

FISIOLOGIA VEGETAL

Dirigida por

Enrique M. Sivori
Edgardo R. Montaldi
Osvaldo H. Caso

editorial hemisferio sur

FISIOLOGIA VEGETAL

FISIOLOGIA VEGETAL

DIRECTORES

ENRIQUE M. SIVORI
EDGARDO R. MONTALDI
OSVALDO H. CASO



EDITORIAL HEMISFERIO SUR

Título de la obra: FISILOGIA VEGETAL

Directores: ENRIQUE M. SIVORI (†)
EDGARDO R. MONTALDI
OSVALDO H. CASO

Primera edición
© EDITORIAL HEMISFERIO SUR S.A., 1980

Reservados todos los derechos de la presente edición para todos los países.
Este libro no se podrá reproducir total o parcialmente por ningún método,
gráfico, electrónico, mecánico o cualquier otro, incluyendo los sistemas
de fotocopiado, fotoduplicación, registro magnetofónico o de alimenta-
ción de datos, sin expreso consentimiento de la Editorial.

Tapa: realizada por SANTARSIERO - TRAVERSO

Composición en frío: CESAR DANI

Impreso en la ARGENTINA
PRINTED IN ARGENTINA

Hecho el depósito que prevé la ley 11.723.

EDITORIAL HEMISFERIO SUR S.A.
Pasteur 743 - 1028 Buenos Aires - Argentina

CONTENIDO

Capítulo I	LA VIDA VEGETAL, E. M. Sívori	1
Capítulo II	ESTRUCTURA Y FUNCION DE LA CELULA VEGETAL, E. R. Montaldi y O. H. Caso	17
Capítulo III	ENZIMAS Y MECANISMOS DE REGULACION, H. G. Pontis.	41
Capítulo IV	METABOLISMO ENERGETICO, E. R. Montaldi	57
Capítulo V	SINTESIS DE PROTEINAS. LA EXPRESION GENETICA Y LOS ACIDOS NUCLEICOS, G. Favelukes.	117
Capítulo VI	METABOLISMO DE LOS HIDRATOS DE CARBONO, R. A. Wolosiuk	181
Capítulo VII	METABOLISMO DE LOS LIPIDOS, R. R. Brenner	203
Capítulo VIII	BIOSINTESIS DE LAS HORMONAS, R. F. Pont Lezica	229
Capítulo IX	NUTRICION MINERAL, M. E. Resnik.	245
Capítulo X	METABOLISMO DEL NITROGENO, S. O. Trione.	285
Capítulo XI	RELACIONES HIDRICAS, A. Soriano y E. R. Montaldi	319
Capítulo XII	TRASLADO DE SUSTANCIAS ORGANICAS, H. L. Maroder	373
Capítulo XIII	CRECIMIENTO, O. H. Caso	391
Capítulo XIV	MORFOGENESIS, FOTOMORFOGENESIS, O. H. Caso y R. Sánchez	407
Capítulo XV	REGULADORES DEL CRECIMIENTO, R. M. Tizio	441

Capítulo XVI	APLICACIONES AGRONOMICAS DE LOS REGULADORES DEL CRECI- MIENTO, R. M. Tizio	535
Capítulo XVII	DESARROLLO REPRODUCTIVO, E. M. Sívori	561
Capítulo XVIII	EL ENVEJECIMIENTO EN LOS VE- GETALES, V. Trippi	601
Capítulo XIX	FISIOLOGIA DE LA GERMINACION, H. D. Ginzo	613
Capítulo XX	REPRODUCCION DE LOS VEGETA- LES, E. M. Sívori	629
Capítulo XXI	BASES FISIOECOLOGICAS DE LA BIOPRODUCCION, E. M. Sívori.	643
INDICE ALFABETICO		671

COLABORADORES

ROFOLFO R. BRENNER

Doctor en Bioquímica.
Profesor de Química Biológica, Instituto de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata. Miembro de la Carrera del Investigador Científico del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

OSVALDO H. CASO

Doctor en Ciencias Naturales.
Profesor de Anatomía y Fisiología Vegetal, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Miembro de la Carrera del Investigador Científico del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

GABRIEL FAVELUKES

Doctor en Bioquímica.
Profesor de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata.

HECTOR D. GINZO

Ingeniero Agrónomo.
Miembro de la Carrera del Investigador Científico del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

HORACIO L. MARODER

Licenciado en Química.
Investigador del Departamento de Botánica, Centro de Investigaciones de Recursos Naturales, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias Castelar, INTA.

EDGARDO R. MONTALDI

Ingeniero Agrónomo.
Profesor de Fisiología Vegetal, Instituto de Fisiología Vegetal, Universidad Nacional de La Plata.

- Miembro de la Carrera del Investigador Científico del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.
- HORACIO G. PONTIS** Doctor en Química.
Miembro de la Carrera del Investigador Científico del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.
Director del Instituto de Investigaciones Biológicas, Universidad Nacional de Mar del Plata.
- RAFAEL F. PONT LEZICA** Doctor en Ciencias Agrarias.
Profesor Titular de Fisiología Vegetal, Universidad Nacional de Mar del Plata.
- MAXIMO E. RESNIK** Master of Science en Agronomía.
Ph. D. en Plant Science.
ex- Técnico del Instituto de Botánica (Sector Fisiología) INTA, Castelar.
ex- Profesor Titular de Fisiología Vegetal, Facultad de Agronomía y Zootecnia, Universidad Nacional de Tucumán.
ex- Técnico e Investigador del Centro de Investigaciones del Cacao, Itabuna, Bahía, Brasil.
Profesor Titular de Fisiología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de La Pampa.
- RODOLFO SANCHEZ** Ingeniero Agrónomo.
Profesor Asociado de Fisiología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.
Miembro de la Carrera del Investigador Científico del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.
- ENRIQUE M. SIVORI (†)** Ingeniero Agrónomo.
Profesor Emérito de Fisiología Vegetal, Instituto de Fisiología Vegetal, Universidad Nacional de La Plata.

- ALBERTO SORIANO**
Miembro de la Carrera del Investigador Científico de la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires.
Ingeniero Agrónomo.
Profesor Titular de Fisiología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.
Miembro de la Carrera del Investigador Científico del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.
Académico de Número, Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria.
- RICARDO M. TIZIO**
Ingeniero Agrónomo.
Profesor de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Río Cuarto.
ex- Miembro de la Carrera del Investigador Científico del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.
- SINIBALDO TRIONE**
Ingeniero Agrónomo.
ex- Profesor de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo.
ex- Miembro de la Carrera del Investigador Científico del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.
- VICTORIO S. TRIPPI**
Ingeniero Agrónomo.
Profesor Titular de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba.
Miembro de la Carrera del Investigador Científico del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.
- RICARDO A. WOLOSUK**
Doctor en Química.
Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones, Instituto de Investigaciones Bioquímicas Fundación Campomar.

PROLOGO

En los países de América latina la enseñanza de la Fisiología Vegetal progresa en forma constante. Requieren de esta disciplina los estudios de Agronomía, Ciencias Naturales, Bioquímica y Ciencias Biológicas.

No obstante, se carece de una fuente de información original en lengua española, que satisfaga las necesidades de los estudiantes, permita uniformar la enseñanza en el nivel universitario y sirva de fuente de consulta a los docentes y profesionales que trabajan en disciplinas afines.

Las pocas obras a las cuales se recurre en la actualidad son traducciones que se reimprimen numerosas veces sin cambio alguno. Esto implica que los estudiantes, que por lo común no pueden recurrir a otro idioma, frecuentemente tengan acceso a una información bastante anticuada. El problema se agudiza cuando se trata, como en este caso, de una disciplina en plena evolución.

El libro ha sido dividido en diversas secciones desarrolladas por varios autores. Ciertos conceptos se repiten con el objeto de que cada sección constituya una unidad que facilite su comprensión; por la misma causa se suprimieron los datos experimentales así como también las citas bibliográficas, salvo en algunos casos especiales. Cuando un proceso tiene más de una interpretación, se eligió aquella que a criterio del autor es la más probable, dejando en claro tal circunstancia.

Se considera que los estudiantes que utilizarán esta obra tienen conocimientos o han seguido cursos de matemáticas, fisicoquímica y química orgánica, así como de citología y morfología vegetal interna y externa. Al final de cada capítulo se agrega una lista de lecturas complementarias a las cuales se podrá recurrir para profundizar los conocimientos o para obtener detalles que el carácter de la obra hace imposible tratar con más amplitud.

Los autores esperan haber logrado los fines perseguidos y cada uno de ellos es responsable de la información vertida en los respectivos capítulos.

Las figuras fueron realizadas en su mayoría por Carlos Andrés y Carlos Ricardo Tremouilles, a quienes los directores de esta obra agradecen su colaboración.

Con gran satisfacción se presenta a los lectores esta primera edición de Fisiología Vegetal, fruto de un arduo esfuerzo de estudio e investigación de los coordinadores y los distintos autores.

Cabe, sí, lamentar profundamente la ausencia física del eminente Profesor Ing. Agr. Enrique M. Sívori, fallecido cuando esta obra se hallaba en proceso de edición y a la que tanta dedicación y desvelos le brindó.

Es, pues, en homenaje y memoria de tan ilustre investigador desaparecido que se concreta esta publicación que honra a todos los que han contribuido a su proceso de creación y realización.

En una obra de esta naturaleza, en la cual han intervenido numerosos colaboradores es inevitable el transcurrir del tiempo desde el momento que se plasma la idea hasta que la obra hace su aparición a los lectores. En este caso, también se produjeron demoras que escaparon al control tanto de los coordinadores como del editor. Por lo tanto y teniendo en cuenta la celeridad con que se produce el avance científico, resultó casi imposible contar con un trabajo totalmente al día en todos los capítulos, como era el deseo de los autores.

No obstante esta falencia, el balance final de este libro presenta un amplio margen de utilidad para estudiantes y profesionales interesados en la materia y de ahí la necesidad de publicarlo imposterablemente.

EDITORIAL HEMISFERIO SUR

CAPITULO I

LA VIDA VEGETAL

E. M. SIVORI

GENERALIDADES

La Fisiología Vegetal estudia los fenómenos que se desarrollan en los organismos vegetales vivos. Concierno, en consecuencia, al conocimiento de los procesos vitales. Trata de establecer, por medio del método científico, las leyes que rigen su actividad, su significación y las condiciones requeridas y comprende la observación, la experimentación y el examen crítico de la información obtenida.

Tiene en cuenta que los vegetales no premeditan ni establecen objetivos, ni su actividad total lleva a un fin predeterminado en la naturaleza. No se trata, pues, de nada teleológico. Así, la fotosíntesis no se produce "para" nutrir a la planta sino porque se dieron las condiciones estructurales y del medio para el desarrollo de dicha función, en forma similar al resto de las funciones fisiológicas. Sus pasos, sustratos y productos están integrados en un metabolismo general.

Las estructuras específicas de los vegetales, que se integran con las condiciones ambientales requeridas para su actividad, son el resultado de un proceso evolutivo de adaptación. En cada individuo son la consecuencia de un desarrollo ontogénico, también de carácter adaptativo, determinado por sus

posibilidades hereditarias y por el medio.

Como la mayoría de las ciencias, la Fisiología Vegetal comprende conocimientos considerados "teóricos" y conocimientos de aplicación inmediata; y hasta tal punto constituye la base de la actividad agronómica, que ha sido llamada la "agricultura teórica". En casi todos los casos estudia fenómenos que comprenden los fundamentos de la bioproducción.

Está integrada dentro de la Biología y su contenido oscila entre la Bioquímica y la Ecología, en tal forma que no se pueden establecer límites entre estas disciplinas. Si bien todo ser vivo depende del medio, en los vegetales esta dependencia es mayor y más directa, ya que el ambiente no sólo los nutre y constituye las condiciones que permiten su crecimiento, sino que también regula y determina en gran medida numerosos procesos y la morfogénesis general. Así, las temperaturas y la longitud del día pueden determinar que una planta desarrolle sus órganos florales o permanezca vegetativa.

Como ocurre con casi todas las disciplinas científicas, su contenido no está claramente delimitado, y tanto en sus temas como en sus métodos de trabajo, intervienen conocimientos de Química, Física, Meteorología, Genética, Citología, Morfología Interna y

Externa y otros, a la vez que se recurre a las Matemáticas para considerar numerosos problemas.

UNIDAD DE LOS SISTEMAS VIVOS

Es necesario puntualizar que la separación del conocimiento y la actividad científica en disciplinas —lo cual ocurre en diversos niveles, como en el caso de la Biología y las ciencias que la componen—, es sólo una apreciación subjetiva que no corresponde a la realidad objetiva. Los procesos de una planta están integrados dentro de un metabolismo que determina las formas internas (célula, tejido) y externas, todo lo cual a su vez determina y regula el metabolismo; nada constituye un compartimiento estanco, ya que se producen acciones y reacciones recíprocas entre las partes y los procesos. Así, la respiración está directamente relacionada con la síntesis de numerosos compuestos, en particular las proteínas, las que a su vez constituyen directa o indirectamente las numerosas enzimas que en conjunto, con coenzimas y reguladores, determinan las estructuras y los procesos respiratorios. El crecimiento y la morfogénesis son el resultado de funciones bioquímicas, las que dependen de la morfología interna y externa.

Por otra parte, a medida que las diversas disciplinas que comprende la Biología van profundizando y extendiendo los conocimientos, se pone en evidencia la unidad de los seres vivos en lo que se refiere a las funciones fundamentales. Por ejemplo, un alga se diferencia de una planta de trigo por la naturaleza de la pared que limita la célula, por el conjunto de las células que constituyen tejidos y órganos, por la morfología general, por su ontogenia; pero ciertos procesos, como la fotosíntesis, la respiración y el metabolismo intermedio, son básicamente similares. Las características de las reac-

ciones químicas que se desarrollan en los vegetales son limitadas y se repiten en situaciones diversas, sean de oxidación, hidrólisis, hidratación, condensación, rupturas de uniones C-C, y también de transferencias energéticas entre grupos químicos. Todas ellas son comunes a los organismos vivos.

DIFERENCIAS ENTRE ESTRUCTURAS INANIMADAS Y VIVAS

Así como las diferencias entre los diversos taxones dentro del campo de la Biología no son profundas, tampoco lo son las diferencias entre el "estado vivo" y el "estado no vivo". El análisis de las funciones que caracterizan a la vida —como la respiración, la síntesis de compuestos orgánicos, la liberación, transferencia y utilización de la energía en los procesos exergónicos y endergónicos— nos indica que las reacciones son de la misma naturaleza que aquellas que rigen los cambios de la materia inorgánica. A medida que las investigaciones dilucidan dichos procesos, son luego paulatinamente realizados *in vitro*, en forma separada y sin necesidad de las estructuras vivas. Así, el término de compuesto "orgánico", aún en uso, proviene de la época en que dichas sustancias sólo eran elaboradas por los organismos; o bien el término "enzimas", que proviene del griego y significa "en levaduras", se acuñó cuando la acción catalítica de estos compuestos se consideraba inseparable y propia de la actividad vital, y era uno de los tantos procesos que la caracterizaban.

Una situación análoga se presenta con los virus, que en determinadas circunstancias se comportan como "vivos" y, en otras, como "no vivos". Los más simples, constituidos exclusivamente por ácido nucleico, son "reproducidos" por el organismo hospedante; por sí mismos, cuando están aislados, no se comportan como "vivos" y pue-

den cristalizarse y mantenerse en forma indefinida bajo condiciones adecuadas, en la misma forma que ocurre con numerosas sustancias orgánicas. Los más complejos poseen una parte proteica y se los puede ubicar en un nivel más elevado de la estructuración biológica. Si se la compara con los micoplasmas y las bacterias inferiores, es evidente la gradación que existe entre las características fisicoquímicas simples, típicas de los virus, y la actividad total básica, más compleja, de una bacteria.

En consecuencia, la vida, en su forma más elemental, puede ser considerada como una manifestación de la energía y la materia, a partir de un nivel en la evolución estructural y funcional de aquéllas. Se la ha descrito también como la manifestación de una determinada estructura submicroscópica de la materia, de su continuidad—mantención y crecimiento— y de su relación con definidas condiciones del medio.

Desde los orígenes del conocimiento razonado, a la vida se la considera desde dos puntos de vista fundamentales. Uno de ellos, el vitalista, entiende que es un ente separable de la materia y de la energía; la otra concepción la considera un conjunto de procesos termodinámicos con caracteres cibernéticos. En la actualidad, las investigaciones que se realizan sobre la base de una biología dinámica, desembocan en procesos fisicoquímicos que tienen como eje el flujo de materia y energía, como ocurre en los estudios de Bioquímica, Fisiología y Ecología. Este intercambio se realiza como un constante fluir de energía y materia procedentes del medio, que implica procesos de síntesis de materia viva (asimilación) y de compuestos no vivos—como azúcares y aminoácidos— y procesos de descomposición (desasimilación). Todo ello implica la integración y la desintegración ordenada de la materia viva, que se desarrolla en forma regulada a través del espacio y

del tiempo entre diversas partes del organismo y entre el organismo y el medio.

La estructuración de los seres vivos, aun considerada la continuidad que existe entre ellos, puede ubicarse en varios niveles de organización: 1) estructuras moleculares, 2) estructuras microscópicas y 3) macroorganización.

1) La estructura molecular, submicroscópica, en el nivel subcelular, es de naturaleza química, imprescindible para el desarrollo de los procesos vitales, y está constituida por una configuración espacial de sus moléculas, con grupos reactivos ubicados en posiciones y a distancias perfectamente definidas. En algunos casos, esta configuración es de tal importancia que una diferencia aparentemente mínima—por ejemplo entre las posiciones “cis” y “trans” de un grupo químico— puede implicar la actividad, la inoperancia o la inhibición de un determinado proceso. Así, la forma cis (figura 1 a) del ácido cinámico puede actuar como hormona de crecimiento en las plantas, y la forma trans (figura 1 b) es inactiva. Cuando se aplican en conjunto, el crecimiento celular es inhibido competitivamente.

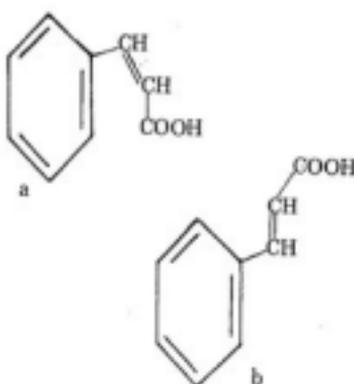


Figura 1. Estructura del ácido cinámico: a) forma cis; b) forma trans.

Esta estructuración y configuración química de la materia viva determina procesos que se coordinan en el tiempo, constituidos por reacciones de carácter endergónico y exergónico, y dan lugar al metabolismo, con síntesis y desintegraciones constantes de sustancias orgánicas.

2) Los compuestos químicos se conforman en una estructura microscópica de nivel celular, cuyo conocimiento ha sido muy profundizado en las últimas décadas debido al uso del microscopio electrónico. Estas estructuras manifiestan diferencias entre las distintas especies, en particular entre especies inferiores (bacterias) y superiores (fanerógamas). Por ejemplo, las primeras no poseen núcleo ni cloroplastos, aunque desarrollan actividad de ácidos nucleicos y, algunas de ellas, fotosíntesis. Existen casos en los que el individuo no está estructurado en células, como ocurre con una ficomiceta constituida por una hifa continua o en el plasmodio de una mixomiceta. Todo ello indica que la "célula" es un sistema sumamente útil, característico de cierto nivel de las estructuras, pero no indispensable para la actividad vital. La conformación interna de una célula implica mayor "compartimentalización" de sus funciones; así, el núcleo, la vacuola, las mitocondrias, los peroxisomas, los plástidos, el retículo endoplásmico, los ribosomas y aun la separación bioquímica y fisiológica dentro del citoplasma no diferenciado, constituyen compartimientos donde se desarrollan procesos específicos. Debemos puntualizar que los compartimientos —organoides— no están fisiológicamente aislados del resto de la célula, sino que entre ellos, y con el citoplasma no diferenciado, ocurre un intercambio de compuestos que es producto de su metabolismo, para lo cual sus membranas poseen poder selectivo. Así, en las mitocondrias penetran productos derivados de la glicólisis, como el ácido pirúvico, y de su interior se difun-

den compuestos como el ácido succínico y el CO_2 ; al parecer son retenidos en su interior ciertos ácidos orgánicos del ciclo oxidativo, como el cítrico y el α -cetoglutarico. El ácido succínico actuaría como compuesto de difusión hacia y desde el interior de la mitocondria; y los sistemas que activan el ácido fumárico, y en especial el málico, se encontrarían también en el citoplasma no diferenciado. En los cloroplastos se desarrolla la función clorofiliana con fotólisis del H_2O ; desprendimiento de O_2 , reducción de NADP^1 , fotofosforilación de ADP^2 y fijación de CO_2 proveniente del medio o de procesos oxidativos como la respiración y la fotorrespiración. El O_2 de la fotosíntesis puede ser utilizado en parte por la respiración; el NADP reducido (NADPH) y el ADP fosforilado (ATP)³, intervienen en los procesos que necesitan energía o poder reductor; y el CO_2 fijado constituye compuestos que alimentan directa o indirectamente el metabolismo general que da lugar a estructuras estables como la pared celular, y estructuras dinámicas como el protoplasma, o bien compuestos hidrolizables no vivos.

Es evidente que la distribución de las funciones en determinados organoides favorece la eficacia del sistema, pero ello no implica que sea indispensable para que se desarrollen los procesos vitales más elementales, como ocurre en ciertas bacterias en las que sólo existen algunas de las estructuras mencionadas. Ciertos orgánulos son comunes a la generalidad de las células de un organismo, en particular aquéllos más ligados a procesos indispensables para la vida, como en el caso de las mitocondrias; pero otros están determinados por la especialización de los órganos que comprenden las células que los poseen. Por ejemplo, los cloroplastos, salvo excepciones, sólo existen en

¹ Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

² Adenosina difosfato

³ Adenosina trifosfato

las células de ciertos órganos —como hojas y tallos de estructura primaria— expuestos a las radiaciones visibles, o bien el núcleo desaparece en los tubos cribosos.

3) La macroorganización implica la reunión de células en tejidos, por ejemplo el liber, el parénquima clorofiliano y los sistemas vasculares, y en órganos como hojas, raíces y carpelos. Este tipo de organización, que llega a su mayor complejidad en las plantas superiores, se observa en forma rudimentaria en las briófitas, como los musgos y las hepáticas, donde ya se notan tendencias celulares hacia la constitución de tejidos y órganos como es la agrupación de células en conformaciones semejantes a hojas; o bien en el seno de los tejidos, donde se encuentran conjuntos de células alargadas que facilitan el traslado del agua y los nutrientes, en forma semejante a los tejidos vasculares ya bien diferenciados de las plantas superiores. En los helechos, los tejidos y órganos —como el tejido vascular, los tallos, las raíces y las hojas— están ya bien definidos; pero estas estructuras alcanzan el nivel más elaborado en las fanerógamas, con el desarrollo de flores y un proceso reproductivo y de diseminación más seguro y energéticamente más económico. Se observan, además, numerosas formaciones y comportamientos de mayor especialización adaptativa, como los ciclos anuales que implican la muerte del individuo determinada por el desarrollo de la misma planta, el cámbium, el felógeno, o bien estructuras más complejas en los meristemas apicales, la presencia de meristemas intercalares y modificaciones de células y órganos que otorgan mayor resistencia a la deficiencia o exceso de agua, o las altas o bajas temperaturas, etcétera.

BIOENERGETICA

Los fenómenos que caracterizan a la vida se consideran bajo pautas termodi-

námicas. La termodinámica clásica estudia procesos en equilibrio y, por lo tanto, con características de reversibilidad. Considera a los fenómenos que ocurren en el universo bajo dos leyes fundamentales: la primera indica que la energía total permanece constante; la segunda, que la entropía aumenta. Por entropía se entiende la tendencia espontánea de los sistemas con energía interna y volumen constante a evolucionar hacia una condición más homogénea y de mayor desorden, cambiando así hacia un estado más probable y con menor capacidad de realizar trabajo.

Los procesos que se observan en la naturaleza ocurren en gran parte a presión y temperatura constantes, o a volumen y temperatura constantes. Bajo cualquiera de estas dos condiciones, las fuerzas que los impulsan están relacionadas con cambios de la *energía libre* y las sustancias tienden a alcanzar un grado máximo de homogeneidad y estabilidad.

Los seres vivos obedecen las leyes termodinámicas. Los procesos metabólicos son masivamente irreversibles y se manifiestan tanto en una célula como en un ecosistema, logrando un estado cuasi estable en que la materia y la energía fluyen, compensándose así su pérdida y degradación con la incorporación y estructuración de la energía y materia provenientes del medio.

La energía incorporada se utiliza en la biosíntesis de los diversos compuestos; en el traslado de sustancias y en trabajo mecánico, el resto se disipa como calor.

Una planta se puede considerar un sistema termodinámicamente abierto que intercambia materia y energía con el medio, pero si su estudio se realiza teniendo en cuenta el conjunto planta-medio, puede considerársela un sistema cerrado. Sus procesos son isotérmicos y se desarrollan a presión constante, dirigidos por la energía libre que está rela-

cionada con la energía total del sistema. La energía libre expresa la capacidad de realizar trabajo útil y a ella contribuye la entalpía —término ligado al contenido calórico— y la entropía, que como hemos indicado está ligada o relacionada con el grado de desorden.

La ecuación del cambio de energía libre, que la relaciona con los cambios de entropía y de entalpía, es la siguiente:

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

donde:

ΔG = cambio de energía libre (Gibbs), a presión y temperatura constantes.

ΔH = calor cedido o incorporado del medio, a presión constante.

T = temperatura absoluta.

ΔS = cambio de entropía.

La variación de entalpía (ΔH) es el cambio del contenido de calor a presión constante. Como puede observarse, a un aumento de $T\Delta S$ corresponde una disminución de ΔG ; si ΔH es 0 —lo que implica que no se produce un intercambio de calor con el medio—, la energía libre es igual a la entropía, pero de signo contrario.

La constante de equilibrio de una reacción química está relacionada con la energía libre, según:

$$\Delta G^\circ = RT \ln K_{eq}$$

donde

ΔG° = cambio de energía libre (Gibbs) a pH 7.

R = constante de los gases (1,897 cal. mol⁻¹ grado⁻¹).

T = temperatura absoluta.

K_{eq} = constante de equilibrio.

Cuando K_{eq} es baja, inferior, a uno, debe incorporarse energía del medio para que la reacción ocurra; cuando K_{eq} es alta, la reacción tiende a ser espontánea. En el primer caso decimos que el proceso es endergónico y, en el segundo, que es exergónico. En numerosas circunstancias, como ocurre precisamente en los seres vivos, las reacciones se acoplan con transferencias energéticas en tal forma que las exergónicas suministran las calorías necesarias para que ocurran las endergónicas.

Los procesos biológicos, como veremos, se inician en los vegetales verdes con la fotosíntesis, incorporando energía electromagnética, CO₂, agua y luego nutrientes minerales, con lo cual se constituye un "orden" o estructura dinámica (materia viva). A partir de la misma fotosíntesis y en las transferencias de calorías posteriores, parte se pierde por "fricción" y otros fenómenos que la disipan en forma de calor. Los procesos catabólicos que se desarrollan en forma paralela consisten en gasto de energía —que termina por disiparse, en última instancia, con desprendimiento de CO₂, agua y otros compuestos—, al mismo tiempo que se realiza la biosíntesis y los trabajos de traslado y movimiento mecánico.

Desde el punto de vista de la termodinámica, el problema puede enfocarse considerando sólo una planta, un ecosistema o bien la biosfera¹ como sistemas abiertos que, según hemos visto, pueden considerarse cerrados si se estudian junto con las variaciones del medio. En todos los casos importa resolver si la suma de los procesos que involucran un cambio de ΔG° o de ΔS es positiva —con declinación de la entropía y aumento de la energía libre— o negativa —con elevación de la entropía y disminución de la energía libre.

¹ Constituye la masa viva total distribuida sobre la superficie de la tierra y aguas.

Si consideramos una planta aislada, es necesario tener en cuenta su ontogenia, que comienza con un aumento cualitativo y cuantitativo de las estructuras y contenido energético (orden), lo cual implica una disminución de la entropía, contraria a la segunda ley de la termodinámica¹. Posteriormente el proceso se revierte y todo el sistema tiende a degradarse con el correspondiente aumento de la entropía y disminución de la energía, por medio de su propio metabolismo. Durante todo este ciclo, no toda la energía dirigida hacia el anabolismo se incorpora al sistema vivo, sino que parte de ella se disipa como calor.

Una planta no se encuentra aislada, sino que forma parte de la biosfera, por lo cual el balance energético y estructural puede considerarse en conjunto e interrelacionado con el de los otros seres vivos y² con el medio. Así, el aumento de entropía de una parte corresponde a la disminución de otra. En general, todas las plantas terminan por destruirse en forma gradual o acelerada, sea por la disminución del anabolismo o por el aumento del catabolismo, y en última instancia por la acción de organismos desintegradores, los que a su vez terminan por sufrir el mismo proceso de desintegración.

El estado energético final de la materia degradada, luego del paso "a través de la vida", implica una dispersión de su energía como drenaje entrópico. Al evaluar el carbono que se incorpora anualmente a la biomasa total como glucosa, se ha estimado que corresponde aproximadamente a una cifra del orden de las 687×10^{15} kcal (Lieth, 1972). Como esta masa sufre pocos cambios cuantitativos y se encuentra prácticamente en "estado cuasi estable", en equilibrio con el medio, podemos consi-

derar que anualmente se disipan otras tantas calorías.

Según se verá en el estudio sobre la fotosíntesis, para la liberación de un mol de O_2 , que corresponde a la incorporación de un mol de CO_2 , se requieren 135 kcal; y como se necesitan 6 CO_2 para constituir una molécula de glucosa (700 kcal/mol), se fijan 117 por cada mol de carbono incorporado. En esta forma se pierden 18 kcal, y a las 687×10^{15} fijadas en la materia viva corresponden 795×10^{15} kcal, incorporadas anualmente en el proceso fotosintético que ocurre en la superficie de la tierra. Por otra parte, la transformación de la energía de los productos de la fotosíntesis y de los alimentos en materia viva, es de un bajo rendimiento que se puede estimar en 5% haciendo una apreciación muy optimista. Así, de la energía inicialmente incorporada fotosintéticamente con cada mol de CO_2 (135 kcal) se disiparía un 95% (128) y sólo quedarían 7 kcal como materia viva. De esta manera, a las 795×10^{15} incorporadas durante la fotosíntesis en la biosfera, corresponde una fijación de 41×10^{15} como materia viva y una disipación de 754×10^{15} que se pierde anualmente como entropía.

Hemos visto que los procesos vitales implican un continuo flujo de energía y de materia provenientes de los alimentos energéticos. Los alimentos energéticos consisten en compuestos del carbono que llevan, además, oxígeno e hidrógeno. Las uniones entre sus elementos, que mantienen la estructura orgánica, están compuestas sobre todo por ligaduras covalentes de electrones de relativamente alto nivel energético, factibles de liberarse y ser utilizados en trabajo químico.

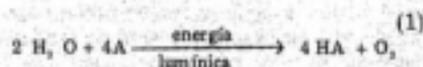
Durante el proceso general de asimilación, algunos compuestos, en particular los hidratos de carbono, se descomponen por medio de estructuras oxidativas liberando su energía, y en gran parte se produce desprendimiento de carbono en forma de CO_2 . El resto de los compuestos, como los productos intermedios

¹ El mantenimiento de un sistema vivo con bajo entropía puede compararse a una congeladora, donde el agua se mantiene en estado sólido (baja entropía) con un gasto de energía (aumento de entropía).

del proceso mencionado, utilizan dicha energía para incorporar nitrógeno, fósforo, azufre y otros elementos provenientes del medio, dando lugar a aminoácidos, bases púricas, pentosas y demás monómeros que pasan a constituir finalmente sustancias más complejas, como lípidos, ácidos nucleicos y proteínas.

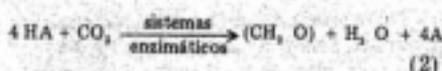
Numerosos organismos son capaces de sintetizar sus alimentos orgánicos utilizando para ello energía exterior que consiste en radiaciones electromagnéticas del espectro visible o energía liberada de reacciones exergónicas de oxidación que ellos mismos catalizan. Estos organismos se denominan *autótrofos*. Cuando la síntesis se realiza a base de luz, se los conoce específicamente como *autofótotrofos* o simplemente *fotótrofos*; y cuando se efectúa a partir de energía química, *autoquimiótrofos* o simplemente *quimiótrofos*.

En el primer caso disponen de sistemas fotorreceptores y sistemas enzimáticos fijadores de CO_2 . El sistema fotorreceptor está formado por clorofila y otros pigmentos contenidos generalmente en estructuras especiales, los cloroplastos. La radiación luminosa activa los electrones de los pigmentos con niveles de energía básica, los que pasan a sistemas "aceptores" (A_1). A la vez son reemplazados por electrones provenientes del H_2O que se descompone liberando O_2 . Todo el proceso puede representarse en la siguiente forma sintética:



donde A es el sistema aceptor o "transportador" de electrones que provienen del agua; el oxígeno se libera en forma molecular. El hidrógeno puede provenir de la fotólisis del agua o bien del medio.

Un segundo paso puede representarse por la reacción:

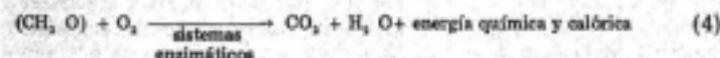
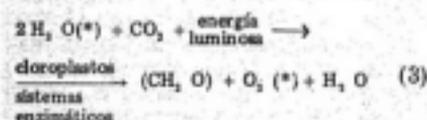


Los electrones del HA, con alto nivel de energía, son transferidos a compuestos orgánicos que incorporan CO_2 . El sistema aceptor (A) oxidado se encuentra nuevamente en condiciones de incorporar otros electrones provenientes directamente de la clorofila, los que son reemplazados por aquéllos provenientes del agua (fórmula 1), y continúa su transferencia en forma ininterrumpida mientras las condiciones del medio y las estructuras biológicas lo permiten.

La energía lumínica ha sido transformada en energía química en los electrones del pigmento fotorreceptor, y éstos son transferidos a A, para luego pasar al carbono, en forma de $-\text{COOH}$, con un nivel energético mayor que el existente en la unión $\text{H}-\text{O}-$ del agua. Este mecanismo corresponde a la incorporación del CO_2 en un compuesto orgánico, pero los grupos carboxílicos son aún nuevamente elevados en su contenido energético cuando se reducen a aldehídos ($-\text{COH}$). Estos grupos químicos, que poseen un alto poder reductor, son oxidados en forma paulatina y regulada, con pérdida gradual de energía. La energía es transferida a compuestos de menos f.e.m. al cederla en cada paso de la cadena que constituye el proceso respiratorio, y es utilizada en otras reacciones, en particular en la síntesis orgánica y demás funciones que constituyen la actividad vital.

Resumiendo, diremos que a través de numerosos procesos, los electrones fotoactivados de la clorofila son transferidos a compuestos orgánicos que incorporan CO_2 . Al mismo tiempo, y en forma continua, electrones de compuestos orgánicos fluyen a través de varios sistemas, con transferencia de energía que es utilizada en procesos endergónicos, hasta llegar al O_2 para constituir nuevamente agua con su bajo nivel energético inicial.

En forma sucinta, todo el proceso puede expresarse en la siguiente forma:



El agua es el compuesto que suministra en última instancia los electrones, y el O_2 es el aceptor final, para dar nuevamente agua con los protones del medio. Este sistema es el más común, y los organismos que lo desarrollan reciben el nombre de aerobios porque en condiciones naturales utilizan el oxígeno del aire. Existen organismos anaerobios que no utilizan el O_2 como aceptor final.

El conjunto de procesos químicos que abarcan los sistemas metabólicos mencionados, así como también numerosos procesos colaterales, pueden agruparse en aquellos que implican la síntesis endérgica conocida como anabolismo, los cuales comprenden la formación de las estructuras celulares, su mantenimiento y la constitución de su medio interno compuesto por precursores y reservas orgánicas e inorgánicas. Como hemos visto, esto implica en su conjunto una disminución de la entropía del sistema constituido por el organismo y el ambiente. Por otra parte, en forma concurrente se van desarrollando procesos de desintegración, exérgicos, cuyo conjunto se denomina catabolismo, lo cual implica un aumento de la entropía. Durante la fase de crecimiento de las plantas, el anabolismo es más intenso que el catabolismo y resulta, en consecuencia, una disminución de la entropía del sistema planta.

* La señal indica que el oxígeno que se desprende durante la fotosíntesis proviene del H_2O .

Los sistemas fundamentales de reacciones anabólicas y catabólicas, su regulación y sus relaciones con el medio pueden esquematizarse según la figura 2.

El agua (línea azul) y los nutrientes

disueltos en ella (línea roja) penetran por el sistema radical pasando a los vasos, a través de los cuales se distribuyen en los órganos y tejidos. La mayor parte del agua se pierde por transpiración a través de los estomas y por gutación a través de los hidatodos, llevando en este último caso parte de las sales. En los cloroplastos, a partir del agua, el CO_2 —que penetra desde los estomas disuelto en ella— y de la energía solar, se sintetizan primero ATP y NADPH y luego compuestos orgánicos (fotosíntesis). Parte de estos compuestos son respirados en el citoplasma no diferenciado y en las mitocondrias, dando nuevamente NADPH, ATP y productos intermedios, con desprendimiento de CO_2 y formación de agua. Los productos intermedios de la fotosíntesis, de la respiración, más ATP, NADPH y nutrientes minerales como el N, Ca, S, etc., dan lugar a un metabolismo básico donde se sintetizan aminoácidos, proteínas, hidratos de carbono, lípidos, etc.. Fundamentalmente en el núcleo se desarrolla la síntesis de ácido desoxirribonucleico (ADN) y ácido ribonucleico (ARN); el ARN determina la síntesis de enzimas, las que a su vez regulan la síntesis de ADN y ARN; en todo ello intervienen los reguladores (hormonas, inhibidores, etc.) que se forman por medio de los sistemas enzimáticos.

Los sistemas enzimáticos controlados por los ácidos nucleicos, los compuestos reguladores y el metabolismo básico, dan lugar al crecimiento —síntesis neta

de compuestos— y al desarrollo —conformación de tejidos, estructuras y órganos—. Este crecimiento y desarrollo culmina con la reproducción sexual, que produce las semillas, o bien la reproducción asexual o multiplicación, que da lugar a nuevas plantas sin fusión de gametos.

En forma paralela a estos procesos básicos, se producen otros, que van regulando el crecimiento y desarrollo por factores del medio, como la fijación de CO_2 no fotosintética, la fotoxidación de hormonas de crecimiento —auxinas— el control lumínico de procesos de germinación, reproductivos, etc., o bien por medio de la temperatura.

En consecuencia, los procesos fundamentales serían: fotosíntesis, respiración, metabolismo de numerosos compuestos (proteínas, lípidos, bases púricas, etc.) y metabolismo de ácidos nucleicos. Todo ello está regulado por enzimas y reguladores que provienen de los procesos anteriores conformando un mecanismo cibernético. En conjunto da lugar al crecimiento y la reproducción. En forma paralela se produce la absorción y la pérdida de agua y nutrientes inorgánicos. En el crecimiento y desarrollo intervienen factores externos como la intensidad de la luz, longitud del día —o la noche— y temperaturas.

Para que un organismo pueda crecer, lo cual implica un aumento de su materia orgánica estructurada en masa viva, es indispensable que los procesos anabólicos de acumulación de materia y energía superen a los catabólicos de desintegración con liberación de materia y energía. Ambos constituyen la actividad del vegetal autótrofo y se complementan en un sistema bioquímico complejo, ya que numerosas reacciones endergónicas utilizan la energía que le transfieren las reacciones exergónicas. En los *fitótrofos*, la fotosíntesis es el proceso anabólico primario, y la respiración el proceso anabólico fundamental. Ello no implica que estos procesos sean los únicos en su clase, ya que la síntesis de proteínas, ácidos nucleicos, hidratos de

carbono y otros compuestos complejos representan reacciones anabólicas y también fundamentales, pero dependen en última instancia de la fotosíntesis para obtener su energía y sus sustratos.

La intensificación o disminución de ambos —la fotosíntesis y la respiración— dependen normalmente del medio. Así, la actividad fotosintética, a concentraciones no limitativas de CO_2 , nutrientes y agua, depende fundamentalmente de la intensidad de la luz, en lo que respecta a las necesidades de la planta, y también de las horas diarias de aquella. Por otra parte, la pérdida de CO_2 aumenta con la temperatura y la luz, por medio de la fotorrespiración, en aquellas especies en las que se verifica tal proceso.

En condiciones naturales, la luz opera intermitentemente y en consecuencia se producen períodos de fotosíntesis seguidos por períodos inactivos. Durante los períodos activos, la fotosíntesis desarrolla una intensidad variada, determinada especialmente por la energía lumínica, la temperatura y otros factores del medio. Cuando amanece comienza la asimilación carbónica con la apertura de los estomas, que aumenta progresivamente con el aumento de luminosidad, para disminuir por la tarde hasta desaparecer al anochecer.

La respiración opera continuamente durante las 24 horas del día, pero se intensifica de día y disminuye por la noche con el cierre de los estomas, la falta de fotosíntesis que le suministre O_2 y la detención de la fotorrespiración, en caso de que este proceso ocurra.

Ambos procesos, la fotosíntesis y la respiración, pueden valorarse por la incorporación y la emisión de CO_2 , respectivamente. Durante la noche se manifiesta una débil liberación de CO_2 porque la respiración es poco activa y los estomas se encuentran generalmente cerrados; pero al amanecer, con la apertura de los estomas, comienza un intercambio gaseoso más activo, aún con el predominio de la respiración por la cual la planta continúa emitiendo el gas car-

bónico. Pero a medida que la intensidad de la luz aumenta y se activa la fotosíntesis con la consecuente incorporación de CO_2 , esa emisión disminuye hasta llegar a cierto momento en que el intercambio del gas carbónico entre la planta y la atmósfera es igual, puesto que el consumo es igual a la liberación. En consecuencia, no se puede determinar pérdida ni ganancia. Es el punto de compensación que podríamos calificar como lumínico, para no confundirlo con otras relaciones similares. Con el correr del día la intensidad solar aumenta, la incorporación de gas carbónico supera a la emisión, y en consecuencia se registra una ganancia neta por parte de la planta. Esta situación se suele mantener hasta el atardecer cuando, con la puesta del sol, el proceso se revierte y vuelve a producirse nuevamente el punto de compensación lumínico. El punto de compensación depende de la planta, como característica de su fisiología, de las condiciones en que se mantuvo durante su crecimiento y de las condiciones del medio en el momento en que se produce, como temperatura, H_2O , presión y nutrientes.

El proceso puede esquematizarse según la figura 3 donde los valores son hipotéticos.

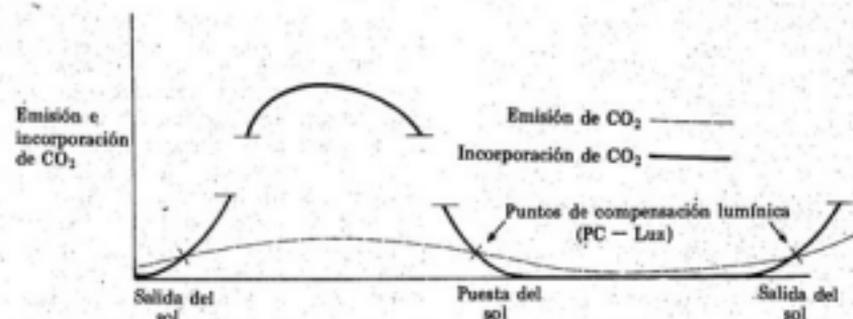


Figura 3. Variación diaria de los valores de emisión e incorporación por las respiraciones (mitocondrial y de peroxisoma) y la fotosíntesis, respectivamente. El punto de compensación lumínico puede valorarse según la intensidad de luz a que se produce y es una de las manifestaciones de la capacidad productora de una planta, desde que en el interior del follaje de un cultivo suelen obtenerse cifras negativas en lo que respecta a la asimilación de CO_2 por los bajos valores de iluminación.

En el vegetal en crecimiento, el total de CO_2 incorporado durante las 24 horas del día supera al emitido en el mismo período, lo que indica que durante las horas de luz se registra una fotosíntesis mucho mayor que la correspondiente al punto de compensación y, en consecuencia, un balance positivo. Los valores habituales del punto de compensación varían entre 500 y 3.000 lux de flujo lumínico. En general, las plantas criadas a la sombra, como aquellas que crecen en el sotobosque, presentan un punto de compensación inferior con relación a las plantas pertenecientes al mismo taxón criadas a la luz solar directa.

QUIMIOTROFISMO

El otro grupo de vegetales autótrofos corresponde a los quimiótrofos. Como se ha dicho, obtienen su energía de reacciones de oxidación. Son vegetales inferiores, unicelulares, que crecen en un medio inorgánico y utilizan el CO_2 como fuente de carbono en forma semejante a los vegetales verdes. Como en éstos, el O_2 suele ser el aceptor de electrones, pero no lo liberan como producto del proceso de síntesis. Su metabolismo es

semejante al de las plantas superiores, en particular aquél que comprende los hidratos de carbono y el ciclo respiratorio de ácidos carboxílicos. Abarca las bacterias nitrificantes, las que oxidan el azufre, el hierro y las del hidrógeno.

HETEROTROFISMO

Los heterótrofos son en su mayoría vegetales inferiores —bacterias y hongos— pero también lo son algunas fanerógamas. Utilizan, para vivir, compuestos elaborados por los autótrofos o por otros heterótrofos que viven de ellos. Eso ocurre luego que éstos mueren o bien por medio de la convivencia con tales organismos. Cuando utilizan materia orgánica no viva se denominan *saprófitos*, y cuando utilizan nutrientes extraídos por convivencia con otro organismo, reciben el nombre de *simbiontes* y el proceso es de *simbiosis*.

Las *saprófitas* pueden cultivarse con facilidad en el laboratorio utilizando compuestos orgánicos como azúcar, pectona y otros. Cuando el organismo se comporta exclusivamente como *saprófito*, recibe el nombre de *saprófito absoluto*; cuando en ciertas circunstancias puede vivir en simbiosis se denomina *saprófito facultativo*.

Los *saprófitos* desempeñan un papel muy importante en el conjunto de sistemas vivos y el medio que los rodea, porque producen la desintegración de los restos de organismos vegetales y de los animales que mueren, cuya materia pasa así a formar parte de la tierra vegetal. Además, aportan nutrientes inorgánicos y CO_2 , todo lo cual es fundamental para las autótrofas, y con ello permiten e integran el ciclo que siguen diversos elementos en la naturaleza.

Cuando dos organismos conviven y uno utiliza los productos que sintetiza el otro, éste recibe el nombre de *parásito*; pero cuando el provecho es mutuo, ambos son *simbiontes mutualistas*.

Los parásitos pueden ser *absolutos* si son incapaces, en cualquier circunstancia,

de obtener sus alimentos orgánicos de compuestos inertes y sólo lo hacen de otros organismos vivos. Están obligados, así, a una vida en simbiosis o bien a mantenerse en estado de latencia. En la naturaleza cumplen una parte del ciclo viviendo sobre un hospedante al que parasitan y del que obtienen sus alimentos, y otra parte, sobre otro hospedante (intermediario), o bien en estado de esporas, que es una forma de resistencia o de vida latente.

Algunos parásitos considerados absolutos han podido cultivarse *in vitro* (tal es el caso de *Gimnosporangium juniperi- virginianae* y *Uromices aristriphylli*), lo cual hace pensar si con el desarrollo de nuevos medios no podrían considerarse parásitos facultativos, aunque en condiciones naturales sigan comportándose como absolutos. A este grupo pertenece un número reducido de géneros, pero de enorme importancia económica por los perjuicios que causan en los cultivos. Tales son los hongos pertenecientes a los géneros *Uromices* y *Puccinia*.

Cuando el parásito puede cultivarse en un medio orgánico inerte y en la naturaleza vive en esas condiciones, recibe el nombre de *parásito facultativo*. Numerosas bacterias y hongos se comportan de esta manera, entre ellos los agentes de ciertas enfermedades de las plantas y los animales.

Los parásitos pueden vivir sobre el hospedante y perjudicarlo sólo por los nutrientes que le extraen; pero existen, además, los que provocan perjuicios por otras causas, como los que afectan la fisiología general del hospedante, en particular por la segregación de toxinas (fitoalexinas). Estos perjuicios pueden ser sólo pequeños —como son las necrosis que afectan una parte del tejido o todo un órgano, como la hoja— o bien causar la muerte del individuo. En algunos casos este proceso es rápido; en otros ocurre lentamente. Los organismos que ocasionan la muerte del hospedante son conocidos como *necrotrofos*; y, los que no lo matan, como *biótrofos*.

También se encuentran especies supe-

riores que son incapaces de sintetizar clorofila y viven como parásitas sobre otras plantas. A este grupo pertenecen, entre otras, la cuscuta, la *Rafflesia* y la "flor de tierra". La cuscuta, conocida como "cabello de ángel", posee tallos convolutos de color amarillento y emite haustorios que penetran en los tejidos de las plantas parasitarias a las cuales les extrae la solución nutritiva. Puede causar perjuicios en los alfalfares, pero no representa una plaga mayor y es fácilmente controlable. En Sudamérica, diversas especies del género *Prosopanche*, conocidas como "flor de tierra", están constituidas por un largo rizoma cuadrangular, en cuyos cantos emiten los haustorios.

También se encuentra cierto grupo de organismos denominados hemiparásitos, que poseen clorofila y cuya parte inferior del tallo hace las veces de haustorio, por cuya razón se comportan en forma semejante a una epífita. Son los muérdagos de Europa, llamados "ligas" en América, que llevan una vida independiente en lo que respecta a su nutrición orgánica, pero que dependen del hospedante para obtener el agua y los nutrientes minerales.

SIMBIOSIS MUTUALISTA

En la simbiosis mutualista se produce un intercambio de nutrientes o se aportan condiciones favorables entre ambos simbioses, lo cual es favorable para la vida y el crecimiento del hospedante y el hospedado. Esta simbiosis puede establecerse entre organismos inferiores, entre organismos superiores y entre inferiores y superiores. No existe una separación neta entre simbiosis y asociación, pero entendemos por simbiosis el contacto estrecho e íntimo entre dos organismos que actúan directamente entre sí por la transferencia de nutrientes y reguladores; en cambio, entendemos que hay asociación cuando la acción de ambos organismos se realiza a través de un ambiente común. La simbiosis tiene impor-

tancia desde el punto de vista biológico y, en particular, desde el punto de vista agronómico.

Entre los casos de simbiosis más manifiesta encontramos el de los líquenes, considerados como un taxón, dado el carácter permanente de su convivencia y su perpetuación como tales, ya que poseen la propiedad de reproducirse como líquenes. La vida en conjunto les confiere características de resistencia muy singulares, en tal grado que frecuentemente representan los organismos iniciales en el avance de la vegetación sobre las zonas marginales de los desiertos, sea por la deficiencia de agua o por el frío.

Están constituidos por un hongo y un alga. El hongo pertenece a las *Ascomycetas* o *Basidiomicetas*, y el alga a las *Clorófitas* o *Cianófitas*. La separación de los dos organismos (alga y hongo) se puede efectuar con facilidad para obtener colonias de algas o de hongos puros; pero realizar la síntesis, o sea constituir un líquen a partir de ellos, es muy difícil.

El alga aporta al sistema los productos de la fotosíntesis. Cuando se trata de una cianofítica (*Nostoc*) fijadora de nitrógeno libre, puede también transferirlo, en forma similar a los productos de la fotosíntesis, y obtenerse crecimientos que alcanzan a duplicar su peso inicial en 14 semanas (*Peltigera proteretata*) lo que implica una actividad excepcional dadas las condiciones adversas en que desarrollan. El hongo conforma un hábitat tan adecuado, que el conjunto resiste las condiciones más inhóspitas. El alga recibe el nombre de *gonidio* y se ubica en forma de estrato —estrato gonidial— dentro del talo del hongo, lo cual le permite aprovechar la insolación en forma adecuada como así también el CO_2 del exterior, como el emitido por los micelios del hongo al respirar. El talo del hongo es compacto, aporta agua, nutrientes y protección al sistema. Ecológicamente, el sistema se comporta como una especie poikoxerófito, lo cual significa que es incapaz de regular su metabolismo o el intercambio con el medio y que reduce

su actividad al mínimo en las épocas adversas. En estas condiciones lleva una vida latente, pero se reactiva en cuanto se encuentra en un medio favorable. Tal comportamiento le permite vivir sobre rocas, techos, maderas, etc., que implican un hábitat riguroso y deficiente de nutrientes.

Otro caso importante de simbiosis mutualista es el que ocurre entre plantas superiores —generalmente una leguminosa— y bacterias del género *Rhizobium*. Este es facultativo, puede vivir como saprófito en el suelo o bajo cultivo, *in vitro*, o bien en simbiosis en el sistema radical de la planta, donde produce nudosidades. El *Rhizobium* tiene la facultad de asimilar nitrógeno libre, parte del cual transfiere a la planta y al suelo como nitrógeno reducido, y la planta suministra a la bacteria productos de su metabolismo. Este sistema planta-bacteria es valioso desde el punto de vista agrícola porque permite mantener y aumentar la riqueza nitrogenada de la planta y el suelo con una rotación adecuada del cultivo pero también lo es en la naturaleza porque es uno de los caminos del ciclo del nitrógeno.

Las bacterias se encuentran en el suelo donde viven como saprófitas, estado en que son incapaces de fijar el nitrógeno molecular. En el huésped penetran generalmente por los pelos absorbentes llegando al parénquima cortical; allí se multiplican y los tejidos reaccionan dando lugar a la formación de nudosidades en cuyo interior se ubican las colonias. En esta situación cambian de estado y adquieren la capacidad de fijar el nitrógeno gaseoso, al cual reducen. Los *Rhizobium* son más eficientes en cuanto a la fijación de nitrógeno que los fijadores saprófitos, como el *Azotobacter* y el *Clostridium*, pues pueden incorporar entre 200 y 300 kg/ha, mientras que los segundos llegan hasta 20 kg/ha y año. Tal capacidad

varía con la "raza" o "cepa" de bacteria, como así también con la planta; por ejemplo, una cepa que es buena fijadora con una planta de alfalfa, puede no serlo, o aun no fijar, con otra.

No todas las razas de *Rhizobium* tienen la propiedad de estar en simbiosis con todas las leguminosas; en general, lo hacen por grupos de especies y sólo en un caso, con la soja, son específicas.

Con carácter de simbiontes con plantas superiores también encontramos cierto grupo de hongos, las micorrizas, en particular en suelos ricos en nitrógeno orgánico no asimilable directamente por las plantas donde viven libres o en simbiosis con coníferas, fagáceas y otras especies. Las micorrizas pueden desarrollarse dentro del parénquima cortical subepidérmico de las raíces —endotróficas—, como aquellas que conviven con las orquídeas. Se cultivan en el laboratorio con técnicas comunes de microbiología, de manera que su uso constituye una práctica corriente fuera de las regiones de producción natural de orquídeas ornamentales, en las zonas tropicales y lluviosas.

Cuando las micorrizas envuelven las raíces y forman un velo alrededor de ellas, reciben el nombre de ectotróficas. En este caso desarrollan con las plantas un intercambio nutritivo similar al de las endotróficas.

El cultivo y la aplicación artificial de estos microorganismos fijadores de nitrógeno es de gran importancia en la agricultura. Es factible utilizarlos en las regiones que no los poseen o donde son poco activos, como ocurre con las micorrizas destinadas a almácigos y viveros de coníferas, de lo que resulta un crecimiento más rápido y mayor vigor de las plantas.

PLANTAS INSECTIVORAS

Dentro del cuadro de nutrición orgánica encontramos las plantas insectívoras, típicas de terrenos pobres en nitrógeno asimilable —en este caso por estar frecuentemente inundados—, como ocurre en las regiones pantanosas. Tienen la fa-

cultad de atrapar, por medio de diversas estructuras, especies de la fauna entomológica que son digeridas por enzimas proteolíticas segregadas por la propia planta o provenientes de una flora microbiana que se desarrolla en sus "trampas" y permite la asimilación del nitrógeno orgánico.

CAPITULO II

ESTRUCTURA Y FUNCION DE LA CELULA VEGETAL

E. R. MONTALDI Y O. H. CASO

INTRODUCCION

La visión macroscópica de todos los seres vivos conduce a la idea lógica de la existencia de una gran diversidad de organismos. Esta impresión es evidentemente cierta, pues es fácil diferenciar en ellos distintas formas y estructuras. Pero si se examina su organización microscópica y se analiza su composición química, se llega al convencimiento de que casi todos están constituidos por una unidad básica fundamental: la célula. Esta presencia de estructuras moleculares y funciones comunes en tan distintos organismos (como algas, plantas y animales superiores) es el producto del lento proceso evolutivo que ha ido conservando aquellos mecanismos biológicos que resultaban más aptos para la existencia y propagación en las condiciones ambientales de este planeta. Si se recorre la escala biológica se encontrarán seres constituidos por una célula solamente (organismos unicelulares) o por un gran número de ellas (organismos pluricelulares), integradas funcional y morfológicamente. En otros casos se hallarán células unidas, pero que conservan cada una su individualidad (colonias). En la mayoría de los vegetales, sea cual fuere su constitución, siempre se puede distinguir claramente su naturaleza celular.

El avance que se ha ido produciendo en las técnicas citológicas y el gran poder

de resolución del microscopio electrónico han permitido realizar progresos notables en el conocimiento de la constitución celular. Paralelamente, el desarrollo de nuevos métodos para estudiar el bioquimismo celular ha hecho posible conocer sus distintas estructuras y la función que desempeñan. En la actualidad se considera que *forma* y *función* están íntimamente relacionadas. La función está determinada por la forma o arreglo molecular, que a su vez establece las limitaciones en el funcionamiento.

La célula, tal cual se la conoce hasta el presente, es un sistema complejo formado por diferentes moléculas —o agrupamientos de moléculas— que interactúan de manera armónica y le confieren las propiedades características de la vida: crecimiento, reproducción, movimiento, etcétera. En este sistema, por lo tanto, los componentes no funcionan de modo independiente, sino integrados y regulados por mecanismos especiales. El hecho de que algunas partes de la célula puedan realizar ciertas funciones fuera de ella, no indica que sean independientes de los demás componentes ni que se les pueda atribuir vida por separado.

A mediados de este siglo, las observaciones con el microscopio electrónico permitieron diferenciar dos tipos de células. En los seres más evolucionados (animales, plantas superiores, hongos, musgos y la mayor parte de las algas), la unidad

de estructura es una célula denominada eucariótica, que difiere en muchos aspectos de la célula procariótica de los organismos menos evolucionados (cianófitas, bacterias).

Se describirá a continuación la estructura y función de una célula eucariótica perteneciente a una planta superior, lo cual servirá de base para mostrar las diferencias existentes con la célula procariótica.

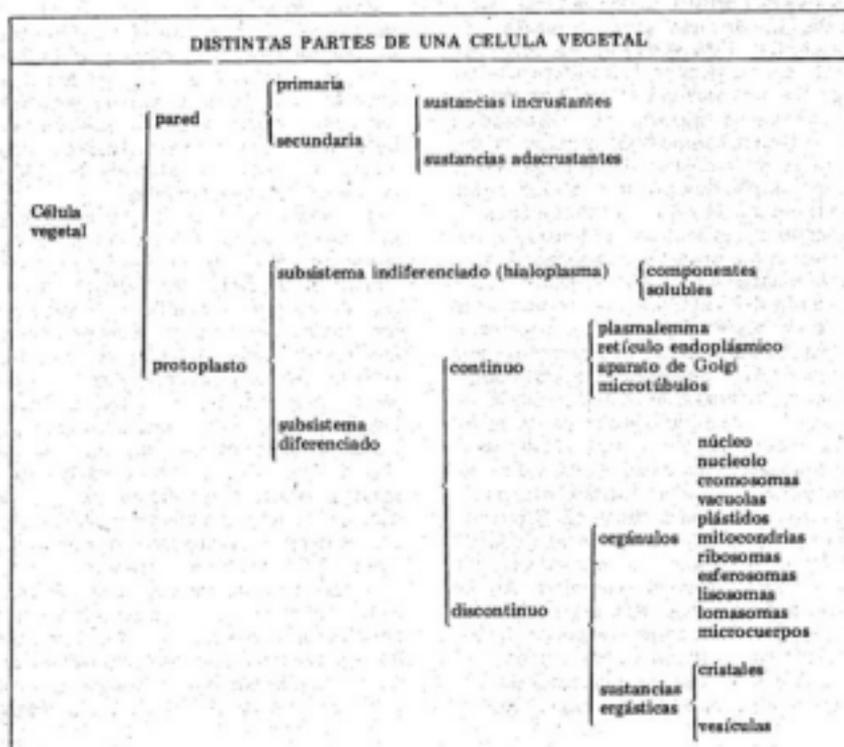
ORGANIZACION DE UNA CELULA EUCARIOTICA

Toda célula vegetal eucariótica está constituida por un *protoplasto* recubierto por una *pared*. La ausencia de esta pared

en numerosos organismos, y el cultivo experimental de protoplastos aislados de plantas superiores, demuestran que éstos constituyen la parte fundamental de la célula.

El protoplasto, considerado como un sistema, comprende un *subsistema indiferenciado* formado por una masa coloidal, viscosa y elástica llamada *hialoplasma*, en el cual se halla inmerso un *subsistema diferenciado* constituido por estructuras *continuas* (membranosas, laminares) y *discontinuas* (corpúsculares o informes). Estas últimas se denominan *orgánulos*.

Al margen de estos dos subsistemas, algunas células contienen acumulaciones de ciertas sustancias insolubles, resultantes del metabolismo celular, que no toman más parte activa en él o que, por el



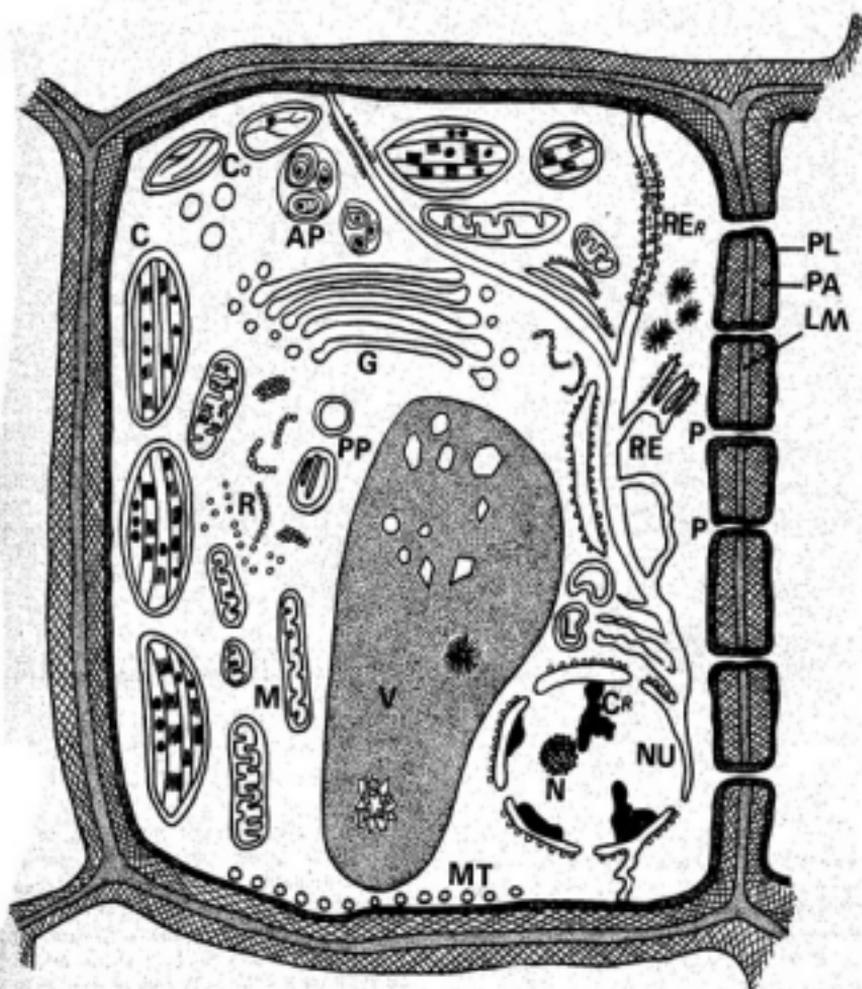


Figura 4. Esquema de una célula vegetal. Referencias: AP= amiloplastos; C= cloroplastos; Cr= cromatina; G= aparato de Golgi; L= lisosomas; LM= laminilla media; M= mitocondrias; MT= microtúbulos; N= nucleolo; Nu= Núcleo; P= plasmodesmos; PA= pared; PL= plasmalema; PP= proplástidos; R= ribosomas; RE= retículo endoplásmico liso; REr= retículo endoplásmico rugoso; V = vacuola.

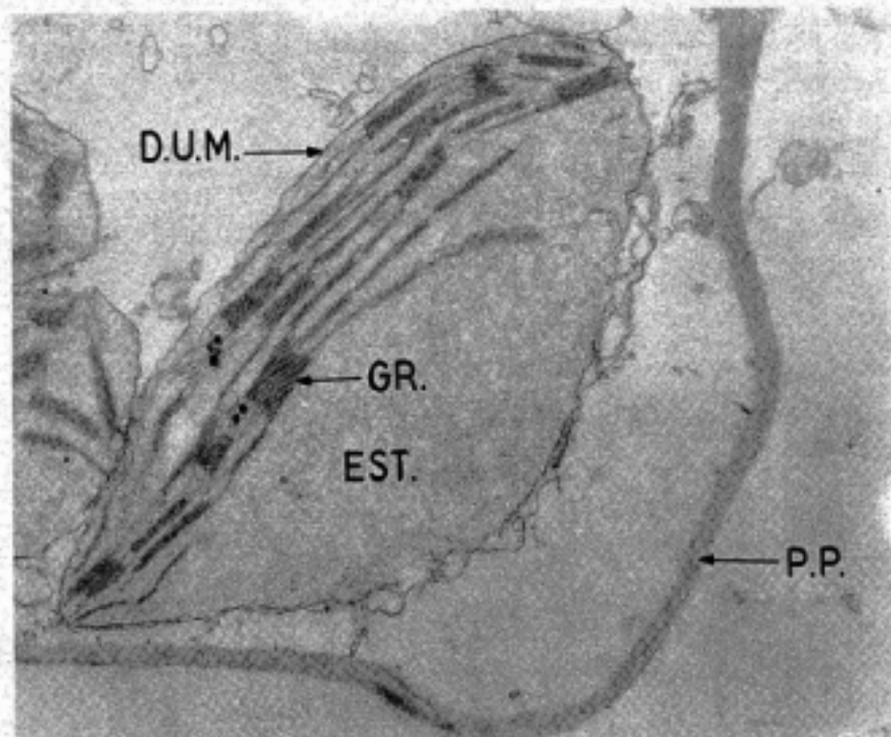


Figura 4 A. Cloroplasto de una célula del mesófilo de algas. Referencias: P.P.= pared primaria de la célula; D.U.M.= doble unidad de membrana; EST.= estroma o matriz; GR.= granum (fotografía cedida por el Dr. R. Lagunas).

contrario, permanecen en forma transitoria y desaparecen por utilización en los procesos de síntesis. Estas inclusiones se denominan *ergásticas* y comprenden vesículas de lípidos, cristales de oxalato de calcio, etcétera.

El límite externo del protoplasto lo constituye una *membrana*, denominada *plasmalemma*, de gran importancia en las relaciones entre la célula y el medio que la rodea, como se verá más adelante (figura 4).

La estructura de una célula tipo no es de manera alguna estática, sino, por el contrario, dinámica. Con el microscopio de contrastes de fases se pueden observar cambios rápidos en la configuración del contorno celular y en la posición de las membranas y orgánulos, que se desplazan con un movimiento llamado *ciclosis*. No existe, por lo tanto, un citoesqueleto rígido, sino un movimiento incesante de los componentes celulares que, no obstante, conservan las interrelaciones funcionales, es decir, mantienen una *organización dinámica*.

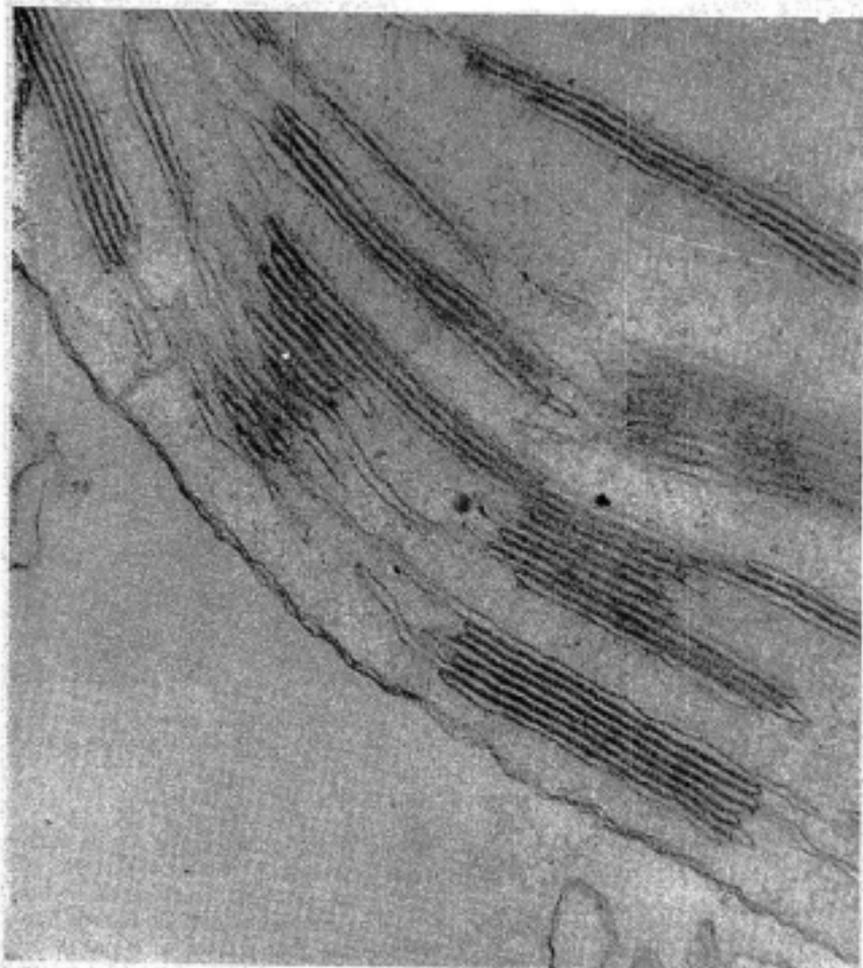


Figura 4 B. Detalle de los grana de un cloroplasto. Se puede observar claramente la disposición de los tilacoides (fotografía cedida por el Dr. R. Lagoena).

PARED CELULAR

La pared forma una envoltura semi-elástica que le otorga a la célula cierta rigidez e impide que la fuerza que ejerce el protoplasto cuando aumenta su tur-

gencia desgarre la membrana que la envuelve (plasmalemma). Si bien posee la apariencia de una estructura inerte, la presencia de enzimas demuestra que es un sitio metabólicamente activo.

Su constitución debe permitir el cre-

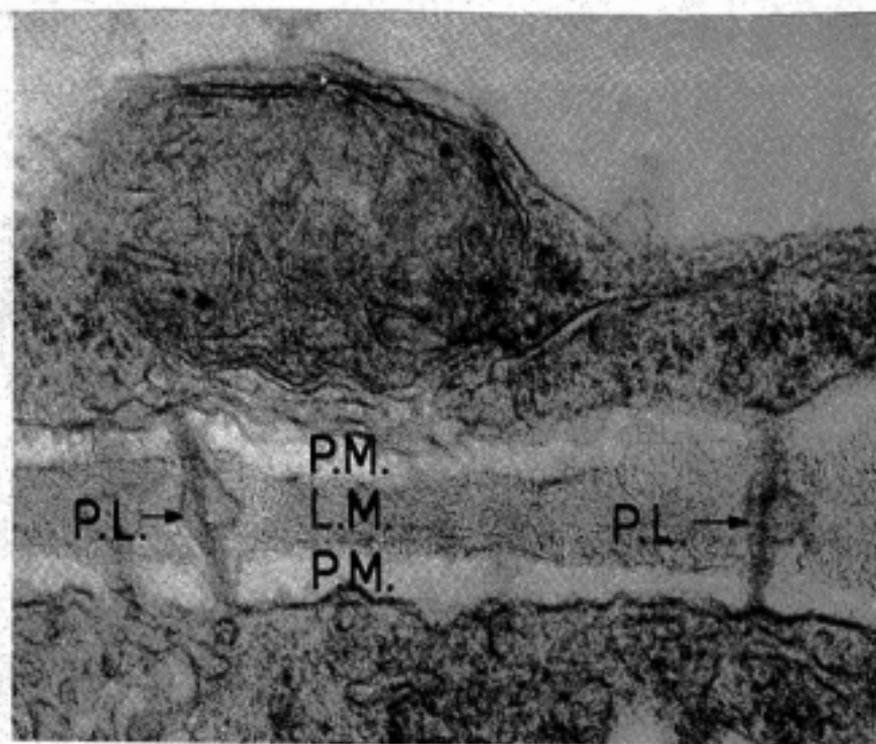


Figura 4 C. Plasmodesmos en la pared primaria de células del coleóptilo de trigo. Referencias: P.P.= pared primaria; L.M.= laminilla media; P.L.= plasmodesmo (fotografía cedida por el Ing. Agr. J. Vega).

cimiento y diferenciación de la célula y también facilitar el intercambio de gases y soluciones con el exterior. Estos requerimientos se satisfacen debido a la naturaleza y organización de las moléculas que constituyen la pared. Todas las sustancias que intervienen en su constitución son polímeros largos que forman una red de microfibrillas inmersa en un hidrogel amorfo denominado *matriz*.

FORMACION DE LA PARED

Cuando la célula de un organismo se divide por mitosis se deben formar las dos paredes delimitantes de cada célula

hija, que quedarán unidas por un material cementante, la *laminilla media*. El proceso comienza después de la anafase en un cuerpo bien definido llamado *fragmoplasto*, que aparece en el centro del plano ecuatorial de la célula madre, cuando los cromosomas se han desplazado hacia los polos. En este momento el fragmoplasto aparece perpendicular a las fibras del huso, como un disco biconvexo de citoplasma denso en el cual se concentran gran cantidad de vesículas pequeñas (100 nm), recubiertas de una membrana, derivadas del aparato de Golgi. El número de vesículas aumenta hasta que finalmente coalescen y forman entre las dos células un tabique semisó-

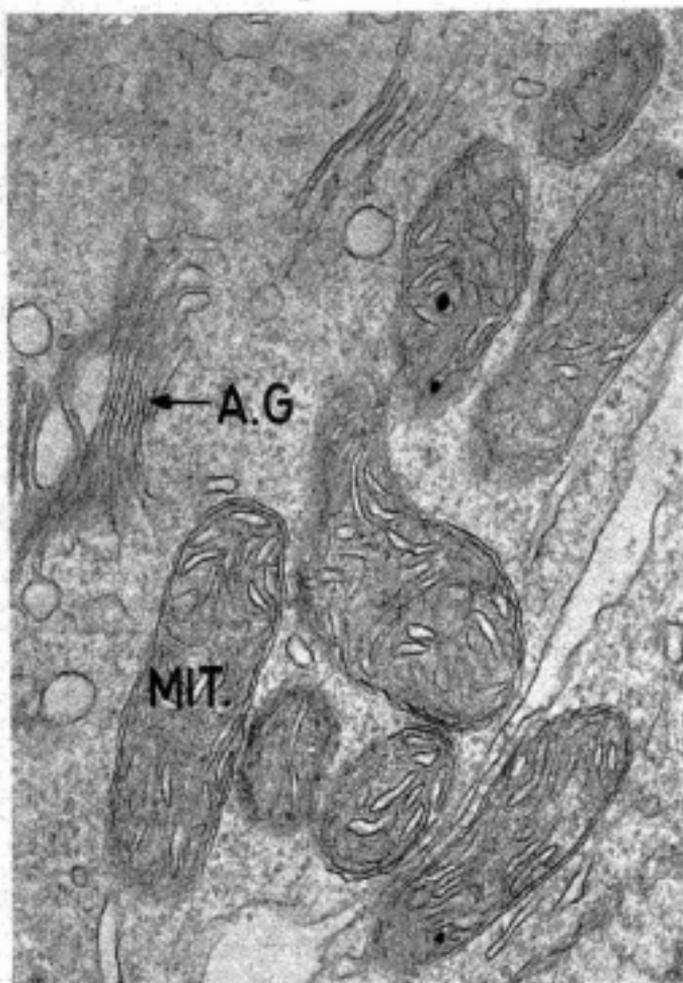


Figura 4 D. Aparato de Golgi y mitocondrias en una célula de coléoptilo de trigo. Referencias: A.G.= aparato de Golgi; MIT.= mitocondria (fotografía cedida por el Ing. Agr. J. Vega).

lido que crece hacia la periferia, por deposición de nuevas vesículas, hasta alcanzar la pared de la célula madre. En este estado se distinguen ya dos angostas capas brillantes, separadas por una lámina de material isotrópico. Las dos primeras constituirán las *paredes primarias*

de cada una de las células y, la central, la *laminilla media*. Por deposición a ambos lados de nuevo material contenido en las vesículas, el tabique completa su espesor y las membranas de éstas pasan a formar parte de las plasmalemmas. Las vesículas de Golgi no sólo se ubican en

esta región de la célula, sino también sobre toda el área de la pared vieja, y provocan, inmediatamente después de la mitosis, su aumento en extensión y espesor hasta alcanzar el tamaño de la célula madre que le dio origen. Al comienzo de la formación de las paredes y de la laminilla media, el material depositado consiste sólo de sustancias pécticas y hemicelulosas amorfas.

Las sustancias pécticas (véase pág. 197) son polímeros del ácido galacturónico que, además, contienen L-arabínosa, D-galactosa y L-rhamnosa. El ácido péctico posee aproximadamente 1.000 monómeros con un peso molecular de 200.000. Forma cadenas lineales, sin ramificaciones, que se disponen al azar sin formar cristales. Numerosos grupos carboxilos se combinan con el Ca o el Mg, en tanto que otros quedan sin neutralizar. El Ca y el Mg hacen más rígido al polímero, razón por la cual la ausencia de estos cationes provoca el ablandamiento del ácido péctico.

Si el número de monómeros es reducido (10 a 15) y los grupos carboxilos se esterifican con radicales metilo, se forman *pectinas* solubles en agua. Si, por el contrario, el polímero posee un número muy elevado (1.000ⁿ) de residuos del ácido galacturónico, se tiene un gel sólido llamado *protopectina*, insoluble en agua.

Las hemicelulosas son polímeros lineales o ramificados de los ácidos D-glucurónico y D-galacturónico, y en la molécula también se encuentran azúcares como la D-glucosa, D-manosa, L-arabínosa y D-xilosa. La solubilidad de estas sustancias depende del grado de metilación de los ácidos y del grado de entrelazamiento de las cadenas.

Tanto las sustancias pécticas como las hemicelulosas poseen una estructura amorfa o paracristalina, debido a que los monómeros no guardan ningún orden en las cadenas y, además, a que las uniones β 1-3 no dan origen a cadenas lineales, sino helicoidales. Por otro lado, el alto poder hidrofílico que poseen estos polímeros, dado por la presencia de un gran

número de grupos polares en la molécula, imposibilita la formación de cristales en un medio con alto contenido de agua. A medida que esta masa amorfa de pectinas y hemicelulosas aumenta de espesor, se le van incorporando micelas (cristalitos) de celulosa de 5 nm de longitud. Estas *fibrillas elementales* se disponen al azar hacia ambos lados del tabique divisorio y con mucha separación entre ellas. La inclusión de la celulosa en la matriz le confiere resistencia a la estructura, sin que pierda las propiedades de elasticidad, y constituye la denominada *pared primaria*.

Algunos estudios recientes sobre la pared primaria de las dicotiledóneas han permitido establecer un modelo de su estructura. Según éste, se considera que las microfibrillas de celulosa se hallan cubiertas por una capa monomolecular de hemicelulosa, unida a las primeras por uniones hidrógeno. Existirían, además, entrecruzamientos moleculares y uniones covalentes entre los extremos reductores de las hemicelulosas y los polisacáridos pécticos. Estas sustancias pécticas estarían unidas mediante enlaces covalentes a glicoproteínas que desempeñan un papel importante durante el crecimiento de la pared (véase pág. 25).

Ciertas células sólo poseen este tipo de pared durante toda su vida (meristemas, pelos radicales, tubos polínicos, etcétera), pero la mayoría sufre un proceso de alargamiento y posteriormente de diferenciación, en el cual se forman los distintos tejidos especializados.

CRECIMIENTO DE LA CELULA

Una vez delimitada cada célula hija por su respectiva pared primaria ocurre su crecimiento, es decir el aumento de su peso y volumen. Para que esto suceda, la célula debe aumentar el área de la pared y de la laminilla media, proceso que es acompañado por el incremento, también en espesor de la primera.

El aumento del área se produce de manera homogénea en toda su extensión,

con excepción de los pelos radicales, los pelos de la semilla del algodón y los tubos polínicos, que sólo crecen por su extremo. El proceso consiste en el estiramiento de la pared por reordenamiento de las micelas de celulosa preexistentes —que se orientan en forma más o menos paralela al eje de la célula— y en la síntesis y subsiguiente incorporación de nuevas microfibrillas (intususcepción) que al principio se colocan en su mayor parte en sentido transversal y luego nuevamente en forma axial, entrecruzándose en todas direcciones, pero siempre en el mismo plano de crecimiento de la pared. La incorporación de nuevos materiales a la pared en crecimiento se realiza de manera uniforme en todo su espesor. Las sustancias que, polimerizadas, componen la laminilla media y la matriz, se trasladan desde el protoplasto en forma de polímeros cortos, solubles, a través de la pared saturada de agua. El aumento de la celulosa en la cara externa de la pared, así como en su espesor, se produce por la biosíntesis *in situ* de nuevas microfibrillas (como dador de glucosa actúa el GDP-glucosa), o por adición de unidades del monómero a las partes terminales del polímero existente. Se trata de una síntesis extracitoplásmica que demuestra la actividad metabólica de la pared. En la cara interna de la pared —en la interfase pared-citoplasma— el aumento de la matriz y de la celulosa ocurre por la aposición directa de nuevas cadenas de los polímeros correspondientes.

