

FISIOLOGIA VEGETAL

INTRODUCCION AL CURSO

Durante la década de los '80 las Ciencias Biológicas experimentaron un período de progreso sin precedentes. En particular, las innovaciones tales como el patch-clamp que está mostrando los misterios del transporte de membrana. Las técnicas de ADN-recombinante están dando nuevas informaciones para el entendimiento de cómo la luz y las hormonas regulan la expresión génica y el desarrollo. El análisis cristalográfico por rayos x es clave en el estudio de proteínas y complejos de proteínas-pigmento tales como la Rubisco y el centro fotosintético de reacción. Nosotros trataremos de proveerlos de una buena base en los tópicos tradicionales de la fisiología vegetal y también les presentaremos los principales conceptos en el contexto de la biología contemporánea.

Es útil ubicar el lugar e interfase del campo de la fisiología Vegetal, reconociendo que hay un gran solapamiento entre disciplinas relacionadas.

Qué es la Fisiología Vegetal

Podemos definirla ampliamente como el estudio de la función vegetal que acompaña a los procesos dinámicos del crecimiento, metabolismo y reproducción de las plantas.

En qué difiere la Fisiología Vegetal de las disciplinas cercanas como la bioquímica, biofísica y biología molecular?

Se puede explicar considerando el proceso de fotosíntesis:

- Los **bioquímicos** purifican las enzimas fotosintéticas y determinan las propiedades espectroscópicas en cubetas.
- Los **biólogos moleculares** clonan los genes que codifican las proteínas fotosintéticas y estudian la regulación durante el desarrollo.
- Pero los **fisiólogos vegetales** estudian la fotosíntesis en acción a diferentes niveles de organización, incluyendo el cloroplasto, la célula, la hoja y la planta entera.

Visto de otro modo, los bioquímicos, biofísicos y biólogos moleculares estudian los componentes celulares más o menos en estado de aislamiento, mientras que los fisiólogos vegetales investigan la manera en la cual los componentes interactúan entre ellos para llevar a cabo procesos biológicos y funciones. Por supuesto, los fisiólogos vegetales frecuentemente usan los instrumentos de la bioquímica, biofísica, y de la biología molecular y los especialistas de otras disciplinas conducen también experimentos fisiológicos. Ocurre que todas estas disciplinas forman un continuo de manera que los límites entre ellos están definidos algo arbitrariamente.

El énfasis actual en la biología molecular y otros recursos de la biotecnología se basa en particular en las aplicaciones potenciales de la ingeniería genética y otros procesos biotecnológicos para un mejoramiento de los cultivos. Pero, significa ello que la fisiología vegetal no es más una disciplina central en las ciencias vegetales? No es así. El entendimiento enriquecido de la regulación génica, por ejemplo, generará una cantidad de nuevas preguntas concernientes a la función vegetal.

Leyes físicas

Los organismos vivos, incluyendo a las plantas verdes, son gobernados por las mismas leyes del flujo de energía que se aplica en cualquier parte del universo. Estas leyes del flujo de energía han sido encasilladas en las leyes de la termodinámica.

La energía es definida como la capacidad de realizar trabajo, el cual puede ser mecánico, eléctrico, osmótico o químico.

La **primera ley de la termodinámica establece el principio de conservación de la energía**: La energía puede convertirse de una forma a otra, pero el total de energía del universo permanece constante.

La **segunda ley de la termodinámica establece la dirección de un proceso espontáneo**. Un proceso espontáneo es el que resulta en un incremento neto en la entropía total, o desorden, del sistema más su medio ambiente. Los procesos que involucran transferencia de calor, tal como el enfriamiento producido por evaporación de agua desde las hojas, se describen en términos de cambio en el contenido calórico o cambio en **entalpía**, definido como la cantidad de energía que evoluciona -cedida o absorbida- como calor a presión constante.

$$Q_p = \Delta H$$

Desde un punto de vista del equilibrio termodinámico cada sistema tiene una cantidad intrínseca de energía a una dada temperatura llamada **energía interna E** y, si ocurre algún cambio en el estado del sistema entonces el cambio de energía esta dado por:

$$\Delta E = E_f - E_i$$

E_f : energía interna final

E_i : energía interna inicial

Si las condiciones son para presión y temperatura constantes, entonces algo de energía será ganada o perdida por el medio ambiente. Si en tal cambio no ha habido otro trabajo que no fuera uno de expansión, entonces el cambio entálpico está dado por:

$$\Delta E = Q - W \quad \text{ó} \quad Q = \Delta H = \Delta E + W = \Delta E + P\Delta V$$

con ΔV , cambio de volumen en el sistema.
En bioquímica $\Delta V \sim 0$, luego $\Delta H = \Delta E$

Para la mayoría de los cambios de estado bioquímicos, el término **P x V** es despreciable y el cambio entálpico es usado para hacer un trabajo útil. Pero la pregunta es: todo ese calor está disponible? NO! Sólo una parte, pues una cierta cantidad de energía es consumida por el sistema mismo durante el cambio de estado. La cantidad no útil es función del cambio de entropía (ΔS) que acompaña la evolución termodinámica. El **trabajo útil** está dado por el **cambio** en la función **energía libre ΔG** .

$$\Delta G \neq \Delta H \quad \Delta G = \Delta H - X, \quad X = T\Delta S$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

$$\Delta G = \Delta E + P\Delta V - T\Delta S$$

$$G = E + PV - TS$$

El cambio en energía libre es un parámetro conveniente para determinar la dirección de procesos espontáneos en sistemas físicos, químicos o biológicos sin hacer referencia a su entorno. A temperatura y presión constantes, el valor de ΔG es negativo para todos los procesos espontáneos. El cambio de energía libre estándar ΔG° de una reacción es el cambio de energía libre cuando todos los reactantes y productos están en una concentración 1 M. En bioquímica es usual usar el valor $\Delta G^\circ'$ que es ΔG° a pH 7. El valor presente de ΔG de una reacción es función de su desplazamiento del equilibrio. A mayor desplazamiento del equilibrio, mayor será el trabajo que se hará. Los seres vivos han evolucionado para mantener sus reacciones bioquímicas tan lejos del equilibrio como sea posible.

El establecimiento de gradientes iónicos a través de membranas es un aspecto del trabajo llevado a cabo por los seres vivos. El **potencial de membrana** es una medida del trabajo requerido para transportar un ión a través de una membrana. La diferencia de potencial electroquímico incluye potenciales de concentración y eléctrico.

El transporte a través de membranas está mejor descrito por el **potencial agua**, el cual es el potencial químico del agua expresado en unidades de presión.

$$\Psi_w = \frac{\mu_w - \mu^\circ_w}{V_w}$$

μ_w , pot. qco. agua en el sistema
 μ°_w , " " " pura, situación de referencia
 V_w , volumen molar del agua

El agua es importante para la vida de las plantas porque constituye la matriz y el medio en el cual la mayoría de los procesos vitales ocurren. La estructura y propiedades del agua influyen fuertemente en las propiedades de proteínas, membranas, ácidos y otros constituyentes.

En la mayoría de las plantas terrestres el agua tomada del suelo es continuamente perdida a la atmósfera. El movimiento de agua ocurre por difusión, flujo masal, ósmosis o alguna combinación de estos mecanismos.

La **difusión** mueve agua de regiones de alta concentración de agua a regiones de baja concentración (ó alta concentración de solutos). Ocurre porque las moléculas están en constante agitación térmica, lo cual tiende a uniformar cualquier diferencia de concentración.

El **flujo en masa** ocurre en respuesta a diferencias de presión, siempre que exista un paso apropiado.

Osmosis es el proceso mediante el cual el agua atraviesa membranas (por difusión), y depende entonces del pot. agua. La concentración de soluto y la presión son los dos factores mayores que afectan el potencial agua, aunque la gravedad también es importante cuando se involucran grandes distancias verticales. Además de su importancia en la ósmosis, el potencial agua sirve como una medida del estado hídrico. La velocidad del transporte de agua depende de la magnitud de la fuerza impulsora y de la conductividad hidráulica del camino de transporte de agua. Para la difusión la conductividad hidráulica solo depende del coeficiente de difusión. Para el flujo masal son importantes la geometría del camino y la viscosidad. Para la ósmosis la permeabilidad de la membrana es importante. Difusión, flujo masal y ósmosis toman parte del movimiento del agua del suelo a través de la planta a la atmósfera.

El agua y las células vegetales

Por lejos el constituyente más abundante de las plantas es el agua. Típicamente constituye el 80-90% de la masa de los tejidos en crecimiento. Por ej. una zanahoria o lechuga contiene 85-95% de agua. Los leños que están compuestos de células muertas tienen un bajo contenido de agua. Las leñosas con un activo xilema contienen un 35-75% de agua. Las semillas de un 5-15%.

A diferencia de otras sustancias en la célula vegetal, una molécula de agua sólo tiene una residencia temporal. Las plantas continuamente absorben y pierden agua. En un día seco, tibio y soleado una hoja cambiará el 100% del agua en sólo una hora. Durante la vida de la planta, ésta perderá a través de la superficie foliar el agua equivalente a 100 veces la masa del vegetal. Este fenómeno es la **transpiración** y es importante para el enfriamiento de la planta. La absorción de agua por las raíces es un medio importante de llevar los minerales disueltos a la superficie radical para la absorción.

Además el agua tiene una extraordinaria capacidad para contener calor y su presencia asegura que las fluctuaciones de temperatura en las plantas ocurran bastante lentamente.

De todos los recursos que la planta necesita para crecer y funcionar, el agua es el más abundante y al mismo tiempo el más limitante para la productividad agrícola y la disponibilidad de agua también limita la productividad de ecosistemas naturales (gráficos a.1 y a.2), de manera que el entendimiento de la absorción y pérdida de agua por las plantas es de particular importancia.

En efecto, el hecho de que el agua es limitante es la razón para la práctica de la irrigación en cultivos.

AGUA

PROPIEDADES BIOFISICOQUIMICAS

Es conocido que es esencial para las reacciones bioquímicas enzimáticas controladas que ocurren en el protoplasma, que los compuestos que intervienen - metabolitos y enzimas - se encuentren bajo la forma de solución y dispersión acuosa, facilitándose la interacción.

Es más, el agua misma participa como un metabolito cuando entra en la reacción de fotólisis del agua de la fotosíntesis. El agua participa de la estructura protoplasmática en forma de agua de solvatación de agregados micelares tales como los de proteínas, proteínas enzimas, ácidos nucleicos, almidón y pectinas.

Por otro lado su presencia origina un sistema hidráulico. El agua es esencialmente incompresible a las presiones en que está en los tejidos. Además, provee un apoyo estructural a casi todas las partes de la planta que no están apoyadas por leño. De manera que los tallos herbáceos, las raíces jóvenes, hojas, partes florales, frutas y brotes tiernos deben su forma a la turgencia producida por el agua bajo presión en el interior de sus células. Esto se puede visualizar claramente toda vez que la planta está sometida a una excesiva pérdida de agua y se marchita.

Pero además de contribuir a la forma, también participa en el crecimiento vegetal. Como se verá más adelante, el crecimiento también depende de la turgencia celular, así como el movimiento de sueño de las hojas y el movimiento de apertura y cierre de los estomas.

Otro papel importante es el que desempeña en el transporte de sustancias en el interior de las plantas, cuando aquéllas difunden a través de membranas y paredes celulares saturadas con agua o cuando son movidas en flujo masal a través de los elementos del xilema y del floema y a través de otros tejidos.

El agua tiene altos valores de calor específico y calores de vaporización y fusión que tienden a estabilizar la temperatura de las plantas y animales, a través de la transpiración. En efecto, puede absorber grandes cantidades de calor con cambios en la temperatura que son relativamente pequeños.

Muchas de las propiedades del agua dependen de la estructura molecular de la misma y de las **uniones de puente hidrógeno** que entre sus moléculas se establece. En efecto, cada molécula de agua se presenta formando un ángulo de 105° entre los enlaces O-H, y la mayor electronegatividad del oxígeno crea una distribución desigual de cargas entre el O y el H, de manera que se origina un dipolo, en que una parte de la molécula es positiva y la otra negativa. Debido a esta distribución de cargas, las moléculas de agua se asocian entre sí a través de la unión puente hidrógeno y aparece así una gran **cohesión** entre sus moléculas. Esta unión es más fuerte que las fuerzas de Van der Waals que mantienen unidas a las moléculas de otros líquidos pero es más débil que las de tipo covalente o electrovalente. No hay límite al número de moléculas de agua que puedan unirse por unión puente de H.

El agua es líquida a temperatura ambiente. Por regla general se sabe que cuanto más elevado sea el PM de un compuesto más probabilidad tendrá de existir como líquido o sólido a temperatura ambiente. Los compuestos de bajo PM, como por ejemplo el CO_2 , el CH_4 y el NH_3 , son gases a temperatura ambiente, mientras que el agua no lo es y ello es debido a la unión H.

El **calor latente de vaporización** del agua es alto, en efecto, se requieren unas 539 cal para convertir 1 g de agua líquida a 1 g de vapor de agua a 100°C . Esta propiedad también depende de la unión puente H, como lo es el calor de fusión y la propiedad que tiene el agua de expandirse al congelarse. Para fundir 1 g de agua a la temperatura de congelamiento se necesitan 80 cal. Además, en estado sólido (hielo) cada molécula de agua se rodea de otras cuatro, formando un empaquetamiento de mayor volumen por unidad de masa que en el caso del agua líquida, donde cada molécula de agua está rodeada por 5 o más moléculas de agua.

El agua también tiene la propiedad de adherirse a muchas sustancias debido a su naturaleza polar. En efecto, es capaz de embeber a la celulosa, al almidón y a las proteínas de los tejidos. Esta **propiedad de adhesión** es muy importante en el movimiento ascendente del agua en las plantas. En efecto, junto con la propiedad de adhesión mutua que presentan las moléculas de agua, ésta puede soportar grandes tensiones -20 a 30 atm- en el camino del xilema sin romperse la columna de agua y manteniéndose unida a los componentes de ese camino.

Como **solvente de electrolitos**, su capacidad depende de la alta **constante dieléctrica** que posee el agua, propiedad ésta que está inversamente relacionada con la fuerza de atracción de cargas de signo opuesto. Recuérdese la ecuación correspondiente, habilitando así la ionización de sales.

$$F \propto \frac{1}{D} \frac{q^+ q^-}{r^2} \quad D - \text{cte dieléctrica}$$

q, cargas + y -, r: distancia

Particularmente, **la ionización del agua** y su interacción con otras sustancias resulta en un determinado valor de **pH** o de concentración de hidrogeniones, también de importancia para las plantas, ya sea por la disponibilidad de nutrientes que para ella pueda promover determinado pH en un suelo o regulando distintas actividades en la planta misma.

El agua no absorbe en el visible, aunque una ligera absorción en el rojo hace que aparezca azulada en grandes volúmenes.

Difusión, ósmosis, potencial agua

La célula como sistema osmótico

Vimos que una forma de enunciar la segunda ley de la termodinámica es que todos los cambios de estados siguen una dirección que es en aumento del caos y que en una situación de equilibrio no hay capacidad de realizar trabajo útil. La energía se ha degradado. De manera que los sistemas altamente organizados u ordenados tienen mayor energía libre que los menos ordenados. En el contexto biológico, el rol de mantener los sistemas biológicos funcionando, lo cual presupone un orden y organización, es en última instancia consecuencia de la captación de energía radiante del sol a través de la fotosíntesis. Así por ejemplo, sirve considerar el contenido energético de un mol de glucosa comparado con el correspondiente a CO_2 y H_2O a la misma presión y temperatura, cuando ocurre la oxidación biológica de la glucosa por el proceso de la respiración. Por supuesto que parte de esta energía almacenada en energía de enlace puede usarse para realizar trabajo molecular, brindar calor al cuerpo, apoyar el transporte iónico y otras muchas actividades en el metabolismo.

Es conocido que las células de organismos vivos construyen su medio interno iónico a partir de su hábitat, produciendo en algunos casos una importante acumulación de iones.

En este punto será de utilidad recordar la diferencia entre una **membrana permeable**, otra **semipermeable** y aún otra con **permeabilidad diferencial**, este último un atributo de las membranas biológicas. La membrana permeable permite el pasaje a través suyo tanto del soluto como del solvente. En el caso de la semipermeabilidad el pasaje de soluto está restringido y sólo son permeantes las moléculas de solvente. Por último si se trata de una membrana biológica, entonces opera la propiedad de selectividad de cada membrana al colocar las células mecanismos específicos para el transporte de sustancias a través de las membranas.

Cuando pensamos en el proceso de **difusión** - que es un proceso espontáneo en respuesta a un gradiente de difusión de la sustancia que difunde entre dos regiones - aplicado a un gas, podemos establecer que cuando mayor sea la presión del mismo en una región, mayor será la difusión, una conclusión que alcanzamos después de considerar un rearrreglo de la **ecuación general de estado de gases ideales**. En este punto es útil recordar que el volumen de un gas ideal en condiciones normales de presión y temperatura (273°K y 1 atm) es de 22,4 l/mol.

$$PV = nRT, \quad p = \frac{nRT}{V}, \quad n = \frac{pV}{RT}$$

A temperatura cte., $RT = \text{cte}$ $p \propto C$

En el caso de movimiento de solutos en soluciones acuosas Fick estableció que la velocidad de difusión de un soluto es proporcional al área de difusión y al gradiente de concentración. En la ecuación siguiente S denota moles de soluto; t, tiempo; A, el área por la cual ocurre la difusión; ΔC y Δx los gradientes de concentración entre las regiones de difusión y D el coeficiente de difusión

$$\frac{\Delta S}{\Delta t} = D \frac{\Delta C}{\Delta x}; \quad \frac{\Delta S}{\Delta t} = \frac{D A \Delta C}{\Delta x}$$

El coeficiente de difusión por unidad de longitud del gradiente es la propiedad conocida como **permeabilidad**.

$$J = \frac{\Delta S}{\Delta t A} = P \Delta C$$

] neto = Influj o - Eflujo

Por último, el **flujo del soluto** se refiere a la velocidad de difusión por unidad de área y el **flujo neto** a la diferencia entre influj o y eflujo.

Ahora pensemos en dos compartimentos A y B separados por una membrana permeable y que hay mayor concentración del soluto en un compartimento que en el otro. Habrá entonces difusión del soluto y solvente de manera de seguir sus gradientes de concentración y hasta alcanzar el equilibrio. Siempre que exista un gradiente de difusión existirá un flujo espontáneo de soluto en favor del gradiente. Cuando se obtiene el equilibrio no habrá flujo neto, aunque las moléculas continúan moviéndose en forma azarosa en función de su energía cinética a una dada temperatura. Cuando se alcanza esta situación el fenómeno no puede ser revertido espontáneamente, pero sí con gasto de energía.

La situación anterior puede evaluarse a través del potencial químico. Pensemos que una sustancia se disuelve en un solvente. Su potencial químico está dado - en soluciones diluidas - por:

$$\mu_s = \mu_s^\circ + RT \ln C_s$$

μ_s° : potencial químico de s en condiciones de referencia (10 atm, 25 °C)

Si tenemos un soluto en los dos compartimentos A y B, en cada uno tendrá un potencial químico μ_A y μ_B . Si las concentraciones son diferentes en A y B, luego existirá una diferencia de potencial químico:

$$\Delta\mu = \mu_A - \mu_B = RT \ln C_A/C_B$$

$$\mu_A = \mu_B$$

y el movimiento de un soluto por difusión es dependiente de la existencia de un gradiente químico.

La ecuación anterior para un gas, entre dos zonas de difusión A y B, es:

$$\Delta\mu = RT \ln P_A/P_B \quad \text{con } p = \text{presión parcial}$$

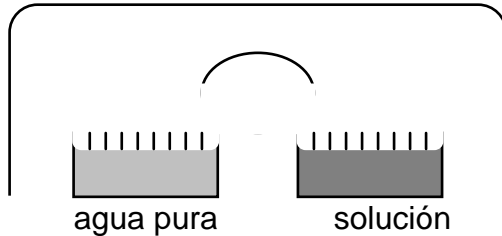
Si ahora consideramos una membrana semipermeable, luego este gradiente de potencial químico puede usarse para realizar trabajo. Habrá un movimiento de agua por ósmosis que tiende a equilibrar las concentraciones en A y B, y llegado al equilibrio se habrá construido una columna de agua, la cual pudiera haberse usado para realizar trabajo útil, por ejemplo empujando un émbolo. La presión que debe aplicarse para evitar la formación de la columna equivale a la **presión osmótica**.

Es conocido que la célula vegetal tiene mayor concentración de solutos en su interior que en el medio que la rodea. Si no fuera así, el agua fluiría siguiendo el gradiente favorable de difusión de agua y esto causaría la deshidratación y muerte celular. De manera que el potencial agua celular debe ser menor que el potencial agua exterior y entonces el agua entra al protoplasto desarrollándose una presión de turgencia; la célula no revienta debido a la relativa rigidez de la pared celular. Aquí es útil comparar un osmómetro con la célula.

Cuando la célula no está turgente, su protoplasto se contrae y se dice que la célula está **plasmolizada**.

Para su tratamiento teórico, si consideramos que tenemos en un momento inicial dos vasos conteniendo uno de ellos agua pura y el otro una solución y que ambos están a la misma presión atmosférica y temperatura encerrados en una campana,

entonces la mayor energía libre por mol de agua pura, esto es su potencial químico, en el recipiente de agua pura favorecerá el paso de agua por difusión a través de la "membrana gaseosa" de aire para diluir la solución contenida en el segundo vaso. Las correspondientes **presión de vapor** son **p₀** para el agua pura y **p** para el agua de la solución. De acuerdo a la **ley de Raoult**, el agregado de soluto a un solvente disminuye su presión de vapor, en forma tal que el descenso relativo de la presión de vapor es igual a la fracción molar del soluto (N₂). Siguiendo el concepto de que la presión del vapor es proporcional a su concentración se puede sustituir estas presiones en la ecuación dada de la diferencia de potenciales químicos. En este caso para el agua será:



$$\Delta\mu = \mu_w \text{ soluc} - \mu_w \text{ pura} = R T \ln p/p^0$$

$$\frac{p^0 - p}{p^0} = N_2 \quad N_2 = \text{fracción molar del soluto}$$

Una consecuencia de la ley de Raoult es que la presión de la solución relativa a la presión del solvente es igual a la fracción molar del solvente (N₁). De manera que reemplazando este concepto en la ecuación anterior resulta:

$$1 - p/p^0 = N_2 = 1 - N_1 \quad N_1 = \text{fracción molar del solvente}$$

$$p/p^0 = N_1 \quad N_1 + N_2 = 1 \quad ; \quad N_2 = 1 - N_1$$

$$\Delta\mu_w = R T \ln \frac{p}{p^0}$$

y que incluyendo el concepto de **humedad relativa** (presión de vapor actual en relación a la correspondiente a saturación, a la misma temperatura) se transforma en la siguiente:

$$\frac{p}{p^0} = \frac{\text{100\% HR}}{100} \quad \Delta\mu_w = R T \ln \frac{\text{HR}}{100}$$

Si además transformamos la expresión anterior a unidades de presión, dividiendo por el **volumen molar** del agua (0.018 l/mol) entonces la diferencia de potencial químico del agua en la solución del vaso - o de la célula - se transforma en el denominado **potencial agua**:

$$\psi = \frac{\mu_w - \mu_w^0}{V_w} = \frac{R T \ln \frac{\text{HR}}{100}}{V_w} = \frac{R T \ln N_1}{V_w}$$

Para considerar la composición del potencial agua en la célula, debemos considerar los factores que puedan hacer variar su energía a una temperatura dada. Ellos son como acabamos de ver en el sistema del osmómetro, la presencia de solutos y la presión ejercida en ella, de manera que la diferencia de potencial agua en la célula en relación al agua pura en estado de referencia tendrá que considerar estos dos componentes. La energización del agua por mol de agua debida a un exceso de presión sobre la atmosférica será:

$$\Delta\mu_{TN} = V \Delta P \quad \text{considerando } \Delta P = \text{Presión hidráulica} - P \text{ atmosférica}$$

$$\Rightarrow \Delta P = P \quad \Delta\mu_{TN} = V P \quad P: \text{presión en exceso de la atmosférica}$$

Por otro lado vimos que la adición de soluto al agua pura promovía un cambio en su potencial químico que estaba dado por:

$$\Delta\mu_{TN} = R T \ln p/p^0$$

De manera que la diferencia total en el potencial químico del agua en la célula (o el osmómetro) resulta ser:

$$\Delta\mu_{\text{Total}} = P V_w = R T \ln p/p^0$$

y si además incorporamos el volumen molar del agua, obtenemos el potencial agua:

$$\psi_w = \frac{\Delta\mu}{V_w} = \frac{P V_w}{V_w} + \frac{R T \ln p/p^0}{V_w}$$

$$\psi_w = 0 \quad P + \frac{R T}{V_w} \ln p/p^0$$

$$V_w$$

Pero en el equilibrio, tal diferencia en el potencial químico no existe, de manera que la situación también representa el caso en que P es la presión osmótica -como definimos anteriormente- y entonces por rearreglo de las ecuaciones se obtiene lo siguiente:

$$P = \pi \text{ (por definición)} = - \frac{RT}{V_w} \ln p/p_o$$

$$\text{ó} \quad - \pi = \frac{RT}{V_w} \ln p/p_o$$

De manera que el potencial agua se puede expresar como P- π :

$$\Psi_w = P - \pi$$

o en función del significado de sus términos es usual encontrar la siguiente definición:

$$\Psi_w = \Psi_P - \Psi_\pi$$

La ecuación antes encontrada en la condición P=TT puede transformarse en la **ecuación de Vant'Hoff** para solutos no disociados. En el caso de compuestos ionizables debe introducirse el coeficiente de disociación **i**:

$$\pi = \frac{RT}{V_w} \ln p/p_o = \frac{RT}{V_w} \ln (1 - N_2)$$

propiedad $\ln(1-x) \sim -x \Rightarrow \pi = \frac{RT}{V_w} N_2$; $N_2 = \frac{C_{\text{soluta}}}{V_w}$

$$\pi = R T C \quad ; \quad \pi = i R T C$$

En la tabla 3.2 encontramos distintos valores de RT para distintas temperaturas y los correspondientes valores de la presión osmótica de soluciones 0,01 M; 0,1 M y 1,00 M -calculados con la ecuación anterior- en MPa para un soluto no disociado y a las mismas temperaturas los valores de la presión osmótica de un agua de mar.

En los estudios de potencial agua, como en el caso de la presión de columna del osmómetro de la representación gráfica, recordemos que el término P se refiere a la presión en exceso de la atmosférica, entonces de acuerdo a esto la presión ambiente es P = 0. La unidad de presión que se usa es el Pascal. Las equivalencias correspondientes son:

$$1 \text{ bar} = 0,987 \text{ atm} = 10^5 \text{ Pa} = 0,1 \text{ MPa}$$

En este punto es interesante destacar que tanto la presión de vapor y la presión osmótica que hemos visto recientemente como el ascenso ebulloscópico y el descenso crioscópico son un conjunto de características físicas de las soluciones que se han conocido con el nombre de **propiedades coligativas** y que se caracterizan porque su magnitud depende de la cantidad de partículas - iones, moléculas - y no de su naturaleza intrínseca. Así ocurre que una solución 1 molar de un soluto no disociado como sacarosa, glucosa, manitol u otro a 0 °C es 2,27 MPa (tabla 3.2) mientras que si se trata de un electrolito su valor dependerá de su grado de disociación, siendo por ejemplo para 1 M de ClK cerca de 4,54 MPa, ya que su **i** es cercano a 2.

Por otro lado el efecto de la gravedad sobre el potencial agua depende de la altura del agua por encima del agua del estado de referencia, la densidad del agua y la aceleración de la gravedad:

$$f \text{ (gravedad)} = \rho g h, \text{ valiendo } 0,01 \text{ MPa /metro.}$$

Concluimos entonces que el potencial agua del agua en el sistema bajo consideración - suelo, planta, aire - se puede expresar a partir de la ecuación:

$$\Psi = \Psi^* - \pi + P + \rho g h$$

El estado de referencia para el agua pura Ψ^* es 0 MPa, de manera que puede omitirse:

$$\Psi = P - \pi + \rho g h$$

Para un transporte en una corta distancia vertical (5-10 m) o entre células adyacentes $\rho g h$ puede omitirse ya que es pequeño (ver la fig. 3.9). Nótese que la presión osmótica se define como una cantidad positiva, mientras que si se usase el término potencial osmótico se trata de una cantidad negativa.

En este punto conviene mencionar que el potencial agua disminuye entonces por

- la adición de solutos,
- por las fuerzas mátricas que adsorben o retienen agua,
- por presiones negativas o tensiones como las presentes en xilema de plantas que se hallan transpirando y
- por una reducción de la temperatura.

Las fuerzas mátricas toman importancia cuando el grado de hidratación del sistema es bajo y la matriz que lo conforma retiene agua con mayor avidez. Tales matrices la constituyen el material coloidal del suelo y las paredes celulares, y el sistema de membranas. Típicamente, una **dispersión coloidal** consiste en una fase dispersante o medio en el que se encuentra la fase dispersa o micela coloidal, cuyas dimensiones oscilan entre los 10^{-7} y 10^{-4} cm.

El potencial agua aumenta por

- la presión ejercida por las paredes en las células total o parcialmente turgentes y
- por el incremento de temperatura. (ver tabla 3.2)

Se puede plantear un caso hipotético para ver cómo en un caso ideal se comportan los componentes del potencial agua, partiendo de una célula plasmolizada, es decir con potencial de presión nulo y un volumen relativo igual a la unidad después de colocarla en contacto con agua pura. Los fisiólogos vegetales han definido el concepto de **plasmólisis incipiente** para definir el estado de un tejido en el cual el 50% de las células presenta una retracción del protoplasto.

En el Diagrama se puede ver cómo evolucionan el potencial osmótico, el de presión y en función de ellos ($\psi = P - \pi$) el potencial agua. En el caso real, la pared tiene cierta elasticidad, de manera que el potencial de presión puede cambiar abruptamente, dependiendo de su **módulo de elasticidad**, que está definido por el cambio que experimenta la presión ante un cambio en el volumen relativo de la célula $\{ E = \Delta P / (\Delta V / V) \}$. Este módulo de elasticidad puede tomar típicamente valores de **10 MPa**, de manera que si se opera un incremento de volumen del **1%**, esto es

$\Delta V / V = 0,01$, entonces de la ecuación anterior se deduce que el incremento en $\Delta P = 0,1$ MPa. Si inicialmente la célula tuviera una

$P = 0,5$ MPa, entonces aquel incremento en el volumen relativo producirá un incremento del **20% en P (0,1 MPa)**. Sin embargo si se considera que en soluciones diluídas es válida la **ley de Boyle Mariotte**, esto es que a temperatura constante el producto

$P V = cte$ o que $\pi V = cte$, entonces para un incremento en un **1%** del volumen sólo resulta en una disminución en π del **1%** (o un aumento en el ψ π del **1%**). De manera que cuando el potencial agua de las células turgentes incrementa, la mayor parte de este cambio es efectuado por el incremento en el potencial de presión más que por el aumento en el potencial osmótico (o disminución de la presión osmótica).

El potencial agua es un concepto útil para evaluar el estado hídrico de una planta. El primer uso del potencial agua de una planta es que gobierna la dirección del flujo de agua a través de membranas. Específicamente, la diferencia en el potencial agua es la fuerza impulsora que conduce el transporte de agua por ósmosis y con algunas limitaciones que impone la resistencia del camino del agua; también la diferencia de potencial agua es la fuerza impulsora para el movimiento del agua a través de distintos tejidos. En efecto el flujo del agua es directamente proporcional a la diferencia de potencial agua y la constante de proporcionalidad corresponde a la recíproca de la resistencia del camino, conocida como la permeabilidad hidráulica.

$$J = L_p \Delta \Psi$$

El otro uso del concepto de potencial agua es que proporciona una medida del estado hídrico de una planta. Los déficits hídricos conducen a una inhibición en el crecimiento vegetal y en la fotosíntesis y afectan otros efectos como se señala en la fig. 3.11. El proceso afectado en primer lugar es el crecimiento: un severo estrés hídrico conduce a:

- una inhibición de la división celular,
- inhibición en la síntesis de componentes de la pared y proteínas,
- acumulación de solutos,
- cierre estomático e
- inhibición de la fotosíntesis.

Las hojas de plantas bien regadas tienen potenciales agua que fluctúan entre -0,2 y 0,6 MPa, mientras que las hojas de plantas de climas áridos bajo condiciones extremas, tienen valores mucho más bajos, p. ej. entre -2 y -5 MPa.

Como el transporte de agua es un proceso pasivo, las plantas sólo pueden absorber agua cuando el potencial agua de sus raíces es menor que el del suelo. A medida que el suelo se seca, es decir que se profundiza el potencial agua del suelo, el de las raíces debiera seguirlo similarmente, de lo contrario el suelo comenzaría a extraer el agua desde la planta.

$$\Psi_w = \Psi_\pi + \Psi_P$$

Si $\Psi_w \downarrow$ y $\Psi_P > 0$ entonces $\Psi_{wp} \downarrow$ $\Psi_\pi \downarrow$

Como el potencial agua, los valores de π varían considerablemente, dependiendo de las condiciones de crecimiento y del tipo de planta. Las plantas de jardín bien regadas pueden presentar valores de π dentro de sus células de alrededor de 0,5 MPa. El límite inferior en la π probablemente es colocado por una mínima concentración de iones disueltos, metabolitos, y proteínas celulares. En estos casos podemos incluir como algunos ejemplos lechuga, pepino, hojas de poroto.

En el otro extremo las plantas pueden construir π mucho más altos. Típicamente, una condición de estrés hídrico puede conducir a una acumulación de solutos, lo cual permite el mantenimiento de la turgencia celular en presencia de bajos potenciales agua, en un fenómeno de adaptación conocido como **osmorregulación**. Estos solutos pueden ser prolina, azúcares y iones.

Las células de plantas que almacenan sacarosa u otros azúcares como remolacha y cañas de azúcar tienen necesariamente altos π , p. ej. 2,5MPa.

Las halófitas son plantas que crecen en suelos salinos y típicamente presentan concentraciones internas de soluto muy elevadas y por ello al reducir suficientemente su potencial agua ellas pueden extraer agua del agua salada.

Los valores para la P son normalmente inferiores a los de la π , que se deduce de la ecuación $\Psi = P - \pi$ y del hecho de que los potenciales agua en las plantas son siempre negativos. En plantas de jardín bien regadas los valores de P pueden oscilar entre 0,1 y 1 MPa, dependiendo del valor de π intracelular.

Un valor positivo de la P es importante en las células vegetales por dos razones:

En primer lugar el crecimiento celular requiere de la turgencia celular para poder estirar las paredes celulares que se han "ablandado". A medida que la planta pierde agua, P cae muy rápidamente debido a que la pared es relativamente rígida y el agua es incompresible. Tal disminución en la P cuando el potencial agua celular cae explica por qué el crecimiento es tan sensible al déficit hídrico.

En segundo lugar, la P dentro de las células aumenta la rigidez mecánica de las células y tejidos, lo cual es, como vimos, de importancia para tejidos no lignificados que no se pueden soportar mecánicamente solos a no mediar una alta P interna. El marchitamiento ocurre cuando la P en esos tejidos cae al valor de cero.

En el xilema de plantas que están respirando activamente, P es negativo y puede tener hasta -1 MPa o menos. La magnitud de P en el xilema varía considerablemente, dependiendo de la velocidad de transpiración y altura de la planta.

