembrados indicando: *fecha-variedad-variación nutriente*,
- Ubicar en gradillas y llevar a cámara de cultivo.
- Registrar condiciones de cultivo e incorporar al informe: intensidad lumínica, fotoperíodo, temperatura

Resultados:

A los 20 o 30 días registrar los datos en la planilla que se adjunta. Incorporar cuadros y /o gráficos.

Discusión y conclusiones:

Contrastar los resultados obtenidos con los datos de la bibliografía y de las tablas adjuntas sobre la función de los elementos esenciales en la planta y los principales síntomas que provoca la deficiencia de cada nutriente analizado (se adjunta planilla).

BIBLIOGRAFÍA:

- Barceló Coll, J. Fisiología Vegetal. 1983. Ed. Piramide.
- Fernandez,G.; Johnston, M. 1986. Fisiología Vegetal Experimental. I I C A. San José de Costa Rica.
- **Interesante:** <http://www.mcef.ep.usp.br/carnivoras/>

MACRONUTRIENTES

| ELEMENTO | CAPTACIÓN COMO | PRINCIPALES FUNCIONES | MOVILIDAD | PRINCIPALES SÍNTOMAS DE DEFICIENCIA |
|-----------|---|---|-----------|--|
| NITRÓGENO | NO ₃ ⁻ NH ₄ ⁺ Urea | Forma parte de la estructura molecular de las proteínas y de otros compuestos fundamentales para el metabolismo como: -clorofilas (fotosíntesis) -enzimas -proteínas- del grupo de citocromos (respiración y fotosíntesis) -ácidos nucleicos: ADN y ARN (esenciales para la síntesis de proteínas) | Muy móvil | <u>COLOROSIS</u> (amarillamiento), debida a la disminución del contenido de clorofila. Se manifiesta primero en hojas maduras. <u>PLANTAS DÉBILES</u> , raquíticas, de hojas pequeñas, por estar involucrado en procesos vitales afecta el crecimiento. Caída prematura de hojas. |
| FÓSFORO | PO ₄ H ⁻² PO ₄ H ⁻² PO ₄ ⁻³ | Forma parte de la estructura molecular de: -ATP (metabolismo energético) -Ácidos nucleicos: ADN y ARN -Fosfolípidos (membrana) -Coenzimas: NAD y NADP | Muy móvil | Las plantas generalmente presentan <u>COLOR VERDE OSCURO O AZUL VERDOSO</u> . Plantas herbáceas, coloración rojiza en la base de los tallos y nervaduras. Retraso en los procesos reproductivos (retraso en la floración). |
| POTASIO | K ⁺ | No forma parte de moléculas orgánicas. Cumple funciones de regulación y catálisis: -activador de muchas enzimas (fundamentalmente de la respiración) -interviene en la síntesis de proteínas. -actúa en el mecanismo de apertura y cierre estomático. | Móvil | <u>TÍPICA CLOROSIS MOTEADA DE LAS HOJAS</u> , seguida del desarrollo de zonas necróticas en los bordes y puntas. Antes del moteado las hojas pueden tomar un brillo metálico (bronceado) y luego curvarse hacia abajo y enrollarse hacia adentro. Acortamiento de entrenudos, forma achaparrada. |
| MAGNESIO | Mg ⁺² | Forma parte de la molécula de clorofila (fotosíntesis). Activador del metabolismo glucídico. | Móvil | Rigidez, clorosis internervales que comienzan por zonas adultas. Pigmentación antociánica. Necrosis. |

| | | | | |
|--------|---|--|------------------------|--|
| AZUFRE | SO ₄ ⁻² SO ₂ de la atmósfera | <p>Forma parte de la estructura de:</p> <ul style="list-style-type: none"> -proteínas con aminoácidos azufrados (cistina, cisterna, metionina) -grupos -SH (como centros activos de enzimas) -puente S-S (importantes en la estructura protéica) -Coenzima A -Vitaminas: biotina, tiamina. | Relativamente móvil | Muy semejante al nitrógeno, pero el amarillamiento comienza por las hojas más jóvenes. (es relativamente móvil). |
| CALCIO | Ca ⁺² | <p>Actúa en el mantenimiento de la integridad celular:</p> <ul style="list-style-type: none"> -permeabilidad de Ca (paredes celulares y laminilla media) -permeabilidad de membranas <p>Interviene en la regulación del pH celular (oxalato de Ca)</p> <p>Activa en forma específica a la amilasa (hidrólisis del almidón)</p> | Inmóvil | <p><u>MUERTE DE LOS PUNTOS APICALES EN CRECIMIENTO</u>, exceso de brotes laterales, cuyos puntos de crecimiento mueren en breve plazo.</p> <p><u>RAÍCES MUY AFECTADAS, GENERALMENTE AMARRONADAS.</u></p> <p>Deformación de hojas jóvenes que hace que las puntas se doblen hacia abajo.</p> <p>Clorosis marginal de hojas jóvenes que pueden necrosar.</p> |

MICRONUTRIENTES

| ELEMENTO | CAPTACIÓN COMO | PRINCIPALES FUNCIONES | MOVILIDAD | PRINCIPALES SÍNTOMAS DE DEFICIENCIA |
|-----------|---|--|-----------|---|
| HIERRO | Fe ²⁺ Quelatos de Fe | Forma parte de las moléculas de: -citocromos (fotosíntesis y respiración) -ferredoxina (fotosíntesis y reducción de NO ₃ ⁻) Es activador esencial de enzimas que intervienen en la síntesis de proteínas. Es activador esencial de una o más enzimas que intervienen en la síntesis de clorofila. | Inmóvil | <u>COLORACIÓN INTERNODAL EN HOJAS JÓVENES</u> , semejante al magnesio pero en hojas jóvenes. Inhibición de la producción de primordios de hojas. |
| BORO | BO ₃ H ⁻² BO ₃ H ⁻ | Transporte de hidratos de carbono | Inmóvil | Necrosis meristemáticas |
| MANGANESO | Mn ²⁺ Quelatos de Mn | Activador enzimático de la respiración. Coopera con el Fe en la síntesis de proteínas. | Inmóvil | Manchas cloróticas y necróticas en las zonas internodales. Inhibición del crecimiento. |
| MOLIBDENO | MoO ₄ ⁻² | Esencial para la fijación de N y asimilación de NO ₃ ⁻ Activador de la nitrato reductasa. | Inmóvil | |
| ZINC | Zn ²⁺ Quelatos de Zn | ecesario en la síntesis de triptofano (aminoácido precursor de las auxinas) | Inmóvil | |
| COBRE | Cu ²⁺ Quelatos de Cu | Componente de enzimas metálicas (ej. plastocianina) Aceptor de electrones en la oxidación de sustratos. | Inmóvil | |
| CLORO | Cl ⁻ | Interviene en la fotólisis del agua. | Inmóvil | |