CONTROL DEL CRECIMIENTO

La regulación del crecimiento de la célula no está aún aclarado. El *estiramiento* y *reordenamiento* de los elementos preexistentes, así como la síntesis de nuevos materiales, está bajo el control hormonal. Si bien la extensión elástica (reversible) es provocada por la presión de turgencia —que es insensible a la temperatura y a los inhibidores de la respiración—, requiere, no obstante, un *factor de ablande* para la ruptura y reforma de

las uniones moleculares. La naturaleza de este factor aún no está determinada de manera concluyente: existen, empero, muchas evidencias que indican que la *extensina*, una glicoproteína encontrada en la pared, regularía el equilibrio *prolina* \rightleftharpoons *hidroxiprolina*, responsable del ablandamiento de la estructura. El subsiguiente proceso bioquímico de síntesis que conduce a la extensión plástica (irreversible) es dependiente de la temperatura, de la respiración y del contenido auxínico.

LA PARED DE LAS PLANTAS INFERIORES

Es de interés señalar que la celulosa es el constituyente más importante de la pared de las plantas superiores; pero en los vegetales inferiores, esta sustancia es reemplazada por otras que desempeñan la misma función. En los hongos es la *quitina*, polímero del aminoazúcar acetilglucosamina. En las bacterias es un mucocomplejo formado por dos aminoazúcares, acetilglucosamina y acetilmurámico, y algunos aminoácidos, como la alanina, el ácido glutámico, el ácido diimidopimélico, etcétera. En las algas es un polímero del β -1,4-xilano, y en las diatomeas es la sílice.

LA PARED SECUNDARIA

Concluido el fenómeno de alargamiento de la célula, su pared sufre cambios irreversibles en su estructura por la incorporación a la matriz de nuevas moléculas de celulosa agrupadas en microfibrillas de 8 a 30 nm de longitud y en macrofibrillas de 500 nm, dispuestas en forma entrecruzada en todas direcciones y entrelazadas por ramificaciones del polímero. Esta disposición de la celulosa forma una trama muy densa, mucho más resistente que la de la pared primaria, que no permite un ulterior crecimiento de la célula y constituye la llamada *pared secundaria*.

Es difícil distinguir la pared primaria de la secundaria sobre la base de su estructura, en razón de que no existe zona de transición alguna entre ambas. Se pensó que se podría diferenciar la pared primaria por la disposición dispersa de la microfibrillas, ya que la pared secundaria muestra una disposición paralela de ellas. Sin embargo, luego se encontró que en la pared primaria también se podía hallar una disposición similar. Por consiguiente, es más conveniente denominar pared primaria a aquella que permite, por su estructura, el aumento del área de la célula (plasticidad).

La pared secundaria puede contener sustancias *incrustantes* embebidas en la matriz, como lignina, mucílagos, taninos, sílice, carbonato de calcio, etcétera. Asimismo, otros *compuestos adcrustantes* pueden acumularse sobre la superficie de la pared, ya sea en la cara interna (suberina, calosa) o externa (cutina, ceras, aceites).

SUSTANCIAS INCRUSTANTES

Lignina

La lignina es uno de los constituyentes más importantes de la pared secundaria. Químicamente es un polímero de los alcoholes coniferílico, sináplico y p-cumarílico, que forma una compleja red de moléculas heterogéneas y unidas entre sí por los grupos difenólicos.

La incorporación de lignina a la pared otorga a ésta mayor resistencia a la compresión, dado que la celulosa le da sólo resistencia a la tensión.

En el proceso evolutivo de los vegetales, la lignificación aparece en el paso de los organismos de la vida acuática a la terrestre, ambiente que determinó estructuras de alta resistencia mecánica para la supervivencia.

La lignificación se inicia en la laminilla media cuando la célula ha dejado de crecer y el proceso avanza y abarca las paredes primaria y secundaria. La matriz de pectinas y hemicelulosas se reduce por

degradación química y por deshidratación, y su lugar lo ocupa la lignina como elemento amorfo cementante. Una pared lignificada está constituida por celulosa (50%), lignina (20 - 30%), residuos de la matriz original (20 - 30%), agua de hidratación y, en ciertos tejidos, otras incrustaciones como taninos y sustancias minerales.

Las *proteínas* que se encuentran en la pared primaria se reducen en la secundaria a cantidades insignificantes.

Mucílagos

Son sustancias constituidas por una mezcla de proteínas, ácido galacturónico y, a veces, fibras de celulosa. El ácido galacturónico forma cadenas en cuya composición se encuentran azúcares, como la rhamnosa, galactosa, arabinosa o xilosa.

Físicamente son compuestos que se hinchan en el agua para formar masas gelatinosas o viscosas debido a que sus moléculas son altamente hidrofílicas y presentan fuerzas mátricas (imbibición) muy elevadas.

Los mucílagos se encuentran formando parte de la pared secundaria de las células de muchas plantas, pero se los puede encontrar en el citoplasma de especies suculentas (Cactaceae, Aloe, Agave, etcétera). En algunas plantas acuáticas y en las raíces de ciertas especies terrestres (*Cynodon dactylon*), el mucílago se encuentra del lado exterior a manera de cubierta viscosa. En este caso sería un compuesto adcrustante.

El agar es un polisacárido que se halla en las paredes de ciertas algas (*Gelidium*, *Gracilaria*, etcétera). A diferencia de los mucílagos, son insolubles en agua fría, pero solubles en agua caliente. Cuando las soluciones se enfrían forman geles rígidos.

Sustancias adcrustantes

Los compuestos que se depositan sobre las superficies de la pared son las *suberinas*, *cutinas* y *ceras*, y la *calosa*.

Las *suberinas* y *cutinas* son polímeros insolubles de ácidos hidrocarboxílicos, que poseen numerosos grupos esterificables. Un ejemplo es el ácido floionólico:

$$\text{CH}_2 - \text{O}(\text{COOH})_n - \text{CH} - \underset{\text{O}}{\text{C}} - \text{CH} - \text{COOH}$$

Según la resistencia de estos polímeros a la saponificación, se distinguen tres grupos de sustancias: *suberinas* (se saponifican con una solución de KOH al 3%), *cutinas* (se saponifican con una solución de KOH al 5% en metanol) y *esporopoleninas* (se saponifican en álcalis fundidos).

Las ceras son ésteres de alcoholes alifáticos, o cíclicos superiores, y ácidos grasos, mezclados con parafinas y cetonas.

La *suberina* se deposita en las células de ciertos tejidos, como la peridermis, endodermis, exodermis, zonas de abscisión, tejidos dañados, etcétera. El proceso de suberificación comienza cuando la pared primaria ha terminado su formación y la célula ha cesado de crecer. La *suberina* se incorpora por aposición a la cara interna de la pared, y sobre ella se forma una lámina de hidratos de carbono —que contiene microfibrillas de celulosa— que la separa de la plasmalemma y que se considera una *pared terciaria*. Cuando la suberificación es completa, la célula muere y se llena de aire. La *suberina* es muy impermeable al agua y su función en los vegetales es impedir su pasaje y evitar la desecación de los tejidos. En ciertos casos actúa como protección contra las temperaturas adversas, como en las especies que poseen un grueso ritidoma suberificado, o contra la acción de los parásitos.

Un fenómeno importante, que ocurre en las células de la mayoría de los tejidos expuestos al aire, es la *cutinización*, es decir la deposición de cutina en la superficie externa de la pared primaria. El proceso se inicia con la aparición de una capa de pectinas sobre la pared, encima de la cual se van depositando microfibrillas de celulosa y cutina. Gradualmente, a medida que la pared aumenta su espesor, la celulosa deja

de incorporarse a la mezcla, depositándose finalmente cutina pura. La cutina, observada con el microscopio electrónico, aparece carente de estructura definida, sin elementos fibrosos o corpusculares.

La cutina es secretada por el protoplasto como *procutina*, material semisólido que atraviesa la pared y en contacto con el oxígeno se endurece por oxidación y polimerización.

Es común que sobre la capa de cutina pura se deposite otra, constituida por cutina y ceras, a la que le sigue, por último, una de cera cristalina o líquida (frutos del manzano, etc.) junto con azúcares, pigmentos, etcétera.

La película continua de cutina y ceras que recubre las células constituye la *cutícula*.

Calosa. En la superficie interna de ciertas células (tubos cribosos, tubos polínicos, hifas de hongos) se deposita una sustancia membranosa llamada *calosa*. Es un poliglucano insoluble en agua, de cadenas muy largas, en el cual las moléculas de glucosa están enlazadas por uniones glucosídicas 1-3, sin ramificaciones.

SUBSISTEMA INDIFERENCIADO. HALOPLASMA

Está constituido por una masa homogénea, a la que algunos autores denominan también citoplasma fundamental o matriz citoplásmica, en la cual se hallan los demás componentes diferenciados de la célula. A menudo se encuentra reducido a una envoltura de poco espesor situada entre la membrana de la vacuola y la plasmalemma. Tiene una viscosidad superior a la del agua, debido a la presencia de sustancias de peso molecular elevado de naturaleza coloidal (proteínas, etc.), y es sumamente elástica. Presenta zonas densas, formadas por geles, y otras más fluidas, casi líquidas. Estas áreas sufren cambios rápidos de estado debido al metabolismo,

así como de posición, causados por el fenómeno de ciclosis. Su pH es ligeramente ácido (6 a 6,9) y posee un poder "buffer" elevado, desde el punto de vista bioquímico contiene enzimas, ARN soluble, alcaloides, isoprenoides, aminoácidos y otros metabolitos de peso molecular reducido. Estos últimos pueden tener su función específica en esta parte de la célula o ser sustancias pasajeras en ella, ya que su metabolismo se halla en el citoplasma diferenciado.

El hialoplasma posee una gran actividad metabólica. Es el sitio donde se produce la primera etapa de la degradación de los azúcares (glicólisis), la fermentación alcohólica, el ciclo de las pentosas, la reducción de los sulfatos y nitratos, la síntesis de las coenzimas, etcétera.

SUBSISTEMA DIFERENCIADO CONTINUO

MEMBRANAS. CONCEPTO DE UNIDAD DE MEMBRANA. COMPARTIMENTALIZACIÓN.

Todo protoplasto y la mayor parte de sus componentes diferenciados están envueltos por una membrana. En algunas células, la membrana es la única estructura que separa al citoplasma del medio externo; pero, por lo común, aquella está recubierta por la pared. Desde el punto de vista funcional, una membrana es un límite entre dos medios que ofrece más resistencia al movimiento de sustancias que la que les oponen los medios que son separados. Considerando su estructura, es una envoltura estratificada y densa, constituida en su mayor parte por proteínas y fosfolípidos. La similitud en su conformación química y física, así como las propiedades fisiológicas de las membranas de distintas inclusiones subcelulares, ha llevado al concepto de *unidad de membrana*. Así, la membrana que rodea al protoplasto se denomina *plasmalemma* y está constituida por una sola unidad de membrana, mientras que el núcleo, los

cloroplastos, mitocondrias, etcétera, están rodeados de dos unidades de membrana.

Estructura de la unidad de membrana

Si bien no existe certeza absoluta acerca de su constitución, se han propuesto dos modelos básicos: 1) el modelo de Danielli o de la doble capa, y 2) el modelo de las subunidades. Según el primer modelo, la membrana tendría un espesor de 7,5 a 10 nm y estaría formada por dos capas de moléculas de fosfolípidos enfrentadas por sus grupos hidrofóbicos no polares. Los grupos polares, en posición opuesta, formarían dos superficies, una interna y otra externa, recubiertas de moléculas proteicas con sus grupos hidrofóbicos orientados hacia la capa lipídica. Algunos autores han encontrado macromoléculas de carbohidratos en la cara externa de la membrana. Esta disposición molecular le otorgaría la asimetría estructural (fig. 5). También se ha postulado la presencia de poros "fisiológicos", no estructurales, que le darían a la membrana una estructura dinámica y no estática. Esto significa que las propiedades se modificarían en forma constante de acuerdo

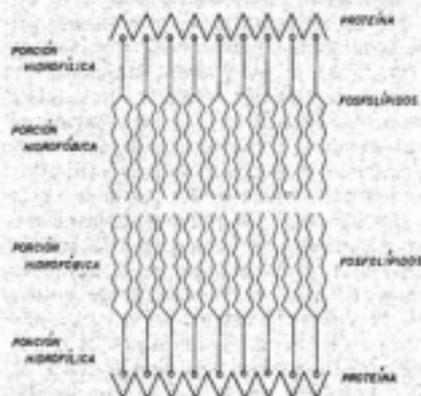


Figura 5. Estructura molecular de la unidad de membrana.

con el metabolismo celular y los factores externos. Este concepto explicaría, en ciertos casos, el pasaje de macromoléculas que una disposición estática no permitiría.

Singer y Nicolson consideran que la membrana está constituida de fosfolípidos y proteínas, como la concibe Danielli, pero con una estructura más fluida. Según estos investigadores, las moléculas lipídicas estarían dotadas de movimiento. Estas podrían desplazarse lateralmente en el plano de la bicapa o transversalmente a ella, y pasar así de una cara a la otra. Además, podrían rotar sobre sus ejes. Por otro lado, las proteínas estarían incluidas en el seno de la membrana en grupos dispuestos al azar y rodeados de lípidos inmóviles. Su ubicación cambiaría continuamente, pudiendo emerger sobre las superficies de la membrana.

Esta estructura poseería una consistencia de gel cristalino que a temperaturas elevadas, se transformaría en líquido-cristalina. No se descarta que a temperaturas normales se encuentren presentes lípidos en estados de gel y líquido-cristalino.

El modelo de las subunidades considera que la membrana está integrada por una agrupación de cuboides dispuestos en un solo plano. Cada unidad tendría dos caras constituidas de fosfolípidos y, las otras cuatro, de naturaleza proteica. Los cuboides se unirían entre sí por medio de las 4 caras de proteínas, formando dos superficies lipídicas, una interna y otra externa. Sobre la base de este modelo se han confeccionado otros, uno de los cuales presenta las moléculas proteicas en forma helicoidal formando dos capas. Entre ambas capas existirían conexiones, a manera de microtubos, a través de los cuales se produciría el pasaje de las sustancias.

Propiedad de las membranas

Las membranas son elásticas y extensibles, pero la propiedad más impor-

tante desde el punto de vista funcional es la *permeabilidad*. A ésta se la define como la intensidad con que las sustancias pasan a través de aquélla.

Cuando se trata de un elemento o compuesto en particular se usa el término *flujo*, que indica la cantidad de ese compuesto que pasa a través de la membrana en un tiempo determinado por unidad de área. Por lo general, se mide por la velocidad de pasaje de las sustancias radiactivas.

Las membranas no permiten el paso de cualquier sustancia; además, el flujo de aquellas que lo hacen no se efectúa con igual intensidad, sino que ella depende de su composición química. En otras palabras, las membranas poseen la propiedad de seleccionar las sustancias que pasan, es decir que poseen *permeabilidad selectiva*. De esta propiedad depende la vida de la célula, dado que la membrana es el sitio donde se controla la entrada y salida de las sustancias. Cuando la célula muere, esta propiedad desaparece y es el criterio más definitivo de su muerte. Por lo que antecede, la membrana actúa como barrera impidiendo el pasaje de ciertos metabolitos, pero facilitando el de otros, a los que "impulsa" con consumo de energía hacia el interior de la célula. Si se tiene en cuenta que las estructuras subcelulares constituyen subsistemas diferenciados envueltos en su mayoría por unidades de membrana, se pueden concebir estos sitios (mitocondrias, cloroplastos, vacuolas, etcétera) como *compartimientos físicos* donde las reacciones bioquímicas se realizan sin interferencias de metabolitos de otros sitios. La *compartimentalización* celular es una manera de regular el metabolismo, carácter propio de los organismos más evolucionados.

Plasmodesmos

Las células que componen los distintos tejidos se hallan interconectadas por delgados hilos de citoplasma, rodeados de plasmalemma, que atraviesan las pa-

redes por conductos de aproximadamente 25-80 nm de diámetro. El número de plasmodesmos que une a un protoplasto con otro varía entre 1.000 y 100.000. Según las células, esta cantidad representa la existencia de 60 a 6.000 por $100 \mu\text{m}^2$ de pared.

No existen conexiones entre las células del endosperma, ni tampoco entre las células nucelares y el megagametofito del maíz; tampoco entre las células esporogénicas (células madres del polen) y las células del tapete.

El proceso de formación de los plasmodesmos se inicia con la génesis de la pared primaria y persiste durante la de la pared secundaria. Se pueden encontrar plasmodesmos ramificados que se originan de plasmodesmos simples.

A medida que la célula crece, el número por unidad de área disminuye, lo que indicaría que no ocurre una formación secundaria de conexiones. Se presenta, no obstante, formación secundaria de plasmodesmos en las células de los tejidos injertados y entre las de las plantas parásitas y su huésped. La distribución en una misma célula puede ser diferente. Por ejemplo, los tubos cribosos sólo están conectados a sus células acompañantes y no a los otros tejidos que las rodean.

Los plasmodesmos se presentan en grupos, en áreas de la pared que en una vista desde el interior de la célula aparecen deprimidas (campos primarios de puntuaciones) debido a que el crecimiento en espesor ha continuado sólo alrededor de esas áreas y no en el centro. Algunos autores distinguen plasmodesmos de diámetro grande (200 nm) —a los que llaman *macroplasmodesmos*— y otros de diámetro menor (25 nm) —a los cuales denominan *microplasmodesmos*. La existencia de plasmodesmos determina un *continuum* de protoplasma (simplasma) en el cual se realiza el traslado de sustancias y de estímulos. Es lógico que en células con paredes primarias muy delgadas, el pasaje de materiales entre los protoplastos puede realizarse a través de la pared; pero en

aquéllas con estructura secundaria, la única vía son los plasmodesmos.

Ectodesmos

En las células epidérmicas expuestas a la atmósfera, la pared externa posee ectodesmos, en lugar de plasmodesmos. Estos son poros diminutos, llenos de una sustancia fuertemente reductora, que quedan cubiertos por la cutícula. Su cantidad varía durante el día y se considera que no son prolongaciones del protoplasto, si bien a través de ellos es posible la conexión entre éste y el medio externo. Así se torna posible que las sustancias depositadas sobre las hojas (fertilizantes, reguladores del crecimiento, etcétera) se incorporen a la planta por esta vía.

Retículo endoplásmico (RE)

Esta parte del subsistema diferenciado del protoplasto es visible en célula vivas por medio de la microscopía de contraste de fases. Con el microscopio electrónico aparece, en perfil, como dos líneas oscuras de 8 nm de espesor, separadas por una línea clara de 15 - 20 nm de grosor. De acuerdo con la estructura de la membrana, consistiría en una doble unidad de membrana que separa un espacio de ancho variable. Este espacio interior, que estaría lleno de un fluido acuoso (*enquilema*), puede ampliarse hasta formar vesículas o bolsas. El RE es continuo a través de toda la célula y está conectado con la *envoltura nuclear* (EN). Es por ello que el RE y la EN deben considerarse como partes de un mismo subsistema. En algunos sectores del RE, la superficie externa se encuentra cubierta por ribosomas; entonces el RE recibe el nombre de "rugoso", mientras que se llama "liso" cuando estos últimos no se hallan adheridos. Si bien en algunas células puede existir uno u otro tipo de RE en ciertos casos se observan ambos. Tanto las condiciones externas como la edad y función de

las células influyen sobre la cantidad de RE presente en éstas. Las células en reposo presentan poco RE, así como las maduras. Por otro lado, en algunos casos se ha observado que en las células que sufren algún daño se produce un aumento instantáneo de la cantidad de RE.

Aparato o cuerpo de Golgi

Si bien se negó su existencia en las células vegetales hasta hace pocos años, el advenimiento del microscopio electrónico y el uso del contraste de fases en el microscopio óptico reveló su presencia en ellas. Para algunos autores, el aparato de Golgi de las células vegetales consiste en un sistema de *dictiosomas* que se hallan dispersos en el citoplasma y llegan a varios miles por célula. Cada dictiosoma consiste en un número escaso (2-20) de cisternas formadas por dobles unidades de membrana que ocupan la parte central, mientras que hacia su periferia se extienden proliferaciones tubulares. Estos *túbulos* se anastomosan y dan al conjunto un aspecto reticulado; además, sus extremos se constriñen hasta que se desprenden como vesículas. Los dictiosomas se desplazan lentamente por el citoplasma, como pueden hacerlo las vesículas. Tanto el número de los dictiosomas, como el de las vesículas, varía con la actividad celular.

No existe seguridad acerca de su origen, aunque algunos autores piensan que se forman a partir del RE. Su función está relacionada con la secreción de polisacáridos durante la formación de las paredes celulares y estructuras extracelulares. El proceso de formación de la pared celular nueva se inicia por la deposición, en el plano ecuatorial, de numerosas vesículas desprendidas de los dictiosomas. Otra posible función sería la de secreción de sustancias en las células glandulares de las plantas carnívoras.

Microtúbulos

Estos orgánulos, de presencia universal en las células animales y vegetales,

son tubos de 20 a 30 nm de diámetro y que pueden alcanzar a varios micrones de longitud. En un corte transversal se observa que la pared de los tubos está compuesta por un cierto número de subunidades más o menos circulares.

Su número y distribución dentro de la célula es variable: en la interfase se los encuentra ubicados en forma paralela y próximos a la plasmalemma; durante la mitosis se han hallado microtúbulos similares en la zona del huso, situados entre los cromosomas. Asimismo, se nota una concentración de ellos donde se formará la placa celular, sobre la que comenzará a depositarse la nueva pared celular, pero no se los halla en la periferia de la célula. Para algunos autores, la función de los microtúbulos está relacionada directamente con la formación de la pared celular, posiblemente para canalizar las vesículas desprendidas de los dictiosomas. Una evidencia de esto surge de la disposición diferente que toman en las células que alcanzan un crecimiento rápido, en las cuales se disponen al azar, con respecto a aquellas que sufren engrosamiento secundario de las paredes. En éstas se ubican en forma espiralada o en anillos paralelos.

SUBSISTEMA DIFERENCIADO DISCONTINUO. ORGANULOS

NUCLEO

Con excepción de las bacterias y las algas verde azuladas, todas las demás células vegetales de contenido protoplasmático cuentan con núcleo. Los elementos del tubo criboso lo poseen en las primeras etapas de su diferenciación y luego desaparece.

Este orgánulo está especializado en el almacenamiento y la reproducción exacta de la información genética de la célula.

Desde el punto de vista morfológico y funcional se distingue el *núcleo en interfase* o fase metabólica, del *núcleo*

de la célula en división (mitosis y meiosis). En el primer caso se observan distintos constituyentes nucleares: la *envoltura nuclear* (EN), uno o más *nucleolos* y la *sustancia nuclear fundamental*, en la que se observan algunas regiones heterocromáticas que corresponden a porciones de cromosomas, o a cromosomas enteros cuando éstos se hacen visibles en el núcleo en división. El comienzo de esta etapa se manifiesta por la aparición de las fibras del huso y luego por la desaparición de la envoltura nuclear y los nucleolos.

La envoltura nuclear (EN) es una vesícula laminar, formada por dos unidades de membranas, que separa al orgánulo del citoplasma. Posee numerosos poros en los cuales se unen ambas membranas. La EN se halla comunicada con el retículo endoplasmático (RE), por lo cual se forma un espacio libre constituido por el volumen perinuclear —limitado por las dos unidades de membranas de la EN— y el espacio lleno de líquido del RE. Numerosas observaciones prueban que el RE es originado por la EN durante la interfase. La EN se forma por la fusión de vesículas redondeadas y achatadas limitadas por membranas, en ambos polos del huso mitótico.

Los nucleolos son orgánulos relativamente grandes, cuya verdadera función aún se desconoce. Las células somáticas suelen poseer uno por cada conjunto haploide de cromosomas, aunque, en muchos casos, los dos que corresponden a una célula diploide pueden llegar a fusionarse. Se forman durante la telofase en una región definida de un cromosoma, la que se denomina *organizadora nucleolar*. No están limitados por membranas, aunque con el microscopio siempre se manifiestan en forma muy definida. Observados con el microscopio electrónico puede verse que no son homogéneos y que se dividen en dos partes: 1) el *nucleolonema*, granular y filamentososo, y 2) la *parte amorfa*, que es filamentososa, sin gránulos. Tanto las fibrillas como los gránulos contienen ARN

y proteínas y en ambas partes se observan vacuolas. Recientemente, se ha comprobado que el nucleolo posee ADN, habiéndose determinado un contenido del 17% en nucleolos de maíz y arvejas. Se considera que dicho ADN actuaría como iniciador ("primer") de la síntesis de ARN.

En la *sustancia nuclear fundamental* del núcleo en interfase hay ADN, proteínas, lípidos y ARN. El primero corresponde al que se condensará para formar los cromosomas durante la mitosis. Entre las proteínas existe una clase —*histonas*— que siempre se encuentra unida a los cromosomas. Generalmente la cantidad de ADN e histonas por núcleo es constante para cada especie, pero la cantidad se duplica al iniciarse la mitosis. A esta clase de proteínas se le ha atribuido una función importante en el control de la expresión génica. El resto de las proteínas, la *porción no histona*, constituye el grueso de la materia seca del núcleo y puede llegar al 70% de las proteínas vinculadas a los cromosomas, así como numerosas enzimas, como la ADN — polimerasa, al ARN — polimerasa, etcétera.

La formación del huso es el primer indicio de que se inicia la división celular, sea ésta mitosis o meiosis. Las fibras que forman el huso están constituidas por proteínas y una pequeña cantidad de ARN, y la gran birrefringencia que muestran, indica que las proteínas se encuentran polarizadas. Estas fibras aparecen formadas por microtúbulos similares a los existentes en el citoplasma.

Los cromosomas se hacen visibles en el núcleo en división, sobre todo durante la metafase y la anafase. Esto se debe a que, en dichas fases, las espirales que los forman alcanzan su máxima contracción. Durante la profase, los cromosomas pueden adquirir ARN y fosfolípidos, lo cual puede ser la causa de las diferencias en la "espiralización". Los cromosomas contienen casi todo el ADN del núcleo en división, así como proteínas básicas (histonas), unidas en

la forma de nucleoproteínas. No existen dudas, en la actualidad de que la información genética se encuentra codificada en la secuencia de las bases a lo largo de las espirales de las moléculas de ADN. (Véase cap. V).

Se puede considerar que los cromosomas están constituidos por cuatro partes: *centrómeros*, *euromatina*, *heterocromatina* y *organizador nucleolar*. El *centrómero* (constricción primaria o cinetocoro) es la región responsable del movimiento de los cromosomas en anafase. Puede haber más de uno, y la forma del cromosoma, ya sea como una barra o con dos brazos iguales o desiguales, depende de la ubicación del *centrómero*. La *euromatina*, que forma la mayor parte de los cromosomas y que se considera que incluye a la mayoría de los genes activos, difiere de la *heterocromatina* en el grado de espiralización y condensación. La última permanece condensada durante la interfase, cuando el resto del cromosoma se estira y se hace difuso y constituye los *chromocentros*. El *organizador nucleolar* es una *constricción secundaria* donde se organiza el nucleolo; generalmente se halla solamente en un cromosoma de cada juego haploide.

El núcleo cumple dos funciones muy importantes: 1) la duplicación del ADN y de los cromosomas; y 2) la regulación de la síntesis de proteínas. Respecto de la primera es responsable de asegurar que todas las células del individuo posean la misma información genética y que ella pase de una generación a otra. En cuanto a la otra función, el núcleo controla la diferenciación de la célula, ya que el ADN sirve de molde para la síntesis de las distintas formas de ARN, las que a su vez dirigen la formación de las proteínas.

VACUOLA

La célula vegetal posee una o varias vesículas envueltas por una unidad de membrana llamada *tonoplasto*. Estos

compartimientos contienen diversas sustancias disueltas, en estado coloidal, en emulsión o en forma de cristales insolubles. Las vacuolas de algunas algas cianofíceas contienen gases.

Las células meristemáticas, inmediatamente después de la mitosis, carecen de vacuolas. A medida que la célula crece aparecen numerosas vacuolas pequeñas que ocupan un volumen reducido del protoplasma, pero más tarde coalescen y forman una sola vacuola que puede ocupar el 90% de éste. Es común, en este caso, que hebras finas de citoplasma atraviesen la vacuola y comuniquen diversas partes del citoplasma, el cual queda reducido a una delgada capa contra la pared.

Al contenido de la vacuola se lo denomina *jugo celular* y está constituido por ácidos orgánicos, sales, azúcares, pigmentos, taninos, gotas de lípidos, cristales de diversas sustancias, granos de aleurona, etcétera. La vacuola se considera un compartimiento donde se acumulan reservas y donde se excretan sustancias no necesarias en el metabolismo.

El tonoplasto está constituido por una unidad de membrana. Posee, por lo tanto, una estructura y propiedades similares a la plasmalemma, aunque mecánicamente es más resistente. Debido a la permeabilidad selectiva del tonoplasto y de la plasmalemma, y a las sustancias osmóticamente activas de las vacuolas, la célula funciona como un osmómetro. En un medio externo con un potencial agua alto, la presión que el jugo celular ejerce sobre el tonoplasto se transmite a la fina capa de protoplasma y a la plasmalemma que lo rodea, distendiendo la pared y contribuyendo así a dar rigidez a los tejidos. En células jóvenes, con vacuolas muy pequeñas, la plasmalemma desempeña esta función y las propiedades osmóticas están dadas por los solutos del citoplasma.

En las células de algunos tejidos muy especializados, como los tubos cribosos, la vacuola carece de tonoplasto y no existe ningún límite entre el citoplasma periférico y el jugo celular. Puede consi-

derarse que estas células contienen un protoplasto sumamente diluido, carente de vacuolas.

Es interesante señalar que, en algunas algas unicelulares, existen vacuolas contractiles que se expanden por absorción de agua y luego la expelen por un mecanismo poco conocido, lo cual produce su contracción.

PLASTIDOS

Con este nombre se designan diferentes clases de orgánulos que tienen evidentes relaciones entre sí. No existen en las células animales y se considera que los distintos tipos derivan de los *proplástidos* no visibles con el microscopio óptico, que se encuentran en células embrionarias y meristemáticas.

Los plástidos maduros pueden clasificarse, según su contenido, en: a) cloroplastos; b) amiloplastos; c) cromoplastos; d) proteinoplastos; e) elaioplastos y etioplastos.

Cloroplastos

Los cloroplastos son orgánulos característicos de las células vegetales, en donde se realizan los procesos de fotosíntesis. Son cuerpos en forma de discos biconvexos de 5-10 μm de diámetro por 3-4 μm de espesor. En las células poliploides su tamaño es mayor. En ciertas algas tienen forma de cinta espiralada (*Spyrogyra* sp.) o de flauta (desmidiáceas).

Se encuentran en el clorénquima, en las vainas parenquimáticas de los haces vasculares de ciertas especies (maíz, caña de azúcar), en las células oclusivas de los estomas y en otros tejidos. Su número es variable según el tejido, las condiciones ambientales y el momento del día. Se puede estimar que una célula del tejido en empalizada de una dicotiledónea contiene aproximadamente 200 cloroplastos. Sobre esta base se ha calculado que 1 mm^2 de hoja posee

400.000. Por lo general se hallan paralelos a la pared, si bien se mueven continuamente con la corriente citoplasmática, rodeados por el RE.

Están envueltos por una doble membrana de 10 nm de espesor, aunque en las crisofíceas y criptofíceas ésta es cuádruple. En su interior se encuentra un fluido granular —el estroma— y un sistema de sacos membranosos aplanados, de 500 nm de ancho por 16 nm de espesor, a manera de láminas que atraviesan longitudinalmente el cloroplasto de un extremo a otro, llamados *tilacoides*. En diversos sitios los sacos se superponen, en un número variable que oscila entre 15 y 60, en forma de discos apilados llamados *grana*. Un cloroplasto contiene un promedio de 50, pero el parénquima que rodea al xilema y floema de las hojas de muchas especies (caña de azúcar, sorgo, maíz, etcétera) carece de grana.

El conjunto de tilacoides, estroma y grana conforma un sistema continuo de cisternas interconectadas por canales dispuestos en las tres dimensiones del espacio.

El estroma contiene las enzimas que catalizan las reacciones "oscuras" de la fotosíntesis (ciclo de Calvin y/o de Hatch y Slack), y los tilacoides las clorofilas que absorben y transforman la energía luminosa.

En ciertas especies se ha hallado en las membranas de los grana partículas cilíndricas de 20 nm de diámetro por 10 nm de longitud, a las que se ha denominado *cuantosomas*. Estos se hallan constituidos principalmente por agrupamientos de moléculas de clorofila que se consideran unidades funcionales en el proceso fotosintético (unidades fotosintéticas).

Las sustancias contenidas en los cloroplastos se indican a continuación:

clorofila a + b	5 a 10 %
proteínas estructurales	32 %
proteínas del estroma	20 %

carotenoides (carotenos + xantófilas)	2 a 4 %
lípidos	22 %
ADN	0,02 %
ARN	1 %
sales (K, Mg, Fe, Co)	8 a 10 %
azúcares	variable
almidón	"

Los cloroplastos de las células ocultas poseen un sistema de láminas poco desarrollado, por lo general sin grana, y el porcentaje de clorofila es bajo. Lo mismo sucede en las plantas que crecen a la sombra. Los estomas que no poseen clorofila en los plástidos no se abren en presencia de luz.

El volumen ocupado por los cloroplastos en una célula es muy grande y puede constituir la mitad del citoplasma.

Los cloroplastos contienen diversos pigmentos que se agrupan en clorofilas y carotenoides. Entre las primeras, las clorofilas *a* y *b* son las más abundantes. La concentración de clorofila de la hoja es variable según diversos factores, aunque 1,5 mg g⁻¹ de peso fresco es el valor promedio. La clorofila *a* triplica en cantidad a la *b*. La clorofila se encuentra unida a proteínas formando complejos. El complejo I posee una alta concentración de clorofila *a* y forma parte del fotosistema I; y el complejo II, más rico en clorofila *b* integra el fotosistema II (véase fotosíntesis).

Además de clorofila, los cloroplastos de las plantas superiores contienen los carotenoides caroteno y xantofila, pigmentos éstos de color variable desde el amarillo al rojo, que son hidrocarburos que derivan del isopreno. El ADN del cloroplasto es diferente por la composición de sus bases al del núcleo y se presenta en forma de fibras, de manera muy similar al nucleoplasma de las bacterias y cianófitas. (En estos organismos no existe un núcleo bien diferenciado rodeado de membranas.)

La presencia de ADN en los cloroplastos confirma la autorreproducción de estos orgánulos y su parcial independencia del resto de la célula. El cloro-

plasto contiene ribosomas y, por lo tanto, ARN (véase ribosomas, pág. 37), y posee el mecanismo metabólico para la síntesis proteica.

Cromoplastos

Estos plástidos, que contienen los pigmentos carotenoides cuyo representante característico es el β -caroteno, son los responsables de los colores amarillo al rojo que se observan en muchos órganos vegetales. Se originan a partir de cloroplastos o amiloplastos y esta transición puede observarse en aquellos órganos que, como los pétalos o frutos, cambian de color. La acumulación de pigmentos, así como de lípidos, llega a ocasionar la ruptura de la estructura laminar; algunas veces, los carotenoides aparecen en forma cristalina.

Amiloplastos

Son plástidos especializados en la acumulación de granos de almidón, y abundan en las células parenquimáticas de la mayoría de los órganos no fotosintetizantes. Algunas veces, la acumulación de almidón ocurre en los cloroplastos como resultado de la actividad fotosintética y probablemente constituye una reserva temporaria. Sin embargo, los amiloplastos de los órganos subterráneos de reserva son capaces de sintetizar almidón en la oscuridad y pueden llegar a colorearse de verde si se los expone a la luz, y a diferenciar grana como en los cloroplastos.

El número y la forma de los granos de almidón, dentro de cada amiloplasto, varía según la especie y el tejido. Estos granos de almidón llegan a distender la envoltura del plástido en forma tal que parecen no estar recubiertos por una membrana; sin embargo, en todos los casos, se formaron dentro de un plástido.

Muchas algas contienen el almidón en compartimientos especiales del cloroplasto llamados *pirenoides*.

Proteinoplástidos

Son plástidos que contienen cristales de proteínas. En su estructura se observan algunos tilacoides muy poco desarrollados que no forman grana. En los cotiledones de ciertas especies (*Phaseolus* sp.) están asociados al RE rugoso y a los ribosomas libres. En algunos casos se han encontrado ribosomas en su interior.

Los proteinoplástidos son considerados orgánulos donde se almacena proteína como reserva.

Etioplástidos

Son plástidos que se originan de cloroplastos transformados, en los cuales desaparece la estructura laminar y todo el orgánulo se llena de aceite.

Etioplástidos

Son proplástidos de plantas ahiladas que, debido a la falta de luz, no presentan tilacoides sino un gran número de vesículas que, por fusión, forman un conjunto de tubos denominado *cuerpo prolaminar*. Cuando las plantas son iluminadas este cuerpo se transforma en tilacoides.

En estos plástidos —que poseen un estado avanzado de evolución estructural y bioquímica hacia la diferenciación de cloroplastos— la protocloroflida y cloroflida se encuentran formando complejos con las proteínas, que se llaman protocloroflida holocromo y cloroflida holocromo respectivamente.

Cuando las plantas se iluminan, el cuerpo prolaminar se transforma en tilacoides y la protocloroflida se reduce a cloroflida la cual, esterificada con el fitol, origina la clorofila. Si las plantas expuestas a la luz se colocan nuevamente en la oscuridad reaparece el cuerpo prolaminar en el término de 2 a 6 horas, pero los tilacoides previamente formados se con-

servan intactos, coexistiendo así ambas estructuras.

MITOCONDRIAS

Son pequeños orgánulos que se hallan en el citoplasma de las células vegetales y animales. Las bacterias y ciertas algas carecen de ellas, así como las levaduras cultivadas en anaerobiosis. En los dos primeros tipos de organismos inferiores, ciertas partes del citoplasma, no delimitadas por ninguna membrana, desempeñan la función de las mitocondrias. En las levaduras, esa función la desempeña la membrana plasmática.

Las mitocondrias no tienen forma ni tamaño definidos, sino que, dotadas de movilidad propia o llevadas por las corrientes citoplasmáticas, se estiran, se curvan, se hinchan o se contraen, y a menudo se adhieren a otros orgánulos, como por ejemplo los cloroplastos. Las mitocondrias aparecen en el microscopio de contraste de fases como partículas cilíndricas de $3\mu\text{m}$ de diámetro. Su número es variable según el tipo y edad de la célula. En las células jóvenes existen aproximadamente 300, cantidad que aumenta gradualmente con la edad, hasta llegar a más de 3.000 en la célula madura. Algunas algas (*Micromonas* sp) poseen una sola mitocondria. Las mitocondrias poseen dos unidades de membrana. La interna se invagina y forma crestas planas o tubulares en el espacio interior, el cual se halla lleno de un fluido llamado *matriz*. Esta estructura permite el desarrollo de una superficie muy grande de membranas. Una célula que contenga 1.000 mitocondrias de $3,5\mu\text{m}$ de largo x $1\mu\text{m}$ de diámetro expone una superficie interna de $16.000\mu\text{m}^2$. Tanto la membrana externa como la interna poseen permeabilidad selectiva, aunque pueden pasar al espacio perimitocondrial moléculas grandes. La membrana interna invaginada contiene gránulos esféricos, adheridos a ella por un corto pedicelo, llamados *oxisomas*.

Su función está relacionada con la

conversión de la energía en la fase oxidativa de la respiración. En su interior se hallan las enzimas del ciclo de Krebs y las que corresponden a la cadena de transferencia de electrones y a la fosforilación oxidativa acoplada a ella. Asimismo, se han determinado las enzimas necesarias para la oxidación de los ácidos grasos y las triosas.

RIBOSOMAS

Estos orgánulos, por cuyas dimensiones son completamente invisibles con el microscopio óptico, son de aspecto aproximadamente esférico, de 15-25 nm de diámetro. Se los considera constituido por dos subunidades de dimensiones variables, formadas de proteínas y ARN en partes iguales. En las células de las plantas superiores, su número puede alcanzar el medio millón. Los ribosomas se encuentran en el RE rugoso, en la envoltura nuclear y en el interior de otros orgánulos celulares (nucleolos, cloroplastos, mitocondrias, etcétera). También se los observa, libres, en el citoplasma. En ambos casos pueden agruparse en forma de rosetas, espirales o círculos, siguiendo un eje común. Tales grupos reciben el nombre de *polisomas* o *polirribosomas*, y se considera que la unión se efectúa por una hebra de ARN mensajero. Acerca de su origen, algunos autores consideran que éste se encuentra en el nucleolo y que luego migran al citoplasma.

Su función está vinculada con la síntesis de proteínas, y la unidad funcional de esta síntesis es el *polisoma*.

ESFEROSOMAS

Son orgánulos esféricos, limitados por una unidad de membrana, cuyo diámetro oscila entre 0,5 y 1,0 nm. En el microscopio de campo oscuro se los distingue fácilmente por su alta refractividad, la que es debida a su contenido de aceites. Además contienen proteínas, lo cual les confiere una apariencia granular.

Se los considera originados por la acumulación de lípidos en el extremo de una porción de RE, el cual luego se contrae y se desprende como una vesícula aislada. Es posible que su papel en el metabolismo celular esté vinculado con la síntesis de lípidos, aunque no existen pruebas concretas.

LISOSOMAS

Se llama así a unos orgánulos de dimensiones semejantes a los esferosomas, limitados por una unidad de membrana. En su interior se encuentra un estroma granular denso que algunas veces tiene una vacuola. Constituyen verdaderas "bolsas" de enzimas hidrolíticas entre las que se han determinado las siguientes: fosfatasa ácida, ribonucleasa, desoxirribonucleasa, proteasa, β -glucuronidasa, y β -galactosidasa. Dentro del orgánulo, estas enzimas no presentan actividad alguna, lo cual demuestra que estos agentes degradativos son controlados dentro de la célula.

Si bien su función en el metabolismo celular se conoce por los estudios con células animales, no hay dudas de que en las vegetales debe ser similar, pues en numerosos casos es necesaria la presencia de enzimas hidrolíticas en el lugar y tiempo exactos. A esto responden los procesos de desaparición de las paredes transversales durante la diferenciación de los vasos xilemáticos, de la degradación del citoplasma en los tubos lactíferos, y los de abscisión de las hojas, los frutos, etcétera.

LOMASOMAS

Son orgánulos de aspecto tubular y de contenido denso, limitados por una unidad de membrana. Se los halla asociados a la interfase plasmalemma-pared celular, por lo cual se considera que tienen relación con la síntesis de esta última juntamente con los microtúbulos.

MICROCUERPOS (glioxisomas y peroxisomas)

Con este nombre se designa a unos orgánulos de aspecto morfológico similar, pero que tienen una distribución tisular diferente así como complejos enzimáticos distintos. En consecuencia, su función bioquímica es diferente.

Si bien pueden presentar formas variadas, por lo general se trata de cuerpos redondeados, con un diámetro de 0,2 a 1,5 μm , limitados por una membrana simple y con un contenido granuloso en el cual puede aparecer una inclusión cristalina. Los glioxisomas se hallan en las plántulas y cotiledones de semillas que tienen lípidos como sustancias de reserva, y desaparecen una vez que los cotiledones adquieren color verde para aparecer entonces, los peroxisomas. Estos últimos se han hallado en las células de todas las especies investigadas que poseen cloroplastos. En la mayoría de los casos observados, ambos tipos de microcuerpos aparecen adosados a otros orgánulos o contenidos celulares: los peroxisomas a los cloroplastos, y los glioxisomas a los cuerpos lipídicos. Estas asociaciones están en relación con las funciones metabólicas de estos orgánulos. En los peroxisomas se cumple la conversión de compuestos no fosforilados de la fotosíntesis, en especial del ácido glicólico, en ciertas sustancias como glicina, serina, malato, oxalacetato, etcétera. Como se verá más adelante, se encuentran vinculados con el proceso de la *fotorrespiración*. Por otro lado, en los glioxisomas se han hallado las enzimas necesarias para la β -oxidación de los ácidos grasos y las del ciclo de ácido glioxílico.

SUSTANCIAS ERGASTICAS

Se trata de sustancias formadas como resultado de la actividad metabólica de las células que, en algunos casos, pueden ser productos de desecho, mientras que en otros se trataría de material de reserva. Dentro del primer caso se con-

tarían los cristales, sobre todo de Ca (oxalato o carbonato) y de Si. Estos depósitos cristalinos se encuentran en las vacuolas y pueden tomar formas características: *ráfides*, *drusas*, *rosetas*, etcétera; los cistolitos son depósitos de carbonato de calcio que permanecen unidos por un pedicelo a la pared de una célula especializada, el *litocisto*. Los cristales de Si son comunes como impregnaciones de las paredes celulares en las hojas de muchas gramíneas, aunque pueden aparecer como depósitos amorfos, del tipo ópalo.

En las vacuolas del endosperma de muchas semillas pueden acumularse proteínas como sustancias de reserva. Algunas veces esto ocurre en un tejido específico, como es la *capa aleuronifera* en los cereales. La aleurona es una mezcla de formas amorfas y cristaloides de proteínas. Una función muy importante de esta capa de aleurona es la producción de enzimas hidrolíticas durante la germinación, la que es estimulada por la acción de hormonas (*giberelinas*) sintetizadas en el embrión.

En muchas células aisladas, o formando parte de ciertos tejidos en frutos y semillas, se hallan depósitos de grasas y aceites. Estos pueden ser materiales de reserva dispersos, como sólidos o líquidos, en el citoplasma. Ambos tipos de lípidos pueden ser formados por los *elaioplastos* o los *esferosomas*. En otros casos, pueden hallarse depósitos de aceites esenciales o volátiles en tejidos especializados.

CELULA PROCARIOTICA

Posee una pared externa gelatinosa, de naturaleza péctica, y otra interna rígida constituida por celulosa. Carece de vacuolas y de cicloclis y los orgánulos no están envueltos por membranas. El núcleo es una condensación de una masa fibrilar carente de envoltura, constituida por cadenas simples de ADN sin

diferenciación de cromosomas. No posee cloroplastos y la absorción de la luz en los organismos fotosintéticos se realiza en la periferia del citoplasma, donde se sitúan los pigmentos (clorofila a, carotenos, xantofilas, ficocianina, ficoeritrina, bacterioclorofila, etcétera). Tampoco contiene mitocondrias y los procesos de fermentación se realizan en el citoplasma. En las especies aerobias, los sistemas enzimáticos de la respiración se hallan en condensaciones del protoplasto, pero éstas nunca se encuentran envueltas por membranas.

Generalmente son haploides y, en consecuencia, la división no ocurre por mitosis, sino por separación de dos porciones del núcleo que quedan rodeadas de una parte del citoplasma (amitosis). En la reproducción sexual de las bacterias, se juntan dos células, sin fusionarse, y parte de ADN se transfiere de la célula dadora a la aceptora. Luego, las células se separan. La constitución genética final es el resultado de la combinación de genes provenientes de las dos células, pero siempre permanece activo un solo gene para cada carácter, a diferencia de la cigota de un eucarionte,

que posee por lo menos un par. El aporte de material hereditario es siempre desigual. Se trata de un diploide parcial, y de aquí que a la célula fertilizada se la denomine merocigota.

LECTURAS COMPLEMENTARIAS

- Berkaloff, A., J. Bourguet y P. Guinebault: *Biología y fisiología celular*. Ediciones Omega, Barcelona, España, 1971.
- Clowes, F. A. L. y B. E. Juniper: *Plant Cells*. Blackwell Scientific Publications, Oxford y Edimburgo, 1968.
- Cutter, E. G.: *Plant anatomy. Experiment and interpretation*. Part. I. *Cells and tissues*. Edward Arnold Ltd., Londres, Inglaterra, 1969.
- Frey-Wyssling, A. y K. Mühlethaler: *Ultrastructural plant cytology*. Elsevier Publishing Co., Amsterdam, Holanda, 1965.
- O'Brien, T. P. y M. E. McCully: *Plant structure and development*. The MacMillan Co., Londres, Inglaterra, 1969.

CAPITULO III

ENZIMAS Y MECANISMOS DE REGULACION

H. G. PONTIS

INTRODUCCION

La mayoría de los cambios químicos que ocurren en los seres vivos tendrían lugar por sí mismos tan lentamente que sería difícil su medida o, más aún, sería prácticamente imposible detectarlos. Sin embargo, los seres vivos llevan a cabo una enorme variedad de procesos químicos con una eficiencia no alcanzada aún en el laboratorio. Esta aparente paradoja tiene su respuesta en el hecho de que esos seres poseen numerosos catalizadores que aceleran las reacciones químicas propias de los sistemas biológicos. Estos catalizadores son proteínas que han recibido el nombre de enzimas.

Desde varios puntos de vista, las enzimas son catalizadores excepcionales. Son, primeramente, muy eficientes. En efecto, la mayoría de las reacciones enzimáticas, cuando transcurren en condiciones óptimas, tienen lugar a una velocidad 10^8 a 10^{11} veces mayor que la correspondiente reacción no enzimática. Reacciones que ordinariamente sólo ocurrirían bajo condiciones extremas de temperatura, acidez o alcalinidad, en presencia de enzimas proceden rápida y cuantitativamente a temperatura ambiente, en condiciones cercanas a la neutralidad. Por otra parte, las enzimas son altamente específicas en lo que respecta al tipo de reacción catalizada y al sus-

trato utilizado. La variedad de las reacciones catalizadas por las enzimas es muy grande: reacciones hidrolíticas, polimerizaciones, óxido-reducciones, deshidrataciones, condensaciones aldólicas, para citar algunos ejemplos.

Si bien los factores enumerados son suficientes para distinguir a las enzimas como catalizadores excepcionales, deben mencionarse además otros aspectos que dan mayor énfasis aún a esta distinción. Así, las enzimas mismas están sujetas a una variedad de controles celulares. Su síntesis está bajo control genético y su concentración celular está influida por moléculas tales como las de los mismos sustratos y las de los productos de las reacciones en las cuales ellas participan. Más aún, las enzimas pueden estar presentes en formas inactivas y activas, y existir además, en formas sumamente semejantes pero distintas (isoenzimas).

NATURALEZA DE LA REACCION ENZIMATICA

Antes de entrar a considerar la forma en que las enzimas actúan influyendo en las reacciones que transcurren en los seres vivos, es conveniente considerar cómo un catalizador acelera una reacción química sin alterar el equilibrio final de ésta.

Si se considera la transformación de la sustancia A en la sustancia B:



Para que ocurra esta transformación de A en B en forma espontánea, B debe encontrarse en un nivel energético menor que A. O sea que el pasaje de A a B implica una liberación de energía (fig. 6). Sin embargo, esta diferencia de nivel energético entre A y B no basta para que se produzca la reacción. Sólo aquellas moléculas de A que se encuentran suficientemente activadas pueden reaccionar. La velocidad con que A se convierte en B depende no sólo de su propia concentración, sino del número de moléculas de A que se encuentren suficientemente activadas para reaccionar. Las moléculas de A en solución, por estar continuamente moviéndose y chocando unas con otras, poseen energías diferentes (en la figura 6 se indica esta situación con la distribución del contenido de

energía por molécula). Cuando una de ellas adquiere una energía superior a la crítica, necesaria para reaccionar, lo hace y da origen al producto B. Esta barrera de energía que deben superar las moléculas de A para poder reaccionar y caer en el nivel energético inferior de la sustancia B, se denomina energía de activación. Una manera de lograr que la reacción $A \rightarrow B$ proceda más rápidamente es calentar la mezcla de reacción. El calor absorbido por las moléculas aumenta su energía interna y con ella su capacidad de reaccionar.

La barrera que constituye la energía de activación puede también ser superada por medio de un catalizador. El catalizador disminuye la energía de activación necesaria para la reacción y, de esta manera, permite que una fracción mayor de la población molecular reaccione y que ello suceda a temperatura ambiente, en proporción por unidad de tiempo mucho mayor que la reacción

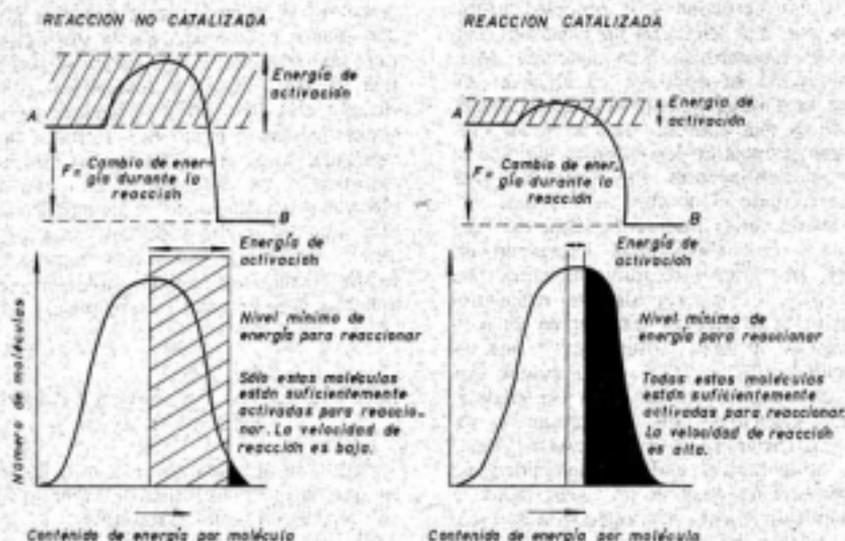


Figura 6. Diagrama ilustrativo de los cambios energéticos que se producen en una reacción en presencia y ausencia del catalizador.

no catalizada (véase fig. 6). El catalizador cumple su función formando un complejo intermediario inestable con el reactante (sustancia A, en el ejemplo usado), el cual se descompone muy rápidamente dando el producto y regenerando el catalizador.

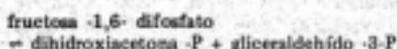
Debe tenerse en cuenta que el catalizador sólo ha permitido a la sustancia A obtener un "paso" a través de la barrera constituida por la energía de activación, pero que en ningún caso provoca un cambio ni modifica los niveles energéticos en los cuales se encuentran las sustancias A y B.

Al considerar la naturaleza de la reacción enzimática debe recordarse que las enzimas son proteínas cuyos pesos moleculares varían desde 10.000 hasta varios millones. O sea que el número de aminoácidos que constituyen la proteína-enzima oscila desde 100 a varios millares. Ahora bien, cuando una enzima cataliza una reacción, se combina en forma transitoria con el sustrato para formar un complejo. Sin embargo, sólo un número muy reducido de los aminoácidos que constituyen las cadenas polipeptídicas de la enzima interacciona con el sustrato. Esta zona de la molécula de la enzima, donde se combina el sustrato, constituye el sitio activo de aquélla. Dada la especificidad de las en-

zimas por sus sustratos debe suponerse un grado bastante elevado de complementación geométrica o espacial entre el sitio activo y el sustrato.

Se supone que la formación del complejo enzima-sustrato provoca una deformación de la molécula de la enzima, la cual a su vez provoca una cierta tensión en la geometría de la molécula sustrato haciéndola susceptible de reaccionar y ser convertida en los productos de la reacción. Estos abandonan el sitio activo de la enzima, con lo cual ésta recupera su conformación inicial. Al mismo tiempo se puede combinar con una segunda molécula de sustrato y repetir el ciclo. La figura 7 representa esquemáticamente este ciclo.

La formación del complejo entre sustrato y enzima ha podido ser demostrada en varios casos. Entre éstos vale la pena señalar los trabajos del grupo de Horecker con la enzima aldolasa que cataliza la reacción



Durante la reacción, la dihidroxiacetona-P se une a través de su grupo carbonilo al grupo amino de la lisina. En este caso se ha podido, inclusive, aislar el compuesto formado después de reducir

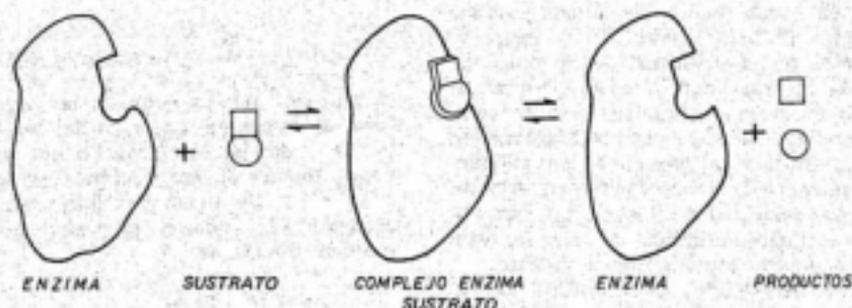


Figura 7. Diagrama que representa la formación del complejo enzima-sustrato y la reacción enzimática.

donde k_1 y k_2 son las constantes de velocidad para la reacción directa e inversa, respectivamente. Cuando el sistema está en equilibrio o sea

$$s(e - p)k_1 = p k_2$$

$$K_m = \frac{k_2}{k_1} = \frac{s(e - p)}{p}$$

donde K_m , la relación de dos constantes, es también otra constante. Simultáneamente es la constante de equilibrio de la reacción (1) y es la denominada constante de Michaelis. La concentración del complejo enzima-sustrato puede expresarse por:

$$p = \frac{es}{K_m + s}$$

Ahora bien, la velocidad de la reacción enzimática v está determinada por la velocidad de descomposición del complejo conforme a la ecuación (2), que está dada por:

$$v = k_3 p$$

donde k_3 es la constante de velocidad para la descomposición de ES. Sustituyendo el valor de p tenemos:

$$v = \frac{k_3 e}{1 + \frac{K_m}{s}}$$

La velocidad máxima V se obtiene cuando la concentración p del complejo ES es máxima. Esto es, cuando toda la enzima se encuentra unida al sustrato, o sea $p = e$. En este caso vale

$$V = k_3 p = k_3 e$$

y reemplazando en la ecuación anterior se obtiene:

$$v = \frac{V}{1 + \frac{K_m}{s}}$$

que es la ecuación de Michaelis-Menten.

Debe notarse que cuando s es igual a K_m , v es igual a $V/2$; o sea que el valor de S , que da la mitad de la velocidad máxima, es igual a K_m .

Como K_m y V son constantes, la ecuación obtenida es la de una hipérbola rectangular, que es la forma de la curva encontrada experimentalmente (fig. 9). Cuando $\frac{V}{v}$ es igual a 2, o sea

cuando la velocidad medida v es la mitad del valor de la velocidad máxima V , entonces K_m es igual a S . Luego, la concentración del sustrato necesaria para alcanzar la mitad de la velocidad máxima es una constante característica de las reacciones catalizadas por enzimas.

La constante K_m , denominada constante de Michaelis, representa también aproximadamente una medida inversa de la afinidad de la enzima por su sustrato (menor K_m , mayor afinidad por el sustrato).

La determinación de las constantes K_m y V es de suma importancia en el estudio de una enzima, y sus valores se obtienen de la medida de v a diferentes valores de S , usualmente en forma gráfica.

Si v se grafica en función de s , se obtiene una hipérbola rectangular como en la figura 9. Este método requiere la utilización de valores de S suficientemente grandes como para alcanzar V , lo cual a veces es difícil. Si en cambio la ecuación de Michaelis-Menten se escribe

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V} \frac{1}{s} + \frac{1}{V}$$

y se grafica $\frac{1}{v}$ en función de $\frac{1}{s}$, se obtiene una línea recta (fig. 10) con una pendiente $\frac{K_m}{V}$ y una ordenada al

origen igual a $\frac{1}{V}$, mientras que la prolongación de la línea recta corta el eje de abscisas en el valor igual a $-\frac{1}{K_m}$.

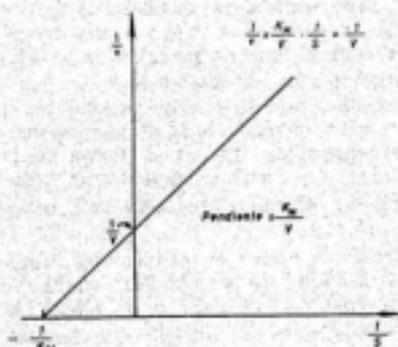


Figura 10. Gráfico de Lineweaver-Burk.

Este procedimiento gráfico fue desarrollado por Lineweaver y Burk y tiene la ventaja importante de no requerir la determinación experimental directa de V .

Experimentalmente, los valores de K_m varían por lo general entre 10^{-3} M y 10^{-9} M para reacciones con un solo sustrato, mientras que en los casos con dos sustratos se han llegado a observar valores tan bajos como 10^{-8} M o 10^{-9} M.

Los dos parámetros cinéticos hasta ahora definidos, V y K_m , son necesarios y suficientes para describir las reacciones enzimáticas siempre que durante su determinación, en el caso de reacciones con más de un sustrato, se mantengan constantes las concentraciones de todos los otros sustratos para los cuales no se mida V y K_m .

b) INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA

En general, un aumento de la temperatura resulta en una aceleración de una reacción química. Las reacciones catalizadas por enzimas no son una excepción a esta regla, pero debido a que las enzimas por su naturaleza proteica son susceptibles de desnaturalización por

calor, cuanto más alta se hace la temperatura, más rápidamente se destruyen sus propiedades catalíticas.

La temperatura óptima se determina por un balance entre el efecto de la temperatura en la velocidad de la reacción enzimática, y su efecto en la velocidad de destrucción de la enzima. Por lo tanto, los valores que se puedan determinar para la temperatura óptima no tienen un significado especial en la caracterización de una enzima.

La velocidad de inactivación de las enzimas en solución aumenta rápidamente con la temperatura. En la mayoría de los casos, la inactivación es prácticamente instantánea con temperaturas de 70°C . El número de enzimas que puede resistir una temperatura de 100°C es extremadamente bajo. La excepción clásica es la adenilatoquinasa, que soporta un calentamiento prolongado a 100°C y a pH 1.

c) INFLUENCIA DEL pH

En general, las enzimas son activas solamente dentro de una cierta región de pH, y en la mayoría de los casos se observa un pH óptimo para la actividad. Un gráfico de la actividad de la enzima en función del pH puede dar una curva tipo campana (fig. 11), o a veces la

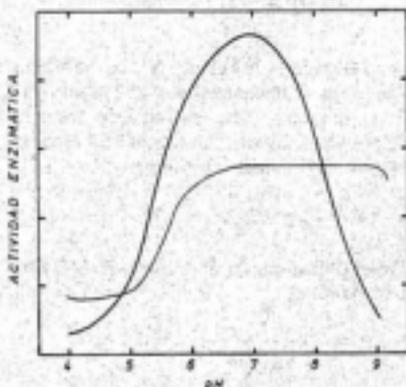


Figura 11. Influencia del pH en la actividad de dos enzimas distintas.

curva puede prácticamente no presentar inflexiones (fig. 11). Los efectos del pH en la actividad de una enzima se deben a la combinación de tres factores: 1) influencia del pH en la estabilidad de la enzima. La mayoría de las enzimas son muy sensibles a extremos de acidez o alcalinidad; 2) efecto en la ionización del sustrato. Algunos deben estar completamente disociados para poder reaccionar; 3) efecto del pH en la unión del sustrato con la enzima. Los grupos polares de la enzima pueden disociarse en función del pH y afectar la unión con el sustrato.

d) INHIBIDORES

Gran número de sustancias inhiben la acción de las enzimas. Se puede, en general, distinguir dos tipos de inhibición. En la primera, denominada competitiva, el inhibidor compite con el sustrato por

la enzima. Se trata, en general, de sustancias de estructura semejante al sustrato cuya acción se manifiesta por una disminución de la velocidad de la reacción, si bien ésta puede ser superada aumentando la concentración del sustrato. El grado de inhibición depende, por lo tanto, de las concentraciones relativas de sustrato e inhibidor. Es frecuente encontrar inhibidores competitivos entre los productos de la reacción catalizada por las enzimas. Así, la glucosa es un inhibidor competitivo de la acción de la invertasa sobre la sacarosa.

Al segundo tipo de inhibición se lo ha denominado no competitivo, y el grado de inactivación de la enzima depende solamente de la concentración del inhibidor. Entre los inhibidores no competitivos se puede citar a los metales pesados como Hg^{2+} y Ag^+ , que actúan sobre varias enzimas, usualmente aquellas que requieren grupos sulfhidri- los para su acción.

Cuadro 1. Coenzimas y sus funciones.

Coenzima	Función
Nicotinamida adenina dinucleótido (NAD)	Deshidrogenación
Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP)	Deshidrogenación
Flavina adenina dinucleótido (FAD)	Deshidrogenación
Flavina mononucleótido (FMN)	Deshidrogenación
Piridoxal fosfato	Reacciones de aminoácidos
Tiamina pirofosfato	Transferencia de aldehído activo
Biotina	Transferencia de dióxido de carbono
8-tetrahidrofólico	Transferencia de grupos formilo, formilimino, formaldehído y metilo
Coenzima A	Reacciones de ácidos carboxílicos
Hemo	Transferencia de oxígeno, reacciones de oxidación y descomposición de peróxidos
Adenosina trifosfato (ATP)	Transferencia de grupos fosfato, de adenilato y de pirofosfatos
Uridina difosfato glucosa (UDP-glucosa)	Interconversiones, isomerizaciones, oxidaciones y síntesis de hidratos de carbono
Guanosina difosfato glucosa (GDP-glucosa)	Algunas interconversiones y síntesis de hidratos de carbono
Adenosina difosfato glucosa (ADP-glucosa)	Síntesis de hidratos de carbono
Citidina difosfato colina	Interconversiones de fosfolípidos

e) COENZIMAS Y GRUPOS PROSTETICOS

Numerosas enzimas requieren la presencia de una sustancia no proteica para el desarrollo de su actividad catalítica. Estas sustancias, de bajo peso molecular en relación con el de la enzima, pueden estar o no unidas más o menos firmemente a la proteína. Según el tipo de esta unión reciben el nombre de grupos prostéticos o de coenzimas, reservándose el primero para aquellas sustancias unidas firmemente a la enzima; pero debe destacarse que la diferencia entre ambos es más bien de forma que de función. De la misma manera, tampoco existe una real diferencia entre sustratos y coenzimas, ya que las segundas tanto como los primeros son alterados estructuralmente durante la reacción enzimática. La distinción estaría, sin embargo, en el hecho de que la estructura original de la coenzima es usualmente regenerada en el curso de otras reacciones, mientras que el sustrato permanece químicamente modificado.

En el cuadro 1 se indican las principales coenzimas y las reacciones en las cuales intervienen.

1) GRUPO CON NICOTINAMIDA Y FLAVINA

Los nucleótidos que contienen nicotinamida fueron las primeras coenzimas que se descubrieron. La primera de ellas se denominó coenzima I y se demostró que estaba formada por un mol de nicotinamida nucleótido y un mol de adenosina monofosfato (fig. 12). Al compuesto se lo denominó inicialmente difosfopiridina nucleotico (DPN), pero por las reglas actuales de la nomenclatura se lo llama nicotinamida adenina dinucleótido, o NAD, en forma abreviada.

La segunda coenzima de este tipo tiene una estructura muy semejante a la primera y se distingue de ésta por tener un tercer fosfato unido a la posición 3' de la ribosa del nucleótido de adenina.

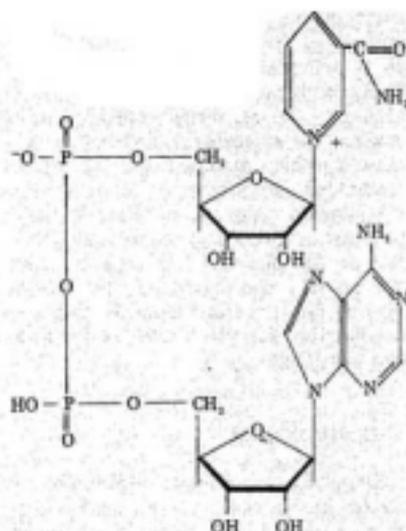
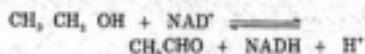


Figura 12. Estructura del nicotinamida adenina dinucleótido (NAD).

Se la denomina nicotinamida adenina dinucleotico fosfato (NADP). Estas dos coenzimas desempeñan un papel fundamental en las reacciones de óxido-reducción que tienen lugar en las células, catalizadas por las enzimas denominadas deshidrogenasas. Una reacción típica es la catalizada por alcohol deshidrogenasa:



Durante la reacción, NAD^+ es reducido y se transforma en NADH , o forma reducida. Esta transformación ocurre porque la nicotinamida tiene la capacidad de aceptar electrones de sustancias capaces de donarlos. En forma semejante, NADP se convierte en NADPH . La mayoría de las deshidrogenasas son altamente específicas para uno u otro de los nucleótidos de nicotinamida. Los nucleótidos reducidos NADH y NADPH son capaces a su vez de ceder electrones a otras sustancias, regenerándose así las formas oxidadas NAD^+ y NADP^+ .

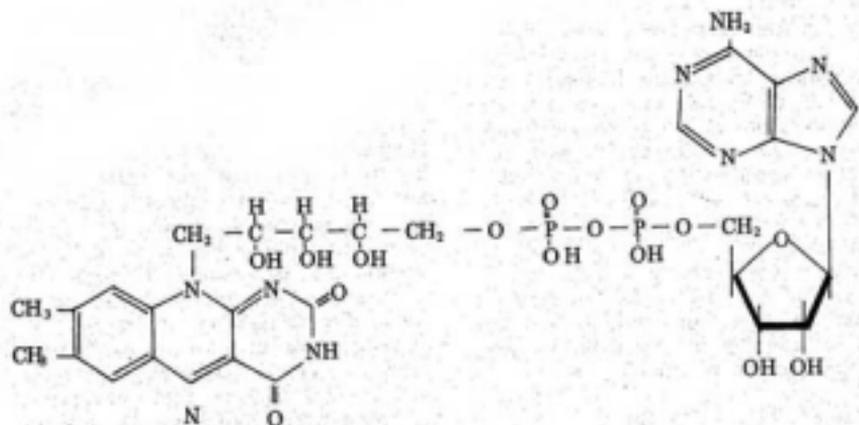


Figura 13. Estructura del flavina adenina dinucleótido (FAD)

Un segundo grupo de coenzimas que interviene en reacciones de óxido-reducción lo constituyen las flavinas, compuestas de color amarillo que se encuentran firmemente unidos a las proteínas. La más común es la flavina adenina dinucleótido, que en forma abreviada es FAD (fig. 13), mientras que la flavina mononucleótido (FMN) se diferencia de la primera por no poseer la parte de adenina.

Las funciones de ambos nucleótidos son similares a las de NAD y NADP, excepto que reaccionan con diferentes

sustancias. Las formas reducidas son, en este caso, $FADH_2$ y $FMNH_2$.

2) COENZIMAS EN REACCIONES DONDE SE TRANSFIEREN UNO O MAS ATOMOS DE CARBONO

Coenzima A. La coenzima A fue identificada inicialmente como un cofactor estable al calor y necesario para realizar acetilaciones biológicas. La estructura (fig. 14) de la coenzima A fue elucidada en los laboratorios de Lipman,

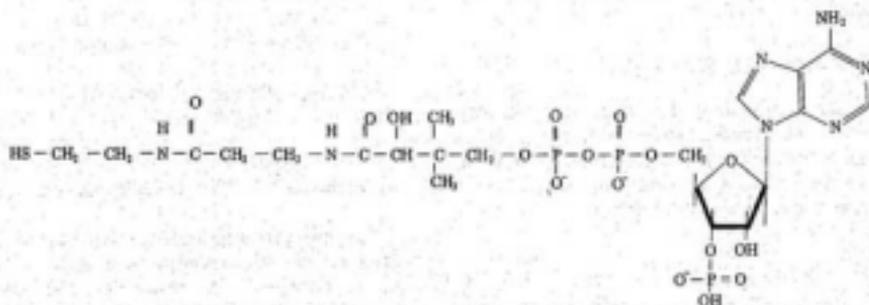
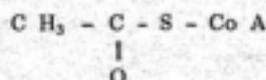


Figura 14. Estructura de la coenzima A.

Snell y Baddiley. La diversidad de reacciones en las cuales participa esta coenzima, hace que ocupe un lugar importantísimo en los sistemas biológicos. La coenzima A fue el primer compuesto donde se demostró la capacidad del grupo sulfhidrilo para formar ésteres y servir como transportador de grupos acilo. La función de la coenzima A es la de transferir radicales ácidos, como acetilo o succinilo, de un compuesto a otro, durante la respiración y el metabolismo de los lípidos. En el caso del ácido acético, el grupo tiol (-SH) de la coenzima se une al grupo carboxilo del acetato para formar un éster:



o acetil CoA.

Acido fólico y derivados. El ácido tetrahidrofólico y sus derivados pueden transferir formilo (-COOH), formaldehído (-CHO) y metanol.

Tiamina pirofosfato. La función de esta coenzima está vinculada a enzimas que decarboxilan ácido pirúvico y ácido α -cetoglutarico, o sea que está relacionada con la pérdida de CO_2 .

Biotina. La biotina está, por el contrario, vinculada a una reacción fundamental de carboxilación (adición de CO_2) durante la síntesis de ácidos grasos.

3) PIRIDOXAL FOSFATO

La mayoría de las reacciones vinculadas a la transformación de aminoácidos en α -cetoácidos, que implican la transferencia de un grupo amino, tienen como coenzima al piridoxal fosfato.

4) PORFIRINAS

Las porfirinas son coenzimas que desempeñan una función central en los

procesos que ocurren en los seres vivos. Las porfirinas pueden formar quelatos con una variedad de iones metálicos, entre otros con magnesio, hierro, cobalto, cobre. En estos quelatos, el ion metálico ocupa el centro del núcleo porfirínico ligados con los nitrógenos de los grupos pirrólicos que constituyen el núcleo. De estos complejos, uno de los más importantes es el formado por la protoporfirina y el hierro, al cual se lo conoce con el nombre de hemo. El hemo sirve como coenzima a las proteínas que participan en la transferencia de oxígeno de un sitio a otro del organismo, y para las enzimas que catalizan una variedad de reacciones oxidativas y el clivaje de los peróxidos. En la figura 15 se indica la estructura del hemo C, que constituye al grupo prostético de los citocromos de clase C.

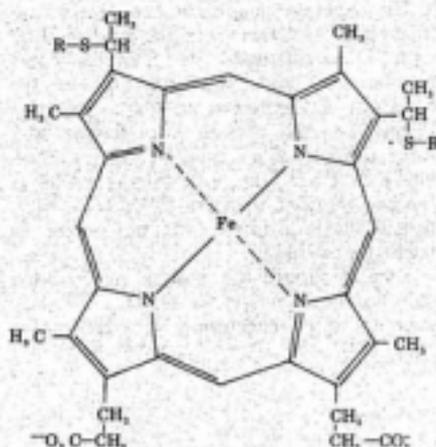


Figura 15. Estructura del hemo C.

5) ADENOSINA TRIFOSFATO (ATP)

La energía proveniente de la oxidación de distintos compuestos en la célula se convierte, a través de reacciones no conocidas por completo, en energía química que se almacena, por decir así,

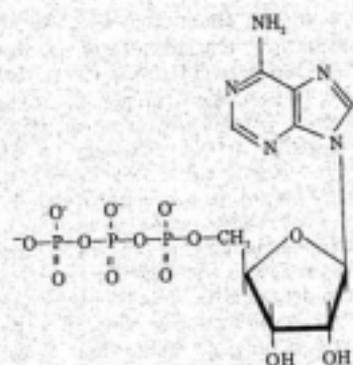
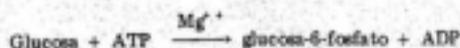


Figura 16. Estructura del adenosina trifosfato (ATP).

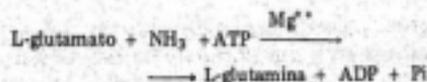
en el nucleótido adenosina trifosfato (fig. 16). Este compuesto, que transfiere grupos fosfatos, tiene un papel fundamental en numerosos procesos biológicos. Entre los mecanismos conocidos que dependen de la hidrólisis del ATP se incluyen la contracción muscular, la fotosíntesis, la bioluminiscencia, y la biosíntesis de proteínas, ácidos nucleicos, hidratos de carbono y lípidos. En consecuencia, el número de enzimas que requieren el ATP como sustrato (coenzima) o como fuente de energía, es muy grande.

Las reacciones que dependen del ATP pueden dividirse en dos grandes categorías: la primera requiere la transferencia de una parte de la molécula de ATP —usualmente un grupo fosfato— a una molécula aceptora, mientras que en la segunda categoría se incluyen aquellas reacciones donde el clivaje de ATP libera la energía que permite que tenga lugar la reacción.

Un ejemplo del primer tipo lo constituye la reacción



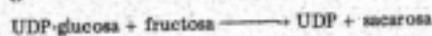
catalizada por la enzima hexoquinasa, mientras que la formación de glutamina



es una reacción que pertenece a la segunda categoría.

6) NUCLEOTIDO AZUCARES

Uno de los avances más importantes realizados en el conocimiento de los procesos metabólicos ha provenido del descubrimiento del papel de los nucleótidos azúcares en el metabolismo de los hidratos de carbono. El descubrimiento de la uridina difosfato glucosa (UDP-glucosa) por Leloir y sus colaboradores (fig. 17) demostró la existencia de un nuevo tipo de compuestos cuya función principal es la de actuar como dadores del azúcar unido al nucleótido. Así, en la biosíntesis de sacarosa, la UDP-glucosa transfiere glucosa a una molécula de fructosa para formar sacarosa de acuerdo con la siguiente ecuación:



reacción catalizada por la enzima UDP glucosa-fructosiltransferasa.

También existen otros nucleótidos azúcares cuyas estructuras son muy similares a la de la uridina difosfato glu-

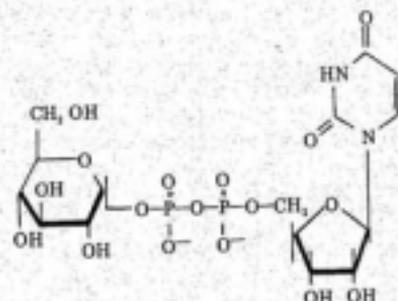


Figura 17. Estructura del uridina difosfato glucosa (UDP-glucosa).

cosa, pues difieren solamente en la base nitrogenada que forma parte del nucleótido. Por su importancia, vale la pena citar la adenosina difosfato glucosa (ADP-glucosa), que interviene en la síntesis del almidón, y la guanosina difosfato glucosa (GDP-glucosa), que participa en la de la celulosa.

MECANISMOS DE REGULACION

INTRODUCCION

Una de las características más notables de los organismos vivos es su habilidad para coordinar sus actividades celulares de tal manera que se mantenga un equilibrio constante entre los varios procesos catabólicos y el conjunto de reacciones biosintéticas esenciales. Este

hecho pone de manifiesto la existencia de mecanismos reguladores de la función metabólica en los seres vivos. Esta regulación puede ser ejercida en distintos niveles, ya sea controlando la síntesis o degradación de enzimas, ya sea ejerciendo control sobre la velocidad de algunas de las reacciones enzimáticas. En este último caso, los sitios de control se encuentran generalmente en los puntos iniciales o finales del camino metabólico. Frecuentemente, este control, que puede ser positivo (activación) o negativo (inhibición), se ejerce por medio del producto final de la secuencia metabólica en cuestión. Este mecanismo de control se conoce con el nombre de regulación por retroinhibición o retroactivación, y las enzimas cuya actividad susceptible de ser regulada en esta forma se denominan reguladoras.

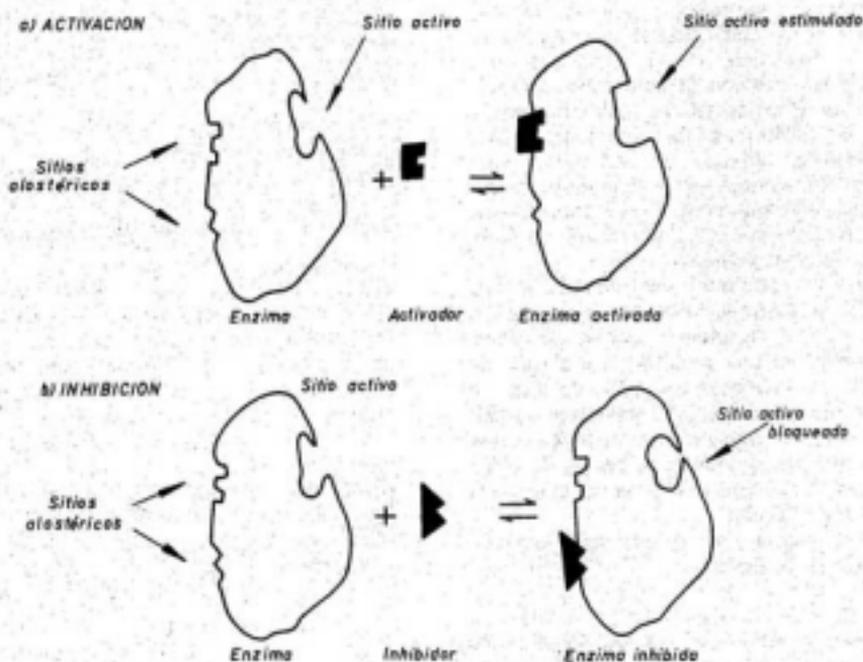


Figura 18. Diagrama que representa la influencia de activadores e inhibidores en la actividad de las enzimas alostéricas.

ENZIMAS REGULADORAS

La característica fundamental de todas las enzimas reguladoras es su susceptibilidad para ser activadas o inhibidas por metabolitos (efectores) distintos de los sustratos normales. Dado que generalmente no hay ninguna similitud estructural entre el efector y el sustrato, la modificación de la actividad de la enzima se produce por interacción del efector con un sitio regulador que es distinto del sitio activo al cual se une el sustrato normal. Teniendo en cuenta la diferencia estructural entre el sustrato y el metabolito efector, Monod, Changeux y Jacob propusieron que éste se denomine efector alostérico y que los sitios a los cuales se une se denominen sitios alostéricos. En consecuencia, las enzimas reguladoras se consideran como proteínas o enzimas alostéricas. El término alostérico se usa también en un sentido más general para indicar la interacción de cualquier molécula pequeña, inclusive al sustrato que interactúa con un sitio distinto del sitio activo de una enzima. La interacción del efector alostérico con la enzima reguladora produce una alteración reversible en la conformación de la enzima, que se traduce en una modificación del sitio activo. Con ello se altera en forma negativa (inhibición) o positiva (activación) la afinidad del sustrato normal con la enzima o la actividad de ésta (fig. 18). La mayoría de las proteínas alostéricas son polímeros, es decir que están formadas por unidades. Con algunas enzimas puede tener lugar asociación o disociación, la cual puede o no estar acompañada de pérdida de la actividad catalítica y de la susceptibilidad a los efectores alostéricos.

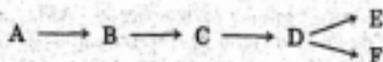
REGULACION POR RETROINHIBICION Y RETROACTIVACION

La primera evidencia sobre la existencia de los mecanismos de regulación por retroinhibición surgió de experimentos

con la bacteria *Escherichia coli*, en 1954, al observar la interrupción de la síntesis de ciertos aminoácidos que la bacteria lleva a cabo utilizando glucosa como fuente de carbono, cuando esos aminoácidos eran agregados al medio de cultivo.