Una forma alternativa de determinar el contenido hídrico de las plantas es a través de la determinación del **CRA** o **contenido relativo de agua**. Para ello se toma la planta o partes de ella que nos interesen y se determina el peso actual

(Pf= peso fresco), luego se la coloca en una bolsa de polietileno conteniendo suficiente cantidad de agua y después de cerrar la bolsa para evitar pérdidas de agua se permite un período de 15-24 hs en frío a 4 °C. Después de retirar la muestra se procede a secarla con papel tipo tissue, sin apretar, para obtener el peso a turgencia máxima (Pt). Seguidamente, la muestra se lleva a estufa a 80 - 105 °C hasta obtener peso constante (Ps= peso seco). Se considera que el peso perdido por respiración durante el procedimiento no es significativo.

Se usa la siguiente fórmula:

$$CRA = \frac{Pf - Ps}{Pt - Ps}$$

SISTEMAS COLOIDALES

Una **dispersión coloidal** es una suspensión de partículas finamente divididas en un medio continuo. Las partículas en sí son llamadas la **fase dispersa** o el **coloide** y el medio es la **fase dispersante**. La dispersión coloidal se diferencia de una solución ordinaria en que el tamaño de sus partículas caen dentro de un rango que va de

10⁻⁴ a 10⁻⁷ cm. Dado que las partículas son muy pequeñas exponen un gran área por unidad de volumen. De modo que los fenómenos de superficie se magnifican y el comportamiento de las dispersiones coloidales es necesariamente interpretado sobre la base de dichas propiedades, tales como tensión superficial y el potencial electrocinético **z**. El medio dispersante puede ser un sólido, un líquido o un gas y la fase dispersa puede ser sólida, líquida o gaseosa. Los tipos de dispersión y sus nombres son:

		<u>Ejemplo</u>
aerosol	sólido en gas	humo
aerosol	líquido en gas	niebla
emulsión	líquido en líquido	leche
espuma	gas en líquido	clara batida
geles	líquido en sólido	gelatina

Hay dos clases generales de coloides:

liofílicos o afines al dispersante

liofóbicos o no afines al dispersante

Frecuentemente los coloides reciben el nombre de **soles** para distinguirlos de las soluciones verdaderas.

Las partículas coloidales tienen una carga eléctrica neutra que es la suma de la carga sobre la partícula, y la carga sobre los contraiones fuertemente unidos. En razón de esta carga eléctrica la partícula migra en un campo eléctrico. En el electrodo la carga se neutraliza. La estabilidad de una suspensión hidrofóbica está íntimamente ligada a la carga de la partícula, puesto que tienen el mismo signo se repelen entre ellas y tienden a permanecer en suspensión. Si la carga es neutralizada, las partículas se juntan y la suspensión se destruye. Si bien para mantener la estabilidad de soles hidrofóbicos puede ser importante la presencia de pequeñas cantidades de electrolito, cantidades mayores producen una neutralización y el coloide precipita. El ión que es eficaz para producir esta floculación es el de signo opuesto al de la partícula coloidal y su poder de precipitación incrementa con el aumento de su valencia; así, un ión trivalente tendrá mucho mayor efecto que uno divalente y este mayor que uno monovalente.

La existencia de iones adsorbidos, de diferente signo que el de la partícula, primariamente sobre la micela origina una diferencia de potencial eléctrico en la distancia que aproximadamente corresponde al diámetro de aquellos iones. Este potencial es conocido como **potencial zeta**. Digamos por ej., que si tenemos una partícula cargada positiva, la adsorción primaria de iones negativos podrá dar origen a estas situaciones:

- 1) que la carga de la partícula sea parcialmente neutralizada y por lo tanto este **z** seguirá siendo positivo y la partícula estable como coloide;
- 2) que la carga de la partícula sea neutralizada, esto es **z = 0** y por ello el coloide perderá estabilidad y precipitará; y
- 3) la adsorción de iones primarios podrá exceder a la carga de la partícula, de manera que ahora el **z** será negativo y el coloide tendrá estabilidad como tal.

La región que se extiende desde la superficie del coloide hasta el final de los iones adsorbidos primariamente se conoce como **capa de Helmholtz**. En el caso de la existencia de valores positivos o negativos de **z**, después del espesor de esta última capa los iones de signo opuesto a la carga de la partícula mostrarán una mayor tendencia a ocupar esta región de manera que el potencial eléctrico cambiará tendiendo a cero, a una distancia donde el campo eléctrico producido por la carga de la partícula se anula y a partir de allí la distribución de los iones es azarosa. Esta segunda capa es conocida como **capa de Gouy**. Ésta junto con la anterior se conocen como **doble capa de Stern**. La existencia de la doble capa tiene como consecuencias cuatro efectos electrocinéticos:

- la electro-ósmosis
- el potencial de flujo
- la electroforesis
- el potencial de sedimentación.

Todos estos efectos se deben a que la doble capa de Stern está débilmente unida a la superficie sólida y por lo tanto es móvil.

En cuanto a la estabilidad de los soles hidrófilos, digamos que pequeñas cantidades de electrolitos, si bien disminuyen el **z**, no precipitan y esto puede ocurrir aún cuando el **z = 0**. Ello es así debido a que las moléculas de agua que continúan hidratándolo le proveen un "colchón" de moléculas de agua que evitan la unión de las micelas. En este último caso es efectivo un mayor agregado de electrolito o bien - estando el sol descargado - el agregado de alcohol o acetona (50% o más) provoca la precipitación, ejerciendo la valencia la influencia antes mencionada.

La adición de electrolitos en grandes cantidades a soles liófilos para producir la precipitación se conoce con el nombre de **salificación**. Hay una **serie liótrópica** para cationes y otra para aniones que los ordenan con relación a la habilidad que ellos tienen para producir la precipitación:

para cationes:

para aniones:

Es interesante mencionar que la salificación es un proceso reversible. Este procedimiento es usado en técnicas de purificación de proteínas para la separación de ellas a distintos grados de saturación de la sal sulfato de amonio. Estas proteínas pueden devolverse al estado sol simplemente dializando contra agua destilada o una solución salina diluida. Lo anterior claramente se diferencia de la **coagulación** donde ocurre un proceso de desnaturalización proteica, usualmente perdiendo los niveles de organización, pero sin llegar a alterar el nivel primario.

Es interesante señalar aquí que con determinado tipo de congelación (lenta) puede ocurrir precipitación de un sol proteínico por salificación, un efecto que depende además de la temperatura.

Un medio complejo como el que conforma el celular es no sólo una solución de electrolitos y moléculas orgánicas relativamente sencillas, sino también una dispersión coloidal de proteínas.

Así, cuando ocurre la congelación lenta de un tejido hay una formación de cristales de hielo de gran tamaño y en gran cantidad por lo que habrá un fenómeno de salificación y eventualmente desnaturalización proteica por alteración en la conformación estructural de las proteínas.

Sin embargo si la congelación fuera rápida, entonces se forman pequeños cristales de hielo y el tejido es preservado de sufrir los daños mencionados.

Las sustancias polihidroxiladas protegen contra daños por congelamiento. En efecto, si se añade sacarosa o glicerina al medio de suspensión, parte de ellas penetran a las células y hacen descender el punto de congelamiento del medio ambiental y del líquido intracelular; pero aún si estos líquidos se congelasen se producirá menos hielo y los cristales serán más pequeños. Ello debido a la fuerza considerable de los enlaces hidrógeno entre glicerina y agua. Esta es la razón por la cual se las conoce a la sacarosa y glicerol como amortiguadores de electrolitos.

FISIOLOGÍA DEL MOVIMIENTO ESTOMÁTICO

Los estomas, del griego "boca", son características estructurales de órganos aéreos en la mayoría de las plantas. **Estoma** se refiere a un agujero o **poro** microscópico a través de la superficie del órgano vegetal, que permite la comunicación entre su medio interno y el medio externo y a un par de células especializadas que rodea ese agujero, esto es las **células guardas**. Estas células guardas responden a señales ambientales y hormonales cambiando sus dimensiones y con ello regulando el tamaño del poro, también llamado apertura.

Los movimientos estomáticos, o sea el cambio que continuamente ocurre de las dimensiones del poro son un aspecto muy complejo de la fisiología vegetal. Así, el término de **función estomática** supone abarcar primero la relación entre las propiedades estructurales y metabólicas de los estomas, luego la regulación de las aperturas estomáticas y el intercambio gaseoso entre la hoja y su ambiente y por último el impacto de estos procesos sobre la fisiología, adaptación y productividad de las plantas.

Es claro que los estomas han surgido como una necesidad adaptativa para evitar la desecación de las plantas de hábitat terrestre. Así, las plantas que viven sumergidas no los poseen y las que poseen hojas que flotan en el agua tampoco tienen estomas en su parte en contacto con el agua.

Junto a estas estructuras las plantas que invaden el hábitat terrestre desarrollaron una cutícula impermeable que previene la pérdida de agua. Sin embargo, esta adaptación colocó un compromiso de supervivencia ya que el evitar la salida del agua hacia la atmósfera también significa estar colocando una barrera contra la difusión de CO₂, sustrato esencial para la fotosíntesis. De manera que la solución para este compromiso la dan los estomas, que proveen una adaptación temporal al abrirse cuando las condiciones favorecen la fotosíntesis, en adecuado suministro de agua, y cerrándose cuando el agua se torna limitante, previniendo así una pérdida excesiva de agua que resulta dañina para las plantas.

Así y todo es importante la cantidad de agua evaporada a través de estas estructuras, por ej. para dar una idea: para producir 1 kg de grano seco de maíz se deben evaporar alrededor de 600 kg de agua. Esta evaporación de agua hacia la atmósfera se llama **transpiración**.

De manera que el dilema al que se enfrenta la planta consiste en ¿cómo obtener el CO₂ tanto como sea posible de una atmósfera en que está muy diluido (0,03% v/v) y al mismo tiempo retener el agua tanto como sea posible, agua que debe llenar y mantener turgentes a todas las células y proveer el medio -y también el sustrato- en el cual el CO₂ pueda convertirse en fotoasimilados.

Los estomas se abren a medida que las células guardas absorben agua y se hinchan. En principio esto parece paradójico, pues uno imaginaría que el hinchamiento de las células forzaría los estomas al cierre más que a su apertura. Una explicación de ello se apoya en la disposición particular de las microfibrillas de celulosa que constituyen las paredes celulares de las células guardas, esto es, se disponen como irradiando desde un punto central del poro estomático, conociéndose como micelización radial. De manera que al expandirse las células después de absorber agua, no pueden incrementar mucho en diámetro ya que las microfibrillas no se estiran mucho en su longitud, pero las células guardas sí pueden incrementar su longitud y durante la apertura, las células guardas se curvan parcialmente debido a que están unidas a su compañera por cada extremo.

Desde 1856 se había notado que las paredes celulares de las células guardas de algunas especies eran más engrosadas a lo largo de la pared cóncava adyacente al poro (esto es particularmente notable cuando se digiere enzimáticamente la epidermis) y por mucho tiempo se sugirió a tal diferencia como responsable de la apertura.

Que la micelización radial puede funcionar se puede ver usando un globo inflado como modelo y cinta de enmascarar simulando la micelización.

Ahora bien, cual es la causa que ocasiona la absorción de agua por las células guardas y hace que el estoma se abra?

Este problema se estudió por mucho tiempo. Si consideramos que el flujo de agua es originado por un gradiente de potencial agua, entonces la primera sospecha recaería sobre alguna relación osmótica que resultase en el hinchamiento de las células guardas, existiendo varias posibilidades. De momento, recordemos que el potencial agua tiene principalmente dos componentes, uno osmótico y otro de presión:

paredes celulares más elástica

(apertura ácida)

Si el Pot. agua baja, entonces
Ingreso osmótico de agua por

osmótica

incremento de la concentración

a) si el potencial osmótico del protoplasto de la célula guarda se vuelve más negativo en relación al de las células vecinas, entonces podría esperarse un movimiento osmótico de agua hacia el protoplasto de las células guardas, causando un incremento en la presión de turgencia y por ello el hinchamiento.

b) Otra posibilidad es que las paredes celulares de las células guardas se volvieran más elásticas, de manera que podrían estirarse más fácilmente y al disminuir por ello el potencial de presión lleva a una disminución del potencial agua y así se permite la absorción de agua.

c) podría haber una liberación de la presión de las células circundantes a las células guardas y al encogerse podrían permitir una expansión de las células guardas.

Un cúmulo de información indica sin dudas, que cuando el estoma se abre el potencial osmótico de las células guardas disminuye, no habiéndose observado cambios en la presión circundante.

Sólo recientemente un estudio indica que la apertura estomática inducida en medio ácido es debida tanto a un incremento en la elasticidad de la pared celular de la célula guarda como a cambios en su potencial osmótico.

Para darles un ejemplo, en plantas de haba el potencial osmótico de las células guardas con los estomas cerrados es de -19 bares, y cuando se abren de -35 bares, ello a pesar de que prácticamente el volumen de las células guardas se duplicó, con la consiguiente dilución (aquí vale aplicar el concepto $\pi V = cte$).

Ahora la pregunta a responder y sobre la que más se ha trabajado es sobre la causa del cambio del potencial osmótico de las células guardas.

Para contestar esa pregunta será conveniente que nos refiramos a algunos efectos del medio ambiente sobre el movimiento estomático y ello en el entendimiento de que cualquier teoría que trate de explicar la actividad de los estomas debería resultar satisfactoria para soportar los distintos comportamientos causados por distintos factores. Estos factores a su vez, interactúan entre ellos de muchas maneras, lo cual complica aún más el problema.

1- Los estomas de la mayoría de las plantas **se abren en luz** (cuando sale el sol o en luz artificial) y **se cierran en oscuridad**, permitiendo la entrada de CO₂ para fotosíntesis si están abiertos.

2- La apertura generalmente requiere una hora, mientras que el cierre es gradual a través de la tarde, y los estomas se cierran más rápidamente si las plantas se colocan directamente en oscuridad.

3- Ciertas suculentas nativas de climas cálidos y secos actúan de manera opuesta, es decir, abren sus estomas de noche, fijan el O₂ en oscuridad formando ácidos orgánicos, y cierran sus estomas de día. Así absorben CO₂ a través de los estomas abiertos, pero conservan el agua durante el calor del día.

4- Para la apertura de estomas en plantas no suculentas parece haber un mínimo de intensidad luminosa del orden de 1 /1000 1 /30 de plena luz solar, influyendo además la intensidad de luz en la velocidad y el tamaño de apertura siendo más grande a mayor intensidad.

5- En cuanto al **CO₂**, son las concentraciones bajas de CO₂ las que provocan la apertura estomática, esto tanto en luz como en oscuridad. Es así que la remoción de CO₂ durante la fotosíntesis por las células del parénquima y del mesófilo es la principal razón por la cual los estomas se abren en luz, para la mayoría de las especies. Y es el CO₂ dentro de la hoja quien controla la respuesta de apertura vs. cierre.

Por su parte, las suculentas, al fijar el CO₂ en ácidos orgánicos causan también la apertura.

Si se hace pasar aire libre de CO₂ sobre las hojas de una planta no suculenta, aún en oscuridad, sus estomas se abren. Inversamente, una alta concentración de CO₂ causa que se cierren en luz y oscuridad; y si los estomas están totalmente cerrados (bastante inusual), luego el aire externo libre de CO₂ no tiene efecto.

6- En cuanto al **potencial agua** dentro de la hoja, se conoce que ejerce un poderoso control sobre la apertura y cierre. A medida que el potencial agua de la hoja disminuye, es decir aumenta el estrés hídrico, el estoma se cierra, un efecto que predomina aún en bajos niveles de CO₂ y alta intensidad luminosa e involucra aspectos hormonales.

7- En lo relativo a las **temperaturas**, se conoce que elevadas temperaturas (30-35° C) causan el cierre estomático. Ello podría deberse a un aumento de estrés hídrico o que al elevarse la actividad respiratoria, el CO₂ resultante en el interior foliar causa el cierre. Sin embargo, en algunas plantas las temperaturas elevadas causa la apertura.

8- Algunas veces los estomas se cierran parcialmente cuando las hojas se exponen a una brisa suave, probablemente debido a que esa brisa trae CO₂ adicional que puede difundirse más rápido hacia adentro. En el caso del viento, eventualmente puede aumentar la transpiración conduciendo a un estrés hídrico y al cierre estomático. A modo de resumen se presentan diferentes gráficos que expresan los comportamientos mencionados.

9- En lo relativo a la **calidad de luz**, si recordamos que los estomas se abren en oscuridad en respuesta a factores tales como los que acabamos de mencionar:

- aire libre de anhídrido carbónico y
- bajos niveles de O₂ y
- otros como temperatura,

entonces es aparente que la luz no sería absolutamente esencial para la apertura.

Cuando la luz es efectiva es porque la fotosíntesis en las células del mesófilo disminuyen el CO₂ de los espacios intercelulares y las células guardas absorben agua. De manera que deberíamos esperar que las mismas longitudes de onda de la luz que son efectivas en la fotosíntesis, lo sean también en el movimiento de apertura estomática:

A intensidad de luz alta se observa que tanto la luz roja como la azul son efectivas en fotosíntesis y apertura estomática, pero en la apertura la luz azul es cuantitativamente más efectiva que la roja en comparación con su efectividad en la fotosíntesis. Además, la luz azul a bajas intensidades puede causar la apertura, mientras que la roja no. De manera que pareciera haber una estimulación directa de la luz azul actuando sobre las células guardas, además de su efecto fotosintético (esto es, la disminución de CO₂ en el interior de la hoja) y el movimiento de K⁺ estimulado por la luz azul parece ser independiente de los efectos del CO₂ y la hormona de estrés hídrico ácido abscísico (ABA).

Ahora volvemos al hallazgo de que los estomas se abren por absorción de agua por las células guardas debido a la aparición de un potencial osmótico más negativo, esto es, a la aparición de más soluto en las células guardas. La pregunta que surge es : ¿Cuál soluto y de dónde viene?

Hubo muchas teorías: p. ej. parecía razonable que los azúcares producidos por fotosíntesis en los cloroplastos de las células estomáticas - al producir azúcares por la reducción del CO₂ - podrían dar cuenta del efecto osmótico, pero la experiencia demostró que estos azúcares no se producen tan rápido ni en la cantidad suficiente como para apoyar de entrada aquella hipótesis. Por otro lado no explicaría la apertura en oscuridad, por ej. al pasar aire libre de CO₂.

Otra hipótesis de la década de los 30, y que duró bastante, sugería que por consumo de CO₂ en la fotosíntesis el pH sería incrementado de manera que podrían activarse enzimas hidrolíticas que degradarían al almidón a azúcares simples conduciendo a una disminución del potencial osmótico. Tampoco esta propuesta soportó las observaciones teóricas y los hechos experimentales.

Fueron los trabajos de científicos japoneses, a partir de los años de la segunda guerra y siguientes que condujeron a un punto clave para el entendimiento de la fisiología estomática, siendo Fujino quien en 1968 produjo el trabajo más definitivo, estando ahora bien establecido por diferentes métodos y en diferentes plantas que los niveles de K⁺ son en verdad muy altos en estomas abiertos y mucho más bajos en el estado cerrado. Sin embargo, hay poco conocimiento de cómo se llega a esto y también se tiene un conocimiento limitado de cómo está controlada la acumulación de sales en las células guardas, particularmente en hojas enteras.

Por ejemplo, se ha observado que los incrementos de hasta un 0,5 M en K⁺ (con su contracción) resultan suficientes para justificar la apertura estomática, con un potencial osmótico de aproximadamente -20 bares (calcular con ec. de Vant Hoff). También fue posible observar que esa acumulación de K⁺ en la células guardas es causada tanto por la luz como por el aire libre de CO₂ y que cuando los estomas se cierran al transferirlos a oscuridad hay una fuga de K⁺.

Varios experimentos se han hecho con tiras de tejido epidérmico separado de las hojas, siendo un material muy usado *Vicia faba* y *Commelina communis*, por la facilidad con que se puede obtener la epidermis. Y cuando estas tiras se flotan en solución y se exponen a la luz los estomas sólo se abren si hay K⁺ en el medio (usualmente 20-100 mM). Ocurre que cuando se retiran las pieles (trozos de tejido epidérmico) generalmente quedan funcionales sólo las células guardas, mientras que gran cantidad de las células epidérmicas se destruyen. Entonces en el tejido intacto las células guardas obtienen el K⁺ de las células vecinas o accesorias. En estas experiencias y también *in vivo* los estomas se cierran es respuesta a la aplicación exógena de ABA o se inhibe su apertura si ellos están inicialmente cerrados. De hecho esta propiedad se utiliza en un **bioensayo** donde se mide la respuesta estomática en función de la concentración del ácido abscísico. La sensibilidad de este bioensayo - **sensibilidad**: mínima cantidad diferente de cero que puede detectarse - es de 10⁻¹⁰ M. Al ABA también se lo conoce como hormona de estrés hídrico ya que su nivel aumenta considerablemente en condiciones de estrés hídrico.

El efecto del ABA también es causar la fuga de K⁺, o inhibir su influjo, de manera que el ABA en condiciones de agua limitante es capaz de poner en marcha un mecanismo de autodefensa, persistiendo el cierre estomático por algún tiempo después de haber regado las plantas. Este es el conocido efecto posterior.

Pero la complejidad del tema es contestar la pregunta sobre la mecánica del movimiento de K⁺ y iones acompañantes. Una causa primaria de tal movimiento en las células guardas que lleva a una acumulación salina es la presencia en estas células - como en otras células vegetales - de una bomba electrogénica en plasmalema que extrude protones de manera que con la generación de un mayor gradiente de potencial eléctrico de transmembrana puede conducir el transporte secundario de otros iones a través de canales iónicos. El esquema propuesto es el siguiente y una visualización global lo permite la fig. 6.19

La extrusión de protones genera una fuerza impulsora eléctrica (en el interior negativo) para la entrada del catión y un gradiente de pH a través del plasmalema, con el citoplasma más alcalino. El gradiente de pH puede luego ser disipado por síntesis de ácido málico en el citoplasma o por la absorción del Cl⁻ por co-transporte (simporte) con uno o más H⁺. Parte de la evidencia para un rol primario de una bomba de protones recae en la sensibilidad de la absorción de K⁺ y Cl⁻ a la toxina fúngica FC (fusiococcina). Un grupo de investigación que trabajó mucho con esta toxina demostró que ella estimula la extrusión protónica activa en muchas células vegetales o libera la inhibición de un factor de control endógeno (y aún en oscuridad).

Estudios recientes indican que el aumento en la conductancia estomática dependiente de luz azul es el resultado de la activación específica de esta bomba electrogénica de protones en plasmalema de las células guardas.

Hay evidencia indirecta de que la luz azul estimularía una ATPasa, p.ej. se pudo inhibir la extrusión de protones en presencia de un inhibidor de ATPasa, el dietiletilbestrol; y parece que el efecto de la luz azul es más de tipo regulatorio que el de liberar una limitación de energía para el bombeo de H⁺. Otros efectos de la luz azul en las células guardas son: **i)**

la estimulación de la actividad de la PEPcasa, habiéndose encontrado que ambas respuestas tienen un espectro de acción similar al obtenido para la respuesta estomática en luz azul. El estoma responde en luz azul a tan baja intensidad que puede ser suficiente para conducir la apertura. La posibilidad es que el fotorreceptor de luz azul pueda funcionar como un gatillo para disparar la apertura estomática. Este fotorreceptor podría ser una flavina en plasmalema y se ha especulado que la luz azul puede dar una señal para disparar la bomba, la cual es luego dirigida por respiración o fotofosforilación.

Sin embargo como el movimiento estomático puede ocurrir en oscuridad, otra interpretación alternativa es que las células guardas puedan ser capaces de derivar la energía requerida de la oxidación del C y apoyando esta sugerencia hay estudios con inhibición de estos pasos bioquímicos y otros estudios donde se ha demostrado una alta actividad de enzimas marcadores de la glicólisis y del ciclo de Krebs y del camino oxidativo de pentosas fosfato y la presencia de muchas mitocondrias en las células guardas.

Así, se encontró que la concentración de malato en estomas abiertos es 6 veces superior que en estado cerrado. Por otro lado, y al menos inicialmente, el contenido de almidón de las células guardas declina cuando el estoma se abre. Además la PEPcasa, que cataliza las reacciones en un punto metabólico de divergencia está presente en una actividad específica muy superior a la del resto de otras células foliares, Cabe aclarar que no se conoce si el almidón es degradado por una amilasa o por una fosforilasa, o qué metabolito es transportado desde el cloroplasto o la naturaleza de los procesos de transporte en el tonoplasto.

Es interesante que el PEP está en un punto de ramificación metabólica: puede oxidarse vía piruvato (a Krebs) o ser consumido directamente durante la gluconeogénesis y alternativamente puede carboxilarse a OAA. De manera que el destino metabólico del PEP debe estar regulado. Además, la carboxilación del PEP puede tener funciones diferentes. Una es atrapar CO₂ como en las células del mesófilo de las plantas C₄ y el compuesto resultante ser transportado a otras células, donde el CO₂ es liberado y subsiguientemente reducido. El ácido resultante se almacena intracelularmente hasta que la condición es favorable para la reducción del CO₂. Otra función es la de proveer protones y en este caso el malato se almacena tempranamente en vacuola, como se mencionó antes.

TRANSPIRACION Y MOVIMIENTO DE AGUA DEL SUELO A LA ATMOSFERA A TRAVES DE LA PLANTA

Medidas precisas de la cantidad de agua requerida para el crecimiento de una cosecha de maíz hasta madurez daba un equivalente de 60 cm de lluvia agregada al campo. De esta cantidad 1/4 (15 cm) se evaporaba desde el suelo y el resto, unos 45 cm, pasaba hacia la atmósfera a través de la planta. Esta evaporación de agua a través de la planta hacia la atmósfera es llamada **transpiración**. En el caso mencionado, para producir 1 kg de vegetal seco entre hojas, tallos, raíces, marlos y semillas se había transpirado 225 kg de agua y 600 kg de agua para producir 1 kg de grano seco. Estas cifras son típicas, habiendo diferencias entre especies.

¿Por qué tanta agua se pierde por transpiración para que madure una cosecha? ¿Porque una parte esencial de todas las partes del vegetal son los átomos de C que forman los esqueletos de las moléculas orgánicas que constituyen esas partes vegetales y prácticamente todo este C debe provenir desde la atmósfera!

El C entra como CO₂ a través de los poros estomáticos, mayormente sobre las superficies foliares, y el agua sale por difusión a través de los mismos poros mientras permanecen abiertos. Este es realmente el dilema que se le presenta a la planta:

Cómo obtener CO₂ tanto como sea posible desde una atmósfera donde se encuentra diluido: 0.03% en volumen y al mismo tiempo también ser capaz de retener tanto agua como sea posible, agua que debe llenar y mantener turgentes a todas las células y proveer el medio y también el sustrato para la fotosíntesis.

Es también un reto para el agricultor el cómo lograr una cosecha con rendimiento máximo con un mínimo de agua irrigada.

El entendimiento de los factores ambientales y cómo ellos influyen sobre la transpiración desde una hoja en el campo en cualquier momento así como la absorción en ella de CO₂, es una tarea difícil. Esto se debe a que los factores interactúan entre ellos de muchas maneras. No sólo los factores ambientales influyen en los procesos físicos de la evaporación y difusión, sino que la mayor parte del agua transpirada (más del 90%) y el CO₂ pasan a través de los estomas sobre las superficies foliares, estando su apertura fuertemente influenciada por el medio ambiente.

Por ejemplo un incremento de la temperatura de la hoja promueve la evaporación considerablemente y sólo ligeramente la difusión gaseosa, pero eventualmente puede causar que los estomas se cierren, si es excesiva.

En el amanecer los estomas se abren en respuesta a la intensidad de luz incrementada y la luz aumenta la temperatura de la hoja. Por otro lado un incremento en la temperatura del aire significa que el aire puede contener más humedad, de manera que se promueve la evaporación y quizás se afecte la apertura.

El viento trae más CO₂ y retira el vapor de agua, causando un incremento en la evaporación y en la absorción de CO₂.

Pero si la hoja se calienta por el sol por encima de la temperatura del aire, el viento disminuirá su temperatura, causando una disminución de la transpiración.

Cuando la humedad del suelo se hace limitante, la transpiración y la absorción de CO₂ se inhiben porque los estomas se cierran.

Medición de la transpiración

Un método consiste en armar una tienda de plástico transparente sobre un número de plantas y se miden los niveles de CO₂, humedad y temperatura del aire que entra y del que sale. Se calcula la transpiración y la fotosíntesis. El problema es cómo estamos seguros de que el medio ambiente que rodea a las plantas no está afectado por la carpa?

En el caso de plantas en macetas, ellas se pesan a intervalos sobre una balanza sensible, habiendo primero sellado el suelo contra la pérdida de agua, por medio de una bolsa de plástico. Esta técnica fue hecha primero hace unos 200 años y se conoce como **método del lisímetro**. En este caso todo el cambio de peso registrado puede atribuirse a la transpiración ya que la cantidad de agua usada en el crecimiento del vegetal es menor del 1%. En este caso el problema estriba en que las plantas en maceta no necesariamente son representativas de las otras plantas a campo después de haberlas retirado desde su lugar en el campo para pesarlas.

Para evitar este problema se construyeron grandes lisímetros con recipientes de varios metros cúbicos, colocados en el campo. La evaporación desde el suelo combinada con la transpiración de la planta se llama **evapotranspiración**. Los lisímetros proveen el método más confiable para la determinación de la evapotranspiración a campo.

Otro método de medición de la transpiración consiste en la remoción de una hoja desde la planta en el campo e inmediatamente tomar sucesivas pesadas en una balanza sensible. Se ha considerado que la pérdida de agua en el primer minuto o segundo minuto es una indicación adecuada del ritmo transpiratorio. Sin embargo, este método debería evitarse ya que el sólo hecho de cortar la hoja desde la planta cambia significativamente la transpiración.

Otro método es el **método del podómetro** que es útil cuando las velocidades relativas de transpiración se estudian por breve tiempo, pero aquí se usa una planta donde se han eliminado las raíces y por supuesto no es lógico pensar que la planta cortada funciona como la planta con raíces.

Otro método - que es una modificación de la carpa - es para usar con una sola hoja. Esta se encierra en una cubeta y se mide la humedad y el CO₂ que entra y sale a ella.

Para mediciones a campo se emplean últimamente unos equipos conocidos con el nombre de **porómetros**. Básicamente se trata de poner a la hoja en contacto con una cámara pequeña en cuyo interior existe una resistencia cuyo valor es afectado por la humedad, de manera de presentar menor resistencia cuando los estomas están más abiertos y por ende permitiendo una mayor evaporación que en el caso de encontrarse más cerrados o completamente cerrados.

Los métodos de laboratorio son más útiles para el estudio de los factores ambientales, que para seguir la transpiración.

La paradoja de los poros

Supongamos medir la velocidad de evaporación de agua desde un recipiente. Supongamos ahora hacer lo mismo pero tapando la mitad de la superficie de evaporación. Esperaríamos como resultado la mitad de evaporación.

Ahora cubramos todo excepto un 1% en la superficie del líquido. Podríamos hacerlo con papel de aluminio perforado. La pregunta es si entonces mediríamos el 1% de evaporación desde la superficie?

No! si los agujeros tienen el mismo tamaño y distribución que los estomas encontrados en la epidermis de la hoja. En este caso mediremos el 5% de la evaporación que ocurre en la superficie libre.

Entonces la paradoja está en que la hoja con un 1% de superficie libre a la difusión acuosa evapora tanto como el 5% de lo que hace una hoja de papel del mismo tamaño humedecida.

Esta paradoja se resuelve al considerar que la evaporación es un proceso de difusión y siendo todos los otros factores iguales ella está fuertemente influenciada por la profundidad del gradiente de potencial agua. Las moléculas de agua evaporando desde una superficie libre serán parte de una relativamente densa columna de agua extendiéndose encima de la superficie no teniendo entonces un gradiente abrupto de potencial agua por encima de la superficie, de manera que la evaporación no será alta. Sin embargo, las moléculas de agua difundiendo a través de un poro pueden ir en cualquier dirección dentro de una hemiesfera imaginaria centrada encima del poro. En esta situación el gradiente de potencial agua desde el poro a la atmósfera será más abrupto que encima de la superficie libre del agua. Así, la difusión del agua a través del poro será mucho más rápida que desde una superficie libre de agua. Hay datos que muestran claramente que tal evaporación es más proporcional al perímetro del poro que a su área. Este fenómeno también se ha conocido con el nombre de **efecto de borde**.

Se han hecho muchos estudios para determinar los efectos del

- tamaño de poro
- forma del poro y
- distribución sobre la velocidad de difusión.

Así, los estomas de plantas típicas muestran que sus características son óptimas para una máxima difusión de agua.

Los estomas vienen en una considerable variedad con diferentes características anatómicas. La cutícula cerosa sobre la superficie foliar restringe la difusión, de manera que la mayoría de los gases deben pasar a través de las aberturas entre las células guardas.

El agua evapora dentro de las hojas desde las paredes celulares de las células del parénquima en empalizada y desde las del parénquima esponjoso hacia los espacios intercelulares, los cuales están en contacto con el aire exterior cuando los estomas se abren. El CO₂ sigue el camino difusional reverso hacia el interior de las hojas. Muchas de las paredes celulares de ambos parénquimas (células del mesófilo) están expuestas a la atmósfera foliar interna.

Los estomas que son entre el 1 y 5% de las células epidérmicas pueden existir sólo en la parte inferior de las hojas, pero a menudo se encuentran en ambos lados habiendo mayor cantidad en la cara inferior. En algunas plantas como en el caso de pinos, existen en una cripta subestomática. La presentación de estomas hundidos puede significar una adaptación para reducir la transpiración.

Típicamente, los estomas de dicotiledóneas tienen forma de riñón y los de monocotiledóneas de clava. Las células estomáticas tienen unos pocos cloroplastos, mientras que el resto de las células epidérmicas rara vez los poseen. En algunas especies parece que existen pocos o ningún plasmodesmo conectando las células guardas y las células del mesófilo subyacente.

El agua en el suelo

El contenido de agua en el suelo, así como su movimiento, depende mayormente del tipo de suelo. La tabla 4.1 indica que las características de diferentes suelos pueden variar mucho. En un extremo está la arena en la cual las partículas pueden ser de 1 (un) mm o mayores. En el caso de suelos arenosos aparece entonces una baja superficie por gramo de suelo y presentan canales o grandes espacios entre las partículas.

En el otro extremo están los suelos arcillosos con partículas con menos de 2 μm de diámetro. Los suelos arcillosos presentan mayor área superficial y canales menores entre partículas.

Los espacios entre partículas de suelo pueden estar llenos de solución del suelo o de aire.

En el caso de una buena irrigación por lluvia, el agua percola por gravedad a través de los espacios entre partículas, pudiendo atrapar o desplazar aire en estos canales. El agua en el suelo puede existir como un film que se adhiere a las partículas o bien puede llenar completamente los espacios entre ellas. En suelos arenosos los espacios son tan grandes que el agua tiende a drenar y entonces permanece sólo sobre las superficies de las partículas y en los intersticios entre partículas.

En suelos arcillosos, el agua es retenida más efectivamente ya que los canales intersticiales son tan pequeños que el agua no puede drenar fácilmente. Este fenómeno es reflejado en el contenido de humedad de los suelos o capacidad de campo, que es grande para suelos arcillosos o con gran contenido de humus y mucho menor para suelos arenosos. La **capacidad de campo** se refiere al contenido de agua de un suelo después de haber sido saturado con agua y permitido que drene el exceso de agua.

El potencial agua de un suelo para cultivo después de haber drenado siguiendo a una irrigación a saturación tiene un valor aproximado a 0,03 MPa.

El potencial agua del suelo también tiene los componentes osmóticos y de presión. El osmótico es generalmente bajo: 0,001 MPa. Para suelos salinos puede ser alrededor de 0,2 MPa o más.

El componente P depende mayormente del contenido de agua del suelo. Es siempre igual o menor que cero, esto es el agua en los suelos está bajo tensión. A medida que el suelo se seca, P decrece y por esto en suelos áridos pueden obtenerse valores cercanos a -3 MPa.

La pregunta es de dónde proviene esta presión negativa en los suelos?

El agua posee una alta tensión superficial de manera de minimizar las interfases aire-agua. Cuando el suelo se seca, primero el agua se retira de los espacios intersticiales. Pero como hay fuerzas de adhesión que empiezan a manifestarse entre las partículas y el agua permanecerá un película de agua generándose una gran área superficial entre el agua y las partículas. A medida que más agua se retira, las superficies agua-aire se estiran y se forman meniscos, apareciendo la tensión sobre el agua ($P = -2T / r$ con T: tensión superficial, r, radio de curvatura del menisco). Véase la fig. 4.1.

El movimiento del agua en los suelos es principalmente por flujo masal, aunque también ocurra difusión. A medida que una planta crece absorbe agua y alrededor de las raíces produce una depresión en la P del agua, de manera que se establece un gradiente de presión entre el agua de la interfase agua-raíz y el agua más alejada, permitiéndose el establecimiento de un flujo masal. La velocidad del movimiento va a depender del gradiente de P y de la conductividad hidráulica del suelo, la cual es una medida de la facilidad con la cual el agua puede moverse a través del suelo y varía con el tipo de suelo. Así los suelos arenosos presentan una alta conductividad hidráulica. También afecta la conductividad hidráulica el contenido de agua del suelo. En la figura 4.2 se muestra que cuando el potencial agua decrece, también lo hace la conductividad hidráulica del suelo, que se debe principalmente a un reemplazo del agua del suelo por aire. En efecto, cuando el aire se aloja en un canal que tenía agua, el movimiento del agua se restringirá ahora a la periferia, de manera que si se ocupa mucho con aire, el agua sólo tendrá unos pocos canales y la conductividad hidráulica caerá.

Cuando un suelo se seca suficientemente, el potencial agua puede caer por debajo del denominado punto de marchitez permanente - alrededor de -,15 MPa para un suelo agrícola medio - y en esta condición la planta no recuperará la turgencia celular durante la noche, aún después de regarla, cuando la transpiración cesa.

Cuál es la ventaja selectiva de la transpiración? La teoría de la evolución implica que todas las características de los organismos vivientes deben conferir alguna ventaja a sus poseedores o bien ser inocuas.

Esto significa que si hay una característica dañina o perjudicial sería eliminada por el proceso de selección natural. Si esto es así y la transpiración todavía existe en las plantas....entonces cuál es su ventaja o utilidad?

Es posible pensar que se trata de una suerte de ganar descuidándose, ya que es absolutamente esencial para una planta terrestre poder absorber CO_2 desde la atmósfera. Pareciera entonces que la mecánica estomática ha evolucionado para permitir esto y la consecuencia ha sido la transpiración.

En cuanto al O_2 , es probablemente debido a la alta concentración de O_2 en la atmósfera que los estomas no necesitan estar abiertos para absorberlo.

Podría argumentarse que la transpiración no es ni esencial ni tiene ninguna ventaja - otra que no fuera la de absorber CO_2

- ya que la mayoría de las plantas pueden crecer bien en todo su ciclo vital en atmósferas de 100% HR, donde la transpiración está muy reducida. Y es conocido el hecho de que las plantas crecen mejor en altas HRs.

Sin embargo se ha revelado en distintos estudios que la transpiración parece otorgar algún beneficio a la planta. Estos beneficios radican en la colaboración en el transporte de minerales y en la disipación de calor.

Transporte de minerales

Los minerales absorbidos por las raíces, típicamente se mueven hacia arriba a través de la planta en la corriente transpiratoria. Pero es esta corriente esencial para este movimiento? Van a ver más adelante que en el vegetal hay una suerte de circulación. El agua se mueve desde órganos asimiladores hacia los utilizadores en el tejido floemático y aún no habiendo transpiración este agua retornará a través del tejido xilemático.

Tal circulación fue comprobada con trazadores radiactivos.

De manera que puede pensarse que la transpiración no es esencial para el movimiento de minerales dentro de la planta. Es más, la velocidad a la cual los minerales llegan a las hojas será una función de la velocidad del movimiento dentro del tejido xilemático, siempre que exista entrada de minerales al xilema. La comparación que puede hacerse es con una cinta

transportadora sin fin en un almacén. La velocidad a la cual la mercancía es entregada por ella es una función del cargado y no depende de la velocidad a la cual se haga funcionar la cinta.

Sin embargo, lo cierto es que cuando hay transpiración y los nutrientes en el suelo no son limitantes, entonces la transpiración puede ayudar en la absorción de los minerales desde el suelo y en el transporte en la planta.

P.ej: en un estudio se hacía crecer plantas de tomate en un invernáculo con una alta HR. Así se reducía la transpiración, aunque no completamente, ya que las hojas al sol permanecían algo más calientes que el aire.

En esta condición, las plantas mostraron algunos síntomas de deficiencia de Ca^{2+} . De manera que el transporte de calcio necesitaba una transpiración activa.

Si es que las plantas no crecen tan bien a 100% HR como cuando hay mayor transpiración pudiera suceder que las células funcionan mejor con algún déficit de agua, esto es, podría existir una turgencia óptima, diferente de una máxima turgencia, de manera que fuera de ella las funciones vegetales son menos eficientes. Pero realmente no es el problema de mucho agua lo que preocupa al productor agrícola y por ende al fisiólogo vegetal.

El problema es agua insuficiente, esto es, un potencial agua en suelo y planta muy bajos.

Como vimos, la expansión celular requiere la presión de turgencia establecida por ósmosis en las células. De manera que la expansión celular, i.e. el crecimiento, es la primera respuesta vegetal a ser inhibida por un estrés hídrico en aumento.

La **dendrología**, es decir el estudio de los anillos en los árboles, provee una buena indicación: En los años en que hubo agua a disposición, las células aparecen grandes y los anillos son anchos, mientras que en años más secos son más angostos.

Necesidad de intercambio de energía a través de la transpiración

Por años los fisiólogos argumentaron acerca de si la transpiración era necesaria para enfriar una hoja calentada al sol. Por un lado la transpiración es un proceso refrigerante y esto es un hecho. Pero se argumentó que si la transpiración no enfriaba la hoja, entonces otros procesos lo harían, aunque se convenía que la temperatura foliar podría tener algunos grados más.

Sin embargo en la naturaleza la transpiración ocurre como tal y es un poderoso proceso refrigerante.

Si uno recuerda la distribución de Maxwell que muestra en una población de moléculas cómo se distribuye la energía entre sus moléculas y lo aplicamos al caso del agua entonces podemos ver que son las moléculas de agua con mayores velocidades las que evaporan y a medida que ellas dejan el líquido, la velocidad promedio de las moléculas remanentes es inferior, o en otras palabras el agua está más fría. El **calor latente de vaporización del agua a 30 °C es 580 cal /g**. Las plantas evaporan tremendas cantidades de agua en su medio ambiente y por cada gramo de agua se absorben aproximadamente 580 cal desde la hoja y su medio ambiente.

En los invernaderos en climas cálidos a menudo se los refrigera por evaporación: se tira aire sobre una esponja fibrosa húmeda.

Hay distintos factores que influyen la temperatura foliar, siendo uno de ellos la transpiración, disminuyendo su temperatura.

Pero en el caso de la condensación de humedad (rocío) o formación de hielo sobre la hoja, se libera calor latente de condensación o fusión al medio ambiente y algo de este calor es absorbido por la hoja de manera que su temperatura aumenta.

Por otro lado, la radiación que le llega a la hoja la calienta. A su vez, la hoja misma está irradiando energía al medio ambiente (todos los cuerpos por encima del cero absoluto irradian energía).

Si la hoja se encuentra a una temperatura diferente de la del aire circundante, entonces intercambiará calor directamente primero por **conducción**, en la cual la energía de las moléculas de aire sobre la superficie de la hojas es intercambiada directamente con las moléculas de aire en contacto y luego por **convección**, en la cual una cantidad de aire que se ha entibiado se expande, se vuelve más liviano y por ello se eleva. Es habitual referirse a ambos procesos como **convección** a fin de simplificar la discusión.

Si como usualmente ocurre, la temperatura de la hoja está cambiando, entonces la hoja almacena o cede calor. Si una hoja delgada almacena una dada cantidad de calor, su temperatura se eleva. La misma cantidad de calor almacenada por un cactus elevará mucho menos su temperatura.

Hay otras posibilidades de intercambio de energía:

Algo de energía radiante es absorbida por la hoja y convertida en energía química en la fotosíntesis y como es una proporción pequeña de la energía luminosa total, la ignoramos. También en la respiración se está produciendo algo de energía como en todo proceso metabólico y también resulta no significativo en nuestra discusión.

Entonces para permitir un estado de temperatura foliar estacionaria, los tres procesos que inciden son: **radiación, convección y transpiración**.

La hoja absorbe luz y radiación invisible infrarroja desde su medio ambiente, pero también irradia energía infrarroja. Si la hoja recibe más energía que la que irradia, entonces para mantener la temperatura constante deberá disipar el exceso de energía, lo cual podrá hacerlo por convección y/o transpiración.

Durante la noche la hoja podrá estar irradiando más energía que la que absorbe y en este caso probablemente absorberá calor desde el agua que se condensa como rocío sobre su superficie.

Cuando se considera la radiación neta que pueda afectar a una hoja hay que considerar:

- el espectro de absorción de la hoja
- la calidad de radiación que cae y que depende del origen de la luz, esto es de la fuente y
- que la energía radiante emitida por la planta está en la porción infrarroja del espectro.

En cuanto a la luz absorbida por las hojas, ésta es el remanente de la luz incidente que en parte fue transmitida y en parte reflejada por la hoja.

La energía absorbida dependerá de su longitud de onda. Las hojas que se irradian con luz blanca absorben mayormente en la longitud de onda del azul y rojo y una considerable porción del verde. Sin embargo la mayor parte del verde es reflejada y transmitida y por ello las hojas aparecen verdes.

Las hojas absorben muy poco en la zona del infrarrojo cercano del espectro, siendo la mayoría de esta radiación transmitida y reflejada; de manera que si nuestros ojos pudiesen ver en esta parte del espectro, la vegetación parecería muy brillante y esto es lo que se observa en fotografías tomadas con film sensible al infrarrojo.

Dijimos que todos los objetos por encima del cero absoluto emiten en el infrarrojo y para objetos a temperatura ordinaria, la mayoría de la irradiación está en el infrarrojo lejano del espectro, de manera que las plantas están recibiendo esta radiación desde su medio ambiente incluyendo las moléculas de aire desde la atmósfera. La cantidad total de radiación así recibida puede ser una porción importante del total de la energía radiante del medio, incluyendo la luz solar. Obviamente, la luz absorbida por una planta dependerá del espectro de absorción de la hoja y del espectro de emisión de la fuente luminosa que ilumine a la planta. Por ello la luz absorbida variará bastante ya que tanto el espectro de absorción como el de emisión de la fuente varían, pudiendo absorberse en situaciones comunes del 50 al 90% de la luz incidente. La absorción es alta cuando las plantas son iluminadas con luz blanca fluorescente, ya que la hoja absorbe fuertemente a la mayoría de las longitudes de onda en que el tubo emite. La absorción es algo menor cuando se usa luz incandescente, la cual es rica en la porción del infrarrojo cercano, que es poco absorbido por las plantas.

La energía radiante emitida por el vegetal es emitida en la parte del infrarrojo lejano del espectro. Esta cantidad se establece con la ley de Stefan-Boltzmann, que establece que la energía emitida es función de la cuarta potencia de la temperatura absoluta; de manera que a medida que la temperatura foliar incrementa en la luz solar, la energía que la hoja emite va aumentando en una forma muy marcada y entonces la hoja se calienta menos de lo que de otra forma sería. Sin embargo sobre la escala absoluta hay un rango estrecho, entre 273 y 310 °K, el cual es compatible con las funciones vitales. Así y todo la energía re-emitida puede ser bastante importante.

Cuando un vegetal está recibiendo radiación solar, incluyendo el infrarrojo cercano de todos los objetos circundantes - del cielo, nubes, árboles, rocas, y suelo - la energía que puede estar emitiendo desde la hoja es usualmente mayor que el 50% de la energía radiante absorbida.

El otro proceso refrigerante es, como dijimos, el que aprovecha la conducción-convección del calor. En efecto, en respuesta a un gradiente de temperatura entre la hoja y la atmósfera habrá una transferencia convectiva de calor desde la hoja a la atmósfera. Si la hoja está más caliente, el calor se va a mover de la hoja a la atmósfera y la fuerza impulsora es la diferencia de temperatura. A mayor diferencia de temperatura, mayor será la fuerza impulsora para la convección. Para una diferencia de temperatura dada, la velocidad de transferencia convectiva del calor dependerá de la resistencia a la convección. Esta situación es exactamente análoga a la **ley de Ohm**: La velocidad es proporcional a la fuerza impulsora e inversamente proporcional a la resistencia.

Para el entendimiento de la resistencia en la transferencia convectiva de calor es útil utilizar el concepto de **capa límite**, conocida también como capa no agitada. La capa no agitada es la zona de transferencia del fluido, sea éste gas o líquido, en la cual distintas propiedades como la temperatura foliar, la presión de vapor, o la velocidad del fluido están influenciados por el mismo objeto. Más allá de la zona de la capa límite no hay influencia del objeto sobre el medio.

Debido a la profundidad del gradiente se puede entender que la transferencia convectiva del calor será más rápida cuanto más delgada sea la capa límite y menos rápida cuanto más gruesa. Dicho de otra forma, una capa límite más gruesa implica una mayor resistencia a la transferencia convectiva de calor. Usualmente, hay algo de movimiento de aire alrededor de la hoja, desde una ligera brisa hasta un viento de alta velocidad, siendo más delgada la capa límite para el segundo caso de manera que hay menor resistencia. La capa límite también es más delgada en la proximidad del borde que enfrenta al viento. Además, si la superficie de la hoja es paralela a la dirección del movimiento del viento, la capa límite se engrosa desde el borde conductor hacia el centro de la hoja. Las hojas más pequeñas y especialmente las agujas de coníferas tendrán las capas límites más delgadas y por ello una convección más efectiva, a diferencia de las hojas grandes que presentan capas límites mayores.

Así, las hojas más pequeñas tendrán su temperatura más cercana a la del aire que las mayores, debido a su mayor eficiencia para la transferencia de calor, especialmente si hay viento.

En cuanto a la transpiración, la fuerza impulsora reside en la diferencia de presión de vapor de agua entre el interior de la hoja y la atmósfera más allá de la capa límite.

La resistencia a la transpiración es parcialmente la resistencia de la capa límite y hasta aquí la transpiración y la transferencia convectiva de calor son similares.

Hay una resistencia adicional a la transpiración: los estomas. Si los estomas están cerrados o casi cerrados, la resistencia a la transpiración podrá ser muy alta. Si ellos están abiertos, la resistencia es relativamente baja. Como la resistencia también depende del espesor de la capa límite, siendo delgada en aire en movimiento, será en ese caso donde el cierre estomático proveerá un adecuado control de la pérdida de agua, en comparación al caso de ausencia de aire, donde el movimiento estomático no es efectivo para modificar de manera significativa la pérdida de agua a través de los estomas. Esto se ve claramente en la fig. 4.11.

Además de la estomática, en la hoja pueden existir otras resistencias, aunque usualmente son constantes.

Es esperable que la resistencia cuticular pueda variar también con la humedad atmosférica, la temperatura y otros factores, pero siempre es relativamente alta, de manera que generalmente no se la considera.

Lo importante a considerar es que siempre hay una resistencia foliar o sea que la hoja no es una simple hoja de papel mojado.

La resistencia foliar puede variar sobre un amplio rango, dependiendo también en la forma que los factores del ambiente afecten la apertura estomática.

En la consideración del gradiente de presión de vapor, son importantes la humedad y la temperatura.

Como una primera aproximación se pueden imaginar a los espacios internos de la hoja como si estuviesen a saturación, esto es a 100% HR, a la temperatura foliar. En realidad está a algo menos dado que en el equilibrio, el potencial agua de la atmósfera interna de la hoja debe ser igual al de las superficies desde las cuales se produce la evaporación del agua y probablemente estará entre - 0,5 y 3 MPa. Ello, no obstante, será equivalente a una HR% de aproximadamente 98% o superior

$$\text{Potencial agua} = (RT/V_w) \ln (\text{HR\%} / 100) \quad \text{ó}$$

$$\text{Potencial agua} = 10.7 T \log (100 / \text{HR\%}) \text{ bares}$$

Tal alta HR raramente se encuentra en la atmósfera más allá de la capa límite, de manera que aún si la hoja está exactamente a la misma temperatura que la atmósfera más allá de la capa límite, bajo la mayoría de las condiciones habrá un gradiente de presión de vapor con más altos valores de presión de vapor en el interior de la hoja comparado con la atmósfera. La temperatura puede acentuar marcadamente el gradiente de presión de vapor, ya que la presión de vapor es una función de la temperatura. La presión de vapor aproximadamente se duplica por cada 10 °C de aumento. Así, si tenemos aire a 100% HR a 21°C, si se lo calienta a 30 °C tendrá aproximadamente un 50% de HR, con lo cual se entiende que el aire tibio puede contener más agua que el aire frío. Desde la gráfica se obtiene que con aire a 20 °C y a una HR% de 10% se puede establecer una diferencia de presión de vapor de 21 mbares entre la hoja y el aire, siempre que ambos estén a la misma temperatura cuando la HR de la hoja tiende a 100%. Es decir:

$$\text{a } 20 \text{ °C y la HR\% } 100\% \quad p_v = 23 \text{ mbares}$$

$$\text{a } 20 \text{ °C con HR\% } 10\% \quad p_v = 2 \text{ mbares}$$

$$\text{y entonces el } \Delta p_v = 21 \text{ mbares}$$

Sin embargo, si la hoja está a 30 °C y la HR de aire es 90% a 20 °C aún va a existir una diferencia de presión de vapor de unos 22 mbares.

$$\text{a } 30 \text{ °C y } 100\% \text{ HR} \quad p_v = 43 \text{ mbares}$$

$$\text{a } 20 \text{ °C y } 90\% \text{ HR} \quad p_v = 21 \text{ mbares}$$

De manera que si la hoja está considerablemente más caliente que el aire, lo cual es un fenómeno común en luz solar, entonces la transpiración puede ocurrir en una atmósfera que tiene un 100% HR. En este caso, a medida que el vapor de agua va más allá de la capa límite, puede condensarse porque es inferior la temperatura de formación de rocío y entonces la apariencia es la de un bosque o campo hirviendo después de una tormenta.

El ascenso del agua en la planta

Uno de los arboles mayores, al menos que se haya medido, es una sequoia gigante que se llama Howard Libbey y que se encuentra en California. En el año 1970 se había estimado que media 111,6 metros de altura. En un árbol de tal tamaño el agua debe moverse desde las raíces hasta las hojas más altas, en una distancia vertical que excede los 112 metros.

Nos podemos preguntar cual es entonces el mecanismo que es capaz de elevar el agua a semejantes alturas?

Aunque uno tiende a considerar la altura de esos arboles sin prestarle mayor importancia, el reto se puede apreciar cuando uno empieza a considerar sobre la forma en que el agua puede ascender a esas alturas a velocidades tan rápidas.

Una bomba de succión sólo podrá levantar agua hasta la altura barométrica, esto es la altura de agua apoyada desde abajo por la presión atmosférica, esto es a una altura de 10,3 m a 760 mm Hg.

Si se llena con agua un tubo largo cerrado en uno de sus extremos y luego se lo coloca invertido verticalmente con la extremidad abierta hacia abajo y en una cuba de agua, entonces la presión de la atmósfera podrá soportar una columna de agua de 10,3 m. Esto es, el agua que tiene un peso específico cercano a la unidad comparado con los 13,5 g /cc del Hg, debería llenar en condiciones normales una columna de $13,5 \times 0,76 = 10,26$ m para ejercer la misma presión que una columna de 76 cm de largo de Hg.

A esta altura la presión es igual a cero y por encima de la superficie del líquido en la columna de agua, se convertirá en vapor; esto es, a la presión cero el agua normalmente hervirá en el vacío aún a 0 °C, de manera que se forma vapor y aparecen burbujas de aire que salen desde la solución. Se dice entonces que la columna cavita.

De manera que para elevar el agua desde el nivel de la tierra al tope del árbol de 112 m se necesita aplicar en la base una presión de

$112/10,3 = 10,4$ atmósferas. Esta presión, más la adicional para vencer las resistencias del camino del agua en la planta y además mantener el flujo. Si esto requiriera una presión adicional equivalente a la calculada, entonces se deberían aplicar en la base del árbol unas 22 atmósferas.

Claramente el agua no es empujada al tope de los arboles por la presión de una atmósfera.

Sin embargo, menores presiones radicales se han observado en algunas especies, con valores de 5 a 6 atmósferas. Esto se ha medido cortando una planta y acoplándole un manómetro de Hg, lo cual permite visualizar que efectivamente el agua es forzada desde abajo por una presión considerable.

Esta presión radical aparece en la mayoría de las plantas pero sólo cuando hay buena disponibilidad de agua en el suelo y cuando las HR ambientales son alta, esto es en una condición donde la transpiración es excepcionalmente baja. Por ejemplo, es común ver gotitas de líquido exudadas en las puntas de las hojas de gramíneas, fenómeno que se llama **gutación**.

Sin embargo, cuando las plantas están en atmósferas relativamente secas y en condiciones de bajo contenido de agua en el suelo, la presión radical no aparece porque el agua en los tallos se encuentra bajo tensión en lugar de encontrarse bajo presión.

Las presiones radicales no se observan en árboles altos.

Por otra parte las velocidades de movimiento del agua por presión radical son demasiado lentas como para justificar el movimiento del agua en árboles. De manera que es rechazada esta posibilidad para árboles altos.

Otra posibilidad que se planteó fue el ascenso capilar. La **capilaridad** es el ascenso de líquido en tubos pequeños. Esto ocurre porque el líquido moja las paredes del tubo por adhesión y es tirado hacia arriba por la fuerza originada por la tensión superficial que aparece en el menisco curvado en el tope de la columna de líquido.

De manera que es fácil ver que el agua se elevará una distancia menor que medio metro en capilares del diámetro de los elementos del xilema de los tallos de las plantas. Otra negación a esta idea es que cuando el agua se eleva requiere que los capilares estén abiertos. Sin embargo, en los vegetales, los tubos del xilema están mayormente llenos de agua, es decir que no tienen meniscos abiertos.

En el caso de los meniscos submicroscópicos de las microfibrillas de celulosa de las paredes celulares, se piensa que ellos pueden actuar como puntos de sostén del agua pero que en ellos no radica la fuente del movimiento.

Hace varios años se sugirió que el agua se movía en respuesta a alguna función viviente o acción de bombas por las células, pero no se ha encontrado ninguna prueba de ello. Por ejemplo, el movimiento ascensional del agua seguía ocurriendo aún después de haber envenenado la planta con distintos venenos y aún serruchando los tallos en forma alternada en su longitud.

Hipótesis de la cohesión-adhesión para el ascenso del agua

Esta hipótesis formulada por Dixon a principios de siglo sigue teniendo el mayor atractivo en la explicación del ascenso del agua. Uno de sus elementos es la propiedad de **adhesión** del agua. Hay muchos datos en la actualidad que apoyan esta teoría. En ella hay tres elementos básicos, a saber:

- la fuerza impulsora,
- la hidratación en el camino por adhesión a las sustancias del camino y
- la cohesión de las moléculas del agua.

La fuerza impulsora es, como se vio, el gradiente decreciente en el potencial agua desde el suelo hacia la atmósfera a través de la planta (ver fig. 4.12).

El agua se mueve en el camino desde el suelo a través de la epidermis, corteza y endodermis, dentro del tejido vascular de las raíces, hacia arriba a través del xilema del leño, al interior de las hojas y finalmente por transpiración a través de los estomas hacia la atmósfera. Y es la estructura especial de este camino, es decir el relativamente pequeño diámetro y espesor de las paredes de los tubos, y la propiedad de imbibición de las paredes celulares del parénquima foliar los que hacen que el sistema sea funcional.

Las fuerzas de imbibición o hidratación entre las moléculas de agua y las paredes celulares, se debe a uniones hidrógeno y es llamada adhesión, la cual es una fuerza atractiva entre moléculas disímiles.

La tercer clave es la **cohesión**, esto es, la fuerza de atracción mutua entre moléculas de agua que también se debe a sus uniones H. En el ambiente del camino del agua, las fuerzas cohesivas son tan grandes que el agua puede ser tirada desde la punta de los árboles altos por la evaporación en la atmósfera, y este estiramiento puede extenderse por todo el trayecto hacia abajo a través del tronco y las raíces y hasta el suelo mismo.

Como se vio antes, el agua en una columna en un tubo vertical y sometida a tensión a la temperatura ambiente cavitara, pero en la planta la adhesión y la cohesión trabajan y la cavitación no ocurre, también esto particularmente por la anatomía del vegetal.

En la fig. 4-12 se presenta un resumen de la **teoría coheso-tenso transpiratoria**.

¿Qué se requiere para generar un tensión de -0,3 MPa y que el agua se eleve?

La clave es la gran capacidad del aire seco para contener vapor de agua. En efecto, a medida que la HR del aire cae por debajo del 100%, su afinidad por agua aumenta dramáticamente. Ello se debe a que existe, como se vio, una relación logarítmica entre el potencial agua y la HR. Así tendremos que a 20 °C:

una HR del 100%	provee un	Pot. agua =	0 MPa
una HR del 98%	" "	Pot. agua =	- 2,8 MPa
una HR del 90%	" "	Pot. agua =	- 14,3 MPa
una HR del 50%	" "	Pot. agua =	- 94,4 MPa
una HR del 10%	" "	Pot. agua =	-314,0 MPa

De manera que el aire no tiene por que ser muy seco para establecer un abrupto gradiente de potencial agua desde el suelo, a través de la planta y hacia la atmósfera.

Si existe una buena disponibilidad de agua en el suelo, entonces el potencial agua tiene un valor cercano a cero (fig 4.15).

Si este agua tiene que ser tirada hacia arriba a través del tronco hacia las hojas superiores de los árboles más altos, entonces las hojas de los árboles tendrán que tener valores de potencial agua tan negativos como -3 MPa o menores. Además, si las células de estas hojas han de estar turgentes, aún sus potenciales osmóticos tendrán que ser más negativos o el agua difundiría de las células plasmolizándolas. En efecto se miden potenciales osmóticos de -2 a - 4 MPa. Incluso las células con altas concentraciones salinas pueden tener potenciales osmóticos más negativos que los mencionados, pero el potencial osmótico del agua del suelo también puede ser algo más negativo como en los suelos salinos donde crecen usualmente las halófitas.

En la fig.4.15 se presenta gráficamente una situación similar a la antes descrita.

Los potenciales agua en el suelo, raíces, tallos o troncos, hojas y en la atmósfera dependerán del suelo, de las especies vegetales, del clima y de otros factores. Pero, si el agua se mueve vía el mecanismo de cohesión, la fuerza impulsora deberá exceder la diferencia de presión requerida para levantar y mover el agua desde el suelo y la atmósfera y de no mediar esta situación el agua no se moverá.

Si la cohesión es operativa, entonces deberá existir una tensión en el tallo y una forma de corroborar la existencia de esta tensión es mediante el uso de la **bomba de Scholander** para medir el potencial agua.

El movimiento del agua mediante este mecanismo es permitido gracias a la anatomía altamente especializada del camino. Para entender mejor esto es necesario recordar aspectos de la anatomía vegetal.

El agua que se mueve a través del tallo y hojas entra primero por las raíces. El tejido xilemático del centro de la raíz es continuado con el tejido xilemático del tallo. También está estrechamente relacionado con el floema, tejido conductor a través del cual se mueven azúcares disueltos y otros asimilados.

A medida que la raíz crece en diámetro, las células entre el xilema y el floema forman un **cambium vascular** que produce mayormente tejido xilemático hacia el interior y floema hacia el exterior.

Los elementos del **floema** y **xilema** están rodeados por una capa de células vivas llamada el **periciclo**. El tejido vascular y el periciclo forman el tubo de células llamado **estela**.

En la capa exterior de la estela hay una capa de células llamada **endodermis**. Estas células son especialmente importantes desde el punto de vista del movimiento del agua en el vegetal debido a que sus paredes celulares radial y transversal están impregnadas con **suberina**, la cual como la lignina y la cutina en la cutícula, es bastante impermeable al agua. Las paredes tangenciales de la endodermis no están impregnadas con suberina.

De manera que el agua con sus sustancias disueltas no pueden pasar alrededor de las células endodérmicas vía sus paredes celulares sino que deben pasar directamente a través del protoplasto, esto es el contenido celular excluyendo las paredes.

El engrosamiento impermeable al agua alrededor de las células endodérmicas se conoce con el nombre de **bandas de Caspary**.

Exterior a la endodermis hay varias capas de células relativamente grandes con paredes delgadas, a menudo con considerables espacios intercelulares, llamada la **corteza**. Sus paredes celulares son altamente permeables al agua y solutos disueltos y así es bastante probable que el agua pueda ingresar a la raíz, moviéndose en el trayecto de paredes celulares en la corteza hasta que encuentra la capa endodérmica en cuyo caso debe pasar directamente a través del protoplasto celular.

La capa de células delgadas sobre el exterior de la corteza es la **epidermis**. Esta capa de células raramente tienen una capa de cutícula cerosa comparable a la encontrada sobre la epidermis de tallos y hojas. En lugar de esto el agua puede pasar fácilmente a través de la capa epidérmica. Es más, algunas células epidérmicas desarrollan prolongaciones largas llamadas pelos radicales, los cuales se extienden entre las partículas de suelo y alrededor de la raíz, incrementando mucho la superficie de absorción de agua y el volumen de suelo penetrado.

La mayor parte del agua y minerales absorbidos por la planta es a través de sus pelos radicales.

Las puntas de raíces están continuamente creciendo a través del suelo, encontrando nuevas regiones de humedad. Una **cofia** protege las células meristemáticas y es continuamente descamada en la punta siendo reparada por divisiones de estas células meristemáticas.

Ya que los tejidos de la endodermis y de la estela se van formando a medida que las células meristemáticas se dividen, aumentan de tamaño, se elongan y diferencian, la estela está abierta en el extremo donde está siendo formada. Entonces la pregunta es si el agua podría pasar por ese extremo obviando la capa endodérmica? Estudios con colorantes y agua tritiada indican que esto no ocurre, quizás porque las células meristemáticas son tan pequeñas y densas que la resistencia al agua es muy alta.

La mayoría del agua entra entonces a través de los pelos radicales y sus células epidérmicas asociadas en la región de una raíz joven donde los vasos xilemáticos están maduros.

Presión radical y concepto de apoplasto y simplasto

Ocurre que el agua y sus solutos disueltos pueden moverse libremente por difusión y flujo masal dentro de una cierta porción del vegetal, probablemente por las paredes celulares y por los espacios intersticiales no ocupados por gas.

Se llama **espacio libre aparente (ELA)** a aquella porción del volumen del vegetal que puede estar en equilibrio de libre difusión con el medio que rodea al vegetal.

En un experimento básico se permite que el tejido vegetal, por ej. raíces o rebanadas de tejido tuberoso, entren en equilibrio de difusión con una solución de composición y constitución conocidas.

Conociendo la concentración y cantidad de un soluto en la solución al comienzo y después que se logró el equilibrio, se puede calcular cuánto soluto entró en el tejido. Por supuesto algunos solutos cruzaron las membranas hacia adentro de los protoplastos y esto debería corregirse. Pero conociendo la cantidad de soluto que ha difundido dentro del tejido y que no ha atravesado las membranas, y que puede difundir hacia afuera fácilmente si el tejido se coloca en agua pura, es posible calcular la porción del volumen de tejido ocupado por el soluto.

Por ej.

El espacio libre consiste de un 7 a un 10% del volumen de muchos tejidos y cuidadosas medidas sobre micrografías de tejidos de vegetales indican que ese % bien puede estar dado por las paredes celulares y los espacios intercelulares no ocupados por gas. Es muy probable que el agua y solutos puedan penetrar por difusión por las paredes celulares.

En el año 1932 antes de introducir el concepto del ELA, el fisiólogo alemán E. Munch introdujo un nuevo concepto de valor en la discusión del camino del agua en la planta. El sugirió que las paredes celulares interconectadas y los elementos del xilema llenos de agua deberían considerarse como un único sistema que denominó **apoplasto**. Es decir en cierto sentido, la parte no viva del vegetal. Consiste de todas las paredes celulares en la corteza de la raíz y técnicamente las paredes de la endodermis, aunque para nuestros propósitos no incluiría las bandas de Caspary de las células endodérmicas que tienen suberina que es hidrófoba.

Todas las traqueidas y vasos en el xilema serían también parte del apoplasto como también lo son todas las paredes celulares del resto de la planta, incluyendo aquellas de tejidos tales como floema, otras células en la corteza y en las hojas. Se entiende que el ELA no sería equivalente al apoplasto, puesto que termina en las bandas de Caspary.

Excepto por el engrosamiento de la endodermis, el ascenso del agua en el vegetal tendría lugar por el apoplasto, particularmente la porción de xilema, pero incluyendo las paredes celulares de la corteza y aún las de las células vivas en las hojas. Munch también denominó al resto de la planta, la porción viva, como **simplasto**. Este incluiría el citoplasma de todas las células en la planta, aunque probablemente no incluiría a las vacuolas grandes rodeadas por citoplasma en la mayoría de las células.

Se ha encontrado que el citoplasma de células adyacentes se encuentra conectado por pequeños poros en las paredes celulares. Esas conexiones citoplasmáticas reciben el nombre de **plasmodesmos**.

Basados sobre la teoría del simplasto-apoplasto, en 1938 Crafts y Broyer propusieron un mecanismo para explicar la presión radical. Una versión ligeramente modificada de su modelo, hasta hace poco, parece razonable.

Asumamos que la raíz está en contacto con la solución del suelo. Los iones difundirán hacia el interior a través de la epidermis vía el apoplasto, pasando por la corteza y hasta la endodermis (ELA). A lo largo de este camino, los iones pueden pasar a través de membranas desde el apoplasto al simplasto en un proceso activo, requiriendo energía metabólica proveniente de la respiración. El resultado es una acumulación de iones dentro de las células, en el simplasto, a niveles más altos que en el apoplasto. El simplasto es continuo a través de la endodermis de manera que los iones pueden moverse libremente hacia el periciclo y otras células dentro de la estela. Esto podría ocurrir bien por difusión a través de plasmodesmos, y su velocidad de movimiento hacia el interior podría incrementarse por la corriente citoplásmica o flujo circular - ó **ciclosis** - del citoplasma que a menudo se observa en el interior de tales células. Dentro de la estela hay menos concentración de O_2 que el que hay en las células más externas. Entonces Crafts y Broyer sugirieron que esto podría resultar en una menor retención de iones, que entonces fugarían hacia el apoplasto del xilema dentro de la estela. Ahora parece que por lo menos algunos iones son bombeados activamente dentro de la estela.