Estos experimentos estimularon investigaciones en diversos laboratorios, entre otros los de Umberger y Stadtman, que dieron como resultado la demostración de que el producto final de un camino biosintético puede ejercer dos tipos de regulación sobre las reacciones que conducen a su propia síntesis: retroinhibición y represión. La represión corresponde a la situación en la cual la acumulación del producto final conduce a la detención de la síntesis de las enzimas involucradas en su formación, mientras que la retroinhibición corresponde a la situación en la cual la acumulación del producto final causa una inhibición específica de la actividad de las enzimas que catalizan usualmente los primeros pasos del camino metabólico que conduce a su formación. La consecuencia de cualquiera de estos dos tipos de regulación es que una excesiva acumulación del producto final lleva a una disminución de la actividad de toda la vía metabólica que conduce a su síntesis. La importancia de este mecanismo de control en la economía de la célula es obvia, ya que permite limitaciones selectivas y dinámicas de una vía metabólica cuando el producto final de una secuencia se encuentra presente en cantidad adecuada para satisfacer los requerimientos celulares. En esta forma, la energía necesaria y los precursores requeridos para la síntesis del producto final, pueden ser desviados a otros caminos metabólicos.

La regulación del primer paso de una vía metabólica con dos o más productos finales (o sea un camino metabólico que se ramifica) presenta un problema especial. Si se considera la secuencia hipotética de las reacciones que llevan del compuesto A a los productos finales E y F



es evidente que la retroinhibición de la conversión de la sustancia A en B por una acumulación de E conducirá a una disminución en la formación de los compuestos B, C y D, y en consecuencia habrá una deficiencia en la producción del compuesto F.

Este problema ha sido resuelto en los seres vivos por la síntesis de múltiples formas de la enzima capaz de catalizar la primera reacción en una vía metabólica como la indicada (reacción A → B) y cada una de las cuales es susceptible de ser inhibida por un producto final diferente. Las distintas formas de una enzima que catalizan la misma reacción se han denominado isoenzimas.

Un ejemplo importante de la regulación por retroinhibición en plantas lo constituye la secuencia metabólica que, partiendo de carbamíl fosfato y ácido aspártico, conduce a la formación de nucleótidos de citidina, como se muestra en la figura 19. El producto final

de la secuencia, citidina trifosfato (CTP), inhibe la aspartato-transcarbami-lasa que cataliza la primera reacción. Estudios realizados con esta enzima han permitido demostrar que es una típica proteína alostérica. La enzima ha sido posible disociarla en dos unidades, una que posee el sitio activo y otra que tiene el sitio alostérico. La actividad de las enzimas reguladoras puede ser también incrementada por metabolitos, y se habla entonces de retroactivación.

En este caso, el mecanismo de control ejerce una acción positiva en la actividad de la enzima reguladora. Uno de los ejemplos más interesantes de este tipo de regulación es la estimulación de la síntesis de almidón por el ácido 3-fosfoglicérico, observada por J. Preiss. Este metabolito actúa activando la enzima adenosina difosfato glucosa pirofosforilasa que sintetiza (fig. 20) adenosina difosfato glucosa a partir de ATP y glucosa-1-fosfato. El adenosina difosfato glucosa es el sustrato de la enzima que cataliza el paso siguiente en la secuencia metabólica que conduce a almidón, de

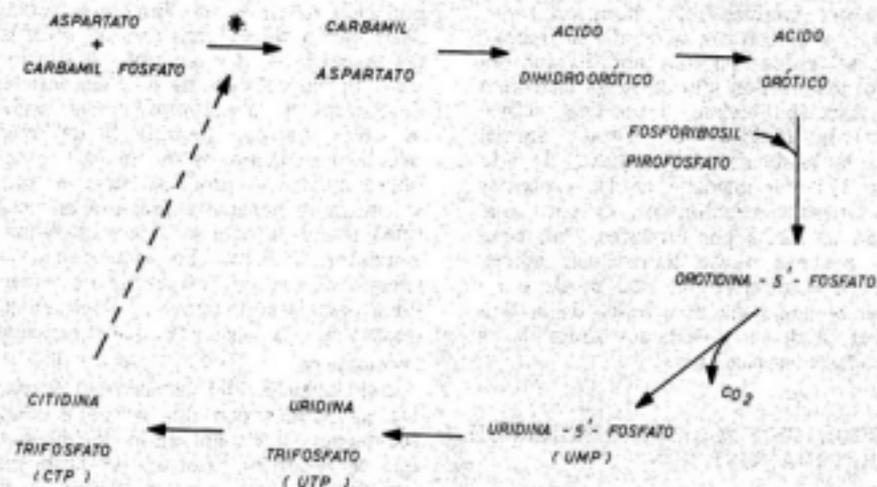


Figura 19. Secuencia metabólica que conduce a la síntesis de nucleótidos de uridina y citidina. La citidina trifosfato inhibe a la aspartato transcarbamilasa que cataliza la primera reacción de la secuencia.

manera que al favorecer la síntesis de ADP-glucosa se activa también la síntesis del polisacárido.

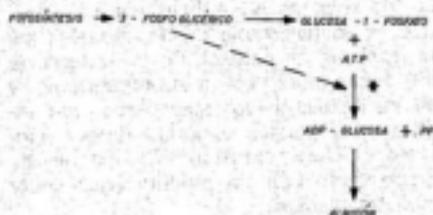


Figura 20. Retroactivación por el ácido 3-fosfoglicérico de adenosina difosfato glucosa pirofosforilasa que se traduce en un incremento de la síntesis de almidón.

REPRESION E INDUCCION

La represión se define como una disminución y la inducción como un aumento de la síntesis de una o más proteínas específicas, producidas como resultado de someter las células a la acción de una sustancia reguladora. Esta última está relacionada con el producto final de una vía metabólica en el caso de la represión; o, por el contrario, en el caso de inducción, con el compuesto inicial de una secuencia metabólica. En general, la represión por producto final es observada en los caminos anabólicos que conducen a la formación de aminoácidos, vitaminas, purinas y pirimidinas, mientras que es normal encontrar inducción de proteínas en el caso de secuencias catabólicas.

Ambos fenómenos fueron estudiados inicialmente en los microorganismos. En las plantas, la represión es un mecanismo de regulación mucho menos conocido que en las bacterias, pero se han estudiado varios casos. Entre otros, la represión por fosfato inorgánico de la enzima fitasa en el embrión del trigo durante la germinación, y la de la invertasa por glucosa en la caña de azúcar.

Por el contrario, la inducción de diversas enzimas en las plantas es un fe-

nómeno que ha recibido considerable atención y existen numerosos casos bien estudiados.

La enzima que ha sido más estudiada desde este punto de vista en las plantas quizá sea la nitrato reductasa, cuya actividad es inducida por su sustrato: el nitrato (fig. 21).

Especial atención han recibido también, en las plantas, aquellos casos en que se produce un aumento de la velocidad de síntesis de una enzima en respuesta a una modificación de las condiciones ambientales. Numerosos ejemplos corresponden a los cambios que se han podido determinar en la síntesis de las proteínas durante la germinación.

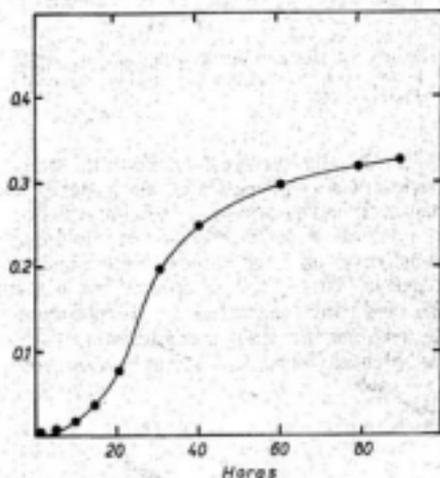


Figura 21. Inducción de nitrato reductasa en cultivos de *Lemna minor*.

El caso más analizado y sobre el cual existe mayor información experimental en el presente, es el de la inducción de α -amilasa en el endosperma de la cebada por acción de las giberelinas. El aumento producido por la adición de la hormona resulta como consecuencia de la síntesis de novo de la enzima (fig. 22).

Los casos mencionados —nitrato reductasa y α -amilasa— ejemplifican un mecanismo de regulación positiva por la apa-

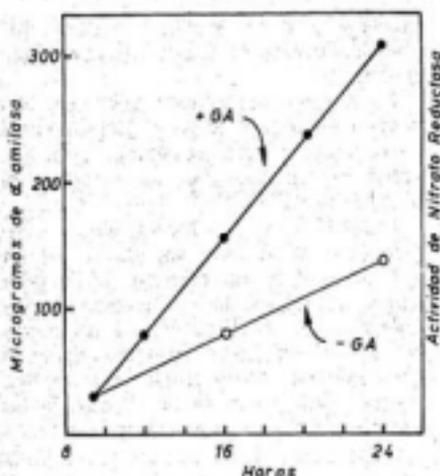


Figura 22. Inducción de α -amilasa en capas de aleurona de cebada por acción del ácido giberélico (GA).

rión de una actividad enzimática como respuesta a la presencia de un sustrato o bajo influencia hormonal. Por el contrario, el control de la degradación de enzimas constituye un mecanismo de regulación negativa. Muy poco se conoce sobre los factores que controlan la desaparición de enzimas *in vivo*, particularmente en las plantas, pero los experimentos con

células animales indican que pueden tener tanta importancia como el control de la síntesis de las enzimas.

Finalmente, la inducción y represión de las enzimas están bajo control genético, y se han desarrollado modelos para explicar el control de la síntesis de las enzimas en los microorganismos y en las células de los mamíferos, que explican los hechos experimentales conocidos. (Véase capítulo V.) No se ha desarrollado aún un modelo equivalente para las plantas.

LECTURAS COMPLEMENTARIAS

- Atkinson, D. E.: "Regulation of enzyme activity". *Ann. Rev. Biochem.*, 35: 85, 1966.
- Dixon, M. y E. C. Webb: *Enzymes*. Academic Press, Nueva York, E.U.A., 1964.
- Mahler, H. R. y E. H. Cordes: *Biological chemistry*. Harper & Row, Nueva York, E.U.A., 1966.
- Stadtman, E. R.: "Allosteric regulation of enzyme activity". *Adv. Enzymol.*, 28: 41, Interscience, Nueva York, E.U.A., 1966.

CAPITULO IV

METABOLISMO ENERGETICO

E. R. MONTALDI

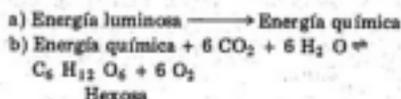
INTRODUCCION

Todos los seres vivos deben realizar trabajo para mantener sus estructuras y llevar a cabo las diversas funciones que les son características: crecimiento, reproducción, movimientos, etcétera. Fundamentalmente, efectúan tres clases de trabajos: a) *trabajo químico*, utilizado en la síntesis de los componentes celulares como proteínas, polisacáridos, lípidos, ácidos nucleicos, etcétera; b) *trabajo fisiológico* para absorber, transportar y acumular sustancias en las células; c) *trabajo mecánico*, usado en el movimiento de cilias, flagelos, ciclosis, traslado de cromosomas durante la división celular, etcétera.

Estos trabajos biológicos requieren *energía, materias primas* y, además, una *organización* para su utilización definida, coordinada y eficiente.

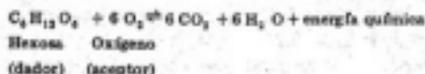
En lo que concierne a la energía, los vegetales poseen diversos mecanismos para obtenerla. La mayoría de las especies están provistas de un sistema que absorbe y transforma las radiaciones lumínicas en energía química, mediante un proceso denominado *fotosíntesis*. Esta energía química la utilizan para sintetizar compuestos orgánicos complejos a partir de sustancias sencillas, como el dióxido de carbono, el agua y otros.

Ejemplo:



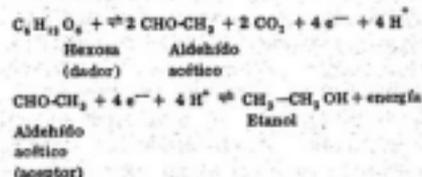
Otra fuente de energía es el producto de reacciones de óxido-reducción, en las cuales los dadores de electrones y los aceptores son sustancias de distinta naturaleza. En la *respiración aerobia*, el aceptor final de electrones es el oxígeno atmosférico, y el dador una sustancia orgánica (azúcares, ácidos, etcétera).

Ejemplo:



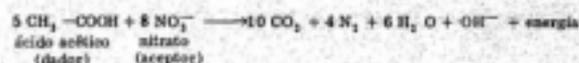
En la *fermentación*, el aceptor final de electrones es una sustancia orgánica, derivada del propio sustrato, que al degradarse aporta también los electrones.

Ejemplo:



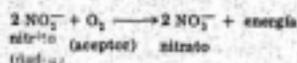
En la respiración anaerobia, el aceptor de electrones es una sustancia inorgánica diferente del oxígeno molecular, y el dador es un compuesto orgánico.

Ejemplo:



Ciertos organismos inferiores realizan quimiosíntesis, que también es una óxido-reducción biológica, en la cual el aceptor de electrones es asimismo el oxígeno molecular, pero la que los cede es una sustancia inorgánica simple (hidrógeno, sulfuro de hidrógeno, azufre, tiosulfatos, nitritos, amoníaco, etcétera). Con la energía producida sintetizan sustancias orgánicas usando compuestos simples como el dióxido de carbono, el agua, etcétera.

Ejemplo:



Existen vegetales que poseen una única forma de obtener energía. Las bacterias del género *Chromatium* dependen exclusivamente de la fotosíntesis, ya que carecen de los mecanismos para oxidar sustratos, sean éstos orgánicos o inorgánicos. La mayor parte de las bacterias, los hongos y excepcionalmente algunas plantas superiores (parásitas) sólo poseen la maquinaria biológica para obtener la energía respirando o fermentando diversos compuestos. En las plantas superiores, además de funcionar la respiración aerobia y la fermentación, se ha desarrollado el mecanismo fotosintético por el cual, con la energía de la luz, pueden transformar sustancias inorgánicas simples (dióxido de carbono, agua, etcétera), ampliamente distribuidas sobre el planeta, en sustancias orgánicas. Se trata también en este capítulo un proceso que se desarrolla en ciertas plantas a la luz, en el cual se oxida una

sustancia orgánica —el ácido glicólico— con consumo de oxígeno y desprendimiento de dióxido de carbono, sin liberación de energía. A este fenómeno se lo ha denominado *fotorrespiración*, y su

función en el metabolismo es aún desconocida y representa para el organismo una pérdida de carbono y de energía.

En la evolución de los organismos, el reemplazo de sustratos energéticos, no siempre disponibles, por compuestos simples (CO_2 , H_2O) casi omnipresentes, explica el gran predominio de los vegetales verdes sobre la Tierra.

Se ha expresado que las formas primitivas de vida que inicialmente poblaban la Tierra utilizaban, como sustratos energéticos, sustancias orgánicas existentes en el ambiente en el cual vivían. Se piensa que estos compuestos eran elaborados por procesos abiogénicos, con energía proporcionada por la luz ultravioleta, de longitudes de onda corta, no absorbida por la atmósfera de esas épocas geológicas, o por radiaciones de elementos radiactivos, como el ^{40}K . El mecanismo fotosintético se cree que apareció posteriormente; pero junto con él persistió el antiguo proceso de oxidación. Esta característica les permitió a los organismos diferenciar tejidos complejos y órganos muy especializados en sitios del individuo adonde no les llegaba la luz solar, pero al mismo tiempo los independizó del medio circundante en lo que concierne al abastecimiento de sustancias energéticas, de las cuales son dependientes los organismos quimiótrofos y heterótrofos. Los primitivos organismos, debido a la atmósfera reductora de esos tiempos, sólo podían obtener la energía de los sustratos por fermentación o por respiración anaerobia. Sólo cuando el aire se fue enriqueciendo progresivamente con el oxígeno, liberado del agua en el proceso fotosintético, se pudieron desarrollar las formas de vida aerobia.

OXIDACION BIOLÓGICA

Por definición, un compuesto se oxida cuando pierde electrones, y se reduce cuando los gana. Para que ocurra la transferencia de electrones debe estar presente en la reacción una sustancia que los ceda (reductora) y otra que los acepte (oxidante), aunque no es imprescindible que esté involucrado el oxígeno. De este modo, en la mayoría de las oxidaciones que ocurren en el organismo vegetal, no interviene este elemento, sino sólo en las fases finales del proceso. Como ejemplo de una reacción redox se da a continuación aquella en la cual el hidrógeno molecular se oxida:



En la ecuación (1), el hidrógeno perdió 2 electrones que deben ser transferidos a un aceptor, que en este caso podría ser una sal férrica:



En la ecuación (2) el hierro se ha reducido a expensas del hidrógeno que es oxidado.

POTENCIAL REDOX

Una sustancia puede, por lo tanto, transferir o recibir electrones de otra. Esta propiedad depende de la capacidad que tenga de retener los electrones o de cederlos con relación a la otra sustancia. Es común que un compuesto pueda ceder electrones a otro, pero también que a su vez, los reciba de un tercero. Esta capacidad se denomina *potencial de óxido-reducción* o *potencial redox*, y se mide comparándola con la de un electrodo patrón, que posee una presión electrónica constante. Como referencia se usa el gas hidrógeno en cuya atmósfera se halla un electrodo de platino, y al potencial eléctrico de este sistema se le da por convención el valor de cero.

Si un electrodo cualquiera tiene mayor capacidad de ceder electrones que

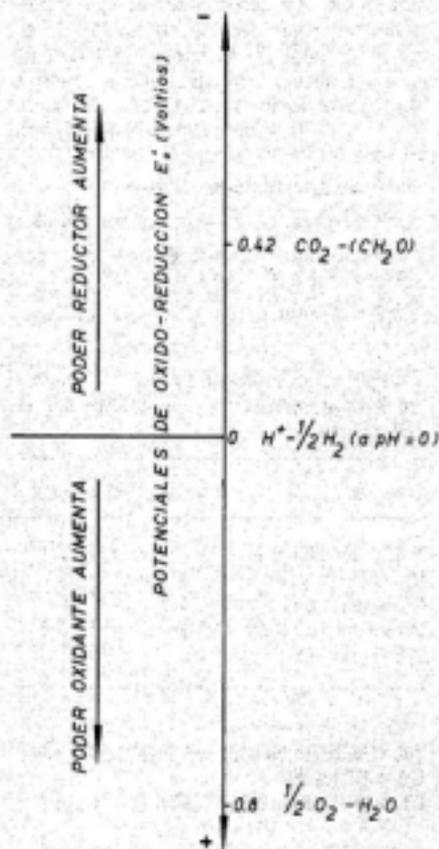


Figura 23. Escala del potencial redox en relación con el poder oxidante y el reductor.

el gas hidrógeno, el potencial que indicará el voltímetro será negativo, y si es menor tendrá valor positivo. Cuando se disponen las sustancias componentes de un sistema en una escala según las magnitudes de su potencial redox, aquellas que tienen los valores más negativos reducirán a las que poseen valor negativo menor o positivo. A la inversa, las de mayor valor positivo quitarán electrones a aquellas de potenciales menos positivos o negativos (fig. 23). Conociendo la diferencia de los potenciales

redox (ΔE) de las sustancias que intervienen en una reacción, se puede determinar el valor de la energía del sistema para realizar trabajo útil (energía libre) utilizando la siguiente fórmula: $F = -n f \Delta E$ y por consiguiente, el sentido en el que ocurrirá.

F = energía libre en julios

n = número de electrones transferidos

f = Faraday = cantidad de carga por mol = 96.500 coulomb

ΔE = diferencia de potencial (voltios)

Cuadro 1. Ejemplo de potenciales redox de algunas coenzimas, comparados con el del oxígeno.

Sistema	Potencial (voltios)
$\text{NAD}^+/\text{NADH} + \text{H}^+$	-0,32
Citocromo b ($\text{Fe}^{+++}/\text{Fe}^{++}$)	-0,04
Citocromo c ($\text{Fe}^{+++}/\text{Fe}^{++}$)	+0,26
Citocromo a ($\text{Fe}^{+++}/\text{Fe}^{++}$)	+0,29
$1/2 \text{O}_2/\text{H}_2 \text{O}$	+0,81

TRANSFERENCIA DE ENERGIA EN LA CELULA. EL ADENOSINTRIFOSFATO O ATP

El ATP es la sustancia que transfiere la energía producida durante las reacciones exergónicas a procesos endergónicos. En otras palabras, actúa de enlace entre las reacciones exergónicas y las endergónicas (reacciones acopladas) para que estas últimas se lleven a cabo. Químicamente, el ATP es un mononucleótido (véase fig. 24) formado por una base púrica, la adenina, un azúcar de cinco carbonos, la ribosa, y tres grupos fosfatos. Está presente en todas las células vivas en concentraciones muy bajas (0,001 a 0,005 moles litro⁻¹ de jugo celular).

Cada uno de los tres fosfatos de esta molécula a pH 7 está completamente ionizado, quedando cuatro cargas negati-

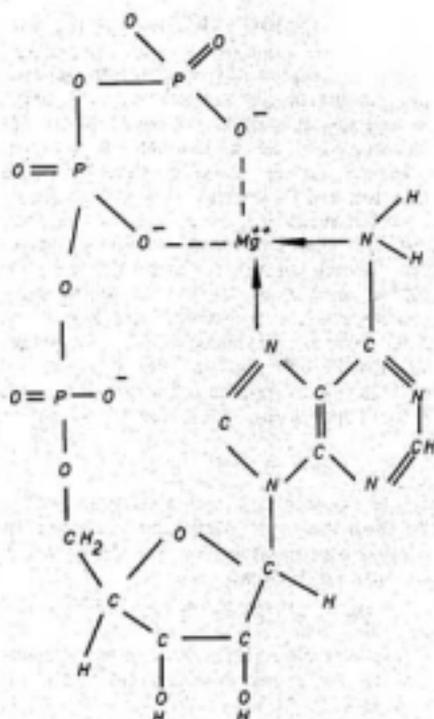
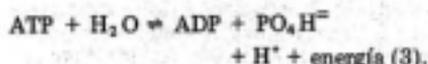


Figura 24. Complejo de ATP y Mg, según Lehninger (*Bioenergetics*, W. A. Benjamin, 1965).

vas concentradas en la línea de las uniones polifosfato. Cuando el ATP se hidroliza origina ADP y fosfato según esta ecuación:



Cuando la reacción se realiza en un calorímetro se produce la liberación de una cantidad elevada de calor. En general, interesa saber la cantidad de *trabajo útil* que puede efectuarse bajo condiciones en las cuales la temperatura del sistema no cambia (isotérmico); es decir, conocer la *energía libre de hidrólisis*. Cuando en la molécula de ATP se hidroliza sólo un grupo fosfato, la energía libre de hidrólisis a 25 °C y a pH 7 es de 8.500 cal mol⁻¹ en condiciones

estándar, es decir, cuando los reaccionantes y los productos están presentes en una concentración 1 molar. Se considera, no obstante, que en las células intactas la energía libre debe ser algo mayor, alrededor de $12.000 \text{ cal mol}^{-1}$, sobre la base de que, en las condiciones intracelulares, las sustancias de la reacción (3) nunca se encuentran en condiciones estándar, y que el ATP forma complejos con los iones Mg^{++} y Ca^{++} que aumentan la energía de hidrólisis (fig. 24).

Esta energía tan elevada, cuando se la compara con la de otros ésteres o con otros compuestos fosforilados, ha hecho que se designe al ATP como un *compuesto rico en energía*. La alta energía de hidrólisis de esta sustancia se debe a dos causas: la primera es la estructura lineal de los grupos fosfato, cuyas cuatro cargas del mismo signo hacen que se repelan fuertemente entre sí exigiendo una energía de estabilización de la molécula muy grande. Cuando se elimina un grupo fosfato de la molécula, la tensión electrostática en la cadena de polifosfatos disminuye y la energía se libera. La segunda causa es el hecho de que los dos productos de la hidrólisis, el ADP y el fosfato, tan pronto como son formados sufren un proceso de estabilización interna por resonancia* que los lleva a niveles bajos de energía.

RESONANCIA: Es un proceso físico de transferencia de energía de un átomo a otro o de una molécula a otra. Cuando un átomo absorbe un fotón, un electrón salta a una orbital superior correspondiente a la energía $h\nu$ del cuanto de luz. Es decir, pasa del estado fundamental a un estado excitado. El átomo excitado, al tener un electrón desplazado de su posición normal, altera el campo eléctrico en su proximidad, perturbando de esta manera a los electrones de otro átomo que se encuentre cercano al primero. Cuando la energía en exceso,

disponible en el átomo excitado, es igual a la energía que puede ser aceptada por el segundo átomo, se dice que ambos se encuentran en resonancia. Cuando esto ocurre, la energía se puede transferir de un átomo a otro y la probabilidad de que esto suceda está en relación inversa con la sexta potencia de la distancia que separa a los dos átomos: $(\frac{1}{d^6})$. La separación entre las moléculas de clorofila en los cuantosomas es de 2,8 nm, disposición compacta que se adapta a la transferencia de energía por resonancia.

Esta energía es mucho más baja que la de una estructura similar cuyos electrones no pudieran oscilar entre distintas posiciones en la molécula, como sucede en el fenómeno de resonancia. En consecuencia, la diferencia entre el contenido energético alto de las sustancias reaccionantes —ATP y H_2O — y el muy bajo de sus productos —ADP y fosfato— explica la alta energía de hidrólisis del ATP.

En general, al ATP y a otros compuestos (UTP, ITP, etcétera), que poseen una energía de hidrólisis relativamente elevada, se los llama sustancias con enlaces ricos en energía y se los representa con el símbolo $\sim P$. No se debe cometer el error de considerar que la unión entre los dos átomos es la que posee la energía que se libera cuando el enlace se rompe. La energía que se desprende no está localizada en la unión entre el fósforo y el oxígeno. La denominación *unión rica en energía* solamente significa que, cuando se hidroliza el ATP, la diferencia entre la energía de las sustancias reaccionantes y la de los productos es relativamente alta. Como en realidad la energía se libera cuando el grupo fosfato es transferido del ATP a otro compuesto, también se dice que esta sustancia posee un *alto potencial de transferencia de grupo*.

FOTOSINTESIS

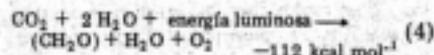
INTRODUCCION

Todos los seres vivos requieren energía. La fuente fundamental de energía que directa o indirectamente utilizan los

* En algunos compuestos los electrones cambian de posición rápida y continuamente, oscilando entre dos o más átomos. Estas moléculas—denominadas resonantes— es imposible representarlas por una única configuración estructural, poseen gran estabilidad y la energía necesaria para su descomposición es elevada.

sistemas biológicos es la radiación solar, pero los únicos organismos que poseen mecanismos capaces de transformar la energía de los fotones en energía química son los vegetales. Los animales y otros seres heterótrofos usan la energía química de las moléculas orgánicas vegetales.

Se denomina *fotosíntesis* a la transformación de la energía radiante en energía química que realizan las plantas. En general, al proceso se lo representa en forma abreviada de la forma siguiente:



donde (CH_2O) representa un compuesto reducido a nivel de carbohidrato. Esta fórmula indica que los compuestos simples como el CO_2 y el H_2O son convertidos, con el consumo de energía lumínica, en moléculas más complejas que la planta utiliza como materia prima y energía química para su crecimiento. El exceso lo almacena como reserva, por lo común en forma de polímeros como el almidón, la inulina, etcétera. Si bien la ecuación precedente es sencilla, el mecanismo que transforma la energía es complejo y aun no ha sido completamente dilucidado.

El proceso fotosintético, reducido a su forma más simple y concreta, consiste en impulsar con la energía solar una corriente de electrones desde el H_2O , a través de una serie de transportadores de creciente actividad reductora, hasta un aceptor cuyo potencial lo capacite para cederlos a la molécula de CO_2 , que de esta manera se reduce. Durante el proceso también se captura energía radiante que, transformada en energía química (ATP), se consume en la síntesis de los hidratos de carbono y otras sustancias.

LA FOTOSÍNTESIS ES UN PROCESO REDOX

Desde el punto de vista químico, en la ecuación 4 un oxidante débil (CO_2) debe

oxidar a un reductor también débil (H_2O) y producir un oxidante (O_2) y un reductor (CH_2O) fuertes. En otras palabras, en la reacción deben transferirse electrones del H_2O al CO_2 con un consumo de energía dado por la diferencia en el potencial redox existente entre los pares $\text{O}_2 - \text{H}_2\text{O}/\text{CO}_2 - (\text{CH}_2\text{O})$.

El potencial $\text{O}_2 - \text{H}_2\text{O}$, con respecto al electrodo normal de hidrógeno a pH cero (potencial normal), es de + 0,81 voltios, y el del par $\text{CO}_2 - (\text{CH}_2\text{O}) + \text{H}_2\text{O}$ es de - 0,41 voltios. Por lo tanto, la transferencia de un electrón del H_2O al CO_2 requiere 1,2 electrón-voltio de energía, resultante de la diferencia de potencial entre + 0,81 y - 0,41 voltios (fig. 23).

En la reacción en la cual se reduce una molécula de CO_2 a (CH_2O) se necesitan en total 4 electrones (véase ecuación 4): dos para completar el octeto del carbono, junto con los dos aportados por el átomo de oxígeno; los dos restantes, para reducir el oxígeno liberado de la molécula de anhídrido carbónico y formar agua. La energía requerida es, por lo tanto, de 4,8 electrón-voltio,* equivalentes a 112.000 cal.

Esta cantidad representa la energía libre (ΔF) del proceso fotosintético para reducir una molécula de CO_2 (o liberar una molécula de oxígeno).

LA FOTOSÍNTESIS ES UN PROCESO ENDERGONICO

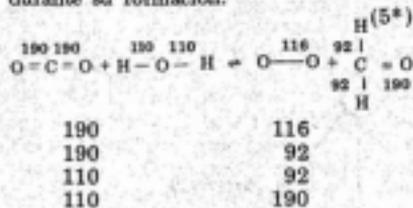
En la ecuación 4, los productos aumentan su contenido energético en 112.000 calorías. Esta cantidad de energía debe ser suministrada por una fuente externa, en este caso el sol. La reacción química es, por lo tanto, endergónica.

El requerimiento de energía en el proceso por el cual se sintetiza (CH_2O) y se libera O_2 a partir del CO_2 y H_2O , se debe al cambio que ocurre en la

* 1 electrón-voltio = 23 kcal mol⁻¹; 4,8 electrón-voltios x 23 kcal mol⁻¹ = 112 kcal mol⁻¹.

estabilidad del sistema $\text{CO}_2 + 2 \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons (\text{CH}_2\text{O}) + \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}$.

Un sistema es tanto más estable cuanto menor es su energía, es decir cuanto mayor fue la energía liberada durante su formación.



$$\Sigma_1 = 600 \text{ kcal mol}^{-1} \quad \Sigma_2 = 490 \text{ kcal mol}^{-1}$$

Diferencia de energía de formación de los sistemas: $\Sigma_1 - \Sigma_2 = 110 \text{ kcal}$.

En la ecuación (5), el sistema $\text{CO}_2 - \text{H}_2\text{O}$ es muy estable, dado que la suma de las energías de formación (liberadas) de los enlaces C-O y H-O es de 600 kcal mol⁻¹, por lo que el sistema posee relativamente poca energía. Producido el reagrupamiento de los átomos en el sistema $\text{CH}_2\text{O}-\text{O}_2$, la suma de las energías de enlace es de sólo 490 kcal mol⁻¹, lo que indica mayor energía contenida en él y, por lo tanto, menor estabilidad. Las uniones C-H y O-O son poco estables y muy reactivas debido a que forman una molécula débilmente unida. Las combinaciones C-O y H-O son, por el contrario, más fuertes; de aquí que el O_2 tienda a unirse al C o al H_2 .

En consecuencia, la reacción (5) tiende espontáneamente a ocurrir hacia la izquierda y liberar la diferencia de energía determinada por el cambio de estabilidad de las configuraciones moleculares (600 kcal mol⁻¹ - 490 kcal mol⁻¹ = 110 kcal mol⁻¹). Para que la reacción se produzca hacia la derecha y constituya un sistema menos estable, se debe aportar la misma cantidad de energía liberada cuando la reacción se produce en sentido contrario.

* Los números en las uniones indican el calor de formación.

TRANSFORMACION DE LA ENERGIA LUMINICA EN QUIMICA

Se ha dicho anteriormente que, para poder reducir el CO_2 , es necesaria una sustancia fuertemente reductora con un potencial no menor de -0,41 voltios.* Para lograr este potencial a partir de los electrones del agua, cuyo par $\text{H}_2\text{O} - \text{O}_2$ es de +0,81, se requiere vencer un gradiente de potencial de 1,2 voltios. Las plantas obtienen esta diferencia excitando los electrones de las moléculas de clorofila con los fotones capturados en los cloroplastos en unidades fotosintéticas. Estas unidades constituidas cada una por aproximadamente 250 moléculas de clorofilas, además de otros pigmentos, de transportadores de electrones y de lípidos, están ubicadas sobre una estructura proteica, en las membranas internas de los tilacoides.

Cada unidad fotosintética, a su vez, contiene dos sistemas fotorreceptores (fig. 25) en los cuales las clorofilas están dispuestas de manera de absorber la máxima cantidad de energía luminosa. Los dos sistemas, denominados *fotosistema I* y *fotosistema II*, funcionan en serie, y en cada uno de ellos se realiza un fotoacto, es decir un proceso fotoquímico diferente. En el fotoacto 1, las clorofilas a 670, a 680 y a 695, y los pigmentos accesorios (véase pág. 76), absorben fotones que aumentan la energía de sus moléculas. La energía de excitación se transfiere por resonancia de molécula a molécula hasta concentrarse en una clorofila especial denominada *clorofila 700* ó *P 700*. En este pigmento llamado centro activo se realiza el verdadero acto fotoquímico, en el cual la energía de excitación se utiliza para trasladar un electrón del P 700 a un aceptor "Z", aún desconocido, cuyo

* El voltio no es una medida de energía, sino de potencial eléctrico. Para convertir potenciales en energía debe conocerse la carga movida a través de esos potenciales. Cuando se trata de electrones, la unidad usual es el electrón-voltio, que es la energía consumida o liberada cuando un electrón es trasladado con una diferencia de potencial de 1 voltio.

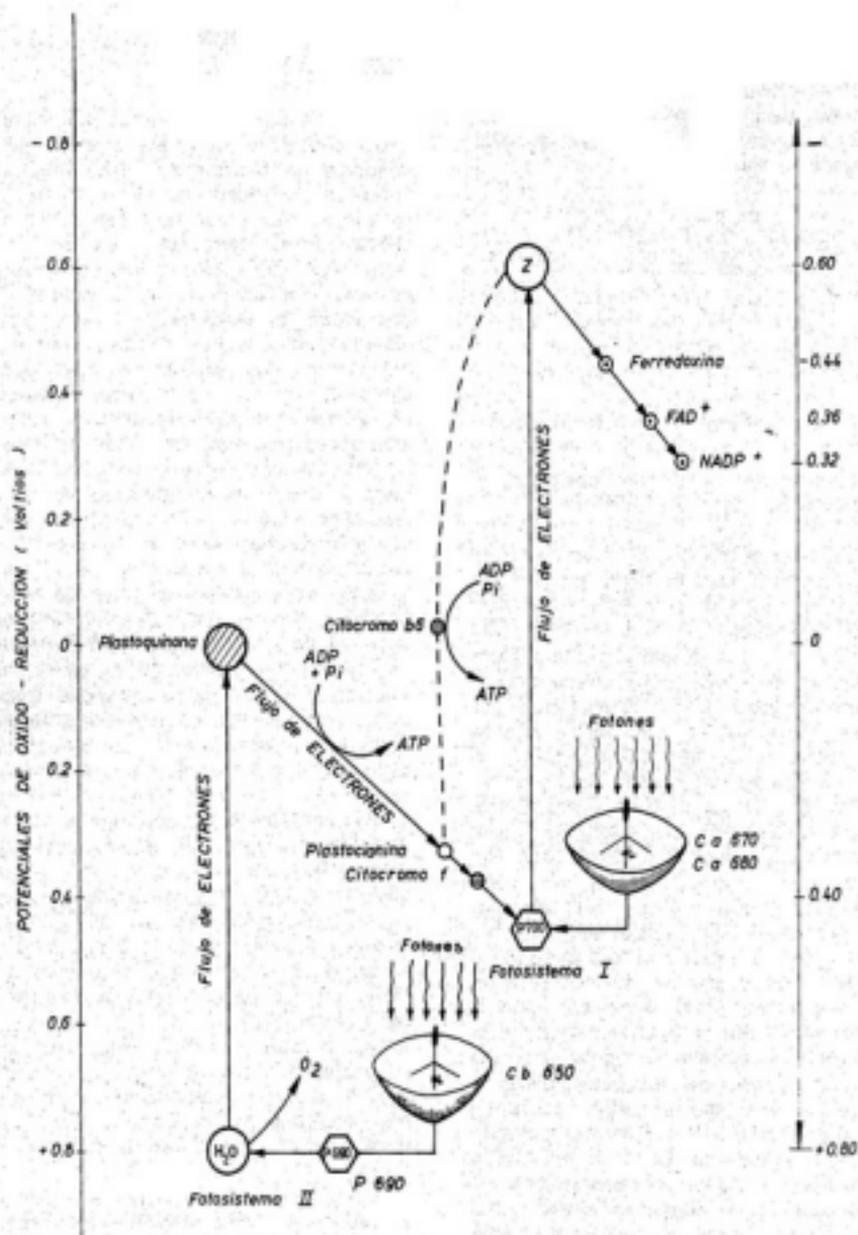


Figura 25. Esquema del funcionamiento de los fotosistemas I y II (según la concepción de Hill y Bendall, modificada por varios autores).

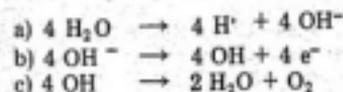
potencial es, por lo menos, de $-0,42$ voltios. El compuesto "Z" reducido posee, debido a su bajo potencial redox, una fuerte tendencia a ceder electrones a sustancias con potenciales más positivos (o menos negativos). De esta manera, los electrones pasan de "Z" a la ferredoxina ($-0,44$) y de ésta al FAD⁺ ($-0,35$ voltios).

El FAD reducido cede, por último, sus electrones al NADP⁺ ($-0,32$ voltios) que se utilizará para reducir el CO₂. Al reducirse esta coenzima se llega al eslabón final de una cadena de transportadores de electrones o catalizadores de oxidorreducción, y el P 700 queda oxidado por la pérdida de electrones, e incoloro.

En el fotoacto 2, el enlace entre el hidrógeno y el oxígeno de la molécula del agua se escinde por un mecanismo todavía poco conocido, con energía proveniente de los fotones capturados en el fotosistema II. En esta reacción se libera O₂ y se transfieren electrones (y protones) al P 700 de manera de equilibrar el balance electrónico negativo que posea. Los pasos intermedios de este fotoacto son hipotéticos. El fotosistema II parece estar constituido por la clorofila *b* 650 y la clorofila *a* 690. Esta última, llamada P 690, sería su centro activo, y se supone, además, que este fotosistema está integrado también por diversos pigmentos fotorreceptores que en última instancia transfieren su energía a la clorofila *a* 690, que llevaría a cabo la descomposición del agua y la elevación energética de sus electrones.

Las reacciones del fotoacto 2 podrían ser las siguientes:

1. *Fotólisis del H₂O*: En esta reacción, cuatro moléculas de H₂O originan O₂, 4 H⁺, 4 e⁻ y 2 de H₂O, según estos pasos:



2. *Transferencia de electrones*. Los electrones producidos en la fotólisis del agua son transportados a la *plastoquinona*, sustancia cuyo potencial es de cero voltio. Dado que el par H₂O-O₂ tiene un potencial de $+0,81$ voltios, el suministro de energía a los electrones debe ser de $0,81$ electrón-voltio. La plastoquinona reducida transfiere los electrones al P 700 del fotosistema I a través de varios intermediarios redox, que son la *plastocianina* ($+0,30$) y el *citocromo f* ($+0,38$). En resumen, en estos dos fotoactos los electrones del agua ($+0,81$) son llevados inicialmente al P 700 ($+0,46$), de donde son a su vez impulsados a un nivel energético más elevado, con la consecuente formación de una sustancia fuertemente reductora, el NADPH ($-0,32$).

En el fotosistema I, la sustancia "Z" reducida ha elevado su potencial energético. Sus electrones pueden seguir la vía que conduce al NADP⁺ o volver al P 700 transportados por el citocromo *b6*, la *plastocianina* y el *citocromo f*, y transferir la diferencia de energía al ADP y generar ATP. A este fenómeno, que no utiliza sustratos energéticos ni oxígeno, sino sólo luz, se lo denomina *fotofosforilación*; y debido a que los electrones hacen un ciclo en su recorrido, la denominación adoptada es *fotofosforilación cíclica*.

Por otro lado, en el fotosistema II, los electrones caen desde un potencial de cero voltio en la *plastoquinona* a $+0,46$ voltios en el P 700. En la "cascada" de electrones, el sistema utiliza parte de la energía en sintetizar también ATP a partir de ADP y Pi. En razón de que los electrones que intervienen en la síntesis de ATP no retornan a su lugar de origen —en este caso el H₂O—, a esta *fotofosforilación* se la llama *acíclica*.

Desde el punto de vista estequiométrico, la *fotofosforilación acíclica* genera dos moléculas de ATP por cada molécula de NADPH producida. Esta relación, expresada por el cociente $\frac{2 \text{ P}}{\text{e}^-} = 2$, sería

suficiente para reducir el CO_2 , reacción en la cual se requieren tres moles de ATP y dos de NADPH por cada mol de CO_2 fijado. Por lo tanto, no se conoce con certeza la importancia de la fotosfosforilación cíclica en la fotosíntesis de las plantas superiores, aunque es esencial en los organismos fotosintéticos inferiores, en los cuales el fotosistema II no existe (véase pág. 82).

Es importante destacar que la fotosfosforilación provee a la planta de la mayor parte del ATP, no sólo para sintetizar hexosas, sino también disacáridos y polímeros como el almidón, la inulina, etcétera. Además, como posee la propiedad de atravesar la doble membrana del cloroplasto, puede intervenir en otras reacciones endergónicas en el citoplasma.

REACCION DE HILL

En 1937, R. Hill hizo el interesante descubrimiento de que los cloroplastos, aislados del resto de la célula, son capaces de liberar O_2 a la luz, si se encuentra presente un aceptor de electrones.

Hill utilizó como aceptor de electrones sales férricas que se reducían a ferrosas, pero luego se obtuvo el mismo resultado con otros compuestos oxidantes. La reacción ocurre en ausencia o en presencia de CO_2 y responde a las siguientes ecuaciones:

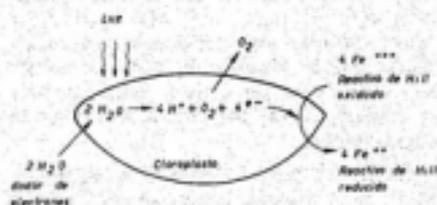
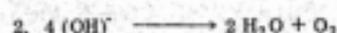
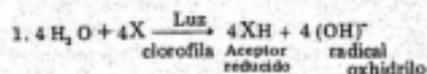


Figura 26. Esquema que muestra la reacción de Hill.

El agua en los cloroplastos se descompone en presencia de un aceptor (X) de electrones, se forman radicales OH^- —que dan origen a moléculas de agua y oxígeno—, y los electrones y protones acompañantes son transferidos al aceptor oxidado, que de esta manera se reduce (fig. 25).

REDUCCION DEL CO_2 A HIDRATOS DE CARBONO

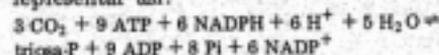
CICLO DE CALVIN O DEL C-3

Los productos finales de los fotoactos 1 y 2 son una sustancia de alto poder reductor, el NADPH, y un compuesto de alta energía de transferencia cuando se hidroliza, el ATP. Tanto el NADPH como el ATP son fundamentales en la reducción del CO_2 , proceso que, como no requiere luz, se llama reacción "oscura" de la fotosíntesis.

La conversión del CO_2 en azúcar ocurre en el estroma del cloroplasto con arreglo a una secuencia de reacciones que componen un ciclo en el cual intervienen el NADPH, el ATP, un sistema multienzimático y varias sustancias intermediarias.

Al ciclo se lo ha dividido en tres etapas: 1) *Fase carboxilativa*, en la cual un azúcar fosforilado de 5 carbonos, la ribulosa-1,5-difosfato (RDP) acepta una molécula de CO_2 e inmediatamente se descompone en dos moléculas de ácido 3-fosfoglicérico. 2) *Fase reductiva*, en la que el ácido 3-fosfoglicérico es reducido por el NADPH, con consumo de ATP, a triosafosfato. 3) *Fase regenerativa*, donde 5 moléculas de triosafosfato son convertidas en 3 de RDP, con lo cual se reinicia el ciclo.

La ecuación general, ahora, se puede representar así:



De esta ecuación se deduce que para reducir una molécula de CO_2 se necesitan 2 NADPH y 3 ATP.

Este ciclo, denominado de Calvin en honor de su descubridor, o ciclo de car-

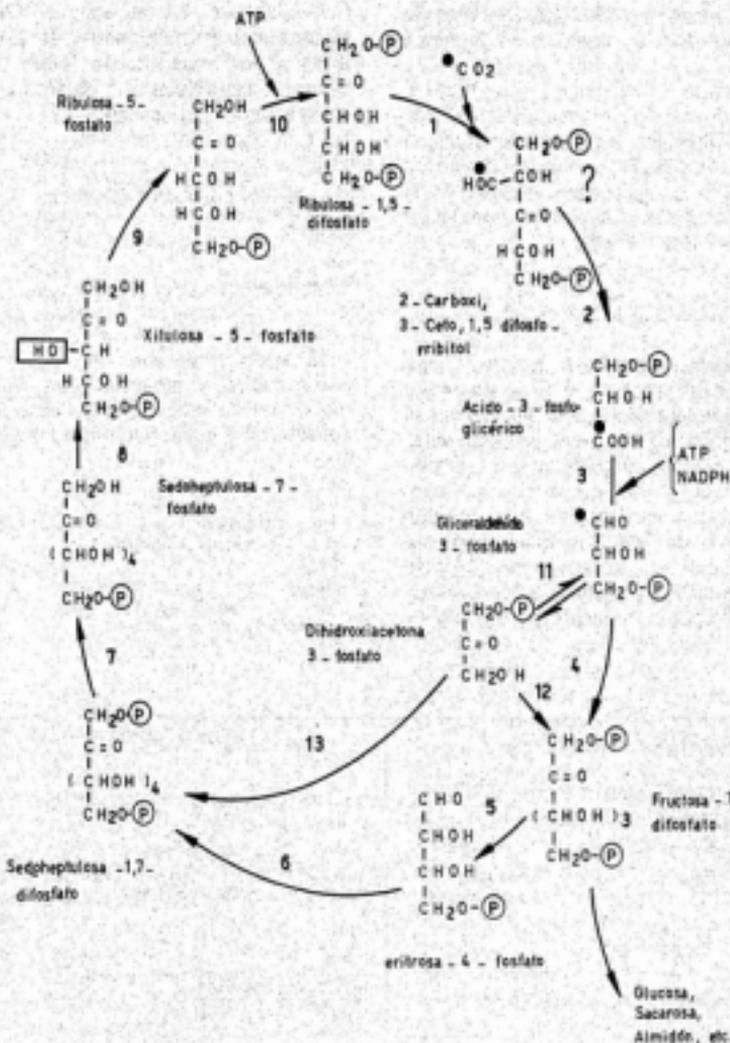


Figura 27. Ciclo de Calvin. En la reacción (1) el CO_2 se incorpora a la ribulosa-1,5-difosfato en presencia de la enzima ribulosa difosfato carboxilasa y se supone la síntesis de un compuesto intermedio que se descompone instantáneamente en dos moléculas de ácido 3-fosfoglicérico. En la reacción (2) el ácido 3-fosfoglicérico es reducido a gliceraldehído-3-fosfato por el NADPH y energía transferida por el ATP, proceso catalizado por una deshidrogenasa y una cinasa. En (4) y (12) una aldolasa condensa la dihidroacetona fosfato y el gliceraldehído-3-fosfato para formar fructosa difosfato. En (11) una isomerasa cataliza la interconversión entre la dihidroacetona-3-fosfato y gliceraldehído-3-fosfato. A partir de la fructosa-1,6-difosfato se sintetizan otros azúcares y se entra en el ciclo de las pentosas por intermedio de la eritrosa-4-fosfato, en el cual se regenera el primer aceptor del CO_2 . Las reacciones (5), (6), (7), (8), (9) y (11) indican el camino metabólico correspondiente. Se debe observar que se requiere energía (ATP) en los pasos (3) y (10), y electrones (NADPH) en el (3). Los asteriscos indican la posición del CO_2 incorporado al ciclo.

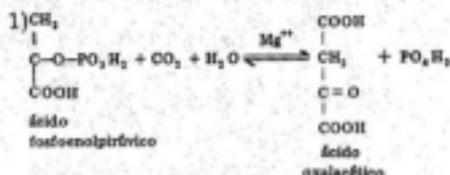
bono 3 (C-3), se puede esquematizar de la manera que se muestra en la figura 27.

Se deduce fácilmente que cada 6 "vueltas" del ciclo se sintetiza una hexosa. También es evidente que en ausencia de CO_2 se acumulan moléculas de NADPH y ATP, que se usan en la síntesis de otros compuestos, como proteínas, lípidos, etcétera.

CICLO DE HATCH Y SLACK O DEL C-4.

En muchas especies de regiones tropicales y subtropicales, el CO_2 no se incorpora directamente a la planta por el ciclo de Calvin, sino que primero entra por un camino metabólico que involucra otro aceptor y un sistema multienzimático diferente que ha sido denominado ciclo de Hatch y Slack —investigadores que lo descubrieron— o ciclo del carbono 4. Posteriormente el carbono es liberado y reducido en el ciclo de

Calvin. Según los autores, el CO_2 se incorpora a un compuesto de 3 carbonos, el fosfoenolpiruvato (FEP) sintetizado en las células del mesófilo, y se origina ácido oxalacético:



El ácido oxalacético se convierte en ácido málico y aspártico, con predominio de uno u otro según las especies. La conversión requiere NADPH o NADH:

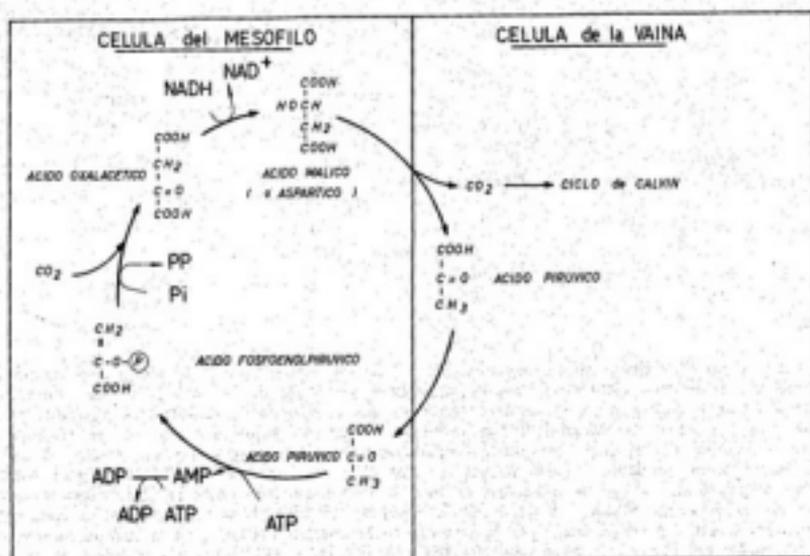
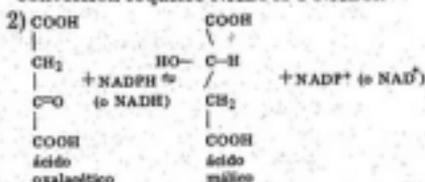
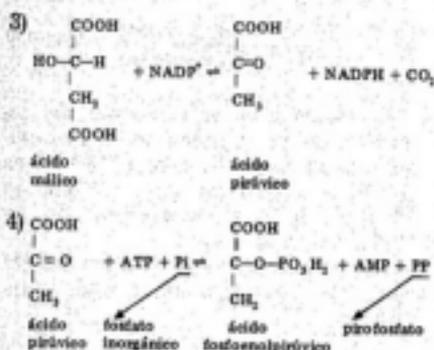


Figura 28. Ciclo de Hatch y Slack, o ciclo del C4.

El ácido málico (y el aspártico) son trasladados a las células parenquimáticas de los haces vasculares donde se descarboxilan produciendo CO_2 y ácido pirúvico. El CO_2 liberado es incorporado al ciclo de Calvin por medio de la ribulosa-1,5-difosfato y el ácido pirúvico vuelve a las células del mesófilo para regenerar el ácido fosfoenolpirúvico (reacciones 3 y 4 y fig. 28)



INTENSIDAD FOTOSINTETICA DE LAS PLANTAS

En las especies en las cuales ocurre solamente el ciclo de Calvin, las cantidades de CO_2 incorporadas varían entre 4 y 20 $\text{mg CO}_2 \text{ dm}^{-2} \text{ h}^{-1}$, mientras que en aquellas donde funcionan los ciclos del C-4 y C-3 en forma conjunta, son muchos más altas: 50 a 80 $\text{mg CO}_2 \text{ dm}^{-2} \text{ h}^{-1}$. Las primeras reciben el nombre de plantas de baja eficiencia, mientras que a las segundas se las llama de alta eficiencia.

La diferencia de intensidad fotosintética entre los dos grupos de plantas se debe a los distintos mecanismos de fijación del CO_2 . En las especies que utilizan exclusivamente el ciclo del C-3, el CO_2 difunde desde el aire hasta el cloroplasto, donde la máxima concentración no sobrepasa los 8 μM , mientras que la carboxilasa, para alcanzar la mitad de su velocidad máxima (K_m), re-

quiere 400 μM . Esto significa que la actividad de la enzima es muy baja debido a la débil afinidad por el sustrato (K_m muy alto).

En cambio, en las especies en las cuales opera además el ciclo del C-4, la carboxilasa que incorpora el CO_2 al fosfoenolpiruvato posee una fuerte afinidad por el sustrato (K_m bajo), por lo cual su actividad óptima la alcanza con concentraciones mucho más bajas de CO_2 en la célula. El CO_2 fijado en el ciclo del C-4 es transportado, luego, en la molécula de ácido málico y aspártico, a las células en las cuales funciona el ciclo de Calvin, donde se concentra hasta alcanzar tenores que se acercan al óptimo para la actividad de la ribulosa difosfato carboxilasa. La función del ciclo del C-4 es, en síntesis, elevar la cantidad de CO_2 en los cloroplastos donde opera el ciclo de Calvin.

Las plantas de alta eficiencia son en su mayoría tropicales o subtropicales: caña de azúcar, maíz, sorgo, *Cynodon dactylon*, *Cyperus rotundus*, *Amaranthus edulis*, varias especies de *Atriplex*, etcétera. Las de baja eficiencia son, por el contrario, de regiones templadas: tabaco, arroz, remolacha, trigos cultivados, cebada, avena, centeno y otras.

Es de interés el hecho de que, si bien las plantas C-4 son las que incorporan mayor cantidad de CO_2 por unidad de área foliar, se han encontrado valores comparativamente altos en la totora (*Typha* sp.) y en algunos trigos silvestres en los que sólo se verifica el ciclo de Calvin.

En general, la fotosíntesis en una hoja, a plena luz, es de 8 a 10 veces mayor que la respiración. Considerando toda la planta y las 24 horas del día, la respiración "oscura" y la fotorrespiración pueden gastar desde un 25 a un 50 % de la materia seca fotoasimilada.

CARACTERISTICAS ANATOMICAS DE LAS ESPECIES DE ALTA EFICIENCIA FOTOSINTETICA

En las especies monocotiledóneas y dicotiledóneas que incorporan el CO_2

por medio de los ciclos C4 → C3, las células que contienen los cloroplastos (clorénquima) se disponen alrededor de los haces vasculares de una manera característica denominada estructura Kranz.

Una vaina de células, por lo general pequeñas, rodean los haces, y una capa de células, grandes, correspondientes al mesófilo, envuelve a éstas. Las células pequeñas son parenquimáticas, acumulan almidón rápidamente y, en algunas especies, los cloroplastos no poseen grana. Los cloroplastos de las células del mesófilo son más pequeños, siempre contienen grana y rara vez acumulan almidón. Gran cantidad de plasmodesmos conectan las células parenquimáticas y del mesófilo. Pero la distinción fundamental estriba en el funcionamiento enzimático de los dos tejidos. En los cloroplastos del mesófilo se encuentran primordialmente las enzimas que incorporan el CO₂ por la vía del ácido fosfoenolpirúvico y lo transforman en ácido málico y aspártico. Estos ácidos se trasladan luego a las células parenquimáticas, en cuyos cloroplastos un átomo de carbono integrante de sus moléculas es liberado como CO₂ y refijado por medio del ciclo de Calvin. El compuesto de 3 carbonos restante vuelve a las células del mesófilo para reiniciar el ciclo (fig. 28).

Por un lado, esta disposición anatómica hace que los tejidos se complementen fisiológicamente para la incorporación del CO₂, y determina, además, que el desprendido durante la fotorrespiración en las células parenquimáticas (véase pág. 112) deba atravesar el mesófilo donde es captado en los cloroplastos por la enzima fosfoenolpiruvato carboxilasa. Este proceso minimiza la pérdida de este gas.

Es de interés señalar que se han encontrado especies con estructura Kranz que no fijan el CO₂ mediante el ciclo del C-4.

La relación ¹³C/¹²C o valor δ ¹³C

La alta eficiencia para fijar CO₂ está en relación con la propiedad de las

membranas de discriminar entre el ¹³C y ¹²C que componen las moléculas de CO₂ del aire. Es así como las especies con estructura Kranz y con ciclo de C-4 tienen una relación ¹³C/¹²C alta, mientras que ésta es baja en las que no poseen tales características. La relación se expresa arbitrariamente por el término δ ¹³C, que se calcula aplicando la fórmula siguiente:

$$\delta^{13}\text{C} \text{ ‰} = \left[\frac{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C}) \text{ de la muestra}}{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C}) \text{ del estándar}} - 1 \right] \times 1000$$

El estándar es el carbonato del esqueleto de un molusco fósil (*Belemnite americana*). Un valor de δ ¹³C de -20 ‰ significa que la relación ¹³C/¹²C de la muestra difiere del estándar en un 20 ‰.

Las causas de este fraccionamiento entre los dos isótopos se están estudiando.

FIJACION DEL ANHIDRIDO CARBONICO EN LAS PLANTAS CRASAS

En numerosas especies de *Crusulaceae* y en otras plantas suculentas, la incorporación del gas carbónico al metabolismo general posee ciertas características que las diferencian de las demás.

Durante el día, las plantas crasas sintetizan y acumulan almidón con glucosa y ATP generado en el proceso de fotosíntesis, sin incorporar CO₂. En el período de oscuridad, el CO₂ se fija al ácido fosfoenolpirúvico según el ciclo del C-4 y se produce ácido málico. La energía y las sustancias reductoras para la operación del ciclo es suministrada por la respiración de los productos de degradación del almidón. El ácido málico, sintetizado en grandes cantidades, se descarboxila durante el día y cede el CO₂ al ciclo de Calvin. Es importante señalar que, además del ácido málico, en los tejidos de estas plantas se acumulan otros ácidos orgánicos como el oxálico, isocítrico, tartárico, malónico, etcétera, que desaparecen a la luz, por

lo cual se ha sugerido que están relacionados con el proceso de fijación del CO_2 en la oscuridad.

Esta forma de incorporar el carbono se considera que es producto de un proceso de adaptación de estas especies a los ambientes áridos. Los estomas en las plantas crasas se encuentran cerrados durante el día, período en el cual la radiación intensa provocaría una gran pérdida de agua. En estas condiciones, el CO_2 no puede difundir al interior de la planta; pero durante la noche los estomas se abren y el gas entra, mecanismo por el cual se minimiza la transpiración.

EL FLUJO DE CO_2 DESDE EL AIRE HASTA EL CLOROPLASTO

1) Origen del CO_2

Resumiendo lo tratado hasta aquí se puede considerar que la fotosíntesis está integrada por un proceso fotoquímico, en el cual se genera ATP y NADPH, y un proceso bioquímico "oscuro", en que el CO_2 es reducido a hidratos de carbono. Existe, además, otro proceso que también integra el mecanismo fotosintético. Es el traslado del CO_2 desde el aire hasta los cloroplastos. Si bien una pequeña cantidad proviene de la respiración "oscura" y una parte más importante de la fotorrespiración, es evidente que el CO_2 de estos dos orígenes no representa para la planta ninguna ganancia neta de carbono. Por lo tanto, el aporte fundamental proviene del ambiente donde viven las plantas.

2) Vías de entrada del CO_2

El CO_2 penetra en la planta principalmente por las hojas, órganos de superficie grande en relación con su volumen y adaptados a la función de captación de la luz. La planta lo absorbe, además, por otras partes, como por ejemplo la epidermis de los tallos, rafes, vainas foliares, pecíolos, gomas, etcétera.

Las vías de entrada más importantes son los estomas. En las hojas, su número varía entre 4.000 y 10.000 por cm^2 , y se hallan en la epidermis abaxial (hojas hipostomáticas), en la adaxial (hojas hiperestomáticas) o en ambas (hojas anfistomáticas). La superficie estomática total de la hoja varía entre el 1 y el 3% del área total de la lámina; sin embargo, la absorción de CO_2 se realiza con una intensidad como si se absorbiera por casi toda la superficie. Esto se debe a que la entrada de CO_2 por los estomas sigue la ley de Stefan y Jeffreys, de difusión de los gases a través de pequeños orificios, según la cual la cantidad de un gas que difunde por pequeños poros es proporcional al perímetro de éstos y no a su área. La razón de este comportamiento es que el flujo de moléculas converge hacia el orificio desde un espacio mucho más grande que el volumen equivalente a un área de pasaje similar (fig. 29). La convergencia hacia el poro hace que las moléculas aumenten su velocidad de difusión en los bordes; de aquí que, cuanto mayor es la relación perímetro/área, la intensidad de movimiento

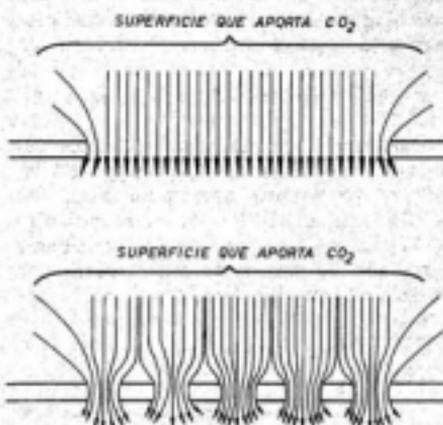


Figura 29. Representación gráfica del pasaje de gases a través de poros pequeños.

sea también más elevada. Si se tiene en cuenta la gran cantidad de orificios por mm² que poseen las hojas, se explica la gran velocidad del flujo del CO₂ hacia el interior del mesófilo, a pesar de lo reducido de su área total. Esta ley rige sólo si la separación entre los orificios no es muy pequeña: no menor de 10 diámetros de distancia entre uno y otro.

El CO₂, luego de penetrar por los estomas, difunde por los espacios intercelulares —que constituyen entre el 10 y el 70 % del volumen de la hoja, según las especies—, se disuelve en el agua que impregna las paredes y membranas, y llega en un medio acuoso a los cloroplastos que, por lo general, se hallan ubicados cerca de las paredes.

3) El flujo de CO₂ como fenómeno de difusión

El traslado del CO₂ desde el medio externo hasta el cloroplasto se realiza por el fenómeno físico de difusión regido por la ley de Fick *. Las moléculas de CO₂ se mueven, por la energía cinética que poseen, en la dirección determinada por el gradiente de concentración existente entre ambos sitios. Si la fotosíntesis no se encuentra limitada por ningún factor, la intensidad del proceso está expresada por la fórmula:

$$F = [\text{CO}_2]_{\text{aire}} - [\text{CO}_2]_{\text{cloroplasto}}$$

Bajo estas condiciones, toda molécula de CO₂ que llega al cloroplasto es fijada por el aceptor correspondiente, sea la RDP o el FEP. Por consiguiente, [CO₂]_{cloroplasto} se puede considerar cero, con lo cual la fórmula anterior se transforma en esta otra:

$$\text{* Ley de Fick: } \frac{S}{t} = D \cdot \frac{\Delta C}{x} \text{ donde}$$

S = cantidad de sustancia que difunde

D = coeficiente de difusión

a = área de paso

ΔC = diferencia de concentración entre los dos sitios.

x = distancia entre los sitios

t = tiempo

$$F = [\text{CO}_2]_{\text{aire}}$$

Esta fórmula expresa que la intensidad de la fotosíntesis, en las condiciones mencionadas arriba, depende de la concentración de CO₂ en el aire externo.

4) Resistencia a la difusión del CO₂

Sin embargo en su trayecto hasta el cloroplasto, el CO₂ debe vencer resistencias a su difusión. Estas las encuentra en el aire externo (Ra), en el estoma (Re), en la cutícula (Rc) y en el mesófilo (Rm). Por lo tanto:

$$F = \frac{[\text{CO}_2]_{\text{aire}}}{Ra + Re + Rc + Rm} = \frac{[\text{CO}_2]_{\text{aire}}}{\Sigma R}$$

La Ra depende de las características de la capa límite, que es aquella masa de aire sin turbulencia, adyacente a la superficie de las hojas, a la cual se "adhiera" el aire circulante, el cual se desplaza sobre ella en forma laminar, cualquiera que sea la velocidad del viento. El espesor de la capa límite depende de la morfología de la hoja (forma y tamaño) y de la velocidad del viento. En las hojas de tabaco, la capa límite tiene un espesor de 1 μm si el viento es de 7 km h⁻¹. Por encima de la capa límite, el aire, por lo general, se encuentra dotado de turbulencia.

La velocidad del viento afecta la Ra porque modifica el espesor de la capa límite. Con viento de mucha velocidad (50 km h⁻¹) o en hojas angostas, la capa límite es delgada, la difusión del CO₂ es más rápida y, consecuentemente, la Ra es menor que si la capa límite fuera de mucho espesor. Con vientos de regular velocidad (15 km h⁻¹), la Ra tiene un valor * entre 0,5 y 2 seg cm⁻¹, que

* Las resistencias se expresan en seg cm⁻¹ y representan el tiempo que una unidad de masa de CO₂ tarda en difundir a través de 1 cm² de hoja cuando la diferencia de concentración entre los puntos que se consideran es de una unidad de masa de CO₂ por cm³ de aire.

es pequeño comparado con el de la resistencia total al flujo del CO_2 , que varía entre 10 y 20 seg cm^{-1} . Esto significa que el viento no es casi nunca un factor limitativo de la fotosíntesis.

La R_e es mucho mayor que la R_a y puede variar su valor desde infinito—cuando el estoma está cerrado y por lo tanto la fotosíntesis es nula— hasta un valor correspondiente a su apertura máxima (0,62 seg cm^{-1} en el trigo). La figura 30 muestra la relación entre la apertura estomática y la intensidad fotosintética. En la figura 30 se puede observar que cuando no hay viento la apertura estomática, como es lógico, no afecta al proceso, a menos que los estomas estén casi cerrados. En cambio, cuando el aire está en movimiento la fotosíntesis es proporcional al valor de la apertura estomática.

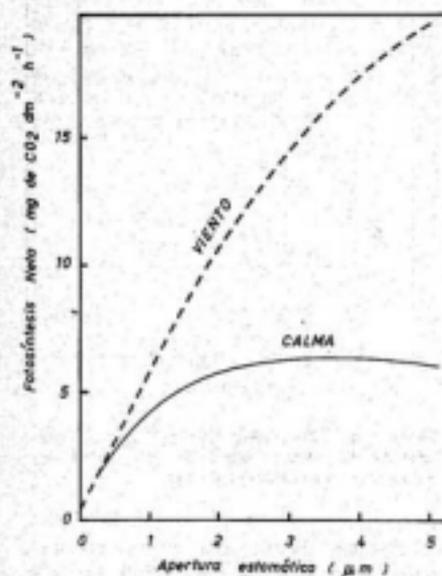


Figura 30. Intensidad fotosintética en función de la apertura estomática.

En una investigación realizada con hojas de tabaco, al aumentar la apertura estomática de 1 μm a 8 μm la R_e dismi-

nuyó de 2,7 seg cm^{-1} a 0,6 seg cm^{-1} y la fotosíntesis aumentó en forma significativa (aproximadamente 40 %. No obstante la resistencia nunca llega a tener un valor nulo, aun con todos los estomas totalmente abiertos. De aquí que la R_e sea un importante factor que afecta a la fotosíntesis, principalmente cuando la resistencia difusiva del aire (R_a) es reducida, por ejemplo bajo condiciones de vientos fuertes, en que la capa límite alcanza un espesor mínimo. La R_c al pasaje del CO_2 es muy alta. Los valores, como es lógico, dependen de cada especie; y dentro de la misma especie, de la edad y cara de la hoja. Los distintos autores dan valores variables que oscilan entre 20 y 80 seg cm^{-1} . Se extrae la conclusión, por lo tanto, de que la R_c es tan grande que la difusión del CO_2 al interior de la hoja debe realizarse casi exclusivamente a través de los estomas.

La R_m está compuesta por la resistencia al flujo del CO_2 de los espacios intercelulares en la fase acuosa de las células. La resistencia que halla el CO_2 en el aire de los espacios intercelulares es de valor reducido. Disminuye cuando la hoja se calienta o se deforma por el viento porque produce movimientos en la masa de aire intercelular, lo cual facilita a las moléculas de CO_2 su contacto con la fase acuosa de las paredes celulares. En cambio, la resistencia que le ofrece la solución acuosa de las paredes, membranas y citoplasma es muchas veces más alta. Su valor ha sido calculado aproximadamente en 8 seg cm^{-1} y representa la mayor resistencia a la difusión del CO_2 en el trayecto desde la atmósfera hasta los cloroplastos. La causa es el bajo coeficiente de difusión del CO_2 en el agua, comparado con el que posee en el aire.

5) El CO_2 en la célula

El CO_2 disuelto en la solución de la célula reacciona con el agua para producir ácido carbónico, que se disocia en iones bicarbonato y en iones carbo-

nato. Estas diversas formas están en equilibrio en concentraciones que dependen del pH (fig. 31) en una reacción catalizada por la anhidrasa carbónica.

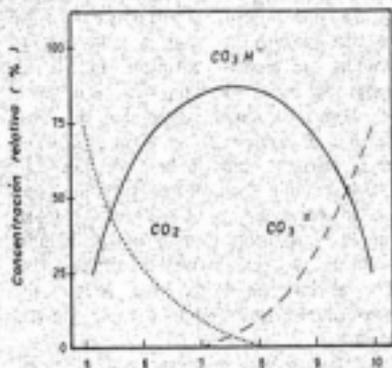
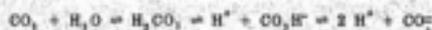


Figura 31. Concentración relativa de CO_2 , CO_3H^- y CO_3^{2-} en función del pH.

La cantidad de CO_2 en el agua, en equilibrio con los demás componentes de la reacción a 25°C , 760 mm de presión y 300 ppm de CO_2 en la atmósfera, es de $9 \times 10^{-6}\text{M}$ a pH 7. A pH 6,3, en el equilibrio existen iguales cantidades de CO_2 y CO_3H^- . El CO_3H^- es mucho más soluble que el CO_2 , pero como las carboxilasas (RDF carboxilasa y FEP carboxilasa) sólo fijan CO_2 libre, para utilizar el bicarbonato es necesaria su disociación en presencia de la anhidrasa carbónica.

6) La concentración de CO_2 como factor limitativo de la fotosíntesis

Puesto que la cantidad de CO_2 libre en las células es en general menor que la cantidad que las carboxilasas (RDF carboxilasa y FEP carboxilasa) pueden incorporar en el proceso bioquímico, es

evidente que la carboxilación es un factor limitativo de la fotosíntesis. Si se aumenta la concentración de CO_2 en el aire se incrementa el gradiente $[\text{CO}_2]_{\text{aire}} - [\text{CO}_2]_{\text{cloroplasto}}$ y, por consiguiente, el número de moléculas de CO_2 que reaccionan con las carboxilasas es mayor, con lo cual se intensifica la fotosíntesis. La concentración de CO_2 en el aire no se puede aumentar para incrementar la carboxilación sin tener en cuenta la intensidad de la luz (fig. 32). Si la luz se halla saturando el proceso fotoquímico, el mecanismo bioquímico de reducción aumenta con sólo incrementar el contenido de CO_2 del aire por arriba de 300 ppm, y se alcanza la velocidad máxima con aproximadamente 1500 ppm de CO_2 a 20°C .

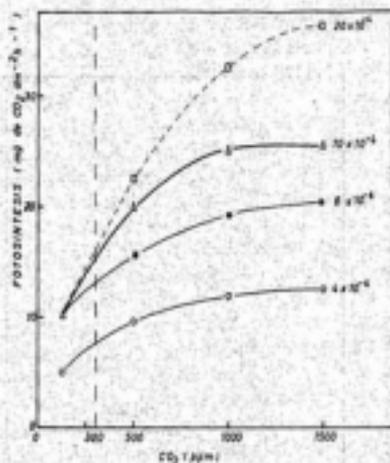


Figura 32. Intensidad fotosintética en función de la concentración de CO_2 en el aire bajo cuatro intensidades de luz.

En estas condiciones, R_e es mínima, pues todos los estomas están completamente abiertos. Si al llevar el tenor de CO_2 en el aire hasta 1400 ppm, la luz, por el contrario, limita el proceso, la R_e aumenta debido al cierre parcial de los estomas, pero la intensidad fotosintética no se afecta. Esto es debido a

que el incremento en la resistencia se compensa con el mayor gradiente que se establece entre $[CO_2]_{aire}$ y $[CO_2]_{cloroplasto}$. No obstante, aun con altas intensidades de luz, una concentración de CO_2 mayor de 2.000 ppm a 20 °C provoca el cierre de los estomas. En esta situación, la reducción del CO_2 cesa, pero se sigue generando ATP que es utilizado para la síntesis en el cloroplasto de polisacáridos y otras sustancias, como proteínas, lípidos, etcétera.

INTERCEPCIÓN DE LA LUZ POR LAS PLANTAS

Las plantas reciben la radiación directa del sol y la dispersada por la atmósfera, desde los rayos cósmicos hasta los de longitud de onda muy larga, mayor de 2.500 nm.

Esta radiación incidente es absorbida en un 75 % aproximadamente por la planta y el resto se transmite o se refleja (fig. 33); la proporción depende de: a) la longitud de onda, b) el ángulo de incidencia y c) las características de las hojas y otros órganos.

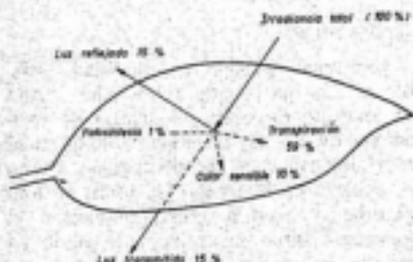


Figura 33. Esquema que muestra la intercepción de la luz por una hoja.

Absorción

Las plantas absorben la mayor parte (80-90 %) de la luz visible para el ojo humano (400-700 nm), muy poco (10 al 20 %) la roja lejana (700 a 800 nm), pero con gran intensidad las radiaciones calóricas de longitud de onda mayores de 1.000 nm (fig. 34), debido al alto porcentaje de agua de sus tejidos.

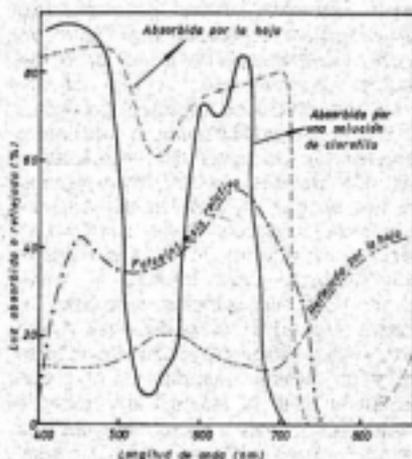


Figura 34. Absorción y reflexión de la luz por la hoja en función de la longitud de onda y relación entre la absorción y la actividad fotosintética.

La energía absorbida se gasta principalmente (75-85 %) en evaporar el agua (transpiración) y se convierte en calor latente, o se intercambia con la atmósfera en forma de calor sensible, y sólo un 5 % aproximadamente se emplea en la fotosíntesis. Los fotones que penetran en una hoja no siguen una trayectoria recta sino zigzagueante, debido a la refracción y reflexión que ocurre cuando chocan con los componentes celulares. Esto hace que el camino que recorren dentro de los tejidos sea más largo que el espesor del órgano y que, por ello, tengan mayor probabilidad de ser interceptados por las sustancias disueltas o en suspensión en el agua y por los pigmentos de la vacuola o de los cloroplastos. El agua absorbe las longitudes de onda larga (>800 nm), y en razón de que no se encuentra pura la solución acuosa en las células también absorbe una pequeña cantidad de la luz amarilla y violeta. La radiación que absorben los pigmentos solubles de la vacuola (antocianinas, etcétera) se disipa totalmente como calor o fluores-

encia. Sólo los fotones absorbidos por las clorofilas son capaces de transformarse en energía química en los cloroplastos.

La similitud del espectro de absorción de las clorofilas en solución con el espectro de la actividad fotosintética (fig. 34) hizo deducir que estos pigmentos son los que capturan la energía para el proceso, que sólo utiliza los fotones correspondientes a la luz visible (400-700 nm). Las clorofilas *a* y *b*, cuando están en solución, absorben con mayor intensidad las radiaciones azules y rojas, en menor proporción las restantes y en mínima cantidad el color verde. En el azul, la máxima absorción de la clorofila *a* ocurre en los 434 nm y la de la *b* en los 470 nm; mientras que, en el rojo, el pico de absorción máxima de la clorofila *a* se presenta en los 680 nm y el de la *b* en los 650 nm. Si se compara, por otro lado, el espectro de absorción de la hoja con la actividad fotosintética, se encuentra una mejor correlación; la absorción en el verde es más elevada, lo mismo que en el amarillo, aunque siempre menor que en el azul o el rojo. Esta diferencia entre los espectros tiene su explicación en que es mayor la cantidad de moléculas de clorofila de la hoja que la de las soluciones, circunstancia que hace que aun el color verde sea fuertemente absorbido a pesar de capturar el pigmento menos fotones de esta longitud de onda. Por lo tanto, se debe tener presente que los pigmentos en la célula poseen propiedades algo diferentes de aquéllas estudiadas en las soluciones.

Hay estudios relativamente recientes que demuestran que las moléculas de las clorofilas en los cloroplastos están asociadas y forman una estructura sólida y rígida junto con otras sustancias de naturaleza proteica. La disposición molecular permite la transferencia de energía de molécula a molécula, por resonancia, así como la rápida concentración de ésta en los centros activos donde se realiza el verdadero acto fotoquímico. Si no fuera así debería transcurrir aproximadamente 1 hora después de colocada una planta a la luz, para que ésta pudiese capturar suficiente energía en la clorofila para iniciar la reducción del CO₂.

Los estudios espectroscópicos han revelado que las clorofilas asociadas a moléculas proteicas forman complejos que se diferencian entre sí por el espectro de absorción. Se han encontrado cuatro complejos de clorofila *a* que se denominan, según el pico de máxima absorción en el rojo, *a* 670, *a* 680 *a* 690 y *a* 695, y dos de la clorofila *b*, *b* 650 y *b* 690, que forman parte de los fotosistemas I y II.

Las bacterias poseen también diversas formas de clorofila que difieren por la longitud de onda que absorben. Así, por ejemplo, la *bacterioclorofila* de numerosos organismos púrpuras absorbe las radiaciones no visibles del rojo lejano (800 nm). Esto les permite vivir debajo de otras comunidades vegetales que dejan pasar ese tipo de radiación en mayor cantidad. Lo mismo sucede en las algas que forman parte del plancton marino, que pueden utilizar la energía del color verde en razón de poseer pigmentos accesorios, como la *ficoeritrina*, *fucoxantina*, *ficocianinas*, *biliproteínas*, etcétera, que la ceden en última instancia a la clorofila. En todos estos casos se trata de fenómenos de adaptación.

Reflexión

Las hojas reflejan en cantidad variable la luz que incide sobre ellas, según su longitud de onda, el ángulo de incidencia de los rayos y las características morfológicas que las distinguen. Como se observa en la figura 34, todas las longitudes de onda correspondientes al espectro visible se reflejan, la verde en mayor proporción, y la intensidad con que lo hacen varía entre el 5 y el 20 % de la luz incidente. A partir de los 700 nm (rojo) la reflexión aumenta en forma acentuada hasta alcanzar los valores máximos en la región de los rayos más calóricos (800 a 1.000 nm).

La reflexión mínima se observa cuando los rayos inciden perpendicularmente a la superficie de la hoja, y aumenta a medida que el ángulo se hace menor. Pero si la reflexión aumenta, la pérdida por transmisión decrece de manera que de la irradiación total la fracción de luz ab-

absorbida es casi independiente del ángulo de incidencia de la luz. El ángulo con que los rayos son interceptados por la hoja tiene importancia sobre la densidad de flujo radiante por unidad de superficie. A medida que los rayos se apartan de la normal, el número de fotones interceptados por cm^2 de lámina es menor y es proporcional al coseno del ángulo de incidencia.

Transmisión

Como ya se ha dicho, la luz que penetra en una hoja no es absorbida en su totalidad, sino que una pequeña parte atraviesa los tejidos y sigue su curso en el aire hasta que es interceptada nuevamente por otra hoja u otro material del medio. Esta radiación transmitida ha cambiado su espectro (calidad) y la densidad de su flujo radiante. Se ha empobrecido fuertemente en el rojo y en el azul, menos en el resto del espectro visible y muy poco en el rojo lejano. Es así como, en un follaje denso, la intensidad relativa rojo lejano/rojo aumenta rápidamente desde la parte superior de la planta hasta el suelo.

La densidad del flujo radiante disminuye conforme a la ley de Lambert-Beer:

$$I_t = I_0 e^{-KL}$$

- donde I_t = luz transmitida
 I_0 = luz incidente
 e = base de los logaritmos neperianos
 K = coeficiente de absorción o extinción
 L = espesor de la hoja

Es lógico que el valor de I_t nunca puede ser igual a I_0 , porque aun en hojas albinas existe absorción, pero tampoco a la sombra del follaje la irradiancia es cero. Esto es debido a la gran distancia existente entre la fuente (sol) y la hoja, y a la dispersión y difracción de la luz en la atmósfera. Este concepto se aclara mencionando que una hoja de 1 cm de diámetro no da sombra más allá de la distancia de 107 centímetros.