En cualquier caso, habría una elevación en concentración de solutos dentro del apoplasto en la estela a un nivel superior a aquel de la solución del suelo, así que el potencial osmótico en la estela es más negativo que el potencial osmótico del suelo. Debido a que el agua debe atravesar los protoplastos en la capa endodérmica, esta capa actuaría como una membrana diferencialmente semipermeable y así la raíz constituye un sistema osmótico. La construcción de presión en este sistema osmótico sería la causa de la presión radical.

Es importante considerar que la presión radical es un fenómeno poco común en plantas. Sucede cuando la transpiración está fuertemente reducida por condiciones de humedad, frío y cuando hay amplia disponibilidad de agua con algunos minerales disueltos en el suelo.

Recuérdese que durante la mayor parte de la vida de las plantas, la transpiración está creando potenciales agua negativos en las hojas, así que el agua es tirada continuamente hacia dentro de la planta y movida a través del sistema xilemático tan rápidamente que no se pueden producir elevaciones de concentración de iones en la estela de las raíces, y entonces las raíces no tienen la oportunidad de actuar como un osmómetro. Entonces aparecen tensiones en el xilema establecidas por transpiración y cohesión, en lugar de presiones construídas por ósmosis.

El movimiento del agua desde el suelo al aire

Si las raíces están en contacto con agua líquida y sus solutos disueltos, esta solución se moverá por difusión dentro de la raíz vía el apoplasto.

Si la planta está transpirando activamente de manera que se crean tensiones en las hojas y se transmiten a través del tallo a las raíces, estas tensiones disminuirán el potencial agua dentro del xilema de las raíces considerablemente por debajo de aquel potencial agua del agua del suelo. Este gradiente en potencial agua - más negativo en las raíces - incrementará la velocidad de difusión.

Se ha sugerido que algunas veces el agua puede no estar en contacto con agua líquida. El suelo puede estar tan seco que todo el agua líquida en la vecindad de la raíz ya ha sido absorbida por la raíz.

Aún bajo estas condiciones, sin embargo, el agua podría seguir entrando a la raíz. Si el potencial agua dentro de la raíz es más negativo que el potencial agua del suelo, aún aunque pueda estar el agua líquida a alguna distancia de la raíz, ocurrirá difusión de agua dentro de la raíz desde su lugar en el suelo, en estado de vapor, más que de líquido. Destilará.

Lo anterior puede ayudar a explicar discrepancias aparentes que se han notado en la relación entre agua y absorción de solutos. Si hay buena disponibilidad de agua en el suelo, entonces es muy probable que las moléculas de agua difundirán más fácilmente dentro de la raíz, transportando solutos con ellas, donde éstos pueden ser activamente absorbidos y llevados al resto del vegetal por medio de la corriente transpiratoria. Sin embargo, si el suelo está seco, las moléculas de agua pueden cruzar el espacio como vapor, pero las partículas de soluto no podrán.

Bajo estas condiciones la absorción de agua puede estar completamente desacoplada de la absorción de solutos.

En realidad, la absorción de agua y de solutos no estarán nunca estrechamente acopladas ya que la absorción de solutos es un proceso activo que requiere energía, mientras que el agua se absorbe pasivamente.

Una vez que el agua se ha movido a través de la epidermis y corteza dentro de la estela, su movimiento hacia arriba por los conductos xilemáticos en el tallo estará sujeto a las leyes que hay para el agua bajo tensión.

Hay cavitación en el agua bajo tensión?

Si el mecanismo de cohesión es operativo en las plantas, entonces aún cuando exista la cavitación, qué ocurre?

En la experiencia normal en un sistema con presión negativa, una burbuja de agua o vapor de agua instantáneamente se expandirá hasta que llene la sección entera del sistema de transporte formando una burbuja de vapor que ocupa toda la sección del tubo xilemático, esto es una cerradura de vapor y entonces al romper la cohesión de la columna líquida el movimiento del agua parará.

En una planta esto no ocurriría debido a la anatomía altamente especializada de las traqueidas y vasos xilemáticos. Las paredes secundarias de estos tubos están típicamente perforadas por pequeños agujeros o aberturas, pero éstas pueden estar cerradas por paredes primarias de tal fina porosidad que las burbujas de aire o vapor de agua no pueden pasar a través de ellos.

El **torus** en la aberturas parece una válvula especialmente eficiente,

El agua líquida se puede mover a través de estas aberturas pero el sistema forma una válvula contra el pasaje de aire o vapor.

Lo anterior se puede entender mejor pensando en las propiedades de tensión superficial de pequeñas gotas de líquido en aire. A medida que una gota de líquido se hace más chica, aumenta su relación superficie volumen y se hacen más fuertes las fuerzas de tensión superficial entre ellas, cuando la gota se comprime más y más. Particularmente, el aumento de presión en la gota aumenta tanto su energía libre que lleva a un gran aumento en su presión de vapor, de manera que cada vez la tendencia a secarse aumenta mucho, llegando un momento donde la pequeña gota hierve a temperatura ambiente y desaparece súbitamente.

Una burbuja de aire en líquido también ejerce la poderosa fuerza de un menisco curvado, esto es la de presentar una gran tensión superficial. Cuando las burbujas son muy pequeñas, las tensiones intersticiales que actúan sobre ella son proporcionalmente mayores dándole una alta estabilidad contra la deformación. El resultado es que la superficie de la burbuja no puede ser deformada lo suficiente como para pasar a través de los pequeños poros en las aberturas que mencionamos.

De manera que si el agua en la columna cavitará, como algunas veces sucede, produciendo una burbuja de aire o vapor, esta ruptura no es transmitida lateralmente a otros elementos del xilema o tubo.

Siempre y cuando los tubos permanezcan llenos de líquido, el agua seguirá subiendo, pasando lateralmente de un tubo a otro cuando sea necesario.

Es importante recordar el rol de la hidratación a medida que el agua asciende por el xilema y en las hojas. El agua es mantenida unida a las paredes celulares contra tensiones considerables, probablemente cercanas a -100 a -300 MPa.

Ya vimos que el potencial agua atmosférico puede alcanzar valores desde decenas a cientos de MPa, creando un gradiente a lo largo del cual el agua puede moverse desde las células foliares a través de los estomas y hacia la atmósfera. Aún así, las fuerzas de hidratación son suficientes para retener agua en las paredes celulares de las hojas y elementos xilemáticos y retener algo de agua en las raíces.

Aún más, las columnas no se rompen debido a la cohesión del agua. Esta cohesión se ha medido en sistemas modelo, llegando a registrarse tensiones del orden de -30 MPa en el momento de romperse la cohesión.

Pero qué pasa si las columnas de agua fueran rotas de alguna forma y la cavitación tuviera lugar? Por ejemplo el viento y la congelación pueden ocasionar disturbios en el primer caso y una menor retención de aire en el segundo de manera de que la cavitación ocurre y se forman burbujas de aire y vapor de agua, lo cual sería equivalente a serruchar parte del camino del agua a través del tronco. El tallo se puede considerar un sistema de macroporos - vasos y traqueidas - rodeados por microporos, esto es las paredes celulares. Obviamente, la resistencia al flujo del agua es considerablemente menor a través de los macroporos, siempre que la fuerza del gradiente sea suficientemente grande. En experimentos donde se serruchaban el tallo parcialmente, a pesar de entrar aire, el ascenso no se bloqueaba.

Nutrición mineral

Absorción de sales minerales

Hasta aquí estuvimos tratando el transporte de agua, casi olvidando a los solutos. Sin embargo, la ósmosis ocurre debido a que el transporte de solutos a través de las membranas es mucho más lento que el transporte de agua.

Aun más, los solutos se mueven desde célula a célula y desde una organela a otra en los vegetales, y esto es esencial para la vida.

Excepto o por las fuentes atmosféricas de CO₂ y O₂, los elementos que las plantas - y animales - contienen son absorbidos desde el suelo por las raíces.

Así como las hojas absorben CO₂ desde muy bajas concentraciones en la atmósfera las raíces pueden acumular los elementos minerales necesarios para el vegetal entero desde concentraciones muy bajas disponibles en el suelo.

El problema de una absorción suficiente de agua y elementos minerales del suelo es resuelto por la habilidad de las plantas para formar sistemas radicales con áreas superficiales extremadamente grandes.

Las formas globales de los sistemas radicales en las distintas especies son variable y están controladas genéticamente y por el medio ambiente.

Las gramíneas tales como maíz y otras monocotiledóneas generalmente tienen sistemas radicales fibrosos y altamente ramificados cerca de la superficie del suelo, mientras que la mayoría de las dicotiledóneas forman un sistema radical que puede extenderse bastante hacia abajo en el suelo. Muchos árboles tienen sistemas intermedios.

Por ejemplo, se midió en una planta de centeno de 4 meses una longitud total de 626 Km con 233 m² en área superficial, y con una estimación de los pelos radicales los totales fueron 11.300 Km y 638 m².

En el suelo, los microorganismos y las condiciones del suelo mismo inhiben un desarrollo extenso de los pelos radicales. Cada pelo radical en todas las especies es una célula epidérmica modificada.

Las ramificaciones radicales y los pelos radicales permiten la exploración de vastos volúmenes de suelo.

Un factor importante que facilita la exploración del suelo por las raíces es la constantemente cambiante localización del desarrollo de ramificación.

Cuando se hace crecer una raíz en suelo con una vidriera de observación y se sigue su hábito de crecimiento se encuentra que una raíz individual se alarga por sólo unos pocos días o semanas. Subsiguientemente, desde esta raíz se desarrollan ramificaciones, cada una de las cuales se elonga a su vez por unas pocas semanas. Algo de esta biomasa se convierte en el sistema radical permanente de una planta perenne, pero la mayoría de las ramificaciones radicales pequeñas parecen decaer en un año o dos y se reemplaza por otras. Algunos arbustos de desierto reemplazan hasta 1/4 de su sistema radical en cada año, y en esta reposición absorbe agua y minerales desde lugares nuevos.

La región del suelo ocupada por raíces de una dada especie está controlada por los sitios de disponibilidad de agua y elementos minerales y por la profundidad del suelo. Se ha demostrado que las raíces proliferan en zonas fertilizadas con fosfato y nitrato de amonio, entre otros.

Este tipo de control y la proliferación donde la humedad es adecuada se debe simplemente al crecimiento de las raíces estimulado en las zonas específicas deseables y es casi seguro que el crecimiento no se debe a ningún tipo de crecimiento trópico hacia el agua o elementos, esto es que las raíces no detectan agua y nutrientes a distancia y luego crecen hacia ellos.

Así como el crecimiento de raíces es estimulado en suelos húmedos y fértiles, también lo es el crecimiento de la planta entera.

Micorriza

Es posible observar que el aspecto de las raíces de plantas creciendo con sus raíces en medio nutritivo es completamente diferente al de las que crecen en la naturaleza. En este caso la apariencia de las raíces de la mayoría de las especies es diferente no sólo porque ellas están confinadas en una maceta por ejemplo, sino porque las raíces se infectan con hongos para formar micorrizas.

La micorriza es una asociación simbiótica entre un hongo ligeramente patogénico o no patogénico y las células vivas de la raíz, principalmente células epidérmicas y corticales. Los hongos reciben alimentos desde la planta y a su vez altera la apariencia y mejora las propiedades de absorción de agua y nutrientes.

Generalmente sólo las raíces jóvenes más tiernas se infectan, quizás porque en las zonas más viejas se desarrolla una capa protectora de suberina. Con la infección cesa o disminuye la producción de pelos radicales, de manera que la micorriza tiene pocos pelos.

Ello disminuiría grandemente la superficie absorbente a no ser porque el volumen del suelo se extiende mucho al ser penetrado por las hifas que se extienden desde la micorriza.

Se han reconocido dos tipos de micorriza: la **ectomicorriza** y la **endomicorriza**, apareciendo también un grupo intermedio, la **ectendomicorriza**.

En la **ectomicorriza**, común en gimnospermas y muchas angiospermas leñosas, las hifas forman un manto exterior a la raíz y también en el interior de la raíz en los espacios intercelulares de la epidermis y corteza. En este caso no hay penetración intracelular y la red formada es llamada **red de Hartig**. Usualmente tampoco hay penetración a través de la endodermis.

La **endomicorriza** está presente en raíces de angiospermas herbáceas, incluyendo algunos géneros de gimnospermas.

El hongo, usualmente miembro de las Endogonadaceae, no forma una densa red interna o externa sino que principalmente existe dentro de las células corticales, aunque las hifas se extienden afuera en el suelo donde absorben nutrientes.

Aparentemente ambos tipos de micorriza reciben azúcares desde la planta hospedadora. Así las plantas que han crecido en la sombra y que son deficientes en azúcares tienen un desarrollo pobre de la micorriza.

La mejor ventaja documentada para la planta hospedadora es un aumento considerable en la absorción de fosfato por ambos tipos de micorriza, aunque también facilita la absorción de otros nutrientes.

Usualmente la micorriza desarrolla mejor en suelos no fértiles.

La ectomicorriza parece ofrecer ventajas grandes para árboles que han crecido en suelos no fértiles de bosques. Sin las propiedades de absorción de nutrientes de ésta, muchas comunidades de árboles no existirían.

El suelo y sus elementos minerales

Los suelos son una mezcla variable y heterogénea de partículas de arcilla, materia orgánica en descomposición, varios microorganismos, junto con agua, aire y varios iones y moléculas orgánicas disueltas, incluyendo los ácidos húmicos.

Las partículas de arcilla y partes de materia orgánica son coloides y así exhiben las propiedades de superficie de las partículas que poseen una gran relación superficie/volumen.

La fracción arcilla mineral es la más abundante en el suelo consistiendo de caolinita, montmorillonita e illita. Ella está compuesta de cristales de silicio, oxígeno, aluminio y todos están negativamente cargados en grado variable por un reemplazo parcial del Si o Al con cationes de menor carga positiva. Por ejemplo, el Al^{3+} puede reemplazar al Si^{4+} y el Mg^{2+} y Fe^{2+} pueden reemplazar al Al^{3+} .

Las cargas sobre los minerales de arcilla son importantes puesto que éstas atraen y mantienen adsorbidos a cationes esenciales al crecimiento vegetal, minimizando así las pérdidas por solubilización y lixiviado cuando el agua se mueve hacia abajo en el suelo. Los iones se adsorben con diferentes tenacidades como sigue:

Sin embargo, el Al^{3+} es un componente menor de los cationes adsorbidos y usualmente existe en forma soluble como catión hidroxialumino $AlOH^{2+}$.

Cuando las lluvias son altas sobre la superficie de la partícula coloidal son abundantes los H^+ y $AlOH^{2+}$ desplazando a los otros iones positivos.

Tales suelos se tornan ácidos porque el agua de lluvia contiene CO_2 disuelto que origina ácido carbónico que se halla en equilibrio de ionización con H^+ y carbonato y bicarbonato.

A medida que los iones se reemplazan por H^+ (excepto $AlOH^{2+}$) la acidez incrementada promueve la solubilización de hidroxilos tales como el de Fe y Al. Así, los suelos de áreas con mucha precipitación son ácidos y pobres en iones minerales.

La fracción orgánica de los suelos también posee un exceso de cargas negativas que principalmente provienen de la ionización de grupos carboxilos, pero también desde OH ionizados de los compuestos fenólicos presentes en la lignina (compuesto del leño) en descomposición y en ácidos húmicos.

Los cationes se adsorben tanto a las superficies de la materia orgánica como sobre la arcilla. En cualquier caso, los cationes se pueden intercambiar reversiblemente con cationes idénticos o diferentes presentes en la solución del suelo en el llamado intercambio catiónico:

Con soluciones equivalentes y el mismo número de cargas iónicas por unidad de volumen, los cationes se reemplazan de acuerdo a la serie recién vista, con Al reemplazando al resto.

La absorción de cationes desde la solución del suelo por las raíces, microorganismos, o micorriza retira iones desde la solución de manera que algunos de aquellos cationes retenidos por adsorción sobre las partículas del suelo son liberados a la solución para mantener el equilibrio. En general los suelos que tienen relativamente altas cantidades de cationes intercambiables (alta capacidad de intercambio) son más fértiles que aquellos que poseen baja capacidad de intercambio. Las raíces y los microorganismos influyen también sobre la unión de cationes a los minerales del suelo y a la materia orgánica del suelo a través del CO₂ que ellos liberan por respiración. Los H⁺ resultantes del CO₃H₂ disociado son fuertemente atraídos por los sitios negativos de las partículas del suelo reemplazando constantemente algunos de los cationes adsorbidos.

Así, los cationes removidos están más disponibles para las raíces y microorganismos.

Respecto de los aniones digamos que los iones fosfato (mono o diácido, dependiendo del pH) existen también en la solución a bajas concentraciones, aunque la mayor parte del fosfato del suelo parece estar reversiblemente precipitado en la fase sólida como sales de Al, Ca, o Fe.

En cuanto al nitrato, sulfato y cloruro, éstos no son efectivamente atraídos por la materia orgánica o arcilla del suelo y sus sales son altamente solubles de manera que están principalmente en la solución balanceando a los cationes.

Debido a su extrema solubilidad y carencia de adsorción, el nitrato se lixivia fácilmente desde los suelos. En lugar de ello, el amonio sí se absorbe sobre los coloides pero la mayoría de los suelos contienen poco NH₄⁺ ya que es oxidado rápidamente por bacterias y hongos a nitrato, proceso del cual obtienen energía.

Debido al alto requerimiento de los vegetales por N y la pérdida de nitratos por lixiviación, la mayoría de los cultivos - excepto las leguminosas - necesitan una relativamente alta fertilización nitrogenada.

Si se agrega N en forma de materia orgánica, como ocurre en el uso de composts obtenidos por descomposición de restos animales y vegetales, entonces el N va a ser liberado sólo por decaimiento y así estará disponible a las plantas por mayor tiempo.

La materia orgánica también mejora las características físicas del suelo, incluyendo su estructura y capacidad de intercambio catiónico, proveyendo muchos otros nutrientes, además del N.

El camino de los iones dentro de la raíz

Los cationes y aniones más fácilmente disponibles son los de la solución del suelo a pesar de sus concentraciones bastante bajas.

Por ejemplo, de una investigación de más de 100 suelos agrícolas en o cerca de capacidad de campo, más de la mitad de ellos tenían concentraciones de nitrato de menos que 2 mM, de fosfatodiácido menos que 0,001 mM, de K⁺ menos que 1,2 mM y de sulfato menos que 0,5 mM.

Pero en la planta, las concentraciones de esos iones pueden ser 1000 o más veces superior, es decir que la planta tiene la capacidad de acumularlos.

Tales nutrientes llegan a la raíz por diferentes formas, a saber:

- 1- por difusión a través de la solución del suelo
- 2- por transporte junto con el agua a medida que ella se mueve hacia la raíz
- 3- por crecimiento de las raíces hacia ellos

Se demostró usando raíces sin micorriza y empleando radioisótopos que los procesos de absorción iónica principalmente ocurren a través de la región meristemática que está por detrás de la cofia, y que en la cofia la acumulación de iones era más eficaz que en las regiones más viejas donde estaban ocurriendo la diferenciación y elongación celular o donde ya había sido completada.

Probablemente la acumulación de sales cerca de la punta de la raíz se debe a la alta actividad respiratoria en esta región y a la ausencia de xilema conductor para transportar desde allí a las sales absorbidas.

En 1954 Wiebe y Kramer encontraron que aunque esa región de meristema absorbe efectivamente sales, también las retiene.

Las regiones más viejas, en las cuales están presentes los pelos radicales y en las cuales está bien diferenciado el xilema, son las regiones que por lejos son más efectivas en liberar iones al xilema, donde ellos se pueden mover hacia el tallo. Esto está claro en la gráfica.....

Ello se ha confirmado y la evidencia indica que las sales son absorbidas y transportadas desde las regiones de la raíz que contienen los pelos radicales y también a través de regiones más viejas situadas a varios centímetros desde la punta de la raíz. Las raíces de árboles y otras perennes que tienen un crecimiento secundario - un engrosamiento debido a la división del cambium vascular -eventualmente pierden sus células epidérmicas y la mayoría de las corticales, siendo la endodermis también destruída.

Estas raíces se recubren de una capa delgada de tejido corchoso que frecuentemente contiene numerosos agujeros llamados **lenticelas** a través de los cuales puede pasar el O₂.

La mayoría de los nutrientes y agua debe penetrar a esas raíces, especialmente durante el período de crecimiento reducido de las raíces alimentadoras, a través de un material repelente a agua como la suberina que cubre casi toda la superficie de

estas células acorchadas. Esta capa es discontinua en algunos lugares y por ahí pasan y también por las lenticelas y por los agujeros que las raíces laterales dejaron cuando murieron.

En raíces sin micorriza hay tres pasos aparentes para el agua y iones hacia las células de xilema:

- 1- a través de las paredes celulares, esto es el apoplasto de células epidérmicas y corticales,
- 2- a través del sistema citoplasmático, simplasto, que se mueve de célula a célula y
- 3- de vacuola a vacuola de las células vivas de la raíz, donde el citoplasma de las células necesariamente tiene que ser parte del paso.

Los iones absorbidos en las vacuolas de células radicales se mueven usualmente lentamente de manera que el tercer paso es el menos importante.

Ya que la micorriza es de presencia bastante difundida, el camino de transporte desde las hifas en el suelo a las hifas de la corteza y luego a las otras células debería también estudiarse, pero no se le ha dado mucha atención.

Vimos que el movimiento de agua y solutos ocurre fácilmente a través del apoplasto hasta la endodermis. Aquí, el progreso de solutos hacia el xilema está controlado por las membranas plasmáticas de las células de la endodermis. Estas membranas ayudan a controlar la velocidad de absorción de iones y la clase de solutos que se absorben. Los coloides del suelo son frenados aquí.

A medida que los iones se mueven en las paredes de las células epidérmicas y corteza, muchos pueden penetrar al camino citoplasmático de estas células después de absorberse en ellos y algunos de ellos además se absorben en la vacuola, donde ellos contribuyen mayormente a los potenciales osmóticos negativos de las raíces, facilitando la absorción de agua, la presión de turgencia y el crecimiento de las raíces a través del suelo.

Dependiendo de cuál célula absorbe primero un ión, éste podrá pasar en el camino citoplasmático desde la epidermis, a través de varias células corticales y el periciclo. Este movimiento podría involucrar el transporte directamente a través de las dos membranas plasmáticas, las paredes celulares primarias, y la lamela media entre el citoplasma de células adyacentes.

Alternativamente el ión podría moverse a través de estructuras tubulares formadas a través de paredes celulares adyacentes, los **plasmodesmos** presentes en casi todas las células vegetales vivas.

Sus frecuencias de presentación son comúnmente mayores que 10^6 por mm^2 . Estos plasmodesmos están revestidos por membranas plasmáticas continua entre dos células adyacentes. En su región central descansa una estructura tubular llamada desmotúbulo, que aparentemente es parte del retículo endoplasmático.

Se ha demostrado en varias formas el flujo de soluto desde una célula a otra. Pero no se está seguro si los solutos solamente pasan a través del desmotúbulo, en cuyo caso debe haber penetrado primero al retículo endoplásmico, o si también se puede mover a través de la cavidad del plasmodesmo.

Sin considerar la contribución global de los plasmodesmos al movimiento de solutos a través de células, el movimiento directo a través de membranas también está involucrado en la absorción radical. Para entender esto es necesario que se recuerde la naturaleza de las membranas biológicas y algunas de sus características y propiedades más importantes.

Características de la absorción iónica.

Absorción iónica a diferentes concentraciones iónicas.

Muchos experimentos mostraron que si un soluto disuelto se mueve a través de una membrana celular por simple difusión, entonces la velocidad de transporte es directamente proporcional a la concentración externa, una condición que vimos cuantificable por la ecuación de Fick.

Sin embargo, cuando las células vegetales de distintos tipos se exponen a bajas concentraciones iónicas como las que se encuentran en la naturaleza, la velocidad de absorción es mucho más rápida que la predicha por la difusión y varía en la forma mostrada.

Esto es, la velocidad de absorción no se eleva linealmente sino que parece aproximarse a un valor máximo a medida que la concentración del ión aumenta.

El análisis matemático de tal cinética sugiere que el soluto está siendo movido en forma facilitada por algún sistema de transporte que se vuelve saturado a las concentraciones más altas.

Esta es una de las evidencias de la existencia de transportadores o también conocidos como **carriers, translocasas o permeasas**, que aceleran el movimiento de solutos a través de membranas.

Si los tejidos se exponen aún a más altas concentraciones, mayores que 1 mM, entonces la saturación esperada no ocurre. En su lugar, la velocidad muestra primero varios saltos o plateaus. Resultados como éste se han obtenido con diferentes iones y en diferentes partes del vegetal, y aún la absorción de azúcar es multifásica. Hasta ahora no se entiende el significado de tal cinética compleja. Se ha sugerido que algún transportador proteináceo en la membrana se vuelve casi saturado, pero que posteriores incrementos en la concentración iónica causan un cambio en la forma de la proteína de manera de exponer un nuevo sitio para la unión iónica o bien hacer al sitio original más accesible, quizás por efectos alostéricos.

Los resultados de varios trabajos muestran que la absorción de iones por raíces que ya contienen cantidades relativamente grandes de un ión es considerablemente más lenta que para el caso de raíces que se hicieron crecer en soluciones más diluídas y que son denominadas raíces bajas en sal.

Además, es la actividad del ión en el citoplasma la que probablemente influye su absorción y no la de la célula entera. Por otra parte, se sospecha que las concentraciones citoplasmáticas de muchos iones son menores que en las vacuolas, aún cuando los valores promedio para la célula entera son altos.

Acumulación

Uno de los hechos notables acerca de la absorción iónica por las raíces u otras células es que aunque la absorción es lenta comparada con la del agua, tales células últimamente pueden absorber iones u otros solutos a concentraciones mucho más superiores que la que existe en la solución del suelo o en el medio que los rodea.

El proceso se llama **acumulación**. Por ej.: raíces de plantas o secciones de tejido de almacenaje, como rodajas de papa, cuando se las coloca en una solución pueden bajar la concentración de los iones externos a cerca de cero en un día o dos. Durante ese tiempo algunos de los iones muestran concentraciones en el interior de las vacuolas que son miles de veces mayores que la concentración a la cual esos iones se encuentran en el medio externo.

Algunos iones, incluyendo nitrato, sulfato, fosfatodiácido y amonio se incorporan en compuestos orgánicos tales como proteínas y ácidos nucleicos. Esto reduce por supuesto su concentración interna y aún así las concentraciones de estos iones libres a menudo permanecen en niveles superiores que en el exterior.

Otros iones, tales como K^+ y Cl^- no se incorporan en compuestos y permanecen relativamente libres en solución.

Consideremos al K^+ . Los tejidos vegetales contienen típicamente por lo menos 1% de K^+ sobre una base de peso seco y, cuando están vivos, tales tejidos contienen cerca de 90% de agua, así que la planta viva debe contener aproximadamente 0,1% o sea 25 mM de K^+ .

Estos valores se encuentran en tejidos radicales creciendo en suelos en los cuales el K^+ disuelto no es superior a 0,1 mM, indicando entonces una relación de acumulación de 250 a 1.

Las leyes termodinámicas claramente indican que una difusión libre sin gasto de energía celular no podría ser responsable por tal índice de acumulación, puesto que es escaleras arriba.

La acumulación de ciertos iones no se restringe a las plantas superiores sino que es un fenómeno universal en células vivas.

Las algas que viven en agua salada deben acumular solutos para prevenir la plasmólisis y uno de los mecanismos adaptativos de las algas a un medio ambiente más salino es aumentar su concentración salina interna.

La tabla muestra los datos de acumulación para dos especies de algas viviendo en diferentes aguas de mar.

Las células de las algas que se comparan, *Nittela obtusa* y *Halicystis ovalis*, tienen grandes vacuolas centrales y de ellas es fácil obtener solución para el análisis.

Desde la tabla se puede concluir que el hecho de que un ión se acumule o no depende de ambos, el ión y la especie. Nótese que ambas algas acumulan K^+ . *Nittela* también acumula Cl^- y en menor extensión Na^+ , mientras que la otra parece estar en equilibrio con Cl^- y restringe la entrada de Na^+ .

Esta restricción o exclusión de Na^+ es de ocurrencia difundida ya sea en animales o vegetales y depende de una bomba de sodio, ATP dependiente, en la membrana para remover el Na^+ que en forma lenta pero continúa difunde hacia el interior. La mayoría de las células vegetales aparentemente tienen un mecanismo similar de bombeo para remover Na^+ de su citoplasma, aunque tales bombas sólo han sido demostradas ocasionalmente.

Una bomba en el plasmalema causa el eflujo de Na^+ que difunde hacia el interior y una bomba en el tonoplasto aparentemente bombea algo de Na^+ citoplasmático hacia el interior de la vacuola.

En las raíces de la mayoría de las especies, la mayor parte del Na^+ en las vacuolas nunca es transportado hacia los tallos.

En algunas especies tolerantes a sal, sin embargo, hay un transporte apreciable de Na^+ a los tallos; aquí probablemente son los Na^+ del citoplasma los que son transportados ya que el transporte de la mayoría de los iones hacia afuera de la vacuola es relativamente lento.

Selectividad de la absorción iónica

Hay varios estudios que indican que los solutos son absorbidos y acumulados por procesos selectivos.

Por ejemplo E. Epstein fue quien inicialmente realizó varios estudios hechos con raíces cortadas de plántulas de cebada. Hacía crecer las plántulas en una solución y permitía que los nutrientes prácticamente fueran agotados a medida que ocurría el crecimiento. Estas plantas así originan raíces con bajo contenido de sales y las denominaron "bajas en sal" y tienen una capacidad alta para la absorción de varios iones y esta capacidad se conserva por varias horas aún cuando las raíces son separadas de sus tallos.

Por ej. las semillas se germinan en agua y luego se permite que crezcan las plántulas durante 3 días en oscuridad en una solución 0,2 mM de sulfato de calcio para mantener la permeabilidad de la membrana, pero parcialmente para rebajar las raíces en nutrientes minerales. Luego, aproximadamente 1 g de raíces se encierran en una bolsita de agua y se sumerge en la solución experimental aireada y la temperatura se mantiene constante.

La aireación, ya sea de las raíces cortadas o de las raíces todavía unidas a la plántula, durante el período de crecimiento previo al ensayo, es esencial para la acumulación iónica normal en la mayoría de las especies.

Si a esas raíces se les da una solución conteniendo 0,2 mM de Cl^- y con 0,5 mM de sulfato de calcio, para mantener normales las funciones de selectividad de la membrana, entonces la velocidad de absorción de K^+ no es afectada por la presencia de concentraciones similares de sales de Na^+ . Esto es cierto aún aunque el Na^+ es químicamente similar al K^+ . Por esto, el proceso de acumulación de K^+ es selectivo, y bajo estas condiciones no está influenciado por la presencia de iones relacionados. Tampoco tienen influencia sobre la absorción de K^+ varios otros cationes monovalentes y otros divalentes menos relacionados.

En experimentos similares, la absorción de Cl^- es indiferente a la presencia de otros haluros, fluoruros y ioduros, así como a la de nitrato, sulfato o fosfato diácido.

Los iones calcio son esenciales para esta selectividad porque sin ellos, la absorción de K^+ se inhibe, por ejemplo con concentraciones similarmente bajas de Na^+ .

A pesar de esta aparente alta selectividad, a veces el mecanismo de absorción puede ser burlado.

La absorción de K^+ es inhibida en presencia de Rb^+ y en verdad la penetración en las membranas por estos dos iones parece involucrar el mismo mecanismo.

Resultados competitivos similares a menudo se obtienen con cloruro y bromuro, calcio y estroncio y sulfato con seleniato.

Hay un fracaso de los iones para fugarse una vez que fueron absorbidos dentro del citoplasma o vacuola de las células de raíz originalmente deficientes en tales iones.

Sin embargo, la fuga puede ser inducida por daño en la membrana con calor, venenos, carencia de O_2 y en alguna

extensión por remoción de Ca^{2+} , pero por supuesto estas situaciones son anormales.

Esto indica que la absorción por raíces bajas en sal es principalmente un influjo unidireccional.

El eflujo es mucho mayor en raíces que poseen relativamente altas concentraciones de iones.

Si se mide la concentración de un ión en un tejido bajo en sal en función del tiempo en el cual las células se expusieron a aquel ión, se obtiene una gráfica similar a ésta.

Bajo condiciones normales de temperatura y aireación, hay un movimiento inicial de iones hacia adentro, aunque la mayoría de esto significa el llenado del espacio libre aparente en las paredes y no una penetración real de las membranas plasmáticas selectivas.

Subsiguientemente la velocidad de absorción se hace esencialmente constante, no hay cambio en la pendiente, a menudo por varias horas.

Supongamos ahora remover los tejidos desde las soluciones en los tiempos indicados por las flechas, los colocamos en agua, y se sigue la cantidad de iones retenidos por los tejidos.

Se observa que sólo una pequeña fracción de los iones presentes fugan hacia afuera (rayas). Los iones que se perdieron representan principalmente los iones que estaban presentes en el ELA y no aquéllos que estaban en el interior de las células.

Como muestra la figura, esos iones presentes en citoplasma y vacuola permanecerán allí por varias horas y éstos por lejos representan la fracción mayor.

Si se consideran sólo los cationes, hay menos eflujo cuando se colocan los tejidos en agua, respecto del caso de los aniones. Esto se debe a las cargas negativas de los constituyentes de la pared celular, principalmente de los grupos carboxilos del ácido galacturónico. Los cationes son adsorbidos como lo hacen sobre la arcilla y pueden ser intercambiados con otros cationes.

La figura también muestra el curso de absorción cuando la respiración está inhibida por carencia de O_2 , temperatura fría o numerosos venenos respiratorios.

La fase de absorción rápida inicial no se altera mayormente, pero la velocidad de absorción cae muy rápido luego, prácticamente a cero. Cuando estos tejidos se transfieren a agua, se pierden casi todos los iones en el agua de lavado. Esta pérdida es de la misma magnitud que desde tejido sano y son los existentes en la red de paredes celulares.

También se muestra el fracaso de los iones verdaderamente absorbidos para fugarse hacia afuera de los tejidos y la inhibición de tal absorción y acumulación por condiciones que no aseguran una respiración normal.

Absorción de sales por células en crecimiento

La mayoría de la absorción iónica ocurre por la región de pelos radicales y algo por las partes más viejas de la raíz.

La mayoría de estas células prácticamente han crecido completamente y podríamos preguntarnos si la absorción de iones en las células en crecimiento difiere de la que ocurre en células que han completado su crecimiento.

Primero es útil considerar que la absorción de agua es la fuerza impulsora para el crecimiento. A medida que la célula crece, la concentración interna de los iones podría disminuir proporcionalmente con el aumento de volumen. Entonces, de acuerdo al diagrama de Hoffer ya visto, esta dilución haría al potencial osmótico y al potencial agua de las células menos negativos y aumentaría el potencial de presión turgencia celular. Eventualmente, las paredes no cederían más y el crecimiento se detendría.

Por esto podría predecirse que la absorción iónica por células en crecimiento sería más rápida que en células que no crecen, simplemente debido al efecto de dilución por el agua absorbida siguiendo el gradiente de difusión en células en crecimiento. Aunque esto es cierto, hay razones para creer por una rápida absorción iónica en células en crecimiento, puesto que una elevación del turgencia por una inyección de agua a células practicada con una microjeringa, causaba una reducción en la velocidad de absorción, e inversamente una disminución del turgencia podía aumentarla. Sin embargo, se desconoce cómo estos cambios de turgencia pueden controlar la absorción iónica.