Con irradiancias altas o bajas la absorción sigue la ley del coseno, pero la intensidad fotosintética sólo con densi-

dades de flujo radiante reducidas es proporcional al coseno del ángulo de incidencia. Es decir que, con altas irradiancias, la fotosíntesis no es muy afectada por la inclinación de los rayos que recibe su superficie. Esto es debido a que el abundante flujo de fotones se encuentra saturando el mecanismo de captación de energía, de manera tal que parte de ellos no son utilizados en la fotosíntesis y se transforman en energía calórica o se transmiten.

En condiciones de luz difusa, como en los días nublados, tanto la irradiancia como la fotosíntesis aumentan cuanto más perpendiculares al cenit se hallan las hojas.

Estos conceptos tienen relevancia cuando se comparan especies con hojas de distinta forma y disposición. Con irradiancias elevadas, la orientación de la superficie de la hoja en forma perpendicular a los rayos solares no es conveniente, dados los efectos oxidantes de tan alta intensidad sobre la clorofila así como la gran cantidad de energía perdida por transmisión. La mejor disposición, en estas condiciones, sería la de aquellas hojas inclinadas o casi paralelas a los rayos solares. Existen plantas que en general adoptan esta posición: la mayoría de las gramíneas, los eucaliptos, el palo borracho (*Chorisia* sp.) etcétera, y otras que tienen la propiedad de hacer variar su posición rápidamente, según la intensidad y dirección de la luz. Las hojas de estas especies con irradiancias bajas se colocan perpendicularmente a la dirección de la luz, pero se produce una torsión de los pecíolos, y por consiguiente de la lámina, si la luz se hace intensa, de manera de colocar a ésta casi paralela a los rayos solares (*Phaseolus* sp.).

Curvas de Blackman

A raíz de numerosas investigaciones realizadas a fines del siglo pasado para determinar la óptima intensidad de luz para la fotosíntesis —pero cuyos resultados arrojaban grandes discrepancias

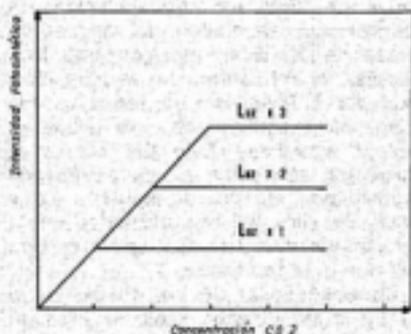


Figura 35. Ley de los factores limitativos de Blackman.

entre sí—, el fisiólogo inglés F.F. Blackman publicó un trabajo en el cual explicaba dichas diferencias. Demostró que es imposible establecer un valor óptimo de intensidad de luz, de temperatura, de CO_2 , etcétera, en forma independiente. Afirmó que cuando varios factores afectan un proceso, la intensidad de éste no está determinada por todos ellos al mismo tiempo, sino por aquel que se encuentra más deficiente, o por algún factor que, hallándose en exceso, de alguna manera retarda el proceso. Al factor deficiente lo llamó *factor límite*. Si este factor dejara de actuar como limitativo sería reemplazado por el que se encontrara, en las nuevas condiciones, limitando el fenómeno. La figura 35 ilustra el *principio de los factores límites de Blackman*.

Si aumenta la concentración de CO_2 , la fotosíntesis se incrementa hasta que la intensidad de luz ($\times 1$) se hace limitativa. Si la luz se duplica ($\times 2$) o triplica ($\times 3$), la fotosíntesis vuelve a hacerse más intensa hasta que nuevamente la luz limita el proceso. Si ningún otro factor se encontrara en deficiencia, el incremento continuaría, a medida que la luz aumentase, hasta la saturación del mecanismo de captación de la energía radiante. En una hoja aislada esto nunca ocurre dado que el CO_2 se convierte en el factor limitativo apenas la luz

pasa de $10 \times 10^4 \text{ erg cm}^{-2} \text{ seg}^{-1}$. Estudios posteriores confirmaron en parte los principios arriba mencionados y se llegó a una interpretación mejor fundamentada de la interrelación de los factores que influyen en la fotosíntesis.

Interrelación luz — CO_2

La fotosíntesis utiliza, como se ha dicho antes, los fotones de la luz visible, es decir aquéllos correspondientes a las longitudes de onda de 400 a 700 nm. La actividad máxima se obtiene con la luz roja (670 y 630 nm) y azul (437 nm); en el resto del espectro la fotosíntesis es menor, pero no nula (fig. 34).

La radiación solar total en el límite superior de la atmósfera es de $1.9 \text{ cal cm}^{-2} \text{ min}^{-1}$; en la superficie se recibe $1.8 \text{ cal cm}^{-2} \text{ min}^{-1}$. De esta radiación, sólo un 44 % se halla comprendido en el nivel visible (400-700 nm) y corresponde al máximo disponible para la fotosíntesis. La luz solar en un día diáfano al mediodía y a la latitud de 33° es de $0.6 \text{ cal cm}^{-2} \text{ min}^{-1}$. Esta irradiación equivale a $40 \times 10^4 \text{ erg cm}^{-2} \text{ seg}^{-1}$, y un lumímetro con célula de selenio indicará aproximadamente 100.000 lux o 10.000 bujías pie.

Cuando una hoja está expuesta a irradiancias bajas (10^4 erg cm^{-2} de lámina seg^{-1}), la relación entre la fotosíntesis y la intensidad de luz es una función lineal, lo que implica que el proceso fotoquímico está limitando la fotosíntesis. Hasta este nivel de energía, el CO_2 fijado es constante para casi todas las especies y se logra el rendimiento cuántico máximo (fig. 36). Si se aumenta la irradiación por arriba de $10^4 \text{ erg cm}^{-2} \text{ seg}^{-1}$, la fotosíntesis se incrementa, aunque ya no en proporción lineal, sino menos rápidamente que la luz, hasta que en la mayoría de las especies el mecanismo bioquímico se hace limitativo por falta de CO_2 .

La energía lumínica, así como la cantidad de CO_2 para saturar el proceso fotosintético, es variable según las plantas. Por lo general, una hoja de una mesófito se satura, con una irradiancia

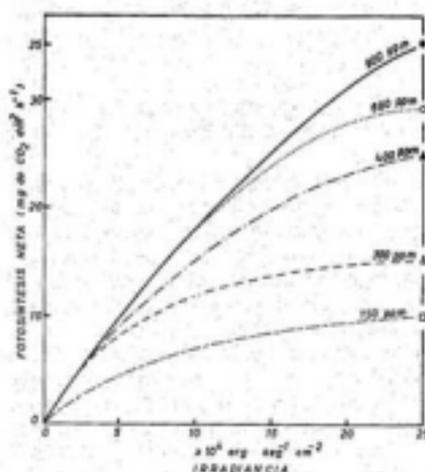


Figura 36. Intensidad fotosintética en función de la irradiancia con cinco concentraciones de CO_2 en el aire.

de $10 \times 10^4 \text{ erg cm}^{-2} \text{ seg}^{-1}$ con la concentración de CO_2 del aire normal (300 ppm); es decir con 1/4 de la luz solar máxima. Los cereales de invierno (trigo, cebada, avena, etcétera) lo hacen con menos de esta intensidad — $8 \times 10^4 \text{ erg cm}^{-2} \text{ seg}^{-1}$, pero en muchas especies de origen subtropical, como el maíz, el sorgo, la caña de azúcar, *Cynodon dactylon*, *Cyperus rotundus*, etcétera, el sistema no alcanza a saturarse, ni aun duplicando artificialmente la intensidad de la luz solar. En estas especies, la fotosíntesis es muy intensa y puede llegar a valores superiores a $50 \text{ mg CO}_2 \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$. Otras especies, por lo general, incorporan menos de $20 \text{ mg cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$.

En las plantas en que la fotosíntesis se satura con bajas intensidades de luz, se elimina la "saturación lumínica" elevando la concentración de CO_2 del aire. Esto significa que el factor que limita la fotosíntesis en estas especies es la cantidad de CO_2 que llega al cloroplasto.

Esta deducción se basa en que la mitad de la velocidad máxima (K_m) de la ribulosa difosfato carboxilasa se ob-

tiene con aproximadamente $400 \mu\text{M}$ ($17,6 \text{ mg/l}$) de CO_2 , mientras que el aire externo posee normalmente $7.000 \mu\text{M}$. Esto implica que el factor limitativo de la fotosíntesis en una hoja iluminada por la luz solar plena no es la cantidad de CO_2 en el aire, sino el proceso de difusión del CO_2 desde el aire hasta el cloroplasto. Es decir, la resistencia difusiva es lo suficientemente grande para ser el factor determinante de la intensidad fotosintética. No obstante, si se incrementa el gradiente de CO_2 existente entre el aire externo y el cloroplasto, aumentando el contenido de gas carbónico en la atmósfera, la fotosíntesis se intensifica hasta que el mecanismo bioquímico de reducción se satura. Este fenómeno ocurre con 1.000 a 1.500 ppm de CO_2 en el aire.

En las especies en que la reacción fotoquímica no se satura con la luz solar plena, también la actividad fotosintética se hace mayor elevando el tenor de CO_2 del aire, hasta que este gas provoca el cierre de los estomas y la paralización consecuente de la síntesis de hidratos de carbono por falta de gas carbónico en el cloroplasto.

Punto de compensación de luz

La fotosíntesis excede varias veces a la respiración que, por lo general, en las células verdes disminuye a la luz. Pero en dos momentos del día —durante el amanecer y el atardecer—, debido a la débil intensidad lumínica, el CO_2 perdido por respiración se compensa exactamente con el que se fija en el proceso fotosintético. La irradiancia que determina la asimilación de la misma cantidad de CO_2 que la liberada se denomina punto de compensación de luz (PC-Luz). Este valor es más alto cuando se considera toda la planta que cuando sólo se toma una parte de ella (hojas, frutos verdes, ramas, etcétera). Esta diferencia se debe a la distinta relación células que respiran/células que fotosintetizan.

Las plantas adaptadas a vivir a pleno sol (plantas heliófilas) poseen un PC-Luz más elevado que las habituadas a vivir a la sombra (plantas esciófilas). Este comportamiento se explica por la mayor eficiencia fotosintética de las plantas esciófilas, pero principalmente por su menor intensidad respiratoria.

En las plantas que crecen a plena luz es común que, en algún momento del día, las hojas ubicadas en el interior del canopeo se encuentren viviendo en el PC-Luz, o debajo de él, debido a la atenuación de la intensidad de luz que ejerce el follaje. Por lo general, las hojas que viven por un tiempo prolongado en el PC-Luz se desprenden de la planta en razón de que la fotosíntesis no compensa la pérdida de CO_2 de la respiración nocturna.

Es común observar que el interior de la copa de muchos árboles y arbustos carece de hojas; la desramazón natural es provocada por la misma causa. En muchos casos las hojas que se encuentran sombreadas sufren un proceso de adaptación que les permite aumentar la eficiencia fotosintética de modo tal que, aun con bajas irradiancias, la asimilación del CO_2 excede la pérdida por respiración. El PC-Luz para un mismo individuo u órgano no tiene un valor constante. El factor que lo modifica de manera más acentuada es la temperatura, dado que como incrementa más la respiración que la fotosíntesis, cuando se eleva, también lo hace el PC-Luz. Por ejemplo, una especie cuyo PC-Luz es de 150 lux a 16°C puede aumentarlo a 500 lux a 30°C .

Las hojas de las plantas esciófilas (hiedra, *Aspidistra* sp., helechos, etcétera) poseen un PC Luz que varía entre 0,3 y 1% de la luz solar en un día diáfano de verano al mediodía; lo cual corresponde, para una latitud de 33° , a 300 y 1.000 lux respectivamente. En las hojas de las plantas heliófilas (girasol, peral, eucalipto, maíz, etcétera), el PC-Luz se encuentra entre el 1 y el 8% de la luz solar plena, es decir 1.000 a

8.000 lux ($0,75 \times 10^4$ a 6×10^4 erg $\text{cm}^{-2} \text{seg}^{-1}$).

EFFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LA FOTOSÍNTESIS

El acto fotoquímico de la fotosíntesis no es afectado por la temperatura, por consiguiente el Q_{10} de esta fase es igual a la unidad. La etapa bioquímica es regulada por enzimas, cuya actividad es muy dependiente de la temperatura, habiéndose obtenido valores de Q_{10} que varían entre 2 y 3. Por lo tanto, la intensidad de la fotosíntesis, considerada como un solo proceso, es variable según la temperatura del ambiente.

Existen especies de climas fríos que fotosintetizan por debajo de cero grado, como por ejemplo muchas coníferas, líquenes, etcétera; pero en aquellas de regiones cálidas y templadas, las temperaturas bajas disminuyen la intensidad fotosintética al afectar la actividad enzimática y restringir la difusión de CO_2 en la fase acuosa de los tejidos. Otros

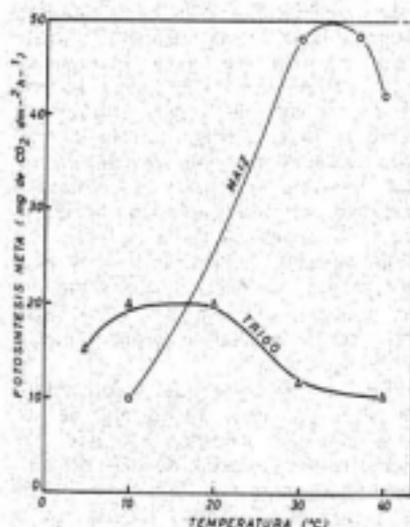


Figura 37. Efecto de la temperatura sobre la fotosíntesis de una especie eficiente (maíz) y una poco eficiente (trigo).

vegetales, como ciertas algas que viven cercanas a fuentes de aguas termales (algas verdes azuladas), realizan el proceso a temperaturas elevadas (80°C) con un óptimo que se encuentra alrededor de los 50°C). En las mesófitas, el valor óptimo varía entre los 20° y 35° C, según las especies (fig. 37). Por arriba del óptimo, la fotosíntesis declina hasta que, si la temperatura sobrepasa los 50 °C, se hace nula por inactivación de las enzimas. A menudo ocurre que, a medida que la temperatura aumenta, la fotosíntesis se hace más intensa durante un corto período aun a temperaturas elevadas (45 °C), para luego declinar rápidamente. Es decir que, además de la temperatura, el factor "tiempo de acción" desempeña un papel importante.

La temperatura puede afectar el proceso de manera indirecta actuando sobre la transpiración. Es común que las temperaturas altas incrementen mucho durante un cierto tiempo la pérdida de agua por las hojas y creen un déficit hídrico en los tejidos que provoque el cierre de los estomas, restringiendo así el flujo de CO₂ a las células. Es frecuente este fenómeno en el verano, en horas del mediodía, cuando las temperaturas son más elevadas, aun con buena disponibilidad de agua en el suelo.

En estas condiciones, sólo prosigue funcionando el proceso fotoquímico y se genera ATP y NADPH que son utilizados en la síntesis de polisacáridos, proteínas y otras sustancias en el cloroplasto.

EFEECTO DEL OXIGENO.

EFEECTO WARBURG

En 1920, el investigador alemán Otto Warburg, Premio Nobel de Química, observó que la intensidad fotosintética disminuía cuando se aumentaba el O₂ del aire. Así, en *Chlorella* con 100 % de O₂, la fotosíntesis era sólo un 65 % de la obtenida en aire normal con 21 % de O₂. A este fenómeno se lo designó *efecto Warburg* y se lo atribuyó a di-

versas causas. En la actualidad se considera que el O₂ inhibe a la enzima ribulodifosfato carboxilasa, con el consiguiente aumento de la fotorrespiración debido a la mayor síntesis de ácido glicólico, sustrato de este proceso.

RELACION ENTRE EL CONTENIDO DE CLOROFILA Y LA INTENSIDAD FOTOSINTETICA

Este tema es aún motivo de controversias entre los fisiólogos. A partir de Haberlandt, a fines del siglo pasado, quien encontró una notable correlación entre el número de cloroplastos y la intensidad fotosintética, se sucedieron numerosos estudios cuyos resultados no confirman ni tampoco refutan de manera indubitable esa conclusión. Es evidente que al variar la cantidad de cloroplastos de una hoja se modifica también el contenido enzimático involucrado en la fijación del CO₂, de manera que si el número de moléculas de clorofila (a + b) es un factor importante en la fotosíntesis, su incidencia queda enmascarada por la variación concomitante de otros componentes de la maquinaria fotosintética. Así, por ejemplo, se ha encontrado que hojas con menor contenido de clorofila requieren mayor intensidad luminosa para alcanzar los valores de fotosíntesis de las hojas de concentración normal. Este resultado parecería indicar que habría una relación entre la cantidad de clorofila y la intensidad de luz, y explicaría las discrepancias entre las distintas investigaciones. Si la energía radiante es baja, un aumento de clorofila en los tejidos sería importante para el proceso fotosintético; pero, con altas irradiancias, el sistema se encontraría saturado y cualquier incremento no modificaría su intensidad. Sin embargo, otros estudios revelan que una hoja verde normal posee un exceso de clorofila, aun para intensidades de luz tan bajas que se aproximan al punto de compensación. Bajo condiciones de iluminación que no

limitan el proceso, se ha determinado, asimismo, que plantas de la misma especie que poseen un 50 % menos de clorofila que lo normal, fotosintetizan con igual intensidad.

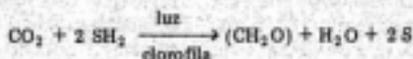
FOTOSINTESIS EN LAS BACTERIAS

Existen ciertas bacterias que obtienen su energía de la radiación solar. Es decir que son autótrofas, pues son capaces de realizar fotosíntesis, a diferencia de la mayoría de estos organismos inferiores, que son heterótrofos. Estas bacterias son anaerobias y poseen cromatóforos en los cuales, a semejanza de los cloroplastos de las plantas superiores, se hallan los pigmentos fotorreceptores. Los pigmentos difieren según las especies. Las bacterias purpúreas contienen *bacterioclorofila* y *carotenoides*, mientras que las verdes poseen *bacterioclorofila*, *clorobiumclorofila*, etcétera. La fase de reducción del CO_2 se realiza en el citoplasma por medio del ciclo de Calvin.

Al igual que los vegetales superiores, para reducir el CO_2 requieren una sustancia fuertemente reductora, el NADP^+ , y energía química en forma de ATP.

Algunas especies que contienen hidrogenasas, en una atmósfera que contenga hidrógeno molecular, reducen el NADP^+ directamente, sin energía adicional, en razón de que el potencial del par $\text{H}^+ - 1/2 \text{H}_2$ a pH 7 posee un potencial redox suficiente (- 0,42 voltios) para ceder electrones a ese aceptor. En este caso, la función de la luz está limitada solamente a la formación de ATP, necesario también para la síntesis de los hidratos de carbono.

Las bacterias verdes (*Chlorobium* sp., *Chloropseudomonas* sp.) o púrpuras (*Rhodospirillum* sp., *Chromatium* sp.) usan el sulfuro de hidrógeno como fuente de electrones:



Pero en razón de que el potencial del SH_2 no alcanza para reducir al NADP^+ , requieren energía lumínica. Es interesante observar la semejanza de la ecuación anterior con la ecuación 4 (pág. 62).

La unidad fotosintética en estos organismos parece estar constituida por 50 moléculas de clorofila. Una de ellas, denominada *B 890*, actúa como centro activo. Cuando las bacterias reciben luz, la energía es capturada por las clorofilas y transferida a la *B 890*, que "expele" un electrón de su molécula y pierde su color. El electrón es recibido por una sustancia "Z" desconocida, comparable a la de las plantas superiores, aunque de menor potencial. En este nivel energético, el electrón puede seguir dos caminos: reducir al NADP^+ o volver a la clorofila *B 890*, por medio de transportadores, con la consiguiente formación de ATP. En el primer caso los electrones perdidos por el fotosistema son reemplazados por electrones de diversas sustancias, como por ejemplo sulfuro de hidrógeno, ácido succínico, tiosulfato, etcétera, de manera de mantener el balance electrónico. En esta transferencia, posibilitada por varios transportadores redox, se genera ATP. Se trata de una *fotofosforilación acíclica*.

En el segundo caso, el electrón puede volver al pigmento *B 890* a través de dos citocromos, citocromoide (exclusivo de bacterias) ubiquinona, flavoproteína y ferredoxina, y transferir la energía al ADP para sintetizar ATP. Sería una *fotofosforilación cíclica*.

Si se compara el mecanismo fotosintético de las plantas superiores con el que opera en las bacterias se encuentran analogías y diferencias. Ambos grupos de organismos poseen pigmentos fotorreceptores de estructura química semejante y las dos formas de fotofosforilación, cíclica y acíclica. El ciclo de Calvin es común en plantas superiores y en bacterias (aun siendo muchas de éstas no fotosintéticas). Por otro lado, las bacterias no utilizan el agua como fuente

te de electrones, por lo cual no liberan oxígeno, sino que emplean sustancias de potencial reductor más elevado. Debido a que algunas poseen hidrogenasas, son capaces de reducir directamente el NADP^+ con el hidrógeno molecular, sin consumo de energía. El mecanismo de captación y utilización de la energía solar es semejante al fotosistema I, pues el fotosistema II no existe en las bacterias.

Es interesante acotar que en algunas especies el dador de electrones es a su vez la fuente de carbono, aunque pueden también utilizar CO_2 del aire. Ejemplos de este tipo de nutrición son ciertas especies de los géneros *Rhodospseudomonas*, *Rhodomicrobium* y *Rhodospirillum*, que usan el acetato para ambos fines. *Chromatium rubrum* es de especial interés en el estudio de la evolución del sistema fotosintético, por ser el único organismo *fotoótrofo absoluto*. Es decir que no posee otro mecanismo para generar ATP que no sea la fotofosforilación.

MÉTODOS PARA DETERMINAR LA INTENSIDAD FOTOSINTÉTICA

Teóricamente (véase ecuación 4, pág. 62) el proceso fotosintético se puede medir por: 1) la absorción de CO_2 , 2) la liberación de O_2 , 3) la ganancia de materia seca, 4) la energía total incorporada, 5) la energía neta absorbida y 6) el agua fijada en el proceso.

Los métodos más usados se basan en la medición de los tres primeros parámetros y, en casos especiales, en los restantes.

MÉTODOS BASADOS EN EL CO_2 ABSORBIDO

Por lo general, estos métodos miden el contenido de CO_2 de una masa de aire de composición conocida que ha pasado por una cámara donde se está realizando el proceso fotosintético. La diferencia en el contenido de CO_2 , luego de sumada la cantidad liberada por la fotorrespiración, y la respiración "os-

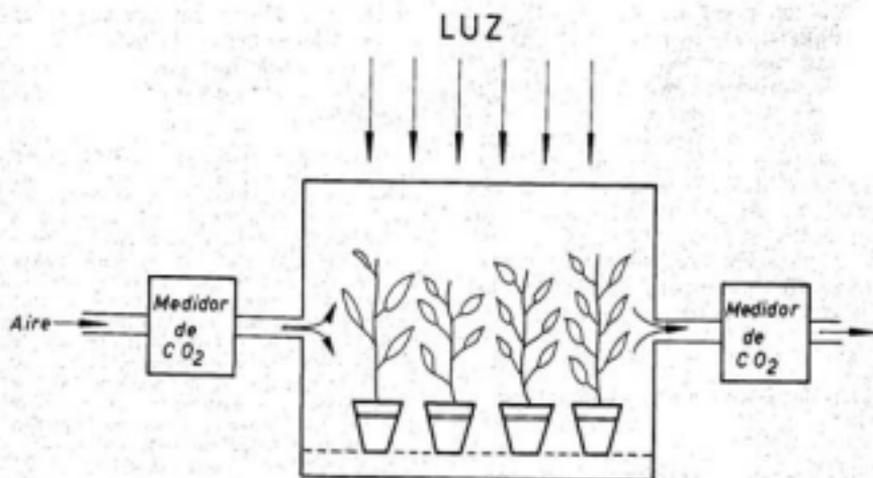


Figura 38. Método para medir la intensidad fotosintética.

cura", indica el incorporado por fotosíntesis (fig. 38).

Es decir, CO_2 medido a la luz + CO_2 liberado por respiración = CO_2 utilizado en la fotosíntesis. Una variante del método es hacer circular el flujo de aire en un circuito cerrado. En este sistema, el CO_2 va decreciendo, de manera que su concentración en un tiempo dado se calcula con una curva trazada en un eje de coordenadas en el cual se representa, en la ordenada, la cantidad de CO_2 , y en la abscisa, el tiempo.

El medidor de CO_2 más usado en la actualidad por su sensibilidad y exactitud es el que se basa en la absorción de la radiación infrarroja por el CO_2 . En razón de que el vapor de agua también absorbe en esta longitud de onda, el aire debe ser secado antes de introducirlo en el aparato. Otro equipo (katarómetro), diseñado para el mismo objeto, se vale de la propiedad del CO_2 de cambiar la conductividad calórica del aire. Cualquier fluctuación en la conductividad produce el enfriamiento de un alambre caliente, que a su vez modifica su resistencia eléctrica. Un galvanómetro sensible calibrado indica los tenores de CO_2 del aire.

La concentración de CO_2 del aire también se puede medir disolviendo el gas en agua pura y determinando la conductividad eléctrica, que es una función de la cantidad de iones de ácido carbónico formados. Los métodos químicos, como el de la absorción del CO_2 en agua de barita (solución de $Ba(OH)_2$) o en una solución concentrada de NaOH en la cual se titula el álcali o se determina su conductividad eléctrica, sólo son eficientes cuando el flujo de aire no es intenso ($< 2 \text{ l h}^{-1}$).

MÉTODOS BASADOS EN LA LIBERACION DE O_2

El aparato de Warburg o microrrespirómetro de Warburg es el que más se utiliza, aunque su empleo se limita a las mediciones de la intensidad fotosintética

de organismos pequeños (algas, bacterias), órganos o porciones (discos de hojas) de grandes organismos o de suspensión de cloroplastos. El sistema fue ideado originalmente por Otto Warburg para medir la respiración quien más tarde lo adaptó para la determinación de la fotosíntesis. Como se observa en la figura 39, el aparato consiste en un recipiente de aproximadamente 50 cm^3 que posee un vaso en su interior y una prolongación lateral. El recipiente está conectado a un manómetro muy sensible en forma de U, una de cuyas ramas se encuentra abierta a la atmósfera y la otra posee una llave que permite igualar la presión interna con la presión atmosférica. Un depósito especial permite modificar en cualquier momento el nivel del líquido manométrico.

El método se basa en que cualquier alteración de la cantidad de un gas situado en el espacio cerrado del recipiente modifica la presión, siempre que la temperatura y el volumen se mantengan constantes. La temperatura se regula manteniendo sumergido el recipiente en un baño de agua y, el volumen, por medio del tornillo ubicado en el depósito. Los cambios de presión los señala, en la rama abierta del manómetro, la altura de la columna del líquido.

Se han ideado tres maneras de operar con este aparato para medir la actividad fotosintética:

1) El material vegetal se coloca en el fondo del vaso (hojas, discos de hojas, etcétera) o, en suspensión, en agua o solución "buffer" (algas, bacterias, cloroplastos). En el vaso central y en la ramificación lateral se vierte una solución* que mantiene constante (1%) la presión parcial del CO_2 ("buffer" de CO_2) en la fase gaseosa. Con esta disposición, el único gas que modifica su concentración cuando se ilumina el sistema es el O_2 liberado por fotosíntesis y el consumido por la respiración "oscura". Como la fotosíntesis excede normalmente la intensidad de los otros dos procesos, el O_2 aumenta su tenor en la fase gaseosa y, por lo tanto, incrementa la presión en el manómetro. Midiendo el O_2 consumido por la respiración "oscura" en la oscuridad se calcula

* El "buffer" de CO_2 contiene: dietanolamina, 6 ml; CO_2 , HK, 3 g; HCl 6 N 4,5 ml; y agua destilada 6 ml.

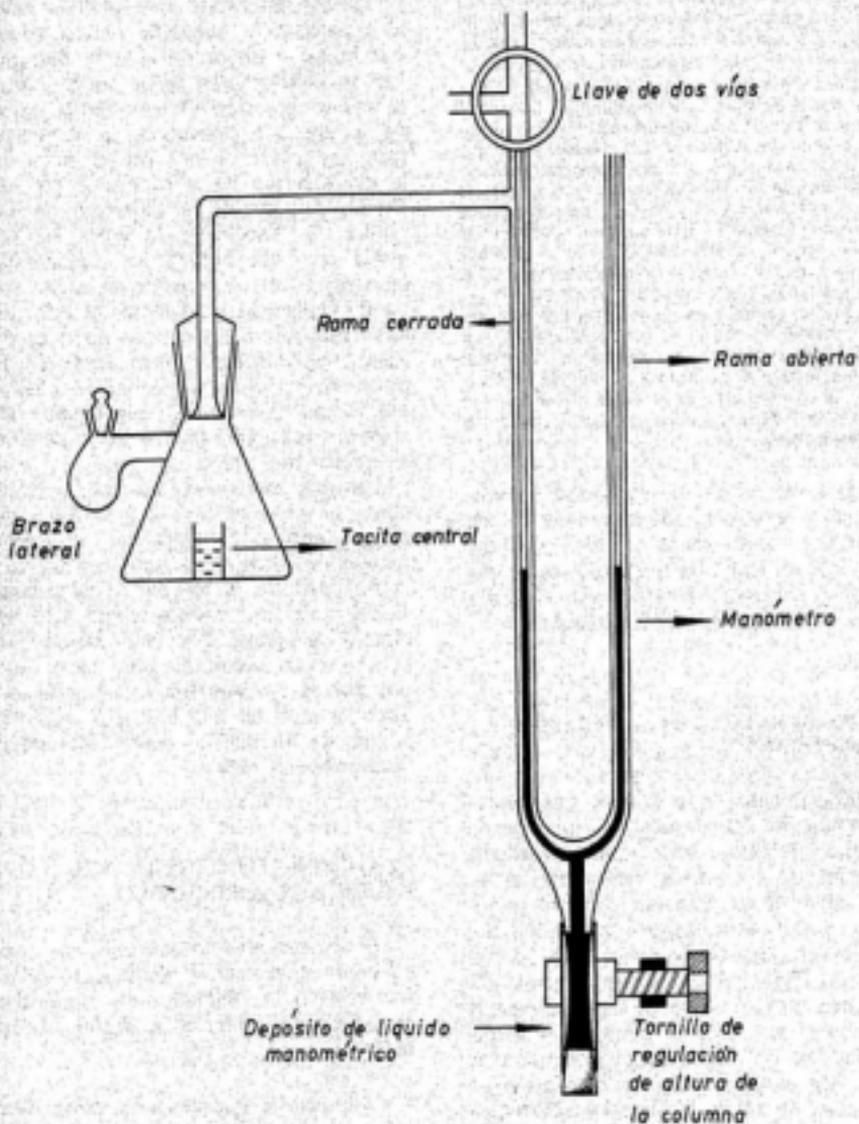


Figura 39. Microrespirómetro de Warburg.

por diferencia el liberado en el proceso fotosintético, ya que la fotorrespiración se encuentra inhi-

bida por la concentración elevada de CO_2 (véase pág. 115).

2) Otra manera de usar el aparato está basada en la distinta solubilidad en agua del O_2 y del CO_2 . Durante la fotosíntesis del material suspendido en agua habrá un aumento de la presión en razón de que el O_2 es menos soluble que el CO_2 . La diferencia puede ser incrementada utilizando un gran volumen de líquido con relación a la fase gaseosa del recipiente. Esta técnica exige que se agite de continuo el recipiente para equilibrar rápidamente los gases en las dos fases y emplear una concentración alta de CO_2 para evitar que se agote durante la determinación. Como en el caso anterior, se debe realizar la corrección por el consumo de O_2 en la respiración "oscura" si no es inhibida por la luz (véase pág. 109).

3) Esta es una variante de la técnica anterior. Se utilizan dos aparatos simultáneamente, con diferentes relaciones líquido/gas en cada uno. Sobre la base de la distinta solubilidad del O_2 y del CO_2 , en el líquido se puede determinar en una sola experiencia el consumo y liberación de estos dos gases.

Los valores de la intensidad fotosintética se expresan por lo general en mg de CO_2 incorporados a $1 dm^2$ de hoja en 1 hora ($mg CO_2 dm^{-2} h^{-1}$), o en mg de CO_2 fijados por cada mg de clorofila en 1 hora ($mg CO_2 mg clorofila^{-1} h^{-1}$).

MÉTODOS BASADOS EN LA GANANCIA DE MATERIA SECA

El aumento de peso seco que ocurre durante la fotosíntesis es una buena medida del CO_2 fijado y se adecua perfectamente bien a la determinación de la actividad fotosintética durante períodos prolongados, tanto en condiciones ambientales controladas como en el campo. Este método no está exento de errores, dado que en la materia seca se incluyen los elementos minerales absorbidos por las raíces, aunque comparados con los productos de la fotosíntesis se estiman de valor despreciable. Tampoco considera la pérdida de CO_2 que se produce por la respiración "oscura" y la fotorrespiración. De aquí que no exprese, en realidad, una medida de la *fotosíntesis real*, sino de la *fotosíntesis neta*.

El método clásico de Sachs, de las mitades de hojas, es sencillo y práctico

y consiste en cortar longitudinalmente, al amanecer, la mitad de una o de varias hojas, o discos de ellas, y determinar su área y peso seco. En el mismo momento se mide el área de la mitad de la hoja que permanece en la planta, para evitar los errores provenientes de la modificación de la superficie por variación del grado de hidratación de las células. Al anochecer se corta la otra mitad de cada hoja y se compara su peso seco con el obtenido al amanecer. La diferencia de peso indica el valor de la *fotosíntesis neta*, aunque no tiene en cuenta las sustancias trasladadas de la mitad hacia otras partes de la planta. Los datos se expresan en *gramos de materia seca por unidad de superficie en unidad de tiempo*.

Por este motivo es más exacto determinar el peso seco y el área foliar de plantas enteras y luego de un cierto tiempo de fotosíntesis, que depende de la finalidad de la medición, determinar el valor de los mismos parámetros en plantas similares. Por este método se conoce el aumento de peso seco neto por unidad de área foliar en un tiempo dado, y se tiene una base para calcular la tasa de asimilación neta o intensidad de asimilación neta.

RENDIMIENTO CUANTICO DEL PROCESO FOTOSINTETICO

En los procesos fotoquímicos se define como *eficiencia o rendimiento cuántico* ($\Phi=f_i$) el número de moléculas transformadas por cada fotón absorbido:

$$\Phi = \frac{\text{número de moléculas transformadas químicamente}}{\text{número de fotones absorbidos}}$$

Si en una reacción fotoquímica el valor de Φ es de $1/8$, significa que se necesitan 8 fotones para la transformación química de una molécula. Es común usar también la recíproca de Φ es decir

$1/\phi$ ó ϕ^{-1} , relación que se denomina *requerimiento cuántico*:

$$\phi^{-1} = \frac{\text{número de fotones absorbidos}}{\text{número de moléculas transformadas}}$$

Por lo tanto, el valor de ϕ que hemos usado como ejemplo se convierte en $\phi^{-1} = 8$. El rendimiento cuántico de la fotosíntesis se determina, según lo que antecede, como sigue:

$$\phi = \frac{\text{número de moléculas de CO}_2 \text{ reducidas}}{\text{número de fotones absorbidos}}$$

En razón de que es más correcto expresar la cantidad de CO_2 en moles, y como cada mol de cualquier sustancia contiene $6,02 \times 10^{23}$ moléculas (número de Avogadro), es conveniente usar el *Einstein* para el número de fotones. El *Einstein* es una unidad que equivale a $6,02 \times 10^{23}$ fotones, es decir que es el número de fotones en un "mol" de luz. Utilizando estas unidades, la relación anterior se transforma en:

$$\phi = \frac{\text{moles de CO}_2 \text{ reducidos} \times (\text{CH}_2\text{O})}{\text{Einstein absorbidos}}$$

Para el proceso fotosintético se han obtenido valores ϕ que varían entre 0,10 y 0,12, o, expresándolos como ϕ^{-1} de 10 a ~8 Einstein por mol de CO_2 reducido. La *eficiencia energética* de la fotosíntesis se calcula por el cociente:

$$\epsilon = \frac{\text{mínima energía teórica requerida}}{\text{mínima energía determinada experimentalmente}}$$

La reducción de una molécula de CO_2 requiere 112.000 calorías que se satisfacen, teóricamente, con 3 fotones de luz roja, cada uno de los cuales posee 40.500 cal "mol"⁻¹ (véase cuadro 2). La eficiencia teórica sería:

$$\epsilon = \frac{112.000 \text{ cal}}{3 \times 40.500 \text{ cal}} \times 100 = 92\%$$

Si en lugar de luz roja se usa azul, el valor de la eficiencia teórica sería:

$$\epsilon = \frac{112.000 \text{ cal}}{2 \times 56.900 \text{ cal}} \times 100 = 98\%$$

Como hemos dicho antes, se ha determinado experimentalmente que, para la reducción de CO_2 a nivel de carbohidrato, se necesitan entre 8 y 10 fotones de luz roja en lugar de 3; por lo tanto, la eficiencia del sistema fotosintético iluminado con esta longitud de onda (700 nm) es:

$$\epsilon = \frac{112.000 \text{ cal mol}^{-1}}{8 \times 40.500 \text{ cal Einstein}^{-1}} = 0,34 \text{ y con luz}$$

azul (500 nm):

$$\epsilon = \frac{112.000 \text{ cal mol}^{-1}}{8 \times 56.900 \text{ cal Einstein}^{-1}} = 0,45$$

Al iluminar los cloroplastos con todo el espectro visible simultáneamente, el valor de ϵ es de alrededor de 30%. La aparente discrepancia entre el valor de 0,12 y los mencionados arriba, se debe a que el primero se ha calculado sobre la base del O_2 liberado, en lugar del CO_2 reducido, para lo cual no se tiene en cuenta que durante la *fotofosforilación cíclica* se consumen fotones para generar ATP, que se utilizan para fijar CO_2 , pero no se libera O_2 .

Cada fotón posee una cantidad definida de energía determinada por la fórmula: $E = h\nu$ donde E = energía en erg Einstein⁻¹, h = constante de Planck = $6,62 \times 10^{-27}$ erg seg y ν (ν) = frecuencia de la luz. Como la frecuencia ν es igual a c/λ , donde c es la velocidad de la luz = 3×10^{10} cm seg⁻¹ y λ (λ) es la longitud de la onda electromagnética, la fórmula anterior queda: $E = hc/\lambda$. La energía de un Einstein de una longitud de onda dada se puede calcular reemplazando los valores de las constantes:

$$E = \frac{6,62 \times 10^{-27} \text{ erg } \cancel{\text{seg}} \times 3 \times 10^{10} \text{ cm } \cancel{\text{seg}}^{-1} \times 6,02 \times 10^{23}}{\lambda (\text{cm})}$$

y efectuando el producto del dividendo:

$$E = \frac{1,1 \times 10^5 \text{ erg } \cancel{\text{cm}}}{\lambda (\cancel{\text{cm}})}$$

El resultado se expresa en erg Einstein⁻¹.

Cuadro 2. Energía contenida en un "mol" de fotones (Einstein), según la longitud de onda de la luz.

Longitud de onda (nm)	Color de la luz	Calorías
400	Violeta	71.500
500	Azul	56.900
600	Amarilla	47.400
700	Roja	40.500
750	Roja lejana	37.800

QUIMIOSINTESIS

Existen algunos microorganismos que asimilan el CO₂ del aire con la energía que obtienen de la oxidación de ciertos sustratos inorgánicos como el amoníaco, los nitritos, el azufre, etcétera. En este proceso actúa como aceptor de electrones el O₂ atmosférico o el combinado en compuestos inorgánicos, como por ejemplo los sulfatos, sulfitos, etcétera.

Estos seres vivos son, por lo tanto, autótrofos a los cuales por utilizar energía derivada de sustancias inorgánicas, se los ha denominado *quimiolitótrofos* o *quimiotrofos* y, al mecanismo bioquímico, quimiosíntesis.

En el cuadro 3 se exponen en forma resumida los grupos de microorganismos quimiotrofos más importantes y algunas de sus características.

Las propiedades más importantes de los distintos grupos y las reacciones energéticas de las especies representativas de cada uno de ellos son las que se describen a continuación.

Cuadro 3. Microorganismos quimiotrofos más importantes.

Tipo de microorganismo	Especie	Compuesto dador de electrones	Compuesto aceptor de electrones	Producto de la oxidación
Bacterias nitrificadoras	<i>Nitrosomonas</i> spp.	NH ₄ ⁺	O ₂	NO ₂ ⁻
	<i>Nitrobacter</i> spp.	NO ₂ ⁻	O ₂	NO ₃ ⁻
Bacterias del azufre	<i>Beijerinckia</i> sp.	SH ₂	O ₂	S
	<i>Thiodiacylus</i> spp.	S	O ₂	SO ₄ ⁼
	<i>Thiocyanoxidans</i>	SCN ⁻	O ₂	CO ₂ + NH ₄ ⁺ + SO ₄ ⁼
Bacterias del hidrógeno	<i>Hydrogenomonas</i> spp.	H ₂	O ₂	H ₂ O
	<i>Desulfotribium</i> spp.	H ₂	SO ₄ ⁼	S ⁼
			SO ₃ ⁼ S ₂ O ₃	S S
Bacterias del hierro	<i>Ferrobacillus</i> sp.	Fe ⁺⁺	O ₂	Fe ⁺⁺⁺

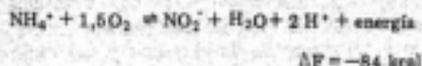
BACTERIAS NITRIFICADORAS

Se encuentran en todos los suelos bien aireados y no demasiado ácidos. La materia orgánica en concentraciones altas inhibe su acción pero, por lo general, prosperan normalmente debido a que los organismos heterótrofos que cohabitan con ellas la consumen.

Estas bacterias nitrificantes desempeñan un papel muy importante en el ciclo del nitrógeno. Son típicos de este grupo dos géneros: *Nitrosomonas* y *Nitrobacter*.

NITROSOMONAS spp.

Oxidán el amoníaco a nitrito, según esta ecuación:



NITROBACTER spp.

Oxidán los nitritos a nitratos, la fuente de nitrógeno más utilizada por las plantas superiores:

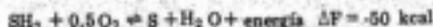


BACTERIAS DEL AZUFRE

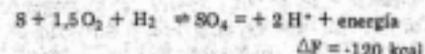
Son bacterias unicelulares o "multicelulares" que viven en la superficie de los líquidos cloacales que fluyen por los canales, en cuyas paredes pueden depositar azufre, en suelos fertilizados con este elemento o en aguas sulfurosas. Los géneros *Beggiatoa* y *Thiobacillus* son los más importantes.

BEGGIATOA spp.

Son bacterias filamentosas que oxidán el ácido sulfhídrico a azufre:



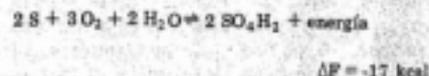
Las mismas bacterias pueden oxidar también el azufre elemental y producir ácido sulfúrico:



Algunos autores consideran que estas bacterias son heterótrofas y que viven en ambientes con ácido sulfhídrico debido a que este gas estimula su crecimiento.

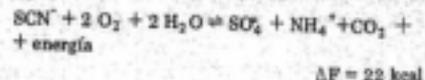
THIOBACILLUS spp.

Estas especies utilizan una gran variedad de compuestos azufrados como dadores de electrones: ácido sulfúrico, sulfuros, tiosulfatos, tritionatos, tetratiionatos, tiocianatos, etcétera. Como receptor de electrones actúa el O_2 , y como producto final se forma ácido sulfúrico:



THIOBACILLUS THIOCYANOXIDANS

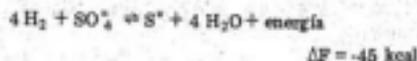
Es una bacteria con características fisiológicas peculiares, ya que no sólo aprovecha la energía contenida en el sustrato que oxida (tiocianato) sino que del mismo utiliza el carbono y el nitrógeno para su metabolismo. La ecuación que representa la transformación del sustrato es la siguiente:



BACTERIAS DEL HIDROGENO

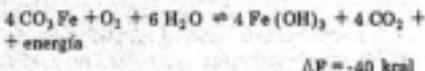
A diferencia de los organismos de los grupos arriba mencionados, que son aerobios, las bacterias del hidrógeno son anaerobias obligadas. Es decir que, en lugar de ser el O_2 el receptor de electro-

nes, su papel lo desempeñan ciertas sustancias como los sulfatos, sulfitos o tiosulfatos. Como dador de electrones, o sustrato oxidable, actúa el hidrógeno molecular. La especie más estudiada es *Desulfotribrio desulfuricans*, y la ecuación química típica es la siguiente, en la cual el ion sulfato desempeña la función de aceptor de electrones:



BACTERIA DEL HIERRO

Existen dudas sobre este grupo de bacterias respecto a su dependencia energética del proceso de oxidación de compuestos ferrosos. Algunos autores las consideran "autótrofas facultativas". Estas bacterias, unicelulares o "multicelulares", viven en líquidos donde el hierro se encuentra en solución en estado ferroso. Si el dador de electrones es el carbonato ferroso, la ecuación es la que sigue:



El hierro oxidado es excretado y depositado sobre las paredes de la bacteria. En las especies filamentosas, el hierro, en forma de óxido, forma una vaina que envuelve al organismo. Los géneros más importantes son *Ferrobacillus*, *Crenotrix*, *Sphaerotilus*, etcétera.

REDUCCION DEL CO₂ EN LOS ORGANISMOS QUIMIOTROFOS

El camino que sigue el CO₂ en estos organismos parece ser similar al de las plantas fotosintéticas. Esta idea se fundamenta en la demostración de que los extractos de *Thiobacillus* sp. pueden

convertir el difosfato de ribulosa y ¹⁴C CO₂ en ¹⁴C-ácido fosfoglicérico, y en la identificación en estas bacterias de la carboxilasa del ácido fosfoenolpirúvico. No obstante, no se conoce aún cómo se forman las sustancias de alto potencial reductor involucradas en la reducción del CO₂. En ésta, a diferencia de la fotosíntesis, no se libera O₂. Por consiguiente se descarta el H₂O como fuente de electrones.

METABOLISMO INTERMEDIO DE LAS BACTERIAS QUIMIOTRÓFAS

En estos organismos, los hidratos de carbono se degradan por la misma vía oxidativa que siguen en los vegetales superiores. Si bien se han hallado numerosas enzimas de la glicólisis y del ciclo de Krebs, otras aún no han sido encontradas. En el caso de las bacterias del hidrógeno, que son anaerobias, la degradación se realizaría por la vía fermentativa, común a otros organismos.

En lo que respecta al metabolismo de lípidos y proteínas, el conocimiento que se posee es escaso.

EFICIENCIA ENERGÉTICA

Las bacterias quimiosintéticas aprovechan la energía de la oxidación de los distintos sustratos con una eficiencia estimada del 6 al 7%, que es superior a la de las plantas verdes que viven en condiciones naturales, en las cuales no se alcanza a superar el 2%. Desde el punto de vista evolutivo, la relativa poca significación de estos organismos, comparada con la de los vegetales fotosintéticos, no se debe a la eficiencia del sistema energético sino a la imposibilidad de contar en todo lugar con los sustratos oxidables. En cambio, las plantas capaces de utilizar la energía radiante disponen de ella prácticamente en toda la superficie terrestre.

RESPIRACION AEROBIA

Este proceso de obtención de energía consiste en la oxidación de sustratos orgánicos de alto potencial energético por el O_2 del aire. Es una reacción exergónica en la cual se produce un flujo irreversible de electrones desde la sustancia oxidada hacia el O_2 . La energía liberada es conservada en forma química en la molécula del ATP, sustancia que transfiere su energía a reacciones endergónicas.

La respiración aerobia de sustratos orgánicos, si se consideran los productos finales $-CO_2$, H_2O y energía-, parecería tener cierta analogía con la combustión que ocurre en las máquinas o con la quema de un leño. Sin embargo, existen diferencias sustanciales entre los dos fenómenos.

Respiración: $H + C + n O_2 = n CO_2 + n H_2O +$
+ energía química

Combustión: Hidrocarburo + $n O_2 = n CO_2 +$
+ $n H_2O +$ energía calórica

En la respiración, la oxidación del sustrato ocurre casi sin liberación de calor, pues la energía queda atrapada en forma química. Es decir que los organismos biológicos no son máquinas térmicas, pues al no existir gradientes de calor no pueden convertir cambios de temperatura en trabajo. En la combustión, la energía se libera como calor en una reacción que ocurre rápidamente, mientras que en el proceso respiratorio la energía química del sustrato se va transfiriendo al ATP por medio de numerosos pasos sucesivos, a medida que el movimiento de electrones se realiza hacia el oxígeno. Las células son incapaces de utilizar calor para cubrir sus necesidades energéticas, pues, si así ocurriera, el metabolismo celular se efectuaría a temperaturas elevadas que desorganizarían el protoplasma rápidamente. En cambio con energía química, las reacciones que generan trabajo ocu-

rren dentro del margen de las temperaturas del ambiente donde viven. Los sustratos que se oxidan en las células pueden ser proteínas, lípidos, ácidos orgánicos, etcétera, pero por lo común son hidratos de carbono y, más precisamente, azúcares solubles, como la glucosa o la fructosa. Cualquiera que sea la sustancia que suministra la energía, ésta debe convertirse previamente en moléculas simples que puedan incorporarse al mismo camino metabólico degradativo que siguen los azúcares (véase fig. 40). A continuación se describe el proceso respiratorio aerobio a partir de la glucosa.

La respiración aerobia consta de tres etapas (fig. 41):

- 1) *Glucólisis*: la glucosa se degrada en el citoplasma no diferenciado (hialoplasma), en condiciones anaeróbicas.
- 2) *Ciclo de Krebs*: el ácido pirúvico, producto final de la glucólisis, se incorpora a un ciclo de ácidos tricarbóxicos que funciona en la matriz de las mitocondrias, donde se oxida y descarboxila, pasando los electrones a coenzimas (NAD^+ , $NADP^+$, FAD^+) de deshidrogenasas y el carbono se libera como CO_2 .
- 3) *Cadena oxidativa*: las coenzimas reducidas transfieren los electrones y protones a una cadena de transportadores ubicados en los oxisomas de las mitocondrias, que en última instancia los ceden al O_2 para formar H_2O .

1. GLUCOLISIS

Si bien se ha dicho antes que la respiración aerobia es un proceso en el cual se transfieren al O_2 electrones de alto potencial energético, algunas de sus fases implican la degradación de los sustratos con producción de ATP, sin intervención del O_2 . No obstante, debi-

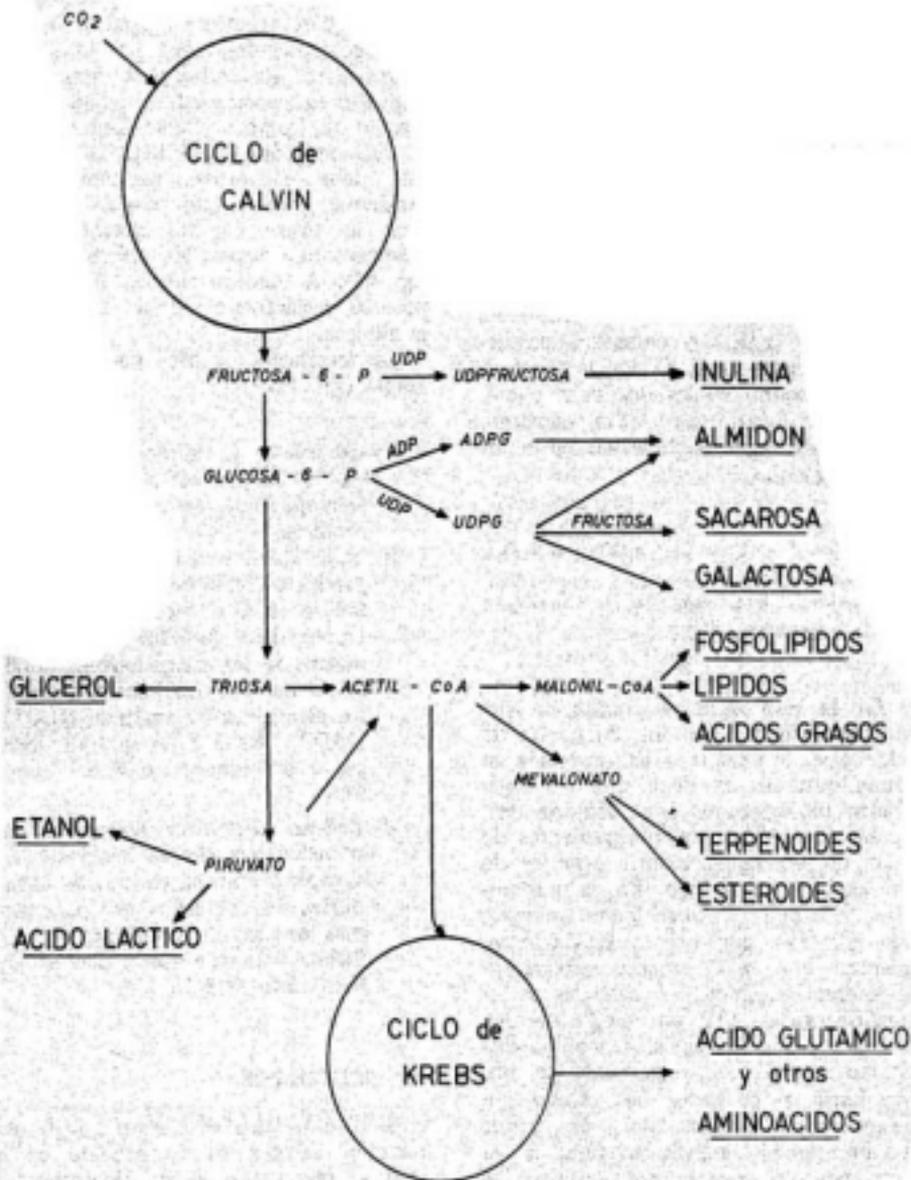


Figura 40. Principales sustancias sintetizadas en la degradación de los azúcares.

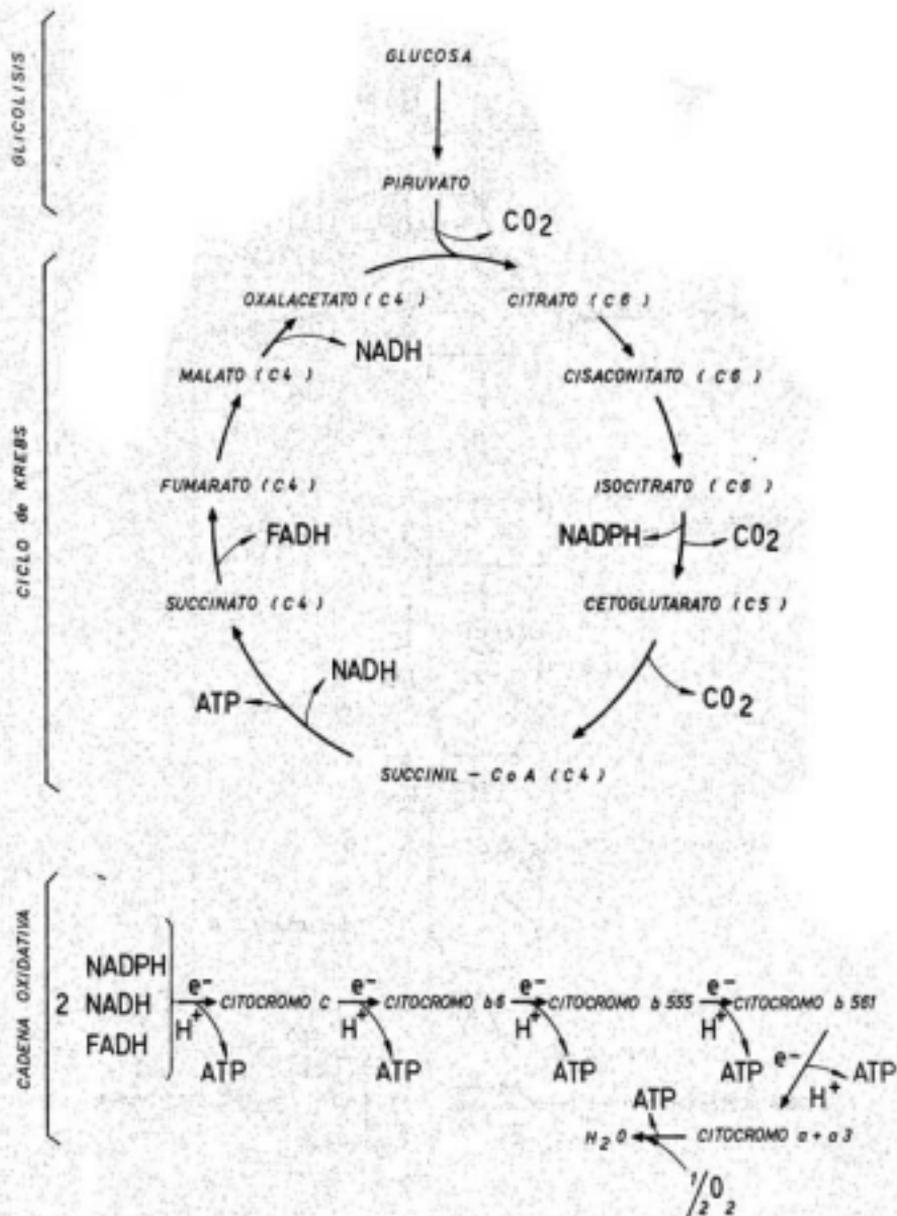


Figura 41. Esquema que representa los tres procesos fundamentales de la respiración aerobia.

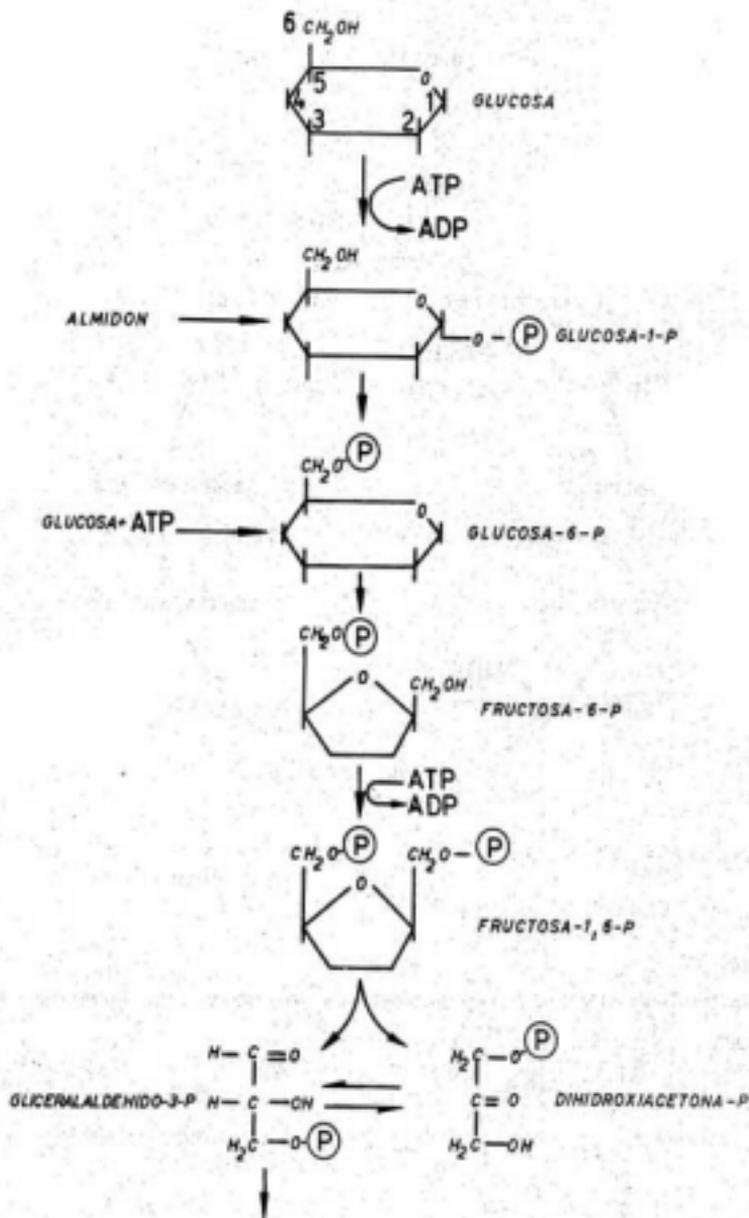


Figura 42. Esquema que muestra la secuencia de reacciones que ocurren en la glicólisis y en el ciclo de Krebs.

Figura 42. (Continuación).

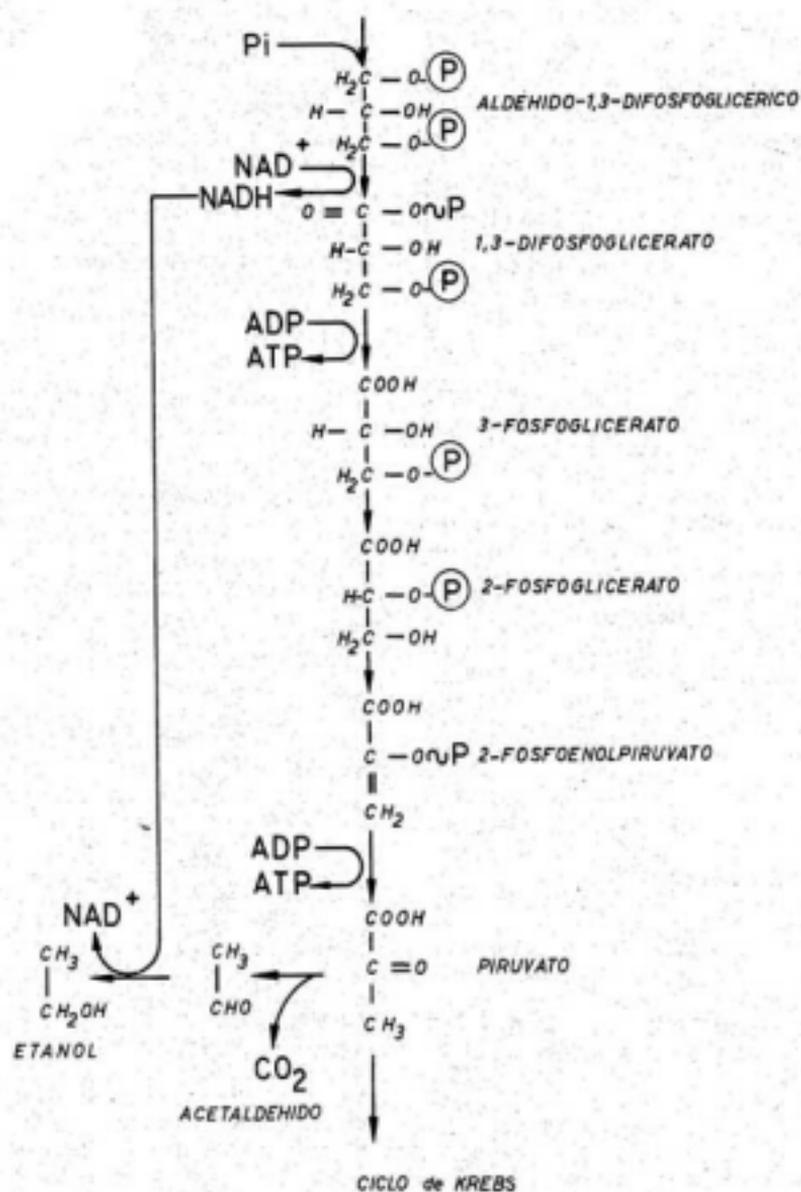
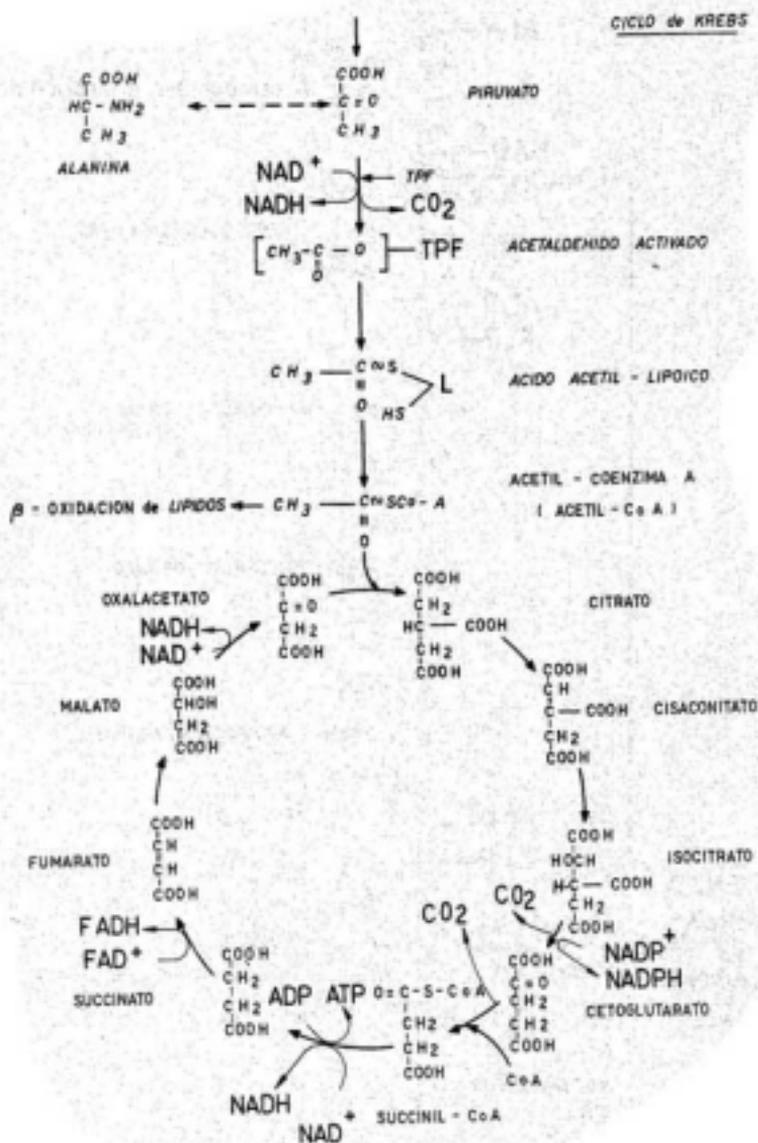


Figura 42. (Continuación).



do a la secuencia ordenada de las reacciones anaerobias y aerobias, a ambas se las considera bajo el nombre genérico de respiración. En las células vegetales, la energía proviene en su mayor parte de los hidratos de carbono. Los azúcares pueden originarse directamente en la fotosíntesis o en la degradación de los polisacáridos de reserva. La glucosa, que se interconvierte fácilmente en fructosa, sufre en el hialoplasma una serie de transformaciones anaerobias que la convierten en ácido pirúvico, proceso al que se denomina *glucólisis* (de *glico*=dulce) o *glucólisis de Embden-Meyerhof*. Las diferentes reacciones y las coenzimas que intervienen se indican en la figura 42. La primera reacción es la fosforilación de la D-glucosa por una fosfotransferasa que transporta el grupo fosforilo del ATP al C-6 de la hexosa. La glucosa-6-fosfato se transforma por acción de una isomerasa en fructosa-6-fosfato. A esta sustancia se le incorpora otro grupo fosfato cedido por una segunda molécula de ATP, reacción mediada por otra fosfotransferasa, y se origina fructosa-1, 6-difosfato. Este azúcar difosforilado se escinde, por acción de la aldolasa, en dos triosas-fosfato: aldehído-D,3-fosfoglicérico y fosfato de dihidroxiacetona.

Estas dos triosas fosforiladas se hallan en equilibrio entre sí y su interconversión es catalizada por otra isomerasa. El próximo paso es una reacción redox, en la cual el aldehído 3-fosfoglicérico cede electrones a un aceptor, el NAD⁺ o el NADP⁺, coenzimas de las deshidrogenasas, y se convierte en ácido D-3-fosfoglicérico. En esta reacción existen algunas etapas intermedias: la molécula de aldehído 3-fosfoglicérico incorpora otro fosfato en una unión éster y forma aldehído 1,3-difosfoglicérico que inmediatamente es oxidado a ácido D-1,3-difosfoglicérico. La oxidación de este éster forma un acilfosfato de alto potencial energético que, por intermedio de una cinasa, se transfiere al ADP para generar una molécula de ATP y una de 3-fosfoglicerato. Esta última sustancia

pierde una molécula de agua en una reacción mediada por la enzima enolasa y se convierte en fosfoenolpiruvato y ADP para producir piruvato y ATP. En esta serie de reacciones que ocurren en el citoplasma, cada molécula de hexosa origina 2 moléculas de ácido pirúvico y 4 de ATP (2 por cada compuesto de 3 carbonos), mientras que se utilizan 2 de ATP para fosforilar los azúcares. Esto arroja, desde el punto de vista energético, una ganancia de 2 ATP por mol de glucosa transformada a piruvato y, además, se reducen 2 moléculas de NAD⁺ en el paso (6).

El NADH es reoxidado por reducción del piruvato o por productos derivados de éste, como el aldehído acético. En este último caso se produce etanol. El ATP se reconvierte en ADP en las reacciones acopladas endergónicas que tienen lugar en el citoplasma por transferencia del último grupo fosfato.

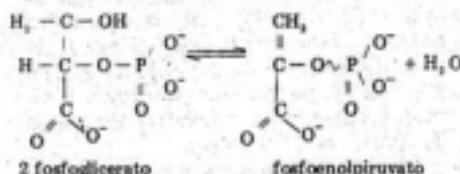
Como es evidente, las únicas reacciones de óxido-reducción son aquellas en las cuales intervino el NAD⁺ como aceptor de electrones. Es importante recalcar tres características importantes de la glucólisis: 1) todos los intermediarios entre la glucosa y el ácido pirúvico son ésteres del ácido fosfórico; 2) las 11 enzimas que intervienen en el proceso existen en solución en la porción no diferenciada del citoplasma; y 3) el proceso no requiere oxígeno.

La primera característica requiere una explicación. Para que comience la degradación de la hexosa, ésta primero debe fosforilarse. Esta fosforilación, iniciadora de la glucólisis, es imprescindible en razón de que al degradarse el sustrato la transferencia de energía al ATP se realiza por medio de los fosfatos incorporados en este proceso. Además, los ésteres fosforilados de las hexosas que se sintetizan, a diferencia de la glucosa, los fosfatos y el ácido pirúvico, no pueden atravesar las membranas celulares y en consecuencia el proceso glucolítico se compartimentaliza en cada célula.

Se debe señalar, además, que las diversas enzimas de la glucólisis están

adaptadas para actuar solamente sobre los sustratos fosforilados.

En la reacción (10) de la glicólisis se genera una molécula de ATP, no obstante haberse expresado antes que sólo en las reacciones de óxido-reducción es donde se obtiene la energía en forma de $\sim P$.



A primera vista parece que en la reacción arriba desarrollada no ocurriera oxidación ni reducción, sino sólo una eliminación de agua. En realidad, lo que sucede es una "óxido-reducción intramolecular", que provoca un cambio en la energía interna de la nueva molécula, haciendo que el fosfoenolpiruvato se convierta en un compuesto de alta energía.

Esto se debe a que los electrones del C 2 de su molécula están más concentrados que en el 2-fosfoglicerato, no sólo por el doble enlace (4 electrones compartidos), sino por la menor distancia y ángulos con que los otros átomos rodean a ese carbono. Esta disposición hace que los grupos carboxilo y fosfato sean atraídos con mayor fuerza que en la otra molécula. Esto explica, entonces, la ecuación siguiente:

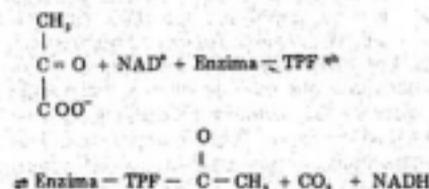


2. CICLO DE KREBS

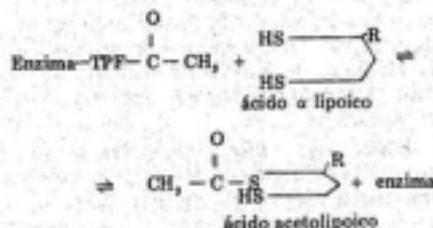
El ácido pirúvico, producto final de la glucólisis, pasa del citoplasma no diferenciado a las mitocondrias, donde es completamente oxidado y descarboxilado en una serie de reacciones que constituyen un ciclo y en el cual inter-

vienen ácidos orgánicos tricarbóxicos y un sistema multienzimático llamado *cicloforosa*. Durante las oxidaciones (des-hidrogenaciones) se transfieren electrones de alto potencial energético al NAD^+ , al NADP^+ y al FAD^+ .

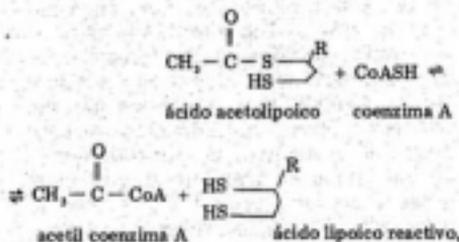
El ácido pirúvico en la mitocondria es primeramente deshidrogenado (el NAD^+ actúa como aceptor de electrones) y descarboxilado por una enzima cuya coenzima es la tiamina pirofosfato (TPF):



El grupo acetaldehído es transferido luego al ácido α lipoico, coenzima transportadora de grupos acilos:



El ácido acetilipoico reacciona con la coenzima A para producir acetil-coenzima A (acetil-CoA) y liberar el ácido lipoico:



El acetyl-CoA o ácido acético "activado" es un producto muy reactivo, debido a su contenido energético alto (mayor que el del ATP), y a través de él se completa la degradación en el ciclo de Krebs, no sólo de los azúcares, sino también de los lípidos y de numerosos aminoácidos.

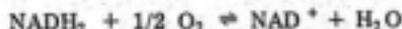
El ciclo se inicia con la condensación del ácido oxalacético y el acetyl-CoA para producir ácido cítrico que se isomeriza a ácido isocítrico. Este ácido sufre una descarboxilación y una deshidrogenación (oxidación) originando ácido α cetoglutarico, que a su vez vuelve a descarboxilarse. El ácido succínico resultante se combina con la CoA y al hidrolizarse el compuesto genera una molécula de ATP, que al deshidrogenarse se convierte en ácido fumárico. Con la adición de agua y una nueva deshidrogenación se produce ácido málico y se regenera el ácido oxalacético, completándose así el ciclo.

Al analizar los procesos bioquímicos se destaca que, en una revolución del ciclo de un mol de ácido acético "activado", se han originado 2 moles de CO_2 , 2 de NADH, 1 de NADPH, 1 de FADH y 1 de ATP.

Por lo tanto, la función fundamental del ciclo es transferir electrones de alto potencial redox al NADP^+ , NAD^+ y FAD^+ , y degradar completamente a CO_2 la molécula de ácido acético, con una pequeña ganancia de energía almacenada en el único ATP formado. Además, muchos intermediarios del ciclo se utilizan como materia prima en diversas reacciones de síntesis que ocurren en la célula.

3. CADENA OXIDATIVA

La tercera etapa del flujo de electrones consiste en el traslado de éstos desde el NADH, NADPH y FADH, que los han aceptado durante el funcionamiento del ciclo de Krebs, hasta el oxígeno del aire (fig. 41):



Los electrones (y protones) son transferidos por medio de una cadena de enzimas transportadoras ordenadas en una secuencia según los potenciales redox de sus coenzimas. En las plantas, los compuestos que hasta el momento se ha probado que intervienen en este proceso son las flavoproteínas (FMN y FAD), los citocromos c, b, b_6 , b_{558} y b_{562} , y un complejo integrado por los citocromos a y a_3 , que es el que en una última reacción cede los electrones al oxígeno, por lo cual ha recibido el nombre de *enzima respiratoria* o *citocromo oxidasa*. Como desde el NADH al oxígeno existe una diferencia muy grande de potencial, la caída energética se realiza por medio de numerosos pasos a través de la cadena ya mencionada. La energía liberada en cada transferencia se utiliza para generar ATP a partir de ADP y fosfato, por medio de intermediarios no fosforilados aún desconocidos. Este sistema asegura una alta eficiencia, dada la relativa escasa energía que se disipa como calor.

Los citocromos son enzimas constituidas por una proteína y un grupo prostético, fuertemente coloreado, denominado hemo por su relación con la hemoglobina de la sangre. En la estructura del hemo intervienen una porfirina y el hierro, que puede existir en estado oxidado (Fe^{+++}) o reducido (Fe^{++}). Esta propiedad le permite actuar como transportador de electrones, pero muy pocos citocromos pueden cederlos directamente al oxígeno molecular, excepto el complejo de citocromos a + a_3 .

SUSTANCIAS DESACOPLANTES DE LA FOSFORILACION OXIDATIVA

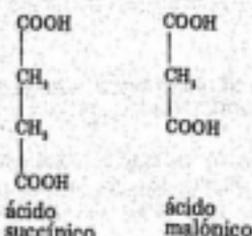
Existen sustancias como el dinitrofenol, fenilhidrazonas, etcétera, que bloquean la síntesis del ATP durante la respiración.

Cuando esto se produce, el consumo de oxígeno aumenta, lo cual indica que el proceso se realiza a mayor velocidad. Es un fenómeno análogo al desembrague de un motor de automóvil: en estas

condiciones el motor acelera su funcionamiento. Este comportamiento hace deducir que el proceso que limita normalmente la intensidad respiratoria es la síntesis de ATP y, más precisamente, la disponibilidad de ADP y de fósforo inorgánico.

SUSTANCIAS INHIBIDORAS DE LA RESPIRACION

Existen sustancias químicas que inhiben de manera reversible o irreversible la respiración. Los narcóticos (morfina, etcétera) desnaturalizan las enzimas de manera irreversible, mientras que otros compuestos afectan la actividad de una enzima, o de varias, compitiendo con el sustrato por el sitio activo de ella formando combinaciones inactivas. El ácido monoóxido acetato inhibe a la deshidrogenasa del fosfogliceraldehído que actúa en la glicólisis, bloqueando así tanto la respiración como la fermentación. Los fluoruros también inhiben la glicólisis al inactivar la enolasa y, el fluoracetato, al ciclo de Krebs, al formar ácido fluorocéftrico que impide la acción de la aconitasa, acumulándose así ácido cítrico. El ácido malónico compete por la enzima con el ácido succínico, en el ciclo de Krebs, debido a que posee una estructura similar:



Si el ácido malónico se incorpora en cantidad suficiente a los tejidos, el ciclo de Krebs se interrumpe. El monóxido de carbono y los cianuros se combinan con el citocromo a₃, que forma parte

de la oxidasa respiratoria, impidiendo que los electrones sean transferidos al oxígeno. Existen especies en las cuales los cianuros afectan muy poco la respiración, pero todavía no se ha explicado este comportamiento. El arsénico también paraliza el proceso respiratorio inhibiendo la oxidación del ácido α-lipoico (coenzima transportadora del grupo acetilo del ácido pirúvico a la coenzima A).

BALANCE ENERGETICO DE LA RESPIRACION AEROBIA DE UNA HEXOSA

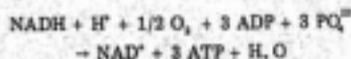
En la reacción $C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightleftharpoons 6CO_2 + 6H_2O$, el cambio de energía libre de la reacción (ΔF) es de $-688 \text{ kcal mol}^{-1}$. El signo negativo indica que la reacción es exergónica, es decir que los productos contienen menos energía que las sustancias reaccionantes. Si el cambio en energía libre de la reacción en la cual el ATP se hidroliza es de aproximadamente $8500 \text{ cal mol}^{-1}$,



$$\Delta F = -8.500 \text{ cal. mol}^{-1}$$

teóricamente se deberían originar durante la respiración completa de una hexosa $80 \sim P$, puesto que $688.000/8500 = 80$. En el proceso de glicólisis se obtiene una ganancia neta de 2 ATP (4 sintetizados y 2 consumidos en la fosforilación de la hexosa) y 2 NADH; uno por cada molécula de aldehído fosfoglicérico oxidado a difosfoglicerato. En el ciclo de Krebs se generan, por cada molécula de ácido pirúvico incorporada: 1 NADPH, 3 NADH, 1 FADH y 1 ATP.

Cuando, en la cadena oxidativa, una molécula de NADH o NADPH se oxida, se sintetizan 3 ATP, según esta ecuación:

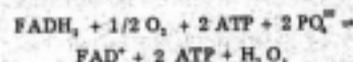


Esta eficiencia se expresa por la relación:

$$\frac{P}{O} = \frac{\text{equivalentes de PO}_4^{\text{M}} \text{ esterificado}}{\text{átomos de oxígeno consumidos}}$$

En el caso de la oxidación de un NADH o un NADPH, el valor $\frac{P}{O} = 3$;

mientras que cuando lo hace un FADH, de acuerdo con esta ecuación:



la relación $\frac{P}{O} = 2$.

Según estas cantidades, el balance energético sería:

A nivel del sustrato	$\left\{ \begin{array}{l} \text{glucólisis} \\ \text{ciclo de Krebs} \end{array} \right.$	2 NADH	2 ATP
		6 NADH 2 FADH 2 NADPH	2 ATP
A nivel de la cadena oxidativa	$\left\{ \begin{array}{l} \text{por la oxidación de 8 NADH} \\ \text{por la oxidación de 2 NADPH} \\ \text{por la oxidación de 2 FADH} \end{array} \right.$		24 ATP
			6 ATP
			<u>4 ATP</u>
		Total:	38 ATP

Este balance significa que la oxidación de una molécula-gramo de glucosa origina 38 de ATP en lugar de los 80 que teóricamente se deberían producir; por lo tanto, la eficiencia del proceso respiratorio es de $38/80 \times 100 = 47,5\%$. Este valor es alto si se lo compara con el de las máquinas térmicas, que utilizan la combustión como fuente de calor y en las que, como máximo, se obtiene el 35%. Además, se debe tener en cuenta que, en la planta, la energía que no aparece como ATP ni como calor permanece incorporada en los numerosos intermediarios que han sido utilizados para la síntesis de otros compuestos y

no han seguido el camino de su degradación total (fig. 42).

COCIENTE RESPIRATORIO

Se denomina *cociente respiratorio* (CR) a la relación $\frac{\text{CO}_2 \text{ liberado y su}}{\text{O}_2 \text{ absorbido}}$ valor depende del sustrato respirado.

Si es un hidrato de carbono, el CR arroja un valor de 1; un lípido, 0,7; una proteína, 0,8; y un ácido orgánico, mayor de 1. Estas cifras están dadas fundamentalmente por la relación C/O de los sustratos. Si se compara la molécula de un hidrato de carbono con una de un ácido orgánico se observa que en

esta última la relación C/O es menor que en la primera y, por lo tanto, requerirá menos oxígeno exógeno para su oxidación total. En el caso de las grasas y proteínas la relación es inversa, y en los carbohidratos es igual a la unidad. Normalmente, los sustratos que se respiran en las plantas de manera predominante son los azúcares; por lo tanto, el CR varía entre 0,97 y 1,17. En ciertos casos, como la germinación de semillas con reservas de lípidos o cuando el acceso de O_2 a las células se halla restringido y el proceso respiratorio deriva a la fermentación, el CR tiene un valor menor que la unidad. Si bien la tempe-

ratura no modifica el CR directamente, lo puede hacer al actuar sobre algunos procesos bioquímicos en los cuales se produce la conversión de grasas a azúcares y de éstos a ácidos orgánicos, como ocurre frecuentemente en frutos y semillas.

La variación del CR se puede observar normalmente en los órganos envejecidos, como las hojas de ciertas especies en el otoño, en las cuales respiran las grasas por ausencia de azúcares, o como sucede en las plantas colocadas en la oscuridad durante un tiempo prolongado.

FERMENTACION

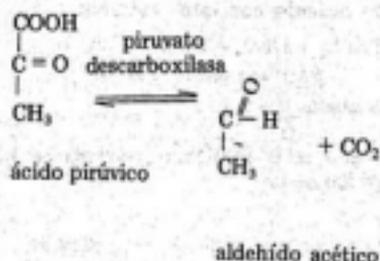
En la introducción del capítulo se ha definido como fermentación al proceso oxidativo en el cual una sustancia orgánica, derivada del propio sustrato, actúa como aceptor de electrones y se libera energía en la reacción.

En las plantas superiores, la fermentación es el otro camino metabólico oxidativo que suministra energía en ausencia de oxígeno. Para estos organismos es un camino alternativo que funciona sólo en anaerobiosis. Muchas especies de bacterias se comportan de la misma manera: en presencia de oxígeno degradan los azúcares cediendo los electrones al oxígeno, pero en ausencia de éste fermentan el sustrato. Se los denomina, debido a este comportamiento, *anaerobiontes facultativos*.

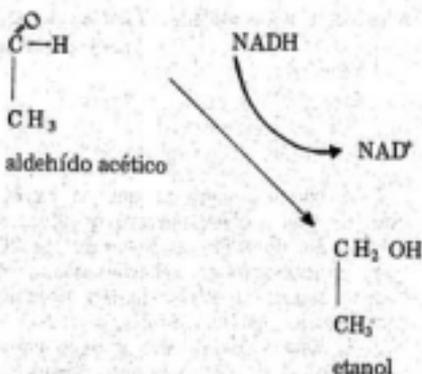
Otras especies llamadas *anaerobiontes obligados* carecen de los mecanismos para transportar los electrones al oxígeno, de manera que, aun en presencia de este aceptor, obtienen energía solamente por fermentación.

Los organismos inferiores pueden fermentar una gran variedad de sustancias orgánicas, como por ejemplo ácidos, aminoácidos, lípidos, azúcares, etcétera.

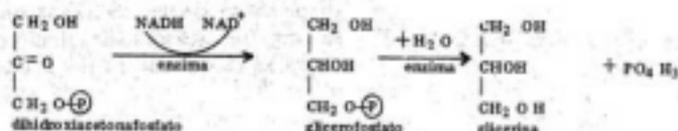
Las plantas superiores y la mayoría de las bacterias fermentan, por lo general, la glucosa. Este azúcar se degrada durante la glicólisis —proceso común a la respiración y fermentación— y produce ácido pirúvico. En ausencia de oxígeno, el ácido pirúvico se descarboxila y se forma aldehído acético a la vez que se libera CO_2 .



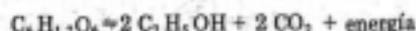
El aldehído acético recibe los electrones del NADH generado en la oxidación del 3-fosfogliceraldehído (paso 6 de la glicólisis) y se reduce a etanol en una reacción catalizada por la deshidrogenasa alcohólica:



Si la cantidad de aldehído acético está en deficiencia con relación a la del NADH, el aceptor de electrones es la sustancia dihidroxiacetonafofato, que se reduce para producir finalmente glicerina:



La fermentación alcohólica, resumida, se puede representar de la siguiente forma:



La oxidación del 3-fosfogliceraldehído y la reducción siguiente del aldehído acético generan solamente dos moléculas de ATP, pues la mayor parte de la energía contenida originalmente en la molécula de glucosa se conserva en las dos moléculas de etanol. La energía libre de la reacción, en la cual una molécula-gramo de glucosa produce 2 moléculas-gramo de etanol y 2 de dióxido de carbono, libera 54.000 calorías. En la planta se obtienen 17.000 calorías resultantes de la síntesis de 2 ATP (2 x 8.500 calorías = 17.000 calorías). Por lo tanto, la eficiencia del sistema biológico es de sólo el 30 % (17.000/54.000 x 100 = 30 %).

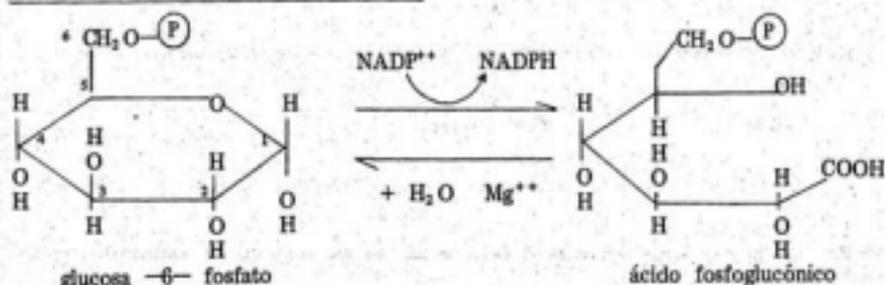
La ganancia energética de la fermentación es reducida y normalmente consume una gran cantidad de sustrato para satisfacer los requerimientos de las células. Se debe destacar que, si un tejido se halla fermentando azúcares para satisfacer sus necesidades de energía, la presencia de oxígeno inhibe la fermentación ("Efecto Pasteur") y el proceso

sigue la vía de la respiración aerobia. Este cambio trae como consecuencia una disminución de la intensidad de degradación de los azúcares.

La fermentación es un proceso normal en las plantas superiores debido a la deficiencia de oxígeno que padecen diversos tejidos que se encuentran recubiertos de estructuras impermeables o porque el acceso de este elemento de alguna manera se encuentre afectado. La fermentación es común en semillas, meristemas apicales protegidos por escamas, raíces en suelos anegados, etcétera.

CICLO DE LAS PENTOSAS

Normalmente, la glucosa, además de degradarse en la glucólisis, el ciclo de Krebs y la cadena oxidativa, lo hace por oxidación directa (deshidrogenación) en presencia de NADP⁺ en una serie de reacciones que componen un ciclo. Para iniciar la cadena de reacciones la glucosa debe, como en la glucólisis, fosforilarse a glucosa-6-fosfato, la cual cede un hidrógeno al NADP⁺, en una reacción catalizada por una deshidrogenasa, transformándose así -con ganancia de agua- en ácido 6-fosfogluconico:



El ácido fosfogluconico pierde otro electrón en el C-3 y reduce al NADP⁺

en presencia de una deshidrogenasa y, a su vez, se descarboxila eliminando el C-1 para convertirse en ribosa-5-fosfato:

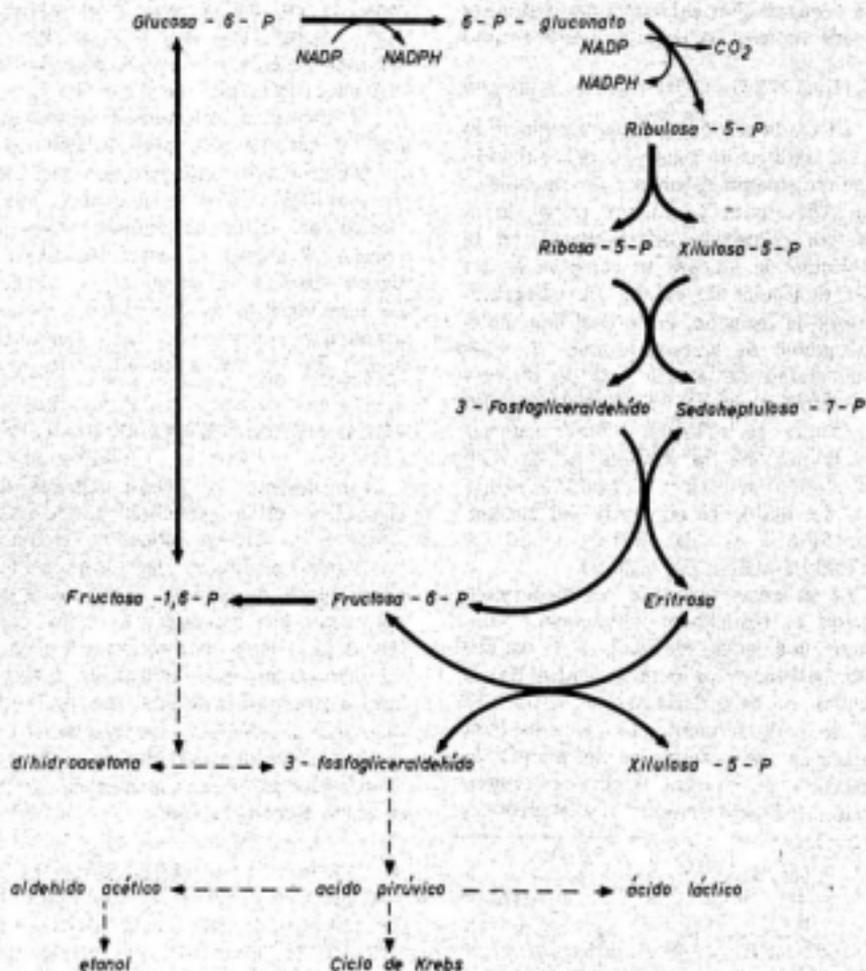
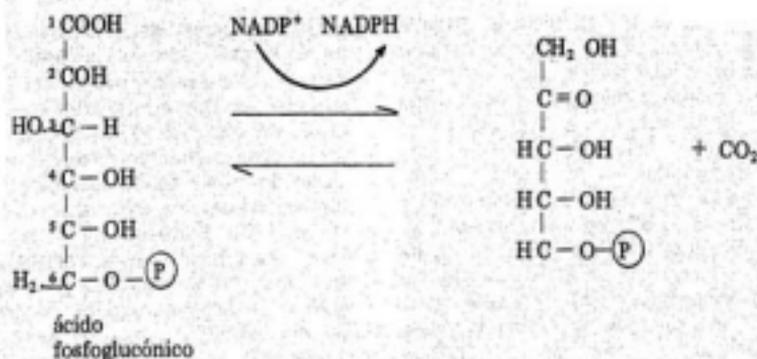


Figura 43. Esquema que representa el ciclo de las pentosas (esquema de Warburg-Dickens-Horcker).



La regeneración de la glucosa-6-fosfato, que cierra el ciclo, se produce mediante una serie de reacciones complicadas en las cuales, además de la ribosa-5-fosfato, intervienen otros azúcares, como se muestra en la figura 43. El ciclo de las pentosas existe en las plantas superiores, levaduras y bacterias, principalmente en aquellos tejidos de actividad anabólica intensa. No está comprobado su funcionamiento en el citoplasma de las células de las hojas verdes expuestas a la luz, pero es operativo en los cloroplastos. Se considera que no es un camino metabólico alternativo, sino que funciona simultáneamente con la glicólisis, aun en aerobiosis. En el proceso no se genera ATP, no se requiere oxígeno y se degrada una hexosa cada 6 vueltas del ciclo.

La función es suministrar a la célula poder reductor en forma de NADPH y grupos carbonados (ribosa, eritrosa, aldehído fosfoglicérico) para la síntesis de otros compuestos. Si la actividad de síntesis disminuye se acumula NADPH, con lo cual la disponibilidad de NADP⁺ decrece hasta que gradualmente el ciclo deja de funcionar. La inhibición es reversible, pues el ciclo nuevamente se activa si la coenzima es oxidada.

Los productos del ciclo de las pentosas, como los de la glicólisis, pueden seguir degradándose a través del ciclo de Krebs.

MÉTODOS PARA MEDIR LA RESPIRACION "OSCURA"

Si se analiza la ecuación general de la respiración (véase pág. 91) es fácil comprender que la medición de la actividad respiratoria se puede determinar por: 1) el O₂ consumido (si la respiración es aerobia); 2) el CO₂ liberado; 3) la disminución de la materia seca oxidada; o 4) la energía producida.

Los métodos más usados se basan en la medición del CO₂ producido o del O₂ consumido. La determinación cuantitativa de estos gases se realiza en la actualidad con instrumentos muy precisos, aunque complejos.

1) MÉTODOS BASADOS EN EL CO₂ LIBERADO

Son similares a los descritos para la medición de la intensidad fotosintética (véase pág. 82). Como la operación debe realizarse en la oscuridad, no es necesario efectuar correcciones, ya que en estas condiciones la fotosíntesis y la fotorrespiración son nulas.

2) MÉTODOS BASADOS EN LA ABSORCIÓN DEL O₂ CONSUMIDO

El microrrespirómetro de Warburg es un excelente aparato, siempre que el

material vegetal sea de pequeño tamaño. Por lo general se lo usa para microorganismos, células aisladas, semillas y trozos de tejidos u órganos. Su descripción y el fundamento de su funcionamiento ya los hemos dado (véase pág. 84). Para la medición del O_2 se coloca el material vegetal en el vaso, generalmente suspendido en agua o en una solución "buffer". En la tacita central se vierte una solución concentrada de KOH para eliminar de la fase gaseosa el CO_2 . En estas condiciones, los cambios de presión que acuse el manómetro serán causados por el consumo de O_2 .

Este método es muy exacto, pero su limitación principal consiste en que no puede usarse para medir la respiración de plantas grandes enteras.

Otro sistema para medir la cantidad de O_2 consumido es la *polarografía*. Esta se basa en la polarización (adquisición de cargas eléctricas) de un electrodo de oro por acción del O_2 . Si se hace circular una corriente entre este electrodo y un ánodo de plata, ambos sumergidos en una solución de ClK , la cantidad de corriente que pasa entre ellos depende de la concentración de O_2 en el medio. Se utiliza para organismos que viven sumergidos (algas, bacterias).

Un método poco exacto, pero muy utilizado con fines didácticos, es el volumétrico. El aparato más práctico y sencillo es el ideado por *Thoday* (fig. 44), que se basa en la medición del vo-

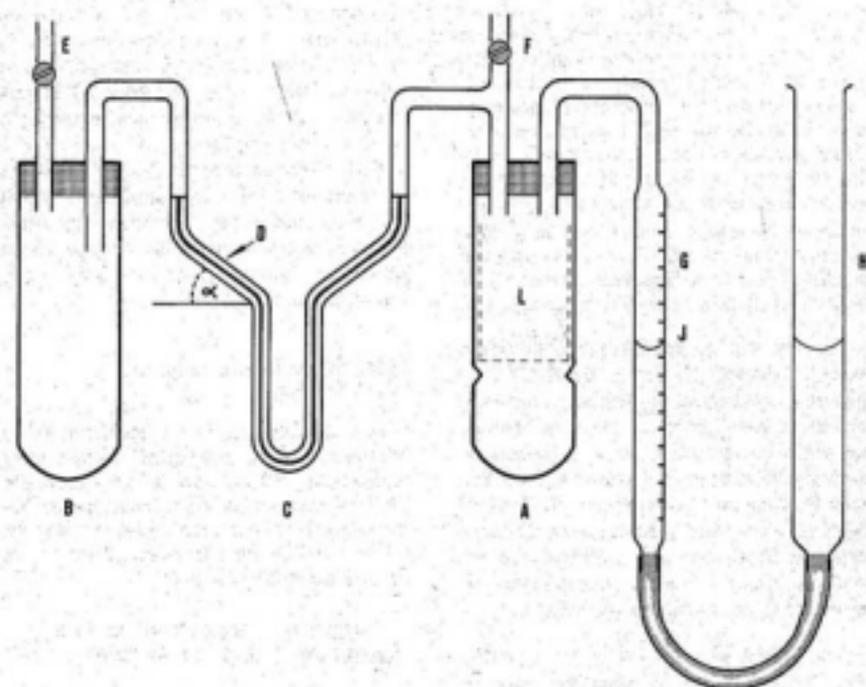


Figura 44. Esquemática del respirómetro de Thoday.

lumen de O_2 consumido en ausencia de CO_2 , cuando se mantiene constante la presión y la temperatura. El material vegetal (plántulas, semillas, hojas, etcétera), se coloca en el recipiente *A*, en el interior de un cilindro de malla de acero inoxidable *L*. Las llaves *E* y *F* permiten equilibrar el sistema con la atmósfera. El manómetro *C*, colocado entre el termobarómetro *B* y el recipiente *A*, tiene por función detectar cambios de presión de manera de poder mantenerla constante subiendo o bajando el depósito de agua *H* saturada de $ClNa$. En el fondo del recipiente *A* se coloca una solución concentrada de álcalis (KOH o $NaOH$) con el objeto de absorber el CO_2 liberado. En estas condiciones, los cambios de volumen medidos en la pipeta graduada *G* se deben al consumo de O_2 por la respiración del material colocado en *L*.

La respiración de las plantas colocadas en una cámara cerrada se puede determinar midiendo los cambios en la concentración de O_2 por las propiedades paramagnéticas* de este gas. Un instrumento por donde pasa el aire de la cámara mide la susceptibilidad magnética de éste, determinada casi exclusivamente por la cantidad de O_2 . De esta manera, calibrando el instrumento se pueden apreciar cambios muy pequeños en el O_2 consumido.

MAGNITUD DE LA RESPIRACION

El proceso respiratorio ocurre en toda célula viva y su intensidad está correlacionada de manera directa con su actividad metabólica. Por lo tanto, la respiración es un parámetro que mide indirectamente a ésta. Estos conceptos

*Sustancias paramagnéticas son aquellas que tienden a entrar en un campo magnético. Esta propiedad está asociada al momento magnético dipolar de los electrones, debido a su movimiento sobre sí mismos (*spin*).

se comprenden mejor si se tiene en cuenta que el factor que normalmente regula la intensidad respiratoria es la disponibilidad de ADP. Si el consumo de la célula es grande, la transferencia de grupos $\sim P$ del ATP a procesos endergónicos será también alta y, por consiguiente, mayor cantidad de ADP quedará disponible para ser fosforilado nuevamente. Surge de esta explicación la necesidad de considerar la relación *materia viva/materia inerte* cuando se compara la intensidad respiratoria de las plantas o de algunas partes de ellas.

De dos individuos de igual peso seco respirará de manera más acelerada aquél que contenga mayor número de protoplasma activo; igual comportamiento se observará en órganos, tejidos o células aisladas. Por lo tanto, es importante la manera en que se expresa la respiración, es decir qué base de referencia se tiene en cuenta para el cálculo.

Se usan comúnmente cuatro unidades para hacerlo: 1) peso fresco; 2) peso seco; 3) cantidad de proteína o de nitrógeno celular, y 4) número de células.

Si se mide la respiración de una planta anual durante todo el ciclo de vida, tomando como unidad de referencia el peso seco, se observa que es mínima en la semilla en reposo, que aumenta durante la germinación hasta el estado de plántula y que luego disminuye progresivamente con la edad. En cambio, si se expresan los valores por unidad de nitrógeno celular, se encuentra que, a partir del estado de plántula, la respiración aumenta constantemente hasta su madurez y muerte. En el primer caso, la respiración decreciente que ocurre con la edad se debe al aumento de material inerte que no respira (xilema, paredes celulares, etcétera). En el segundo, a un incremento de los procesos catabólicos que ocurren cuando las células envejecen.

Sobre la base del peso seco, la respiración más activa se ha determinado en los meristemas que se hallan en la fase de alargamiento celular, en los embriones durante la germinación, en las inflo-

rescencias y en los frutos. En el girasol, la respiración del capítulo es el doble que la de las hojas y diez veces más que la del tallo. En *Phaseolus vulgaris*, las legumbres en crecimiento respiran tanto como las hojas, los tallos y las raíces en conjunto. Es mínima, en cambio, en las esporas, semillas y órganos de reserva (tubérculos, bulbos, rizomas) en estado de reposo.

En relación con la cantidad de CO_2 fijada por fotosíntesis, la respiración "oscura" de una hoja representa una pérdida diaria del 5 a 10%. Considerando toda la planta, la pérdida puede representar hasta el 50% de la fotosíntesis real, según las condiciones ambientales.

INFLUENCIA DE LA EDAD

La respiración, considerada sobre el peso seco total, no es constante durante todo el ciclo de vida de una planta. Es mínima en la semilla en reposo, presenta un máximo durante la germinación, se mantiene alta hasta el estado de plántula y luego decrece progresivamente hasta la madurez y muerte. Este comportamiento es similar al de muchos órganos en el transcurso de su ontogenia, con pequeñas variaciones que dependen de la especie. Algunos ejemplos servirán para aclarar los conceptos. Una semilla de girasol en reposo respira $0,2 \text{ mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ pero durante la germinación aumenta a 2 mg, y disminuye en la plántula de 4 días de edad a 1,4 mg. Al considerar una hoja joven de la misma especie se ha determinado que respira $3 \text{ mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ pero que cuatro meses después, respira sólo 0,3 mg. En muchos frutos (bananas, peras, manzanas, ciruelas, tomates, etcétera), la respiración es intensa durante el crecimiento de sus distintas partes; pero paulatinamente disminuye, a medida que transcurre la maduración, hasta un momento de la ontogenia de este órgano en el cual sufre un brusco incre-

mento ("aumento climatérico") para posteriormente decrecer constantemente hasta un mínimo. Este fenómeno marca la transición entre la fase de madurez y de senectud del fruto. El "aumento climatérico" no parece presentarse en otras especies (naranja, limón, pomelo, melón, etcétera) o, si ocurre, es poco apreciable. Este fenómeno se debe a la mayor disponibilidad de ADP a causa del consumo alto de ATP durante la maduración, si bien algunos autores hablan de la síntesis de una sustancia, aún desconocida, que desacoplaría la fosforilación oxidativa, acelerando de esta manera el consumo de oxígeno.

INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA

La respiración ocurre en toda la serie de temperaturas compatible con los procesos vitales de las células, pero este factor y la luz son los que modifican de manera más acentuada su intensidad.

La respiración no es una reacción aislada, sino un fenómeno en el cual intervienen procesos físicos (difusión de O_2 y CO_2), químicos (glucólisis, ciclo de Krebs, etcétera) y biológicos (apertura y cierre de estomas, transporte a través de membranas, etcétera). Por lo tanto, como cada uno responde en forma distinta a la temperatura, el efecto de este factor representa el balance final de una serie de pasos que se suceden con velocidades diferentes.

Los tejidos vegetales respiran, aunque de manera reducida, a temperaturas bajo cero, si el citoplasma no ha sido dañado por coagulación de sus proteínas o por una formación de cristales de hielo que provoque su desorganización.

En la mayor parte de las especies, a medida que la temperatura aumenta la respiración se hace más intensa, con un valor del coeficiente térmico (Q_{10}) que varía entre 2 y 5. En otras palabras, por cada aumento de temperatura de 10°C la respiración se duplica o quin-

tupica. El valor del Q_{10} no es igual a cualquier temperatura; si fuera constante, la respiración aumentaría de manera casi exponencial, y esto ocurre solamente a temperaturas bajas (0-20 °C). En el trigo, el Q_{10} entre 0 y 10 °C es de 2,6, pero baja a 1,7 entre 20 y 30 °C. Si la temperatura sigue ascendiendo, la respiración decrece y, consecuentemente, baja el valor del Q_{10} . A partir de cierta temperatura —que depende de cada especie, pero que en general es mayor de 38 °C—, la desaceleración de la actividad respiratoria también está en función del tiempo de acción de aquella. Una temperatura alta mantiene una respiración también intensa si el lapso en que actúa no es prolongado. Si pasa de ciertos límites, la respiración decrece tanto más rápido cuanto más elevada es la temperatura. Esta respuesta del proceso a la acción de las dos variables —temperatura y tiempo— es reversible si la temperatura no es mayor de 45 °C, pero para la mayoría de las especies es irreversible por arriba de esta temperatura. La disminución de la intensidad respiratoria se explica a altas temperaturas por la menor actividad de las enzimas y por cambios en la viscosidad del citoplasma que restringe la solubilización del O_2 . El cese del proceso se debe a la desnaturalización de los sistemas enzimáticos dada su naturaleza proteica.

Antes se ha dicho que, cerca del 0 °C, la mayoría de las plantas respiran lentamente y aun menos debajo de esta temperatura. Existen algunas excepciones, empero, como por ejemplo ciertos líquenes, las raíces tuberosas de *Ipomoea batatas* y los tubérculos de *Solanum tuberosum*. Ciertas especies de líquenes respiran más intensamente a temperaturas cercanas al 0 °C que a los 15 °C. En los tubérculos de la papa, a medida que decrece la temperatura aumenta la respiración hasta un máximo que varía alrededor de los 6 °C. Este efecto se debe, en ambos casos, al incremento del contenido de azúcares solubles. Explica, además, el sabor dulce

de los tubérculos que han permanecido a bajas temperaturas durante cierto tiempo. Algunos hechos parecen indicar que este comportamiento se debe a la síntesis, a altas temperaturas, de un inhibidor de la fosforilasa que cataliza la hidrólisis del almidón. En ciertos casos es suficiente almacenar los tubérculos algunas semanas a baja temperatura para que luego, a 25 °C, la respiración se mantenga alta durante cierto tiempo.

Las especies de regiones frías respiran más intensamente que las de climas templados colocadas ambas a 20 °C. También, en este caso, la causa es la mayor acumulación de azúcares respirables.

INFLUENCIA DE LA LUZ

La luz inhibe de manera muy acentuada la respiración "oscura" en las células en las cuales se realiza fotosíntesis; en consecuencia, los órganos verdes iluminados liberan CO_2 en muy pequeñas cantidades, si en la especie no funciona el mecanismo de fotorrespiración. Esto significa que la fotofosforilación en los cloroplastos es la fuente de ATP más importante bajo estas condiciones. En los tejidos y órganos que no fotosintetizan por hallarse en la oscuridad o por carecer de cloroplastos (raíces, rizomas, tubérculos, parénquimas no clorofilanos, etcétera), la respiración no se afecta.

La irradiancia necesaria para retardar el proceso respiratorio es baja (5×10^4 erg cm^{-2} seg^{-1}) y es cercana a la del punto de compensación de luz. En general se requiere menos energía para detener la respiración "oscura" que para iniciar la fotorrespiración. De manera que, cuando se inicia el período diario de luz, la respiración "oscura" se inhibe antes que comience la fotorrespiración.

Existen algunos hechos que indican que este efecto de la luz se debe a que el ácido glicólico ($CH_2OH-COOH$), sin-

tetizado en el cloroplasto iluminado, pasa al citoplasma e inhibe la glicólisis en el paso (6) de la figura 42, en el cual se oxida el aldehído glicérico. Por este motivo disminuyen el fosfoglicemato, el fosfoenolpiruvato y el ácido pirúvico. La respiración "oscura" aumenta su intensidad a la luz si se bloquea la síntesis de ácido glicólico con el herbicida Diuron (diclorofenildimetilurea). Además, si a una hoja iluminada se le suministra ácido pirúvico o acético, el ciclo de Krebs y la cadena oxidativa funcionan normalmente. Otros autores, por otro lado, afirman que la disminución de la respiración en las células verdes en presencia de luz es causada por el alto consumo de ADP en la fotosíntesis, que deja poca cantidad disponible para fosforilar por la vía oxidativa.

INFLUENCIA DEL OXIGENO

La respiración "oscura" no es muy afectada por la concentración de oxígeno en la atmósfera. La respiración es nula en ausencia de oxígeno, pero aumenta en forma lineal a medida que este gas se incrementa hasta alcanzar el 2% aproximadamente. Por arriba de este valor, la respiración "oscura" no varía, es decir que el proceso se encuentra saturado. Si el tenor de oxígeno disminuye progresivamente existe un punto, que se halla alrededor del 0,5% para la mayoría de las especies, en que funcionan al mismo tiempo la respiración y la fermentación.

Es frecuente que, si bien la atmósfera que rodea a la planta contiene el porcentaje normal de oxígeno (21%), ciertos tejidos de ella dispongan de una cantidad mucho menor debido a las resistencias que encuentra el aire en su desplazamiento. Este fenómeno ocurre en órganos con barreras que restringen la difusión de los gases de la atmósfera, como son los escasos espacios intercelulares, las epidermis cutinizadas o sube-

rificadas, los tegumentos cerosos, etcétera, como por ejemplo en yemas, tubérculos, bulbos, semillas, etcétera.

Existen especies adaptadas anatómicamente a la carencia de oxígeno del medio circundante, como es el caso de las hidrófitas, que poseen tejidos especializados (parénquimas) para el intercambio de gases. Otras poseen una adaptación fisiológica que les permite tolerar por largo tiempo o excretar concentraciones relativamente altas del etanol producido durante la fermentación alcohólica. Un ejemplo típico es el arroz, cuyas raíces pueden vivir durante varias semanas en anaerobiosis, lo cual contrasta con las del trigo, que son dañadas rápidamente por este alcohol.

INFLUENCIA DEL DIOXIDO DE CARBONO

Los tenores de CO_2 que se pueden encontrar en los distintos ambientes donde viven los vegetales no modifican de manera apreciable la respiración "oscura". Solamente cuando la concentración en el aire sobrepasa el 5% —con 21% de O_2 — la respiración se reduce en la mayoría de las especies. Especialmente sensibles son ciertos frutos —peras y manzanas— y muchas semillas. Esta respuesta hace que, en una atmósfera enriquecida con CO_2 , la respiración de las peras y manzanas disminuya y se retarde la maduración y senectud. Otros frutos, como la frutilla, no modifican la respiración, ni aún aumentando considerablemente el CO_2 .

Los tubérculos de *Solanum tuberosum*, los bulbos del tulipán, la cebolla y las raíces de la remolacha azucarera tienen un comportamiento opuesto. Todos estos órganos duplican o triplican su respiración normal cuando se los coloca en una atmósfera que contiene 50% de CO_2 ; pero, a medida que esta concentración disminuye, la respiración va siendo inhibida hasta permanecer cons-

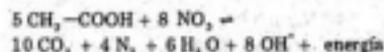
tante en el aire normal (0,03% de CO₂). Hasta el presente no se ha encontrado explicación a este fenómeno.

En ciertas ocasiones, cuando hay elevadas cantidades de CO₂ en el aire, el efecto de éste sobre la respiración es indirecto y se manifiesta a través de su acción sobre los mecanismos de cierre de los estomas, con lo cual se modifica el intercambio de gases.

RESPIRACION ANAEROBIA

Ciertas bacterias, durante la oxidación biológica de los sustratos orgánicos, utilizan una sustancia inorgánica como aceptor de electrones en lugar del oxígeno. Esta forma de obtener energía se denomina *respiración anaerobia*. Los organismos que poseen este mecanismo son anaerobios facultativos, pues pueden también utilizar el oxígeno, y sólo en su ausencia lo reemplazan por otras sustancias inorgánicas (nitratos, sulfatos, carbonatos). Durante la respiración anaerobia se genera ATP a nivel del sustrato y en la cadena oxidativa, en la cual intervienen citocromos como transportadores de electrones, al igual que en la respiración aerobia.

Algunos organismos, como el *Bacterium denitrificans*, en ausencia de oxígeno oxidan ácidos, azúcares y otras sustancias orgánicas* transportando los electrones a los nitratos. Cuando se usa acetato como fuente de electrones, la ecuación redox es la siguiente:

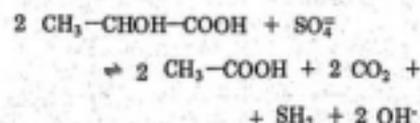


*La bacteria *Thiobacillus denitrificans*, en lugar de oxidar una sustancia orgánica utiliza azufre:



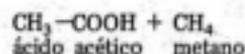
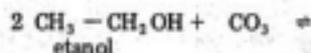
Para que este proceso ocurra se necesita, por lo tanto, una fuente de hidrógeno combinado (materia orgánica), presencia de nitratos y ausencia de oxígeno libre. Algunos autores los consideran heterótrofos. Estos organismos reducen el contenido de nitratos de los suelos al perderse el nitrógeno como gas. Es un fenómeno común en campos anegados con escaso oxígeno y abundante materia orgánica, pero de poca significación en suelos bien aireados. Se lo conoce como *desnitrificación*.

En otro tipo de respiración anaerobia, el azufre acepta los electrones de una sustancia orgánica que de esta manera se oxida; la respiración del ácido láctico por la bacteria *Desulfovibrio* sp. es un ejemplo de este mecanismo:



Como se observa en la ecuación, el proceso no es completo y se acumula ácido acético.

Existen bacterias anaerobias obligadas que oxidan compuestos orgánicos cediendo electrones a los carbonatos. Por ejemplo la bacteria *Methanobacterium omelianskii* oxida el etanol y reduce el carbonato a metano:



Este grupo de bacterias habita en la profundidad de los pantanos, en cuya superficie se pueden observar las burbujas del gas metano, y en el rumen de los bovinos, donde desarrollan una función importante en la degradación de los alimentos.

FOTORRESPIRACION

La fotorrespiración es un proceso por el cual algunos vegetales liberan CO_2 y consumen O_2 en presencia de luz. Se diferencia de la respiración "oscura" en que ocurre sólo a la luz y no aporta energía. Para la planta significa una pérdida de carbono y de energía, y su función en el metabolismo general no ha sido aún dilucidada.

El fenómeno se demuestra colocando una planta en un recipiente hermético, iluminado y en presencia de CO_2 . Bajo estas condiciones, siendo la fotosíntesis más intensa que la suma de la fotorrespiración y la respiración "oscura", consume paulatinamente el CO_2 . A medida que disminuye su concentración, la fotosíntesis decrece hasta un punto en el cual el consumo de CO_2 iguala al producido por la fotorrespiración y la respiración "oscura". La concentración, que desde este momento se mantiene en un estado estacionario fluido, se denomina *punto de compensación de CO_2* (PC- CO_2). Si la planta que se colocó en el recipiente no fotorrespira, el CO_2 emitido es poco y el PC- CO_2 será bajo (5 ppm de CO_2). Si la planta fotorrespira activamente, aporta al ambiente cantidades grandes de CO_2 y el

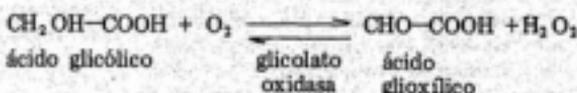
cuentran los cereales de invierno (trigo, cebada, centeno), el tabaco, *Atriplex hastata*, la lechuga, la soja, el café, y otros.

Algunas experiencias parecen indicar que el punto de compensación bajo de algunas especies no es causado por la falta de fotorrespiración, sino por la rápida reincorporación de CO_2 por el proceso fotosintético. En el caso de las algas, el punto de compensación bajo se debe a la excreción del sustrato que se fotorrespira.

BIOQUIMICA DE LA FOTORRESPIRACION

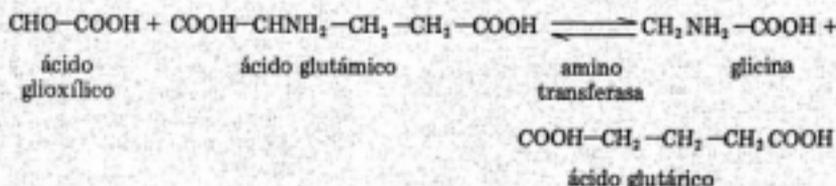
El proceso es una óxido-reducción en el cual el aceptor de electrones es el oxígeno y el dador es el ácido glicólico, que en una serie de reacciones producen CO_2 y serina. Este aminoácido se transformaría posteriormente en glucosa.

El ácido glicólico se sintetiza en el cloroplasto en presencia de luz, y difunde a los peroxisomas donde lo oxida el O_2 en presencia de la enzima *glicolato oxidasa* para dar lugar al ácido glioxílico y H_2O_2 :

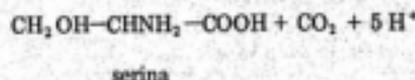
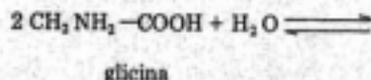


punto de compensación se establece con concentraciones altas (50 ppm de CO_2). Hay especies de PC- CO_2 bajo, como el maíz, la caña de azúcar, el sorgo, *Atriplex rosea*, algunas algas, etcétera; y entre las de PC- CO_2 alto se en-

En este mismo orgánulo, el H_2O_2 es descompuesto por la catalasa, y el ácido glioxílico, por transaminación, se convierte en glicina; como dador del grupo amino actúa el ácido glutámico y, como enzima, una aminotransferasa:

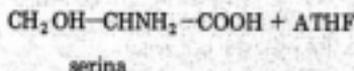
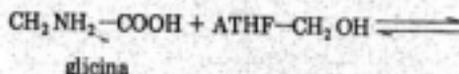
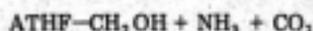
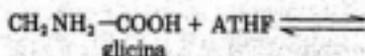


La glicina se traslada a las mitocondrias donde es convertida en serina y se libera CO_2 :

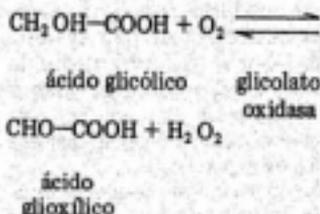


La serina entraría al cloroplasto —donde sería metabolizada e incorporada como ácido glicérico al ciclo de Calvin—, mientras que el CO_2 en parte difunde al cloroplasto y en parte se elimina a la atmósfera.

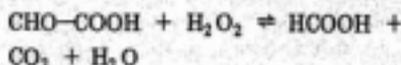
En realidad, esta última reacción se realiza en dos pasos: en el primero, la glicina se descarboxila y queda un grupo activado de un carbono que se incorpora a otra molécula de glicina mediante la participación de la enzima hidroximetiltransferasa, cuya coenzima es el ácido tetrahidrofólico (ATHF):



Dado que la cantidad de CO_2 liberado en la transformación de glicina a serina es muy baja para explicar los altos valores encontrados en las mediciones de la fotorrespiración, se ha sostenido que existe otro camino metabólico por el cual el ácido glicólico se descarboxila directamente sin ser convertido previamente a serina:



En una reacción siguiente, no enzimática, en un sitio del citoplasma que no contiene catalasa, el H_2O_2 oxidaría al ácido glioilico y originaría ácido fórmico y CO_2 :



Se tendría, por consiguiente, dos vías de descarboxilación. En la secuencia de las reacciones se pierde CO_2 y se consume NADH y ATP para incorporar el aldehído fosfoglicérico al ciclo de Calvin que dará lugar al glicolato.

MÉTODOS PARA MEDIR LA FOTORRESPIRACION

No existe hasta el momento un método preciso para medir la intensidad de la fotorrespiración. Ninguno de los que se han usado es exacto, aunque los valores obtenidos con ellos no discrepan mucho entre sí.

Las dificultades derivan del hecho de que simultáneamente con la fotorrespiración funciona otro proceso, la fotosíntesis, en el cual también ocurre un intercambio de CO_2 y O_2 . La respiración "oscura", como se vio en la página 109, es insignificante o nula a la luz en las células con cloroplastos.

Uno de los métodos preconizados consiste en medir la cantidad de CO_2 desprendido haciendo circular, sobre las plantas iluminadas, aire libre de este gas. El flujo debe ser muy rápido para

evitar que el producido por la fotorrespiración sea reincorporado por la fotosíntesis. El CO_2 se determina, por lo general, con un espectrofotómetro que utiliza luz infrarroja de longitud de onda coincidente con la de la máxima absorción de este gas.

Otro método es permitir que la planta realice la fotosíntesis en una cámara que contenga $^{14}\text{CO}_2$. Luego se elimina totalmente el CO_2 "marcado" del ambiente y se mide el carbono radiactivo desprendido en la fotorrespiración con un detector (tubo "geiger"), fijándolo previamente en una sustancia apropiada ($\text{Ba}(\text{OH})_2$, KOH , etcétera).

El primer método es objetado porque la intensidad de la fotorrespiración puede ser diferente en ausencia o en presencia de CO_2 , y el segundo porque no tiene en cuenta la refijación del CO_2 por la fotosíntesis.

Una manera indirecta de evaluarla es medir el aumento de la fotosíntesis neta inhibiendo la fotorrespiración con bajas concentraciones de O_2 (2%). Sin embargo, los valores que se obtienen tampoco son exactos, dado que los bajos tenores de O_2 afectan la fotosíntesis.

La medición de la fotorrespiración se puede también realizar por el método de *extrapolación a dióxido de carbono cero*. Este se fundamenta en el hecho de que existe una relación lineal entre la actividad fotosintética y la concentración de CO_2 , cuando éste se encuentra en cantidades bajas. En una planta entera la fotosíntesis decrece a medida que este gas disminuye, hasta un punto en el cual el CO_2 consumido se compensa por el liberado por la respiración "oscura" y la fotorrespiración. En esta situación, la *fotosíntesis neta* es igual a cero a pesar de que existe CO_2 en el aire. Extrapolando, la recta corta a la ordenada en un punto (véase la fig. 45) que representa una estimación bastante exacta de la fotorrespiración en un ambiente libre de CO_2 . La respiración "oscura" se desprecia por ser muy reducida o nula en presencia de luz.

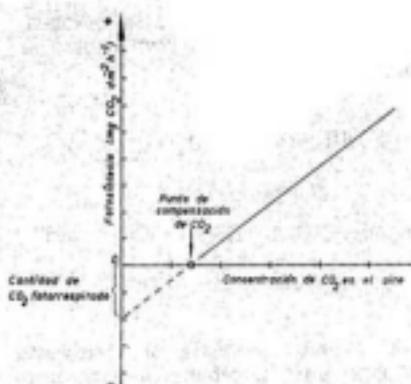


Figura 45. Método para medir la intensidad fotorrespiratoria por extrapolación a CO_2 cero.

El método es criticable en razón de que se basa solamente en la suposición de que la relación entre la intensidad fotosintética y la concentración de CO_2 en el aire es lineal, lo cual podría no ser así cuando este gas se acerca a cero.

DESPRENDIMIENTO BRUSCO DE CO_2

Si luego de un período luminoso, en el cual la planta fotorrespira, se la transfiere a la oscuridad, se observa un alto desprendimiento de CO_2 durante los primeros momentos, pero éste disminuye, luego de aproximadamente 10 minutos, a los valores normales de la respiración "oscura". Este fenómeno es el resultado de la diferente desaceleración de la fotosíntesis y la fotorrespiración. La fotosíntesis cesa casi inmediatamente con el pasaje de la planta a la oscuridad, mientras que la fotorrespiración continúa oxidando el ácido glicólico remanente acumulado en las células. La liberación de CO_2 es mayor si el período previo de luz es de alta intensidad, debido a la acumulación de sustrato, y si durante la fase oscura la temperatura

es alta. Este brusco desprendimiento es nulo en una atmósfera con 2 % de O_2 , se acentúa con 21 % y se eleva aún más con 100 %.

Las plantas que, por ejemplo, en el período previo de luz, se encuentran sometidas a 0,003 % de CO_2 , liberan más CO_2 en la oscuridad que las mantenidas bajo 0,0005 %; por otra parte, el proceso se inhibe con 0,10 % de CO_2 . Las causas de estas respuestas son aún desconocidas.

FACTORES QUE AFECTAN A LA FOTORRESPIRACION

LUZ

La fotorrespiración comienza cuando el sistema fotosintético provee el sustrato necesario para el proceso. La producción de CO_2 aumenta con la intensidad de luz, según la especie, a partir de $2,5 \times 10^4 \text{ erg cm}^{-2} \text{ seg}^{-1}$ (400–700 nm), que equivalen aproximadamente a 3.500 lux. Por lo general, existe una relación constante entre los valores de la fotosíntesis y los de la fotorrespiración, si ningún factor limita los procesos. Así, aumentando la intensidad de luz en una atmósfera de sólo 2 % de oxígeno, no se modifica la actividad de la fotorrespiración, pero la fotosíntesis se incrementa de manera acentuada. Las longitudes de onda más eficaces coinciden con aquellas más activas en el proceso fotosintético (azul y rojo), aunque la fotorrespiración opera en toda la gama del espectro visible.

Este comportamiento corrobora la estrecha conexión que existe entre la fotosíntesis y la fotorrespiración, probablemente a través de la síntesis del ácido glicólico.

Algunos resultados sugieren que la luz azul y la roja lejana estimulan la fotorrespiración, independientemente de la fotosíntesis.

DIOXIDO DE CARBONO

Es difícil estudiar el efecto de las diferentes concentraciones de CO_2 sobre un proceso que comúnmente se mide por la liberación de este mismo gas. Por métodos indirectos se ha determinado que el contenido de CO_2 entre las concentraciones del $PC-CO_2$ y 300 ppm (la cantidad normal en el aire) no afecta la fotorrespiración. No obstante, el proceso se inhibe fuertemente cuando la concentración excede de 1.000 ppm, debido posiblemente al bloqueo de la síntesis del ácido glicólico en el cloroplasto.

OXIGENO

La oxidación del ácido glicólico se produce sólo en presencia de oxígeno; por consiguiente, la fotorrespiración es nula en su ausencia y se incrementa con el aumento de su concentración hasta alcanzar los valores máximos con el 100 %. La respuesta a las diversas concentraciones de oxígeno permite diferenciar la fotorrespiración de la respiración "oscura", dado que esta última se satura con sólo 2 % de oxígeno en la atmósfera (véase pág. 110).

La razón de las diferentes reacciones de ambos procesos ante un mismo factor estriba en el hecho de que el factor limitativo de la respiración "oscura" es la lenta utilización del ATP, es decir de la cantidad de ADP disponible para ser fosforilado por la vía oxidativa. En cambio, la fotorrespiración depende principalmente de la cantidad de sustrato y de oxígeno, ya que no está ligada a la síntesis de ATP.

TEMPERATURA

La fotorrespiración aumenta con el incremento de la temperatura. Se ha obtenido un Q_{10} de 2 a 4, algo menor que el de la respiración "oscura", que es de aproximadamente 2 a 5, pero ma-

yor que el de la fotosíntesis, que es menos dependiente de la variación de la temperatura. Los datos obtenidos pueden no representar exactamente la realidad, en razón de que la temperatura actúa en forma distinta sobre los procesos ligados al intercambio de CO_2 y de O_2 , como la fotosíntesis, la respiración "oscura", la apertura estomática y otros factores de resistencia a la difusión de los gases en los tejidos, especialmente a temperaturas superiores a los 35°C .

Es así como, considerando la planta entera, la fotorrespiración excede a la respiración "oscura" hasta aproximadamente los 35°C ; a partir de esta temperatura, la última es mayor. De cualquier manera, la relación entre los valores del Q_{10} para los tres procesos permiten explicar el aumento del PC-CO_2 que se observa al aumentar la temperatura. Es evidente que si la intensidad de la fotorrespiración y de la respiración "oscura" se incrementan más que la fotosíntesis con la elevación de la temperatura, una mayor cantidad de sustratos se oxida y, consecuentemente, una proporción más alta de CO_2 se libera a la atmósfera.

Asimismo, inhibiendo la fotorrespiración con sustancias químicas como el ácido hidroxisulfónico, el aumento de la fotosíntesis neta es tres veces mayor a 35°C que a 25°C , lo que demuestra que el primer proceso consume mucho más sustrato a temperaturas más elevadas, además del hecho de que, superando los 30°C , la ribulosa difosfato carboxilasa que fija el CO_2 es menos efectiva.

Este fenómeno ocurre en las especies con un PC-CO_2 alto (de eficiencia fotosintética reducida), como el tabaco, pero una escasa diferencia se observa en el maíz y otras plantas de PC-CO_2 bajo (de eficiencia fotosintética elevada).

En éstas, la fotorrespiración no existe o no es aparente debido a la intensa refijación del CO_2 (véase pág. 69).

LECTURAS COMPLEMENTARIAS

- Hatch, M. D. y C. R. Slack: "Photosynthetic CO_2 Fixation pathways". *Ann. Rev. Pl. Phys.*, 21: 141-384, Palo Alto, California, E.U.A., 1970.
- Hatch, M. D., C. B. Osmond y R. O. Slatyer: *Photosynthesis and photorespiration*. Proceeding of a conference held at Australian National University, Wiley, Interscience, Nueva York, E.U.A., 1971.
- Heath, O. V. S.: *The physiological aspects of photosynthesis*. Binemann Educational Books Ltd., Londres, Inglaterra, 1969.
- Jackson, W. A. y R. J. Volk: "Photorespiration". *Ann. Rev. Pl. Phys.*, 21: 385-466. Palo Alto, California, E.U.A., 1970.
- Karlson, P.: *Manual de bioquímica*. Editorial Marín, Madrid, España, 1969.
- Lehninger, A.: *Bioenergetica*. W. A. Benjamin Inc., Nueva York, E.U.A., 1965.
- Richter, G.: *Fisiología del metabolismo de las plantas*. Compañía Editorial Continental S. A., Buenos Aires, Argentina, 1972.
- Sestak, Z., J. Catsky y P. G. Jarvis: *Plant photosynthetic production. Manual of methods*. N. V. Publishers, La Haya, 1971.
- Street, H. E. y W. Cockburn: *Plant metabolism*. Pergamon Press, 2da. ed., Oxford, Inglaterra, 1972.
- Zelitch, J.: *Photosynthesis, photorespiration and plant productivity*. Academic Press, 1971.

SINTESIS DE PROTEINAS. LA EXPRESION GENETICA Y LOS ACIDOS NUCLEICOS

G. FAVELUKES

INTRODUCCION

Las características metabólicas y fisiológicas de un organismo son una manifestación de su constitución genética y resultan del ordenado proceso de la expresión del genoma, dirigida y controlada por él y regulada por las interacciones con el medio y con las distintas partes del organismo. Las bases materiales de esa manifestación son las proteínas específicas, producidas en momentos apropiados y en cantidades controladas. Son ellas las que catalizan las reacciones enzimáticas, sintetizan y transforman otros componentes celulares y, asociadas con éstos, construyen las estructuras y la maquinaria celular que lleva a cabo las distintas actividades biológicas.¹

¹ Debemos poner énfasis, aquí, en el concepto de pluralidad y diversidad de las especies de proteínas de un organismo, el cual se extiende no sólo a las funciones de éstas, sino a los procesos de su metabolismo y, en especial, a su síntesis. Desde este punto de vista, no es conveniente hablar genéricamente de "la proteína" de un organismo, dado que ello puede inducir a confusión y crear una falsa imagen de un comportamiento metabólico uniforme, del conjunto de estas sustancias. En el resto de este capítulo deberá tenerse en cuenta siempre esa diversidad metabólica, si bien dentro de las características comunes de los mecanismos generales que se describen.

El genoma, o conjunto de elementos genéticos, tiene su soporte material en el *ácido desoxirribonucleico (ADN)*, que en su secuencia lineal de bases contiene codificada la información genética. Dos son sus funciones fundamentales:

- I — su *replicación* fiel para ser transmitido a la progenie;
- II — su *expresión genética (expresión fenotípica)*, a través de dos sucesivas etapas principales:
 - a) los procesos de *transcripción* del mensaje genético, que copian el ADN en moléculas de *ácido ribonucleico (ARN)* con secuencias semejantes;
 - b) la *traducción* del ARN en las secuencias peptídicas de proteínas específicas en cuya síntesis los aminoácidos son seleccionados mediante el *código genético*.

Estas relaciones expresan el "dogma central" de la biología molecular (fig. 46), en que la información genética fluye de los ácidos nucleicos hacia las proteínas y nunca a la inversa.

El concepto de que la expresión fenotípica está mediada por las proteínas se origina en los estudios hechos por Garrod, a principios de siglo, sobre una serie de enfermedades humanas heredi-

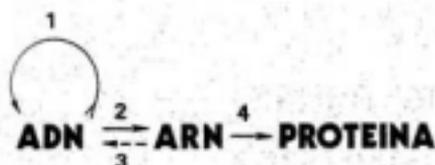


Figura 46. Flujos de la información genética en los seres vivos según el "dogma central" de la biología molecular. Los caminos indicados son unidireccionales e irreversibles. Referencias: 1- vía de replicación del ADN; 2- transcripción (investidura de información de ADN en moléculas de ARN); 3- transcripción inversa (transferencia de información del ARN al ADN); 4- traducción (codificación de cadenas peptídicas por el ARN).

tarias: en ellas, el defecto genético se manifiesta en la falta de una particular reacción metabólica, cuya enzima podría así expresar (negativamente) dicho error. Scott-Moncrieff realizó en plantas observaciones similares relacionadas con la producción de diferentes pigmentos flavonoides: la capacidad de formar un cierto derivado de la estructura fundamental, mediante una precisa transformación enzimática, está controlada genéticamente. Posteriores investigaciones de Beadle y Tatum en el hongo del pan *Neurospora crassa*, en 1941, establecieron con toda firmeza el concepto de que cada enzima está determinada genéticamente; la conocida expresión "un gene - una enzima" surgió de sus trabajos. Otras evidencias sobre el control genético de las proteínas fueron encontradas por Pauling e Itano, al demostrar que en una enfermedad humana hereditaria, la anemia falciforme, tiene lugar la producción de una hemoglobina con una estructura molecular alterada; finalmente Ingram mostró que ese defecto consistía en el reemplazo de un solo aminoácido por otro, en un sitio preciso de la secuencia peptídica de la hemoglobina, atribuido a una mutación en el gene correspondiente.

Por otra parte, el concepto de gene como el elemento genético que especifica la estructura de una proteína, es decir, el de "gene estructural" (un gene-

un polipéptido) debió ser complementado agregando una nueva categoría: los genes "reguladores", que controlan en qué momento y cantidad se realiza la síntesis de esa proteína. Este importante concepto surgió de los trabajos de Monod, Jacob y Pardee, que estudiaron en la bacteria *Escherichia coli* los mecanismos genéticos que determinan que ciertas enzimas sean producidas solamente cuando lo requiere el estado metabólico de la bacteria.

Más recientemente han cobrado gran importancia los estudios sobre el ordenamiento espacial y temporal de la expresión genética, es decir, los procesos de desarrollo y diferenciación celular, y su regulación, en los organismos pluricelulares. Un aspecto saliente de esto último es la regulación hormonal.

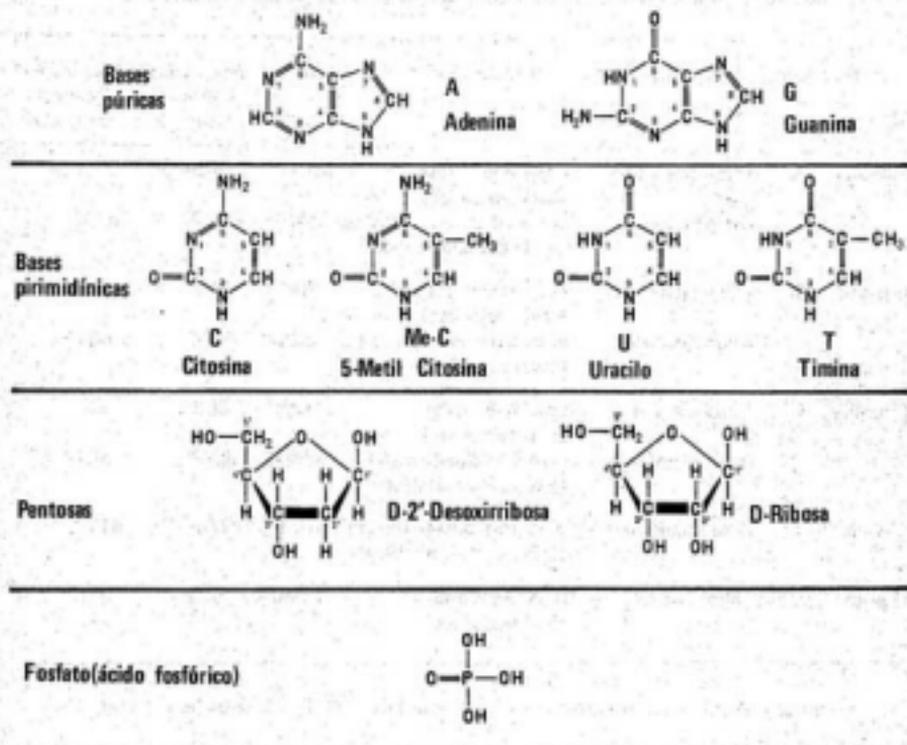
En esta sección se hará una somera presentación de la estructura y propiedades del ADN y del ARN, y luego se abordarán los procesos de biosíntesis de los ácidos nucleicos, y de las proteínas y se señalará la decisiva participación que los primeros tienen en la síntesis proteica que se realiza a través del código genético. Por último se tratarán los aspectos regulatorios de estos procesos integrados en el metabolismo celular y a lo largo del ciclo vital del organismo.

ACIDOS NUCLEICOS

Los ácidos nucleicos son sustancias macromoleculares de naturaleza compleja, que en su composición elemental poseen C, H, O, N y P. Están distribuidos universalmente en todos los seres vivos y se localizan no solamente en el núcleo celular, sino también en el citoplasma y en orgánulos y corpúsculos intracelulares. Asimismo son constituyentes de los virus.

En la arquitectura del ácido nucleico se encuentran tres tipos de componentes (fig. 47): bases nitrogenadas derivadas de la purina y la pirimidina, una sola especie de azúcar de cinco carbo-

A. COMPONENTES PRINCIPALES DE LOS ACIDOS NUCLEICOS



B. ESTRUCTURA DE NUCLEOTIDOS

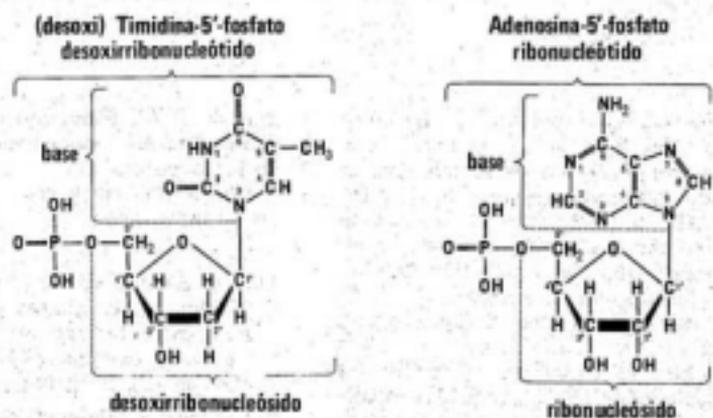


Figura 47. A) Componentes de los ácidos nucleicos. B) Estructura de nucleótidos.

Cuadro 1. Nomenclatura de las principales bases y derivados nucleosídicos.

Base	Abrev.	Nucleósido	Nucleósido-5'-fosfato	Abrev.	Nucleósido-5'-difosfato, abr.	Nucleósido-5'-trifosfato, abr.
Adenina	A	(ribo) adenosina*	adenosina-5'-fosfato (ácido adenílico)	AMP	ADP	ATP
		desoxiadenosina	desoxiadenosina-5'-fosfato (ácido desoxiadenílico)	dAMP	dADP	dATP
Guanina	G	(ribo) guanosina*	guanosina-5'-fosfato (ácido guanílico)	GMP	GDP	GTP
		desoxiguanosina	desoxiguanosina-5'-fosfato (ácido desoxiguanílico)	dGMP	dGDP	dGTP
Citosina	C	(ribo) citidina*	citidina-5'-fosfato (ácido citidílico)	CMP	CDP	CTP
		desoxicitidina	desoxicitidina-5'-fosfato (ácido desoxicitidílico)	dCMP	dCDP	dCTP
Timina**	T	desoxitimidina**	desoxitimidina-5'-fosfato** (ácido desoxitimidílico)	dTMP**	dTDP**	dTTP**
Uracilo***	U	(ribo) uridina***	uridina-5'-fosfato (ácido uridílico)	UMP	UDP	UTP

* En los nombres de los ribonucleósidos y nucleótidos de A, G, C, y U se omite el prefijo ribo.

** En los desoxi derivados de timina suele omitirse el prefijo desoxi/ (abrev. d). (En general, los ribo derivados no existen.)

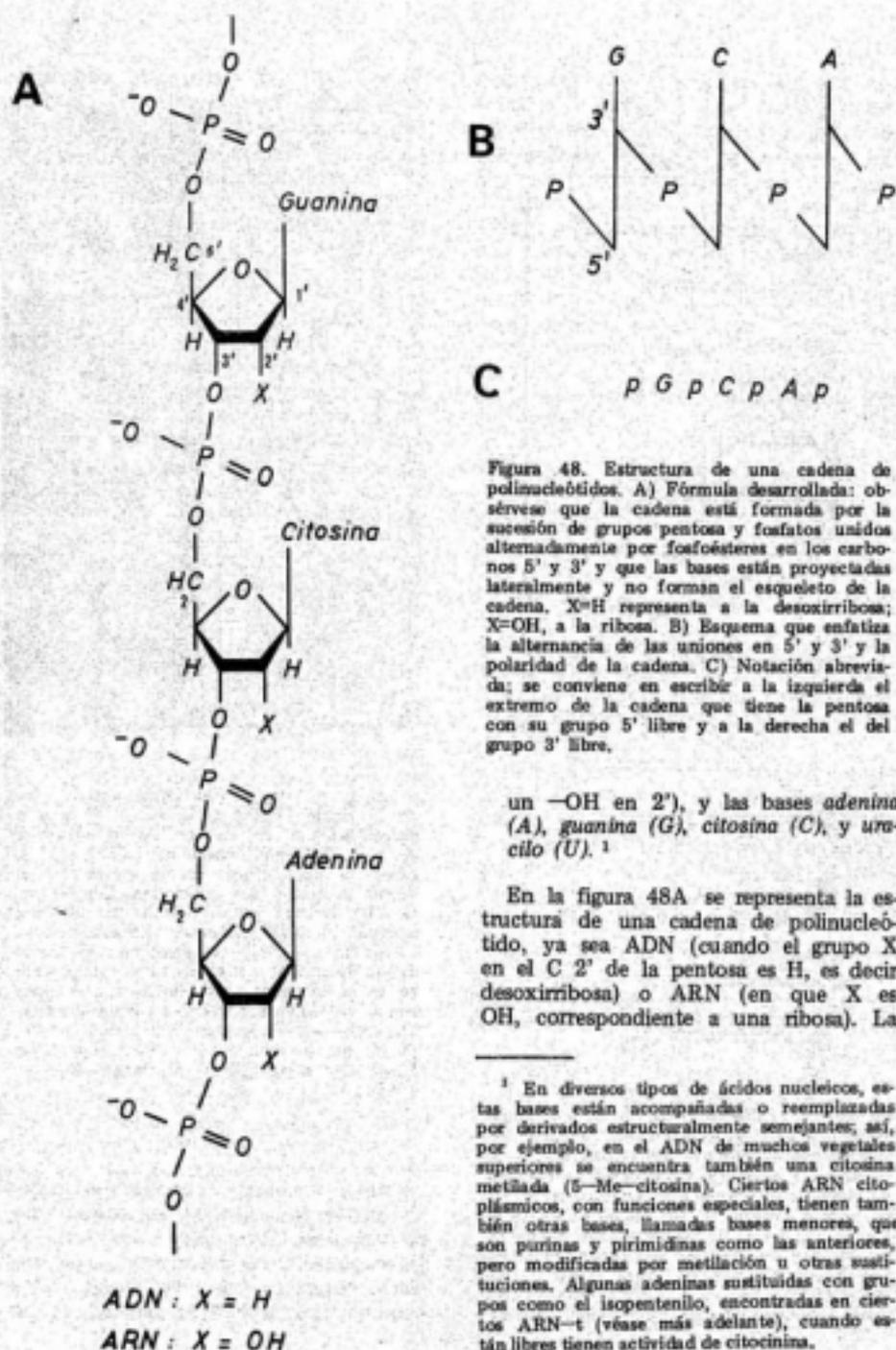
*** Los desoxi/ derivados de uracilo en general no existen.

nos (ya sea desoxirribosa o ribosa) y fosfato. Una base se une al C-1' de la pentosa formando un nucleósido (ya se vio que los derivados de éstos, ATP, GTP, UTP y CTP, actúan como coenzimas en muchos procesos metabólicos). La combinación del nucleósido con un grupo fosfato, en su hidroxilo 5' ó 3', forma un éster fosfórico llamado nucleótido. (La nomenclatura de estos compuestos se indica en el cuadro 1.) Los nucleótidos son las unidades estructurales que, al eslabonarse unas con otras mediante puentes de diéster fosfo-

rico 3'-P-5', constituyen las largas cadenas lineales polinucleotídicas de los ácidos nucleicos.

Los ácidos nucleicos se agrupan en dos grandes clases:

- 1) Los ácidos desoxirribonucleicos (ADN), caracterizados por poseer desoxirribosa (carece de -OH en 2') y las bases adenina (A), guanina (G), citosina (C), y timina (T).
- 2) Los ácidos ribonucleicos (ARN), que se distinguen por tener ribosa (con



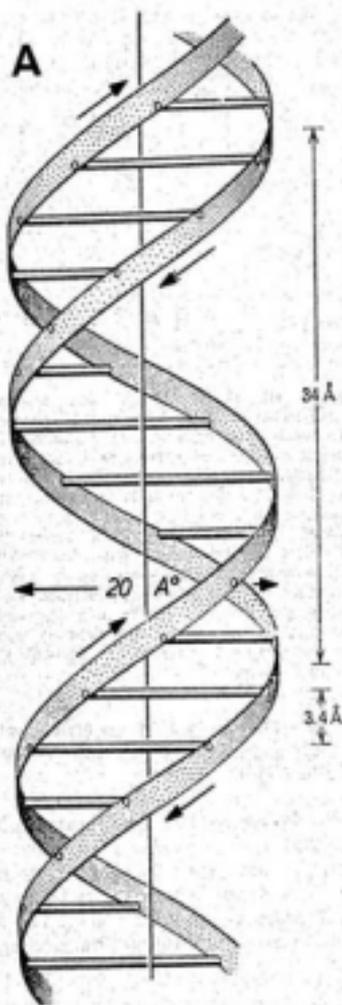
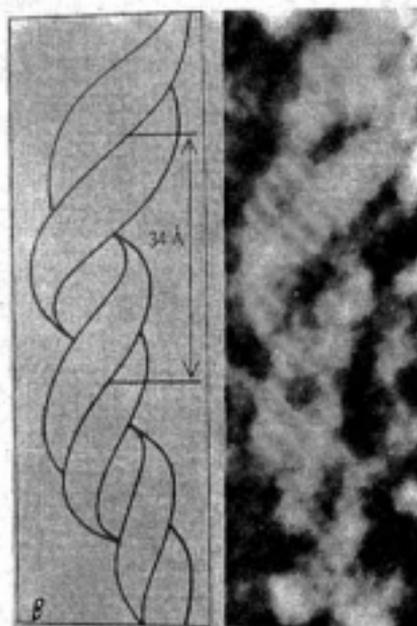


Figura 49. Estructura del ADN en doble hélice. A) El modelo de Watson y Crick. En el diagrama la línea vertical indica el eje de la molécula alrededor del cual se arrollan las dos cintas con direcciones opuestas: representan ambas cadenas de polidesoxirribosa-fosfato antiparalelas. El paso de cada hélice es de 34 Å, y su diámetro externo mide 20 Å. Las barras transversales entre ambas cintas representan a los pares de bases A-T y G-C pertenecientes a una y otra cadena que se



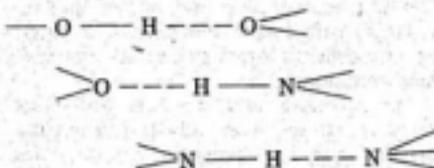
unen por puentes de hidrógeno en el interior de la doble hélice; se disponen en planos perpendiculares al eje espaciados entre sí 3,4 Å, y en cada vuelta de hélice hay 10 pares de nucleótidos. En la figura 50 se detalla la forma de apareamiento de las bases. B) Fotomicrografía electrónica de una molécula de ADN de arveja. En esta notable fotografía se percibe la estructura de doble cadena helicoidal. En el diagrama interpretativo de la izquierda se ve claramente la alternancia de los surcos laterales anchos y angostos entre las dos cadenas del codón. Reproducido de *The structure and action of proteins*, R. E. Dickenson e I. Geis, Harper & Row, 1969.

columna vertebral, formada por restos alternados de pentosa y de fosfato, tiene articulados lateralmente los restos de las distintas bases nitrogenadas, en una cierta secuencia. Las relaciones de estos componentes se ven claramente en las

notaciones abreviadas (fig. 48 B y C) en que, alrededor de cada pentosa, las uniones de éster fosfórico en los carbonos 5' y 3' (no equivalentes entre sí) están representadas a la izquierda y a la derecha del nucleósido. Como resultado de esta regularidad de orientación, la cadena tiene polaridad (es decir que ambos sentidos de "lectura" de la cadena no son equivalentes).

En la estructura anterior, todas las uniones entre átomos son uniones covalentes, es decir uniones energética y químicamente muy estables. Los ácidos nucleicos son, además, capaces de unirse a otras moléculas por medio de enlaces de carácter más débil, como las uniones iónicas y las uniones hidrógeno.

En el medio acuoso celular, los grupos diéster fosfato están ionizados y llevan una carga eléctrica negativa; estas cargas repetidas dan al ácido nucleico un carácter de polianión y posibilitan la formación de uniones iónicas con cationes como el Mg^{++} , y proteínas básicas como las histonas. Por otra parte, algunos átomos de oxígeno y de nitrógeno en las bases pueden formar uniones o puentes de hidrógeno con otros grupos; se trata de ligaduras débiles, en que un átomo de hidrógeno queda vinculado a otros dos átomos, ya sea de oxígeno o de nitrógeno, o en asociación mixta:



La formación de uniones hidrógeno permite que las distintas bases se asocien de a pares. Cuando las posiciones, distancias y orientación relativa son favorables, tienen lugar *apareamientos* selectivos en que se forma más de una unión hidrógeno, lo que aumenta la estabilidad del vínculo. Especialmente importantes son los apareamientos *adenina-timina (A-T)* o *adenina-uracilo (A-U)* con dos uniones hidrógeno, y *guanina*

ne-citosina (G-C) con tres uniones hidrógeno. A las bases en cada uno de estos pares se las denomina bases complementarias. Otros apareamientos son menos probables y efectivos. El apareamiento específico de bases complementarias permite que dos cadenas de ácidos nucleicos (o regiones separadas de una misma cadena) se unan entre sí por ligaduras débiles, a las que su multiplicidad refuerza en un efecto cooperativo y les confiere una estabilidad adicional. Esto da lugar a la existencia de la llamada *estructura secundaria* de los ácidos nucleicos.

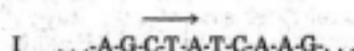
CAPACIDAD FUNCIONAL DE LOS POLINUCLEOTIDOS

Tres de las propiedades anteriores —linealidad de las cadenas, polaridad y posibilidad de interacción específica de las bases con sus complementarias— tienen una enorme importancia biológica funcional. De ellas derivan:

1) La capacidad de los ácidos nucleicos para ser depositarios de *información lineal* codificada en largas secuencias de bases, lineales y orientadas, seleccionadas entre las cuatro bases posibles mediante un código adecuado que utiliza un "alfabeto" de cuatro signos.

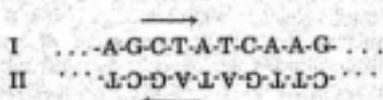
2) La capacidad de reconocer esos signos (las bases) mediante el apareamiento específico con las respectivas bases complementarias de otros nucleótidos. Ese *reconocimiento* es necesario y se ejerce en dos tipos de procesos:

- a) La *replicación* o copia fiel de secuencias nucleotídicas. Supongamos tener en un ácido nucleico una secuencia orientada de bases I

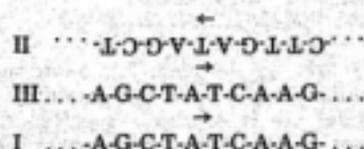


el apareamiento selectivo de nucleótidos con bases complementarias per-

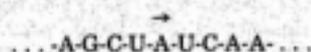
mite unirlos ordenadamente y con polaridad opuesta para formar una cadena de ácido nucleico II, que tiene una secuencia complementaria y antiparalela, como copia "negativa" de la original



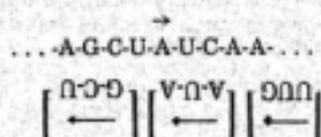
Repetiendo ahora sobre la cadena II la operación de apareamiento complementario y antiparalelo, se obtiene una cadena III, copia "positiva" y por lo tanto idéntica a la cadena original I



b) La lectura de la información en secuencias polinucleotídicas. Sea una secuencia construida con el alfabeto de cuatro signos A,G,C,U



en la cual existe información codificada en forma de "palabras" de tres letras AGC UAU CAA etcétera; la existencia de esas "palabras" —los "codones" del código genético (véase más adelante)— podrá ser reconocida mediante la utilización de moléculas con secuencias lineales complementarias "negativas"



capaces de unirse selectivamente a los tripletes anteriores. Esas "antipala-

bras" —los "anticodones"— pueden funcionar entonces como "lectores" de la información.

ACIDO DESOXIRRIBONUCLEICO

El ADN es el material genético de todos los seres vivos y de muchos virus y bacteriófagos. Está constituido por largas cadenas de polidesoxirribonucleótido (véase la fig. 48) en que las bases púricas adenina y guanina, y pirimídicas citosina, metil-citosina y timina, se suceden en ordenamientos sin restricciones. El análisis de las bases de los ADN de los más variados orígenes (cuadro 2) mostró que: 1) los ADN de todas las células de un organismo, y todos los individuos de una especie, tienen igual composición de bases; y 2) entre las distintas especies existe una diversidad de composiciones, indicadas en las relaciones molares de bases

adenina (A) + timina (T)

guanina (G) + citosina (C) + 5-metil-citosina (MeC)

("relación de simetría"), y

guanina (G) + citosina (C) + metil-citosina (MeC)

bases totales

% (GC %)

con una amplia serie de valores que refleja las diferencias genéticas a lo largo de la escala biológica (véase las dos últimas columnas).

No obstante ello, en casi todos los casos se cumple con muy buena aproximación que las siguientes proporciones molares

$\frac{\text{suma de purinas (Pu)}}{\text{suma de pirimidinas (Pi)}}$

adenina (A)
timina (T)
y
guanina (G)

citosina (C) + Me-citosina (Me-C)

Cuadro 2. Composición de bases de ADN de diversos organismos.

Especie	Bases, moles %					Proporciones molares				
	A	G	C	5MeC	T	Pu/Pi	A/T	G/C	$\frac{A+T}{G+C+MeC}$	GC %
Bacterias - <i>Azrobacter vinelandii</i>	21,9	27,5	28,3	-	22,3	0,99	0,98	0,97	0,79	55,8
<i>Clostridium pasteurianum</i>	34,7	14,8	16,0	-	34,5	0,98	1,01	0,93	2,25	30,8
Hongos - <i>Neurospora crassa</i>	23,0	27,1	26,6	-	23,3	1,00	0,99	1,02	0,86	53,4
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	31,3	18,7	17,1	-	32,9	1,00	0,96	1,09	1,79	35,8
<i>Aspergillus campestris</i>	28,2	22,6	21,8	-	27,4	1,03	1,03	1,04	1,25	44,4
Algas - <i>Anacystis nidulans</i>	23,3	29,5	24,8	-	22,3	1,12	1,04	1,19	0,84	54,3
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	18,7	32,9	30,9	-	17,5	1,07	1,07	1,06	0,56	63,8
Liopsidas - <i>Lycopodium clavatum</i>	29,1	21,1	17,3	4,0	28,5	1,01	1,02	0,99	1,36	42,4
Gimnospermas - <i>Pinus sylvestris</i>	30,1	19,3	16,5	3,6	30,5	0,98	0,99	0,96	1,54	39,4
Angiospermas - <i>Zea mays</i> (maíz)	26,8	22,8	17,0	6,2	27,2	0,98	0,99	0,98	1,17	46,0
<i>Daucus carota</i> (zanahoria)	26,7	23,1	17,3	5,9	26,9	0,99	0,99	1,00	1,16	46,3
<i>Triticum sativum</i> (trigo)	27,2	22,6	16,8	6,2	27,4	0,99	0,99	0,99	1,25	44,4
<i>Beta vulgaris</i> (remolacha)	27,2	25,5	12,3	4,4	30,1	1,14	0,92	1,53	1,37	42,2
<i>Trifolium pratense</i> (trébol)	29,8	20,9	15,5	4,8	28,5	1,04	1,05	1,03	1,42	41,2
<i>Phaseolus vulgaris</i>	29,7	20,6	14,9	5,2	29,6	1,01	1,00	1,03	1,45	40,7
<i>Nicotiana tabacum</i> (tabaco)	29,7	19,8	13,9	6,1	30,4	0,98	0,98	0,99	1,51	39,8
<i>Helianthus annuus</i> (girasol)	30,8	18,5	12,0	7,1	31,6	0,97	0,97	0,97	1,66	37,6
<i>Allium cepa</i> (cebolla)	31,8	18,4	12,8	5,4	31,3	1,01	1,02	1,01	1,72	26,6
<i>Gossypium hirsutum</i> (algodonero)	32,8	17,0	12,8	4,6	32,9	0,99	1,00	0,98	1,91	34,4
Protozoarios - <i>Euglena gracilis</i>	22,6	27,7	26,8	-	24,4	1,01	0,93	1,07	0,88	53,5
Mamíferos - Vacuno	28,2	21,9	21,2	1,3	27,8	0,99	1,01	0,96	1,27	44,0
Humano	30,9	19,9	19,8	-	29,4	1,03	1,05	1,00	1,52	39,7

A, adenina; G, guanina; C, citosina; 5MeC, 5-Metil-citosina; T, timina.	
$\frac{Pu}{Pi}$	$\frac{\text{suma de purinas (Pu)}}{\text{suma de pirimidinas (Pi)}}; A/T \frac{\text{adenina}}{\text{timina}}; G/C, \frac{\text{guanina}}{\text{citosina + 5-Me-citosina}}$
$\frac{A+T}{G+C+MeC}$	$\frac{\text{adenosina + timina}}{\text{guanina + citosina + 5-Me-citosina}}; GC\% \frac{\text{guanina + citosina + Me-citosina}}{\text{suma total de bases}}\%$

son todas iguales a 1 (reglas de Chargaff). Por lo tanto, en la construcción de todos los ADN, cualquiera que sea su origen, existe una restricción estructural que obliga a que, por cada resto de adenina presente, exista uno de timina y sólo uno; e, igualmente, que por

cada guanina exista una citosina (o metil-citosina).

Esta sorprendente regularidad de composición tiene su contrapartida en el ordenamiento espacial de la molécula de ADN. El análisis de difracción de rayos X, realizado por M. H. F. Wilkins

sobre fibras de ADN (sólido) orientadas, reveló una estructura helicoidal regular —cuyo eje longitudinal coincide con el de la fibra— que tiene elementos repetitivos a lo largo de la hélice.

Estos dos tipos de datos fueron interpretados por J. D. Watson y F. Crick, quienes en 1953 propusieron su célebre modelo de estructura molecular del ADN. Este no sólo contempla los resultados experimentales anteriores, sino que también prevé las propiedades biológicas del ADN, como su capacidad para funcionar como material genético autorreplicable y susceptible de mutaciones.

En el modelo de Watson y Crick (fig. 49 A) una molécula de ADN está constituida por la asociación de dos cadenas de polidesoxirribonucleótido, dispuestas paralelamente y con polaridades opues-

tas (las llamaremos positiva [+] y negativa [-]) que se arrollan en una estructura secundaria de doble hélice alrededor del eje de aquélla. Las desoxirribosas y los grupos fosfato forman las hebras del cordón helicoidal (cuyo diámetro externo es de 20 Å [angstroms]); las bases de ambas cadenas se enfrentan de a pares en el interior de la molécula, en planos transversales al eje que están regularmente espaciados a distancias de 3,4 Å como peldaños de una doble escalera de caracol. Los apareamientos de bases permitidos por el modelo (siempre de una purina con una pirimidina) son dos: la adenina de una cadena puede enfrentarse solamente a una timina de la otra cadena; una guanina puede aparearse solamente con una citosina (o metil-citosina). Esas restricciones están determinadas por la geometría del

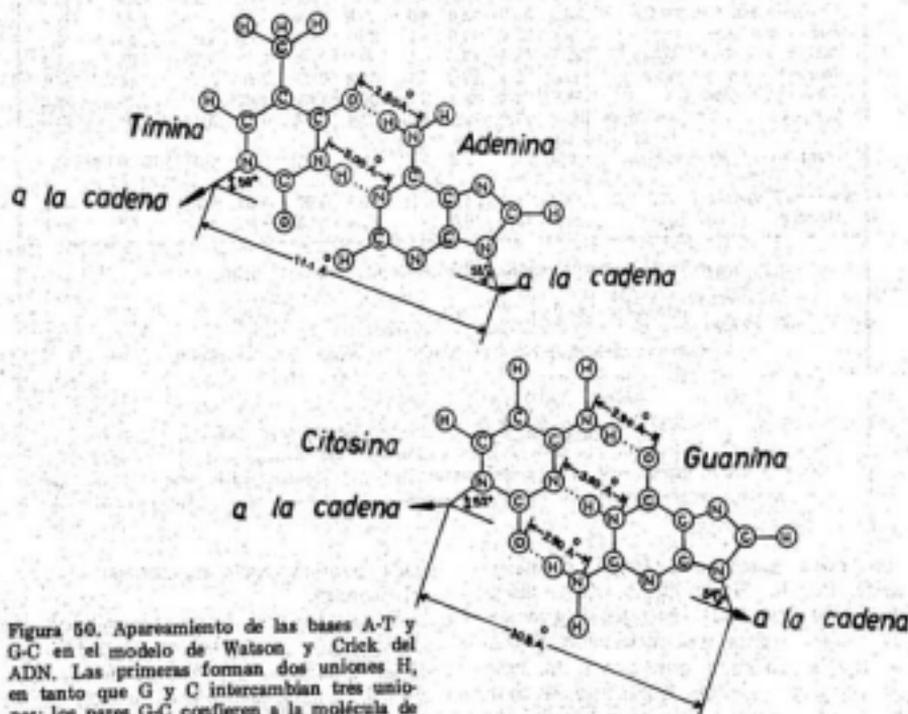


Figura 50. Apareamiento de las bases A-T y G-C en el modelo de Watson y Crick del ADN. Las primeras forman dos uniones H, en tanto que G y C intercambian tres uniones; los pares G-C confieren a la molécula de ADN mayor estabilidad.

modelo y por las uniones hidrógeno que se pueden tender entre ambas bases, ya señaladas anteriormente (fig. 50).

La vigencia universal de la estructura en doble hélice del ADN ha sido corroborada (fig. 49B) en todos los seres vivos y, también, en virus y bacteriófagos. Existen muy pocas excepciones (ciertos bacteriófagos) en que el ADN es de cadena simple y su composición de bases no cumple con las reglas de Chargaff.