Cambios de pH y mantenimiento de la neutralidad eléctrica

Usualmente, se encuentra que la absorción de aniones nutritivos tales como nitrato, fosfato diácido, cloruro y sulfato desde los suelos excede la absorción de cationes como K^+ , Na^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} , aunque ocasionalmente pueda ocurrir lo contrario.

Un factor crítico en la determinación de que la absorción catiónica sea más rápida que la de aniones y viceversa es la concentración relativa de iones monovalentes, especialmente K^+ y nitrato, o NH_4^+ en un suelo recientemente fertilizado. Estos iones son mucho más rápidamente absorbidos que lo que lo hacen por ejemplo el Ca^{2+} , Mg^{2+} o sulfato.

Siempre que la absorción de cationes y aniones sea desigual se originan problemas de electroneutralidad, ya sea en la solución del suelo o en el interior del vegetal, ya que siempre el número total de cargas positivas debe estar exactamente balanceado por el mismo número de cargas negativas.

Si la absorción de A^- (aniones) excede a la de C^+ (cationes), entonces CO_3H^- u OH^- pueden ser transportados afuera de las células para satisfacer la diferencia de carga. Alternativamente junto con los A^- podrían absorberse H^+ .

No se puede distinguir entre estas dos posibilidades ya que ambas llevan a una elevación del pH de la solución del suelo o de la solución nutritiva en que se encuentre.

Cuando la absorción de C^+ excede a la de A^- , entonces desde las raíces podrían liberarse H^+ o absorberse CO_3H^- u OH^- junto con los C^+ . En cualquier caso el resultado es una disminución del pH del medio.

La evidencia experimental indica ahora que una bomba de H^+ y OH^- dependiente de ATP causa la acumulación de H^+ en el exterior e las raíces, permitiendo que entre los cationes y neutralicen los A^- citoplasmáticos que quedan.

Hay que enfatizar que los H^+ se van a acumular afuera de la membrana tanto si se sacan H^+ como si la bomba transfiere OH^- hacia adentro, es decir no se puede distinguir y aún ambos procesos podrían operar simultáneamente.

Cuando la absorción de C^+ excede a la de A^- en las raíces se observa una producción incrementada de ácidos orgánicos, especialmente málico, que al ionizarse reemplazan los H^+ a intercambiar. Inversamente, cuando la absorción de A^- excede a la de C^+ , los ácidos orgánicos en las raíces desaparecen por respiración y quizás también por transporte.

Los electropotenciales a través de la raíz modifican la absorción iónica

A pesar de los intercambios de H^+ , OH^- y CO_3H^- durante la absorción de iones, no se mantiene exactamente la electroneutralidad. Entonces, se puede observar que el citoplasma y la vacuola aparecen estando cargados ligeramente con cargas negativas en relación a la del medio y comúnmente hay muy poca diferencia entre el citosol y la vacuola. Estas diferencias de potencial eléctrico a través de la membrana plasmática se miden insertando microelectrodos directamente en el citosol o vacuola, pudiendo medirse valores de -70 a -150 mV relativos al medio externo.

Se cree que en parte estos potenciales provienen principalmente de una $H^+ATPasa$ que extrude H^+ hacia afuera, sin existir una compensación completa de carga por absorción de C^+ .

Estas diferencias de potencial eléctrico influyen fuertemente sobre la absorción iónica, así como también lo hace una diferencia de concentración iónica.

Si los potenciales en el interior celular son más negativos, entonces los C^+ tenderán a difundir hacia adentro, restableciendo la neutralidad.

De manera que deberíamos conocer el gradiente de potencial eléctrico y el gradiente de potencial químico a través de la membrana para poder conocer la energética del proceso de absorción.

Estos dos gradientes forman el llamado **gradiente de potencial electroquímico**.

Muchos fisiólogos califican la absorción de iones o moléculas empleando los términos de **absorción pasiva** y **absorción activa**.

La absorción activa es usualmente definida como una absorción en contra de un gradiente de potencial electroquímico y la pasiva la que ocurre en favor de tal gradiente.

La absorción de aniones que lleva a una acumulación, casi siempre resulta en un proceso activo, ya que el interior celular es más electronegativo; pero la absorción de C^+ puede ser en contra de un gradiente de concentración aún en forma pasiva debido a que el potencial electronegativo del interior celular atrae y sobrepasa el gradiente de potencial químico no favorable.

Aún cuando la absorción de cationes a menudo ocurre pasivamente, esto no niega la necesidad de la respiración aeróbica y un suministro de energía para mantener las condiciones que hacen favorable el gradiente de potencial eléctrico.

La acumulación de iones por las raíces requiere respiración y producción de ATP

Las raíces deben estar bien provistas de O_2 y respirando activamente para absorber iones y otros solutos. Lo mismo es cierto para otras células vegetales.

Hay tres evidencias para ello:

1- Si el O_2 no está disponible, entonces se reduce mucho la absorción. En la gráfica puede verse la importancia de ello para la absorción de K^+ por raíces de cebada.

En este como en muchos otros casos se obtenía una saturación en la absorción a un valor de 3% O_2 en la mezcla gaseosa.

Esta concentración también satura la velocidad respiratoria.

Contrariamente, las raíces cortadas de arroz muestran una dependencia menor con el O_2 , lo cual es consistente con el hecho de que el arroz habitualmente crece en suelos anegados deficientes de O_2 .

Probablemente todas las plantas tienen un sistema de espacios intercelulares que se extiende desde el tallo a las raíces y que estando lleno de aire puede ser el camino de difusión para el O_2 , como ocurre en el caso del arroz, donde está bien desarrollado.

2- Hay una correlación entre los efectos inhibitorios de las bajas temperaturas sobre la absorción y las velocidades de respiración. La velocidad de absorción de sales por plantas de cosecha aumenta usualmente con la temperatura desde el punto de congelamiento del agua hasta aproximadamente 40 °C, donde comienza a disminuir. Durante la primavera, el lento crecimiento de las plantas en suelos relativamente fríos se debe parcialmente a la velocidad limitada de absorción iónica bajo estas condiciones.

La mayor absorción a medida que se eleva la temperatura se debe parcialmente a un incremento en la absorción de sales por las raíces, pero principalmente al aumento de la respiración de los vegetales a temperaturas superiores.

3- Hay varios compuestos que inhiben la respiración y también disminuyen la velocidad de absorción. Los más efectivos son:

- el ácido málico (análogo estructural del ácido succínico del ciclo de Krebs),
- la azida de Na
- el cianuro.

Recuérdese que estas últimas sustancias interfieren en el transporte electrónico a nivel de citocromos en la mitocondria.

Las raíces de plantas que crecen en suelos fríos o anegados o pobremente aireados por una compactación excesiva presentan velocidades de respiración retardadas. Evidentemente, bajo estas condiciones la absorción iónica, esencial para el crecimiento de raíces y tallos, va a estar limitada. Por otro lado, podría también predecirse que los días soleados van a conducir a una producción aumentada de azúcares por fotosíntesis y a un transporte rápido de azúcares a las raíces, a una

mayor actividad respiratoria en ellas con más rápida producción de ATP, llevando ésto a mayores velocidades de absorción iónica. Al respecto, hay mediciones que demuestran que las velocidades de respiración en las raíces están correlacionadas estrechamente con el transporte de azúcares desde el tallo.

Nutrición mineral

Nos podríamos preguntar por ejemplo:

Cuáles elementos absorbe una planta para vivir y crecer?
Podemos nosotros predecir cuándo una planta carece de minerales?
Cuáles son las funciones de los elementos minerales?

Esas y otras posibles preguntas son importantes ya que para alimentarnos bien nosotros es importante alimentar bien a las plantas.

Las respuestas obtenidas han revolucionado a la agricultura, pero en estos momentos se trata de refinar las respuestas debido a que el abuso de fertilizantes puede dañar el medio ambiente.

En cierto sentido, el crecimiento de las plantas es la incorporación de diferentes elementos dentro de la sustancia vegetal. Para conocer el contenido de minerales de las plantas un buen punto de partida es el análisis mineral de los tejidos.

Cuando las plantas se cosechan frescas y se someten a un calor de 80 °C por varias horas casi todo el agua que poseían es retirada y lo que queda es la denominada **materia seca**.

La materia seca habitualmente representa el 10-20 % del peso fresco original de la mayoría de las hojas; es un % mayor para tejidos leñosos y es la mayor parte del peso de semillas maduras.

Los componentes principales de la materia orgánica son los materiales de las paredes celulares tales como carbohidratos y lignina, más otros componentes del citoplasma como proteínas, lípidos, aminoácidos, ácidos orgánicos y ciertos elementos que no forman parte esencial de compuestos.

Un análisis de los principales elementos presentes en el tallo de una planta de maíz se da en la tabla...

Noten que el **O** y el **C** son por lejos los elementos más abundantes y que el **H** es el tercero. Esta es aproximadamente la misma distribución de elementos encontrados en los carbohidratos, incluyendo la celulosa que es el compuesto más abundante del leño.

En menores cantidades se encuentran el **N**, seguido por varios otros elementos aún en menor concentración. Si este análisis hubiera sido completo se hubieran encontrado cantidades en traza de numerosos elementos, algunos de ellos que son esenciales para el maíz y otras plantas. Aparecen el **Al** y el **Si** que se cree que no son esenciales para el crecimiento vegetal.

El punto a enfatizar es que las plantas absorberán y acumularán numerosos elementos desde la solución del suelo aunque no los requieren.

Se han encontrado al menos 60 elementos en las plantas, incluyendo **oro, Hg, Pb, As y uranio**. Aún el elemento **plutonio**, producido por el hombre, puede absorberse en las plantas.

Recuérdese que los suelos están compuestos mayormente de **Si, O y Al**. Sin embargo, las plantas no reflejan esta composición. En parte la razón es que las plantas absorben el **C** de la atmósfera y la mayoría del **O** desde el aire. Además, aquellos elementos en el suelo no son fácilmente solubles en agua.

Por otro lado, las raíces hacen una selección considerable de las clases de elementos que absorben.

Hacia 1800 los científicos comenzaron a apreciar el hecho de que las plantas requieren de ciertos elementos minerales: **Ca, K, S, P y Fe**.

En 1860 dos fisiólogos alemanes **Sachs** y **Knopp** reconocieron los problemas de determinar las clases y cantidades de elementos esenciales para los vegetales que crecen en un medio complejo como el suelo. Por ello, ellos hacían crecer las plantas sumergiendo sus raíces en una solución acuosa nutritiva, cuya composición química estaba sólo limitada por el grado de pureza de la droga usada. Este cultivo en medio líquido recibió el nombre de **cultivo hidropónico**.

Posteriormente se reconoció que las plantas crecen mejor aireando sus raíces, un hecho que vimos al discutir la absorción iónica.

A medida que se dispuso de técnicas para purificar sales y el agua que se usaba para este propósito, se podía lograr un control más exacto de los elementos disponibles para las plantas. Esto llevó a demostrar que sólo son requeridas muy pequeñas cantidades de algunos elementos. Además, es difícil demostrar un requerimiento de ciertos elementos como **Mo, Cu, Zn y B** para ciertas especies que tienen semillas grandes, ya que estas semillas contienen estos elementos para el crecimiento de plantas hasta la madurez. En esos casos se podía observar signos de deficiencia por esos elementos en la segunda generación.

A pesar de las ventajas que provee la hidroponia hay algunas desventajas. Una es la necesidad de aireación y la otra es la necesidad de un reemplazo frecuente de la solución (cada día o cada dos días) para obtener un crecimiento máximo. Esto se debe a que la composición del medio cambia constantemente debido a que la absorción de ciertos iones es más rápida que la de otros. Esta absorción preferencial no sólo disminuye mucho ciertos iones sino que ocasiona cambios de pH no deseables.

Para evitar algunos problemas de la hidroponia se suele usar cuarzo, arena de cuarzo blanca lavada o un mineral llamado perlita. Simplemente, las soluciones nutritivas se echan sobre estos medios o se dejan gotear a intervalos en cantidades en exceso para asegurar el lixiviado de la solución vieja a través de los agujeros en la base de la maceta.

Se han formulado varias soluciones. Una de uso muy difundido es la denominada de **Hoagland modificada**, que habitualmente se describe en los libros de texto. Todas estas soluciones contienen los elementos necesarios y en cantidades

apropiadas para permitir un buen crecimiento de la mayoría de las plantas superiores. Sin embargo, una solución ideal para una especie dada raramente lo es para otra.

Casi todas las soluciones nutritivas son más concentradas que lo que corresponde a una solución del suelo. Típicamente, las soluciones empleadas evitan la necesidad del cambio frecuente de solución por unos pocos días, lo cual depende de las velocidades de crecimiento. Por supuesto, las concentraciones deben ser lo suficientemente bajas como para evitar la plasmólisis de las células radicales.

La mayoría de las soluciones nutritivas tienen un potencial agua no más negativo que **-0,1 MPa**, de manera que no habría problemas.

Elementos esenciales

Hay 16 elementos que se consideran esenciales para el crecimiento vegetal.

Hay dos criterios principales por los cuales un elemento puede identificarse como esencial:

- 1- es esencial si la planta no puede completar su ciclo de vida, esto es formar semillas viables, en la ausencia del elemento.
- 2- es esencial si se puede mostrar que forma parte de cualquier molécula o constituyente de la planta que *per se* es esencial (por ej. el Mg y N en la clorofila, el N en proteínas y ácidos nucleicos, el S en aminoácidos azufrados, etc.).

Usualmente es más fácil demostrar que un elemento es esencial en lugar de que no es esencial. Por eso a menudo los experimentadores establecen que si un elemento en cuestión es necesario, él es sólo requerido en las concentraciones menores que el límite de sensibilidad de los elementos de detección. Por ej., se informó que si el Si es esencial para los tomates, la cantidad necesaria es menor que 0,2 µg/g de tejido seco. Debido a esta circunstancia es posible que puedan agregarse a la lista de los 16 elementos esenciales, algunos más.

Los elementos esenciales son:

Fe, Cl, Mo, B, Zn, Cu, Mn, (micronutrientes)
C, O, H, N, P, S, K, Mg y Ca (macronutrientes)

Para tener una idea del amplio rango de concentraciones en que estos elementos se encuentran digamos que en un vegetal tenemos por cada parte de Mo sesenta millones de partes de H.

Los primeros 7 elementos se llaman **micronutrientes** o **elementos menores** y se encuentran en los tejidos en una concentración **menor que 100 µg/g de peso seco**.

Los nueve restantes son **macronutrientes** o **nutrientes mayores** y aparecen en concentraciones **mayores a 1000 µg/g de peso seco**.

Los valores que se muestran, provenientes de un análisis de tejido, son indicativos y no una indicación precisa. Por ej., hay resultados que muestran que puede obtenerse un buen crecimiento en maíz y tabaco a concentraciones tisulares de Ca²⁺ y Mg²⁺ mucho más bajas, siempre que el nivel de ciertos micronutrientes catiónicos en la solución nutritiva se disminuyan. Sugiere esto que la mayor parte del Ca²⁺ en las plantas es necesario sólo para prevenir un daño por un exceso de elementos químicos similares?

Algunas especies requieren otros elementos. Por ej.: hay evidencia de que ciertas especies de desierto como *Atriplex vesicaria* requieren Na⁺.

En 32 especies se investigó la nutrición del Na⁺ y se concluyó que aquéllas que tenían el camino fotosintético del C4 probablemente requieren Na⁺. También las plantas MAC crecen más rápido con Na⁺ pero en condiciones de días cortos y noches largas de 16 horas. Todavía no es conocido el rol del Na⁺.

El Si también estimula el crecimiento de ciertas plantas, pero no se ha encontrado que sea esencial.

Por ej. en el caso del maíz y otros miembros de la familia de las gramíneas, ellos acumulan Si en una extensión del 1 al 4%, mientras que en el arroz esa cifra asciende a un 16%.

El Si existe en la solución del suelo como ácido salicílico no disociado SiO₄H₄ y se absorbe así. Mayormente se acumula como sílice amorfa hidratada (SiO₂.nH₂O), principalmente en las paredes de células epidérmicas y también en las paredes primarias y secundarias de otras células de raíz, de tallos y hojas.

El Co se cree esencial para algas azul-verdes y muchas bacterias, pero no para otras algas o vegetales superiores. Se requiere Co para la fijación simbiótica de N₂ por microorganismos en nódulos radicales de leguminosas y muchas no leguminosas, pero no para la función normal de la planta. Cuando a la planta hospedadora se le da N como nitrato, no se requiere Co para su crecimiento normal.

También requieren Co otras bacterias no simbióticas y algas que fijan el N₂ atmosférico.

Probablemente los organismos que necesitan Co, así como los animales, lo requieren principalmente porque este elemento está presente en la vitamina B12. Por supuesto que los animales lo obtienen de las plantas que comen, que contienen este elemento, aunque ellos no lo requieran.

Requerimientos cuantitativos y análisis de tejidos

Si se construye una gráfica que indique el crecimiento de un vegetal en función de la concentración de un nutriente particular en el tejido, es posible encontrar una zona donde el crecimiento ha estado limitado, a bajas concentraciones y donde la respuesta al nutriente, reflejado por un incremento del mismo en los tejidos, produce un incremento en el

crecimiento. Seguido a ella hay una zona de transición, cercana al máximo crecimiento, para luego entrar en una zona de consumo lujurioso que prácticamente es la meseta que se establece al llegar al máximo rendimiento, después de la cual viene una zona donde aparece un efecto de toxicidad por efecto de un exceso del nutriente. Se ha establecido una zona crítica que se refiere a la mínima concentración en tejido que da un crecimiento máximo. En el caso de los micronutrientes la zona de la meseta es más corta, dada su mayor toxicidad.

Así por ej. vemos en la figura una respuesta promedio a Ca^{2+} mostrada por 18 dicotiledóneas y 11 monocotiledóneas. En el caso del Ca^{2+} , para las dicotiledóneas el nivel crítico es alrededor de 0,2% de Ca^{2+} que es significativamente mayor que para el caso de las monocotiledóneas que es de aproximadamente 0,1%.

Otros datos interesantes resultan de la tabla..... que expresa el % de varios iones en la parte aérea de 2 dicotiledóneas y 2 monocotiledóneas.

Estas plantas crecieron en un suelo común y puede verse que el girasol y el poroto no sólo absorben más Ca^{2+} que el trigo y la cebada sino que también más Mg.

En contraste, el poroto absorbe mucho menos K^+ que el resto.

El alto porcentaje de K^+ en trigo, cebada y girasol ilustra el consumo lujurioso de este elemento. En general, los miembros de la familia de las gramíneas absorben más K^+ que las leguminosas.

Estos últimos datos enfatizan el hecho de que los requerimientos nutritivos de algunas especies son diferentes de los de otras.

Agentes quelatantes

Los cationes micronutrientes Fe, Zn, Mn y Cu son relativamente insolubles en soluciones nutritivas cuando son provistos como sales inorgánicas comunes, y casi son también insolubles en soluciones de muchos suelos. Esta insolubilidad es especialmente notable si el pH del suelo es superior a 5. Los cationes de micronutrientes reaccionan con OH precipitando como óxidos metálicos hidratados:



Como estas y otras reacciones contribuyen a la insolubilidad, ciertas plantas no pueden absorber la cantidad necesaria de estos metales, especialmente de Fe y Zn.

Una forma de solucionar esta deficiencia es proveer los elementos como quelatos metálicos. Un **quelato** es un producto soluble y bastante estable formado cuando ciertos átomos en una molécula orgánica llamada **agente quelificante** o **ligante** dona electrones al catión metálico.

Los grupos carboxílicos cargados negativamente y la mayoría de los átomos de N proveen los electrones disponibles para ser compartidos en esta forma. Uno de los mejores quelificantes conocidos es el **EDTA** o ácido etilen diamino tetraacético, que a veces se vende con el nombre de "versene". Se muestran las estructuras moleculares.

Complejos de EDTA y micronutrientes se usan a menudo para corregir deficiencias por déficit de ellos, sobre todo donde los altos pH de suelos calcáreos los hacen inaccesibles. Se puede hacer la aplicación en suelos y en forma foliar.

Por ej. los quelatos de Fe aplicados foliarmente a las plantas domésticas le otorgan un color verde intenso y un crecimiento más rápido.

Las propiedades de los buenos quelantes son:

- 1- deberían ser resistentes al ataque microbiano
- 2- deberían formar quelatos estables con los micronutrientes pero no con cationes potencialmente competitivos como el Ca^{2+} y el Mg^{2+}

El EDTA tiene una alta afinidad por Ca^{2+} y así resulta que no es útil para usarlo en suelos calcáreos. En su lugar se emplea el Fe-EDDHA o complejo del ácido etilendiamino di(o-hidroxifenil) acético.

En el suelo también existen en forma natural otros quelatantes de cationes micronutrientes, manteniendo una disponibilidad superior a aquella que de otra forma resultaría. Ellos son:

los ácidos húmicos, derivados de ligninas, ácidos orgánicos, ciertos compuestos fenólicos, proteínas y aminoácidos

Se cree que los agentes quelificantes funcionan simplemente manteniendo los elementos micronutrientes en solución y liberando parte de ellos en o cerca de la superficie radical, pudiendo ocasionalmente absorberse el complejo metálico intacto que luego va a ser degradado por las enzimas celulares.

Una vez absorbidos por el vegetal, los metales divalentes aparentemente se mantienen solubilizados con ciertos constituyentes celulares. Los aniones de ácidos orgánicos y especialmente el ácido cítrico parecen ser los agentes acomplejantes más importante para el transporte a través del xilema. También participarían los aminoácidos. Ultimamente, la mayoría del Mn, Cu y Mo son unidos a proteínas. Es una forma de facilitar luego el transporte electrónico o promover la actividad catalítica de proteínas enzimáticas.

Los cationes monovalentes como el K^+ y el Na^+ no forman quelatos estables, pero aún así, éstos son mantenidos flojamente unidos por atracciones iónicas con aniones de ácidos orgánicos y con proteínas.

Funciones de los elementos esenciales

Alguna vez se clasificó las funciones de ellos en 2 grupos:

- 1- Con un rol estructural apareciendo en un compuesto importante
- 2- Como un elemento importante para la estimulación de la velocidad a la cual ocurre una reacción química, es decir como activador enzimático

Sin embargo, y obviamente en el sentido funcional, no hay una distinción neta entre estos dos roles, porque varios elementos forman partes estructurales de enzimas y ayudan a catalizar la reacción química en la cual participa la enzima. Quizás los elementos más obvios con las dos funciones son el C, el O, el H, el S y el N. Otro ejemplo es el Mg: es parte de la clorofila y también es un activador enzimático.

Otros iones por su parte, contribuyen a los potenciales agua celulares, permitiendo así la turgencia necesaria para mantener la forma y permitir el crecimiento y ciertos movimientos dependientes de la presión de turgencia, como en el caso del movimiento estomático o el de sueño de las hojas. Aquí son importantes el K^+ y el Cl^- , no conociéndose ningún rol estructural para estos dos iones.

En cuanto a la movilidad del elemento, digamos que algunos se mueven fácilmente a través del floema de una hoja a otra; son los llamados **elementos móviles** y son: **N, P, K, Na, Mg, Cl**, y algo el **S**. Otros son bastante **inmóviles** como el **B, Fe, y el Ca** y aún otros presentan una **movilidad intermedia** y es el caso del **Zn, Mn, Cu y Mo**.

Fertilizantes

Los fertilizantes químicos aplicados a los suelos contienen generalmente sales de los macronutrientes, especialmente N, P y K. Los fertilizantes que sólo contienen uno de estos tres se denominan fertilizantes directos. Algunos ejemplos son los superfosfatos, nitrato de amonio, y muriato de potasio. Los que contienen dos o más de estos nutrientes minerales claves se llaman fertilizantes compuestos. Con la mayor producción agrícola, en parte por el uso de una fertilización limitada al uso de macronutrientes, también ocurre que el consumo de micronutrientes de los suelos puede llegar a ser tan alto que habrá una necesidad por reponerlos.

También la fertilización puede aplicarse para modificar el pH de los suelos. Hemos visto que el pH de los suelos puede modificar la disponibilidad de los nutrientes minerales. Se puede agregar caliza a suelos ácidos para elevar su pH y el agregado de S elemental puede disminuir el pH de suelos alcalinos. En este último caso habrá una acidificación después que el S es absorbido por microorganismos para liberar luego sulfato e H^+ .

En contraste, la fertilización orgánica de la que hablamos anteriormente, además de proveer a la nutrición con minerales necesarios también mejora la estructura física de los suelos y otra ventaja adicional es que los composts de residuos orgánicos también mejoran la retención de agua en el suelo durante un período de sequía y por otro lado favorece el drenaje en tiempos más húmedos. Esta forma de proveer a la nutrición mineral proporciona una disponibilidad más persistente de los nutrientes, por semanas o meses, ya que antes de que puedan absorberse por la planta, ellos deberán ser liberados por la acción de microorganismos del suelo. Esta lenta liberación puede reducir los riesgos de una lixiviación por agua que se esté moviendo en el suelo.

La agricultura orgánica es la práctica de hacer crecer cultivos solamente haciendo recaer la fertilización en los fertilizantes orgánicos, evitando el uso de fertilizantes químicos y pesticidas. Los sostenedores de las cosechas obtenidas de esta manera declaman que la calidad de los vegetales crecidos en esta forma es superior a la obtenida con el uso de fertilizantes y que además son más saludables para el consumo humano. Los cultivos que se han hecho crecer orgánicamente probablemente son más vigorosos debido a la mejora de la calidad del suelo - retención de agua - y al suministro de nutrientes. Sin embargo hay una necesidad de mayores estudios con la finalidad de darle más peso a esta propuesta.

Fertilización foliar

La fertilización foliar puede reducir el tiempo de demora entre la aplicación y la absorción por la planta, lo cual podría ser importante durante una fase de crecimiento rápido de la planta.

La absorción de nutrientes por las hojas de las plantas es más efectiva cuando la solución nutritiva permanece sobre la hoja como una delgada película. Para promover la producción de una película delgada, las soluciones nutritivas a menudo son suplementadas con un agente tensioactivo que reduce la tensión superficial y mejora la capacidad de mojar la superficie de la hoja. **Tween 80** es uno de tales detergentes.

El movimiento del nutriente dentro de la planta parece involucrar la difusión a través de la cutícula y una absorción por las células foliares. Aunque el movimiento a través de los estomas puede permitir un paso hacia el interior de la hoja, la arquitectura del poro estomático mayormente previene la penetración.

Para que una aplicación foliar por spray sea exitosa, se debe buscar prevenir daños en las hojas. Por ejemplo, si la aplicación se hace en un día cálido, digamos sobre las horas de mayor demanda transpiratoria, las sales se pueden acumular sobre la superficie foliar y causar una quemazón. Ello se previene con aplicación de soluciones en concentraciones bajas y haciendo la atomización en días más fríos o al anochecer. El agregado de caliza a los sprays reduce la solubilidad de los nutrientes y previene contra una toxicidad.

La aplicación de nutrientes por vía foliar ha sido beneficiosa y práctica con cereales tales como trigo. La proteína del grano en este cultivo, que es importante por su calidad harinera y forrajera, puede ser estimulada por aplicación foliar de nitrógeno durante las últimas etapas de crecimiento.

Recomendaciones para el cultivo hidropónico

En los cultivos hidropónicos las sales fertilizantes deberán tener una alta solubilidad, puesto que sus iones constituyentes deberán permanecer en solución para ser absorbidas efectivamente por las plantas. Por ejemplo, el calcio puede

suministrarse como nitrato de calcio o sulfato de calcio (yeso) que es más barato pero tiene una solubilidad muy baja, luego la elección es por el nitrato de calcio.

En cuanto a la calidad de las drogas, usualmente se emplean las calificadas de "grado técnico. Una calidad pobre, por ejemplo de "calidad agrícola", será portadora de material de impurezas - arcillas, limo - que puede ocasionar problemas ya sea a nivel de la planta o bien taponar las cañerías de suministro.

Las plantas pueden absorber tanto nitrato como amonio. Las sales de amonio suelen usarse en conjunción con nitratos para evitar cambios bruscos en el pH, en cantidades tales de forma de proporcionar de 90% de nitrato y 10% de amonio en el nitrógeno total. Si se sobrepasa un cierto valor en N amoniacal - aproximadamente 40% - entonces sobreviene la toxicidad y muerte de las raíces.

Cuando se aplican formas amoniacaes de N al suelo, éstas se fijan temporalmente en posiciones de intercambio catiónico de arcillas y no están disponibles en forma inmediata y total para las raíces. Lentamente se van nitrificando y pasan a la solución del suelo como nitrito y nitrato, así como una parte de amonio también estará disponible en la concentración de equilibrio correspondiente.

La absorción relativa de los diversos elementos minerales está afectada por:

- condiciones ambientales como temperatura, humedad e intensidad luminosa
- la naturaleza del cultivo
- el estadio del crecimiento y desarrollo de la planta

Existirá una diferente absorción de distintos elementos, de manera que cambiará la composición de la solución nutritiva y será necesario realizar controles, los cuales dependerán del sistema hidropónico que se use.

El sistema se dice que es **abierto** si después de aplicar la solución a las plantas se permite que por el drenaje haya un escurrimiento para deshechar la solución remanente. En el caso de los sistemas **cerrados** se recoge el líquido escurrido y se recircula total o parcialmente; en este caso el control es más necesario.

En el sistema abierto el control se limita a verificar que la solución elaborada cumpla con las especificaciones y eventualmente se puede hacer un control sobre el drenaje a fin de conocer o no si hay agotamiento de algún elemento.

En el sistema cerrado habrá que corregir las alteraciones de las soluciones nutritivas.

Ejemplos de las modalidades para el suministro de nutrientes en un sistema abierto pueden ser:

- Solución completa a la mañana y agua en la tarde
- Solución de media fuerza en forma permanente

En el caso del cerrado:

- Completa en recirculación con un cambio periódico según el análisis químico o
- Solución de media fuerza con agregado permanente de media fuerza o
- Solución de media fuerza en agotamiento.

Los controles más usuales para una solución nutritiva son:

- Volumen consumido
- Concentración de la solución y conductividad eléctrica.
- pH
- Concentración de los siguientes elementos:

Nitrógeno amoniacal	Magnesio
Nitrógeno nítrico	Azufre
Fósforo	Hierro
Potasio	gas carbónico
Calcio	O ₂ disuelto

Si fuera el caso, otros elementos pueden dosarse por medio del análisis foliar.

Cuando el volumen de solución consumida por un sistema cerrado es muy grande, nos indica condiciones climáticas demasiado adversas o bien una fuga en el sistema. Por el contrario, si es demasiado pequeño puede haber pudrición radical.

Por supuesto que la calidad del agua utilizada es también importante y dependiendo del cultivo podrán por ejemplo tolerar cierto grado de salinidad, otros ser medianamente tolerantes y aún otros poco tolerantes.

También interesa el estado bacteriológico del agua. Deben usarse aguas libre de patógenos o que haya sido sometida a una desinfección, por ejemplo cloración (5ppm de cloro).

Estrés salino y halófitas

Cuando hay un exceso de minerales en el suelo, se dice que el suelo es salino y en ese caso el crecimiento de las plantas puede estar restringido si estas sales y nutrientes están en un nivel tóxico. El exceso de sales en los suelos puede constituir un problema serio en las regiones áridas y semiáridas. En estas regiones, la lluvia es insuficiente para promover el lixiviado de las sales del suelo. Además, el agua de riego puede contener 100 a 1000 g de sal por metro cúbico y con una aplicación anual promedio de 4000 metros cúbicos de agua por acre, se estarán agregando entre 400 y 4000 Kg de sal al suelo.

En suelos salinos las plantas se enfrentan a un estrés salino. Algunas plantas se ven afectadas adversamente por un exceso de sal; otras pueden sobrevivir y son las plantas tolerantes a sal y aún otras pueden vivir adaptadas como lo son las halófitas.

Los mecanismos por los cuales las plantas toleran la salinidad son complejos, involucrando interacciones entre síntesis molecular, inducción enzimática y transporte de membrana. En algunas especies el exceso de sal no es incorporado y en

otras sí y el exceso de sal es excretado por la planta a través de glándulas asociadas con las hojas. Muchas de estas plantas previenen los efectos tóxicos de una elevación salina en el citosol secuestrando a los iones dentro de las vacuolas.

FISIOLOGIA DEL ESTRES

Bajo condiciones naturales y agrícolas, las plantas que se exponen a condiciones medioambientales desfavorables son llevadas a algún grado de tensión o estrés.

El déficit de agua en el suelo, las temperaturas subóptimas y supraóptimas, la salinidad y la aireación pobre de los suelos pueden causar restricciones durante la estación de crecimiento, de manera que la producción de plantas al final de dicha estación expresa sólo una pequeña fracción de su potencial genético.

Estos mismos factores físicoquímicos se pueden hacer extremos en algunos hábitats como desiertos y salinas, de modo que sólo una vegetación especialmente adaptada puede completar su ciclo de vida en condiciones inusualmente hostiles.

En medioambientes menos extremos, las plantas se pueden aclimatar -adaptar - a cambios en el potencial agua, temperatura, salinidad y deficiencia de O_2 , de manera de poder enfrentar mejor estas condiciones.

Algunas especies se adaptan mejor que otras y para esta aclimatación hay varios atributos anatómicos, estructurales y bioquímicos en la planta, algunos de los cuales hemos comentado ya como ser cutículas gruesas con una modificación cuali y cuantitativa de ceras epicuticulares, enrollamiento foliar, estomas hundidos, osmorregulación y otros que veremos. Hay estudios recientes que indican que esta aclimatación resulta de cambios en la expresión génica a ambos niveles, transcripcional y traduccional de la síntesis proteica.

Algunos cambios de la expresión génica durante la aclimatación pueden ser señalados a través de cambios en la concentración de hormonas, por ej. el ABA (ácido abscísico) se involucró con la aclimatación a diferentes estreses, aunque otras hormonas también pueden estar involucradas.

Por ejemplo, hay cambios en la síntesis de ARNm específicos y de proteínas por ellos traducidas, inducidos por factores diferentes como

- choque térmico
- déficit hídrico

y en forma muy significativa después de la exposición a ABA en ausencia de estrés.

El conocimiento de la identidad y de la función de estos genes sensibles al estrés podría ayudar en la bio-ingeniería de plantas tanto a través de técnicas de ADN recombinante como por cruzamiento convencional, para mejorar la habilidad de las plantas para entenderse con los estreses ambientales.

Resistencia de plantas a efectos medioambientales adversos

El cambio de las estaciones en zonas templadas causa grandes fluctuaciones en factores importantes como

- radiación solar
- temperatura
- humedad del aire
- humedad del suelo

Las plantas anuales son especialmente afectadas además por

- congelación,
- alta temperatura
- sequía

Las plantas bienales y especialmente las perennes son mucho más afectadas por estos factores y el resultado final es el estrés.

Las plantas se adaptan a efectos exógenos desfavorables durante su ontogenia a través de atributos que le permiten resistir. Estas habilidades le confieren resistencia (por ej. contra heladas, altas temperaturas y hielo) que le permiten sobrevivir a condiciones desfavorables.

Hay cambios en la estructura, en la fisiología de las células y tejidos que provienen de cambios metabólicos.

La manifestación de los efectos desfavorables aparece en la velocidad, inhibición y cesación del crecimiento.

Déficit y exceso de agua en el suelo

Vimos que el déficit hídrico en el suelo afecta las propiedades osmóticas de las células. Al principio se acumulan sacáridos en hojas y se inhibe su transporte a órganos destino y después de un tiempo disminuye la fotosíntesis y aumenta la respiración.