PROPIEDADES DEL ADN DERIVADAS DE SU ESTRUCTURA SECUNDARIA

El modelo de doble hélice de Watson y Crick impone que la secuencia de bases en cada una de las cadenas sea complementaria de la otra. Una consecuencia inmediata de esto es que, en una preparación de ADN en doble hélice, las proporciones globales de las bases

resultarán ser necesariamente $\frac{A}{T} = \frac{G}{C}$

$\frac{P_u}{P_i} = 1$ (reglas de Chargaff). Por otra parte, la arquitectura de esta asociación de dos cadenas está sostenida exclusivamente por uniones débiles; a ello contribuyen los puentes de hidrógeno entre bases opuestas y, además, las interacciones entre los núcleos heterocíclicos de las bases, apilados paralelamente unos sobre otros en los sucesivos "pedaños". Al no existir uniones covalentes entre ambas cadenas, la destrucción de las uniones hidrógeno permite romper la estructura secundaria del ADN nativo y separar las cadenas de modo que queden libres los grupos reactivos de sus bases. Ese proceso tiene lugar parcialmente, y en condiciones fisiológicas, durante la replicación del ADN, y quizás durante su transcripción (síntesis de ARN). También puede lograrse en for-

ma total por tratamiento artificial del ADN en soluciones salinas a temperaturas relativamente altas, o en medio alcalino, alcanzándose así la separación completa de las cadenas o *desnaturalización*.

La temperatura media de desnaturalización (T_m) en la cual la mitad de las bases se han separado, depende de la composición del ADN y es mayor cuanto mayor es la proporción de pares GC. El predominio de los pares GC (con tres uniones hidrógeno entre sus bases) respecto de los AT (que tienen solamente dos) aumenta la estabilidad de la estructura secundaria. El fenómeno de la desnaturalización del ADN es reversible: la reacción inversa de *renaturalización* se logra a partir de las cadenas sueltas, por calentamiento prolongado a una temperatura menor. En un largo proceso al azar, las cadenas llegan finalmente a reconocer las secuencias complementarias y se aparean de modo de estar en total coincidencia ("en fase"), reconstruyendo así la estructura secundaria en doble hélice del ADN nativo.

IBRIDACION

Cuando el proceso de renaturalización se realiza mezclando cadenas polinucleótídicas de dos orígenes diferentes, en el caso de que existan en ambas preparaciones secuencias complementarias, se forman asociaciones híbridas con estructura secundaria en doble hélice. Se dice que entre estos polinucleótidos existe homología. El grado de homología depende de la proporción de secuencias complementarias y se mide por la extensión de la hibridación. Este fenómeno ha dado lugar a un método muy importante para determinar el grado de identidad u homología de los ácidos nucleicos, mediante el estudio de su capacidad de hibridación. El método es aplicable a los ADN de diferentes orígenes y también a los ARN en relación con los ADN y entre sí. Dado que las secuencias de los áci-

dos nucleicos representan información genética, los estudios de homología pueden revelar el grado de relación genética —evolutiva o taxonómica— entre organismos distintos. Otros estudios muy valiosos sobre los mecanismos de control de la expresión genética en el desarrollo y diferenciación celular y en la regulación fisiológica, hacen uso del principio experimental de la hibridación de ácidos nucleicos.

DIVERSIDAD Y CARACTERÍSTICAS DE LOS ADN

El contenido de ADN de las células de eucariontes, y en particular de los vegetales, se halla distribuido entre diversos compartimientos independientes: el núcleo, las mitocondrias, los cloroplastos y otros plástidos. Cada uno de ellos posee una dotación definida de ADN que le es propia y cuya secuencia particular de pares de bases específica sus capacidades como material genético.

Esas secuencias características se reflejan en tres útiles propiedades físicas del ADN: su *tamaño molecular*, que indica el número total de pares de nucleótidos que posee¹ (lo que a su vez mide la cantidad total de información codificable en esa secuencia); su *densidad boyante*² y su *temperatura media de desnaturalización*, que (por ser proporcionales al contenido fraccionario de

pares de bases GC en el total de la molécula) son indicadores de la composición de bases propia de sus secuencias. Haciendo uso de estas propiedades se puede caracterizar los ADN de los diferentes compartimientos celulares.

ADN NUCLEAR

De todos esos compartimientos, el núcleo es el de mayor contenido de ADN. Todos los núcleos de un organismo poseen una cantidad de ADN que es proporcional a su ploidía (número de juegos completos de cromosomas): las células diploides (2n) (que en general constituyen la mayoría de las células somáticas) tienen todas igual contenido de ADN nuclear, y éste a su vez es el doble del que poseen los gametos, células haploides (n). La dotación de ADN nuclear es característica de la especie, y en diversos vegetales superiores oscila entre unos 5 y 150 picogramos³ por núcleo diploide o, dicho de otro modo, 2,5 a 75 miles de millones de pares de nucleótidos por genoma haploide (cuadro 3). En estos mismos organismos, los ADN nucleares tienen una proporción de pares de bases GC del orden de 34-46% (que comprende un 4-6% de 5-metilcitosina, característica de los vegetales superiores).

El ADN nuclear es el constituyente esencial de los cromosomas. Cada uno de éstos tiene probablemente una sola molécula continua de ADN en doble hélice, que se extiende a lo largo de él. El ADN, cuya longitud puede alcanzar hasta varios milímetros y excede por decenas o centenas de veces la magnitud del cromosoma, se acomoda a las dimensiones de éste mediante una conformación muy compacta con arrollamientos y plegamientos sobre sí mismo. Esta estructura así compactada permite que en el núcleo de una célula de cebolla quepan cadenas de ADN cuya suma de longitudes extendidas alcanzaría aproximadamente unos veinte metros.

¹ El número de pares de nucleótidos puede también expresarse en forma equivalente como peso molecular (en daltons), como masa de la molécula (en gramos), o como longitud de la molécula estirada (en metros):

1 par de nucleótidos = 617 daltons = $1,02 \times 10^{-21}$ gramos = $3,4 \times 10^{-10}$ metros

1 dalton = unidad de masa atómica y molecular

² Densidad boyante: densidad del líquido, en la cual las partículas adquieren una posición de equilibrio indiferente (ni flotan, ni se hunden). Se determina mediante la ultracentrifugación en gradientes de densidad de cloruro de cesio.

³ Picogramo = 10^{-12} gramos.

Cuadro 3. Contenido celular de ADN en ápices de raíces de plantas superiores.

Especie	ADN por célula, picogramos	Pares de nucleótidos, millones	Largo total de las cadenas, metros
<i>Agave attenuata</i>	14,4	14.200	4,8
<i>Phalaris coerulescens</i>	21,4	21.000	7,1
<i>Phalaris (híbrido)</i>	32,0	31.400	10,4
<i>Phalaris minor</i>	33,4	33.000	11,2
<i>Zea mays</i>	30,2	29.600	10,1
<i>Galtonia candicans</i>	40,0	39.300	13,4
<i>Vicia faba</i>	56,2	55.200	18,8
<i>Narcissus pseudonarcissus</i>	64,9	63.800	21,7
<i>Allium cepa</i>	65,6	64.500	21,9
<i>Scilla campanulata</i>	89,9	88.400	30,0
<i>Tulipa gesneriana</i>	100,7	98.800	33,6
<i>Lolium longiflorum</i>	141,1	138.500	47,2

Datos tomados de Martin, P., *Experimental Cell Research* 44, 1966, pág. 84, y modificados.

El ADN cromosómico forma parte de un material complejo llamado cromatina. En él está asociado (en partes aproximadamente iguales) con proteínas básicas llamadas histonas, y además con cantidades bastante menores de otras proteínas ácidas y de ARN nuclear. En esta asociación, se cree que las histonas

podrían bloquear parte de los sitios reactivos de los ADN, disminuyendo así las áreas expuestas y libremente activas. En complejos de nucleohistona saturados con estas proteínas, la proporción relativa de las histonas llega a 55 %.

Las histonas son una familia de proteínas de carácter básico, de tamaño

molecular pequeño con un alto contenido de arginina y lisina, que se encuentran exclusivamente unidas al ADN cromosómico y que tienen gran afinidad por él. En un individuo el número de especies de histonas es pequeño; éstas son agrupables en unas pocas clases de características estructurales homogéneas. Esas mismas clases se presentan a todo lo largo de la escala biológica con notable homología entre organismos evolutivamente muy lejanos: la histona IV de la arveja y la de vacuno (tímo de ternera), coinciden en la secuencia de 100 residuos de aminoácidos sobre un total de 102. Las histonas son susceptibles de ser parcialmente modificadas en algunos de sus restos laterales, mediante la introducción de grupos metilo, acetilo o fosfato (que disminuyen su carácter básico). En los organismos animales se ha encontrado que esas modificaciones de tipo selectivo están controladas por reguladores metabólicos como algunas hormonas y el AMP cíclico.

Una fracción especial del ADN cromosómico que corresponde al llamado "organizador nucleolar" está asociada a los nucléolos y contiene los genes para los ARN ribosómicos (véase más adelante).

ADN MITOCONDRIAL

Se lo puede encontrar en la matriz de la mitocondria. En los vegetales se encuentra una sola molécula por orgánulo, de un tamaño aproximado de 160.000 pares de nucleótidos (10^5 daltons, $55 \mu\text{m}$), en forma de doble cadena abierta (sin embargo, no se descarta que, a semejanza de los ADN mitocondriales de los animales, tenga en realidad una estructura circular). Su composición de bases (siempre en plantas superiores) es diferente de la del ADN nuclear. En varias especies no afines, el ADN mitocondrial contiene alrededor de 47-48 % de pares GC.

ADN DE LOS CLOROPLASTOS

En el cloroplasto de las algas y de los vegetales superiores existen varias moléculas de ADN, cuya suma de pares de nucleótidos es de alrededor de 5-15 millones. Esas moléculas están distribuidas en diferentes regiones del cloroplasto y muestran un determinado grado de "redundancia", es decir que ciertas secuencias están repetidas en el genoma del cloroplasto. La composición de bases de estos ADN, con 36 a 39 % de pares GC, es bastante similar aunque significativamente diferente de la de los ADN nucleares. Otra clara diferencia es la ausencia de 5-metil-citosina en el ADN de los cloroplastos.

ACIDOS RIBONUCLEICOS

Los ARN están universalmente distribuidos en todos los seres vivos, en donde se los encuentra en el núcleo, en otros orgánulos y, sobre todo, en el citoplasma. También forman parte de algunos virus y bacteriófagos. Estos polirribonucleótidos (fig. 48) se caracterizan porque sus restos de azúcar (D-ribosa) poseen un hidroxilo alcoholico en la posición 3'. Sus bases son fundamentalmente las purinas adenina y guanina, y las pirimidinas uracilo y citosina. Las macromoléculas de las diversas especies de ARN tienen longitudes de cadena y secuencias de nucleótidos precisamente definidas (que podemos llegar a conocer¹), y éstas a su vez determinan la

¹ Con los métodos disponibles al presente, se ha podido determinar completamente la secuencia de bases de muchas especies de ARN de hasta 400-500 nucleótidos. Dos ejemplos de secuencias conocidas se muestran en las figuras 57 y 58. Otros estudios están en camino de resolver las estructuras tridimensionales de estas moléculas.

particular estructura secundaria y disposición espacial. Estas características les confieren especificidad en sus interacciones con otros componentes celulares (ácidos nucleicos y proteínas). Las estructuras secundarias dependen de la capacidad de las bases de aparearse mediante uniones hidrógeno y también de apilarse unas sobre otras. Existen algunos pocos ejemplos de ARN, todos ellos pertenecientes a virus, con una estructura espacial regular de doble cadena helicoidal (a la manera de los ADN), en que la composición de bases cumple las reglas de Chargaff. En la enorme mayoría de los ARN, incluidos todos los ARN celulares (cuya composición de bases no tiene esa regularidad), las moléculas aisladas se presentan formadas por cadenas simples de polinucleótido, que en ciertos trechos se cree que se plegarían sobre sí mismas en forma de horquilla, yuxtapuestas en forma antiparalela y retorcidas en doble hélice, merced al apareamiento de secuencias parciales complementarias (figs. 57 y 58).

En las células puede reconocerse la existencia de muchas especies de ARN, agrupables en familias de características comunes. La separación y aislamiento de estas familias se hace teniendo en cuenta su localización en diversas fracciones subcelulares en las que desempeñan funciones específicas. Los distintos ARN pueden ser caracterizados someramente de acuerdo con su tamaño molecular, reflejado aproximadamente en el llamado *coeficiente de sedimentación*. Este, simbolizado con la letra "s" y medido en unidades Svedberg "S", se determina en la ultracentrífuga. Otras propiedades diferenciales son la composición promedio de sus bases y la velocidad de su recambio metabólico (véase más adelante).

En el cuadro 4 se indican las principales familias de ARN celulares. Algunas de ellas son complejas mezclas de especies diferentes (v.g., el ARN nuclear heterogéneo o los ARN mensajeros citoplásmicos, ARNm); otras (los ARN de transferencia, ARNt) tienen una cincuentena de especies de

arquitectura muy similar, que pueden ser resueltas en sus integrantes individuales (la estructura de uno de ellos se muestra en la figura 58); en tanto que los ARN ribosómicos (ARNr) citoplásmicos, que representan la mayor parte (60-80 %) de los ARN celulares totales, incluyen sólo cuatro especies claramente separables. Todos estos ARN son determinados por el ADN del genoma nuclear. En los cloroplastos y las mitocondrias, existen ARN con funciones y arquitecturas similares a las de los ARN citoplásmicos (ARNr, ARNt, ARNm), pero son especies de características moleculares diferentes, fácilmente distinguibles de sus homólogos, y se cree que se originan en el ADN del respectivo orgánulo.

Algunos de estos ARN se encuentran en las células como constituyentes de nucleoproteínas específicas. Las más abundantes y mejor caracterizadas son las *partículas ribosómicas*, que desempeñan un papel central en la síntesis de las proteínas. Los *ribosomas* de las células vegetales están localizados ya sea en el citoplasma (libres o unidos a membranas) o en los cloroplastos y mitocondrias, con características diferentes en cada caso. Los ribosomas citoplásmicos (fig. 51), partículas de aproximadamente 4 millones de daltons y $s=80S$, poseen dos subunidades diferentes: la *pequeña*, $s=40S$, está formada por una molécula de ARN ribosómico de 18S, asociado a unas 20-25 o más proteínas diferentes; la *grande*, $s=60S$, tiene una molécula de cada uno de los ARN de 28S, 7S y 5S, y 30-35 o más proteínas diferentes de las anteriores. En los orgánulos (a semejanza de los ribosomas de bacterias), los tamaños y coeficientes de sedimentación son menores: aproximadamente 70S para las unidades ribosómicas, y 30S (con ARN de 16S) y 50S (con ARN de 23S) para las subunidades. Los ribosomas se encuentran en el medio celular como *unidades*, como *subunidades libres* (llamadas además, *partículas subribosómicas*), y también en *agregados* de varias unidades, vincula-

Cuadro 4. Clases de ARN en eucariotes.*

Clases de ARN	Localización principal	Tamaño, daltons (Svedberg)	Función	Otras características	Especificación
A—ARN originador en el núcleo					
ARN nuclear heterogéneo (ARN ^{inh} —pre-ARN ^m)	Cromatina nucleoplasma	Hasta 10 ⁷ (50—200 S)	Precusores de ARN mensajeros (pre-ARN ^m) ¿Otras?	Muy rápido recambio metabólico. Una reducida proporción llega al citoplasma. Composición parecida a la del ADN	ADN cromosómico
ARN nucleolar	Núcleo	(46 S; 35 S; 28 S; 18S; 5S)	Precusores de ARN ribosómicos	Muy alto contenido de GC %	ADN nucleolar (copias múltiples)
ARN ribosómicos (ARN ^r)	Citoplasma—ribosomas 80S—	1,3x10 ⁶ (28S) 0,65x10 ⁶ (18S) 3x10 ⁵ (5S) (7S)	Estructura y función del ribosoma 80S	Metabólicamente estables. Aproximad. 2/3 o más, del ARN celular. Algunas bases metiladas. Alto contenido de GC %	ADN nucleolar
ARN de transferencia (ARN ^t)	Citoplasma fracción soluble	25.000 (4S) 75-85 nucleótidos	Síntesis peptídica: activación y transferencia de aminoácidos	Metabólicamente estables, medio centenar de especies. Poseen bases modificadas.	ADN nuclear ¿cromosómico?
ARN mensajero (ARN ^m)	Citoplasma—polisomas	10 ² - 10 ⁶ y más (8S - 30S)	Especificación de secuencias en la síntesis peptídica	Estabilidad muy variable. Suelen tener secuencias de poli-A adicionadas. Composición parecida a la del ADN.	ADN cromosómico
B—ARN de orgánulos					
ARN ribosómicos	a-cloroplastos b-mitochondrias	(23S y 16S)	Estructura y función del ribosoma 70S	Especies diferentes de las citoplásmicas	a-ADN cloropl. b-ADN mitoc.
ARN de transferencia	a-cloroplastos b-mitochondrias	(4S)	Como los ARN ^t de citoplasma	Especies múltiples, diferentes de las de citoplasma.	a-ADN cloropl. b-ADN mitoc.
ARN mensajeros	Polisomas en orgánulos		Como en citoplasma	En mitochondrias se han encontrado secuencias de poli-A	ADN de orgánulos, ADN ¿nuclear?

* Reproducida en forma abreviada y con modificaciones del artículo de B. Parisi y O. Ciferri "Protein Synthesis by cell - free extracts from castor bean seedlings. I. Preparation and characteristics of the aminoacid incorporating system", publicado en *Biochemistry*, 5 (1966), 1639.

das por una molécula de ARN mensajero, que se denominan *polirribosomas* o *polisomas*.

También los virus vegetales están constituidos por ARN (que hace de material genético) asociado a proteínas con

las que forma partículas de alta simetría interna. La gran mayoría de estos virus contiene ARN de cadena simple. El "virus del tumor de heridas", por el contrario, tiene un ARN de doble cadena helicoidal.

METABOLISMO DE LOS ACIDOS NUCLEICOS

FUNCIONES DEL ADN

Como ya se dijo, el ADN es el material genético de todos los seres vivos. Lo ha mostrado una serie de evidencias coincidentes: 1) la constancia de la composición y el contenido del ADN de las células somáticas de un individuo y de los individuos dentro de la misma especie; 2) la relación ya mencionada entre el contenido de ADN y la plotfía de las células; 3) la estrecha asociación de los cromosomas y el ADN; 4) la acción mutagénica de los agentes que modifican al ADN; y 5) la transferencia de material genético en las bacterias mediante la introducción de ADN.

Dos son las grandes funciones del ADN:

- Autorreplicarse para permitir la multiplicación celular.

- Expresarse fenotípicamente como ARN y como proteínas.

REPLICACION DEL ADN

El ADN de la gran mayoría de las células no está sometido al recambio metabólico¹. En las células en reposo, el ADN se conserva sin cambios. En las células en proliferación, en el período intermitótico (entre sucesivas divisiones) llamado fase S (de síntesis de ADN), se duplica la dotación de dobles cadenas de ADN y se forman dos juegos de copias idénticas del genoma: ambas están constituidas por una cadena del ADN preexistente y por otra recién sintetizada, con una secuencia comple-

¹ El recambio metabólico de los distintos componentes celulares consiste en el doble juego de la desaparición (degradación) y la reposición (síntesis) de sus moléculas. La degradación y la síntesis de un componente están reguladas separadamente (no necesariamente están compensadas) y obedecen a las fluctuantes necesidades del organismo.

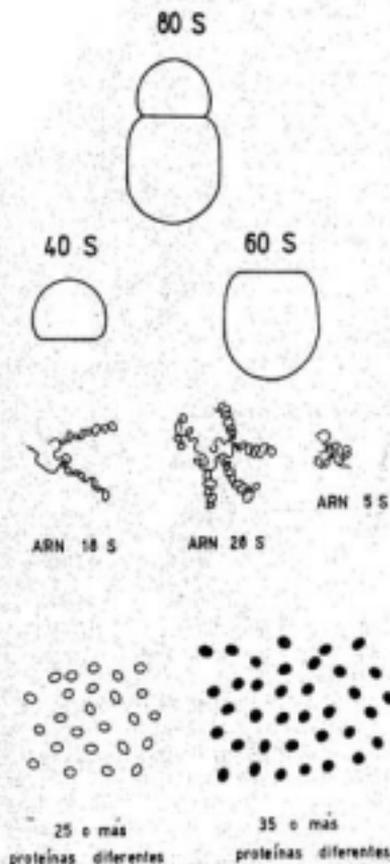


Figura 51. Partículas ribosómicas de eucariotas. Se representan aquí, esquemáticamente, los tres tipos de partículas observables en el citoplasma: ribosomas 80S y partículas subribosómicas 40S y 60S. Los ribosomas 80S, a su vez, se disocian en las subunidades 40S y 60S cuando la concentración de Mg disminuye en gran medida a 1/10 de la fisiológica. Se indican más abajo los ARN y las proteínas componentes de cada subunidad. Respecto de los ribosomas del citoplasma de los eucariotas, no se conoce exactamente su composición en proteínas, pero parecen ser más complejos que los de las bacterias.

mentaria de bases apareadas conforme al modelo de Watson y Crick. Ese modo preciso de réplica del genoma, que se observa en todos los seres vivos, se llama *replicación semiconservativa*: cada célula hija recibe en su ADN una cadena materna y una recién constituida (fig. 52).

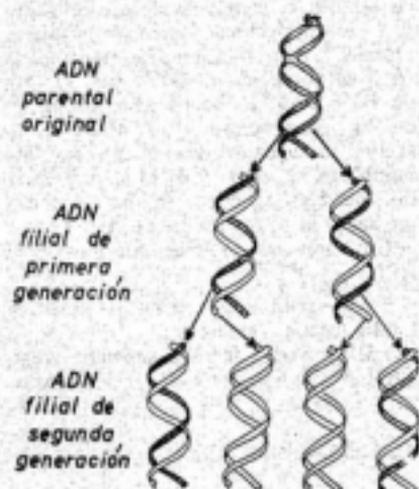


Figura 52 A. Replicación semiconservativa del ADN. Cada una de las dos células hijas que resultan de la división de una célula lleva consigo ADN, una de cuyas cadenas estaba en el ADN parental, mientras que la otra cadena es copia complementaria de la primera.

El proceso bioquímico de replicación del ADN tiene varias facetas:

a) las unidades que se eslabonan para formar las nuevas cadenas son nucleótidos completos; la formación de las uniones fosfodiéster 3'-P-5' requiere invertir energía, y se cree que los precursores son desoxinucleósido-trifosfatos cuya alta energía permite la reacción.

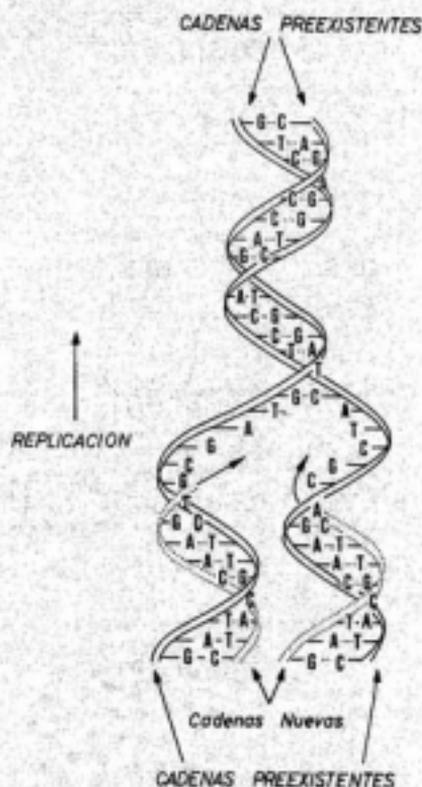


Figura 52 B. Modelo de replicación del ADN sugerido por Watson y Crick. Al separarse las cadenas del ADN parental cada una actúa como matriz para la construcción de una cadena complementaria con la que se reune en doble hélice.

b) el ordenamiento de los nucleótidos en las secuencias de las nuevas cadenas es dirigido por apareamiento con las bases de las cadenas madres. Esta operación es secuencial y simultánea con la formación de las uniones fosfodiéster. Para su apareamiento, las bases de las cadenas madres deben previamente quedar expuestas median-

te el "desretorcido" del ADN materno, al menos en trechos cortos.

- c) el crecimiento secuencial de las nuevas cadenas tiene lugar a partir de puntos fijos en el cromosoma, que son los sitios en que se inicia la replicación.
- d) el proceso posee una regulación precisa que asegura la replicación en coordinación estrecha con el programa de las otras actividades en el ciclo celular.

A continuación se describen con más detalle algunos de estos aspectos.

La síntesis de ADN se estudia frecuentemente con una metodología experimental (también aplicada a la síntesis de ARN y de proteínas) que consiste en suministrar al sistema biológico (organismo, tejido o células aisladas, preparaciones subcelulares, etcétera) alguna sustancia precursora del producto, la cual está marcada con un isótopo radiactivo (^{14}C , ^3H , ^{32}P). Al término del período de la síntesis se elimina de la muestra todo el precursor no utilizado y se mide la radiactividad remanente, que representa al precursor incorporado, es decir el utilizado en la construcción del ADN durante el experimento. Así se puede determinar con buena precisión la síntesis de cantidades pequesimas de ADN en muestras biológicas de tamaño muy reducido, y aun caracterizar el producto mediante el estudio de su composición y propiedades.

Los precursores pueden ser muy variados, pero es frecuente suministrar *in vivo* fosfato inorgánico ^{32}P , o bien timina o timidina marcadas con ^3H o ^{14}C ; en sistemas acelulares se usan comúnmente desoxinucleósido-trifosfatos marcados con cualquiera de los tres radioisótopos.

Utilizando precursores radiactivos se ha determinado que los distintos ADN celulares (nuclear, mitocondrial, de cloroplastos) son replicados por sistemas enzimáticos alojados en sus respectivos sitios celulares. En general, los procesos

son muy complejos y sus detalles no están bien dilucidados. Se sabe que, tanto en las bacterias como en los núcleos de eucariontes, la replicación del cromosoma transcurre secuencialmente en ciertos lugares de la membrana bacteriana o nuclear; en ellos, el cromosoma está asociado con un complejo enzimático y constituye una unidad de replicación o replicón, cuya puesta en marcha y velocidad de funcionamiento están reguladas.

En el cromosoma bacteriano, que tiene un solo replicón y es circular, la zona de replicación ha podido ser visualizada como una "horquilla" en Y, en cuyo vértice se abren las dos cadenas del ADN parental (el tronco vertical) para formar, con las nuevas cadenas complementarias que nacen en el vértice, las dobles hélices de las ramas (los nuevos cromosomas hijos). En el curso de la replicación la horquilla va avanzando sobre el resto del cromosoma, elongando las cadenas nacientes y formando los cromosomas hijos hasta su terminación en el que fue el punto de iniciación.

La replicación del ADN de los distintos cromosomas de una célula eucarionte tiene lugar en diferentes momentos de la fase de síntesis S. Las respectivas histonas no interfieren en el proceso, y paralelamente a la síntesis de ADN se producen más moléculas de histonas en el citoplasma las cuales pasan al núcleo para constituir los nuevos cromosomas. Cada cromosoma parece tener en su longitud varios replicones asociados a la membrana nuclear, a partir de los cuales la replicación parece realizarse en ambas direcciones hasta sus respectivos puntos de terminación.

En las bacterias, y posiblemente también en los núcleos de eucariontes, el primer producto *in vivo* de la síntesis de ADN se observa en tiempos muy breves, como cortos fragmentos discontinuos de cadenas simples de ADN, de pocos miles de nucleótidos, con secuencias complementarias a las cadenas parentales. Se cree que se originan en la

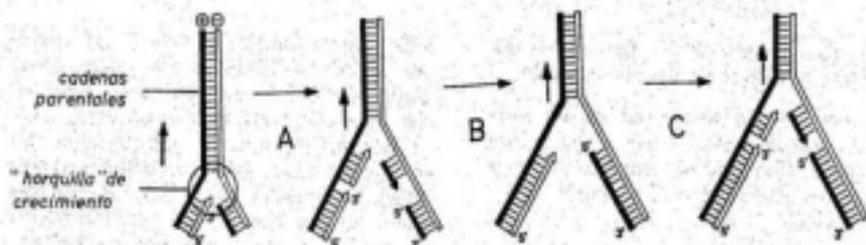
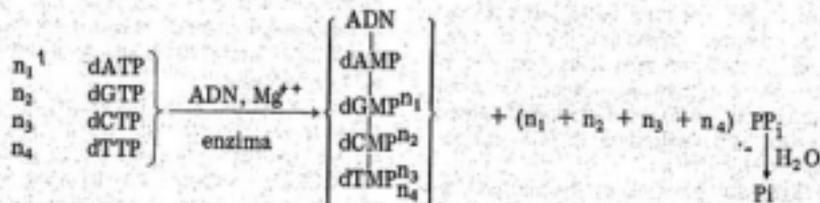


Figura 53. Modelo hipotético de replicación de ADN mediante la formación de fragmentos discontinuos. El cromosoma en replicación tiene una "horquilla" de crecimiento en que las cadenas parentales se desdoblaron y separan gradualmente y sobre las cadenas expuestas se construyen las nuevas que se asocian en doble hélice a las parentales. A) La "horquilla" en crecimiento avanza hacia arriba, se desdobra y separa un trecho adicional del cordón parental y sobre las cadenas se sintetizan sendos segmentos de ADN (en su propia dirección: 5'-3') complementarios y antiparalelos que se enrollan a las cadenas parentales. B) En cada rama de la "horquilla", el fragmento constituido se une en su extremo, el contiguo a la cadena creciente (5' al 3', o bien 3' al 5' en la otra rama). Estas resultan así alargadas en los correspondientes segmentos que ya están enrollados en doble hélice con las cadenas parentales. C) Al repetirse el proceso A) y luego el B) la horquilla de replicación va avanzando a lo largo del cromosoma. (Adaptado de J. D. Watson: *Molecular biology of the gene*, W. A. Benjamin, 1970, 2da. ed., pág. 286.)

región del vértice de la horquilla de replicación, y recientemente se encontró que en su extremo 5' están unidos a cortas secuencias de oligorribonucleótidos, que desaparecen en un lapso muy breve. Inmediatamente, esos fragmentos se unen entre sí formando las hebras continuas de las nuevas cadenas replicadas en las ramas de la horquilla. Se han formulado diversos modelos hipotéticos (uno de ellos es el de la fig. 53) que suponen la participación de diferentes enzimas para llevar a cabo la síntesis discontinua de los fragmentos y

su integración en la cadena final. Algunas de estas enzimas son las siguientes: Las ADN polimerasas (descubiertas por A. Kornberg), que se encuentran en bacterias y en núcleos y orgánulos de plantas y animales, realizan la síntesis de polidesoxirribonucleótidos a partir de los cuatro sustratos desoxinucleósido-trifosfatos (con las bases A, G, C y T). Estos suministran los eslabones de nucleótidos y también la energía para encadenar cada uno de ellos al extremo precedente 3'-OH, y formar una unión fosfodiéster 3'-P-5' (liberando pirofosfato inorgánico, PP_i). Otro requerimiento obligatorio es la presencia de un



¹ Los coeficientes estequiométricos n_1 , n_2 , n_3 , n_4 indican las proporciones en que se incorporan al producto los respectivos nucleótidos.

ADN matriz que dirija la construcción de la nueva cadena. Kornberg demostró que el producto de síntesis *in vitro* por la ADN polimerasa I de *Escherichia coli* tiene secuencias de bases antiparalelas y complementarias de las del ADN matriz, tal como lo prevé el modelo de replicación de Watson y Crick (fig. 52B). Estas enzimas no son capaces de iniciar la síntesis de nuevas cadenas, sino que requieren partir de cadenas de desoxinucleótidos con sus extremos 3'-OH libres, que en la reacción actúan como aceptores a los que se unen los sucesivos nucleótidos; éstos son seleccionados mediante su apareamiento con las bases de la cadena opuesta del ADN matriz. Las *endonucleasas* hidrolizan uniones fosfodiéster 3' en diferentes puntos de una u otra cadena del ADN, sin llegar a desarmar la estructura en doble hélice. De este modo pueden generarse, en medio de las cadenas, grupos 3'-OH libres que pueden funcionar como aceptores de nucleótidos en la reacción de la ADN polimerasa. Se han descrito, también, proteínas que tienen la propiedad de *desretorcer* las dobles hélices del ADN, facilitando así la exposición de las bases normalmente encerradas dentro de aquéllas, y coadyuvando quizás a su apareamiento con los nucleótidos que, dirigidos por ellas, se incorporan a la cadena naciente. Las *ligasas* "sueldan" entre sí dos fragmentos vecinos de una misma cadena cortada cuando están apareados a la cadena complementaria, formándose así una unión fosfodiéster 3'-P-5'. Para ello utilizan la energía que proviene de la degradación de una molécula de ATP o de NAD. Estas enzimas intervendrían en la unión de los fragmentos discontinuos para su integración en las cadenas de ADN durante la replicación. Otra función importante es la de participar (junto con las nucleasas y con la ADN polimerasa) en los siguientes procesos:

1- la *reparación* y reconstrucción de una de las dos cadenas de un ADN, dañada ya sea por corte accidental, por destrucción de un trozo de secuencia o

por acción de la radiación ultravioleta que dimeriza las timinas de nucleótidos vecinos e impide su función. 2- La *recombinación* genética tanto en bacterias y bacteriófagos como en eucariontes (durante la meiosis, en el fenómeno de *crossing-over* y de formación de *quiasmas*).

Mutaciones

Ciertos agentes físicos y químicos, y algunas moléculas de análogos de bases (cuadro 5) son *agentes mutagénicos* (es decir que causan cambios en la constitución genética, transmisibles a la progenie). Ello ocurre a través de la alteración en la secuencia de una o ambas cadenas del ADN (ya sea en una o más de sus bases) que luego, al sobrevenir un ciclo de replicación, determina la introducción de la respectiva alteración complementaria en la "cadena copia": así resulta una doble cadena con ambas secuencias modificadas complementariamente, la cual por replications sucesivas transmitirá a la progenie la alteración así estabilizada. Cuando ello involucra el cambio en una sola base o par de bases (ya sea reemplazo, agregado o desaparición), la *mutación* se llama *puntual*. Otras mutaciones afectan a trechos más extensos de las cadenas de ADN.

Otras formas de síntesis de ADN

Muy recientemente, Temin y otros autores han descrito un proceso de biosíntesis de ADN en células animales, en que la construcción de la cadena de ADN es dirigida por un ARN. La enzima que cataliza esta reacción ha sido llamada *transcriptasa inversa*. Tanto la enzima como el ARN especial capaz de ser copiado en ADN, se han encontrado en algunos virus oncogénicos (causantes de cáncer). El ADN obtenido (copia negativa del ARN viral) es a su vez copiado en una cadena complementaria, y la molécula de ADN en doble hélice que

I - Agentes que provocan mutaciones puntuales:

5-Bromouracilo (5-Cloro, 5-Yodouracilo) 2-Aminopurina 8-Azaguanina	Análogos de bases que se incorporan <i>in vivo</i> en ácidos nucleicos y que, a diferencia de las bases naturales que reemplazan, apárean en forma ambigua dando lugar a transiciones (cambios de bases) en la replicación y la transcripción.
Acido nitroso Hidroxilamina Nitrosoguanidina	Reaccionan con las bases existentes, modificándolas, y por los nuevos apareamientos así provocados resultan en transiciones en la replicación y la transcripción.
Acridinas: Acriflavina Proflavina Quinacrina	Actúan intercalándose entre sucesivos pares de bases vecinos, causando así inserciones de pares de bases durante la replicación.

II - Modificadores covalentes:

Mitomicina C Mostazas nitrogenadas Luz ultravioleta	Establecen puentes o uniones covalentes entre bases de una misma cadena o de ambas. Estas uniones impiden la replicación y la transcripción.
---	--

III - Agentes físicos que provocan cambios diversos:

Luz ultravioleta Radiaciones ionizantes: Rayos X Radiactividad (α , β , γ)	Causan cambios en la estructura, ya sea por modificación de bases o por destrucción de partes de la cadena, dando origen a mutaciones.
---	--

IV - Formadores de complejos no covalentes:

Actinomicina D Cromomicina A ₃	Al unirse a la doble hélice del ADN impiden fuertemente su transcripción y, en menor grado, su replicación.
--	---

así resulta pasa a integrar alguno de los cromosomas de la célula, transformada en célula cancerosa. Este proceso, aparentemente de gran importancia en el estudio del cáncer, no ha sido hasta ahora detectado en los vegetales.

LA EXPRESION GENETICA I

La transcripción del ADN y la síntesis de ARN

Se ha dicho anteriormente (el "dogma central") que el proceso de la ex-

presión fenotípica del genoma requiere dos pasos sucesivos: la *transcripción* de las secuencias de bases del ADN en ARN, y la *traducción* de las secuencias de bases de los ARN en secuencias peptídicas de proteínas.

Una serie de evidencias indican que, efectivamente, el ADN no actúa directamente en la síntesis proteica, sino que son los ARN los intermediarios en el flujo de información genética que participan por sí en el proceso de síntesis de proteínas.

- El ADN de eucariontes, por estar confinado en el núcleo, no puede dirigir la síntesis de proteínas que tiene lugar en el citoplasma.
- La extirpación del núcleo que contiene el ADN (por ejemplo, en el alga *Acetabularia*) no impide que en el citoplasma continúe la síntesis peptídica por un tiempo considerable.
- Existe un paralelismo entre el contenido y distribución celular de ARN y la actividad de síntesis peptídica.
- En extractos acelulares, la actividad de síntesis de proteínas es poco afectada si se elimina el ADN, pero se pierde totalmente al degradarse el ARN.
- La misma actividad disminuye en células en que se ha inhibido selectivamente la síntesis de ARN.

Los ARN involucrados en la síntesis de proteínas son de tres tipos:

- Los *ARN mensajeros*: la secuencia particular de nucleótidos de cada uno (copiada del respectivo gene) contiene las instrucciones (mensaje) para la selección y ordenamiento de los aminoácidos en la secuencia peptídica específica de la proteína correspondiente.
- Los *ARN de transferencia*: individualizan a cada uno de los aminoácidos para su reconocimiento por el ARN mensajero y su incorporación en unión peptídica.
- Los *ARN ribosómicos*: estructuran las partículas de ribonucleoproteína (los ribosomas) que, unidas a un ARN mensajero, leen su mensaje y lo traducen en la proteína correspondiente. Son de por sí inespecíficos respecto de las proteínas que construyen, y pueden asociarse a diferentes mensajeros.

La formación de estos ARN transcurre en dos etapas, una de transcripción propiamente dicha del ADN, y otra de modificación y procesamiento de los ARN (especialmente en eucariontes) hasta su estructura operativa definitiva.

Características de la transcripción

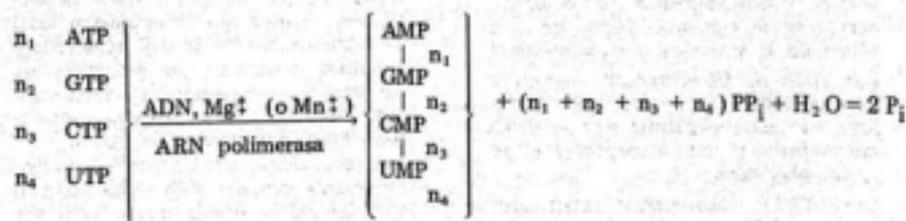
El proceso de transcripción del ADN, en que se sintetizan los distintos ARN celulares, tiene una semejanza básica con el de la replicación: las secuencias del ADN matriz son copiadas en secuencias complementarias en el ARN, mediante reglas de selección de bases que son equivalentes a las de la replicación. Sin embargo, la analogía no puede extenderse mucho más:

- La transcripción es *asimétrica*: de las dos cadenas en doble hélice del segmento de ADN que corresponde a un gene (que especifica a una sola proteína), *solamente una cadena es transcrita* en el ARN que va a dirigir la síntesis de la proteína, y la otra cadena complementaria no es copiada. Si fuera de otro modo se obtendrían dos ARN, con secuencias totalmente diferentes, que dirigirían las síntesis de dos proteínas en vez de una sola: es decir que el gene especificaría dos proteínas.
- La longitud de la cadena de ADN transcrita en un cierto ARN es muchísimo menor que la extensión total del cromosoma (o la del replicón), y contiene solamente la secuencia de un gene o a lo sumo de algunos genes: los ARN tienen tamaños moleculares muy inferiores al del ADN.
- En una célula se transcriben individualmente muchos diferentes segmentos del ADN precisamente delimitados, que actúan como *unidades de transcripción*, cada uno correspondiente a una función o conjunto de funciones genéticas; éste es el origen de las muchas especies individuales de ARN que se encuentran en una célula.
- El número de veces que es transcrito un mismo segmento de ADN (el número de moléculas de ARN resultante) puede ser muy variado, opuestamente a lo que ocurre con la replicación, que es unitaria. Cada unidad de transcripción en el ADN puede, además, ser transcrita o no en los

diversos momentos del ciclo vital de la célula. Esta transcripción facultativa en cantidad y en oportunidad indica la posibilidad de mecanismos de regulación y control aplicables a cada una de las unidades de transcripción¹.

Síntesis del ARN

Los ARN son sintetizados en los sitios celulares en que existe ADN: el núcleo, las mitocondrias y los cloroplastos. En esas fracciones celulares de eucariontes y en las bacterias se han encontrado enzimas llamadas *ARN polimerasas*, capaces de construir *in vitro* cadenas de polirribonucleótidos utilizando como sustratos el conjunto de los cuatro ribonucleósido-trifosfatos cuyas bases son A, G, C y U (ninguno de ellos puede ser omitido). Para que la reacción tenga lugar se requiere la presencia de iones Mg^{+2} , o Mg^{+2} y Mn^{+2} , y también, la de ADN, ya sea de cadena simple (desnaturalizado) o en doble hélice.



La reacción es secuencial: cada cadena es construida *de novo* (sin necesidad de "iniciadores") a partir de un primer nucleósido-trifosfato en el extremo 5', y crece en la dirección 5' → 3', uniéndose los sucesivos nucleótidos al extremo 3'-OH de la cadena mediante uniones fosfodiéster. En cada elongación se libe-

ra un resto de pirofosfato inorgánico que, con su hidrólisis a ion fosfato, provee la energía para realizar la polimerización.

En la figura 54 se representa el mecanismo de síntesis de un ARN. La función del ADN en esta reacción es la de "matriz" cuyas secuencias de bases determinan, por complementariedad antiparalela, las secuencias de los ARN sintetizados. En la selección de las bases de ARN operan las reglas de Watson y Crick, en que el uracilo U sustituye y equivale a la timina T del ADN.

bases del ADN	A	T	G	C
				-
bases del ARN	U	A	C	G

Las características fisiológicas de la transcripción del ADN ya enunciadas imponen a la acción de la ARN polimerasa ciertos requerimientos mínimos: la transcripción debe iniciarse en sitios específicos del ADN, debe transcurrir en forma asimétrica (copiando una sola de las hebras del ADN) y debe terminar en

sitios también específicos. Obviamente, esas especificaciones deben residir en la propia estructura del ADN, en forma de secuencias especiales de bases que hagan de señales indicadoras. A su vez, la enzima debe ser capaz de reconocer esas señales como guías de su actividad.

Los estudios genéticos realizados en bacterias han mostrado que en el ADN existen trechos cortos de cadena situados en el extremo de las unidades de transcripción, llamados "promotores", que actúan como señales de iniciación.

¹ En las bacterias, las unidades de transcripción sometidas a una regulación negativa (represión) se denominan *operones*.

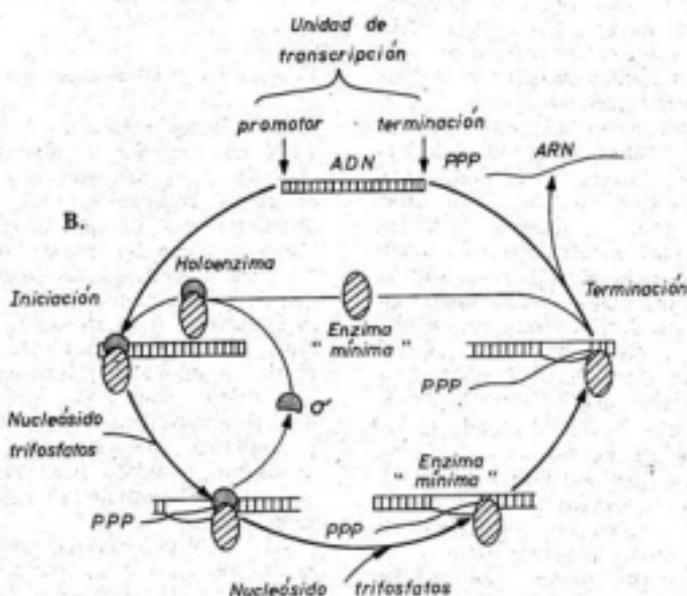
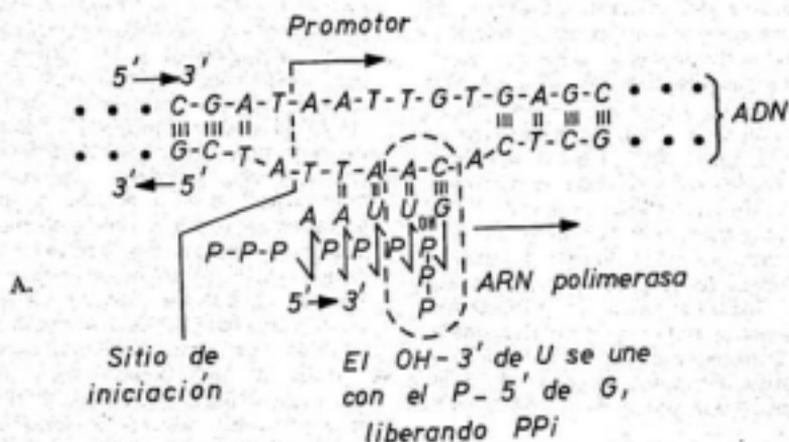


Figura 54. La síntesis de ARN por la ARN-polimerasa ADN-dependiente. A) El crecimiento de la cadena de ARN en la dirección 5'-3' dirigido por la cadena de ADN de sentido antiparalelo. B) Esquema general de la transcripción. La holoenzima (con la subunidad σ) reconoce el promotor de la unidad de transcripción en el ADN y se forma un complejo de iniciación. Después de algunos pasos de elongación, la subunidad σ abandona el complejo ADN-ARN-polimerasa y vuelve a estar disponible para reiniciar cíclicamente otra vuelta de transcripción. La enzima mínima lleva a cabo la construcción restante de la cadena de ARN y su terminación liberándose conjuntamente el ARN y la enzima; ésta vuelve a participar con σ en otra iniciación.

La secuencia del promotor indica a la enzima el sitio de iniciación y, además, cuál de las dos cadenas debe ser transcrita asimétricamente. A lo largo del cromosoma, la transcripción se realiza en ciertas unidades de transcripción sobre una de las hebras del ADN; otras requieren ser transcritas sobre la hebra complementaria. En cada caso, la orientación de la ARN polimerasa y de su acción depende de la orientación del promotor. En ciertos bacteriófagos se ha propuesto la existencia de distintos tipos de promotores que corresponderían a diferentes unidades de transcripción, cada uno de los cuales exigiría una forma especial de reconocimiento por parte de la ARN polimerasa.

También hay indicios sobre la existencia de sitios específicos de terminación que son reconocidos por la ARN polimerasa. Parece existir más de un tipo de señal de terminación, pero no se conocen bien sus características.

El reconocimiento de estas señales por la ARN polimerasa depende de sus propias características estructurales. Las ARN polimerasas de los diferentes organismos están en general constituidas por varias subunidades. La enzima de la bacteria *E. coli* (una de las más estudiadas) posee cuatro subunidades principales distintas que se asocian así: $\beta' \beta \alpha_2 \sigma$. La subunidad σ (sigma) es fácilmente disociable del resto, que forma un núcleo más estable ($\beta' \beta \alpha_2$). En esta enzima "mínima" reside la capacidad catalítica de formar cadenas de ARN dirigidas por secuencias de ADN. Sin embargo, la enzima no es capaz de reconocer los sitios de iniciación (los promotores) de las transcripciones, y no discrimina entre ambas cadenas del ADN. Por agregado del factor proteico σ , que reconstruye la holoenzima ($\beta' \beta \alpha_2 \sigma$), se recupera la capacidad de iniciación en sitios específicos y de la síntesis asimétrica. El papel del factor σ parece estar limitado al reconocimiento y a la unión de la ARN polimerasa (holoenzima) al sitio de iniciación en el ADN. Una vez comenzada la construc-

ción del ARN, σ abandona el complejo enzimático (y vuelve a participar de otras iniciaciones), y la enzima "mínima" lleva a cabo por sí sola la elongación y terminación de la cadena de ARN: la enzima "mínima" es así capaz de reconocer las señales de terminación. Sin embargo, existirían algunas señales "ignoradas" por la enzima y que son reconocidas cuando está presente un factor de terminación δ (ρ) —que no forma parte de la holoenzima en sí—, merced al cual se observa la terminación anticipada de algunas cadenas.

Existe una serie de *inhibidores de la síntesis de ARN* (cuadro 6), algunos de los cuales tienen selectividad diferencial para distintas actividades sintéticas. El más utilizado es la *actinomicina D*, que es un inhibidor general.

La síntesis de ARN en eucariotes

El principal sitio de la síntesis de ARN en animales y plantas es el núcleo. De él se han aislado y purificado, en varios organismos, ARN polimerasas diferentes que se caracterizan, además, por sus diferentes requerimientos iónicos para la actividad enzimática, sus diferentes localizaciones (ya sea en el nucleoplasma o en el nucléolo), la naturaleza de los productos y la sensibilidad frente al inhibidor diferencial α -amanitina (véase cuadro 6). En algunos de los casos estudiados, las distintas ARN polimerasas nucleares de un mismo organismo o tejido han revelado tener estructuras complejas con diferentes subunidades.

Las ARN polimerasas *nucleolares*, llamadas de tipo I o A, realizan en el nucléolo la transcripción de los genes para los ARN-r, cuyo primer producto es el ARN precursor 45S. No son inhibidas por la α -amanitina, son activadas por Mg^{++} y requiere una concentración salina relativamente baja.

Las enzimas aisladas en el *nucleoplasma*, de tipo II o B, llevan a cabo la transcripción del ADN de la cromatina

Cuadro 6. Inhibidores de la síntesis de ARN.

Inhibidor	Sistema en que actúa	Tipo de inhibición
Actinomicina D	Todos	Afecta la transcripción de los grupos G del ADN. Bloquea la elongación. Inhibe preferencialmente (a bajas concentraciones) la síntesis de ARN ₁ y ARN nucleolar (ricos en GC %).
Rifamicina Rifampina Rifampicina	Bacterias, mitocondrias, cloroplastos	Inhibe la ARN polimerasa en la iniciación. No afecta la elongación.
AF/013 (derivado de la rifamicina)	Núcleo (de animales)	Inhibe la iniciación por las ARN polimerasas nucleares.
α -amanitina	Núcleo de eucariontes	Inhibe selectivamente las ARN polimerasas del nucleoplasma. No afecta a las enzimas del nucléolo, ni a las de los orgánulos y bacterias.
Bromuro de etidio	Mitocondrias	Afecta la transcripción del ADN en doble hélice, circular, de tamaño pequeño.
Cordicepina	Núcleo y mitocondrias	Análogo de la adenosina, que bloquea la incorporación de A en ARN.
6-Metil-purina		Análogo de la adenina, que bloquea la síntesis de ARN.
Camptotecina	Núcleo	Inhibidor diferencial de la síntesis nuclear.

Nota: Debe tenerse en cuenta que la acción de estos inhibidores en células u organismos enteros requiere su penetración en el compartimiento celular correspondiente, y que a veces por falta de permeabilidad de las membranas esto no ocurre. Para mayor información puede consultarse el artículo de I. H. Goldberg y P. A. Friedman, "Antibiotics and Nucleic Acids", en *Ann. Rev. Biochemistry*, 40, 1971, 775-810.

no nucleolar; su producto es el llamado ARN nuclear heterogéneo. Son inhibidas por la α -amanitina, requieren Mn^{2+} y una concentración salina relativamente alta para su actividad.

Se han detectado otras enzimas, tipo III o AIII, nucleoplásmicas, insensibles a la α -amanitina, cuyo producto de transcripción no es bien conocido.

Algunas de las enzimas descritas retienen la capacidad de realizar la inicia-

ción específica de la transcripción en sitios precisos del ADN respectivo. Esto sugiere que poseen factores de iniciación también específicos que, una vez formado con el ADN el complejo de iniciación, confieren resistencia a la inhibición por derivados de la rifamicina (cuadro 6).

En las plantas existen las ARN polimerasas de los núcleos, cuyas propiedades parecen corresponder a algunas de las

clases antes descritas. Así, en la cromatina del endosperma del coco, Biswas ha aislado dos enzimas que parecen pertenecer a las clases I y II, y un factor de iniciación que estimula a ambas. Con la enzima denominada C-I (tipo II), el factor B forma un complejo específico que se une al ADN de coco (nativo), pero no a otros ADN, y que promueve una rápida iniciación contrarrestando la inhibición por la rifamicina.

La formación y procesamiento de los ARN

Los distintos tipos de ARN sintetizados en el núcleo, tanto de animales como de plantas, aparecen generalmente como moléculas de gran tamaño, que reflejan la considerable extensión de las unidades de transcripción en los cromosomas de eucariontes. Las cadenas de ARN nuclear heterogéneo (que tienen una relativa abundancia de A y U, y un rápido recambio metabólico) son precursores (*pre-ARNm*) de los ARN mensajeros. Originalmente tienen tamaños que pueden llegar hasta los 150 ó 200S (20 a 30 millones de daltons, 70.000 a 100.000 nucleótidos), y antes de pasar al citoplasma sufren sucesivos clivajes y la degradación del 90 % o más de sus secuencias: los trechos eliminados que contienen secuencias de oligo-A y oligo-U podrían corresponder a las secuencias redundantes que acompañan a los genes en las unidades de transcripción, y su función podría ser la de participar en el control y la regulación del procesamiento. Otra modificación adicional en la mayoría de los ARN mensajeros, que hasta ahora se ha encontrado en animales y en levaduras, es el agregado en su extremo 3' de secuencias de poliadenilico (-pApApApA...), véase figura 48C con decenas o cientos de nucleótidos (esto ocurre en una etapa intermedia del clivaje de los *pre-ARN*, en el núcleo). Existen ARNm (los de histonas) que no poseen ese trecho de poli-A; en este caso, el tiempo de procesamiento y transporte desde el núcleo al

citoplasma es bastante menor que con otros mensajeros.

Recientemente se ha realizado un estudio integral sobre la formación de un ARNm definido, en este caso, el mensajero de las cadenas de hemoglobina de las aves en las células eritropoyéticas que la sintetizan. La figura 55 representa esquemáticamente el proceso: la heterogeneidad del ARN nuclear se debe a que el producto original de la transcripción en la cromatina, un *pre-ARNm* gigante de entre 5 y 20 millones de daltons, va sufriendo sucesivos clivajes con la aparición de trozos más pequeños. El trozo que contiene la secuencia del ARNm de hemoglobina, poliadenilado tempranamente, va siendo transformado hasta que, reducido a una longitud 1/100 de la original, es transportado al citoplasma, donde aparece como nucleoproteína (RNPM) o se asocia con los polisomas.

En los vegetales superiores se ha observado muchas veces que en la síntesis de los ARN aparece tempranamente una fracción de ARN heterodisperso (es decir de muchos tamaños), de rápido recambio metabólico, con una composición parecida a la del ADN, o bien rica en adenina, y que llega a asociarse a los polisomas. Llamado "*ARN-D*" (ARN parecido al ADN), o ARN "*rico en AMP*", sería el ARN nuclear heterogéneo y se le atribuye la calidad de precursor de los ARNm. En algunos casos, la síntesis parece tener caracteres especiales: en la germinación del embrión de trigo se ha observado que el primer producto de síntesis de ARN, a las 3 horas de iniciada la germinación, es un ARN nuclear no heterodisperso, de 1,5 millones de daltons, con una composición inusual, muy rico en G y en U, y que se presenta asociado a proteínas.

El ARN nucleolar que se origina con un tamaño de 45S (unos 5 millones de daltons) y un muy alto contenido en las bases G y C, es procesado en el mismo nucléolo mediante la metilación de algunas bases y varias operaciones de clivaje que resultan finalmente en las

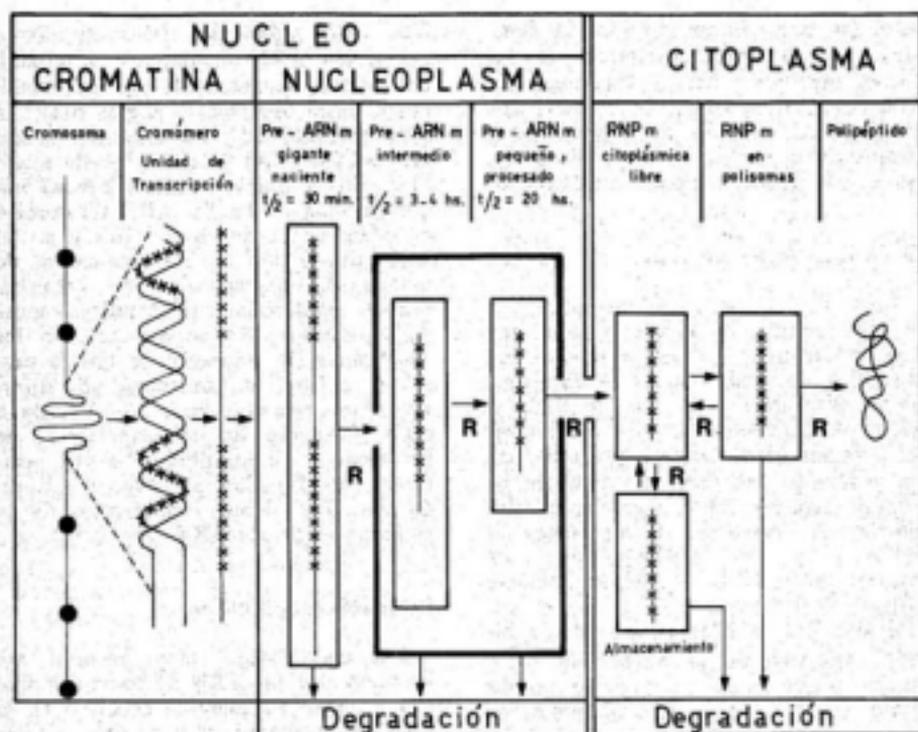


Figura 55. Formación y procesamiento de un ARN mensajero en el núcleo de los eucariotes. La figura representa el proceso de formación del ARNm de cadenas de globina (la proteína de la hemoglobina) en las aves. El producto original de transcripción en la cromatina (a la izquierda), es un pre-ARNm gigante de entre 5 y 20 millones de daltons para cuya síntesis la ARN-polimerasa tardaría unos 10 minutos en construir la larguísima cadena. En esa molécula está incluida la secuencia de ARNm de unos 450 nucleótidos (150.000 daltons, 0,7 % del total), que codifica las secuencias peptídicas de la globina. En la molécula gigante también se reconocen secuencias de oligo-A y oligo-U (5 a 30 nucleótidos), además de algunas regiones con estructura secundaria (lazos en doble hélice). Asociado a las proteínas y liberado en el nucleoplasm, comienza un proceso de reducción del tamaño de la cadena alrededor de la secuencia de ARNm en que las endonucleasas específicas van clivando la molécula. Se reconocen por lo menos dos pasos en que el tamaño disminuye a 1-5 millones de daltons y luego a menos de 1 millón. Los productos intermedios tienen estabildades muy diferentes, con vidas medias $1/2$ de $1/2$ hora, $3/4$ hora y unas 20 horas, respectivamente. La secuencia de poli-A de 100-150 nucleótidos se agrega al extremo 3' de la cadena en uno de los primeros estadios y acompaña a la cadena en todo su procesamiento posterior. Siempre asociada con proteínas, la cadena con la secuencia del ARNm pasa finalmente al citoplasma, donde se la encuentra ya sea libre (como ribonucleoproteína mensajera, RNPs) o unida a los polisomas. Los trozos eliminados en el camino sufren una rápida degradación. Las R indican posibles sitios de regulación. (Adaptado de K. Scherrer, *Karolinaka Symposia - 6th Symposium "Protein Synthesis in Reproductive Tissue"*, Karolinaka Institutet, 1973, págs. 95-125).

cadena de 18S y 28S; éstas pasan al citoplasma como partículas subribosómicas de 40S y 60S, respectivamente.

Los ARNt, si bien su sitio de síntesis no está dilucidado, se sabe que resultan también de modificaciones parecidas,

entre las que son importantes la metilación y reacondicionamiento de las "bases menores". En el transcurso de estas transformaciones, en general los distintos ARN están asociados a nucleoproteínas, y su pasaje por las diversas etapas requiere tiempos diferentes.

La transcripción en orgánulos

La síntesis de ARN en cloroplastos y en mitocondrias es llevada a cabo por ARN polimerasas y ADN propios de los orgánulos. En ambos casos se sintetizan ARN ribosómicos de 16S y 23S, y ARN de transferencia, que actúan en los sistemas de síntesis de proteínas de los orgánulos. Se cree que también se forman algunos ARN mensajeros, que pueden ser poseedores de secuencias de poli-A y que son utilizados por esos mismos sistemas. Las ARN polimerasas difieren de las enzimas del núcleo y son inhibidas por la rifamicina. Otro inhibidor selectivo de la síntesis de ARN en las mitocondrias es el bromuro de etidio (cuadro 6), que distorsiona las cadenas de ADN circular en doble hélice al intercalarse entre los sucesivos pares de bases, con lo cual interfiere la transcripción.

Recambio metabólico de los ARN

Los ARN están sometidos a un proceso de degradación y eliminación en las células, cuyas características son propias de cada familia de ARN. Algunos ARN son rápidamente degradados al poco tiempo de su síntesis, mientras que otros tienen vidas útiles más largas. La conjunción de la degradación y la síntesis da lugar a su recambio metabólico: en diferentes momentos de la vida de la célula, o en diferentes células, la tendencia neta puede ser la acumulación, el mantenimiento o la disminución de las distintas clases de ARN. En los eucariontes, los ARN nucleares son los de más rápido recambio, con vidas me-

dias¹ del orden de varios minutos a horas; los ARN mensajeros citoplásmicos varían grandemente en su estabilidad, entre una hora y varios días; los ARN ribosómicos y de transferencia son más estables, con vidas medias de varios días. En la planta acuática *Lemna minor*, la vida media del ARN ribosómico citoplásmico es de cuatro días y la del ARN ribosómico de cloroplastos es de quince. La degradación está estrechamente controlada, independientemente de la síntesis. No se conocen, en los eucariontes, los mecanismos que la producen, si bien se han encontrado diversas ribonucleasas capaces de llevarla a cabo. Respecto de las bacterias se ha propuesto a ciertas ribonucleasas específicas, que degradan los ARN en la dirección 5'→3' como responsables de la eliminación de los ARN mensajeros.

Replicación de los ARN virales

Los bacteriófagos cuyo genoma está formado por un ARN de cadena simple (+) replican su material genético en la bacteria mediante una enzima propia (cuya síntesis en la bacteria es dirigida por el propio ARN, que actúa como mensajero). La ARN replicasa copia primero al ARN en una cadena complementaria (-), y la estructura en doble hélice que resulta de unirse ambas cadenas (la original y la nueva), a la que se llama *forma replicativa* del fago, actúa como "matriz" para que la misma enzima produzca muchas cadenas (+) que se integran como material genético a la progenie del fago. Se cree que los virus vegetales (como el del mosaico del tabaco) replican de manera similar su ARN de cadena simple.

¹ Vida media: período que tarda en desaparecer la mitad de las moléculas originalmente existentes (aun cuando el nivel inicial sea mantenido continuamente por reposición). Suele determinarse marcando las moléculas con un pulso de radiactividad, y siguiendo la desaparición de la misma en el tiempo.

LA EXPRESION GENETICA II

EL METABOLISMO PROTEICO: EL ESTADO DINAMICO DE LAS PROTEINAS Y SU DEGRADACION Y SINTESIS

En todos los seres vivos las proteínas se encuentran en un estado dinámico —o sea que continuamente se forman (síntesis) y desaparecen (degradación)—, cuya resultante es el recambio de las moléculas de las diferentes proteínas. Cada especie de proteína tiene en cada célula u organismo, características propias en cuanto a las velocidades de ambos procesos. La síntesis y la degradación de las moléculas de una proteína son dos actividades independientes que transcurren por caminos bioquímicos totalmente diferentes, regulados en forma compleja. La suma de todos los procesos dinámicos de las proteínas de un organismo constituye su metabolismo proteico.

El mecanismo de degradación de las proteínas celulares es muy poco conocido. Se cree que participan enzimas proteolíticas (*proteasas*) que hidrolizan las uniones peptídicas y finalmente degradan las proteínas hasta los aminoácidos libres. Se ha detectado la presencia de diferentes proteasas en los tejidos, y se las encuentra asociadas a los lisosomas (orgánulos que contienen enzimas hidrolíticas degradativas de distintos tipos). Se ignora cuáles son los mecanismos que seleccionan y especifican qué proteínas deben ser degradadas, pero se sabe que éstos no se fundan en un "envejecimiento" de las proteínas, sino que son igualmente susceptibles de ataque las moléculas formadas hace mucho o poco tiempo.

En los organismos superiores, algunos de estos procesos están sujetos a control hormonal. Además de haber ejemplos de esto en organismos animales, se puede citar casos como el de la forma-

ción de proteasas inducidas por el ácido giberélico durante la germinación de las semillas (en que hay una importante degradación de proteínas de reserva). La relación entre proteasas y degradación de proteínas tisulares, y su regulación hormonal, se ve también en la senectud de las hojas de avena, donde junto a una pérdida de proteína se observa un aumento de proteasa, a cuya acción se atribuye lo anterior: la hormona cinetina, que retarda la senectud y la degradación proteica, también decrece la formación de la enzima. La cicloheximida (inhibidor de la síntesis de proteínas, cuadro 11) además de detener la formación de la proteasa, simula la acción de la hormona retardando la degradación del tejido. Estas evidencias sugieren que la síntesis de estas proteasas, bajo el control (positivo o negativo) de hormonas, determina el proceso de degradación de las proteínas.

La estabilidad de las distintas proteínas y su tasa de degradación (o inactivación) es muy variable: si la medida se hace con respecto al total de las proteínas del organismo, se obtienen vidas medias¹ de varios días (así, en *Lemna minor*, la vida media de las proteínas totales es de 7 días, es decir que cada día se degrada y repone 1/10 de su proteína total). En cambio, muchas enzimas, en diferentes plantas, tienen vidas medias mucho más breves, entre un par de horas y 1 - 3 días. Los procesos de degradación y recambio son afectados por las condiciones fisiológicas de la planta (disponibilidad de nutrientes, luz, etcétera). En algunos casos se observan fluctuaciones, como por ejemplo en el contenido de las proteínas de las hojas, que tiene un ritmo diario de disminución nocturna y recuperación durante el día.

La síntesis de proteínas se observa en todos los seres vivos, no solamente en relación con el proceso de recambio de éstas, sino también en otros dos casos de fundamental importancia:

¹ Véase la nota de la página anterior.

- El aumento de la masa de proteínas totales en el crecimiento y la multiplicación celular.
- La adquisición de nuevas proteínas y nuevas funciones durante el desarrollo y la diferenciación.

Pueden citarse, como ejemplos típicos, los siguientes: la inducción del desarrollo de los cloroplastos en plantas ahiladas expuestas a la luz, en que hay una síntesis preferencial de las proteínas específicas de los plástidos; y la formación de la semilla de las leguminosas, en que se producen y acumulan globulinas especiales, ausentes en otros tejidos.

La traducción

CARACTERES GENERALES DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS. EL PROCESO GLOBAL

Las primeras investigaciones sobre los mecanismos bioquímicos de la síntesis proteica establecieron varios hechos básicos:

- 1- El proceso se realiza exclusivamente en el interior de las células, sobre todo en el citoplasma (más recientemente se ha observado que también transcurre en las mitocondrias y en los cloroplastos).
- 2- Los precursores de las cadenas peptídicas son los 20 L-aminoácidos (véase cuadro 7); las cadenas no se construyen a partir de péptidos pequeños.
- 3- El proceso requiere energía en forma de ATP.

Por otra parte, y como ya se ha visto, la estructura de las proteínas sintetizadas está determinada genéticamente. Estos hechos plantean dos interrogantes básicos:

- ¿Cómo se lleva a cabo el ordenamiento, sin errores, de los aminoácidos en la secuencia específica y completa de la proteína?
- ¿Cómo se suministra la energía química para que los aminoácidos formen las uniones peptídicas?

Cuadro 7. Los 20 L-aminoácidos utilizados en la biosíntesis de proteínas.

Nombre	Abreviatura	Nombre	Abreviatura
Acido aspártico	Asp	Isoleucina	Ile
Acido glutámico	Glu	Leucina	Leu
Alanina	Ala	Lisina	Lys
Arginina	Arg	Metionina	Met
Asparagina	Asn	Prolina	Pro
Cisteína	Cys	Serina	Ser
Fenilalanina	Phe	Tirosina	Tyr
Glicocola (Glicina)	Gly	Treonina	Thr
Glutamina	Gln	Triptófano	Trp
Histidina	His	Valina	Val

Las respuestas a estas dos preguntas están contenidas en el complejo mecanismo de la síntesis proteica. A grandes rasgos, el proceso tiene en todos los seres vivos características similares (fig. 56):

— Los ribosomas son las partículas de ribonucleoproteína que realizan la traducción del mensaje genético y la síntesis de uniones peptídicas. Cada uno lleva unida una sola cadena pep-

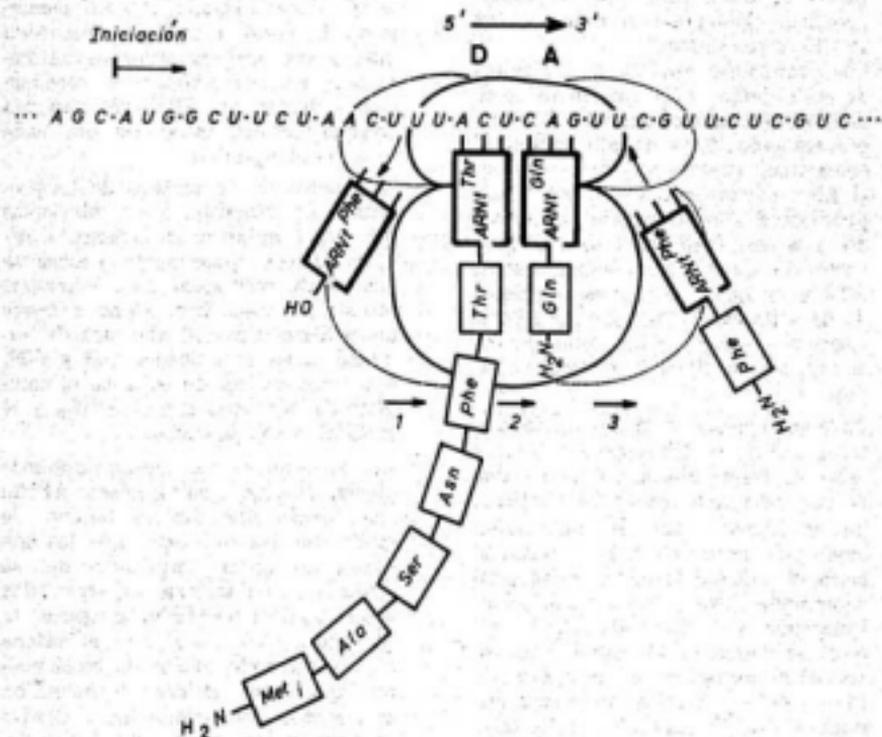


Figura 56. Crecimiento secuencial de una cadena peptídica en el ribosoma. Se representa aquí un ribosoma que está traduciendo en una cadena peptídica creciente el ARNm de la proteína de la cubierta del fago MS 2 (figura 57). El ribosoma se ve en tres pasos sucesivos de su movimiento sobre el ARNm en el sentido 5'-3' de izquierda a derecha. En cada etapa el ribosoma "lee" simultáneamente dos codones o tripletes contiguos del ARNm (los puntos que limitan los codones no existen en la realidad): los "lectores" o descodificadoras son los anticodones de los ARNt (véase la figura 58) y éstos ocupan los dos sitios del ribosoma, D (donante) y A (aceptor). La cadena peptídica naciente está siempre unida en unión éster de su -COOH terminal al OH- 3' o 2' del ARNt (peptidil-ARNt) del último aminoácido incorporado. En la figura aparece ocupando en la etapa 2 el sitio D; el glutaminil-ARNt en el sitio A unirá en su -NH₂ al hexapéptido para formar con el -COOH de éste una nueva unión peptídica. El heptapéptido (que no aparece todavía en la figura) quedará unido al ARNt y el ARNt^{Thr} precedente quedará libre. El corrimiento del ribosoma sobre el ARNm va dejando liberados a los nuevos codones los que serán leídos en el sitio A por nuevos aminoácil-ARNt provenientes del medio celular, los que aceptarán en unión peptídica la cadena peptídica naciente: así se produce el crecimiento secuencial de ésta.

tídica en crecimiento, que no lo abandona hasta su terminación.

- El ribosoma se asocia al ARN mensajero para traducir la secuencia de sus nucleótidos en la secuencia peptídica de la proteína naciente, el mensaje es "leído" en sus sucesivos codones (trípletes de bases que, según el código genético, "designan" a cada uno de los 20 aminoácidos).
- Los precursores directos de los restos de aminoácido en la cadena en crecimiento son los aminoacil-ARNt, compuestos específicos de alto potencial energético, capaces de reconocer en el ARN mensajero los codones correspondientes a su respectivo aminoácido. Los aminoacil-ARNt se forman a partir de los 20 aminoácidos, ARNt, ATP y enzimas, en una etapa (llamada de *activación*) que transcurre en la fracción celular soluble, previamente al proceso en sí de la síntesis peptídica.
- La construcción de la cadena de proteína sobre el ribosoma se lleva a cabo en forma secuencial: uno a uno se van agregando en unión peptídica los sucesivos restos de aminoácido, desde el extremo NH_2 - terminal hacia el $-\text{COOH}$ terminal. El proceso comprende tres etapas: iniciación, elongación y terminación. En la primera se forma en el codón iniciador del ARN mensajero un *complejo de iniciación* ARNm-ribosoma-metionil-ARNt^{Met} (iniciador universal). A partir de éste se emprende la *elongación*, en ciclos repetidos: el codón que sigue dirige la unión al ribosoma (*transferencia*) de un nuevo aminoacil-ARNt, y el grupo H_2N - de éste forma inmediatamente una *unión peptídica* con el $-\text{COOH}$ del resto acilo precedente; el péptido continúa unido al último ARNt (*peptidil-ARNt*) y en esta forma el péptido creciente se mantiene unido al ribosoma. El ciclo termina con un *corrimiento* del ribosoma sobre el ARNm (*translocación*) hasta alcanzar el pró-

ximo codón. Así queda todo dispuesto para una nueva "vuelta" de transferencia, unión peptídica y translocación. El proceso cíclico continúa hasta alcanzar el codón de *terminación* en el ARN mensajero: allí, la cadena es liberada y pasa al medio como proteína soluble, en tanto que el ribosoma abandona el ARN mensajero. En este complejo mecanismo intervienen factores proteicos de iniciación, de elongación, y de terminación, además de GTP (del que son consumidas dos moléculas por cada ciclo de elongación).

- El proceso de las síntesis de las proteínas es repetitivo: los ribosomas que han terminado sus cadenas peptídicas vuelven cíclicamente a asociarse con ARN mensajero para comenzar nuevas cadenas. Esto ocurre a través de la disociación del ribosoma de terminación en subunidades 40S y 60S, y la reasociación de éstas en el complejo de iniciación con el ARNm y el metionil-ARNt iniciador.
- Las iniciaciones por nuevos ribosomas pueden sucederse en un mismo ARNm con cortos intervalos de tiempo, de modo que los ribosomas que los preceden no hayan terminado aún su traducción. Se forman así, espaciados sobre un mismo ARNm agregados de ribosomas —cada uno con su cadena en un diferente estado de crecimiento— que desde el sitio de iniciación se trasladan seriamente hacia el sitio de terminación. Esos agregados se llaman *polirribosomas* o *polisomas*, y son los que, en general, aparecen en las células como constructores de las cadenas peptídicas crecientes.

EL ENFOQUE EXPERIMENTAL

El estudio de la síntesis de las proteínas, ya sea en células u organismos enteros o bien en preparaciones subcelulares (extraídas de las células por ruptura de su membrana), se realiza en

general utilizando aminoácidos radiactivos (^{14}C , ^3H). En un experimento típico se incuba un trozo de tejido, células aisladas o una fracción subcelular, en un medio líquido con sales y metabolitos en el que se ha agregado un L-aminoácido marcado con el radioisótopo. Al terminar la incubación, la muestra que contiene proteínas se procesa con técnicas bioquímicas de aislamiento y purificación de proteínas que tienden a descartar los otros materiales (ácidos nucleicos, lípidos, carbohidratos, mo-

léculas pequeñas). La proteína purificada se aísla y se mide su radiactividad. Si en la purificación se han tomado las precauciones correctas, esta medida representa realmente la cantidad del aminoácido utilizado para formar uniones peptídicas. A esto se lo llama "incorporación de aminoácido en proteína" y se lo considera un indicador válido de la cantidad de proteína (de uniones peptídicas) que se sintetizó durante el experimento.

Este método, en conjunción con los

Cuadro 8. Características de la incorporación de L-lisina- ^{14}C en proteínas, por un sistema acelular derivado del citoplasma de plántulas de ricino.

Constituyentes del sistema	Incorporación de lisina- ^{14}C en proteína, picomoles
Sistema completo	16,01
Sistema completo en el que se ha omitido agregar el componente indicado:	
—sin ARNt	11,15
—sin fracción soluble citoplásmica (105.000 x g)	0,66
—sin ribosomas	0,07
—sin ATP ni sistema regenerador de ATP	0,46
—sin ATP	2,45
—sin GTP	12,23
—sin 19 aminoácidos- ^{12}C	10,96
Sistema completo al que se ha agregado el componente indicado:	
más ribonucleasa (30 microgramos)	0,17
más desoxirribonucleasa (5 microgramos)	13,80

El sistema completo estaba constituido por: un medio salino con buffer pH 7,8, iones Mg, K, ATP, GTP, sistema regenerador de ATP (fosfoenolpiruvato-piruvato quinasa), ribosomas, fracción soluble a 105.000xg, ARNt, 19 L-aminoácidos no radiactivos, y L-lisina- ^{14}C . La incubación se hizo durante 30 minutos a 37°C.

Tomado de Parisi, B. y Ciferri, O., *Biochemistry*, 5 1966, págs. 1638-1645.

procedimientos de aislamiento de componentes celulares, ha permitido explorar cuáles de esos componentes participan en la síntesis proteica. En el cuadro 8 se presentan los resultados de un experimento destinado a establecer los requerimientos para la incorporación de lisina-¹⁴C en proteínas, por un siste-

ma acelular derivado de citoplasma de plántulas de ricino: resulta indispensable la presencia conjunta de ribosomas, de la fracción citoplásmica soluble (enzimas) y de ATP (energía). También se muestra la dependencia respecto de ARNt, GTP y los otros 19 aminoácidos. La pérdida de la actividad por el trata-

Cuadro 9. Protagonistas de la síntesis de proteínas en el citoplasma de eucariotes.

A. La activación de los aminoácidos:

1. 20 L-aminoácidos
2. ARN de transferencia (ARNt)—40—50 especies
3. Aminoacil-ARNt sintetetas — 20 especies
4. ATP
5. Mg

B. Iniciación

1. Aminoacil-ARNt iniciador - Met-ARNt^{Met}
2. ARNm con codón de iniciación AUG o GUG
3. 3 ó 4 factores de iniciación IF-E₁, IF-E₂, IF-E₃ o IF-E₄
4. GTP
5. Mg, K.
6. Partícula subribosómica 40S (1 ARNr 18S; más de 20 proteínas)
7. Partícula subribosómica 60S (2 ó 3 ARNr, 28S, 5S y 7S; más de 35 proteínas)

C. Elongación

1. Complejo ARNm-ribosoma 80S-peptidil-ARNt (ribosoma con una cadena peptídica naciente)
2. Aminoacil-ARNt (especies para 20 aminoácidos)
3. 2 factores de elongación T1 y T2 (o traslocasa)
4. GTP
5. Mg, K.

D. Terminación

1. Complejo ARNm-ribosoma 80S-peptidil-ARNt (con un codón de terminación, UAA, o UAG, o UGA).
2. Factores de terminación R (R1, R2, S?)
3. GTP?
4. Mg, K.

E. Reciclado de las partículas ribosómicas:

1. Ribosomas 80S libres
2. Factor(es) de disociación
3. ATP (o GTP?)
4. Mg.

miento con la ribonucleasa indica que la síntesis de proteína es absolutamente dependiente de los ARN del sistema. En cambio la falta de efectos de la desoxirribonucleasa muestra que el sistema no requiere ADN.

Los experimentos de este tipo han llevado a definir el elenco de protagonistas de este proceso, algunos de los cuales ya han sido mencionados en párrafos anteriores. Aquellos que han sido individualizados en el citoplasma de mamíferos se detallan en el cuadro 9 (los descritos hasta ahora en las plantas coinciden estrechamente con éstos). Los distintos componentes comprenden más de 130 macromoléculas diferentes, circunstancia que señala la complejidad del proceso total de la síntesis proteica.

LAS REGLAS DE LA TRADUCCION: el código genético

La noción de que la secuencia de aminoácidos en una proteína está determinada por la secuencia de bases en el ADN del gene respectivo, plantea una pregunta básica: ¿De qué manera se relaciona una secuencia con la otra? De otro modo: ¿Cómo hay que "leer" la secuencia del ADN, o mejor dicho, la del ARN mensajero (copia) para que de ello resulte el ordenamiento de la cadena peptídica? ¿Cómo se combinan los cuatro signos A, G, C y U del "alfabeto" del ARN mensajero para formar las "palabras" que designan a los 20 aminoácidos, y cómo se asocian unas "palabras" con otras?

La respuesta, que constituye el *código genético*, equivale a conocer las reglas básicas con que se expresa la información genética: describir en lenguaje físico-químico los principios que rigen las relaciones entre genoma y fenotipo, entre constitución hereditaria y organismo. Este objetivo, de enorme importancia científica y connotaciones filosóficas, ha sido alcanzado en el curso de notables investigaciones por un conjunto

de biólogos moleculares, genetistas y bioquímicos, que en menos de un decenio han creado uno de los capítulos más brillantes de la biología moderna. Ligados a éste se hallan los nombres de F. Crick, M. Nirenberg, S. Ochoa y G. Khorana.

Las evidencias tanto genéticas como bioquímicas han mostrado que, en el ARNm, la información que especifica a cada aminoácido está contenida en una secuencia (*codón*) de tres bases, y que los codones se suceden unos a otros sin superposiciones ni separaciones por otras bases, es decir "sin comas".

Apoyan esta conclusión el importante estudio de C. Yanofsky sobre la colinealidad y homología entre las secuencias del ADN y del respectivo polipéptido, y la ingeniosa deducción de Crick sobre la "relación de codificación", basada en la extensión del "marco de lectura" que resultó ser de tres bases o un múltiplo de tres.

La cantidad de diferentes codones o tripletes que se pueden formar con las cuatro bases A, G, C y U, tomadas de a tres, es $4^3 = 64$. Esta capacidad de codificación excede a la necesidad de especificar solamente 20 aminoácidos. Sin embargo, un código más simple, de dobletes, permitiría tener solamente $4^2 = 16$ codones, que no son suficientes. El código de tripletes abre la posibilidad de tener más de un codón por aminoácido, es decir, tener codones "sinónimos". Al código de esta naturaleza se lo denomina "degenerado". Los estudios que se describen a continuación han mostrado que, en el código genético, 61 codones están asignados a los 20 aminoácidos, y que los otros 3 son señales de terminación de la cadena peptídica ("puntuación").

El descifrado de la clave genética

Tres tipos de evidencias han sido utilizados para construir el diccionario del código genético. En primer término está el descubrimiento, realizado por M.

Nirenberg, de que el polinucleótido sintético poli-U (pUpUpUpUpU...) dirige la síntesis de polifenilalanina (poli-phe), por medio de ribosomas de bacterias, en un sistema acelular. Este hecho capital abrió un amplio campo de experimentación en el que diferentes preparaciones de ribosomas de bacterias, animales y plantas eran incubadas en sistemas acelulares para la síntesis de proteínas, en presencia de polinucleótidos de composiciones diversas, y se observaba cuál era el aminoácido radiactivo cuya incorporación era estimulada. De

esta manera, en los laboratorios de Nirenberg y de Ochoa se pudieron determinar los codones UUU-phe, CCC-pro y AAA-lys. El uso de tripletes definidos y la preparación de polinucleótidos de secuencias periódicas conocidas permitieron establecer las correspondencias de la mayoría de los codones. Los polinucleótidos periódicos del tipo UCUCUCU... permitieron a Khorana corroborar que los codones están efectivamente formados por tripletes (UCU y CUC) en vez de dobles o sus múltiplos.

Otra evidencia independiente surgió

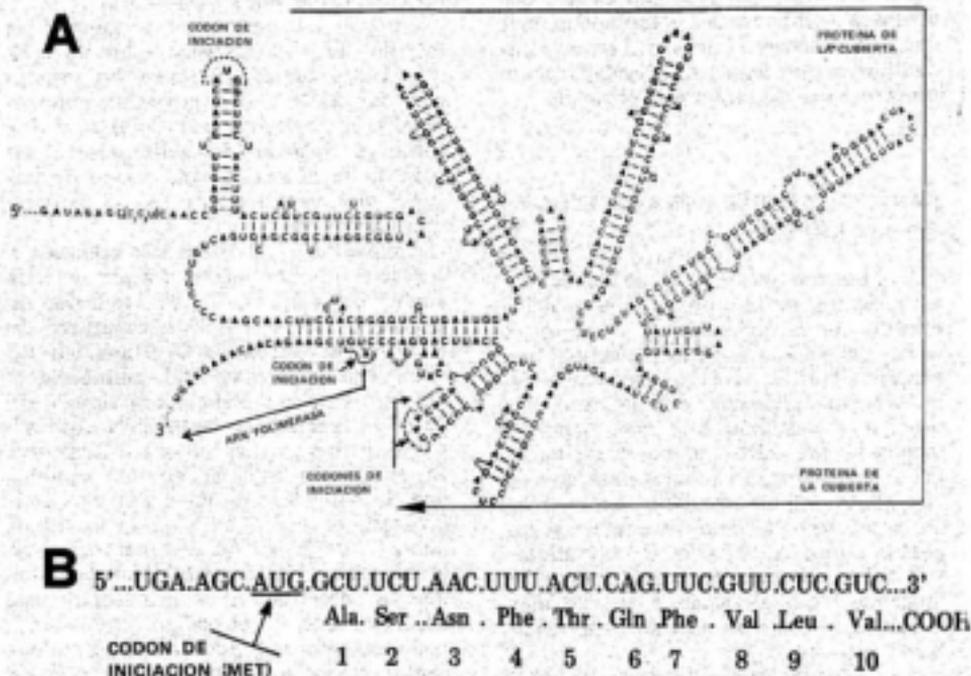


Figura 57. Secuencia de bases de un ARN mensajero. A) Secuencia parcial de bases del ARN del fago MS 2 que abarca el cístron completo de la proteína de la cubierta del virus (entre su codón de iniciación AUG y los codones de terminación UAA,UAG) y el trecho inicial del cístron de la ARN-polimerasa viral (desde su codón de iniciación AUG hacia el extremo 3'). Ambos cístrones están separados por una región no traducida. Los plegamientos de la cadena hipotéticos dan lugar a apareamientos de bases complementarias antiparalelas. B) Correspondencia entre la secuencia de codones del cístron de la proteína de la cubierta y la secuencia de los aminoácidos de ésta según el "diccionario genético". Nótese que a los residuos de Phe 4 y 7 les corresponde diferentes codones sinónimos (UUU y UUC); lo mismo ocurre con los residuos de Val 8 y 10. (Reproducido con modificaciones del artículo de W. Min Jou, G. Haegeman, M. Ysebaert y W. Fiers, "Nucleotide Sequence of the Gene coding for the bacteriophage MS2 coat protein", publicado en Nature, 237 (1972), 84-85.)

del estudio de los reemplazos de aminoácidos causados por las mutaciones en proteínas de secuencias conocidas (por ejemplo, la proteína de la cubierta del virus del mosaico del tabaco). En todos los casos, el reemplazo podía ser explicado suponiendo que en el codón original la mutación había causado un cambio de base que correspondía al tipo de agente mutagénico utilizado.

La evidencia más reciente, que constituye una corroboración definitiva de la clave genética, es la correspondencia entre la estructura nucleotídica del ARN mensajero de la proteína de la cubierta de diversos fagos (R17, MS2, Q β), y la secuencia de la proteína. En la figura 57 se indica esa correspondencia para el fago MS2.

En el cuadro 10 se representa el "diccionario genético" con las correspondencias entre codones y aminoácidos. Allí se ve que ningún codón ha dejado de ser utilizado en el código y que el grado de degeneración es importante. El número de codones sinónimos es el máximo en leucina, la serina y la arginina (seis en cada caso); otros aminoácidos tienen cuatro o dos; isoleucina, tres; y triptófano y metionina un solo codón cada uno. Llama la atención que, en la gran mayoría de los casos de degeneración del código, los dos (o los cuatro) codones sinónimos para un aminoácido tienen de común la primera y segunda bases (X e Y) y difieren solamente en la tercera:

Cuadro 10. El diccionario del código genético.

	U	C	A	G
U	UUU Phe	UCU Ser	UAU Tyr	UGU Cys
	UUC Phe	UCC Ser	UAC Tyr	UGC Cys
	UUA Leu	UCA Ser	UAA <i>term</i>	UGA <i>term</i>
	UUG Leu	UCG Ser	UAG <i>term</i>	UGG Trp
C	CUU Leu	CCU Pro	CAU His	CGU Arg
	CUC Leu	CCC Pro	CAC His	CGC Arg
	CUA Leu	CCA Pro	CAA Gln	CGA Arg
	CUG Leu	CCG Pro	CAG Gln	CGG Arg
A	AUU Ile	ACU Thr	AAU Asn	AGU Ser
	AUC Ile	ACC Thr	AAC Asn	AGC Ser
	AUA Ile	ACA Thr	AAA Lys	AGA Arg
	AUG Met	ACG Thr	AAG Lys	AGG Arg
G	GUU Val	GCU Ala	GAU Asp	GGU Gly
	GUC Val	GCC Ala	GAC Asp	GGC Gly
	GUA Val	GCA Ala	GAA Glu	GGA Gly
	GUG Val	GCG Ala	GAG Glu	GGG Gly

Los codones se leen de izquierda a derecha en la dirección 5'→3'. Los tres codones de terminación UAA, UAG y UGA están indicados como *term*.

	U		A		U
XY	C	XY	G	XY	C
					A
					G

Esta regularidad sugiere que en el mecanismo de lectura corresponde a las dos primeras bases un grado de discriminación mucho mayor que a la última. La base física de esta regularidad se verá al considerar la función de los aminoacil-ARNt. Una consecuencia de esto es que al producirse una mutación en su tercera base, un codón resulta frecuentemente transformado en un sinónimo sin cambio de aminoácido. Por el contrario, las mutaciones en el primero o segundo sitio del codón determinan casi siempre un reemplazo en la secuencia peptídica. Los tres codones UAA, UAG y UGA indican la terminación del polipéptido; la iniciación de la cadena polipeptídica es codificada por los tripletes AUG y GUG que dirigen la incorporación del iniciador específico Met-ARNt_i (si bien cuando aparecen en una posición interna de la secuencia del cistron especifican, respectivamente, Met-ARNt y Val-ARNt). La dirección de lectura del mensaje en el ARN mensajero, tal como se deduce de los experimentos realizados con polinucleótidos de secuencias conocidas, va de su extremo 5' hacia el 3'. Esta dirección coincide con la de construcción del ARN mensajero por la ARN polimerasa.

Universalidad del código genético

Las evidencias mencionadas anteriormente, que son las utilizadas para preparar el "diccionario" del código genético, provienen de sistemas acelulares de síntesis peptídica, preparados de bacterias, de células animales (reticulocitos) y de células vegetales (embrión de trigo). También se ha hecho uso de los reemplazos de aminoácidos en mutantes de proteínas de bacterias, de hemoglobinas humanas y de proteína de

virus de plantas (mosaico del tabaco). Todas estas evidencias y muchas otras más recientes, indican que el código genético es universal y que en todos los organismos estudiados los mismos codones especifican a un determinado aminoácido. Este carácter universal permite que los ARN mensajeros de una especie sean correctamente traducidos por los ribosomas y los aminoacil-ARNt de otra especie.

La presencia de otros aminoácidos, no codificados, en las proteínas

En el código están considerados solamente los 20 aminoácidos que comúnmente forman parte de las proteínas y que son los que se incorporan en unión peptídica a partir de sus aminoacil-ARNt. Tanto en las plantas como en los animales, en ciertas proteínas especiales suele encontrarse algún otro aminoácido que forma parte de las cadenas peptídicas. Tal es el caso de la *hidroxiprolina*. Este aminoácido se forma a partir de prolina, pero ello ocurre después que el precursor ya se ha incorporado a la cadena peptídica. La transformación requiere un sistema enzimático especial.

LA DIRECCION DE LA SINTESIS PEPTIDICA: el ARN mensajero

La información genética que especifica a una proteína en la secuencia de codones de su gene respectivo, debe llegar desde el ADN al ribosoma para allí dirigir la construcción de la correspondiente secuencia peptídica. Inicialmente se creyó que la información estaba contenida en los propios ARN ribosómicos, pero esa idea debió ser abandonada cuando se observó que la constancia relativa de la composición de bases de los ARN ribosómicos no le permitiría expresar las grandes diferencias de información de los mismos organismos, refle-

jadas en las diferencias de composición de bases de los ADN. Tampoco su considerable estabilidad metabólica admitía los rápidos cambios en la naturaleza de las proteínas sintetizadas, propios de los fenómenos de inducción y represión enzimáticas en las bacterias. Sobre la base de consideraciones de esta índole, y aun de otras, F. Jacob y J. Monod introdujeron en 1961 el importante concepto de *ARN mensajero* al proponer la existencia de una clase de moléculas de ARN encargadas de transportar a los ribosomas la información (el mensaje) transcrita del gene. La corrección de esta proposición de Jacob y Monod, que forma parte de una teoría general de la regulación de la síntesis de proteínas en las bacterias, fue prontamente demostrada y la vigencia del concepto se extendió a toda la escala biológica.

La concepción inicial respecto de los ARN mensajeros —considerados como una clase de sustancias de la que podían describirse solamente características y comportamientos *promedios*— ha sido posteriormente enriquecida con el conocimiento individual de una serie de ARN mensajeros de proteínas definidas, a los que se ha aislado, caracterizado y hecho actuar, y cuyas secuencias se están dilucidando (fig. 57).

Por definición, un ARN mensajero debe poseer las dos características siguientes:

- 1) Debe resultar de la transcripción asimétrica y completa del ADN de un gene estructural (cistrón) de una proteína¹.
- 2) Debe ser capaz de programar un ribosoma para la síntesis completa de la respectiva cadena peptídica.

La transcripción de un ARNm específico y la traducción de éste en su res-

pectiva proteína fueron recientemente demostradas en un experimento unificado, con un sistema acelular de *E. coli*: la síntesis de la enzima β -galactosidasa por ribosomas desprovistos de mensaje endógeno tuvo lugar solamente cuando en el mismo sistema se realizó la síntesis del ARNm dirigida por el ADN del gene de la β -galactosidasa (en presencia de factores regulatorios específicos). En un experimento muy anterior, realizado en el laboratorio de J. Bonner, se pudo lograr la síntesis de la globulina de semilla de arveja cuando se agregó junto con el sistema acelular para la síntesis de proteínas (con ribosomas vacantes) la cromatina del cotiledón (productor de la globulina) y los componentes para la síntesis del ARN: el ARN producido por la cromatina de otros tejidos no fue capaz de programar la síntesis de la globulina.

Propiedades de los ARN mensajeros

1) *La naturaleza del mensaje: la estructura de los ARNm.* La secuencia del mensajero debe contener los codones para la síntesis de la correspondiente proteína, más los codones de iniciación y de terminación, en un todo de acuerdo con el "diccionario genético". Esto ha sido plenamente corroborado en aquellos ARNm de bacteriófagos en los que se estudió la secuencia de un cistrón. En el ejemplo ya mencionado del fago MS2 (fig. 57), hay en su ARN una secuencia de 396 nucleótidos que, leídos en tripletes, especifican la secuencia de los 129 aminoácidos de la proteína de la cubierta del fago. Para ello se utilizan 49 de los 64 codones posibles, incluidos el iniciador AUG y los terminadores UAA y UAG.

Se puede estimar la longitud mínima de un ARNm conociendo la longitud de la cadena peptídica codificada por él:

$$N^{\circ} \text{ de nucleótidos} = (3 \times N^{\circ} \text{ de aminoácidos}) + 6$$

¹ En el caso de los bacteriófagos y virus con ARN (como los virus de las plantas), los mismos ARN virales son los mensajeros para la síntesis de sus proteínas, lo cual no requiere la transcripción de ADN.

En todos los casos estudiados, la longitud de la cadena del ARNm excede a la calculada. Existen, en el mensajero, secuencias que no son traducidas y cuya función es desconocida. Estas secuencias se han encontrado en mensajeros de fagos con ARN (como, por ejemplo, el MS2) y en los distintos ARNm aislados de células animales. Así, en los ARNm para cadenas de hemoglobina, hay un exceso de 150-200 nucleótidos no traducibles. Parte de estas secuencias está constituida por poli-A (ya se ha mencionado que éste ocupa el extremo 3' en muchos ARNm citoplásmicos y mitocondriales de células animales y de levadura). No se sabe con certeza qué función cumplen las secuencias de poli-A, si bien parecen no influir en la capacidad del mensajero para ser traducido por el ribosoma. Los mensajeros de histonas carecen de poli-A.

Existen ARNm policistrónicos que transcriben dos o más genes estructurales vecinos (ejemplos típicos se encuentran en los mensajeros de los operones policistrónicos de las bacterias). La separación entre el sitio de terminación de un cistron y el de iniciación del siguiente puede estar dada también, por un trecho no traducible. El largo total de un ARNm policistrónico puede ser considerable (varios miles de nucleótidos). En las bacterias, los ribosomas traducen secuencialmente los cistrones a lo largo del mensajero. En los eucariontes, la existencia de ARNm policistrónicos es posible, pero no segura.

2) *Distribución intracelular.* En las bacterias, las cadenas de ARNm son traducidas por los ribosomas a medida que van siendo sintetizadas por las ARN polimerasas sobre el ADN: la transcripción y la traducción están así acopladas físicamente sobre el cromosoma. En los eucariontes, la compartimentalización de ambos procesos, uno en el núcleo y otro en el citoplasma, hace necesaria una operación de transporte de los ARNm desde el primero al segundo. Esto tiene lugar en asociación con proteínas

específicas. En el citoplasma, los ARNm se encuentran principalmente asociados con ribosomas, formando polisomas activos en la síntesis de proteínas: los ARNm están en ellos unidos con proteínas de transporte, probablemente diferentes de las anteriores. También se encuentran en el citoplasma, en estado libre, partículas de nucleoproteínas con ARNm: estas partículas pueden ser formas de ARNm en tránsito a los polisomas, o bien formas de reserva. Han sido llamadas "informosomas" y se las ha hallado en células activas en la síntesis de proteínas, como los reticulocitos (células rojas inmaduras) o en células embrionarias de peces y equinodermos. Se cree que los ARNm "de reserva" son activados y dirigen la síntesis de proteínas de acuerdo con las necesidades de las células. Son responsables, también de la síntesis peptídica en las células que pasan de un estado "durmiente" a uno de actividad, y que para comenzarla no requieren la síntesis de ARNm (como en el caso de la fecundación y desarrollo embrionario animal, o en el de la germinación de las semillas).

Caracterización de los ARN mensajeros

Para verificar el carácter de mensajero atribuible a un cierto ARN, se han empleado diferentes criterios. El más definitivo, y el más difícil de verificar, es que ese ARN sea capaz de dirigir la síntesis de la respectiva proteína. Esto se prueba con un sistema con ribosomas que pueden traducir mensajeros exógenos. Se han desarrollado así dos métodos. En uno de ellos se utilizan células enteras (ovocitos de sapo) a las que se inyecta el ARN en cuestión, y se incuban con un aminoácido radiactivo. En el otro se emplea un sistema acelular formado por ribosomas desprovistos de mensajero y todos los componentes para la síntesis proteica al que también se añade el mensajero y aminoácido radiactivo. Tanto en uno como en otro caso se observa si se sintetiza una proteína específica, dife-

rente de las que el sistema fabrica de por sí. Estos sistemas tienen limitaciones pues en general no aceptan mensajeros de organismos muy diferentes del propio (los sistemas animales no responden a mensajeros de bacterias y viceversa). En las pruebas con vegetales se han preparado sistemas acelulares de diversos orígenes (embrión de trigo, embrión de maíz, tejidos de arveja) que responden al agregado de algunos ARN: el ARN del virus del mosaico del tabaco estimula activamente la síntesis de proteínas, y recientemente se ha podido identificar con certeza la especificidad de los productos formados. Un factor importante en estos experimentos es que el sistema tenga capacidad de seleccionar solamente los mensajeros que posean los correspondientes atributos, como por ejemplo la señal de iniciación: si se agrega ion Mg^{++} en exceso sobre el nivel fisiológico, el sistema acepta y traduce equivocadamente falsos mensajeros sin codón de iniciación.

Según otros criterios se utilizan algunas de las propiedades de los ARNm, solas o combinadas:

- 1) el conjunto de los ARNm de una célula suele tener una composición promedio de bases cercana a la del ADN, con menor contenido de G y C que los ARN ribosómicos.
- 2) La "población" de los mensajeros suele ser heterodispersa, es decir que se presenta con una amplia variedad de tamaños, desde 8S hasta 30S.
- 3) La "población" de los ARNm tiene una elevada capacidad para hibridar con el ADN (debido a que representan muchas secuencias diferentes dentro del genoma).
- 4) El recambio metabólico de los ARNm suele ser relativamente rápido comparado con los otros ARN citoplásmicos.
- 5) Se los aísla de la fracción de polisom-

mas, de los que se separan en medios de reducida concentración de Mg^{++} .

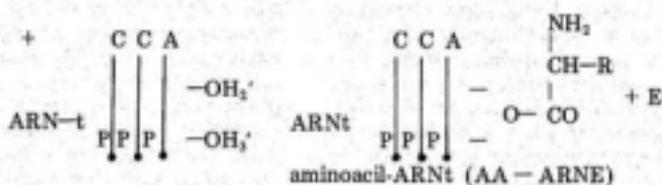
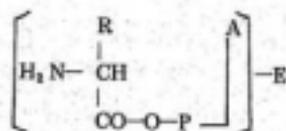
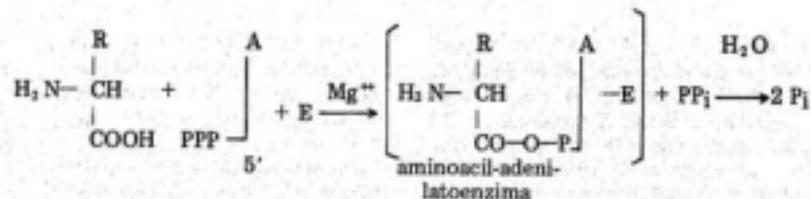
La activación de los aminoácidos. Formación de aminoacil-ARNt

Para su incorporación a una unión peptídica de la cadena de proteína creciente, a cada aminoácido debe suministrarse, por una parte, energía, y por la otra un elemento de identificación y reconocimiento (el ARNt) que permita ensamblarlo, en la cadena peptídica, en el lugar que indica el ARN mensajero. Ambas funciones las cumplen enzimas de alta especificidad, las aminoacil-ARNt-sintetasas, que después de activar a su respectivo aminoácido con ATP lo unen a un ARNt específico para formar una unión éster con la ribosa del extremo 2' ó 3' libre. El aminoacil-ARNt (AA-ARNt) resultante es una molécula rica en energía. La reacción transcurre en la fracción "soluble" del citoplasma¹ (también en las mitocondrias y los cloroplastos) donde se encuentran las enzimas y los ARNt. Los ribosomas no intervienen en particular, en la reacción.

Las aminoacil-ARNt-sintetasas son enzimas de una importancia biológica de-

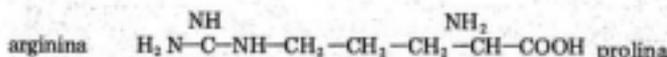
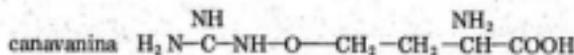
¹ En el fraccionamiento del contenido celular se separan las distintas fracciones. Mediante centrifugaciones sucesivas en las cuales se modifican la aceleración (expresada en múltiplos del valor de la gravedad) y el tiempo, se observan las fracciones siguientes:

700 x g - 10 min. sedimentan:	-células, núcleos y membranas.
10.000 x g - 10 min.	-cloroplastos y mitocondrias
100.000 x g - 60 min.	-fracción microsómica - retículo endoplásmico, ribosomas, polisomas.
no sedimentado	-fracción "soluble" - proteínas, ARNt, metabolitos.

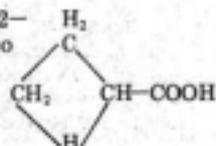


cisiva, puesto que están encargadas de efectuar la relación física entre el lenguaje de los ácidos nucleicos (representado por los ARNt, capaces de leer los codones) y el de las proteínas (los aminoácidos). Para ello, cada enzima es capaz de reconocer tanto las características estructurales de los primeros como de los últimos, con un poder muy alto de discriminación. La combinación final, el aminoacil-ARNt, es sintetizado sin errores de selección de ninguno de los integrantes.

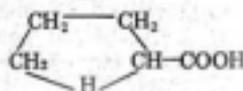
Existen al menos 20 especies de enzimas, específicas cada una para un solo aminoácido, capaces de rechazar todos los otros aminoácidos naturales que fisiológicamente posee el organismo. En ciertas plantas que poseen diversos aminoácidos no presentes en las proteínas, pero que tienen analogía estructural con los que sí están en ellas, las enzimas los reconocen como "prohibidos" y no los activan. En cambio, esos mismos aminoácidos son aceptados por enzimas de otras plantas que no los poseen, y al



azetidín-2-carboxílico



prolina



ser activados como aminoacil-ARNt entran en unión peptídica suplantando al aminoácido "verdadero": las proteínas así sintetizadas son defectuosas, y el efecto del aminoácido es tóxico. Así ocurre por ejemplo con la canavanina (análogo de la arginina) y con el azetidín-2-carboxílico (análogo de la prolina), que no son tóxicos para las plantas que los producen, pero sí para muchas otras.

Los ARN de transferencia son una familia de especies cuyas moléculas tienen unos 75 a 85 nucleótidos (25.000 daltons) que se aíslan colectivamente de

la fracción soluble del citoplasma (razón por la cual inicialmente se los llamó ARN solubles). Las distintas especies (40-50 en un organismo) pueden ser separadas y hasta cristalizadas. Cada especie pura es específica para reaccionar con un solo aminoácido. La recíproca no es cierta: a un mismo aminoácido le corresponde, en general, más de una especie de ARNt. La notación para designar las diferentes especies de un mismo organismo, se efectúa colocando la abreviatura del aminoácido como índice superior derecho (ARNt^{Phe}) y colocando subíndices para distinguir las diversas especies para un mismo aminoácido.

Se conocen las secuencias individuales de bases de una treintena de especies de ARNt. En la figura 58 se muestra la secuencia del ARNt^{Phe} para fenilalanina del embrión de trigo. Las diversas secuencias tienen algunas características comunes. Una proporción significativa de sus bases, las llamadas bases menores, ostentan modificaciones respecto de las bases A, G, C, U: aparecen metiladas, o cambiadas su estructura (la pseudo-uridina), o azufradas, o con un sustituyente de una cadena carbonada (como en la isopentenil-adenosina). Varias de estas bases especiales ocupan posiciones fijas, en la secuencia, que se repiten en las distintas especies. Si se busca ordenar la molécula de modo que aparezcan formándose regiones apareadas por complementariedad de bases (con estructura secundaria en doble hélice), se puede llegar a un *diseño en hoja de trébol*, con tres lóbulos y un pedúnculo. Esta disposición ha resultado hasta ahora aplicable sin excepción a todas las secuencias conocidas de ARNt, cualquiera que sea su origen. Hay que recalcar que esta configuración es sólo una hipótesis esquemática (no se ha llegado a determinar experimentalmente la estructura secundaria de ningún ARNt), pero es muy llamativa la coincidencia tan generalizada y se acepta que debe de tener algún significado importante. Muy sugestivo es también, que en todos los casos, el lóbulo central lleva en su

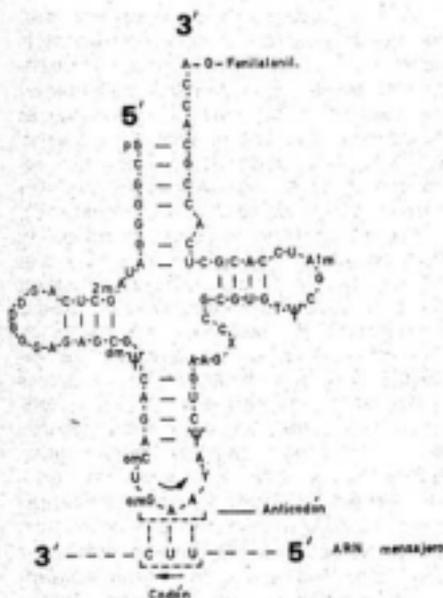


Figura 58. Estructura del ARNt^{Phe} del germen de trigo. La cadena de 76 nucleótidos posee una serie de bases no usuales: 2-Me-guanina (2mG); dihidrouracilo (D); 2-di-Me-guanina (2dmg); pseudouridina (ψ); 2-O-Me-citosina (omC); 2-O-Me-guanina (OmG); una base no identificada Y; 7-Me-guanina (7mG); 1-Me-adenina (1mA), y ribotimidina (T). El anticodón, con la secuencia omG-A-A, situado en el lazo inferior, lee en forma antiparalela al codón UUC para fenilalanina.

borde externo el triplete de bases (llamado anticodón) que debe reconocer el codón. Estas bases quedarían así libres (no comprometidas en estructura secundaria) para poder aparearse con el codón en el ARNm. A la derecha del anticodón está una posición ocupada por una adenina sustituida. En todos los casos en que el ARNt tiene *isopentenil-adenina* u otra base similar (que tienen actividad de citocina cuando están libres), se la encuentra en esa posición, al lado del anticodón. La secuencia terminal en el extremo 3' de la cadena, -C-C-A 3' es común a todos los ARNt. En el hidroxilo alcohólico 3'-OH o 2'-OH se forma la unión éster con el resto aminoácido.

LOS MECANISMOS EN LA SÍNTESIS DE UNA PROTEÍNA

Los participantes antes señalados —el ARNm (director de la síntesis) y los aminoacil-ARNt (los componentes que hay que combinar)— interactúan sobre una maquinaria especial que hace el armado de la cadena peptídica: el *ribosoma*. Hemos visto ya algunas características de estas partículas: están formadas por dos subunidades diferentes, la pequeña y grande (40S y 60S en el citoplasma de los eucariontes). En los mecanismos que se describen a continuación se verá cómo esta arquitectura permite una división de funciones y, además, se adapta a la existencia de etapas muy diferenciadas en el proceso repetitivo de la síntesis de proteínas. En particular, es la subunidad pequeña la que interactúa y reconoce al ARNm, y la que permite su desciframiento por los ARNt. La subunidad grande, a su vez, provee el catalizador para la formación de las uniones peptídicas.

La iniciación de la síntesis

Los precursores de la maquinaria de síntesis son las partículas subribosómi-

cas libres (fig. 59). En ese estado (pero no como ribosomas 80S ó 70S), la subunidad pequeña tiene capacidad para reconocer en el ARNm la señal universal de iniciación AUG (o GUG), y con la participación de factores de iniciación, GTP, y el iniciador universal, Met-ARN_t^{Met}, se forma en el sitio de comienzo de lectura del mensaje, el complejo de iniciación 40S (30S)-AUG-Met-ARN_t. La subunidad grande se une inmediatamente a este complejo (en el proceso se consume GTP), y resulta así un ribosoma activo de iniciación (80S ó 70S, según el caso) que posee el aminoácido N-terminal de la cadena que se va a construir.

Este proceso tiene la importante propiedad de asegurar el reconocimiento de aquel triplete que, entre todos los existentes, señala el comienzo del mensaje: esto garantiza que los péptidos que se construyen resulten completos y correctos, y que la secuencia de bases sea leída con el marco de lectura de tripletes correctamente colocado (no desplazado).

Un comentario especial requiere la iniciación universal con metionina. ¿Todas las proteínas existentes tienen, sin excepción, metionina en el extremo N-terminal de sus cadenas? Se sabe que esto no es así en absoluto: en general, los aminoácidos N-terminales suelen ser muy variados. Se ha encontrado que éstos son, en realidad, restos de aminoácidos correspondientes a posiciones internas de la cadena, que quedan expuestos como extremos N-terminales cuando el resto de metionina terminal es clivado específicamente por una exopeptidasa en una etapa temprana de construcción de la cadena. En los animales, al alcanzar ésta la longitud de 30-40 aminoácidos, la peptidasa extirpa la metionina inicial.

Otro aspecto de la iniciación distingue a los sistemas citoplásmicos de los eucariontes y de las bacterias: en los primeros, el iniciador Met-ARN_t^{Met}, tiene el grupo H₂N— libre; en cambio, en las bacterias (y también en los cloroplastos y las mitocondrias) el grupo H₂N— del

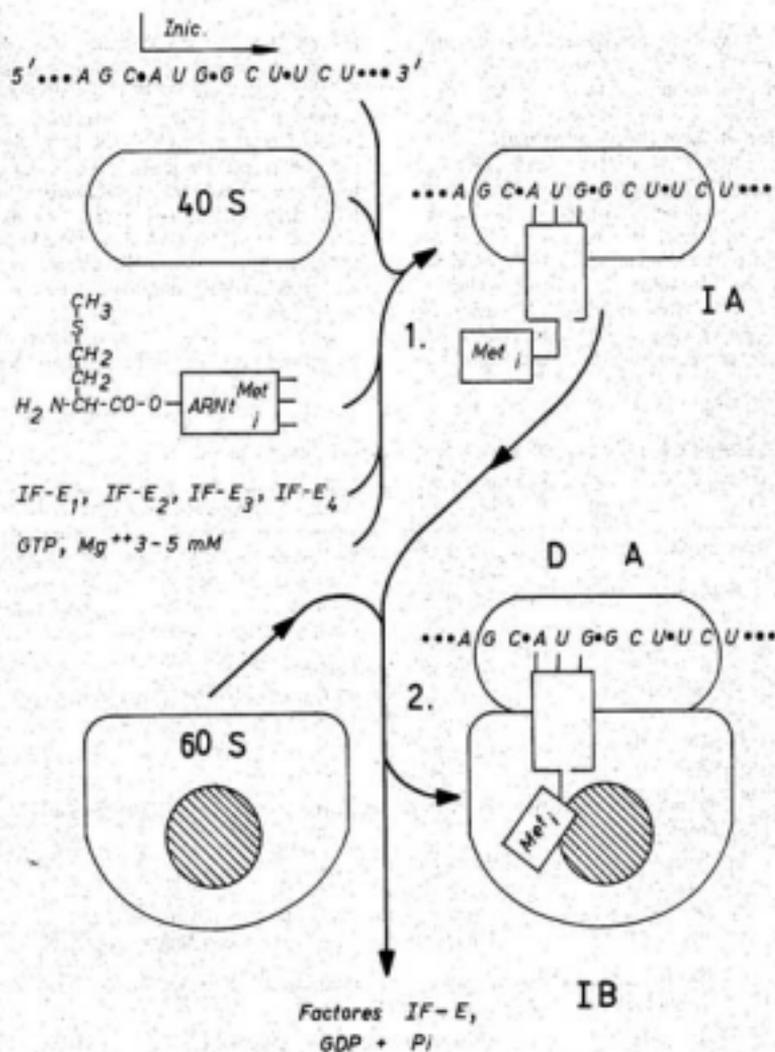


Figura 59. Iniciación de la síntesis peptídica en el citoplasma de los eucariotes. La iniciación de una cadena peptídica en los ribosomas 80 S requiere un ARNm con el codón de iniciación AUG (6 GUG), la partícula subribosómica 40 S, los factores proteicos de iniciación (con diversas nomenclaturas), el iniciador Metionil-ARN_i^{Met} (no formilado) que introduce su resto metionilo exclusivamente en el extremo inicial H₂N- de la cadena, y nunca en posiciones internas, y además GTP. El ion Mg⁺⁺ en bajas concentraciones favorece el funcionamiento selectivo de la iniciación fisiológica a través del camino anterior, que lleva al complejo de iniciación indicado con IA. No existen evidencias definitivas sobre cuáles son los pasos intermedios en la reacción 1 para llegar al complejo IA. En una segunda etapa, éste se une con una partícula 60 S y forma una unidad ribosómica 80 S activa IB, que tiene su primer Met-ARN_i en el sitio D; en la reacción 2 se liberan los factores de iniciación, y el GTP es consumido con producción de GDP y PO₄. El círculo rayado en la subunidad 60 S señala el sitio activo de la péptido-sintetasa (véase la figura 60).

iniciador aparece bloqueado con un grupo formilo (HCO): F-Met-ARN_{t_F} (nótese el subíndice cambiado, F). Este grupo formilo es transferido al Met-ARN_{t_F} por el formil-tetrahidrofolato.

Por último se debe señalar que los restos metionilo que normalmente aparecen en posiciones interiores de las cadenas terminales, si bien son codificadas también por codones AUG (que ahí no actúan como iniciadores), resultan ser introducidos por otra especie de Met-ARN_{t_F}^{Met} (no "formilable") que no puede actuar en la iniciación. No está claro cómo

se llega a diferenciar, en una secuencia de bases del ARNm, cuándo un codón AUG (o GUG) es iniciador y cuándo indica, por el contrario, un resto Met (o Val-GUG) interno. Se cree que ese reconocimiento podría depender de plegamientos de la estructura secundaria del ARNm, los cuales expondrían especialmente al codón iniciador (véase la fig. 57) y le permitirían ser "visto" por la subunidad pequeña y los factores de iniciación.

Existe una serie de inhibidores de las reacciones de la síntesis de proteínas

Cuadro 11. Algunos inhibidores de la síntesis de proteínas.

Inhibidor	Etapas interferidas
<i>A. Actúan en sistemas tanto de procariontes como de eucariontes.</i>	
Aurintricarboxílico	Iniciación
Edeína	"
Pactamicina	"
Acido fusídico	Elongación (traslocación)
Tetraciclinas	" (unión del aminoacil-ARN _t al ribosoma)
Puromicina	" (formación de la unión péptido)
Esparomicina	" " " " " "
Gougerotina	" " " " " "
<i>B. Actúan exclusivamente en sistemas citoplásmicos de eucariontes (con ribosomas 80S).</i>	
Ión fluoruro	Iniciación
Cicloheximida	Elongación (traslocación)
Anisomicina	Elongación (formación de la unión péptido)
Emetina	Elongación (unión del aminoacil-ARN _t al ribosoma)
<i>C. Actúan exclusivamente en sistemas de procariontes y de orgánulos de eucariontes (con ribosomas del tipo 70S).</i>	
Cloranfenicol	Elongación (unión del aminoacil-ARN _t al ribosoma)
Estreptomisinas	Elongación
Macrólidos (eritromicina, etc.)	Elongación
Lincomicina	Elongación
Trimethoprim	Formación del iniciador Formil-metionil-ARN _{t_F} ^{Met} (inhibe la síntesis de formil-tetrahidrofolato)

Nota: Algunos de estos inhibidores (aurintricarboxílico, edeína, esparomicina) no actúan sobre células enteras debido a su falta de penetración en éstas. Una revisión completa sobre los inhibidores de la síntesis de proteínas puede consultarse en el artículo de Sydney Pastka, "Inhibitors of ribosome functions", *Ann. Rev. Microbiol.*, 25, 1971, págs. 487-562.

(cuadro 11), entre los cuales están los que interfieren específicamente alguna de las etapas de la iniciación. Estos resultan muy útiles para reconocer la existencia de pasos y reacciones intermedias. Entre los inhibidores de la iniciación, en diferentes niveles, están el ácido aurintricarboxílico, la edeína y la pactamicina, y (exclusivamente en los eucariontes) el ion fluoruro.

La elongación

El crecimiento de la cadena peptídica a partir de su metionina N-terminal iniciadora requiere la incorporación secuencial de los restos de aminoácidos, de a uno por vez. Cada uno de estos alargamientos se realiza según un proceso cíclico de tres tiempos que, como ya se ha dicho, comprende las operaciones siguientes: 1- unión del aminoácil-ARNt al ribosoma; 2- síntesis de la unión péptido; y 3- traslocación (véase la fig. 60). En estas operaciones desempeñan un papel muy importante dos propiedades del ribosoma activo: una es la existencia en él de dos sitios reactivos, el D y el A, que "enfocan" o "ven", respectivamente, a sendos codones contiguos en el ARNm. La otra es la capacidad de moverse, respecto del ARNm, de a un codón por vez, y cambiando así en cada sitio el "enfoque" al codón siguiente.

En esos sitios es donde se disponen las porciones de ARNt, tanto del peptidil —como del aminoácil— ARNt, y donde éstos permiten la interacción y reconocimiento de los respectivos anticodones con los codones del ARNm así "enfocados": las porciones de cadenas nucleotídicas se enfrentan antiparalelas, y se establecen relaciones de complementariedad entre la primera y segunda bases del codón con la tercera y segunda bases del anticodón. La primera base del anticodón desempeña un papel menos decisivo en la selección del codón (en relación con la tercera base de

éste, en que se manifiesta primordialmente la degeneración del código).

Cada una de las tres operaciones de la elongación es interferida específicamente por algunos inhibidores, en especial del tipo de los antibióticos. Estos inhibidores son muy utilizados para estudios de diversos tipos, entre ellos los encaminados a establecer si ciertos efectos fisiológicos son mediados por la síntesis de una proteína. En el cuadro 11 se mencionan los de uso más corriente. Son muy usados, por su carácter diferencial, la cicloheximida y el cloranfenicol: la primera es un eficaz inhibidor de los sistemas formados por ribosomas del tipo 80S (citoplasma de los eucariontes), en tanto que el segundo actúa no solamente con ribosomas de bacterias, sino también con los de mitocondrias y de cloroplastos. De esta manera puede inhibirse en forma diferencial la síntesis de proteínas de eucariontes, ya sea en el citoplasma o en sus orgánulos.

El proceso ordenado y orientado de construcción de la cadena peptídica requiere energía en forma de dos moléculas de GTP hidrolizadas por cada unión peptídica sintetizada. Sumadas ellas a las dos uniones pirofosfato consumidas en la activación de cada aminoácido por la AA-ARNt sintetasa, el total de uniones pirofosfato (uniones de ATP) consumido por unión péptida formada es de 4. El proceso de síntesis de proteínas es energéticamente muy gravoso.

La terminación de la cadena peptídica

Al terminar la construcción de la secuencia codificada por el ARNm, es "enfocada" por el ribosoma en su sitio A, uno de los tres codones de terminación UAA, UAG, ó UGA. Para estos codones no existen ARNt que los reconozcan. En cambio, existen factores proteicos (llamados "factores de terminación" R_1 y R_2) que, una vez llegado uno de esos codones, se asocian al ribosoma y, por un mecanismo de reacción

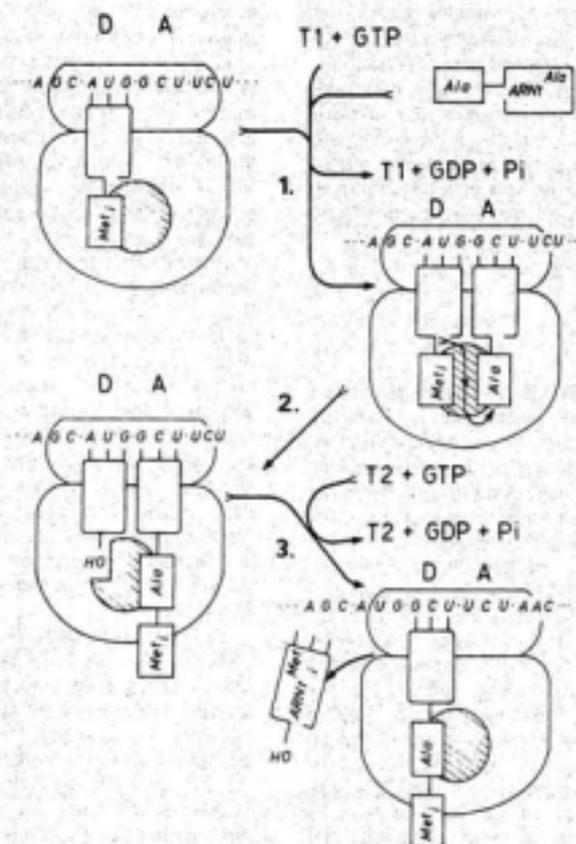


Figura 60. Reacciones de la elongación.

Reacción 1: Unión del AA-ARNt al ribosoma. La unidad ribosómica activa con el peptidil-ARNt creciente (en este caso el iniciador Met-ARNt) en su sitio D donante, tiene vacante su sitio A. Allí se une el siguiente AA-ARNt, para lo cual se requiere su previa asociación con un factor proteico de elongación T1 y GTP; AA-ARNt-T1-GTP. Al transferir el AA-ARNt al ribosoma, se libera T1 y se hidroliza GTP a GDP y Pi.

Reacción 2: Síntesis de la unión péptido. La péptido-sintetasa, que forma parte de la estructura propia de la subunidad grande (representada por el círculo rayado), cataliza la transeptidación del -COOH, carboxilo terminal del péptido, desde el éster en el sitio D, hacia el H₂N- del AA-ARNt en el sitio A, con el que forma una nueva unión péptida. El peptidil-ARNt alargado ocupa así el sitio A, y en el sitio D permanece, descargado y con su -OH 3' libre, el ARNt precedente.

Reacción 3: Translocación. Con la intervención de otro factor proteico de elongación T2 (traslocasa) que une GTP, el ribosoma realiza un desplazamiento sobre el ARNm, exactamente de un triplete. Cada uno de los sitios D y A "enfoca" ahora al codón vecino al anterior. Del sitio D es expulsado el ARNt descargado y, en un movimiento paralelo al del ARNm, pasa a D, en correspondencia con el nuevo codón, el peptidil-ARNt. La operación consume una molécula de GTP.

La suma de los pasos 1 2 y 3 constituye un ciclo que devuelve al ribosoma a su estado funcional inicial (o equivalente) y que, con el consumo de dos moléculas de GTP, una de AA-ARNt y el avance de un codón, da por resultado el alargamiento de la cadena peptídica en un aminoácido C-terminal.

no bien conocido, provocan la ruptura de la unión éster del peptidil-ARNt (que está en el sitio D), y la cadena peptídica queda liberada y pasa a la solución.

Al ser liberada, la cadena de proteína completa tiene no solamente su estructura primaria, sino también su disposición espacial, o conformación, propia de la proteína nativa. Para esto no debe intervenir ningún factor adicional fuera de los ya descritos: la estructura tridimensional de las proteínas es una con-

secuencia directa de su secuencia lineal, que condiciona las interacciones de los grupos laterales y el arrollamiento de las cadenas peptídicas. La información genética contenida en el ARNm basta para determinar la conformación de la proteína terminada.

El funcionamiento cíclico de los ribosomas

En el momento de liberar la cadena peptídica terminada, también abandona

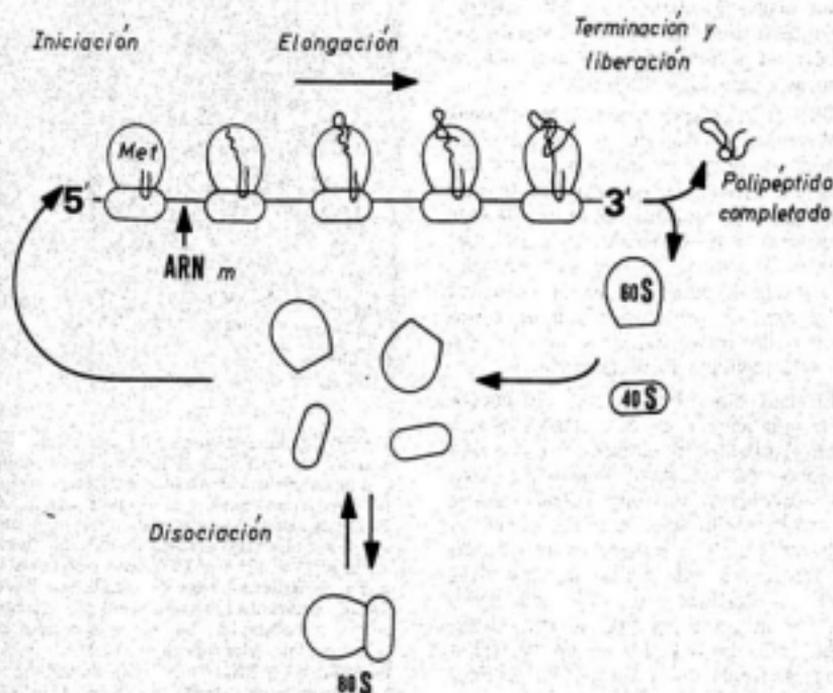


Figura 61. Funcionamiento cíclico de los polisomas. Las unidades ribosómicas activas construyen sus cadenas peptídicas y se desplazan paralelamente a lo largo del ARN mensajero en la dirección 5' - 3', hasta alcanzar la señal de terminación. Allí liberan la cadena peptídica completada, y, al mismo tiempo, abandonan el ARNm pasando a formar parte de la población de partículas ribosómicas no sintetizadoras. Es probable que, al liberarse el ribosoma, simultáneamente se disocie en dos partículas subribosómicas de 40 S y 60 S; éstas pueden volver a asociarse con el ARNm en un proceso de iniciación de una nueva cadena peptídica. A su vez, la población de partículas de 40 S y 60 S pueden asociarse formando ribosomas monómeros 80 S inactivos. Estos últimos pueden volver a la función activa mediante una reacción de disociación que requiere un factor de disociación específico. En algunas células animales se ha encontrado que esta disociación es estimulada por nucleósido-trifosfatos.

el ARNm el respectivo ribosoma. En las células, esas partículas vuelven a asociarse al ARNm (el mismo anterior o a otro de la misma especie o de otra diferente) en su sitio de iniciación, y reinician la síntesis de otra cadena peptídica. De este modo, la "población" ribosómica celular está continuamente actuando en la formación de proteínas. Para ello deben formarse en el intermedio, entre la terminación y la iniciación, las partículas subribosómicas (40S y 60S) que llevan a cabo la iniciación. Existen razones para suponer que ya en el momento de abandonar al mensajero, durante la terminación, el ribosoma se disocia en subunidades que estarían ya listas así, para la reiniciación.

En el citoplasma existen ribosomas monómeros 80S que no realizan la síntesis peptídica y que no se asocian directamente al ARNm. En condiciones fisiológicas apropiadas, algunos de esos ribosomas son disociados a partículas subribosómicas, y de esta manera pueden llegar a participar en la actividad de síntesis de proteínas. El balance entre los ribosomas activos y los no activos está regulado fisiológicamente.

En la generalidad de las células, los ribosomas activos en la síntesis proteica están agrupados en polisomas. Estas asociaciones de unidades ribosómicas activas, vinculadas por una misma cadena de ARNm a la que recorren concertadamente (fig. 61), reflejan en el número de ribosomas por polisoma, por una parte, el tamaño del ARN mensajero que les da origen, y por la otra, el balance entre las velocidades de iniciación y de recorrido del mensaje. En la figura 62 se muestra una micrografía electrónica de un corte de raíz de rábano que presenta una gran abundancia de polisomas de 10 o más unidades, característicamente dispuestos en "clave de fa" o espiral. Cuando en el tejido se interrumpe el flujo normal de intermediarios en la síntesis de proteínas, suele observarse la rápida desagregación de los polisomas.

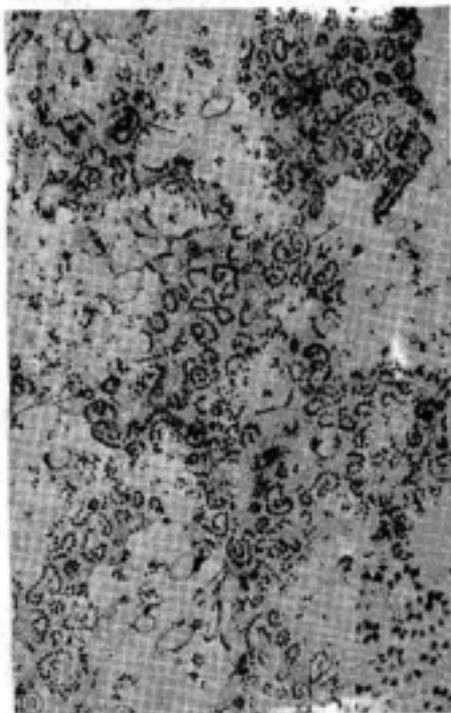


Figura 62. Polirribosomas de una célula epidérmica de raíz de rábano en crecimiento. Fotomicrografía electrónica de un corte delgado, en el que aparece seccionada tangencialmente la membrana del retículo endoplásmico. Los polisomas, muchos de ellos en forma de espiral, agrupan a 10 o más ribosomas, y están descansando sobre la membrana. En el ángulo derecho se observa, con gran aumento, la estructura de las dos subunidades en cada ribosoma. (Reproducido del artículo de H.T. Bonnett (h.) y E.H. Newcomb, "Polyribosomes and cytoplasmic accumulations in root cells of radish", publicado en *The Journal of Cell Biology*, 27 (1965), 431.

REGULACION Y CONTROL DE LA EXPRESION GENETICA

De todo el potencial genético (la totalidad de los genes) de un organismo, sólo una parte se expresa, en un mo-

mento dado, en cada una de sus células. Es decir que solamente algunas de las especies de proteínas codificadas por el genoma son sintetizadas en una célula o tejido para conferirle sus características y funcionalidad propia. A lo largo del ciclo vital, los distintos genes se activan y se "apagan" en forma selectiva, programada y coordinada, y de ese modo dan lugar a los procesos de crecimiento, desarrollo y diferenciación celular, así como a la regulación metabólica y fisiológica.

Posteriormente se considerarán en detalle estos fenómenos esenciales de la vida de las plantas. En ellos, como se verá, actúan como determinantes la propia naturaleza de los organismos y, además, las condiciones ambientales que modulan su actividad, estimulando o poniendo en marcha ciertos procesos y deteniendo otros. Surge aquí la importante pregunta sobre cuáles son los modos en que se gobierna aquel concertado programa de expresión genética y cómo es modificado por el ambiente: cuáles son los mecanismos reguladores de la acción de los genes y de la síntesis proteica.

Este tema es uno de los que más atención reciben en los últimos años por parte de los biólogos moleculares, y las respuestas hasta ahora obtenidas han surgido paralelamente con el avance de los conocimientos sobre la transcripción y traducción del mensaje genético. Estos conocimientos indican que, en los distintos tipos de organismos, existen mecanismos de regulación tanto en una como en la otra etapa.

El problema resulta ser muy complejo en los organismos superiores (plantas y animales). Esto es así por dos razones principales: 1) la multiplicidad y compartimentalización de las etapas y procesos que en los eucariontes conducen a la expresión genética; 2) las distintas células y tejidos de un organismo, además de recibir las influencias del medio externo, están sometidas a interacciones regulatorias con otras células o tejidos,

mediadas, por ejemplo, por hormonas o metabolitos en el medio interno.

En las bacterias, debido a su organización más simple, se han podido reconocer y describir varios mecanismos de regulación, y la formulación de la teoría de estos mecanismos ha influido profundamente en el pensamiento de los biólogos que estudian los organismos superiores. A continuación se esbozan estos resultados, para después pasar a considerar de lleno los mecanismos en las plantas superiores.

Regulación de la transcripción en las bacterias

De todas las proteínas producidas por las células de un cultivo bacteriano, muchas son continuamente "fabricadas", aún en condiciones cambiantes del medio de cultivo. Son las llamadas proteínas constitutivas, que desempeñan funciones básicas e imprescindibles para la vida celular (por ejemplo, las enzimas para la producción de energía, etc.). Otras proteínas, por el contrario, son sintetizadas solamente cuando lo exigen las circunstancias, por ejemplo la disponibilidad de nutrientes. El estudio de los diversos tipos de regulación de esas síntesis mostró que, en las bacterias, la etapa de la transcripción está sujeta a importantísimos mecanismos de control. Estos determinan la posibilidad, o no, de que un cierto gene estructural correspondiente a una proteína sea transcrito en su ARN mensajero para dar lugar así a la respectiva síntesis proteica (cuadro 12).

Los estudios de F. Jacob y J. Monod sobre uno de esos mecanismos —la represión-desrepresión, que veremos más adelante— llevaron a estos notables investigadores —laureados con el premio Nobel en 1965— a formular una teoría del control de la expresión genética en el nivel de la transcripción. Un concepto central de esa teoría es el de la *unidad de transcripción*, denominada *operón*.

Cuadro 12. Mecanismos de regulación y control de la transcripción en las bacterias.

Fenómeno regulatorio	Tipo de regulación	Sitio de control	Efector	Forma activa de la sustancia reguladora	Ejemplos
Inducción	negativa	operador iniciación	inductor	repressor	inducción de las enzimas para la utilización de lactosa, o galactosa.
Represión	negativa	operador iniciación	corepressor	repressor-corepressor	represión de las enzimas para la síntesis de aminoácidos, bases nitrogenadas y otros metabolitos.
Represión catabólica	positiva	¿promotor? iniciación	AMP cíclico	proteína activadora del gene-AMP cíclico	represión por glucosa de enzimas inducibles.
Síntesis de ARN ribosómico	positiva	promotor iniciación	factor ψ (ψ) (inhibidor; pp-G-pp)	ARN polimerasa- ψ (sigma)- ψ (ψ)	inhibición de la síntesis de ARN ribosómico por privación de aminoácidos.
Selección de promotores	positiva	promotor iniciación	?	ARN polimerasa- ψ (sigma) modificada? -otras subunidades modificadas	cambios de programa de transcripción: esporulación, infección por bacteriófagos.
Control de la terminación de transcripción	positiva	¿señal de terminación? factor ρ (rho)	factor ρ (rho) factor antiterminador	?	infección por fagos.

El operón (fig. 63) es un segmento de la cadena continua de ADN del cromosoma, cuya particular secuencia de bases es transcrita en forma unitaria,

indivisible, orientada y secuencial por la ARN polimerasa, para dar una cadena de ARN mensajero. En ese segmento de ADN están comprendidos uno o varios

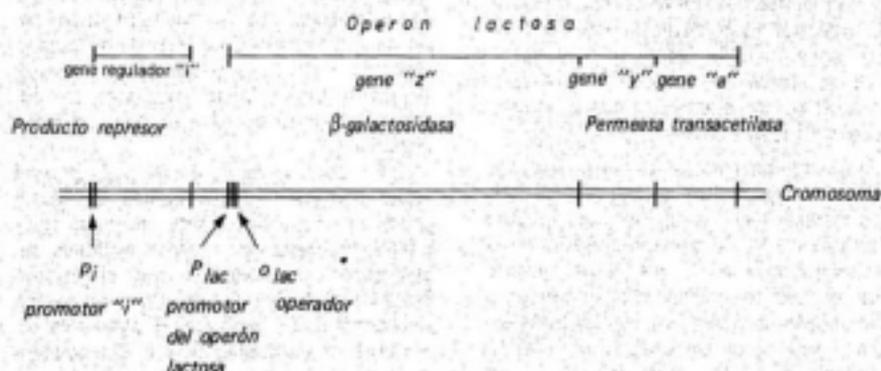


Figura 63. Esquema del operón lactosa de *Escherichia coli*.

genes estructurales que codifican las secuencias peptídicas de las respectivas proteínas, y que se disponen consecutivamente y adyacentes unos a otros. La acción unitaria de la ARN polimerasa sobre todo el operón determina que, cuando existe más de un gene estructural, éstos sean transcritos en la misma cadena de ARNm policistrónico, lo cual asegura la expresión coordinada de todos los genes de un operón.

En el operón existen además otros elementos genéticos cuyas secuencias de bases no se traducen en secuencias de proteína: son los extremos del segmento que a ambos lados de los genes estructurales marcan el sitio de iniciación y el de terminación de la transcripción, reconocidos por la enzima. El sitio de iniciación es el promotor, y en él se une al operón la ARN polimerasa dirigida por su subunidad σ (sigma). Además de esa función de señalamiento, el promotor y el sitio de terminación pueden ser sitios de control regulatorio, tanto para la selección de operones como para determinar su velocidad de transcripción. En los casos de regulación negativa por represión-desrepresión (véase más adelante), el operón posee ade-

de la transcripción de un operón por la ARN polimerasa, bloqueando su operador con una proteína, llamada represor, que en su forma activa tiene gran afinidad específica con él (fig. 64).

El represor, que es una proteína constitutiva continuamente fabricada por la célula en muy pequeñas cantidades, está codificado por un gene regulador que no forma parte del operón. Las mutaciones del gene regulador que hacen inactivo al represor, convierten al operón en constitutivo (libre de control negativo). El represor R tiene además la propiedad de unirse con alta especificidad con ciertas moléculas pequeñas llamadas efectores F, que modifican alostéricamente al represor en su afinidad con el operador:



Solamente una de las dos formas R (libre) o RF (combinada), es activa en la unión con el operador que bloquea la transcripción. Según sea el caso, la presencia o la ausencia de F provocarán efectos opuestos y simétricos que, además, son reversibles:

fenómeno	Inducción	Represión
denominación de F	Inductor	Correpresor
en presencia de F	RF (inactivo) desrepresión (hay transcripción)	RF (activo) represión (no hay transcripción)
en ausencia de F	R (activo) represión (no hay transcripción)	R(inactivo) desrepresión (hay transcripción)

más un segundo elemento de control, el operador, que es contiguo al promotor y precede a los genes estructurales.

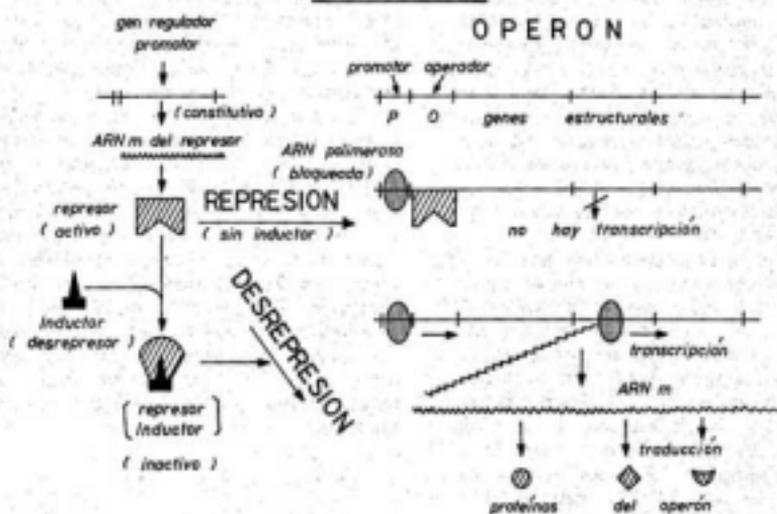
REGULACION NEGATIVA POR REPRESION-DESREPRESION

Este mecanismo provee un control individual y muy especializado de los diferentes operones. Mediante él se impi-

La primera alternativa corresponde a la llamada *inducción enzimática* en que, en presencia de un nutriente que actúa como inductor, la bacteria sintetiza las enzimas (inducibles) específicamente necesarias para la utilización y metabolismo de esa sustancia. Un ejemplo clásico es la inducción por el azúcar de leche, lactosa, de la formación de las

A. INDUCCIÓN

OPERON



B. REPRESIÓN

OPERON

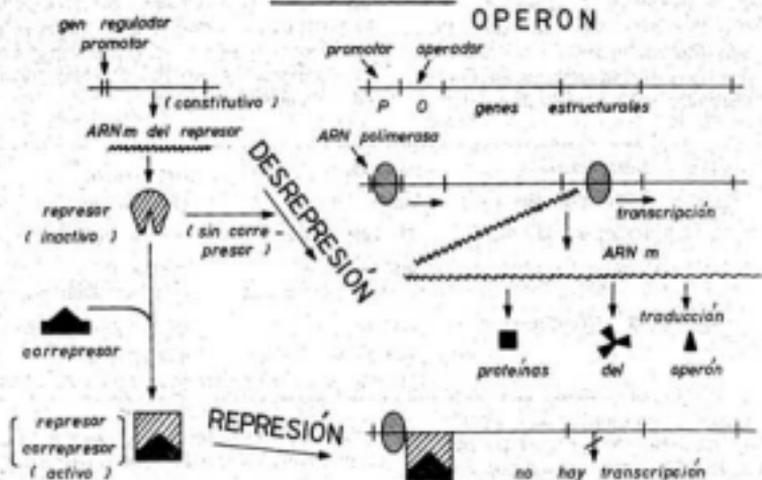


Figura 64. Mecanismos de represión-desrepresión en los fenómenos de inducción y de represión en las bacterias. A) Inducción: el represor (una sustancia de bajo peso molecular) se une al inductor con muy alta afinidad en un sitio alostérico, provocando un cambio de conformación: el complejo represor-inductor ya no es más activo, el operador queda liberado y se produce la transcripción del operón. B) Represión: en este caso, a la inversa del anterior, la forma libre del represor es inactiva frente al operador. La unión del represor con el correpresor (un metabolito), que provoca un cambio alostérico, lleva al complejo a la conformación activa que bloquea al operador e impide la transcripción.

enzimas β -galactosidasa, galactósido permeasa y transacetilasa, en *Escherichia coli* (en ausencia de glucosa).

En la segunda alternativa (RF activo) se tiene un fenómeno de regulación por *represión*: la producción de las enzimas (reprimibles) que realizan la síntesis de un anabolito clave (un aminoácido, una base nitrogenada, etc.), se detiene en la bacteria cuando al medio de cultivo se agrega precisamente ese anabolito, que es el *correpresor*. Un ejemplo particularmente estudiado es el de las diez enzimas de *Salmonella typhimurium* que catalizan el camino anabólico hasta el aminoácido histidina, especificadas por el operón histidina, y cuya síntesis es coordinadamente reprimida en presencia del nutriente.

REGULACION POSITIVA DE LA TRANSCRIPCION: LA REPRESION CATABOLICA

Este mecanismo de control, más generalizado que el anterior, se aplica a una familia de operones que a su vez pueden tener sus propios controles particulares. Para que cada uno de los distintos operones del grupo pueda ser transcrito por la ARN polimerasa se requiere, además del factor σ (sigma), la intervención de otro factor proteico, específico para el grupo de genes, que en su forma activa se une al promotor y permite la iniciación. Este factor tiene a su vez una forma activa o inactiva, lo cual depende de ciertas sustancias reguladoras. Este mecanismo, que recuerda al del represor, es distinto, sin embargo, en que la acción del factor proteico es positiva (es decir que la transcripción requiere su intervención).

Este mecanismo se ha observado, por ejemplo, en la *represión catabólica*: la presencia de glucosa (el sustrato preferido) en el medio impide la efectiva transcripción de una serie de operones inducibles, como el de lactosa o el de

galactosa (en presencia de sus inductores). Para que haya inducción se requiere ausencia de glucosa. Esta ausencia se detecta a través de la acumulación de una sustancia indicadora del estado metabólico, que es el AMP-c (adenosina-3', 5'-monofosfato cíclico). El AMP-c se combina con un factor proteico especial, la *proteína activadora de genes*, para dar la forma activa de ésta, la cual se une así al promotor y permite que la ARN polimerasa inicie la transcripción. En presencia de glucosa, los niveles de AMP-c intracelular son muy bajos y no permiten la activación de la proteína.

REGULACION DE LA TRANSCRIPCION MEDIANTE MODIFICACIONES DE LA ARN POLIMERASA

En la vida de la bacteria se producen situaciones en las que se requiere un cambio drástico y generalizado en el programa de su expresión genética: ciertos conjuntos de genes deben ser "desactivados" en bloque para que sus productos dejen de ser sintetizados, y la célula, en su reemplazo, debe seleccionar otros "equipos" de genes, correspondientes a los nuevos componentes celulares, para su transcripción y expresión. Un ejemplo de esto se observa durante la esporulación de bacterias como el *Bacillus subtilis*, en que la forma vegetativa, de activo crecimiento, pasa a la de espora, de muy diferente composición y estructura, y con un metabolismo casi durmiente. Esto implica el reemplazo de muchas proteínas por otras antes no expresadas, lo cual debe reflejar el aludido cambio de programación genética.

Otra situación en la que el programa genético es reemplazado, es la que ocurre en la infección por bacteriófagos: cuando una bacteria es invadida por un fago virulento, disminuye fuertemente la

síntesis de ARN y proteínas propias de la bacteria, en tanto que la maquinaria celular se vuelca a fabricar los ARN, proteínas y ADN codificados por el genoma del fago.

En estos ejemplos se ha encontrado que el cambio de programación es acompañado por modificaciones en la ARN polimerasa: la enzima, aislada así de las bacterias esporulantes, tiene una subunidad β muy diferente de la que se halla en la forma vegetativa, y en las bacterias infectadas con fago T4. A lo largo del desarrollo del fago se observan cambios sucesivos en la ARN polimerasa. Se cree que la subunidad σ es reemplazada por una nueva (que sería una proteína codificada por el genoma viral), junto con otras modificaciones de las restantes subunidades preexistentes; más tardíamente, otra subunidad σ , aún diferente, vendría a reemplazar a la precedente. En otros fagos, la enzima bacteriana llega a ser totalmente reemplazada por otra de origen exclusivamente viral.

Estas modificaciones en unos y otros casos tienen una consecuencia muy importante: dejan de transcribirse los genes originalmente activos y comienzan a ser expresados otros genes. Esto se debería a la diferente especificidad de las distintas ARN polimerasas que, según se cree, reconocen y seleccionan diferentes tipos de promotores. Los genes activados (o "apagados") tendrían, en forma colectiva, promotores de una misma especie reconocidos por una misma ARN polimerasa.

ASPECTOS DE LA REGULACION DEL PROCESO DE TRADUCCION EN BACTERIAS

En general, no se han observado en las bacterias importantes efectos de regulación de los mecanismos de síntesis de proteínas. Hay indicios sin embargo,

de algunas formas de control durante la traducción:

- 1) En la traducción de los mensajeros policistronicos, la eficiencia de síntesis sobre los distintos cistrones es a veces diferente. En el caso del operón lactosa, las tres proteínas β -galactosidasa, permeasa y transacetilasa (así ordenadas desde el comienzo al fin del mensajero) son sintetizadas en las proporciones 1:1/2:1/5, pese a que sus mensajes están en proporción 1:1:1. En el ARNm del fago R17, las desigualdades en la síntesis de sus tres proteínas son disminuidas cuando decrece el grado de estructura secundaria del ARN. La conformación del ARNm determina así los aspectos cuantitativos de la producción de las proteínas: resultaría entonces que la secuencia del ARNm, responsable de su estructura secundaria, no sólo codificaría la naturaleza de las proteínas que construye, sino también sus cantidades relativas.
- 2) Hay evidencias de que, en la infección por fagos, el factor de iniciación F_3 es alterado por factores proteicos por lo que se utilizan preferencialmente los ARNm virales en la constitución de los complejos de iniciación sobre la partícula de 30S.
- 3) Un condicionante para la síntesis de una proteína es la disponibilidad de todos los ARNt requeridos por los diferentes codones que la especifican. Podría modularse la velocidad de esa síntesis regulando la cantidad de ciertos ARNt críticos, en cuya ausencia la síntesis se detendría por imposibilidad de continuar la traducción. Nuevamente, en ciertas infecciones por fagos se ha observado que un ARNt de la bacteria es destruido selectivamente: es posible que, de esa manera, el fago elimine la síntesis de proteínas bacterianas sin afectar la producción de las propias (en cuya codificación se omitiría el uso del ARNt destruido).

Cuadro 13. Etapas posibles de la regulación de la expresión genética en los eucariontes

1. Constitución cromosómica	Núcleo	Ploidía: el número de genomas haploides determina el nivel intracelular de una enzima. Multiplicidad de genes: 2.000-3.000 copias de los genes de ARN ribosómicos en los nucléolos de las plantas.
2. Transcripción	Núcleo (mitocondrias, cloroplastos)	Regulación de la actividad de diferentes ARN polimerasas (de nucléolo o de cromosomas). Regulación negativa por represores (¿histonas?). Regulación positiva por proteínas activadoras asociadas a hormonas. Efectos cualitativos de selección de genes, y cuantitativos sobre el número de veces que cada gene es transcrito.
3. Procesamiento del ARN	Núcleo (¿mitocondrias?)	Clivaje de pre-ARNm; adición de secuencias de poli-A; asociación con proteínas.
4. Transporte de ARN mensajeros	Núcleo citoplasma	
5. ¿Almacenamiento? Utilización selectiva de ARNm	¿Citoplasma?	Oogénesis y fecundación (en anfibios). "Informosomas" en embriones animales. Embriones de semillas no germinadas.
6. Síntesis de proteínas: iniciación.	Citoplasma	
a—disponibilidad y activación de ribosomas		Activación de ribosomas: estimulación por testosterona en el músculo. Estimulación por ATP en el embrión de semilla de trigo al germinar.
b—complejos de iniciación		Estimulación de la iniciación de cadenas de globina por hemo en células eritropoyéticas formadoras de hemoglobina.
c—especificidad de factores de iniciación		Estimulación diferencial de la síntesis de globina dirigida por el ARNm de globina, agregada a un sistema acelular (no eritropoyético), cuando se le agrega además un factor específico obtenido de células eritropoyéticas.

LA REGULACION DE LA EXPRESION GENETICA EN LOS EUKARIOTES

Las características de los procesos de transcripción, procesamiento, transporte y almacenamiento de los ARNm, y finalmente su traducción, sugieren posibilidades de regulación y control en todas esas etapas (véase el cuadro 13).

1) El genoma, la amplificación génica y la diferenciación celular

Las diferencias notorias en la expresión genética entre los distintos tejidos o células de un organismo plantean la pregunta básica: ¿existe en todas las células del organismo, una dotación completa de información genética? La respuesta, en las plantas superiores, es afirmativa, cada célula es totipotencial, capaz de regenerar en condiciones adecuadas una planta entera; por lo tanto, en el proceso del desarrollo y la diferenciación no se ha perdido ninguno de los genes del genoma original.

Otro aspecto que hay que considerar es si en los tejidos diferenciados hay un incremento en el número de copias de los genes especiales que en esos tejidos deben expresarse activamente. En los ovocitos de los anfibios ello ocurre así: los genes para los ARN ribosomales (contenidos en el ADN nucleolar) aparecen en cientos de copias fuera de los cromosomas. Esa situación es transitoria pues una vez fecundado el huevo, en el desarrollo del embrión se vuelve a la dotación normal de ADN nucleolar.

En otro caso, estudiado muy cuidadosamente, la respuesta ha sido, en cambio, negativa: el número de copias de los genes para las cadenas de hemoglobina es muy pequeño (quizás unitario), no solamente en los tejidos no especializados, sino también en las propias células eritropoyéticas cuya actividad sobresaliente es la síntesis de hemoglobina.

Este último ejemplo haría pensar que, en los tejidos especializados, el

aumento de la capacidad para expresar ciertos genes no se realiza a través de la amplificación génica diferencial.

2) La transcripción

Se ha señalado una serie de posibles determinantes del grado de actividad de la transcripción en los cromosomas:

a) Las histonas

Desde hace mucho se supone que estas proteínas, asociadas específicamente a los cromosomas, son represoras de la transcripción en los eucariotes. La evidencia es conflictiva: por una parte, la escasa complejidad y especificidad de las histonas (ya referida antes, pág. 129) hace poco probable un papel como el de la represión, en que la especificidad requerida haría necesarios muchos miles de diferentes represores, cada uno para una unidad de transcripción. Sin embargo, otras propiedades de las histonas sugieren que el papel de represor es posible. Así, los complejos que las histonas forman con los ADN son inactivos en la transcripción por la ARN polimerasa (J. Bonner hizo extensos estudios al respecto con la cromatina y la enzima de la arveja), y la inactivación es tanto mayor cuanto mayor es el contenido de histona en el complejo. Además, las histonas pueden adquirir la multiplicidad y especificidad necesarias mediante su modificación enzimática por metilación, acetilación, o fosforilación, cambios que pueden tener importancia reguladora, dado que se los ha observado en relación con modificaciones en la actividad de transcripción de los núcleos, y porque están, además, controlados por hormonas y por el AMP cíclico.

b) ARN polimerasas y su modulación

Como ya habíamos mencionado anteriormente (pág. 142) en los organismos eucariotes existen múltiples especies de ARN polimerasas en el núcleo de una

misma célula, y también se encuentran diferencias entre las enzimas aisladas de distintos tejidos de un mismo organismo. Esta diversidad se refleja en la constitución de subunidades de cada enzima, en las respectivas especificidades (naturaleza de los ARN sintetizados) y en las correspondientes localizaciones en el núcleo. Las actividades relativas de estas enzimas varían de acuerdo con el estado fisiológico de las células; es posible que ello ocurra a través de mecanismos de modificación de subunidades o de reemplazos de factores de iniciación que, a semejanza de lo observado en las bacterias, cambian la especificidad o la capacidad funcional de las enzimas.

Existen también otros factores proteicos que, sin modificar a las enzimas, habilitan para la transcripción sitios del ADN que las enzimas de por sí (aun con sus factores de iniciación) no pueden utilizar. En los núcleos del endosperma de coco (*Cocos nucifera*), Biswas y sus colaboradores aislaron una proteína (diferente del factor de iniciación B) capaz de unir con alta especificidad la auxina, ácido indolacético radiactivo (AIA-¹⁴C). La proteína y el AIA forman también un complejo específico con el ADN (nativo) de coco, pero no se unen a la ARN polimerasa C1 ni al factor B, también de coco. En un estudio sobre la transcripción del ADN de coco por dicha polimerasa y su iniciador B, se observó que la presencia de la proteína y el AIA habilitaba en el ADN, para su transcripción por la enzima, segmentos adicionales del genoma que en su ausencia no habían podido ser copiados por la polimerasa e iniciador. Este mecanismo tiene similitudes con la acción de la "proteína activadora de genes" asociada al AMP cíclico, que habíamos visto en el fenómeno de la represión catabólica en las bacterias.

El ejemplo precedente ilustra sobre uno de los posibles modos en que las hormonas pueden modular la expresión genética en el nivel de la transcripción. Muchos otros estudios han mostrado

que una serie de hormonas, vegetales y animales, ejercen su acción a través de la regulación de este proceso. En las plantas, otros agentes como la luz, la humedad, y las variaciones de temperatura desatan procesos que son mediados por la síntesis de ARN. En general, para demostrar esa dependencia con la transcripción, se requiere que los efectos del tratamiento experimental resulten impedidos por la administración de un inhibidor de la síntesis de ARN, por ejemplo la actinomicina D (cuadro 6). A menudo se observa que el tratamiento también provoca cambios en la síntesis de los ARN. En esos casos, además de medir la capacidad de síntesis de las distintas familias de ARN, se trata de ver si hay algún efecto específico en la transcripción como la aparición de nuevas especies de ARN.

Los cambios en el espectro de las moléculas de ARN suelen investigarse con la metodología de la hibridación-competición. Los ARN recién sintetizados (radiactivos) son hibridados con ADN de la misma especie y paralelamente se hace un ensayo similar, pero con el agregado de un gran exceso de los ARN no radiactivos obtenidos de un testigo sin el tratamiento. El efecto de dilución por los ARN testigo disminuirá grandemente la radiactividad en los híbridos, excepto en aquellas secuencias nuevas no representadas en los ARN anteriores, las cuales podrán hibridar sin competencia. Los resultados de ambos ensayos pueden decir qué proporción de nuevas secuencias aparecen a causa del tratamiento.

Aplicando estos métodos, recientemente se estudió los efectos de dos hormonas —la auxina 2,4-D y la giberelina A₃— y el de la luz sobre la producción de ARN en el tejido del tallo de la arveja, crecido en la oscuridad. En tanto el ácido giberélico (en la oscuridad) solamente provocó un aumento de las especies de ARN ya existentes, la auxina y la luz, cada una de manera independiente, causaron la aparición de nuevas especies de ARN

(desrepresión de partes del genoma). Aparece aquí manifiesto el doble carácter de los efectos de estos factores reguladores: la transcripción puede ser modificada en su cantidad e, independientemente, en su calidad.

3) El procesamiento y el transporte de los ARNm al citoplasma

Se ha visto ya la serie de modificaciones que los pre-ARNm gigantes experimentan en el núcleo desde el momento mismo de su síntesis hasta su utilización en el citoplasma. Se desconoce casi totalmente cuáles son las causas determinantes de los clivajes, adiciones de poli-A y degradaciones restrictivas que, en forma ordenada, llevan a la pérdida de casi la totalidad de la secuencia originalmente transcrita. A falta de mayor información sobre las distintas funciones que cumplen esas largas secuencias, se ha especulado mucho sobre el papel regulador que podrían desempeñar. Se piensa que en esas secuencias están, en un "código" diferente del de los aminoácidos, las indicaciones completas, la programación para el procesamiento de cada una de esas moléculas, que precisamente involucra la destrucción de su propio "mensaje". Una segunda función sería quizá la de ser "relojes" biológicos que permitirían la adecuada coordinación de las actividades celulares. Se sabe que los diferentes ARNm llegan al citoplasma, desde la iniciación de su síntesis, en tiempos que pueden oscilar entre menos de una hora y un día. Todas estas etapas se cumplen mientras el ARN en proceso se mantiene unido a las proteínas y llega en forma de nucleoproteína, al citoplasma.

4) El almacenaje de los ARNm en el citoplasma

En muchos casos, los ARNm en forma de RNPM son rápidamente incorpo-

rados a los polisomas para dirigir la síntesis de proteínas. Esto ocurre, sobre todo, en los casos en que los mensajeros tienen una corta vida media. En ciertas células con producción estable de algunas proteínas (el caso de las células eritropoyéticas que sintetizan cadenas de hemoglobina) se encuentra en la fracción soluble una pequeña proporción de los ARNm de globina, no asociada a la fracción de polisomas. La acumulación de ARNm en el citoplasma se observa sobre todo en las células que pasan largos períodos en estado "durmiente", preparadas para una súbita activación. Este es el caso de los ovocitos del erizo de mar, que llegan a la fecundación con una dotación de ARNm y de ribosomas inactivos. Fecundado el huevo, comienza enseguida una activa síntesis de proteínas realizada por la maquinaria provista por el ovocito, y especialmente con la participación de los mensajeros cuyo exclusivo origen es el genoma materno. Tan completa es la dotación de ARN, que el embrión puede desarrollarse hasta alcanzar la etapa de gástrula, sin ser afectado por los inhibidores de la síntesis de ARN. Los ARNm almacenados en el citoplasma del ovocito se encuentran como RNPM, a las que su descubridor, Spirin, llamó "informosomas".

Una situación parecida ocurre en el embrión de trigo, en la semilla sin germinar. En ese sistema "durmiente" los ribosomas se encuentran libres, sin ARNm asociado, y un sistema acelular preparado a partir de germen de semillas de trigo en reposo, resulta ser totalmente inactivo para la síntesis peptídica con mensajero endógeno. Sin embargo, la imbibición en agua que desata la germinación, permite que a los 30 minutos los embriones comiencen a sintetizar activamente proteínas, con la utilización de ARNm preexistentes y la formación de polisomas. La síntesis de los nuevos ARNm posgerminales no comienzan sino después de varias horas. No se sabe en qué estado se encuentran los ARNm del embrión sin embeber, pero se sabe

que, para obtener la reactivación de los ribosomas durmientes, es necesaria la participación de ATP y de factores proteicos solubles.

5) La traducción

En el complejo mecanismo de la síntesis de proteínas hay una serie de puntos de regulación y control que pueden ser señalados:

a) *La disponibilidad de ribosomas activos:* Ya se señaló que en ciertos sistemas durmientes, como el de embrión de semilla de trigo, los ribosomas están en un estado inactivo y que, en el proceso de reactivación de las células, recuperan su capacidad de traducir mensajeros. En ciertas deficiencias hormonales (por ejemplo, en el músculo de los animales privados de insulina) la actividad sintética de las células disminuye. Esto se debe, en parte, a una inactivación de los ribosomas que es revertida por administración de la hormona *in vivo*.

b) *La disponibilidad de ARNm y la existencia de factores de iniciación que lo reconozcan como apto.* Recientemente se ha observado que, junto con los 3 ó 4 factores de iniciación ya descritos, en las células animales hay otros factores proteicos que, en sistemas acelulares *in vitro*, son capaces de estimular o disminuir la actividad de iniciación de ARN mensajeros exógenos. En los distintos tejidos, esos factores tienen diferentes especificidades que se corresponden con las funciones que el tejido desempeña.