Hay también una intensa degradación de sacáridos y lípidos y luego una degradación proteica. Entonces después de la inhibición del crecimiento hay una marchitez temporal que, después de ocurrir la cesación en el crecimiento, lleva a la marchitez permanente y a la muerte.

Hay plantas que sufriendo un déficit permanente de agua en el suelo se adaptan a estas condiciones y despliegan caracteres xeromórficos.

En el caso de exceso de agua, por encima de capacidad de campo, la concentración de O_2 disminuye y la de CO_2 aumenta cuando no hay aireación adecuada como en este caso. La actividad del sistema radical al estar así limitada, especialmente en la absorción del agua, lleva paradójicamente a una situación de déficit hídrico porque también es limitada la absorción de agua y sobrevienen disturbios en el metabolismo y crecimiento, esto porque frecuentemente hay una respiración anaeróbica en acumulación de productos en fermentación.

Como puede entenderse, el problema mayor es el del déficit hídrico.

Con relación a la situación hormonal, a medida que avanza el déficit hídrico aumenta el contenido de ABA y etileno, disminuyendo marcadamente el contenido de giberelinas y también puede disminuir el AIA.

El ABA aplicado exógenamente puede reducir la transpiración al cerrar los estomas, pero no se usa en la práctica porque requiere frecuentes aplicaciones y su costo es elevado.

La aplicación de otros inhibidores de crecimiento como TIBA (ácido 2,3,5 triiodobenzoico) o CEPA (ácido 2-cloro etilfosfónico) pueden aumentar la resistencia de las plantas a la sequía, pero las giberelinas y auxinas la disminuyen.

Hay dos tipos de señales desde el suelo en proceso de desecación:

- 1- un sistema de alarma temprana involucrando mensajeros radiculares, indicando que las raíces se están secando, tal como se ha demostrado con el sistema de raíces partidas, donde la mitad de ellas se mantiene regada y por lo tanto el resto de la planta está hidratada y la otra mitad de las raíces se la priva de agua, después de un tiempo, cuando el potencial agua del suelo ha bajado mucho es posible observar en las hojas el cierre de los estomas, aún cuando ellas tienen una buena hidratación, significando esto que ha habido para ello un mensaje desde la mitad de las raíces de la planta que habían sido colocadas en déficit hídrico.
- 2- La otra señal también puede provenir del ABA producido en las mismas hojas y que se transporta a los estomas.

El déficit de agua en tejidos fotosintéticos inhibe la fotosíntesis. A medida que la hidratación de las células disminuye, los estomas se cierran y como la capacidad difusiva del estoma determina el suministro de CO_2 al tejido asimilador, ello significa que la velocidad de fotosíntesis disminuirá marcadamente.

En efecto, es posible ver en la gráfica como varían la fotosíntesis y la expansión foliar en función del establecimiento de un déficit hídrico, en plantas de girasol. En verdad se aprecia que la expansión foliar es mucho más sensible que la fotosíntesis al estrés hídrico.

Se conoce que la expansión celular es un proceso dependiente de la turgencia y que por ello es sensible al déficit hídrico. Este tipo de relación entre la turgencia y el crecimiento puede describirse como:

$$VC = m(P - Y)$$

VC: vel. de crecimiento

P: turgencia celular

Y: es el umbral de producción, es decir que expresa la presión debajo de la cual la pared celular resiste una deformación plástica o no reversible **m:** es la extensibilidad de la pared celular que expresa la respuesta de la pared a la presión

$$VC = mP - mY$$

Si $mP = mY \rightarrow P = Y$ cuando $VC = 0$

La ecuación expresa que cuando disminuye el turgencia (P) habrá una disminución en la velocidad de crecimiento y además que para que el crecimiento se reduzca a cero no tiene que llegar P a cero (plasmólisis) sino al valor de Y. Normalmente $Y = 0,1-0,2$ MPa menor que la P. El gráfico muestra la situación total en una forma muy visible.

La relación entre el nivel de hidratación de las plantas y la fotosíntesis no es lineal. En el caso de una planta en marchitez temporal la fotosíntesis está en su menor valor. Y, justamente por esa relación no lineal, un aumento en la hidratación sólo afecta la velocidad de fotosíntesis en una forma no muy marcada. También el déficit hídrico afecta el transporte por floema de los asimilados desde su fuente a los distintos destinos, siendo menor y su intensidad dependiente de la intensidad del estrés. Hay experimentos que muestran que el transporte por floema es sólo afectado una vez que el estrés ha avanzado fuertemente, por ejemplo cuando ya se inhibió la fotosíntesis. Tal ejemplo está ilustrado en la figura 14.6. Asimismo, se afecta la capacidad metabólica de los estomas y por ello se afecta la conductividad estomática.

En cuanto a la eficiencia del uso del agua y el ciclo de fijación de CO_2 hay información que demuestra que por ej. una planta MAC puede ganar 1 g de materia seca por cada 125 g de agua, una cifra que es de 3 a 5 veces superior al rendimiento obtenible por una planta C3. MAC es característico de plantas suculentas como el cactus y hay algunas pocas especies de suculentas que son MAC facultativas, es decir pueden cambiar de C3 a MAC dependiendo de la disponibilidad hídrica.

Por otro lado, el estrés hídrico afecta también el ritmo transpiratorio, disminuyéndolo, así como también a la absorción de agua a nivel radical, de manera que se afecta la circulación del agua en el vegetal.

Si la lluvia es insuficiente o si lo es el nivel de suministros de H_2O a las plantas entonces aparece un período de sequía clasificado como zonal (o regional) y local. Los factores zonales causan la sequía climática o atmosférica y los factores locales del suelo o sequía fisiológica o física.

En la práctica agrícola y silvicultural se han elaborado diferentes métodos de lucha por ejemplo incorporando plantas que muestren la capacidad de osmorregular, otros recursos agrotécnicos y aún con intervenciones genéticas.

La irrigación, esto es la distribución artificial de agua a tierras dentro de un perfil de suelo fisiológicamente efectivo puede conducir a una optimización de la producción.

La cantidad de agua requerida para el metabolismo, crecimiento y desarrollo de las plantas desde el comienzo mismo de la estación de crecimiento (u ontogenia) hasta cosecha, se llama requerimiento de humedad de las plantas y el régimen de irrigación indica la distribución de la cantidad total de agua a las plantas.

Ocurre a veces que las plantas irrigadas muestran una producción pobre debido al hecho de que se hizo una irrigación inadecuada. Un régimen de irrigación equivocadamente definido tiene un efecto negativo sobre las propiedades del suelo como por ejemplo un alto contenido de agua disponible fisiológicamente - alrededor del 85% de la capacidad capilar máxima del agua -c.c.- puede llevar a un lavado de nutrientes de los horizontes, mientras que una irrigación incorrecta por largo tiempo puede resultar en una degradación del perfil efectivo.

Es importante decidir el tiempo del día y en qué estado ontogénico hay que aplicar dosis individuales de irrigación. Se recomienda irrigar cuando la transpiración es baja, p. ej. a las 7 de la mañana o a las 7 de la tarde.

Por otro lado en el curso de la estación de crecimiento se recomienda que las dosis individuales de irrigación se aplique en los momentos de desarrollo vegetal donde el consumo de agua por transpiración y crecimiento alcanza sus valores máximos, esto es, en antesis y floración.

Hay períodos donde la planta es más sensible a la falta de agua. Por ejemplo, en cereales de primavera, el intervalo entre macollaje y antesis representa un período crítico en su ontogenia. En general hay cuatro períodos críticos, a saber:

- 1- Germinación
- 2- Macollaje
- 3- Antesis
- 4- Maduración

En todas las plantas se pueden ver los síntomas de que su demanda por agua no se ha satisfecho. Por ejemplo, en cereales el período de macollaje a antesis marca un período de intenso crecimiento y consumo incrementado de nutrientes y agua. La carencia de agua en el suelo no sólo inhibe el crecimiento sino también la transpiración, especialmente de las hojas superiores y en casos extremos se limita el suministro de agua y nutrientes al ápice de crecimiento o a la inflorescencia.

El efecto de la sequía es especialmente dañino inmediatamente antes y durante el período de crecimiento de la caña (encañazón) ya que en este estadio de desarrollo se forman en el ápice de crecimiento los primordios de la espiguilla. Aquí, la sequía puede causar una reducción en el número de espiguillas en alrededor de 1/3, reduciendo entonces la producción de granos. También se observa una marcada disminución en la producción, en plantas sujetas a estrés hídrico un poco después, es decir en el período desde comienzo de la formación de las tétradas de polen al estado de antesis. La producción de granos también puede producirse cuando la sequía ocurre en el estado de formación del grano, no alcanzando su tamaño normal, ya que aunque el déficit de agua, si bien puede no afectar el número de granos, sí puede reducir su masa absoluta y su calidad.

En trigo de primavera se ha demostrado que la sequía durante la formación de las hojas reduce el número de macollos productivos.

Entonces, si la sequía sucede durante la formación de espiguillas, se reduce el número total de granos, mientras que la sequía en el período de formación de granos puede reducir la masa absoluta de los granos y con ello la calidad.

De manera que el efecto de la sequía en cualquier estado ontogénico es reflejado en la producción, aunque esta disminución es causada por el daño a diferentes órganos, afectados por la sequía en el período de su formación.

El menor número y masa de granos se observa cuando la sequía ocurre en la formación de las células sexuales.

A veces se confunde la resistencia a la sequía con los problemas inherentes a períodos críticos del desarrollo vegetal.

Por ejemplo, se ha demostrado que en el curso de la ontogenia hay períodos críticos inevitables durante los cuales la resistencia de las plantas se reduce marcadamente:

En los cereales de primavera, el primer período crítico ocurre antes y en el comienzo de la encañazón cuando los primordios florales se forman en el ápice.

El segundo período crítico puede encontrarse antes de ó en el comienzo de la antesis, cuando tiene lugar la formación de los gametofitos,

El tercer período crítico es aquél de la formación de los granos.

El primero y tercero que son de una reducida resistencia a la sequía resultan en una capacidad reducida en las hojas para acumular agua, mientras que el segundo resulta en la sensibilidad de los granos de polen a la sequía.

Algunos cultivos de trigo genéticamente adaptados a condiciones más exigentes muestran una habilidad relativamente superior para contener agua, especialmente en esos períodos críticos, mostrando así mayor resistencia a la sequía.

Resistencia a temperaturas desfavorables

En algunas plantas los límites mínimos y máximos de temperatura pueden excederse sin efectos muy nocivos sobre el crecimiento y desarrollo. A temperaturas ligeramente superiores o debajo de estos límites las plantas entran en la llamada **zona de rigidez térmica** y cuando se restablece el rango adecuado de temperaturas, las plantas retoman su actividad fisiológica.

Pero cuando la temperatura aumenta mucho, incrementa el contenido de sustancias tóxicas en forma marcada y la extinción ocurre a temperaturas de aproximadamente 40 °C. La coagulación de proteínas ocurre entre 40 y 50 °C. A estas temperaturas las plantas mueren en minutos, sobre todo si se trata de plantas de zonas templadas.

Se encontró que la viscosidad del protoplasma es de algún valor en la resistencia de plantas a temperaturas desfavorables. Las plantas resistentes tienen mayor viscosidad en su protoplasma y contienen más agua libre.

Pero la resistencia a altas temperaturas está condicionada por atributos genéticos obtenidos durante el transcurso de la filogenia. Es así que por ejemplo, las plantas subtropicales y tropicales toleran temperaturas superiores a 50 °C más fácilmente que plantas de zonas templadas.

Algo parecido ocurre con relación a la resistencia a bajas temperaturas. Por ejemplo, el pepino y otras plantas termófilas retardan o detienen su crecimiento a aproximadamente 5 °C.

También las plantas de regiones subtropicales deben resistir temperaturas bajo cero, puesto que en esas regiones también pueden darse esas temperaturas.

La capacidad de sobrevivir a períodos de heladas puede depender de propiedades específicas como son la capacidad de las plantas anuales de pasar el invierno en estado seco como ser semillas maduras que son muy resistentes.

Las otras plantas perennes sobreviven al invierno en forma de rizomas, tubérculos, bulbos, etc. protegidas por una capa de suelo y nieve. Pero algunas otras entran en inevitable contacto con heladas, como ser las gramíneas (cereales) y las especies leñosas y sus tejidos pueden congelarse total o parcialmente y su habilidad para pasar el invierno se basa en la extraordinaria resistencia a las heladas. El daño por frío por ejemplo 5 °C y menos o la muerte por temperaturas inferiores a 0 °C ocurre por disturbios metabólicos, deshidratación de coloides plasmáticos y congelamiento del agua en paredes celulares y vacuolas. Se desnaturalizan las proteínas sensibles y hay cambios a nivel de ultraestructura.

El hielo que crece en los espacios intracelulares retira agua del protoplasma, el contenido celular se concentra, eventualmente hay salificación, el pH disminuye y también la actividad enzimática, por ejemplo, de amilasas y proteasas. Aún así, las paredes celulares pueden permanecer intactas y lo mismo las membranas. El peligro también existe al producirse el descongelamiento.

Endurecimiento o aclimatación o adaptación

El endurecimiento es la adaptación a efectos ambientales desfavorables. Las plantas endurecidas o aclimatadas se pueden obtener ya sea por un medio de adaptación gradual a efectos ambientales desfavorables o por cruzamiento con cultivares resistentes. En esta adaptación existe un incremento de sacáridos, principalmente sacarosa, a medida que el contenido de agua disminuye, por consiguiente incrementando la presión osmótica de sus células.

También se observa un incremento de las distintas sales en las células.

En especies leñosas el endurecimiento ha estado acompañado de un incremento en la concentración de ABA y una disminución de giberelinas y auxinas. También, por ejemplo en maíz, con la disminución de las temperaturas se incrementa el contenido de ABA y disminuye el de giberelinas.

Por ello, la aplicación de giberelinas o auxinas como de otras hormonas promotoras, puede reducir la resistencia a helada y la aplicación de inhibidores puede incrementarla, por ejemplo, cloruro de cloro colina (CCC) o paclobutrazol que son retardantes de crecimiento, inhibiendo el primero la ciclización a kaureno y el segundo la oxidación de kaureno, ambos inhibiendo el crecimiento en elongación.

Por ejemplo, el uso de paclobutrazol en el medio nutritivo de ápices de vástagos de guindas reduce el crecimiento en elongación y aumenta la resistencia de los explantos contra bajas temperaturas por ej. de alrededor de 0,5 °C. Sin embargo, no se ha probado en general la relación entre una reducida resistencia a heladas y una velocidad de crecimiento incrementada.

Las plantas que son resistentes a heladas muestran un menor contenido de agua libre y un alto nivel de agua unida que no puede congelarse fácilmente. Hay también incremento de monosacáridos producidos por la acción del frío sobre la actividad de pasos bioquímicos que degradan el almidón. También hay formación de antocianos, taninos, mucílagos, pectinas y un incremento salino.

Un aumento en la presión osmótica celular conduce a una mayor resistencia a heladas. También en el caso de la resistencia a heladas, ella depende de estadíos críticos de su crecimiento y desarrollo.

La resistencia de plantas a mayores temperaturas puede incrementarse con citocininas.

Vamos a ver ahora algunos de los efectos de concentraciones aumentadas de sales en los suelos.

En algunas áreas se acumulan grandes cantidades de sales, por ej. en suelos donde la precipitación es insuficiente para lixiviar las sales producidas por acción climática sobre las rocas madres. Esto particularmente ocurre en las regiones bajas de las sierras y montañas donde hay acumulación de precipitación, acompañándose con una concentración de sales solubles, parcialmente por evaporación y parcialmente por el suministro de más sales. También hay alta acumulación de sales en las llamadas salinas, donde sólo existen plantas bien adaptadas a suelos salinos, esto es las halófitas.

Las cantidades excesivas de sales son dañinas para todas las otras plantas.

Uno de los efectos es por la disminución excesiva del potencial agua. Sin embargo, hay sales que *per se* son muy tóxicas, aún en pequeñas concentraciones, como las de Al^{2+} y Al^{3+} y de Mg^{2+} que habitualmente están juntas con sales de Na^+ y carbonatos alcalinos.

Hay diferentes grupos de halófitas. Algunas son de suelos salinos húmedos, en bancos y lagos o playas donde muestran partes aéreas carnosas y son similares a las familias de cactáceas y crasuláceas. Tienen gran resistencia con altas presiones osmóticas celulares. Pueden mantenerse en medios sin sal y esto es una característica genética.

Hay otro grupo donde la acumulación de sales en sus células es casi tan tóxica como en las mesófitas. Sus raíces muestran baja permeabilidad a sales y para ellas el suministro adecuado de agua por gradientes de potenciales de agua favorables está asegurado por la presencia de otras sustancias osmóticamente activas como son los ácidos orgánicos y los aminoácidos (principalmente prolina) y azúcares. Representantes típicos son las plantas del género de *Artemisia*.

Hay un tercer grupo con una considerable permeabilidad de sus raíces a sales, y son plantas que las pueden eliminar por medio de unas glándulas de secreción que cubren abundantemente su parte aérea, son especies de estepas y desiertos de la familia *Plumbaginaceae*, *Tamarix* y otras. En tiempo seco sus superficies están cubiertas de sal seca.

Ninguna de las plantas cultivadas es una halófita típica, aunque entre ellas hay algunas más o menos resistentes a concentraciones salinas altas como por ej. *Medicago sativa*, *Cucumis melo*, *Beta vulgaris*, *Lycopersicon esculentum*, etc.

Resistencia a contaminantes aéreos

La presión antrópica colocada sobre todo en países desarrollados, por la alta actividad industrial y en general debido a la producción agrícola, es bastante alta y a menudo se relaciona con problemas de contaminación ambiental.

Los contaminantes aéreos se denominan **emisiones** o **exhalaciones**.

La parte de emisiones que producen efectos tóxicos sobre los organismos vivos se llaman **inmisiones** y especialmente son debidas a SO_2 , óxidos de N y otras sustancias. Estas van a la atmósfera y también al suelo donde reaccionan con sustancias produciendo compuestos aún más tóxicos y dan efectos más marcados en la biosfera.

Los efectos tóxicos de las inmisiones del aire ya sean sólidas, líquidas o gaseosas, dependen de sus concentraciones y de su tiempo de residencia.

En las ciudades, las principales fuentes de contaminación provienen de los gases de escape de vehículos y en general de la quema de residuos fósiles.

Las concentraciones de gases contaminantes o sus soluciones, a las cuales las plantas se exponen, son altamente variables y dependen de la localidad, dirección del viento, lluvias y luz solar. En áreas urbanas importantes las concentraciones de SO_2 y de NO_2 en el aire están en el rango de 0,02-0,5 $\mu l/l$ y se encontró que una dosis de 0,5 $\mu l/l$ es inhibitoria del crecimiento vegetal, por lo cual ya se puede presumir que por debajo de esa dosis ya existirían efectos deletéreos.

En cuanto a la presentación de efectos, ellos pueden ser de distinto tipo como ser:

1- Inhibición del crecimiento

2- Malformaciones que globalmente cambian la apariencia normal de las plantas.

3- Acidez en la corteza, lo cual constituye un indicador de la contaminación aérea. También desarrollo de cutícula sobre los estomas en las hojas.

- 4- La vegetación en suelos arenosos y suelos más antiguos son más sensibles a la contaminación aérea que en el caso de suelos más jóvenes que están más buferizados.
- 5- La lluvia ácida causa daños en actividades metabólicas especialmente en la fisiología foliar, produciéndose daño en los cloroplastos que obviamente impactan negativamente en su actividad fotosintética.
- 6- Posteriormente se producen cambios en las raíces y se afecta la disponibilidad de cationes importantes
- 7- El sulfuro y el amonio ligeramente neutralizan el efecto de la lluvia ácida pero al absorberse amonio se incrementa la acidez del sistema agrícola y silvocultural.
- Las citocininas ejercen un efecto protector para las plantas sometidas a lluvia ácida artificial. El medio ácido también incrementa la producción de etileno. En cultivares más resistentes al medio ácido se desarrolla menor producción de etileno. Contrariamente, en arvejas, los efectos de las lluvias ácidas artificiales son inhibidos por ethrel (?)
- La lluvia ácida también reduce la resistencia de las plantas a la sequía.

Transporte por floema

El floema transporta los productos de fotosíntesis desde las hojas maduras a las áreas de crecimiento y almacenamiento, incluyendo las raíces. Redistribuye agua y varios compuestos a través de la planta.

Generalmente, el floema se encuentra del lado externo a los tejidos vasculares primarios y secundarios.

Sus células se llaman **elementos cribosos**. En angiospermas son tubos cribosos y en gimnospermas células cribosas.

El floema contiene células acompañantes, células de parénquima y células laticíferas.

Sólo los elementos cribosos funcionan en el transporte.

El movimiento de los azúcares producidos por la actividad fotosintética se realiza por los elementos cribosos del floema. Se han hecho estudios con CO₂ con C-14 que prueban esto (fig. 7.4). Una prueba más antigua, un poco más grosera, es a través del anillado de un tronco (fig 7.3).

Los elementos maduros son células vivas altamente especializadas para el transporte y que carecen de estructuras que normalmente existen en las células: perdieron su núcleo y el tonoplasto; tampoco las células maduras poseen microfilamentos, microtúbulos, cuerpos de Golgi y ribosomas. Tienen membrana plasmática, algunas mitocondrias modificadas, algunos plastidios y retículo endoplásmico.

Sus áreas perforadas interconectan las células conductoras.

Los elementos cribados colocados juntos forman los tubos cribosos. Los poros contienen numerosas membranas, y se continúan a ambos lados con el retículo endoplásmico.

Las características de ambos tipos de elementos cribosos figuran en la tabla 7.1

Se muestran en diagramas y fotografías las características mencionadas (figs. 7.5 a 7.8)

En las dicotiledóneas aparece la **proteína P**, raramente en las monocotiledóneas y nunca en las gimnospermas. Su función es la de sellar elementos cribosos dañados tapándolos. Si se corta un tubo que está bajo presión positiva, saldría savia floemática enriquecida con azúcar, si no existiese un mecanismo de sellado. Cuando esto ocurre la proteína P y otras sustancias cierran el poro del elemento criboso y lo taponan.

Una solución de más largo plazo es a través de la síntesis de un glucano (beta 1-3) callosa que es sintetizado en el plasmalema y depositado sobre la pared celular (Fig. 7.9). Se sintetiza en respuesta a daños y otros estreses, por ej. alta temperatura.

Cada tubo criboso tiene una o más **células acompañantes**. Hay numerosos plasmodesmos que interconectan para facilitar el transporte entre ellos. Se forman de la misma célula madre que los elementos cribosos (Figs. 7.6 y 7.7) En gimnospermas hay otras células con esta función: las **células albuminosas**.

Estas células tienen funciones metabólicas críticas tales como síntesis de proteínas y suministro de ATP (tienen numerosas mitocondrias).

También hay otras células: **células de transferencia** que facilitan la transferencia de materiales a los tubos cribosos (en algunas herbáceas). Su membrana plasmática tiene involuciones que aumentan la superficie de transferencia (Fig. 7.10).

El transporte por floema puede tener distintos patrones y el camino de fuente a destino depende de las pautas anatómicas y de desarrollo: El transporte es hacia arriba y hacia abajo. La **fuentes** es cualquier órgano exportador: típicamente una hoja madura que produce fotoasimilados en exceso a sus necesidades. También puede ser un órgano de reserva en su fase exportadora.

El **destino** es cualquier órgano no fotosintético: raíces, tubérculos, frutos en crecimiento y hojas inmaduras.

Los destinos no son igualmente alimentados por todas las hojas sobre la planta sino que hay ciertos destinos específicos:

Generalidades:

- 1- Es importante la proximidad de la fuente al destino. Así las hojas superiores exportan a las hojas inmaduras y las inferiores lo hacen a las raíces. Las hojas intermedias pueden exportar en ambos sentidos.
 - 2- Durante el desarrollo cambia la importancia de distintos destinos. Durante el crecimiento vegetativo son importantes los tallos y las raíces mientras que en el reproductivo lo son los frutos.
 - 3- Las hojas fuente suministran a destinos con los que tienen conexiones vasculares directas, esto es ortosticidad (Fig 7.11a)
 - 4- Los patrones de ortosticidad pueden cambiarse por daños o poda (Fig. 7.11b). Las hojas superiores se pueden forzar a transportar hacia las raíces podando las hojas destino inferiores.
- En floema los carbohidratos, principalmente sacarosa y también rafinosa, estaquiosa y verbascosa (sacarosa con 1, 2 y 3 moléculas de galactosa respectivamente), se transportan en forma de azúcares no reductores (los reductores tienen aldehidos libres como la glucosa y la fructosa), además de sorbitol y manitol, que son azúcares alcoholes.
- El transporte de los compuestos de asimilación de nitrógeno bajo formas orgánicas es casi exclusivamente la forma de transporte por floema. (Tabla 7.2)

El N en hojas maduras es bastante estable, entonces por lo menos algo del exceso de N que llega vía xilema es redistribuido a frutos y hojas jóvenes por floema.

Los niveles de compuestos nitrogenados en el floema son muy elevados durante la senescencia foliar.

Las velocidades del movimiento medido por diferentes técnicas es en promedio de 1 m h^{-1} (con un rango de 30 a 150 cm h^{-1}). Son velocidades superiores a las que podría justificar una simple difusión.

Cargado del floema

Existen diferentes pasos desde el cloroplasto a los tubos cribosos:

1- La triosa-P (de fotosíntesis) en cloroplasto pasa al citosol y allí se sintetiza la sacarosa.

2- La sacarosa de las células del mesófilo se mueven por una corta distancia de 2-3 células hacia el elemento criboso en las pequeñas venas. (Fig. 7.14).

3- El cargado del floema, que es activo. Y una vez cargada en el tubo la sacarosa y otras sustancias, se transportan a través del sistema vascular hacia sus destinos.

Y es en definitiva el cargado y el descargado del floema quienes van a producir la fuerza impulsora para el transporte por el floema, originando una diferencia de presiones que permite el establecimiento de un flujo masal.

Es importante conocer las relaciones fuente/destino pues este conocimiento puede aplicarse para dirigir la acumulación en órganos de interés. por ej. semillas en granos de cereal.

El cargado usa energía metabólica. Por distintos métodos se ha medido la presión osmótica, por ej., en remolacha en el mesófilo se ha registrado 1,3 MPa, mientras que en elementos cribosos y células acompañantes la presión osmótica registrada fue de 3 MPa.

La mayor parte de esta diferencia está dada por la sacarosa. Esto se ve en la Fig. 7.15. El transporte debe ser activo. Se ha inhibido el cargado con inhibidores respiratorios que disminuyen el ATP.

En la Fig. 7.16 se ve el camino posible del cargado del floema. Siendo el camino desde mesófilo a elemento, al menos parcialmente apoplástico y también conducido en forma simplástica, pero no todas las sustancias en el floema son cargadas activamente, sobre todo las que se encuentran en bajísimas concentraciones como son las hormonas y ácidos orgánicos que directamente pueden pasar vía difusión por la bicapa fosfolípida.

En la Fig. 7.17 se describe un modelo para el cargado de sacarosa vía simporte sacarosa/ H^+ , esto es por un mecanismo secundario como vimos antes, a expensas de la disipación de la energía del gradiente de H^+ generado por una H^+ -ATPasa.

Para las descargas en órganos destino se produce el importe y usualmente es simplástico. Como en hojas y raíces, aunque en otros órganos es apoplástico (Tabla 7.3). Si la descarga es en el apoplasto, el azúcar puede parcialmente metabolizarse ahí. El esquema posible se presenta en la figura 7.18.

El mecanismo del transporte por floema

La teoría más aceptada es la llamada hipótesis de flujo de presión. El gradiente de presión se establece como consecuencia del cargado del floema en la fuente y la descarga en destino. La carga dirigida por energía en el floema genera un incremento en la presión osmótica que disminuye el potencial agua del tubo como consecuencia entra agua al tubo y genera una presión de turgencia. Al final del sistema de transporte la descarga del floema disminuye la presión osmótica y por ello el potencial agua aumenta por encima del potencial agua del xilema y sale agua desde el floema en respuesta al gradiente de potencial agua originado. Si no fuera por la presencia de placas cribadas que aumenta la resistencia al flujo entonces las diferencias de presión en fuente y destino se equilibrarían y el flujo cesaría. El contenido es empujado en flujo masal. Este modelo involucra la circulación por xilema como se muestra en la Fig. 7.20.

Asignación y partición de asimilados

La **asignación** es la regulación de las cantidades de carbohidratos que son dirigidos en distintos caminos metabólicos. En las fuentes estos mecanismos determinan la cantidad de C que será almacenado como almidón; metabolizado dentro de las células de la fuente o inmediatamente transportado a los tejidos destino.

En los destinos, los azúcares transportados son asignados a procesos de crecimiento o almacenamiento.

La **partición** es la distribución diferencial de los fotoasimilados dentro de la planta entera. Los mecanismos de partición determinan las cantidades de C fijado suministrado a tejidos destino específicos.

Tanto la carga como la descarga del floema y la asignación y partición de asimilados son de gran interés en la investigación debido a sus roles en la productividad de los cultivos.

Asimilación de N, S, P, O y cationes

La asimilación de nutrientes es un proceso por el cual los nutrientes adquiridos por la planta son incorporados en los constituyentes carbonados necesarios para el crecimiento y desarrollo.

Para el **nitrógeno**, este es un proceso en una serie de pasos que constituyen el ciclo del nitrógeno, el cual comprende los distintos estados del nitrógeno en la biosfera y sus interconversiones. La principal fuente de nitrógeno disponible a la mayoría de las plantas es el nitrato, el cual debe reducirse a amonio antes de que se incorpore en moléculas orgánicas. Bajo algunas condiciones el amonio que se encuentra en el suelo está en cantidades pequeñas y puede absorberse directamente por las plantas.

Hay una cantidad de plantas y principalmente las leguminosas que forman una asociación simbiótica con bacterias fijadoras de nitrógeno y usan el N_2 atmosférico. Estas bacterias contienen un complejo enzimático, la nitrogenasa, que reduce el N_2 atmosférico a amonio.

También hay microorganismos procarióticos que no forman asociación simbiótica con las plantas superiores pero la benefician al enriquecer al suelo con mayor contenido de nitrógeno.

El **sulfato** también debe reducirse para ser asimilado. Esta reducción involucra la formación de dos formas activadas de sulfato llamadas adenosina 5,-fosfosulfato (APS) y 3,-fosfoadenosina 5,-fosfosulfato (PAPS). El producto final de la reducción es SH_2 que no se acumula en las plantas sino que rápidamente se incorpora en los aminoácidos cisteína y metionina.

El **fosfato** esta incorporado en una variedad de compuestos en las células vegetales, incluyendo azúcares fosfato, lípidos, ácidos nucleicos y nucleótidos libres. El producto inicial de su asimilación es ATP que se produce mediante fosforilaciones a nivel de citosol, de mitocondrias en la fosforilación oxidativa y de cloroplastos en la fotofosforilación.

Mientras que la asimilación de nitrógeno, azufre y fósforo requiere de la formación de uniones covalentes con compuestos carbonados, muchos cationes macro y micronutrientes forman complejos. Estos complejos pueden ser por uniones coordinadas o electrovalentes. La asimilación del **Fe** no sólo involucra la formación de complejos sino varios pasos redox. Para que el Fe^{3+} sea absorbido debe sufrir una reducción a Fe^{2+} , probablemente por un sistema de transporte electrónico de la membrana plasmática. El Fe es transportado dentro de la planta acompañado como citrato. Con el propósito de almacenar grandes cantidades de Fe, las plantas sintetizan una proteína de almacenaje de hierro, la fitoferritina. Una función importante del Fe en las plantas es actuar como un componente de redox en el sitio activo de distintas enzimas, usualmente del tipo de Fe-porfirina. La incorporación del Fe se produce por actividad de una ferroquelasa.

Además del uso en la respiración, el **O₂** molecular puede ser asimilado en el proceso de fijación de O₂, esto es la adición directa del O₂ a compuestos orgánicos. Este proceso está catalizado por enzimas conocidas como oxigenasas, que son mono y dioxigenasas.

Cerca del 10% del peso seco de la planta es N, incorporado en la estructura primaria. El N es provisto en formas inorgánicas como amonio o nitrato. El amonio puede ser usado por las plantas, pero como tal es tóxico cuando se acumula. Lo mismo ocurre con nitritos, y a menos que se remueva es tóxico.

El nitrito en medio ácido origina ácido nitroso que es mutagénico.

La acumulación de amoniaco por ejemplo en brotes inhibe la síntesis de proteínas, pues por ser un desacoplante, es un inhibidor efectivo de la respiración. Por otro lado, al formarse amidas en la tarea de neutralizarlo mediante la unión con aminoácidos, estos no van a estar disponibles para la síntesis de proteínas. También puede inhibir la fotosíntesis al desacoplar la fosforilación fotosintética.

A pesar de que las plantas superiores pueden absorber y usar formas variables de N, su nutrición nitrogenada depende fundamentalmente del uso de nitrato y amonio.

Ya que las rocas madres de los suelos no son ricas en compuestos con nitrógeno, al N se lo encuentra en el suelo fundamentalmente en forma orgánica. Esto es, forma parte de los restos vegetales, animales y de microorganismos, modificados por la acción misma de los microorganismos. Esos compuestos incluyen aminoácidos libres, aminoazúcares, péptidos, proteínas, compuestos húmicos, etc.

El rol del NH_3 es central en el metabolismo del N. Se observa en los siguientes dos diagramas:

En la Fig. 12.1 se observa el ciclo del nitrógeno a través de la atmósfera, el N_2 cambia a medida que es reducido desde la forma gaseosa para reducirse a iones y ser incorporado en organismos vivos. En **a** se muestran algunos de los pasos involucrados en el ciclo y en **b** se muestran las cantidades estimadas de N_2 transferido de un reservorio global a otro, expresado en millones de toneladas métricas por año.

La Tabla 12.1 muestra algunos ejemplos de organismos que pueden llevar a cabo la fijación de N_2 , que trabajan en restricción de O₂.

La Tabla 12.2 muestra las preferencias por distintos hospedadores que presentan distintas especies de *Rizobium*.

La Fig. 12.2 presenta los filamentos de la cianobacteria fijadora de N_2 , *Anabaena cylindrica*. En **a** aparecen las células vegetativas y los heterocistos (x1000). La fijación de N_2 ocurre en estas células especializadas que aparece con mayor detalle en **b** que es una micrografía electrónica de una célula vegetativa y un heterocisto. Los dos tipos de células se comunican a través de un poro que provee una continuidad protoplasmática entre ellas. El heterocisto está rodeado por un sobre grueso. El heterocisto sería una adaptación para permitir la fijación de N_2 , aquí está ausente el sistema PII productor de O₂. En ausencia de amonio, las células vegetativas se diferencian en heterocistos.

En otras cianobacterias la restricción por O₂ proviene del hecho que crecen en suelos anegados.

Las Fig. 12.3 muestra los característicos nódulos producidos por infección con *Rizobium japonicum* en soja (12.3a) y los causados por una asociación actinorizal entre un árbol y una bacteria perteneciente a los *Actinomycetes* (12.3b).

En la Fig. 12.6 se muestra el hilo de infección y los bacteroides en raíz de soja; mientras que las figuras 12.4 y 12.5 muestran distintos estadios desde la formación del hilo de infección, hasta la aparición de los bacteroides.

El primer paso en el establecimiento de la fijación simbiótica del N_2 es la unión del *Rizobium* a la raíz, que ocurre por múltiples formas de unión. Por ej. en *Rizobium trifolii* la unión ocurre mediante la unión con proteínas que se unen a carbohidratos de polisacáridos de la superficie de las células del *Rizobium*, llamadas lectinas. Sin embargo hay otras

asociaciones, por ej. en el caso de arveja-*Rizobium leguminosarum*, hay una proteína que es dependiente de calcio que participa en la unión.

La ecuación en la Fig. 12.1 muestra la reacción que es catalizada por la nitrogenasa y en la Tabla 12.3 se muestran todas las posibles reacciones que puede catalizar esta nitrogenasa, de manera que entonces se trata de una enzima que carece de especificidad de sustrato.

La Fig. 12.7 muestra en un diagrama participación de la nitrogenasa en la reducción de N_2 , usando como fuente de electrones a una ferredoxina reducida. La ferredoxina reduce a la Fe-proteína, mientras tiene lugar la unión con ATP. La Fe-proteína reduce a la MoFe-proteína y ésta al N_2 .

La nitrogenasa es una enzima compleja que puede separarse en dos componentes, la MoFe-proteína y la Fe-proteína, ninguna de las cuales separadamente tiene actividad catalítica.

La Fe-proteína es la menor de las dos, con dos subunidades idénticas de 30.000 a 72.000 Da (dalton), dependiendo del organismo. Contiene un racimo de Fe-S (4 Fe-4 S) que participa en las reacciones redox del N_2 a NH_3 y es extremadamente sensible a O_2 .

La MoFe-proteína tiene 4 subunidades con una masa molecular total de 180.000 a 235.000 Da dependiendo de las especies.

Tiene dos Mo por molécula en dos racimos Mo-Fe-S y un número variable de racimos Fe-S. También se inactiva con O_2 .

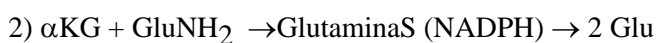
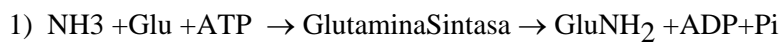
Los inhibidores de la nitrogenasa pueden ser específicos, esto es, los que bloquean directamente el crecimiento de la planta al bloquear la reducción del N, y no específicos, los que actúan bloqueando el metabolismo energético del organismo.

Dentro de los inhibidores específicos, además del ya mencionado del O_2 existen otros también competitivos como por ej. el H_2 y el NO y otro no competitivo como el CO.

Por ello, en la asociación simbiótica de raíces de leguminosas con bacterias fijadoras, el O_2 debe reducirse. Ello ocurre por una alta tasa de respiración de los simbioses o bien como en el caso de *Rizobium*, por la presencia de una leg-hemoglobina que une O_2 . Está en los nódulos en el citosol de células infectadas y en altas concentraciones (700 μM). La globina la produce el hospedador, mientras que el hemo lo hace la bacteria.

El Co es necesario para el crecimiento normal del *Rizobium* y por ende para infectar la legumbre, que también necesita Ca^{2+} y un pH 7.

La entrada del nitrógeno en bacteroides es:



En presencia de NH_3 se reduce la fijación de N_2 no por inhibición de la actividad de la enzima, sino por represión de la síntesis de la nitrogenasa. Esto es, hay un control sobre la formación. A medida que los bacteroides reciben carbohidratos, las formas medibles en que el N es fijado aparece en un 80 a 90% como $GluNH_2$ y $AspNH_2$. También en forma de OHPro y Thr. La excreción de las amidas desde el bacteroide sería por algún mecanismo de membrana.

Los genes estructurales que codifican para la nitrogenasa se conocen como genes Nif. Se piensa que la Glutamina sintetasa podría regular su actividad.

Genes involucrados en la fijación simbiótica del Nitrógeno

La habilidad de rizobia para volverse organelas endosimbióticas fijadoras de nitrógeno en las células radiculares de legumbres apoya el origen endosimbiótico de mitocondrias y cloroplastos. En verdad, en los bacteroides somos testigos de un estado intermediario en la evolución de una organela vegetal con auto-replicación fijadora permanente de nitrógeno.

Para llevar a cabo su existencia dual como organismo de vida libre y como una organela, el rizobium debe ser capaz de alterar su programa genético. Muchos de los genes necesarios para la nodulación y la fijación de nitrógeno están presentes en un gran plásmido circular: el **plásmido Sim** (por simbiosis). Librando al rizobio de su plásmido Sim por tratamiento con alta temperatura, se lo inhabilita en su capacidad de infectar las raíces y de inducir nodulación. La reintroducción del plásmido restablece el fenotipo de infección original.

Los genes del plásmido Sim involucrados en la infección de hospedador específico y en la formación de nódulo se los llama **genes nod**. Nuestro entendimiento de los genes nod es limitado y las funciones bioquímicas de los productos de los genes nod aún no se han dilucidado. Sin embargo, se ha descrito un número de mutantes de genes nod en rizobium que están bloqueados en distintos estadios de la infección y nodulación. Esto ha permitido realizar un mapeo de los genes nod en dos regiones diferentes del plásmido Sim correspondiendo a:

genes comunes que son intercambiados con los genes del plásmido de bacterias cubriendo un amplio rango de hospedadores, y

genes específicos al hospedador que sólo funcionan en un hospedador vegetal particular.

Los genes involucrados en la fijación del nitrógeno, que se vuelven activos durante los estadios últimos del desarrollo de los nódulos, son llamados ya sea **genes nif** o **genes fix** y a menudo se presentan en racimos. Las mutaciones en cualquier tipo de genes resulta en bacterias que pueden inducir nodulación pero que no pueden llevar a cabo la fijación de nitrógeno. Los genes nif están presentes tanto en fijadores de nitrógeno de vida libre como en los simbióticos. Ellos incluyen a los genes estructurales para la nitrogenasa y a los regulatorios.

Los *nifH* codifican por la Fe-proteína de la nitrogenasa, mientras que los *nifD* y *nifK* codifican respectivamente por las subunidades alfa y beta de la MoFe-proteína. Los genes *fix* sólo parecen estar presentes en fijadores simbióticos de N y pueden existir dentro o fuera del racimo de los genes *nif*. Una función posible de los genes *fix* es la de sintetizar el hemo. El precursor del hemo es el ácido aminolevulínico (ALA). Mutaciones en el gen que codifica por ALA sintasa causan una producción de nódulos blancos que son incapaces de fijar nitrógeno. Aparentemente, la producción de hemo por la célula del hospedador vegetal es insuficiente para soportar una síntesis masiva de leghemoglobina.

Además de la leghemoglobina, los nódulos contienen un grupo de proteínas que son de origen vegetal, que son específicas del nódulo, Tales proteínas son llamadas **nodulinas** y sus genes se llaman *Nod*. Se ha estimado que los nódulos de legumbres poseen de 20-30 nodulinas. Las nodulinas son expresadas en estadios específicos del desarrollo de los nódulos e incluyen a la leghemoglobina y a las enzimas que participan en el metabolismo ureído.

Un aspecto importante de la fijación simbiótica de N son las interacciones de los genes *Nod* vegetales con los genes *nod*, *nif* y *fix* de la bacteria. Todavía es un interrogante como son coordinados los procesos de infección y de desarrollo de nódulos. Los estudios sobre ello no sólo revisten interés teórico sino que tienen una importancia práctica, ya que por ejemplo podrían habilitar a los científicos vegetales a ampliar el rango de rizobium para incluir por ejemplo a cultivos de no leguminosas tales como las de cereales. Ello podría incrementar grandemente la productividad de suelos pobres en nitrógeno tanto como reducir la dependencia por fertilizantes nitrogenados.

Camino de asimilación de nitrato.

Las plantas no leguminosas dependen principalmente del nitrato como fuente de N. El nitrato penetra fácilmente por las raíces y se transporta por vía transpiratoria.

El nitrato es absorbido por un sistema inducible de transporte.

Antes de entrar al camino de asimilación, el nitrato debe ser absorbido por la célula. El nitrato estimula su propia absorción en plantas que no han estado previamente expuesta a él después de un tiempo de demora. Este hecho junto con la inhibición de la absorción de nitrato por inhibidores de la síntesis proteica y de la síntesis de ARN sugiere que el nitrato induce su propio sistema de transporte específico. La absorción de nitrato es inhibida por cianuro, condiciones anaeróbicas y dinitrofenol, que es un desacoplador de la fosforilación oxidativa, sugiriendo que se requiere energía metabólica.

En la Fig. 12.9 se muestra que efectivamente la nitrato reductasa es una enzima inducible, ya que la inducción del ARMm precede la aparición de la enzima en el caso tanto de raíces como de tallos, en cebada.

El nitrato absorbido por la planta se reduce a nitrito por la nitrito reductasa, cuya reacción en el citosol es:

Asimilación de azufre

El sulfato del suelo proviene de la roca madre. Sin embargo, actualmente la actividad industrial genera como contaminantes al SO_2 y SH_2 . Con la lluvia se forma SO_4H_2 , esto se conoce como lluvia ácida.

Las plantas metabolizan el SO_2 , pero una exposición de más de 8 horas a SO_2 y a una concentración superior a 0,3 ppm - que es una alta concentración atmosférica- causa daño por SO_4H_2 . Los componentes principales carbonados son cisteína y metionina.

En la raíz la absorción de sulfato ocurre por transportadores específicos. El destino puede ser hacia alguno de los compuestos orgánicos recién mencionados, incluyendo proteínas o bien se puede acumular en vacuola por "canaleo" (channeling) aniónico. La absorción de sulfato por las raíces es un proceso activo.

El sulfato debe ser reducido previo a su asimilación en compuestos carbonados.

Para esa reducción, en las plantas superiores hay enzimas ya sea en raíz o en cloroplastos y protoplastidios (en plantas C4 en los cloroplastos de los haces vasculares) que son capaces de efectuar esa reducción. Hay un primer paso de activación del sulfato con uso de ATP, para formar APS (adenosina 5'-fosfosulfato) actuando una ATPsulfurilasa (ec. 12.10).

Luego el APS se vuelve a fosforilar con participación de una APSquinasa y produce el PAPS (3'-fosfoadenosina 5'-fosfosulfato), compuesto éste que permite la incorporación del sulfato a sulfolípidos.

Para aminoácidos (cisteína y metionina) y proteínas se requiere el nivel de reducción del sulfuro.

Debido a las limitaciones energéticas para la formación de APS (12.10), este compuesto no debería acumularse. La reducción desde PAPS usa una 3'-fosfonucleotidasa dependiente de Mg^{2+} .

Sólo puede reducirse la forma activada de APS (ec. 12.13). El mecanismo exacto de la reducción no es conocido. Puede haber intermediarios con SO_3^{2-} (Fig. 12.13).

En sistemas no fotosintéticos la fuente de e- es el NAD(P)H.

El sulfuro no se acumula en la planta sino que es rápidamente incorporado a Cys y Met. Los posibles caminos por transsulfurilación y sulfurilación directa se muestran en la Fig.12.14.

La incorporación del S ocurre en la O-acetilserina que es una forma activada de la Ser y la enzima en el camino de transsulfurilación es la acetilserinasulfidrilasa (una reacción similar ocurre con la homoserina que se activa con acetil CoA, por medio de una homoserinatrans- acetilasa).

Asimilación de fosfato

El fosfato es tomado desde la solución del suelo y se incorpora en azúcares fosfato, fosfolípidos y nucléotidos. La principal entrada de fosfato en los caminos asimilatorios es durante la formación de ATP ya sea por respiración oxidativa o fotofosforilación.

En la Fig.12.15 se muestra una fosforilación a nivel de sustrato con producción de ATP, que ocurre en la glicólisis. El ATP formado puede luego entrar en distintas reacciones para formar compuestos fosforilados.

Asimilación de cationes

Hay una formación de complejos catiónicos con compuestos carbonados, que involucran la formación de uniones de coordinación y electrostáticas, es decir no hay transformación química. Ejemplos donde el catión se une sin unión covalente existen para el caso de K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Na^+ y Zn^{2+} y también en forma coordinada Cu^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} y Fe^{2+} .

El O y el N forman la coordinación (Fig 12.16 a y b), se neutraliza la carga positiva. El Ca^{2+} forma compuestos coordinados con el ácido poligalacturónico de la pared celular (Fig 12.16c).

En general, el K^+ y el Ca^{2+} y Mg^{2+} cuando no forma complejos se unen por unión electrostática con distintos ácidos orgánicos, aminoácidos, fosfolípidos y otras moléculas con carga. El K^+ lo vemos en una unión polar con el ácido málico en la Fig. 12.17 a y casi todo el K^+ permanece como ión libre en el citosol y vacuola, siendo sus principales funciones la osmótica y la de activación enzimática.

La incorporación de Ca^{2+} en componentes pécticos de la pared celular involucra uniones coordinadas y electrostáticas (Fig. 12.17 b).

La asimilación del Fe involucra ambas reacciones de redox y de formación de complejos.

El Fe cataliza reacciones redox mediadas por enzimas e interviene en la síntesis de la clorofila. El Fe está en los suelos principalmente como Fe^{3+} : $Fe(OH)_2^+$, $Fe(OH)_3$ y $Fe(OH)_4^-$, y es muy insoluble.

Por ejemplo, en respuesta a una deficiencia de Fe, las plantas dicotiledóneas disponen de un mecanismo de solubilización:

- 1- acidifica el medio que rodea a las raíces,
- 2- reduce químicamente al Fe,
- 3- absorbe el Fe^{2+} y
- 4- lo acumula como citrato y combinado con otros ácidos orgánicos.

La acidificación aumenta la solubilización del Fe^{3+} y el Fe^{2+} es más soluble. La fuente de e^- para la reducción puede ser de la cadena de transporte de e^- en membranas. Después el Fe^{2+} es reoxidado y transportado como citrato.

Es frecuente que el Fe esté acomplejado dentro de un grupo porfirina cuando actúa en reacciones redox, por ej en citocromos. En cloroplastos y mitocondrias, esta reacción de formación de complejo la hace la enzima ferroquelasa que cataliza la inserción del Fe en el anillo de porfirina para formar un complejo de coordinación (Fig. 12.18).

El Fe libre en exceso en los tejidos es dañino porque reacciona con O_2 y forma aniones O_2^- - superóxido que degradan lípidos insaturados de membrana. La planta tiene una forma de almacenar en una proteína, la **fitoferritina**. No se sabe cómo de aquí se libera el Fe.

Asimilación de Oxígeno

Si bien la respiración da cuenta por el mayor consumo de O_2 usado por las células, hay otras reacciones de asimilación de oxígeno en otros compuestos orgánicos. En la Fig. 12.19 aparecen ejemplos de oxigenación por actividad de enzimas llamadas mono-oxigenasas y dioxigenasas debido a que en la reacción que catalizan transfieren 1 o dos átomos de oxígeno.

Como ejemplo, vemos la obtención de OH-prolina en una reacción de dioxigenasa. Este aminoácido hidroxilado es un componente importante de la proteína de la pared celular llamada **extensina**. La extensina forma en la pared una red estructural que la fortalece. Otras reacciones se muestran en la Fig 12.19.

Algunos parámetros y términos relacionados con la transpiración.

En ecofisiología vegetal la expresión "coeficiente de transpiración" se refiere a la unidad de transpiración que expresa la relación de la masa de agua transpirada por las plantas durante la estación de crecimiento a su producción. El valor recíproco de este coeficiente de transpiración es la llamada **productividad de la transpiración** (PT) y expresa la biomasa producida en la estación de crecimiento por unidad de masa de agua consumida.

Antitranspirantes

El problema de la reducción de la transpiración es importante desde ambos puntos de vista: teórico y práctico. Una forma podría ser eliminando las vías de pérdida estomática y cuticular, en forma completa por ejemplo mediante la formación de films impermeables sobre las hojas. También pueden usarse sustancias que retarden el crecimiento de las plantas, de manera de reducir la transpiración, u otras provocando el cierre de estomas en forma parcial o total. Estas sustancias se denominan antitranspirantes.

Sin embargo, el intento de probar ya sea alcoholes especiales, ceras, siliconas, polietileno, vinilacrilato y otros ha resultado también en una reducción de la producción, razón por la cual su uso, de momento, es bastante limitado. El único antitranspirante natural efectivo es el ABA, pero su costo es muy elevado y necesita aplicaciones muy frecuentes. De allí que son importantes los estudios que puedan hacerse sobre la bioquímica que subyace en el movimiento estomático, de manera de poder encontrar una posible vía de manejo molecular.

La **evapotranspiración, E**, deriva en otro término: **evapotranspiración actual** que define a E bajo ciertas condiciones ambientales temporales. En efecto, la real reserva de agua de un suelo representa el factor limitante.

Así cuando se hace un pre-supuesto de la demanda de agua para diferentes propósitos prácticos, es necesario conocer la velocidad máxima de evapotranspiración. Por ello el término **evapotranspiración potencial** expresa la evaporación de agua desde una gran superficie de plantas de la misma altura que cubre perfectamente el suelo bajo condiciones de óptima humedad.

La evapotranspiración no sólo depende de los factores climáticos, temperatura, humedad y velocidad del viento, sino también de los que afectan la estructura y agua disponible en el suelo. Por eso, la evaporación es más o menos diferente de la evapotranspiración, que entonces depende de la estructura y régimen hídrico de los suelos.

En suelos desnudos la evaporación es tres veces superior a la que pueda existir en prados o en forestas.

Fenómenos bioeléctricos y transporte a través de membranas

Se habla de **transporte pasivo** de un soluto, por ejemplo en el fenómeno de difusión, cuando el transporte entre dos regiones ocurre espontáneamente en favor de un gradiente de difusión o de potenciales químicos, no existiendo en la situación de equilibrio un movimiento neto. Es decir, la sustancia presenta el mismo potencial químico en todo el sistema que está en equilibrio.

En el caso del **transporte activo** el movimiento es en contra de un gradiente de potencial químico y por ello para que el transporte tenga lugar debe gastarse energía.

La situación está planteada en la fig. 6.2.

En la fig. 6.3 se diagrama la situación de construcción de una diferencia de potencial eléctrico a través de una membrana como resultado de una diferente movilidad de los iones positivos y negativos, es decir que por ejemplo los cationes se mueven más rápido que los aniones. En esta situación, el ión que difunde (K^+) ya no sólo estará sujeto a un gradiente de concentración para la difusión sino que recibirá la influencia del campo eléctrico originado, es decir se estará moviendo cuesta arriba. De allí que para describir la situación energética del ión entre ambos lados de la membrana deba introducirse además el componente eléctrico. La descripción general de este estado, que además debe incluir el componente de presión hidrostática está en la ec. 6.1. Si se desprecia el último término y se aplica la ecuación para un soluto no dissociado como la sacarosa, el término eléctrico no influirá y el potencial agua para la sacarosa, asumamos entre el interior celular y el exterior, será el indicado en la ecuación 6.2.

En el caso del K^+ u otros iones, el campo eléctrico se considera en la ec. 6.3 y por re-arreglo de la última ecuación se obtiene la ec. 6.4, donde F es el número de Faraday = carga transportada por un átomo gramo del ión monovalente ó carga eléctrica de un mol de protones. A 25 °C la expresión se transforma en la ec. 6.5.

Noten que el significado de las ecs. 6.4 ó 6.5 es que el llamado **potencial de Nernst ΔE_n** (mV) es sólo consecuencia de la existencia de concentraciones diferentes del ión que difunde y que es posible entonces obtener una diferencia de potencial eléctrico de 59 mV si se mantiene una diferencia de concentración de 10 veces para el ión que es transportado pasivamente.

De manera que si realizamos mediciones de concentraciones y de los potenciales de membrana poseemos una forma de distinguir entre la naturaleza activa o pasiva de un transporte.

Un ejemplo se da en la tabla 6.1. el potencial de membrana medido fue de -110 mV. Con este valor y con la concentración externa se aplica la ec. 6.5 y se obtiene la concentración interna predicha. Comparando esta última con la concentración interna medida estaremos en condiciones de conocer si para el ión existe la situación de equilibrio o no llegó o aún si hay una exclusión que necesariamente debe ser resultado de un bombeo activo.

En la tabla 6.1 puede observarse por ej. que el K^+ está en equilibrio de difusión, que el Na^+ no llegó al equilibrio y habría una exclusión y que los otros se encuentran en concentraciones muy superiores a la externa, por lo tanto acumulándose en contra de un gradiente de potencial químico y eventualmente también contra el eléctrico, en el caso de los aniones.

La **ecuación de Goldman** incorpora el concepto de permeabilidad y considera a los gradientes de los iones prevaletentes a través de una membrana biológica, en efecto el K^+ , Na^+ y Cl^- tienen las mayores permeabilidades y más altas concentraciones en las células vegetales y por ello deben dominar la ecuación. El término P indica la permeabilidad correspondiente.

Una comparación entre las permeabilidades exhibidas para distintas sustancias y ya sea una membrana artificial o biológica es mostrada en la fig. 6.5. El alto valor de P para iones en las membranas biológicas revela el rol de las proteínas de transporte. Nótese además, que la diferencia es mayor de lo que aparenta la separación entre las posiciones diferentes de los iones, dado que se trata de una escala logarítmica y no lineal.

Pero el potencial de membrana en una membrana biológica no necesariamente es el que resulta de la difusión de iones como el descrito por las ecuaciones anteriores, sino que muchas veces es menor que estos valores. En estos casos el origen del potencial de membrana incluye además un componente electrogénico. Por ejemplo, por actividad de una bomba de protones dependiente de ATP puede resultar una hiperpolarización de la membrana. Un ejemplo de la existencia de tal potencial se muestra en la Fig. 6.9, donde un potencial de membrana de ca. -130 mV es rápidamente depolarizado a ca.- 50 mV siguiendo al agregado de una solución de cianuro a la solución donde se encuentra el material en estudio. El cianuro bloquea la producción de ATP, indicando la necesidad de su suministro para el mantenimiento del potencial. El lavado del cianuro permite restablecer la situación original.

Los fenómenos de transporte mediados por transportadores pueden caracterizarse y diferenciarse de los pasivos siguiendo la velocidad de absorción en función de la concentración de soluto. En el primero de los casos mostrará una típica respuesta de saturación llegándose a una meseta de máxima velocidad, mientras que en el caso segundo se puede observar que cumple la linealidad entre velocidad de difusión y el gradiente de concentración según la ec. de Fick, haciendo presumir por ejemplo la existencia de un canal iónico. Estas posibilidades son mostradas en la Fig. 6.21.

Un sistema de respuesta bifásica en la velocidad de absorción de K^+ a concentraciones en aumento del CIK se muestra en la Fig. 6.22, quizás denotando la existencia de dos sistemas de transporte, uno de baja afinidad y otro de alta afinidad. Se dan los valores de K_m .

Las Figs. 6.8 y 6.10 muestran respectivamente la actividad de una bomba electrogénica requiriendo ATP para el transporte de un ión, que se hace posible por una fosforilación de la proteína transportadora y un modelo hipotético de cotransporte usando la energía almacenada en un gradiente de protones. El sustrato S se mueve en contra de un gradiente de concentración.

Ejemplos de transporte secundario (co-transporte) **simporte** y **antiporte** a expensas de un gradiente primario de protones se dan en la Fig. 6.11.

En el caso del antiporte el bombeo de un protón al exterior celular está acoplado a la absorción de una molécula de sustrato desde el exterior y en el caso del simporte la energía disipada por un protón volviendo hacia el interior de la célula está acoplada a la absorción de una molécula de sustrato. En ambos casos, el sustrato en consideración se mueve en contra de su gradiente electroquímico.

Una evidencia de tal simporte se muestra con la medida simultánea del pH del medio que baña a la superficie de las plantas acuáticas *Lemna gibba* y el potencial de membrana celular. La condición de pH estable 5.7 cambia cuando se agrega al medio 50 mmoles de glucosa (sube a 6.32) y concomitantemente la membrana se depolariza (de -250 mV a -145 mV). Ello puede entenderse con la proposición de un simporte glucosa/ H^+ . Con el tiempo la situación original se restablece.

La Fig 6.13 muestra diagramáticamente la existencia de bombas de H^+ ATP-dependientes en membrana plasmática y tonoplasto, sistemas de simporte y antiporte y la presencia de canales.

La Fig. 6.7 presenta un resumen diagramático de los procesos pasivos (flechas) y activos (línea llena) que exhiben los principales iones a nivel celular. El interrogante indica el desconocimiento de la naturaleza (pasiva o activa) del proceso de transporte.

El Na^+ es transportado afuera de la célula por antiporte Na^+/H^+ . El Cl^- y sacarosa entran via simportadores específicos de H^+ . En el caso del NO_3^- y $PO_4H_2^-$ hay controversia. El K^+ parece estar cerca del equilibrio electroquímico, entra por difusión y está dirigido por una H^+ ATPasa.

A nivel de tejido, puede verse en la Fig. 6.24 una representación diagramática de la situación observada para el ingreso de CIK al xilema de raíces de maíz desde la solución exterior. La consideración del valor del potencial electroquímico para cada ión permite visualizar los sitios de bombeo activo o difusión. Así el potencial electroquímico para ambos iones es más alto que en la epidermis, corteza y el resto del tejido hasta el xilema, indicando que la absorción de ellos en esa región es activa, mientras que el potencial decrece en los elementos del xilema sugiriendo un transporte pasivo en favor de un gradiente electroquímico.

Una pregunta interesante a contestar es si el cargado del xilema está o no acoplado a la absorción. La fig. 6.25 muestra el diseño de experimentos destinado a proveer la respuesta. El segmento de raíz se coloca de manera que la solución de absorción del ión se ubica en un compartimento y a él se podrán agregar drogas para visualizar el efecto, y la porción remanente de la raíz con el extremo cortado queda en el compartimento contiguo que es el que permite medir el cargado del xilema. Por ejemplo la velocidad de desaparición de un trazador desde el compartimento (a) da una medida de la absorción del ión mientras que la de aparición en (b) provee una medida del cargado del xilema. En estas condiciones, el uso de hormonas e inhibidores por ej. de ABA y cicloheximida revela que no se afecta la absorción pero si el cargado. Si en este caso hubiera habido un paso activo, estos tratamientos deberían haber afectado simultáneamente la absorción y el cargado.

La Fig. 8.36 muestra el modelo esquemático de la ATPsintasa, los H^+ entran en el canal que a través de la membrana forman la región CF_o y son expelidos por CF₁.

Estudios de "Patch-clamp" en células vegetales

El uso del método de patch-clamp (pinzado de parche) en la fisiología vegetal está generando información acerca de las propiedades de membrana que están más allá de los alcances de otras técnicas. Los estudios electrofisiológicos con electrodos intracelulares son de valor para la medición de los potenciales de membrana y otras propiedades eléctricas de las células vegetales pero tienen limitaciones para la caracterización de bombas iónicas y canales iónicos. Por otro lado la técnica de patch-clamp es muy apropiada para este propósito.

Durante el registro intracelular, las células son atravesadas con un electrodo de vidrio y la punta del electrodo es ubicada en el interior de la célula, usualmente la vacuola. En los experimentos de patch-clamp, la punta de los electrodos de vidrio se coloca en contacto con la membrana plasmática de un protoplasto y se aplica una succión suave para facilitar la formación de un cierre hermético entre el electrodo y la membrana. Después de obtener un buen sello, hay varias opciones para el investigador. Una succión mayor puede remover la porción de la membrana delimitada por la apertura en la punta del electrodo (Fig.

6 A), exponiendo el interior de la célula a la solución del microelectrodo. En esta configuración, los eventos eléctricos medidos reflejan el movimiento de las cargas eléctricas en la membrana plasmática de la célula entera (Fig 6 B). Las células electrogénicas son estudiadas mejor en esta configuración.

Tirando el electrodo hacia afuera de la célula se produce un parche de membrana que está expuesto a ambas soluciones, del electrodo y del medio (Fig 6 A). Esta configuración hace posible el estudio de la apertura y cierre de canales iónicos únicos (Fig 6.6 y Fig 6 B).

Debido a que los protoplastos son esféricos su volumen es fácil de medir, y su carencia de conexiones eléctricas con otras células facilita los cálculos de los flujos de carga por unidad de área de membrana. Otra ventaja de la técnica es la

habilidad para distinguir entre eventos eléctricos en la membrana plasmática y en el tonoplasto y la posibilidad de controlar tanto la composición del citosol como del medio externo.

La mayoría de los estudios de patch-clamp sobre membranas vegetales han sido hechos con células guardas. La Fig. 6 B muestra alguno de los resultados obtenidos midiendo la corriente eléctrica en potenciales de membrana controlados (voltage clamp, voltaje fijado): Las corrientes en célula entera se muestran en (a). Estos datos se obtienen por aplicación de pulsos de voltaje a los protoplastos (como está indicado sobre la derecha de la figura) y se mide la corriente eléctrica en picoamperios, dejando a la célula en un dado voltaje. Estas relaciones de corriente-voltaje son de valor para el entendimiento de la regulación del transporte iónico a través de la membrana. La apertura de canales de potasio se muestra en (b). El experimentador cambia el voltaje impuesto a través de la membrana como se muestra en la parte superior del panel. En condiciones de medio apropiadas, la corriente medida, vista en la parte inferior del panel (b), muestra la apertura y cierre de canales de potasio.

Las corrientes eléctricas generadas por una bomba electrogénica se muestran en los paneles (c-e). Un pulso de luz azul dado sobre un fondo de luz roja de alta velocidad de flujo (c) estimula una corriente eléctrica transiente por activación de una bomba de H^+ dependiente de luz azul. En la oscuridad, el tratamiento de los protoplastos de células guardas con la toxina fúngica fusicoccina, la cual causa la apertura estomática, estimula una corriente eléctrica (d). El CCCP, un inhibidor metabólico que hace a la membrana altamente permeable a iones H^+ , cancela la respuesta. Las corrientes estimuladas por luz roja se muestran en (e). La alta resolución del patch-clamp está atrayendo la atención de muchos investigadores.

Distribución de asimilados en plantas

Sólo una pequeña parte de los asimilados producidos en los tejidos fotosintetizantes especializados de las plantas superiores se consume en los sitios de su formación, y aquí ellos se usan parcialmente para la producción de energía por respiración y parcialmente para la formación y regeneración de las células fotosintéticas.

Sin embargo, en una planta intacta, la mayor parte de los asimilados producidos se transporta hacia otros órganos u otras partes de la planta donde se usan o almacenan.

En plantas intactas, el transporte y distribución de asimilados no es accidental sino que ocurre de acuerdo a un patrón exacto el cual es válido en la mayoría de las plantas. Sin embargo, este patrón de distribución está cambiando continuamente en el curso del crecimiento y desarrollo vegetal y muestra un efecto considerable sobre las características morfológicas de las plantas y sobre sus componentes de rendimiento.

En general el flujo de asimilados corre de fuente a destino.

Las hojas fotosintetizantes representan la fuente principal de asimilación; en ciertos estados del desarrollo ontogénico, los órganos de reserva pueden ser también una importante fuente de asimilados. Todas las otras partes de la planta que no son capaces de cubrir su propio requerimiento nutritivo pueden funcionar como destino, es decir que pueden atraer los asimilados desde los sitios en que éstos se forman. Esto significa que los tejidos de reserva entonces pueden ser fuente o destino, ya sea importando o exportando los asimilados producidos por la planta.

Las relaciones entre fuente y destino pueden ser relativamente simples y directas. Esta situación existe por ejemplo en las plántulas donde los cotiledones contienen sustancias de reserva que representan a menudo la fuente principal y las raíces en crecimiento representan el destino principal.

En el curso del desarrollo de una simple hoja, se pueden observar estados con diferentes direcciones del flujo de los asimilados. En el comienzo, una hoja joven atrae asimilados de otras partes de la planta para formar su estructura morfológica; sin embargo, muy pronto se torna autosuficiente y cambia a ser una fuente, por ejemplo para las raíces. Las hojas superiores realizan esta función para el ápice del tallo. Las hojas medias pueden transportar asimilados en cualquier dirección. Cuando se considera la dirección del flujo de asimilados desde las hojas, debería considerarse que la posición de las hojas relativa al ápice está cambiando continuamente en el curso del crecimiento y desarrollo vegetal.

En el período de crecimiento vegetativo, el transporte de asimilados se dirige a centros que crecen intensivamente, como por ejemplo hojas en desarrollo, puntas de raíces, etc. La transición del crecimiento vegetativo al de formación de flores y frutos, o a un estado de rápido desarrollo de órganos de reserva, cambia significativamente el patrón de distribución de asimilados. Los frutos en crecimiento consumen preferentemente los asimilados desde las hojas más cercanas, pero a menudo también de hojas alejadas pudiendo causar un retardo del crecimiento vegetativo.

La dominancia de los órganos generativos sobre los vegetativos en lo referente al consumo de asimilados fue demostrada muchas veces sobre la base de patrones de distribución de asimilados o cambios en esta distribución después de la remoción de hojas y frutos.

Si la distribución normal de asimilados es disturbada, es posible cambiar la velocidad de fotosíntesis en los órganos verdes de las plantas. Tales cambios pueden ocurrir si las plantas crecen en condiciones medioambientales constantes.

Por ejemplo, la remoción de tubérculos de plantas de papa, o la remoción de granos de una espiguilla de trigo, resultan en una rápida disminución de la velocidad de fotosíntesis en las hojas. Así las plantas estériles exhiben velocidades de fotosíntesis mucho menores que las fértiles.

La capacidad regulatoria de destinos metabólicos puede ser explicada mediante dos hipótesis.

Una presume que la acumulación de asimilados en hojas iluminadas inhibe la velocidad de fotosíntesis de estas hojas. Pero no está probado. Otros asumen a partir de esta idea que la remoción de un destino metabólico resulta en la incorporación de asimilados en hojas de manera que la velocidad de fotosíntesis sería reducida.

Otra hipótesis presume que bajo condiciones normales se produce una cierta cantidad de hormonas en el sitio destino que luego se transportan a las hojas para incrementar la velocidad de fotosíntesis. Si el destino es dañado o removido en cualquier forma, la cantidad de hormona liberada se reduce y disminuye la velocidad de fotosíntesis.

Factores que afectan el transporte y la distribución de asimilados en plantas

El transporte de asimilados puede cambiar con la velocidad de crecimiento de órganos en desarrollo, los cuales a su vez pueden estar afectados por el nivel de fitohormonas, cambios en la velocidad de fotosíntesis y por la exportación de asimilados desde las hojas. Sin embargo, sólo raramente es posible aislar el efecto de factores individuales.

Luz y temperatura

La luz puede tener un efecto positivo en la velocidad de transporte de asimilados desde las hojas. Por ej., las hojas aisladas de caña de azúcar mostraron un mayor transporte basípeto en luz que en oscuridad. Sin embargo, puede presuponerse que la densidad del flujo radiante no afecta directamente el proceso de transporte y que sólo muestra un efecto sobre la condición fisiológica de la fuente de asimilados.

En cuanto a la temperatura se pudo observar por ejemplo que el enfriamiento de los pecíolos en poroto reducía la velocidad de transporte de la sacarosa desde las láminas foliares y esto puede asociarse al hecho de que tanto la carga como la descarga son procesos consumidores de energía metabólica.

Agua y nutrición mineral

Cuando las plantas se exponen ya sea a un déficit o a un exceso de agua, se observan cambios marcados en la distribución de asimilados. Por supuesto, estos cambios pueden ser el resultado de la existencia de una disminución y/o inhibición en el crecimiento o en la velocidad de fotosíntesis. Bajo condiciones de estrés hídrico los asimilados son retenidos en las hojas de manera que la velocidad de fotosíntesis también se reduce.

La nutrición mineral puede también afectar el transporte de asimilados. Por ejemplo K, P y N aumentan el diámetro de los tubos cribosos de manera que se mejora la capacidad de transporte. Esta intensificación en el transporte resulta en una estimulación de los procesos de crecimiento. El potasio forma complejos con aminoácidos y es su forma de movilizarse, el fósforo reacciona con sacarosa. Cuando hay deficiencia de B hay disturbios en el transporte de sacarosa. El B forma un complejo con la sacarosa el cual aparentemente puede transportar mejor a la sacarosa por las membranas. Una deficiencia en calcio reduce marcadamente el transporte de asimilados desde las hojas a las raíces.

Hormonas vegetales

De las hormonas, se ha demostrado especialmente que las auxinas afectan el transporte de solutos dentro de la planta. Por ejemplo, con AIA hay acumulación de sacarosa soluble, compuestos nitrogenados y iones en las regiones tratadas.

La capacidad atractiva del AIA puede ser incrementada además por otras hormonas, especialmente citocininas, y puede interesar no tan sólo a sustancias trópicas sino también a las hormonas mismas (Fig. 4.12).

La pregunta de cómo la auxina controla el transporte está aún abierta y sin respuesta. Hay varias posibilidades:

- 1) la auxina actúa para crear un destino metabólico en el punto de aplicación o de sus síntesis.
- 2) la auxina opera a lo largo del camino de transporte, es decir su acción está de alguna forma integrada a los mecanismos de transporte a lo largo del tejido vascular.
- 3) se conoce que la auxina afecta la síntesis de tejido vascular, de manera que en tejidos jóvenes o en desarrollo no maduro ella podría actuar estableciendo caminos de transporte.
- 4) la auxina puede operar en la fuente de transporte, esto es, en el sitio de carga de la corriente de transporte más que en el destino.

Métodos de estudio para el transporte y distribución de metabolitos en plantas

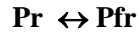
La información acerca del movimiento de metabolitos a través del floema desde los sitios de su formación, esto es la fuente, a aquellos de utilización (destinos) puede obtenerse por dos medios: como se vió, el de los áfidos o por uso de radionucleídos indicadores.

Las radioisótopos se usan en estudios de formación, transporte y distribución de asimilados. Se usan C^{14} , H^3 y P^{32} . El C^{14} se da como CO_2 durante fotosíntesis.

FITOCROMO Y FOTOMORFOGENESIS

La fotomorfogénesis se refiere a los efectos drámaticos que la luz tiene sobre el desarrollo y el metabolismo celular. En la Fig. 20.1 es posible, sobre la izquierda, ver el efecto que tiene la luz roja. Solamente 5 minutos de una tenue luz roja, para prevenir los síntomas de etiolación que aparecen en la planta de poroto, en el centro. En la derecha hay un control, esto es, una planta que creció en luz continua.

La luz roja ejerce la influencia más fuerte, y los efectos de la luz roja son a menudo reversibles con la luz del rojo lejano. Esta propiedad de **fotoreversibilidad** es la propiedad más distintiva del fitocromo y puede expresarse así:



El fitocromo es el pigmento que está involucrado en la mayoría de los fenómenos fotomorfogénicos. En la Tabla 20.1 se muestra un conjunto de respuestas fotoreversibles inducidas por el fitocromo en una variedad de plantas superiores e inferiores, mientras que en la Fig. 20.2 se muestra claramente los efectos de promoción de la luz roja sobre la germinación de semillas de lechuga, un efecto que es revertido por la luz del rojo lejano.

La Fig. 20.4 muestra una síntesis de los procesos que regulan el nivel de una y otra forma del fitocromo en las células.

El fitocromo es una gran proteína dimérica hecha de dos sub-unidades equivalentes. Su monómero es de 124.000 Da y está covalentemente unido a la molécula del cromóforo, que es un tetrapirrol de cadena abierta. La Fig. 20.5 muestra la estructura del cromóforo Pr y la región peptídica unida al cromóforo a través de una unión tioeter.

El fitocromo existe en dos formas, una forma absorbente del rojo (Pr) y otra absorbente en el rojo lejano (Pfr). La absorción de luz roja por Pr lo convierte a Pfr, y la absorción de rojo lejano lo convierte a Pr. Sin embargo, el espectro de absorción de las dos formas se superponen en la región del rojo del espectro, conduciendo a un equilibrio entre las dos formas que es llamado **estado fotoestacionario**.

La Fig. 20.3 muestra el espectro de absorción de las formas Pr y Pfr (línea sólida) y cómo ellos se superponen. Debido a que la luz roja en el ancho de banda 640-690 nm es absorbida por ambos Pr y Pfr, no se genera una forma de Pfr puro sino más bien se coloca un estado de foto-equilibrio con alrededor de un 85% de Pfr y 15% de Pr. Similarmente, la luz de rojo lejano en la banda de 710-750 nm no convierte todo el fitocromo a Pr, sino que genera un fotoequilibrio con alrededor de 97% de Pr y 3% de Pfr.

Se considera que Pfr es la forma activa en la mayoría de los casos, esto es, que da origen a la respuesta fisiológica. Además de la luz, hay otros factores que regulan el nivel de estado estacionario del Pfr; éstos incluyen la oscuridad, reversión, degradación y la velocidad de síntesis (Fig 20.4).

Los estudios espectroscópicos e inmunológicos han mostrado que el fitocromo es más abundante en tejidos etiolados y está concentrado en las regiones meristemáticas. Esto se muestra claramente en la Fig. 20.7 que indica la distribución del fitocromo en una plántula etiolada de arveja, de acuerdo a mediciones espectrofotométricas. Hay que notar que el fitocromo está concentrado mayormente en las regiones apicales de raíz y epicótilo, donde están ocurriendo los cambios de desarrollo más dramáticos. En las raíces, está concentrado en la región de la cofia y a nivel subcelular se lo encontró en el citosol y también en organelas, incluyendo plástidos y núcleos.

Los métodos inmunocitoquímicos de localización del fitocromo han sido también de valor para intentar ampliar la información de una manera más fina. Así se encontró que durante la fotoconversión a Pfr en plantas superiores la distribución del fitocromo dentro de la célula cambia desde un patrón difuso a uno secuestrado. Sin embargo, hasta ahora ninguna organela ha sido específicamente asociada con el Pfr en células vegetales.

Hay información que muestra que la fotoconversión de Pr a Pfr expone más de una región hidrofóbica de la molécula, lo cual es consistente con la idea de que el Pfr, y particularmente su dominio no cromofórico, puede funcionar asociado a membranas. Hay estudios inmunológicos que indican que Pr y Pfr difieren en su conformación.

En estos estudios, han sido de utilidad los **anticuerpos monoclonales**. Estos son anticuerpos producidos por células que han sido clonadas desde una única célula productora de anticuerpos. Debido a que cada célula productora de anticuerpos produce sólo un tipo de molécula de anticuerpo, cada anticuerpo monoclonal levantado contra una proteína es específico para un sitio particular sobre aquella proteína. Así los anticuerpos monoclonales para el fitocromo reaccionan sólo con regiones específicas de la molécula. Con distintos anticuerpos monoclonales, hechos por distintos autores, se encontró que algunos de ellos podían discriminar entre las formas Pr y Pfr. Ello apoya la idea de que ocurren cambios conformacionales en regiones definidas de la proteína del fitocromo durante su fotoconversión.

En el alga *Mougeotia*, el fitocromo parece estar localizado sobre la membrana plasmática, donde media la rotación del cloroplasto al cambiar su orientación con un desvío de 90° (Fig. 20.A).

Las respuestas del fitocromo se han clasificado en respuestas de muy baja fluencia (VLF), baja fluencia (LF) y alta fluencia (HF).

La respuesta de muy baja fluencia sucede con fluencias del orden de $0,1 \text{ nmol m}^{-2}$ (un décimo de la luz emitida por un flash de una luciérnaga). La de baja fluencia corresponde a un valor de $1,0 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2}$ y la de alta fluencia a 10 mmol m^{-2} . Estos tres tipos de respuesta difieren no sólo en sus requerimientos de fluencia sino también en otros parámetros tales como sus tiempos de escape, espectro de acción y fotoreversibilidad. El tiempo de escape es aquél que supera al tiempo dentro del cual es posible la fotoreversibilidad. En la Tabla 20.2 se muestran algunas respuestas fotomorfogénicas en plantas que son inducidas por una alta irradiancia y en la Fig. 20.8 se muestra una comparación entre los espectros de acción que resultan de una respuesta típica de alta fluencia (línea sólida) y de una de baja fluencia (rayas). Las respuestas de alta fluencia tienen picos en la región azul y en la roja del espectro. Las de alta fluencia no son fotoreversibles, aunque el fitocromo está involucrado.

La presencia del fitotromo no sólo se reduce a las plantas superiores sino que también se lo halla en algas; indicando ello que las longitudes de onda del rojo y rojo lejano pueden jugar un rol en el ajuste de estos organismos a su medio ambiente. Cuáles son las condiciones medio- ambientales que resultan en cambios en los niveles relativos de estas dos longitudes de onda de la luz en la irradiación natural? La relación de luz roja a rojo lejano varía considerablemente en los diferentes medios ambientes. Esta relación es definida por el cociente **R/FR**:

R/FR

velocidad de fluencia fotónica en una banda de 10 nm centrada en 660nm / Idem centrada en 730 nm

La Tabla 20.3 resume los valores de densidad de flujo fotónico y la relación de R/FR en 6 ambientes naturales. Se puede observar que ambos parámetros varían considerablemente, dependiendo del medio ambiente. Comparado con la luz solar directa, hay relativamente más FR en la luz de la puesta del sol, bajo 5 mm de suelo, y especialmente debajo de la canopia de otras plantas, como en el piso de un bosque. El fenómeno del canopeo resulta del hecho de que las hojas verdes absorben luz roja debido a su alto contenido de clorofila pero son relativamente transparentes a la luz del FR.

El fitocromo juega un rol importante en la detección de sombra en las plantas adaptadas a altos niveles de luz solar. El fitocromo puede servir como un indicador del grado de sombreado de una planta por otra. A medida que el sombreado aumenta, disminuye la relación de R/FR y la relación de Pfr /fitocromo total también disminuye. Cuando se usó radiación natural simulada para variar el contenido de FR, se encontró que al aumentar este FR, es decir al disminuir Pfr/Ptotal, aumentaba la elongación del tallo para plantas de sol, plantas que normalmente crecen en habitats abiertos. Esta es una manera de aumentar las oportunidades de crecer encima de la canopia y adquirir una mayor cantidad de rayos no filtrados, aptos para la actividad fotosintética.

En la Fig. 20.9 se presenta la situación descrita, donde se muestra también que las plantas de sombra no necesitan del fitotromo para la percepción de la sombra, mientras que si lo necesitan las plantas de sol. De manera que parece haber una relación entre el crecimiento controlado por fitocromo y el habitat de las especies. Está claro que para las plantas que evitan la sombra, este mecanismo de percepción a través del fitocromo tiene un valor adaptativo en el sentido de dirigir sus recursos para un mayor crecimiento en elongación cuando es sombreada por otra planta.

El fitocromo también regula los ritmos circadianos, tales como los movimientos de sueño de las hojas. Circadiano proviene de **circa diem**: "aproximadamente un día, esto es aproximadamente 24 horas. Se considera que estos ritmos están dirigidos endógenamente por el hecho de que ellos persisten en ausencia de factores externos de control. Existen ritmos metabólicos circadianos que son expresados visiblemente a través de cambios en toda o parte de la planta, como el llamado movimiento de sueño foliar.

Estos movimientos son la expresión de flujos iónicos circadianos al interior y exterior de células motoras que se encuentran en la base de las hojas. Así, se origina por movimiento de agua una hinchazón o encogimiento de estas células en una estructura llamada **pulvínulo**. En la Fig. 20.10 se muestra este movimiento de sueño foliar diurno y cómo él persiste aún en oscuridad continua por 60 horas.

Muchos de estos fenómenos pueden ser debidos a alteraciones en las propiedades de la membrana. Esto fue inferido al observar los cambios que podían ocurrir en un ritmo circadiano bajo el efecto de factores ambientales como luz y estrés hídrico que conduce a un marchitamiento y por ende a una alteración en las propiedades de la membrana, y por el uso de ionóforos, por ejemplo valinomicina para el K^+ .

Una experiencia de este tipo hecha con poroto se muestra en la Fig. 20.11c, donde se puede observar que todos los agentes adelantan o avanzan el ritmo, dependiendo del momento el ritmo en que ellos se aplicaron. El cero indica el último pico nocturno, cuando las hojas duermen, del ciclo circadiano antes del tratamiento. No es coincidencia que las curvas de las respuestas de fase generadas por pulsos de luz sea similar con aquellas generadas por reactivos de membrana. El fitocromo parece modular la permeabilidad de las membranas. Estos resultados son entonces consistentes con la idea de que los movimientos iónicos son un factor importante como respuesta al tiempo o momento del día.

La Fig. 20.12 muestra la regulación del movimiento de los folíolos en la *Mimosa pudica* y la fotoreversibilidad de la respuesta. Estos movimientos resultan del hinchamiento o encogimiento selectivo de células pulvinulares localizadas en la base de las hojas y folíolos. El hinchamiento y encogimiento a su vez está regulado por la entrada y salida rápida de iones, especialmente K^+ . El fitocromo modula estos movimientos salinos, presumiblemente por afectar la permeabilidad de las membranas a través de las cuales estos iones son transportados. No se conoce todavía si el fitocromo modula la permeabilidad de las membranas en una forma directa o indirecta.

Una pregunta importante es qué clase de cambio en la permeabilidad podría amplificar una señal de una tenue luz en cambios importantes tanto en crecimiento como en desarrollo. Si nosotros interpretamos los cambios en el potencial bioeléctrico fotoregulado como una indicación de que la luz induce cambios en la permeabilidad de membrana, entonces nos podemos preguntar qué flujos iónicos son modulados por el fitocromo y qué impacto en el desarrollo tendrían tales flujos. En efecto, hay muchos trabajos indicando que el fitocromo regula flujos de protones, K^+ y Ca^{2+} . Entre ellos, el calcio se ha considerado que es un buen candidato para la traducción de la fotoactivación del fitocromo en cambios fisiológicos significativos en las plantas.

Tanto en animales como en plantas hay distintas respuestas que están reguladas por Ca^{2+} . En ambos casos, una forma de acción es a través de la participación de proteínas de unión del Ca^{2+} . La proteína mejor conocida es la denominada **calmodulina**, que actúa en animales y plantas para transformar pequeños cambios en la concentración de Ca^{2+} en importantes respuestas fisiológicas.

Usualmente, la concentración libre de calcio citosólico es muy baja, alrededor de 0,1 μM , pero la calmodulina tienen tan gran afinidad por el calcio que puede comenzar a unir Ca^{2+} cuando la concentración asciende a 1 μM . Cuando uno o más de sus cuatro sitios de alta afinidad por Ca^{2+} es ocupado por este ión, la calmodulina (Cd) cambia su conformación a un estado activado que puede unir y estimular a un amplio rango de enzimas regulatorias. Entre ellas se incluyen las bombas de Ca^{2+} (Ca^{2+} ATPasas) localizadas en plasmalema, Nad- quinasas, y fosfatasas y quinasas que regulan la fosforilación, y

entonces la actividad, de otras enzimas. Todas estas enzimas juegan roles centrales en la regulación de distintas actividades metabólicas en plantas.

La calmodulina está presente en el citosol y en organelas, incluyendo los plastidios, mitocondrias, y núcleos. La propiedad de gran afinidad de esta enzima por el Ca^{2+} y entonces de poder detectar pequeños cambios en la concentración de Ca^{2+} y luego activar enzimas regulatorias, la convierte en un centro de interés para amplificar la fotoconversión de unas pocas moléculas de fitocromo en cambios celulares más importantes y para la modulación de otros sistemas de regulación, como por ejemplo las respuestas hormonales.

Debería notarse que la Cd es sensible sólo a incrementos en la concentración del calcio citosólico libre. La mayoría del Ca^{2+} celular está unido a estructuras celulares y no está libre para reaccionar, pudiendo estar incluido también en organelas. Para promover una concentración incrementada de Ca^{2+} citosólico libre, donde está presente la mayor parte de la Cd, el Pfr debería o bien promover el ingreso de calcio extracelular o bien liberarlo desde las organelas (vacuola, R.E., mitocondrias).

Se ha comprobado que el sistema de Ca-inositido-fosfato puede estar involucrado en el control del movimiento foliar inducido por luz en *Samanea saman*. La luz blanca causaba una elevación en los niveles de inositol trifosfato (IP3) y diacilglicerol (DAG) después de menos de un minuto de exposición a la luz. IP3 podría entonces liberar calcio libre desde las organelas. Debido al hecho de que el Ca^{2+} que entra a las células es tan rápidamente unido a o secuestrado en organelas, la evidencia de que el Pfr promueve la asociación del Ca^{2+} dentro de las células o que causa un incremento en el IP3, no indica necesariamente que el Pfr también promueva un incremento del Ca^{2+} citosólico libre.

La contestación a este interrogante es esencial para la asignación de un rol a la proteínas que unen calcio como mediando la respuesta del fitocromo.

La fotoregulación de la expresión génica se ha enfocado en genes nucleares que codifican mensajeros para proteínas del cloroplasto, la Rubisco y la proteína asociada al fotosistema II, la LHCP (proteína de la clorofila a/b recolectora DE LUZ) estas proteínas son importantes en el desarrollo y enverdecimiento de los cloroplastos y por ello se estudió en detalle su regulación por fitocromo. Los genes para estas proteínas *rbcS* y *cab* están en copias múltiples en el genoma, esto es pertenecen a familias de multigenes.

Con la lenteja acuática *Lemna* se mostró por Northern blotting que la abundancia de ARNm para estas dos familias multigenes aumenta linealmente en función del tiempo después de exponer a la luz las plántulas crecidas en oscuridad. Sólo se necesitaba 1 minuto para aumentar la cantidad de ARNm y se revertía el efecto con luz FR. Que el fitocromo trabaja en el nivel transcripcional se demostró con experimentos a través de transcripción in vitro con núcleos aislados (fig. 20.13/ modelo en la 20.18). Los núcleos aislados desde tejidos expuestos a diferentes regímenes de luz y luego incubados en presencia de ribonucleótidos marcados. Los transcriptos marcados eran hibridizados a filtros celulares conteniendo copias de cDNA de los genes de *rbcS* y *cab*, y la radioactividad unida era contada. Así se demostró que la luz roja estimula la velocidad de transcripción de los genes *rbcS* y *cab*.

Un modo en que el fitocromo puede afectar directamente propiedades de la membrana proviene de estudios que demuestran una modulación fotoreversible rápida del potencial de membrana a través de la membrana plasmática. Tal situación ha sido registrada directamente sobre células individuales y también inferido de los rápidos efectos del rojo y rojo lejano sobre el potencial superficial de raíces y coleoptiles de avena. El tiempo de demora entre la producción de Pfr y la aparición de cambios de potencial mensurables varía de organismo a organismo, por ejemplo, es de 1,7 s para la depolarización en el alga gigante *Nitella* y 4,5 s para la hiperpolarización en avena. El tiempo de demora más largo en avena sugiere que alguna reacción secundaria (más que el Pfr mismo) puede inducir los cambios en el potencial, una situación aún sin respuesta. Resumiendo, los cambios en el potencial bioeléctrico de las células implica cambios en el flujo de iones a través de la membrana plasmática. El fitocromo rápidamente modula flujos de calcio al interior y exterior de las células de avena, y con un tiempo mayor de demora, induce el flujo de otros iones en otras células. Hay evidencias que conectan la rápida depolarización de membrana inducida por luz roja, con un influjo de calcio en la membrana plasmática.

Otro modo en el cual el fitocromo podría ejercer su efecto es incrementando los niveles de calcio libre. La formación de un complejo de calcio-calmodulina podría activar enzimas importantes para la regulación celular.

La Fig. 20.13 es un diagrama que describe esta situación; mientras que la Fig 20.16 proporciona un modelo para la regulación por fitocromo de la extensibilidad de la pared celular mediado por la calmodulina.

También se conoce que el fitocromo regula la transcripción de un número de genes. Muchos de los genes involucrados en el enverdecimiento, tales como los genes codificados en núcleo para la pequeña subunidad de Rubisco y la proteína conteniendo clorofila a/b del complejo colector de luz, son activados por la luz roja. Se piensa que la activación de genes está mediada por proteínas regulatorias que se unen a la región del promotor del gen. La luz roja también reprime la transcripción de un número de genes, incluyendo los genes para el fitocromo. La represión del gen para el fitocromo también se presume que está mediada por proteínas regulatorias de unión del ADN. El esquema propuesto para esta regulación de la transcripción de genes por el fitocromo se muestra en las Figs. 20.18 y 20.19.

La fotoregulación de la expresión génica se ha enfocado en genes nucleares que codifican mensajeros para proteínas del cloroplasto, la Rubisco y la proteína asociada al fotosistema II, la LHCP (proteína de la clorofila a/b colectora de luz) Estas proteínas son importantes en el desarrollo y enverdecimiento de los cloroplastos y por ello su regulación por fitocromo se estudió en detalle. Los genes para estas proteínas *rbcS* y *cab* están en copias múltiples el genoma, esto es, pertenecen a familias de multigenes.

Con la lenteja acuática *Lemna*, se mostró por Northern blotting que la abundancia de ARNm para estas familias multigenes aumenta linealmente en función del tiempo después de exponer a la luz las plántulas crecidas en oscuridad. Sólo se necesitaba 1 minuto para aumentar la cantidad de ARNm, y se revertía el efecto con luz del rojo lejano. Que el fitocromo trabaja a nivel transcripcional se demostró con experimentos a través de transcripción in vitro con núcleos aislados. Los núcleos aislados desde tejidos expuestos a diferentes regímenes de luz y luego incubados en presencia de ribonucleótidos marcados. Los transcriptos marcados eran hibridizados a filtros de nitrocelulosa conteniendo copias del ADNc de los

genes de *rbcS* y *cab*, y la radioactividad unida era contada. Así se demostró que la luz roja estimula la velocidad de transcripción de los genes *rbcS* y *cab*.

Cultivo de tejido vegetal

Traducción del trabajo del Dr. Walter M. Morgan, del International Plant Laboratories, Baltonsborough, UK.

El cultivo de tejido vegetal fue desarrollado a partir de la investigación de botánicos y fisiólogos vegetales desde 1950. Actualmente se ha convertido en una herramienta internacional importante en la selección, cruzamiento, control de enfermedades y producción en masa de cultivos de cosecha e involucra diferentes plantas en agricultura, horticultura, forestales y frutales.

La ciencia del cultivo de tejidos vegetales debe su origen a la investigación sobre hormonas que controlan el crecimiento y desarrollo vegetal. Este conocimiento se combinó con las técnicas básicas de microbiología por las cuales los microorganismos se hacen crecer en medios estériles para la producción de microorganismos e identificación. Desde estas dos fuentes provino la tecnología por la cual las plantas u órganos de plantas se pueden multiplicar en gran número, o su crecimiento individual controlado, haciendo crecer pequeños trozos de tejido vegetal sobre una receta precisa de nutrientes en un recipiente estéril.

A su escala mayor, como ocurre en la industria de la micropropagación, el cultivo de tejido se ha convertido en un proceso de manufactura que puede producir material vegetal libre o saneado de patógenos, de alta calidad, que puede atravesar fronteras internacionales.

Sobre un enfoque más técnico, esta metodología ha provisto a la industria de cruzamiento, de las metodologías apropiadas para generar, almacenar o manipular germoplasma de valor o genéticamente inestable sobre su camino a través del proceso de cruzamiento, donde el vehículo eventual para la propagación será la semilla.

Qué es el cultivo de tejido vegetal

El punto de partida para el cultivo de tejidos es la iniciación. Este es el proceso por el cual se trae material vegetal *in vivo* en un medio de cultivo estéril. Requiere la disección microscópica de la planta bajo condiciones estrictamente higiénicas con el propósito de transferir su punto de crecimiento o tejido que crece activamente (los tejidos meristemáticos) con seguridad y limpieza dentro de un recipiente estéril sin introducir microorganismos contaminantes. Las células y tejidos que crecerán y se desarrollarán desde este inicio dependerá de los objetivos del cultivo de tejidos. En algunos casos las células conformarán una masa aparentemente desorganizada, conocida como callo, en otros estarán presentes otras estructuras reconocibles como tallos, órganos, raíces, bulbos u otros órganos.

Estos tejidos *in vitro* están ahora dentro de un microcosmos estéril de un recipiente de vidrio o de plástico; y son protegidos del medio exterior no estéril.

Es esencial mantener la esterilidad del medio ambiente confinado en el recipiente, debido a que cualquier microorganismo que se gane la entrada al mismo crecerá oportunísticamente a una velocidad mucho más rápida que los tejidos vegetales y eventualmente colonizarán y matarán a los tejidos.

Con el propósito de sostener el vigor de los tejidos vegetales y permitir que ellos crezcan, se multipliquen y desarrollen, esto es cultivar los tejidos, deben darse además ciertos requerimientos externos. Los tejidos pueden necesitar que se los apoye o sean colocados sobre o en el interior de la superficie de un gel acuoso solidificado con agar o ellos pueden colocarse en un medio líquido. Ellos también necesitarán de un suministro de los elementos minerales nutritivos que son esenciales para el crecimiento vegetal, también posiblemente algunas vitaminas, azúcares como fuente de energía y un cocktail de hormonas vegetales que se conoce que controlan el crecimiento y desarrollo de estos tejidos particulares. Es conveniente preparar este medio ambiente nutricional incorporando estos compuestos químicos dentro del gel o líquido, ajustando el pH alrededor de 6 y esterilizando este medio de cultivo ya sea dentro del recipiente para cultivo o en uno separado.

Para el correcto crecimiento y desarrollo del tejido en cultivo en general es necesario el suministro de luz, pero a intensidades muy bajas, mucho más que la de la luz solar. La acumulación en las plantas de la energía de los carbohidratos provendrá de los azúcares agregados al medio, más que de la fotosíntesis, de manera que son innecesarios unos altos niveles de luz.

Una temperatura controlada también es necesaria para estabilizar el crecimiento y mejorar la predictibilidad del desarrollo de los tejidos.

Facilidades requeridas para el cultivo de tejido

Ciertas facilidades son requeridas para que el cultivo de tejidos sea efectivo. Están involucradas dos fases de actividad

1. El laboratorio - una habitación limpia conteniendo un número de estaciones de trabajo, cada una proveyendo aire filtrado - gabinetes de flujo de aire laminar estéril- en los cuales el material puede ser manejado sin riesgos de contaminación por el operador y transferido en forma segura a medios nutritivos frescos. Esta transferencia es el paso de manufactura individual en el cual los tejidos que crecieron previamente en medio de cultivo son manipulados y

subdivididos con escalpelo y pinzas dentro del medio ambiente estéril del gabinete de flujo laminar, de manera de transferirlos a nuevo medio de cultivo y un nuevo recipiente para posterior crecimiento, multiplicación o desarrollo, y

2. El cuarto de crecimiento - una habitación iluminada, con aire acondicionado y con alto estándar de higiene en el cual los cultivos de tejidos pueden crecer y desarrollarse en forma segura por períodos de semanas o meses. Un régimen de iluminación y temperatura óptimos requiere un suministro de electricidad confiable y adecuado, ya que cada planta producida puede consumir unos 0,5 kW de energía.

Propagación de material vegetal por cultivo de tejido

En los años 60s se reconoció lo que el cultivo de tejido podía ofrecer a la horticultura y la agricultura y esto proveyó un estímulo para la evolución de la tecnología. Particularmente los beneficios aparecían en aquellas especies de cosecha donde existían algunos problemas de propagación. Por ejemplo, donde la producción de semillas es limitada, o las semillas no originan plantas veraces al tipo, o la propagación por medio de bulbos, tubérculos o esquejes es muy baja. La habilidad del cultivo de tejido para acelerar la multiplicación de líneas nuevas obtenidas por cruzamiento acelera su evaluación, y las puede colocar rápidamente en mercado. Este fue un avance radical para los mejoradores de estas cosechas. Además, donde hay una necesidad por un reemplazo rápido o anual con material sano nuevo en una escala confiable de tiempo.

Hoy día, hay muchas especies donde el cultivo de tejidos se ha vuelto un método regular y establecido de propagación, por ej. para la papa, dátiles, banana, un amplio rango de cultivos para flor cortada y numerosas plantas ornamentales de maceta.

El mayor beneficio del cultivo de tejido en la propagación de plantas es el dramático acortamiento del tiempo de producción. Por ejemplo, la papa se puede multiplicar convencionalmente por medio de tubérculos crecidos a campo en aproximadamente un factor de 10 por año, pero en cultivo de tejido puede hacerlo por un factor de 5 por mes, lo cual equivale a 1/4 de billón por año.

Técnicas usadas en la micropropagación

La estimulación de las yemas axilares o adventicias es el proceso más común que se conoce para la micropropagación de las plantas. Aquí, las citocininas causan una generación continua de estas yemas en la base del cultivo que prolifera. Cada yema desarrolla en un tallo enanizado el cual a su vez puede producir más yemas en su base. Esta proliferación de tallos y yemas continuará siempre que sea mantenido un suministro adecuado de citocinina junto con nutrientes y espacio físico por subdivisión de los cultivos y transferencia de los mismos a medio fresco cuando sea necesario.

Alternativamente, el tallo puede separarse del suministro de esta hormona, la cual tiende a suprimir la formación de raíces, y ser transferido a medio nuevo conteniendo una hormona del grupo de auxinas, la cual estimulará el desarrollo radicular en la base del tallo.

Tales tallos enraizados pueden transferirse luego afuera del ambiente estéril del cultivo de tejido y, con cuidadoso control de humedad y luz, ser aclimatizada para volverse una planta que crece convencionalmente en forma dependiente de la fotosíntesis.

La embriogénesis es otro método que puede usarse para propagar las plantas en masa. Como indica su nombre, esta técnica causa que se formen embriones generados desde el tejido en cultivo, proceso que por otra parte sólo ocurre en la formación de una semilla. Bajo el control de ciertas mezclas hormonales se forman los embriones dentro de una masa aparentemente desorganizada de un callo, en el cual nódulos de células comienzan a desarrollarse en forma que recuerda la estructura de un embrión de semilla. Si estos embriones se trasladan a otros medios, desde los callos, medios que están diseñados para permitir que el embrión germine, entonces desarrollará una estructura de planta completa, esto es una plántula, un talluelo enraizado que no difiere mayormente de la obtenida desde semilla. Como las plantas obtenidas por caulogénesis axilar o adventicia, estas plántulas también pueden aclimatizarse para transformarse en una planta viable con capacidad de fotosíntesis.

El uso de cultivo de tejidos vegetales en la lucha contra enfermedades

Los virus y otros patógenos que invaden los tejidos vegetales en forma sistemática, pueden ser muy dañinos para la eventual producción o calidad de la cosecha, como ocurre por ejemplo en papas y crisantemos. Las enfermedades virales son difíciles de controlar efectivamente, porque a menudo es difícil diagnosticar que una planta está infectada y la pérdida en la producción puede ser la primera indicación y no hay productos químicos que a campo puedan controlar la infección. El cultivo de tejidos ofrece un número de ventajas para la prevención de virus vegetales. El cultivo de los vegetales que es iniciado dentro de cultivo puede ser ensayado por métodos serológicos específicos por la presencia de virus conocidos. Así, la iniciación de plantas libres de virus puede ser asegurada.

Estos cultivos tipificados por ausencia de virus podrán luego propagarse rápidamente en cultivo de tejido por distribución de nuevos stocks sin el temor de propagar virus que podrían haber estado incluidos en las plantas. Durante esta rápida propagación en cultivo no hay riesgo de una reinfección con virus lo cual podría ser posible durante la propagación de nuevos stocks saludables en el campo o en el invernadero.

Si, por otro lado, se encuentra que una planta de valor que no puede reemplazarse contiene virus, el cultivo de tejido ofrece otra solución, la eliminación del virus por cultivo de meristema. El pequeño número de células que rodea el punto de crecimiento o meristema de la planta generalmente crece muy rápido de manera que es poco probable que esté

infectada con el virus. Y si una pequeña pieza de tejido conteniendo el meristema es cortada con sumo cuidado y colocada en un medio de cultivo, luego después de algunos meses para la recuperación y crecimiento del tejido, puede aparecer un nuevo cultivo libre de virus.

El cultivo de tejido viene a asistir a los mejoradores

Numerosos procesos y manipulaciones son llevados a cabo sobre las plantas en cultivo de tejido. Están desarrollándose constantemente nuevas técnicas y es definitivamente difícil resumirlas.

La propagación por cultivo de tejidos normalmente intenta preservar y copiar fehacientemente la identidad exacta de una línea varietal de plantas. Sin embargo, ligeras variaciones existen entre la identidad genética de células individuales dentro de los tejidos. Esta variación somaclonal, que siempre está presente y es una amenaza a la estabilidad en la micropropagación, puede ser útil para el mejorador vegetal debido a que puede representar formas latentes y noveles de la planta.

Las modificaciones de los procesos en cultivo de tejidos se han desarrollado para estimular el crecimiento y selección de nuevas líneas de cultivos de tejidos que puedan revelar características mejoradas después de la selección en el campo o invernadero.

El cultivo de protoplastos es otro método desde donde se puede originar variación somaclonal para el desarrollo de nuevos tipos de plantas. Los protoplastos son células vegetales a las cuales se les ha removido la pared celular rígida. Se han desarrollado técnicas especiales con la finalidad de liberar protoplastos desnudos desde los confines de sus paredes y permitir que cada protoplasto individual pueda regenerar en cultivo de tejido hacia una planta.

La hibridación somática es una técnica que puede permitir que diferentes especies de la misma familia sean cruzadas. Esto es usualmente imposible siguiendo el proceso normal de regeneración sexual de las plantas. Estableciendo cultivos de protoplastos de cada especie, los cultivos pueden ser mezclados y algunos protoplastos de cada especie se fusionarán al azar. Por una cuidadosa selección y cultivo, se podrán regenerar plántulas desde estos protoplastos híbridos y ser ensayados por características deseables *in vivo*.

El rescate de embriones es un proceso de laboratorio por el cual un huevo fertilizado o un embrión puede removerse desde una planta y hacerse crecer y desarrollar en cultivo de tejido estéril hasta que pueda crecer en forma segura o sin ayuda. El huevo fertilizado usualmente proviene de genitores de valor donde el embrión falla en desarrollarse normalmente en la planta. Esto es de ayuda para el mejorador pues lo asiste en las cruces entre subespecies en las cuales pueden haber evolucionado barreras naturales para la cruce. Ha sido particularmente útil para el mejoramiento en azucenas.

Los bancos de germoplasmas pueden ser maneras útiles de almacenar material vegetal, semillas o cultivos de tejidos, los cuales tienen características reconocidas y de valor y por esto merecen un control adecuado y seguridad de mantenimiento. Los biólogos moleculares involucrados en ingeniería genética pueden mantener una colección de plantas en la forma de cultivo de tejidos, los cuales poseen características heredables identificables (genes) que pueden ser de utilidad para insertarlas en los genes de otras plantas. Esto es de utilidad a los mejoradores para lograr nuevas variedades de cultivos.

El cultivo de tejidos es una técnica de un enorme potencial, tanto en investigación como en el desarrollo y en la producción de cosecha. En muchos sentidos aún está operando en manera muy cruda, y cada año encuentra nueva sofisticación y conocimiento aplicado. La principal limitación es nuestro pobre entendimiento de cómo funcionan las hormonas vegetales, las cuales tienen un rol central en esta tecnología, y el alto costo de los procesos que requieren además una cuidadosa y entrenada mano de obra. Estas limitaciones podrán hallar salida en la respuesta que puedan brindar tanto los fisiólogos vegetales que trabajan en el campo hormonal como los ingenieros que trabajan en la mecanización de los procesos.