Un segundo aspecto de la disponibilidad del ARNm es la vida media de éste en el citoplasma. Algunos mensajeros tienen un recambio acelerado, del orden de dos horas; otros tienen una estabilidad muy considerable y la síntesis de su proteína se efectúa durante varios días. La degradación de los mensajeros parece estar vinculada a su fun-

cionamiento en la síntesis de proteínas: en los casos en que ésta es inhibida, durante ese período los mensajeros no son degradados.

c) *Los factores solubles:* Una posibilidad de regulación en el nivel de la traducción es la disponibilidad de ARNt. Se ha formulado la hipótesis de que ciertos ARNt, correspondientes a codones poco frecuentes, podrían regular la síntesis de las proteínas que son codificadas por éstos si los ARNt normalmente utilizados estuvieran en cantidades limitativas. Suele observarse que los diferentes tejidos de un organismo tienen diferentes poblaciones de ARNt, lo cual se ha observado también en tumores animales. Sin embargo, no hay ningún ejemplo claro de regulación por ARNt en los eucariontes.

d) *La disponibilidad de energía:* Esta, en forma de ATP y GTP, es un importante condicionante de la síntesis peptídica. En las células con un aprovisionamiento inadecuado de energía (deficiencias en nutrientes como la glucosa u O_2) decrece en forma generalizada la síntesis de proteínas, y los polisomas se desagregan convirtiéndose en ribosomas monómeros.

e) *La disponibilidad de aminoácidos:* En ciertas células, la falta de aminoácidos, además de limitar la síntesis de proteínas, conduce a la disminución de los polisomas (se hacen menos numerosos y más pequeños).

f) Por último debe señalarse el efecto de ciertos metabolitos que controlan en forma especial la síntesis de proteínas relacionadas. El ejemplo más conocido es la síntesis de cadenas de globina, que en las células eritropoyéticas formadoras de hemoglobina está supeditada a la existencia continuada de grupos hemo disponibles (éstos son los grupos prostéticos que se combinarán con las cadenas peptídicas terminadas para dar hemoglobina completa).

LECTURAS
COMPLEMENTARIAS

- Allende, J. E.: "Protein biosynthesis in plant systems". En: *Techniques in protein biosynthesis*, de P. N. Campbell y J. R. Sargent, vol. 2, cap. 2, págs. 55-100. Academic Press, Londres, Inglaterra, 1969.
- Allende, J. E.: *Biosíntesis de proteínas y el código genético*. Monografía nº 10 (Serie de Biología). OEA, Washington, E.U.A., 1972.
- Glasziou, K. T.: "Control of enzyme formation and inactivation in plants". *Ann. Rev. Pl. Physiol.*, 20: 63-88, 1969.
- Key, J. L.: "Hormones and nucleic acid metabolism." 20: 449-474, 1969.
- Lehninger, A. L.: *Bioquímica*. Ed. Omega, Barcelona, España, 1972.
- Mahler, H. R. y E. R. Cordes: *Biological chemistry*. 2da. ed., Harper & Row, Nueva York, E.U.A., 1971.
- Marcus, A.: "Enzyme Induction in plants". *Ann. Rev. Pl. Physiol.*, 22: 313-336, 1971.
- Paladini, A. C. y M. Burachik: *Macromoléculas*. Monografía nº 3 (Serie de Química), OEA, Washington, E.U.A., 1968.
- Watson, J. D.: *Molecular biology of the gene*. W. A. Benjamin, 2da. ed., Nueva York, E.U.A., 1970.

METABOLISMO DE LOS HIDRATOS DE CARBONO

R. A. WOLOSUK

INTRODUCCION

Los hidratos de carbono están presentes en todos los seres vivos y pueden ser distinguidos según sean unidades libres (monosacáridos) o polimerizadas (oligo- y polisacáridos).

Los monosacáridos, salvo en los frutos, generalmente no se encuentran libres en gran cantidad, sino como derivados fosforilados, los cuales son transformados por una serie de reacciones que involucran epimerizaciones, oxidaciones, isomerizaciones, etcétera. Estas transformaciones se agrupan bajo el nombre de interconversiones de azúcares.

Los polisacáridos pueden ser clasificados según la presencia de un solo monómero (homopolisacárido) o de varios (heteropolisacárido) en la cadena. También, la clasificación puede basarse en la función que cumplen en un organismo. Así se tienen los que son utilizados con relativa rapidez en el metabolismo intermedio (almidón, fructosanos) y son considerados sustancias de reserva, y otros que forman parte de una estructura dada y su recambio es lento, es decir los denominados polisacáridos estructurales.

El estudio de la fisiología de los polisacáridos involucra el conocimiento de la estructura, biosíntesis y variación de éstos, con arreglo al desarrollo y los

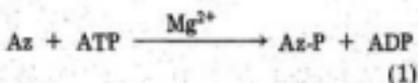
factores ambientales de un organismo dado.

INTERCONVERSION DE AZUCARES

Como resultado del metabolismo particular del vegetal, los hidratos de carbono sufren una serie de transformaciones que reciben el nombre de interconversiones. Las enzimas que actúan en la interconversión de azúcares, agrupadas según su función general, son las siguientes.

QUINASAS

La mayor parte de los procesos en los que intervienen los hidratos de carbono discurren a través de compuestos fosforilados. Las enzimas que catalizan la fosforilación de un sustrato, a expensas de adenosina trifosfato (ATP), reciben el nombre de quinasas. En el caso de los hidratos de carbono, la ecuación general es:

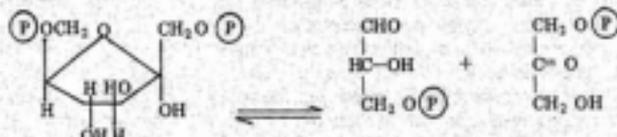


donde Az = azúcar, y Az-P = azúcar-fosfato.

Este tipo de fosforilación tiene un requerimiento absoluto de Mg^{2+} , puesto que el sustrato actuante es el complejo ATP-Mg. El equilibrio de la reacción está desplazado en el sentido de la formación del azúcar-fosfato, puesto que $[K'_{eq} = 6,5 \times 10^3 \text{ a pH } 7,4 \text{ y } 25^\circ\text{C}]$.

ISOMERASAS

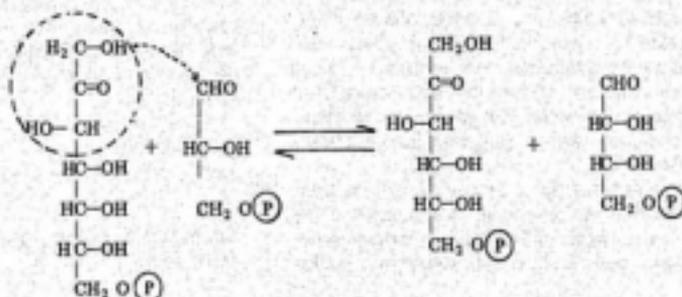
Provocan un reordenamiento molecular sin introducir ningún cambio en la fórmula mínima. En los azúcares existen dos clases, sea que la transformación se efectúe sobre un solo carbono (epimerasas) o que exista una óxido-reducción intramolecular (isomerasas clásicas). En



general, las epimerasas actúan preferentemente sobre nucleótido-azúcares (véase más adelante), aunque existe una enzima que cataliza la siguiente reacción:



En las isomerasas existe una transformación de aldosas en cetosas o viceversa, y en general los sustratos están fosforilados.



MUTASAS

La fosfoglucomutasa es una de las enzimas importantes, no sólo en el camino glicolítico, sino también en el metabolismo de oligo- y polisacáridos.



ALDOLASAS

Este tipo de enzima cataliza la adición aldólica. El ejemplo clásico lo representa la fructosa difosfato aldolasa, que constituye uno de los pasos en el camino glicolítico.

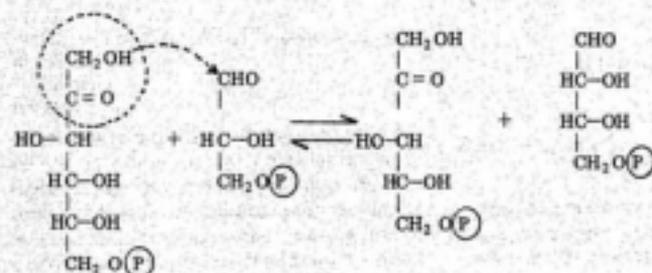
En este caso el equilibrio está desplazado hacia la izquierda, $K_{eq} = 10^{-5}$, o sea en favor de la fructosa-1,6-difosfato.

TRANSALDOLASAS

La reacción catalizada por estas enzimas consiste en la transferencia, desde un dador cetosa a un aceptor aldosa, de un grupo dihidroxiacetona.

TRANSCETOLASAS

Catalizan la transferencia de un grupo glicolaldehído desde un dador cetosa a un aceptor aldosa. Requieren para su acción tiamina pirofosfato y un metal divalente.



NUCLEOTIDO-AZUCARES

El descubrimiento por Leloir y sus colaboradores del UDP-glucosa abrió, en el campo de la bioquímica de los azúcares, un nuevo capítulo. Este nucleótido-azúcar, así como los otros que fueron descubriéndose luego, tienen activa participación en la interconversión de azúcares y en la síntesis de uniones glucosídicas.

a) SINTESIS:

Las nucleótido-azúcar pirofosforilasas catalizan la siguiente reacción:



donde NTP es el nucleótido trifosfato (N es la base purina o pirimidina), Az-1-P el azúcar 1-fosfato, NDAz el nucleótido-azúcar y PP el pirofosfato. Es una reacción reversible ($K_{eq} = 0,3$) en la cual el equilibrio está desplazado en el sentido de la formación del azúcar fosfato; pero en la naturaleza existen pirofosforilasas (enzimas que hidrolizan pirofosfato) las cuales desplazan el equilibrio hacia la síntesis del nucleótido-azúcar. En las plantas supe-

riores existe, además, otra reacción reversible, capaz de sintetizar nucleótido-azúcar, catalizada por la enzima sacarosa sintetasa:



donde NDP-glucosa es nucleótido difosfato glucosa, y NDP nucleótido difosfato. Si bien presenta mayor afinidad con UDP-glucosa, también actúa con ADP-glucosa y TDP-glucosa.

b) EPIMERIZACION

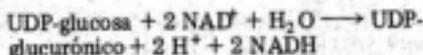
Las epimerasas catalizan la modificación de la posición de un OH (en la mayoría de los casos en C-4). En *Phaseolus aureus* se encuentra la epimerasa que cataliza $UDP\text{-glucosa} \rightleftharpoons UDP\text{-galactosa}$. También se hallaron en los vegetales las enzimas que catalizan



Las epimerasas en C-2 y C-5, que fueron encontradas en otros sistemas, no han sido detectadas en plantas superiores.

c) OXIDACION

En *Phaseolus aureus* se encontró la enzima que cataliza la oxidación del C-6 de la glucosa (UDP-glucosa dehidrogenasa) de acuerdo con la siguiente reacción:



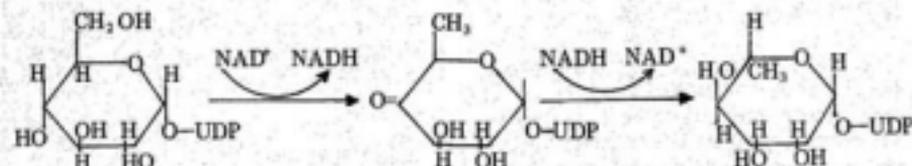
d) DESCARBOXILACION

La descarboxilación del C-6 del ácido glucurónico la produce una enzima del germen de trigo:



e) REDUCCION-EPIMERIZACION

Barber halló en la hoja de tabaco la enzima que cataliza la transformación de UDP-glucosa en UDP-L-ranmcosa. El esquema propuesto es el siguiente:

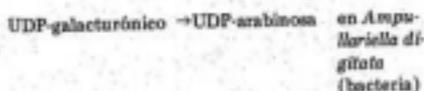
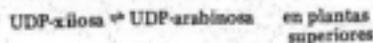


En el primer paso se produce la formación del UDP-4-ceto 6-deoxiglucosa, mediante una óxido-reducción interna que requiere la presencia de NAD^+ . En el segundo paso se efectúa la reducción del C-4 y al mismo tiempo se invierte los sustituyentes en C-3 y C-5. En síntesis, el resultado final es la epimerización en los carbonos 3, 4 y 5 y reducción en el carbono 6.

Posteriormente, Liao y Barber encontraron en *Phaseolus vulgaris* la enzima que cataliza $\text{GDP-D-manosa} \rightarrow \text{GDP-L-fucosa}$.

Las interconversiones de azúcares están reguladas por dos factores: el genético y el ambiental. El primero determina los posibles caminos a seguir, así como su regulación; en tanto que el segundo modifica el aporte de compuestos que inter-

viene en las interconversiones e induce la aparición de enzimas y la regulación de éstas. Así se hace necesario el conocimiento de los pasos metabólicos que llevan a la formación de un compuesto, por cuanto un mismo azúcar puede ser generado por caminos diferentes.



El conocimiento de los pasos en un camino metabólico, y por ende el de las enzimas que intervienen y el de su regulación, es una condición necesaria, pero no suficiente, para poder determinar el comportamiento de un organismo frente a una situación dada.

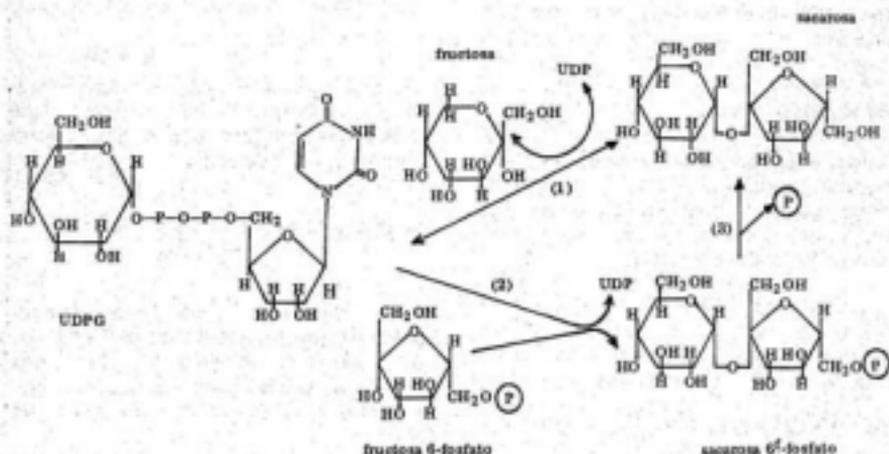
OLIGOSACARIDOS

SACAROSA

Constituye uno de los productos finales de la fotosíntesis y, además, es el principal compuesto que se traslada desde las hojas hacia los órganos de reserva. Su papel parece no reducirse al mero hecho de ser la forma que utilizan las plantas superiores para la movilización de energía. En cortes de tubérculos de *Helianthus tuberosus*, cultivados *in vitro*, se encuentra que la sacarosa induce el aumento de la almidón sintetasa y la aparición de amilopectina. Es de destacar que el metabolismo normal del tubérculo de *H. tuberosus* involucra a los fructosanos (polímeros de fructosa) y no al almidón (polímeros de glucosa).

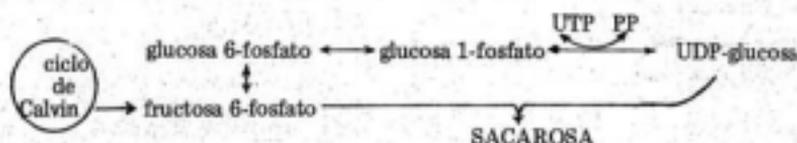
Dos son los caminos que hasta ahora se han encontrado, por los cuales la sacarosa se sintetiza en las plantas. En ambos, el dador de glucosa es el UDP-glucosa, pero el aceptor es, en un caso, la fructosa (sacarosa sintetasa), y, en el otro, la fructosa 6-fosfato (sacarosa 6-fosfato sintetasa).

sentido de la degradación de ésta. En el caso de la reacción (2) ($K_{eq} = 3.250$ a pH 7,5), por lo tanto ésta se halla desplazada hacia la síntesis de la sacarosa 6-fosfato. La existencia de fosfatasa que catalizan la reacción (3) hace irreversible la síntesis de la sacarosa por este camino.



Se han detectado estas dos enzimas en numerosos tejidos vegetales. La reacción (1), catalizada por la sacarosa sintetasa (UDP-glucosa: D-fructosa glucosil transferasa), tiene al UDP-glucosa como el mejor dador de glucosa, es decir, su K_m es menor (mayor afinidad) que la que corresponde a otros nucleótido-azúcares. Los valores encontrados para la K_{eq} oscilan entre 2 y 8. Ello lleva a que la reacción, si bien está desplazada en el sentido de la síntesis de sacarosa, pueda actuar en el

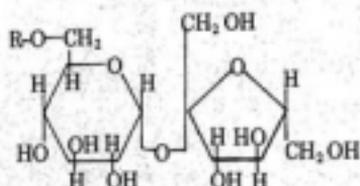
Cuando se fija fotosintéticamente $^{14}CO_2$, se obtiene una sacarosa marcada igualmente en la porción glucosa como en la fructosa. Si bien la fructosa 6-fosfato que se extrae del tejido está marcada radiactivamente, no se puede detectar ^{14}C en la fructosa libre. Ello implica que la formación de sacarosa no ocurre a partir de los azúcares como tales, sino que parecería producirse a través de los azúcares fosfato. En el esquema se representa el camino probable de la síntesis:



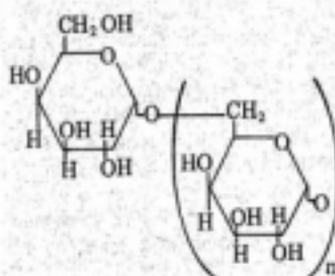
La distribución de la sacarosa 6-fosfato sintetasa y la sacarosa sintetasa es diferente según el tejido estudiado. En los tejidos fotosintéticos predomina la primera, en tanto que ésta, en los no fotosintéticos, está ausente o en niveles más bajos que los de la sacarosa sintetasa. Sobre la base de lo antedicho se supone que la sacarosa 6-fosfato sintetasa está dirigida hacia la síntesis de sacarosa, en tanto que la sacarosa sintetasa lo está hacia la degradación de ésta.

RAFINOSA

Más que hablar solamente de un oligosacárido, se debe considerar la "serie rafinosa", puesto que existen varios compuestos formados por adición de grupos galactosa sobre una base sacarosa.



R= H sacarosa

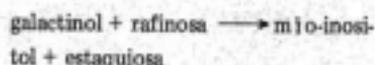
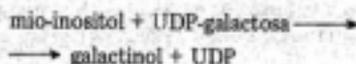


n=0 rafinosa

n = 1 estaquiosa

n = 2 verbascosa

Si bien esta serie está distribuida entre las plantas superiores, su papel fisiológico no es conocido. En *Phaseolus vulgaris* se encontraron las enzimas que catalizan:



De esta manera, ambas reacciones llevarían a la formación de estaquiosa. Este mismo sistema funciona en la síntesis de rafinosa y verbascosa.

POLISACARIDOS DE RESERVA

La célula vegetal acumula en forma de polisacáridos la energía absorbida en la fotosíntesis, y los moviliza en el momento que es necesario para impulsar su crecimiento o enfrentar una alteración del medio.

En general, una especie puede tener uno o más polisacáridos de reserva, los cuales pueden presentarse por separado o juntos en un estado dado del desarrollo o ser inducidos por diferentes tratamientos. En ciertos cereales, como *Triticum vulgare*, las hojas contienen fructosanos y las semillas almidón, en tanto que en *Symphytum officinale* coexisten ambos polisacáridos en un mismo tejido. En *Helianthus tuberosus*, las hojas contienen almidón y los tubérculos fructosanos; sin embargo, los cortes de tubérculos cultivados en presencia de luz muestran la aparición de almidón sintetasa, clorofila y amilopectina.

FRUCTOSANOS

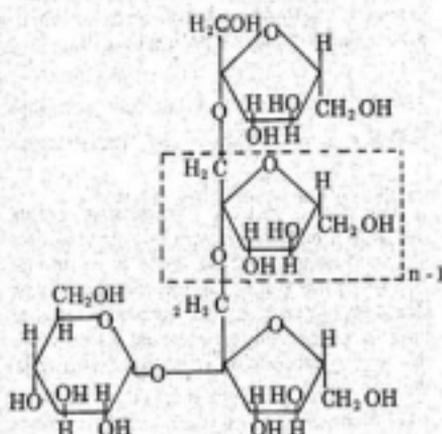
Son polímeros de fructosa que constituyen uno de los polisacáridos de reserva más comunes en las plantas superiores. Su

presencia ha sido confirmada en numerosas especies y se encuentran principalmente entre las *Compositae* y *Graminae*. Sus características estructurales difieren según la fuente de la cual provienen. Por ello se los suele dividir para su estudio, de acuerdo con el tipo de unión que predomina, en inulina ($\beta, 2 \rightarrow 1$) y levanos ($\beta, 2 \rightarrow 6$).

INULINA

Su metabolismo fue estudiado utilizando preferentemente los tubérculos de *Helianthus tuberosus*.

La estructura general de estos compuestos responde a la siguiente fórmula: G-F-F_n, en la cual n = 0 es sacarosa y n = 32-35 es inulina.



Sobre esta estructura pueden presentarse ramificaciones, principalmente por

uniones $\beta, 2 \rightarrow 6$. En *H. tuberosus* y *Dahlia*, las ramificaciones son prácticamente inexistentes; en cambio, en la cebada y el centeno, se presentan en gran proporción.

Todos los fructosanos que van desde la sacarosa ($n = 0$) a la inulina ($n = 35$) se encuentran presentes en el tubérculo de *H. tuberosus*, y la proporción relativa de unos con otros varía con el estado fisiológico. Durante el transcurso del año, los fructosanos sufren en el tubérculo una serie de transformaciones en cuanto a la proporción relativa de polímeros. El grado de polimerización (número de unidades fructosa en un polímero dado, exceptuando la unidad del grupo sacarosa) varía con arreglo al período por el cual atraviesa el tubérculo o al tratamiento al cual es sometido. Al finalizar el verano hay un rápido crecimiento del tubérculo con el incremento de la cantidad total de fructosanos y del grado de polimerización. Esto se logra a expensas de la sacarosa trasladada desde las hojas, la cual es metabolizada para dar origen a los fructosanos. Durante el período de dormición existe una despolimerización sin pérdida de la cantidad de materia seca; los fructosanos reordenan las unidades fructosa, disminuye la cantidad de los de alto grado de polimerización y aumenta la de aquellos de bajo grado de polimerización. Es por ello que al llegar el invierno no se detecta inulina en el tubérculo. Con la llegada de la primavera comienza el tubérculo a brotar y en el nuevo crecimiento, los fructosanos son utilizados a través de la sacarosa.

Un experimento que ejemplifica la relación entre la temperatura y el contenido y naturaleza de los fructosanos en el tubérculo, es el siguiente:

	Condición	Variación en el peso seco	Modificación en el grado de polimerización
a)	14 semanas a 20° C	Pérdida	Ninguna
b)	7 semanas a 2° C + 7 semanas a 20° C	Pérdida	Disminución
c)	14 semanas a 2° C	Ninguna	Disminución

En este experimento están relacionadas las condiciones ambientales y el metabolismo de fructosanos. Constituye, pues, una manera de aproximarse a los hechos que suceden en el tubérculo cuando está sometido a variaciones climáticas.

Edelman y sus colaboradores han estudiado las enzimas relacionadas con la síntesis, degradación e interconversión de los polímeros de fructosa.

Sacarosa: sacarosa 1-fructosil transferasa (cestosa sintetasa)

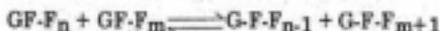
Esta enzima cataliza la transferencia de un grupo fructosa de una sacarosa a otra molécula de sacarosa. Es decir que la molécula de sacarosa se comporta como dador y aceptor de fructosilos.



Debido a que la cestosa (1 \bar{F} fructosil sacarosa) no es un buen dador y la glucosa es un pobre aceptor, se considera que la reacción se desplaza hacia la derecha y tiene como destino, *in vivo*, la formación de cestosa.

$\beta 2 \rightarrow 1'$ fructano: $\beta 2 \rightarrow 1'$ fructano fructosil transferasa (transferasa)

Esta enzima cataliza la transferencia de un residuo terminal fructosa de un fructosano a otro, de acuerdo con el siguiente esquema:



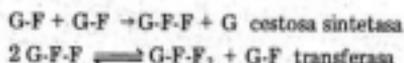
donde n varía de 1 (cestosa) hasta 35 (inulina), y m de 0 (sacarosa) hasta 34. La sacarosa no actúa como dador de su fructosa, pero sí puede aceptar ese tipo de unidades provenientes de otros fructosanos. Esta enzima provoca la redistribución de unidades fructosa entre los polímeros.

$\beta 2 \rightarrow 1'$ fructano 1-fructano hidrolasa (hidrolasa)

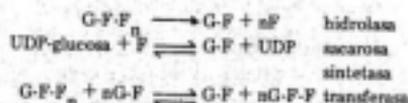
En *Helianthus tuberosus* se detectaron dos enzimas, hidrolasa A e hidrolasa B, que actúan sobre fructosanos y liberan unidades fructosa según el siguiente esquema:



Edelman, basado en la presencia de estas enzimas, supone una relación entre la actividad de ellas y la fisiología del tubérculo de la siguiente manera: durante la formación del tubérculo, la sacarosa trasladada desde las hojas es transformada por la cestosa sintetasa en cestosa, la cual por la acción continua de la transferasa lleva al aumento del grado de polimerización.



Durante el período frío decae el grado de polimerización y aumenta la cantidad de fructosanos de bajo grado de polimerización y sacarosa. La hidrolasa produce fructosa (sustrato de la sacarosa sintetasa), que es convertida en sacarosa, la cual actúa como aceptor de fructosas frente a la transferasa.



En tanto que, durante la despolimerización, actúan las dos primeras enzimas, hidrolasa y sacarosa sintetasa, con el resultado consiguiente de la formación de sacarosa que se traslada hacia las partes nuevas.

Dos enzimas claves en este mecanismo son la cestosa sintetasa y la hidrolasa, ya que los pasos que catalizan son considera-

dos irreversibles. Se ha comprobado que aquéllas varían, dentro del tejido, según la temperatura ambiente. La cestosina sintetasa desaparece rápidamente en el tejido luego que el tubérculo ha sido cosechado, pero reaparece cuando el tubérculo es tratado a temperatura alta; en tanto que la hidrolasa aumenta notablemente su actividad con la disminución de la temperatura. La transferasa se encuentra en todo momento presente y hace variar el equilibrio, según la dirección impuesta por las otras dos.

Respecto de la distribución intracelular de las enzimas, Edelman ubica a la transferasa e hidrolasa en el tonoplasto, adjudicando a la primera las funciones de transferir fructosa, no sólo de una molécula a otra, sino también a través de la membrana. Las restantes enzimas que actúan en este esquema, cestosina sintetasa y sacarosa sintetasa, están ubicadas en el citoplasma.

LEVANOS

Los polímeros de fructosa que se hallan en *Gramíneas* presentan como unión predominante $\beta, 2 \rightarrow 6$, y son frecuentes las ramificaciones. En cuanto al grado de polimerización, éste es variable ya que puede alcanzar $n = 26$ en *Bromus inermis* Leysy o $n = 260$ en *Phleum pratense* L. Al igual que los fructosanos de la serie inulina, coexisten en una misma planta los polímeros de alto grado de polimerización con los de bajo, pero hasta el momento no se han presentado datos que permitan suponer la existencia de un *continuum* que vaya desde los de cadena corta hasta los de cadena larga. La presencia dominante de estos polisacáridos de reserva se da en la subfamilia *Festucoideae* (excepción tribu *Stipeae*).

En *Phleum pratense* L. los levanos de cadena larga se acumulan en la base del tallo en las etapas cercanas a la madurez. Pero esta acumulación sufre variaciones según la etapa de crecimiento estudiada. La cantidad y el grado de polimerización disminuyen con el comienzo del crecimiento,

pero al iniciarse la elongación del tallo comienzan a aumentar ambos hasta alcanzar el máximo con la formación de la semilla (fig. 65).

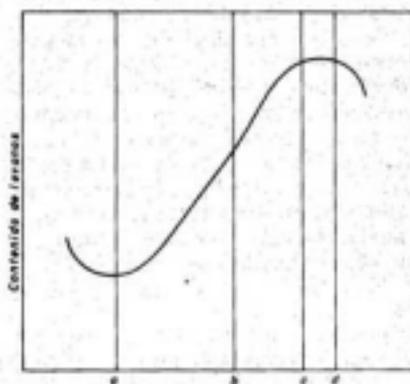


Figura 65. Variación en el contenido de levanos en la base del tallo de *Phleum pratense*. a) Comienzo de la elongación del tallo; b) aparición de la inflorescencia; c) antesis temprana; d) maduración de la semilla.

En *Bromus inermis* Leysy la situación es similar en lo que a cantidad de levanos se refiere, ya que el grado de polimerización sufre muy ligeras modificaciones. El tipo de variación apuntado en timote se refiere a la base del tallo, pero ello no implica que la misma situación se presente en todas las partes de la planta. Así se observó que, cerca de la antesis, predominan los levanos de cadena larga en los internudos y raíces, en tanto que los de bajo grado de polimerización se hallan en las hojas y en la inflorescencia.

ALMIDÓN

La presencia de almidón ha sido detectada en organismos que van desde las algas hasta las plantas superiores.

En las dicotiledóneas, la generación de hidratos de carbono mediante la fotosín-

tesis en los cloroplastos lleva a la acumulación, en el plástido, del almidón de asimilación; éste es metabolizado en sacarosa la que es trasladada a los órganos de reserva (semillas, tallos, raíces) en los cuales se transforma en almidón de reserva.

En las monocotiledóneas, la sacarosa constituye en las hojas el mayor producto fotosintético, y allí el almidón es escasamente detectable. Sin embargo, se lo puede hallar en otros órganos de la planta, donde se forma a partir de la sacarosa. El plástido especializado en la formación de almidón y en su almacenamiento se denomina amiloplasto, y ese almidón recibe el nombre de almidón de reserva.

AMILOSA Y AMILOPECTINA

Si se efectúa una hidrólisis del almidón con ácido, o si se lo trata con enzimas hidrolíticas, los productos que se obtienen son glucosa y maltosa, respectivamente, de lo cual se deduce la existencia de un polímero cuyos monómeros son unidades de glucosa.

En 1942 se tuvo la evidencia de que el almidón no era un compuesto homogéneo, sino que estaba formado por dos polímeros, amilosa y amilopectina, que se podían distinguir química, física y enzimáticamente. El primer método consistió en separarlos mediante agua caliente (70-80°C), en la cual la amilosa es soluble en tanto que la amilopectina no lo es. La molécula de amilosa se compone de unidades glucosa combinadas entre sí por uniones $\alpha, 1 \rightarrow 4$; en tanto que la amilopectina, que tiene el mismo tipo de unión, presenta en sus puntos de ramificación la unión $\alpha, 1 \rightarrow 6$.

Las medidas del peso molecular de estos dos polímeros varía según el método que se utilice. Los más usuales son el de la viscosimetría, el de las constantes de sedimentación y el de la presión osmótica. Por ello, el peso molecular de la amilosa se encuentra en el orden de 10^5 , en tanto que el de la amilopectina es del orden de $10^7 - 10^8$.

En términos generales, el contenido de amilosa es del 20 %, mientras que el de amilopectina es del 80 %, cifras éstas que oscilan según la especie y la variedad utilizada. (La arveja arrugada, var. Steadfast, posee un 80 % de amilosa; en tanto que la arveja lisa, var. Alaska, contiene un 35 %.)

La composición del almidón, en lo que al contenido de amilosa y amilopectina se refiere, depende de factores genéticos. Aquellas variedades de maíz, arroz y cebada cuyo almidón está formado enteramente de amilopectina, se denominan ceras. Esta característica está regida por un gen recesivo *wx*. El endosperma cuyo genotipo es *WxWxWx*, *WxWxwx* ó *Wxwxwx*, tiene un contenido de amilosa del 20-25 %; en tanto que el que posee un genotipo *wxwxwx*, constituye la variedad cérea con un 0 % de amilosa. Por otra parte, la variación de amilosa está regida por una serie de genes y modificadores, los cuales determinan que el contenido de amilosa pueda alcanzar el 80 %. En general, existe una correlación negativa entre la cantidad de amilosa y la producción de almidón. Cuanto mayor es el porcentaje de amilosa, menor es la producción total de almidón.

ESTRUCTURA DE LOS GRANULOS DE ALMIDON

Si bien el almidón tiene en todas las especies una arquitectura química similar, basada en la amilosa y la amilopectina, cada especie presenta, a la observación microscópica, gránulos característicos. Los gránulos difieren en tamaño, forma, estructura de la cubierta y localización del hilum. El gránulo comienza con la formación de una partícula en el estroma del amiloplasto, sobre la cual se va depositando almidón, hasta que aparece un centro —visible con el microscopio ocular— que es el hilum. Por aposición continúa agregándose más almidón, el cual presiona los restos de estroma sobre la pared del amiloplasto. La envoltura del plástido, finalmente, consistirá en una doble pared y restos de estroma. Según las características

que presentan, pueden ser clasificados en almidón de cereales y almidón de tubérculos.

ALMIDON DE CEREALES

Presenta dos tipos de gránulos: los simples (trigo, cebada) y los compuestos (arroz, avena).

En los simples, el amiloplasto produce un gránulo primario cuya formación comienza el 7^o día después de la antesis y finaliza al cabo de 24 días aproximadamente. Junto a éste coexisten los pequeños, cuya formación comienza tres días después que el grande y finaliza, también, luego de dos semanas. El gránulo grande constituye el 90 % del almidón del endosperma.

En los compuestos se ven una infinidad de gránulos que surgen en el estroma, separados unos de otros por estroma residual.

ALMIDON DE TUBERCULOS

Son gránulos de forma ovoide y excentricos en cuanto a la ubicación del hilum. Presentan numerosas capas alternadas, las cuales son visibles cuando el gránulo está hidratado, pero que desaparecen al ser deshidratado.

No se conocen con exactitud los mecanismos por los cuales se generan estas capas. Una hipótesis es que las estructuras alternadas se deben al ritmo día-noche, y que la parte más refractiva se deposita durante el día. Este concepto está basado en experiencias efectuadas con gránulos de almidón de endosperma de cebada y trigo. Estos, cuando se desarrollaban en condiciones ambientales constantes, no presentaban capas. Sin embargo, esta hipótesis no tiene validez en el caso de los gránulos de almidón de la papa y de la hoja de tabaco (almidón de asimilación), puesto que, en condiciones ambientales constantes,

siguen dando el esquema normal a esas especies.

Conforme a estos resultados, la formación del gránulo de almidón estaría controlada por factores diferentes, según su origen. Por la periodicidad día-noche en el caso de los cereales, y por un ritmo endógeno en el caso de los tubérculos.

Utilizando $^{14}\text{CO}_2$ se observó que la radiactividad se depositaba en la periferia del gránulo, lo cual lleva a suponer que éste se forma por aposición del hidrato de carbono trasladado. La forma exacta por la cual la periodicidad en el depósito lleva a la formación de las capas, no se conoce.

ENZIMAS POLIMERIZADORAS EN LA BIOSÍNTESIS DEL ALMIDON

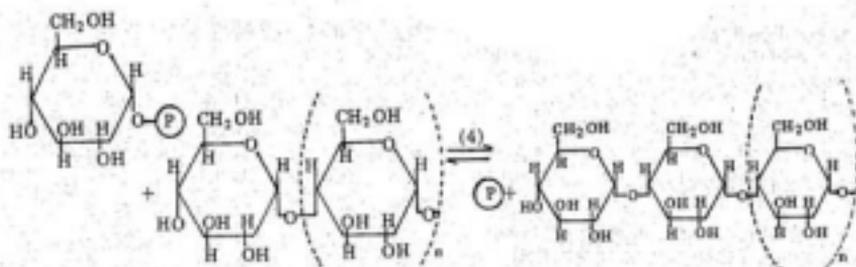
FOSFORIL.

El punto inicial de las investigaciones de la biosíntesis de polisacáridos lo constituye el hallazgo, de Cori, en 1937, de la enzima fosforilasa. Esta cataliza la incorporación de la glucosa al glucógeno, a partir de glucosa 1-fosfato. Hanes, en 1940, obtiene una actividad similar a partir de un extracto de papa. La reacción reversible catalizada por esta enzima es la siguiente:



donde $(\text{glu})_n$ y $(\text{glu})_{n+1}$ constituyen polímeros de glucosa unidos en unión $\alpha,1 \rightarrow 4$. Para que la enzima actúe, es necesario que la molécula aceptora tenga como mínimo tres unidades glucosa ($n = 3$, maltotriosa); la maltosa ($n = 2$) es, pues, un aceptor ineficiente, en tanto que la maltotetraosa ($n = 4$) y los homólogos de n mayor de 4 son efectivos.

La función de la molécula aceptora es proveer un extremo no reductor para que se vayan agregando nuevas unidades glucosa.



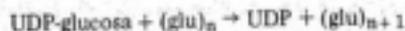
Pero desde el descubrimiento de esta enzima se hallaron una serie de propiedades que constituían un obstáculo a la suposición de que ella actuase en la síntesis del almidón. El equilibrio de la reacción (4) no depende de las concentraciones del aceptor ni tampoco del polisacárido (u oligo) formado, sino de la relación glucosa-1-P/Pi. Fue Hanes quien midió esa relación en función del pH:

pH	5	6	7
glucosa-1-P/Pi	10,8	6,7	3,1

considerado 6,2 el pH óptimo de la enzima. Es decir que el equilibrio de la reacción (4) está desplazado hacia la formación de G-1-P (degradación) y no hacia el agregado de unidades glucosa (síntesis).

TRANSGLUCOSILASAS (almidón sintetasa)

Los problemas anteriores encontraron solución con el hallazgo de Leloir y sus colaboradores del UDP-glucosa y su función en la biosíntesis del glucógeno. La extensión de esos trabajos a la biosíntesis del almidón fue exitosa, puesto que en el mismo laboratorio se halló la enzima que cataliza:



donde el tipo de unión formada es $\alpha,1 \rightarrow 4$.

El aceptor $(\text{glu})_n$ podía ser amilosa, amilopectina u oligómeros de bajo peso molecular.

El cambio de energía libre de la reacción es de $-3.300 \text{ cal mol}^{-1}$ lo cual implica que la adición de unidades glucosa al aceptor está favorecida termodinámicamente. La constante de equilibrio de esta reacción es de 350.

Prosiguiendo esas investigaciones, Recondo y Leloir encontraron que el ADP-glucosa sintético era un dador más eficiente. Con posterioridad se halló ese compuesto en el maíz y en el arroz.

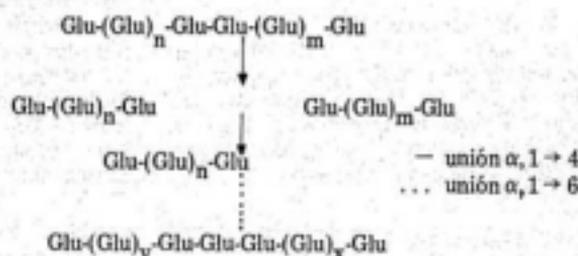
En todos los casos citados, la enzima se halla unida al gránulo de almidón (enzima particulada), lo cual le confiere a aquella características particulares. Las enzimas particuladas presentan afinidad con el ADP-glucosa y el UDP-glucosa, y difieren en sus propiedades según sea su origen. Así, por ejemplo, son diferentes según sean del embrión o del endosperma de las semillas de maíz.

Las enzimas particuladas están íntimamente asociadas al gránulo de almidón y ello plantea el problema de la síntesis *de novo* del almidón. A partir de oligosacáridos pequeños, un sistema enzimático soluble debe ser capaz de fabricar toda la estructura del almidón. Frydman y Cardini hallaron en el maíz dulce una enzima soluble capaz de transferir glucosa del ADP-glucosa al glucógeno animal y al fitoglucógeno. Esa enzima también tenía como aceptores a la amilopectina y a los oligosacáridos de la maltosa. La amilosa y el

gránulo de almidón, al cual se le inactivaba la enzima que tenía, no eran aceptores. Esta enzima tiene como sustrato al ADP-glucosa, pero es inefectivo el UDP-glucosa. El tipo de unión formada es $\alpha,1\rightarrow4$. Enzimas similares fueron halladas en tubérculos de papa, hojas de tabaco y cloroplastos de espinaca.

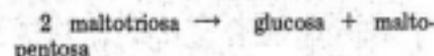
unión $\alpha,1\rightarrow6$, la cual trae aparejada la ramificación en la estructura.

La primera enzima hallada, catalizadora de la formación de la unión $\alpha,1\rightarrow6$, fue la enzima Q. Esta enzima cataliza la hidrólisis de una unión $\alpha,1\rightarrow4$ y la transferencia del trozo terminal a un aceptor, formando una unión $\alpha,1\rightarrow6$.



ENZIMA D

Tanto la fosforilasa como la *almidón sintetasa* necesitan un oligosacárido aceptor, cuya estructura mínima es $(\text{glu})_4$ (todas uniones $\alpha,1\rightarrow4$). En el extracto de papa se encuentra una enzima que cataliza la siguiente reacción:



Esta enzima no actúa sobre la glucosa ni la maltosa.

ENZIMA T

Esta enzima cataliza la ramificación en oligosacáridos de cadena corta.



ENZIMAS RAMIFICANTES

Las enzimas descritas anteriormente ejercen su acción sobre la unión $\alpha,1\rightarrow4$. Sin embargo, en la constitución de la estructura del almidón interviene la

No está dilucidado si el trozo escindido se une a la cadena de la cual proviene o a otra cadena.

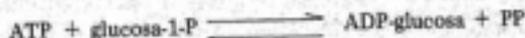
Para que esta enzima pueda actuar es necesario que el dador tenga una longitud mínima. Si la estructura es lineal (amilosa), debe tener un mínimo de 50 unidades glucosas; en tanto que si la misma estructura lineal pertenece a las ramificaciones de la amilopectina, debe tener un mínimo de 14 unidades.

Las enzimas Q estudiadas no aumentaban el grado de ramificación de la amilopectina. En el maíz dulce (*Zea mays* var. *saccharatum*) coexisten el almidón y un polisacárido con propiedades similares al glucógeno animal, el fitoglucógeno. Como el fitoglucógeno tiene un mayor grado de ramificación que la amilopectina, y la enzima Q no actúa sobre esta última, entonces se estudió la presencia de otras enzimas ramificantes. Lavintman y Krisman hallaron un sistema capaz de actuar sobre la amilosa y la amilopectina con producción de fitoglucógeno. Lavintman, basada en sus datos de inactivación por calor, pH óptimo, inactivación por Hg, y activación por citrato, concluye que existen en el maíz dulce, dos actividades ramificantes diferentes: una sobre la amilosa y otra

sobre la amilopectina. La enzima que actúa sobre la amilopectina no aparece en aquellas especies que no poseen fitoglucógeno.

ADP-GLUCOSA PIROFOSFORILASA

El descubrimiento del ADP-glucosa, como dador más efectivo de glucosa en la síntesis del almidón, llevó a buscar la formación de dicho compuesto. En 1962, Espada encontró en el trigo la *ADP-glucosa pirofosforilasa*, enzima que cataliza la siguiente reacción:



Esta enzima tiene como sustrato ATP y como activador primario el 3-fosfoglicérico. También es activada por fructosa 6-fosfato y fructosa 1,6-difosfato pero es inhibida por Pi. Estos hechos bioquímicos guardan cierta coherencia con los fisiológicos. En el proceso fotosintético existe una acumulación de almidón. Durante el período lumínico, el CO₂ asimilado es transformado en ácido 3-fosfoglicérico (ciclo de Calvin), el cual entra en el camino de las hexosas fosfato para llegar a formar finalmente el almidón. Recientemente se ha demostrado que el CO₂ puede incorporarse en los primeros momentos a ácidos dicarboxílicos de 4 carbonos, pero un tiempo más tarde dichos ácidos son transformados en 3-fosfoglicérico.

Fisiológicamente, los niveles de Pi tendrían importancia por cuanto varían con el régimen lumínico: son altos en la oscuridad y bajan por acción de la luz. El Pi regularía cuál es el camino que se debe seguir al actuar sobre dos enzimas: la ADP-glucosa pirofosforilasa y la fosfofructocinasa. El Pi inhibe a la primera y activa a la segunda, por lo cual se inhibiría la síntesis de almidón y se activaría la glucólisis.

En la síntesis de cualquier polímero es necesario distinguir tres etapas: ini-

ciación, propagación (y ramificación) y terminación. El almidón, como polímero de glucosa que es, está sometido a ese estudio.

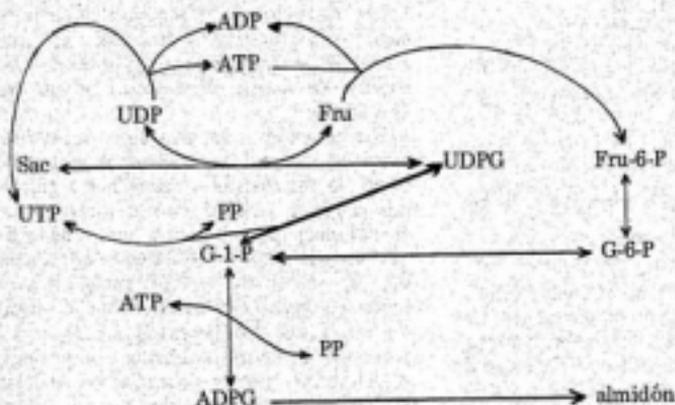
La iniciación de la síntesis del almidón aún constituye un problema no resuelto. Si bien las fosforilasas son consideradas como enzimas degradativas, se ha informado de la síntesis de almidón, en ausencia de aceptor, mediante este tipo de enzimas. En uno de los casos, la presencia de Pi no constituye un impedimento para la formación del polisacárido. Por otro lado se ha separado, por cromatografía en DEAE-celulosa, isoenzimas de almidón sintetasa, una de

las cuales tiene la facultad de catalizar la formación del almidón en ausencia de aceptor, si bien las condiciones no son fisiológicas por cuanto se requiere la presencia de una alta concentración de sales en el medio (citrato 0,5 M).

El mecanismo de alargamiento se efectúa por la acción de la almidón sintetasa, la cual provoca la extensión de la cadena. La acción concertada de dicha enzima con la enzima Q llevaría a la formación de la amilopectina. La almidón sintetasa adiciona glucosas en uniones $\alpha,1 \rightarrow 4$ y luego la enzima Q provoca la ramificación. Sobre estas ramificaciones (sobre los extremos no reductores de las cadenas) se adiciona glucosa y luego vuelven a ramificarse. Esta forma simple de explicar la síntesis del almidón necesita de otros mecanismos adicionales, puesto que la presencia de ambas enzimas *in vitro* da siempre un material ramificado.

La sacarosa es sintetizada en las hojas y luego trasladada hacia los órganos de reserva (tubérculos, granos). En algunas especies, la forma de reserva la constituye el almidón, por lo cual la conversión de la sacarosa en almidón constituye un punto crucial. Fekete y Cardini hallaron que una preparación de endosperma de maíz catalizaba la incorpora-

ción de radiactividad de la sacarosa- ^{14}C al gránulo de almidón, en presencia de ADP o UDP. Akazawa y sus colaboradores encontraron un resultado similar en granos de arroz. Ello lleva a concebir la conversión sacarosa-almidón de la siguiente manera:



Si bien es mucho lo que se ha avanzado en los últimos años con respecto a la fisiología del almidón, al conocimiento de la naturaleza de éste, al descubrimiento de las enzimas y a los sustratos que intervienen en su síntesis, mucho camino queda aún por recorrer. Algunos problemas, como la formación de capas en el gránulo, esperan solución.

PARED CELULAR

El estudio de los polisacáridos de la pared celular se ha efectuado en diferentes niveles de la actividad celular, tratando de relacionar los resultados obtenidos en uno con los hallados en otro.

Varias disciplinas han concurrido para que se tuviera una visión más integrada

del metabolismo de la pared celular, y si bien algunos de los hechos de éste se encuentran en el terreno de las hipótesis, ellos permiten tener una orientación respecto de los caminos que haya que seguir y de los que es preciso descartar.

De manera que, en lugar de conside-

rar la formación de los polisacáridos como macromoléculas, se piensa en función de la formación de la pared celular, que es el destino de dichos compuestos.

ESTRUCTURA DE LA PARED CELULAR

ESTRUCTURA LAMINAR

La observación microscópica de la pared celular muestra la existencia de una estructura laminar. Esta disposición está determinada por capas superpuestas de microfibrillas celulósicas de diferente orientación, las cuales pueden ser observadas luego de extraer los componentes amorfos. En la pared celular se pueden apreciar tres capas: la laminilla media (L), la pared primaria (P) y la pared secundaria (fig. 66).

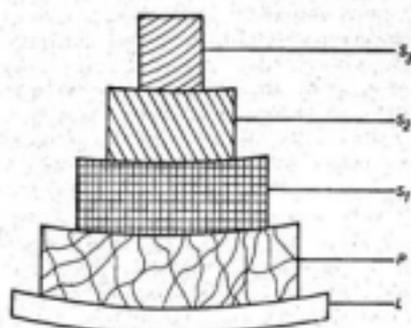


Figura 66. Representación esquemática de la pared celular.

La laminilla media se presenta amorfa, con un contenido mayormente de pectinas. Por su parte, la pared primaria es una malla de microfibrillas encajadas al azar en una matriz de pectinas y hemicelulosas.

La pared secundaria ha sido dividida, según la observación microscópica, en externa (S_1), central (S_2) e interna (S_3). En cada una de estas capas, la orientación de las microfibrillas celulósicas es distinta, y el cambio de orientación de éstas es gradual al pasar de una capa a otra. La S_1 consiste en microfibrillas entrecruzadas. La S_2 ocupa la mayor parte del volumen de la pared celular y está formada por microfibrillas orientadas paralelamente entre sí, cuya dirección forma un ángulo con el eje principal de la célula. En la S_3 , las microfibrillas adquieren una forma helicoidal.

COMPONENTES DE LA PARED CELULAR

MICROFIBRILLAS

Las láminas de la pared celular están constituidas por las microfibrillas de celulosa, los polisacáridos de la matriz y

la lignina. Las primeras están encajadas en las otras y les dan la rigidez necesaria. Cuando se tratan las paredes celulares con los compuestos adecuados, a fin de remover los componentes amorfos, se obtienen las microfibrillas celulósicas. Este tratamiento hace que la estructura celulósica quede con restos de la matriz. De ahí que, cuando se habla de celulosa, microfibrillas celulósicas o estructuras celulósicas, lo que hacemos es referirnos a un material insoluble en álcali, cuyo grado de pureza es variable.

En el estudio de este tipo de estructuras se han utilizado diversos métodos, desde la microscopía óptica hasta culminar en la actualidad con la microscopía electrónica, pasando por métodos químicos, enzimáticos y físicos (difracción de rayos X, ultracentrifugación, viscosimetría). Cada uno de ellos fue aportando los datos que llevan al actual conocimiento de las microfibrillas celulósicas, y al mismo tiempo permitieron cotejar las conclusiones obtenidas por un método con los datos obtenidos por otro.

Observadas con el microscopio electrónico, las microfibrillas semejan largos hilos cuyo grosor es variable (50-150 Å) según la especie estudiada. El polisacárido predominante es un polímero de unidades glucosas cuya unión es $\beta,1\rightarrow4$ (unidad mínima: celobiosa). Mediante la difracción de rayos X se ha podido determinar en la estructura celulósica la presencia de regiones cristalinas y amorfas, así como también se ha sugerido el ordenamiento antiparalelo en la posición relativa de las cadenas de polisacáridos dentro de las estructuras.

Varios son los modelos que se han propuesto para la estructura de las microfibrillas, como se puede apreciar en la figura 67.

En unos modelos se supone que las cadenas de polisacáridos asumen una posición extendida; en tanto que, en otros, ésta es replegada. Este punto adquiere importancia por cuanto el mecanismo que actúa en la síntesis de las cadenas será diferente según que la po-

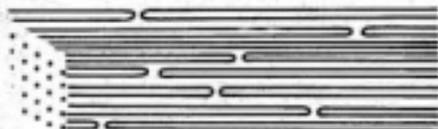


Figura 67. Modelos propuestos para la disposición de las cadenas de polisacáridos en las microfibrillas.

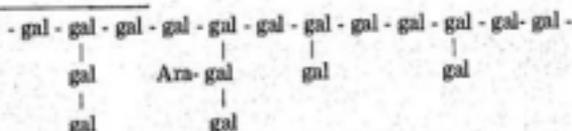
modelo, la síntesis comenzaría en un solo punto y se extendería a partir de él. En cambio, en la estructura extendida, la síntesis de cadenas comenzaría en puntos opuestos de la microfibrilla.

POLISACARIDOS DE LA MATRIZ

Los polisacáridos que constituyen la matriz pueden ser separados, de acuerdo con su solubilidad, en diferentes soluciones. Así, aparecen clasificados en dos grandes grupos: los polisacáridos solubles en H_2O (o en una solución que contiene un agente quelante de Ca) y los polisacáridos solubles en álcali. Los primeros reciben el nombre de sustancias pécticas, en tanto que los segundos se agrupan bajo el nombre de hemicelulosas.

Estas constituyen polisacáridos solubles en H_2O que se presentan en dos tipos diferentes. Los neutros, cuya estructura está basada en arabinosa y galactosa, y los ácidos, constituidos fundamentalmente por ácido galacturónico.

Los polisacáridos neutros tienen una estructura lineal cuyas unidades galactosa están unidas en forma $\beta,1\rightarrow3$. Sobre esta estructura existen ramificaciones de unidades galactosa, cuya unión a la cadena primaria es $\beta,1\rightarrow6$. La arabinosa se encuentra siempre en las ramificaciones, en una proporción de 1 a 6 con respecto a la galactosa.



gal: D-galactosa; Ara: L-arabinosa.

sición antiparalela de éstas surja de una estructura extendida o de una replegada. La estructura replegada releva de tener que explicar la formación de cadenas antiparalelas puesto que, en ese

Los polisacáridos ácidos, solubles en H_2O , consisten en una estructura lineal de unidades de ácido galacturónico, cuya unión es $\alpha,1\rightarrow4$. Los hidratos de carbono, tales como la galactosa, xilosa

y fucosa, aparecen en pequeña cantidad y sobre las ramificaciones. *In vivo*, el ácido galacturónico se encuentra parcialmente acetilado y también formando ésteres metílicos.

HEMICELULOSAS

La fracción formada por las hemicelulosas está compuesta de dos tipos de polisacáridos: los xilanos y los gluco- y galactoglucomananos. Los primeros se encuentran principalmente en las angiospermas, en tanto que los segundos se hallan en las gimnospermas. Cada uno de ellos constituye una familia en la cual prevalece un monómero y un tipo de unión, pero la composición en las ramificaciones varía según sea la especie utilizada.

Los xilanos están formados por la cadena lineal cuyos monómeros son xilosas unidas $\beta,1\rightarrow4$. Sobre esta estructura lineal aparecen ramificaciones, consti-

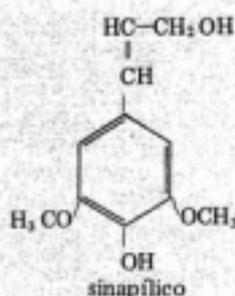
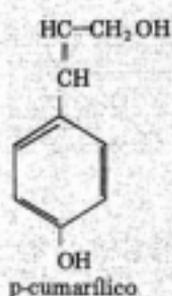
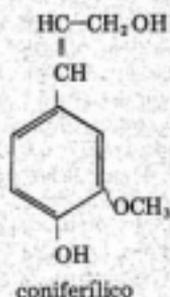
Los glucomananos constan de una cadena lineal de manosa y glucosa, cuya distribución de monómeros es al azar. La unión es $\beta,1\rightarrow4$ y la proporción relativa es manosa: glucosa 3:1. En los galactoglucomananos, la galactosa se une a la cadena principal según una unión $\beta,1\rightarrow6$.

CALOSA

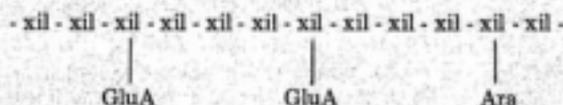
Este es un polisacárido formado exclusivamente por unidades glucosa unidas $\beta,1\rightarrow3$.

LIGNINA

Si bien esta sustancia no está involucrada en el presente capítulo, dedicado a hidratos de carbono, la lignina es uno de los componentes esenciales en el estudio de la pared celular. Es un polímero complejo en cuya composición se encuentran los alcoholes aromáticos: coniferílico, p-cumarílico y sinapílico.



tuidas por arabinosa unida $\alpha,1\rightarrow3$ y ácido glucurónico (metilado en la posición 4) unido $\alpha,1\rightarrow2$. El grado de polimerización varía de 150 a 200 unidades de xilosa. *In vivo*, las unidades xilosa están acetiladas en un 50 %, principalmente en C-3.



xil: D-xilosa; GluA: 4-O-metil- α -D-glucurónico; Ara: L-arabinosa.

pleja, pero no se ha podido establecer una regularidad en las ligaduras formadas.

BIOSINTESIS DE LOS COMPONENTES DE LA PARED CELULAR

CELULOSA

De acuerdo con los datos presentados en *Phaseolus aureus* y *Lupinus albus*, el GDP-glucosa es el precursor en la formación de un compuesto insoluble en álcali, cuyas uniones son $\beta,1\rightarrow4$. También existe la evidencia de que el UDP-glucosa puede actuar como dador de glucosa y formar un polímero en el cual las uniones son $\beta,1\rightarrow3$ y $\beta,1\rightarrow4$.

XILANOS

Se obtuvieron preparaciones particuladas que sintetizaban oligo y polisacáridos de xilosa a partir de UDP-xilosa, formando uniones $\beta,1\rightarrow4$. Cuando se analizaron los productos de la reacción enzimática efectuada con UDP-xilosa- ^{14}C , se obtuvo, por hidrólisis ácida del polisacárido, xilosa- ^{14}C , y también arabinosa- ^{14}C . Es decir que la preparación utilizada contenía la epimerasa que catalizaba la transformación de UDP-xilosa en UDP-arabinosa.

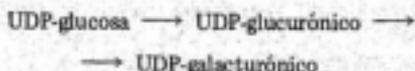
CALOSA

En *Phaseolus aureus* se obtuvo una enzima particulada que catalizaba, a partir de UDP-glucosa- ^{14}C , la incorporación de glucosa- ^{14}C , a un polisacárido en el cual las uniones eran $\beta,1\rightarrow3$.

GALACTURONANOS

Una preparación particulada de *P. aureus* catalizaba la incorporación, a

partir de UDP-galacturónico- ^{14}C , de galacturónico- ^{14}C a una cadena formada por esas unidades. La enzima era sumamente específica en cuanto al dador, puesto que otros nucleótido-galacturónicos no actuaban como dadores. En *P. aureus* es de consignar que se detectaron las enzimas que catalizan la siguiente secuencia de reacciones:



con lo cual el UDP-glucosa podría ser derivado a través de ella hacia la síntesis de galacturonos.

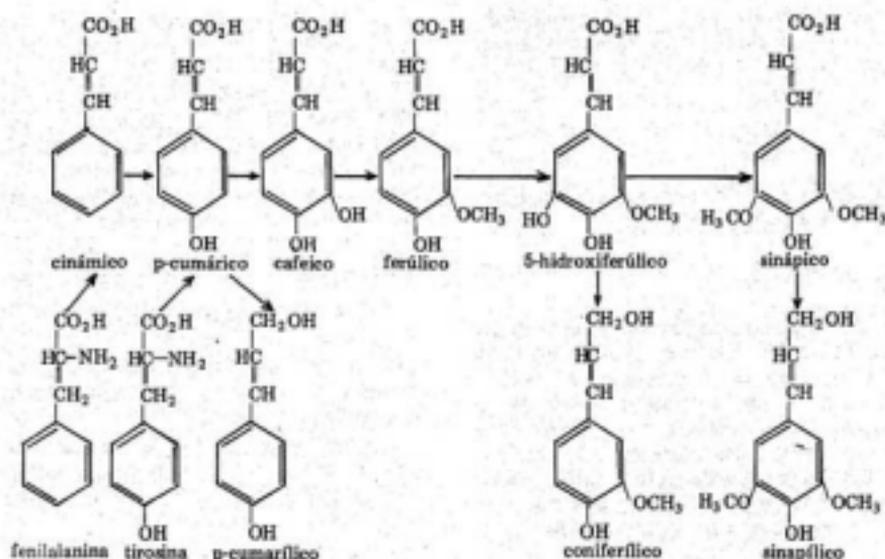
La metilación de los polisacáridos se efectúa mediante la S-adenosil-L-metionina y tiene lugar luego que la cadena del polisacárido se completa.

GLUCOMANANOS

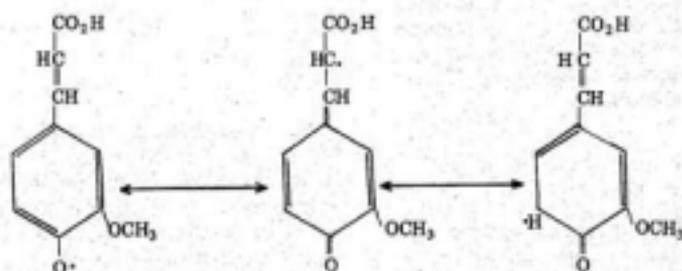
Cuando se incubaban extractos crudos de *P. aureus* con GDP-glucosa- ^{14}C , se vio que si se añadía GDP-manosa aumentaba la incorporación de radiactividad a un polisacárido en el cual la unión formada era $\beta,1\rightarrow4$ y la relación manosa:glucosa era 3-4:1.

LIGNINA

Los aminoácidos aromáticos constituyen los precursores en la formación de derivados del ácido cinámico. La fenilalanina-amonio liasa y la tirosina-amonio liasa catalizan la transformación de los respectivos aminoácidos en ácido cinámico y ácido p-cumárico. Estos ácidos, que se encontrarían esterificados, sufren hidroxilación y luego metilación sobre el núcleo aromático. Una vez modificado el núcleo aromático se produce la reducción del grupo carboxilo y de esta manera surgen los alcoholes que constituyen los precursores de la lignina.



Con estos precursores, los pasos siguientes en la formación de lignina son la polimerización y copolimerización de los alcoholes p-cumarílico, coniferílico y sinápílico. Esta serie de polimerizaciones parece transcurrir a través de radicales libres, generados por una peroxidasa, los cuales adoptarían las siguientes formas mesoméricas:



FORMACION Y ORIENTACION DE LAS MICROFIBRILLAS CELULOSICAS

Se ha visto que aún no se ha dilucidado la estructura de las microfibrillas, en cuanto al ordenamiento de las cade-

nas se refiere. Por ello, los mecanismos propuestos para la formación y orientación de las estructuras celulósicas entran en el terreno de las hipótesis. Sin embargo, los intentos que se hagan para interpretar los procesos que llevan al ordenamiento de las microfibrillas redundarán en el conocimiento de la estructura y viceversa.

Una de las hipótesis establece que la celulosa es polimerizada de acuerdo con el sistema enzimático previamente visto, por el cual los monómeros activados son condensados para dar lugar al polímero. Este polímero es luego transportado al sitio de cristalización, donde

una vez efectuada ésta se produce la orientación de las microfibrillas. El primer paso, la formación del polímero, es el enzimático (y posiblemente el de transporte), en tanto que la cristalización y orientación de las microfibrillas sería un proceso no-enzimático. Otra hipótesis es considerar que los procesos de polimerización y cristalización son simultáneos, a diferencia de la anterior, en la cual están separados en el tiempo. En esta alternativa se considera que el UDP-glucosa, o la glucosa de éste, se une a un vehículo lipídico con el cual atraviesa la membrana, hasta que la glucosa es finalmente depositada en la microfibrilla. El vehículo lipídico sería reabsorbido para volver a actuar en el transporte de glucosa. Así, en la parte exterior de la membrana celular estaría el sistema sintetizante de la celulosa. Según las experiencias efectuadas con otros polímeros (polietileno), cuando se produce la polimerización y cristalización simultáneamente, las estructuras favorecidas serían las extendidas. Si lo mismo es válido para la celulosa, entonces surge el problema de la síntesis de las cadenas antiparalelas, ya que serían necesarios dos sistemas enzimáticos que actuasen en direcciones opuestas. Una vez establecidas las cadenas de la celulosa y cristalizadas, la orientación de las microfibrillas podría darse por dos mecanismos: uno ordenado por las características físicas de la celulosa; el otro controlado por algún proceso biológico.

Una tercera posibilidad es la que considera que la síntesis de la celulosa se

lleva a cabo en dos etapas, con la presencia de un patrón estructural que determina la orientación de las microfibrillas. El primer paso consistiría en la síntesis de un patrón, el cual sería utilizado en la producción de celulosa. En ambos casos se produciría celulosa, pero las características serían diferentes. Esto explicaría la diferencia observada en el grado de polimerización y en la cinética de la formación de las celulosas en el algodón. Por tanto, dos serían los sistemas enzimáticos que actuarían en la síntesis de la celulosa. El primero sería el que ha sido hallado *in vitro*, en tanto que el segundo actuaría en presencia del patrón estructural.

LIGNIFICACION

Los alcoholes p-cumarílico, sinapílico y coniferílico son solubles en H_2O . Esta solubilidad, así como también la corta vida del radical libre, lleva a suponer que las enzimas están localizadas en la pared celular. La lignina presenta localización específica en la pared celular, de manera tal que la polimerización debe efectuarse sobre un monómero que se halle unido a los polisacáridos de la pared, puesto que de otra manera los primeros polímeros de bajo grado de polimerización podrían desplazarse debido a su solubilidad. El hallazgo de una unión covalente entre la lignina y un polisacárido podría confirmar esta hipótesis.

METABOLISMO DE LOS LIPIDOS

R. R. BRENNER

GENERALIDADES

Un lípido, en sentido estricto, es una sustancia constituida por ácidos grasos y soluble en disolventes no polares como éter, cloroformo y benceno. Debido a esa propiedad es que, en sentido amplio, también se engloba bajo ese término a otras sustancias con solubilidad similar en los mismos disolventes. Por ello, y por razones didácticas, dentro de los lípidos propiamente dichos se estudia también a los esteroides, terpenos y carotenoides.

Los lípidos son constituyentes fundamentales de las células vivas. En las células, tanto vegetales como animales, ciertos lípidos cumplen una función de reserva energética. En las semillas de las plantas, por ejemplo, existen proporciones elevadas. Las grasas neutras, o triglicéridos, poseen un valor calórico muy elevado (9 kcal.g^{-1}), son bastante inertes y pueden almacenarse, por ello en forma de gotitas intracelulares. En

consecuencia presentan características óptimas para tal función.

Además, otros lípidos, como los fosfolípidos, son anfóteros y presentan afinidad con grupos polares y no polares. Forman parte de las membranas intracelulares y extracelulares, y en ellas forman asociaciones con las proteínas llamadas lipoproteínas. Estas lipoproteínas deben tener propiedades fisicoquímicas específicas para que puedan cumplirse adecuadamente los procesos fisiológicos celulares. En consecuencia, las características de estos lípidos deben ser las apropiadas para esas funciones.

Los vegetales son organismos autótrofos y, por tanto, son capaces de formar sus lípidos. Sintetizan sus ácidos grasos y con ellos forman sus propios lípidos. Estos procesos son realizados por enzimas específicas y son regulados por las células.

Existe gran variedad de ácidos grasos en los vegetales, pero normalmente tienen una cadena lineal y un número par de carbonos. Los principales están señalados en el cuadro I.

Cuadro 1. Ácidos grasos vegetales importantes.

	Denominación			Distribución
	Sistemática	Vulgar	Abreviada	
Ácidos Saturados	n Etanoico	Acético	2:0	Unidad biosintética.
	n Dodecanoico	Láurico	12:0	Gran distribución; componente mayor en algunas semillas.
	n Tetradecanoico	Mirístico	14:0	Gran distribución; componente mayor en algunas semillas.
	n Hexadecanoico	Palmitico	16:0	Gran distribución; componente mayor.
	n Octadecanoico	Estearico	18:0	Gran distribución; componente mayor.
	n Eicosanoico	Araquídico	20:0	Gran distribución; ocasionalmente componente mayor.
	n Docosanoico	Behénico	22:0	Gran distribución como componente menor en semillas.
	n Tetracosanoico	Lignocérico	24:0	Gran distribución como componente menor en semillas.
	n Hexacosanoico	Cerótico	26:0	En ceras.
	n Octacosanoico	Montánico	28:0	En ceras.
Ácidos no saturados	trans hexadeca-3-enoico		trans Δ 3-16:1	En hojas. Algas.
	cis hexadeca-7-enoico		cis Δ 7-16:1	Plantas superiores. Algas.
	cis hexadeca-9-enoico	Palmitoleico	cis Δ 9-16:1	Gran distribución; componente mayor en algunas semillas.
	cis octadeca-9-enoico	Oleico	cis Δ 9-18:1	El más común.
	cis, cis hexadeca-7,10, dienoico		cis Δ 7,10 -16:2	Plantas superiores. Algas.
	cis, cis octadeca-9,12 dienoico	Linoleico	cis Δ 9,12-18:2	Componente mayor.
	todo cis hexadeca-7,10,13 trienoico		cis Δ 7,10,13-16:3	Plantas superiores. Algas.
	todo cis octadeca-9,12,15 trienoico	α Linolénico	cis Δ 9,12,15-18:3	Plantas superiores. Algas.
	cis, trans, trans, octadeca-9,11,13 trienoico	α Eleosteárico	cis, trans, trans Δ 9,11,13-18:3	En semillas de <i>Aleurites</i> .
	todo cis-hexadeca-4,7,10,13-tetraenoico		cis Δ 4,7,10,13-16:3	<i>Euglena gracilis</i> .
Ácidos hidroxil	12 hidroxil octadeca-9-enoico	Ricínoleico	12 OH- Δ 9-18:1	En semillas de ricino.

	Denominación			Distribución
	Sistemática	Vulgar	Abreviada	
Ácidos cíclicos	8-(2 octil ciclopropanil) octanoico	Dihidroester-cúlico		En malváceas y esterculiáceas.
	8-(2 octil ciclopropenil) octanoico			
	13-(2-ciclopentenil) tridecanoico	Chaulmúgrico		En Chaulmugra.

Nota: En la nomenclatura abreviada de los ácidos grasos se indica el número de carbonos seguido por el número de dobles ligaduras, separados por dos puntos. La posición de las dobles ligaduras se expresa al principio y se indica por el número de carbonos que las separa del carboxilo. Así, por ejemplo, el linoleico o ácido octadeca 6,9-dienoico se abrevia 6,9-18:2.

ACTIVACION DE LOS ACIDOS GRASOS

Tanto para los procesos de síntesis como para los de oxidación, los ácidos deben activarse previamente. La activa-

ción consiste en la formación de un tioéster del ácido graso, ya sea con un nucleótido, la coenzima A, o con una proteína pequeña, conocida como proteína transportadora de grupos acilo (ACP). Esta proteína fue descubierta por Vagelos en *E. coli*. Stumpf (1968)

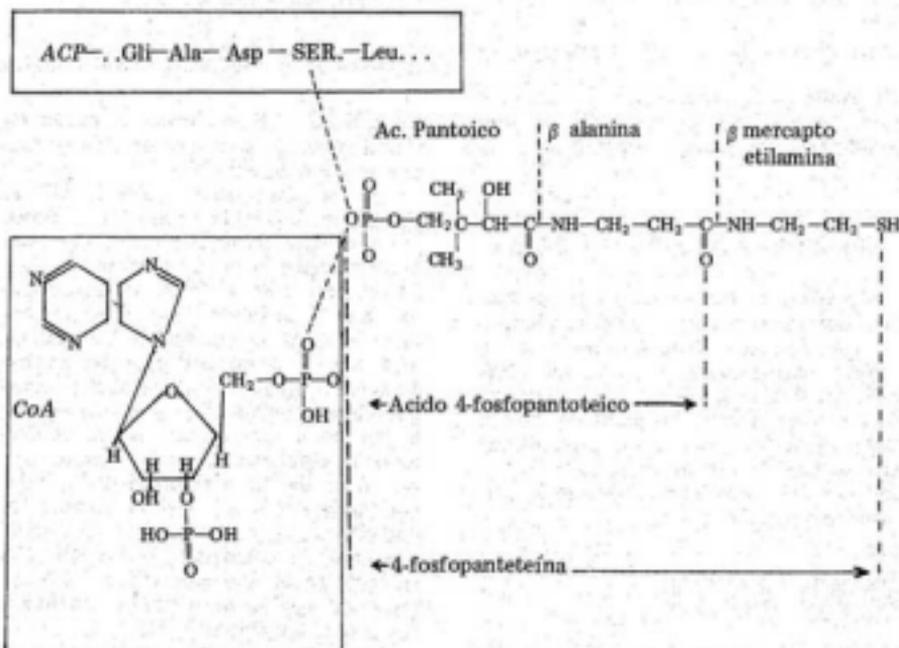
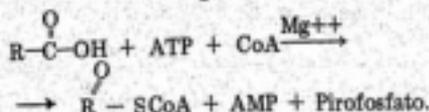


Figura 68. Similitud de la estructura de la proteína transportadora de grupos acilo (ACP) y de la coenzima A.

encontró proteínas similares en vegetales. La activación del ácido graso cumple dos objetivos: uno, formar una unión de alta energía que es la unión tioéster; el otro, solubilizar el ácido graso. Tanto la CoA como el ACP tienen una estructura similar en la parte de la molécula que reacciona con el ácido graso. Esta parte está constituida por 4 fosfopanteteína, que deriva a su vez de una vitamina, el ácido pantoténico unido a la β -mercaptoetanolamina (fig. 68). El ácido se une con el SH y da un tioéster.

La síntesis de la acil-CoA se produce por acción de las enzimas denominadas tioquinasas, que tienen especificidades diferentes según el ácido que deben activar. La síntesis requiere aporte de energía suministrada por ATP, y la presencia de iones Mg.



La síntesis de la acil-ACP se produce por transferencia de ACP a una acil-CoA y por enzimas específicas.

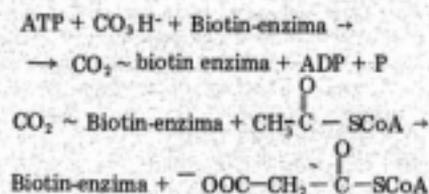
BIOSÍNTESIS DE ÁCIDOS GRASOS

En la biosíntesis de ácidos grasos hay que distinguir dos tipos de mecanismos: los que conducen a la formación de la cadena hidrocarbonada y los que forman las dobles ligaduras. En la síntesis de los ácidos grasos saturados de cadena larga rigen únicamente los mecanismos que forman la cadena hidrocarbonada y son comunes para microorganismos, animales y vegetales.

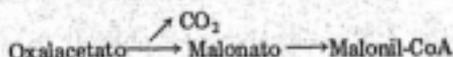
SÍNTESIS DE ÁCIDOS GRASOS SATURADOS

La vía principal de síntesis *de novo* se produce en los vegetales por condensaciones sucesivas de unidades malo-

nil-ACP y no por la inversa de la β -oxidación. La formación de malonil ACP requiere primero la formación de malonil CoA, que se produce por carboxilación de la acil-CoA por medio de una acil-CoA carboxilasa. La acil-CoA carboxilasa es una enzima alostérica que contiene biotina. La biotina desempeña un papel fundamental en el proceso de la fijación del anhídrido carbónico.



En vegetales también se ha demostrado que existe un camino alternativo que consiste en la activación del malonato que deriva del oxalacetato.



La malonil-ACP se forma a partir de malonil-CoA en presencia de ACP y una malonil transacilasa.

Una vez formada la malonil ACP, la síntesis de los ácidos grasos se produce por una serie de reacciones que se repiten cíclicamente de tal manera que luego de cada ciclo se forma un ácido graso con 2 carbonos más. La primera reacción es la condensación del malonil ACP con un acetil-ACP para dar acetacetil-ACP. Esta es una reacción clave porque desprende CO_2 y con ello, por la ley de acción de las masas, se desplaza el equilibrio hacia la síntesis. Una vez formada la acetacetil-ACP, sufre una serie de reacciones de reducción, deshidratación y nuevamente de reducción que la convierten en butiril-ACP, es decir en el derivado activo del ácido graso de cuatro carbonos denominado ácido butírico (véase la fig. 69).

Este compuesto de cuatro carbonos, por condensaciones sucesivas de nuevas moléculas de malonil-ACP y por medio

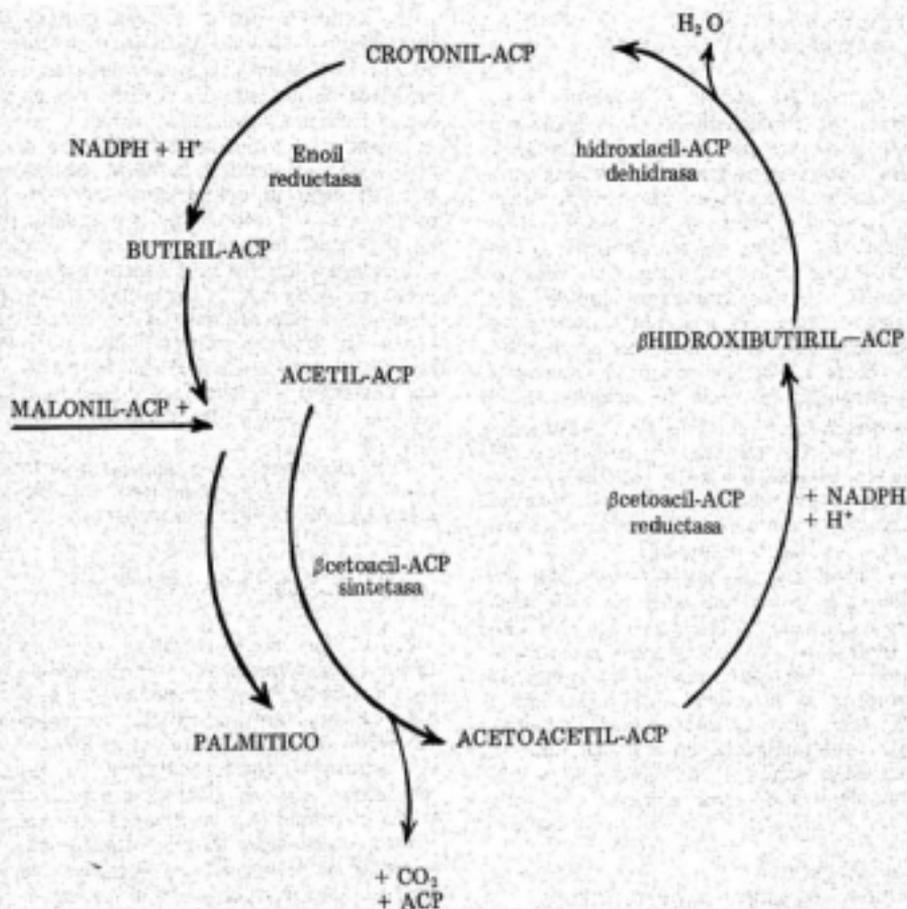


Figura 69. Espiral de la biosíntesis de ácidos grasos saturados.

de las mismas reacciones intermedias, se transforma en ácidos pares de mayor peso molecular: láurico, mirístico, palmítico y esteárico. Este mecanismo, como se observa, utiliza los sustratos unidos a ACP y las enzimas son solubles y separables (Brooks y col. 1966). Presenta sólo diferencias mínimas con el mecanismo estudiado por Lynen en la

levadura, el que funciona también en los animales. La diferencia fundamental de este último sistema es su mayor organización, dado que todas las enzimas componentes forman parte de una multienzima llamada sintetasa, a la que se une la malonil-CoA para dar malonil-enzima.

SINTESIS DE ACIDOS GRASOS NO SATURADOS

Los ácidos grasos no saturados vegetales son fundamentalmente etilénicos y de estructura *cis*. En los polietilénicos, las dobles ligaduras están generalmente ubicadas entre sí en posición *divinílica* y ocupan lugares determinados en la molécula. Como excepción hay que señalar los ácidos acetilénicos, como el ácido tarírico (octadeca-6-inoico) del género *Pricamnia*, los ácidos *trans* y los ácidos con dobles ligaduras conjugadas.

Entre los ácidos con dobles ligaduras conjugadas, el más importante es el α -eleosteárico (octadeca-9,11,13-trienoico) de las semillas de *Aleurites*. El ácido eleosteárico tiene tres dobles ligaduras conjugadas que lo hacen extremadamente reactivo y sensible a la oxidación. La luz lo polimeriza.

Al estudiar la biosíntesis de los ácidos grasos no saturados nos referimos especialmente a los etilénicos. La biosíntesis de los ácidos grasos no saturados requiere dos tipos de reacciones: la síntesis de la cadena hidrocarbonada y la formación de las dobles ligaduras. Hay que distinguir, sin embargo, una diferencia, según se sintetizan ácidos monoetilénicos o polietilénicos.

BIOSINTESIS DE ACIDOS GRASOS MONOETILENICOS

Existen varios mecanismos y caminos para la biosíntesis de los ácidos grasos monoetilénicos. Algunos de éstos son comunes en los vegetales, animales y microorganismos, pero otros son específicos. Los dos mecanismos fundamentales son el anaeróbico y el aeróbico, y en ninguno de ellos se emplean dehidrogenasas.

Mecanismo anaeróbico

Está poco difundido en la naturaleza y sólo algunas bacterias lo poseen. Fue descubierto por Bloch y col. (1961).

Es producido por un sistema enzimático soluble. Por este mecanismo se sintetizan los ácidos grasos por agregados sucesivos de unidades de 2 carbonos, en forma similar a los ácidos saturados; pero cuando se forma ácido octanoico o decanoico, el β -hidroxiderivado respectivo, en lugar de deshidratarse entre los carbonos α y β (como lo hace la síntesis), se deshidrata entre los β y γ .

La doble ligadura así formada permanece en todos los pasos posteriores, y al agregarse nuevas unidades de dos carbonos se produce ya sea ácido vaccénico (octadeca-11-enoico), si se partió del octanoico, u oleico (octadeca-9-enoico), si se partió del decanoico (fig. 70).

Este mecanismo, que fue descubierto en *C. butyricum* y *C. kluyveri*, ha sido luego hallado en otras *Eubacteriales*.

Mecanismo aeróbico

En el mecanismo aeróbico, que es mucho más importante, la presencia de O_2 molecular es fundamental y, además, se requieren coenzimas reducidas NADH o NADPH. Actúa sobre los ácidos saturados correspondientes. Es un mecanismo que en el proceso evolutivo se ha mantenido en las diversas especies y que se encuentra en microorganismos, vegetales y animales. Las enzimas que produce esta reacción podrían ser englobadas dentro de las llamadas oxigenasas de función mixta. Dentro del esquema general de la reacción, sin embargo, se han demostrado variantes.

Sistema I: En el sistema I, la formación de la doble ligadura se produce por la desaturación oxidativa de un acil-CoA. Por ejemplo, la esteiril-CoA es convertida en oleil-CoA por una enzima denominada desaturasa, unida a partículas subcelulares, en presencia de O_2 y NADH. Este mecanismo funciona en la gran mayoría de las bacterias, protistas, animales y plantas. Los componentes de la reacción han sido bastante estudiados

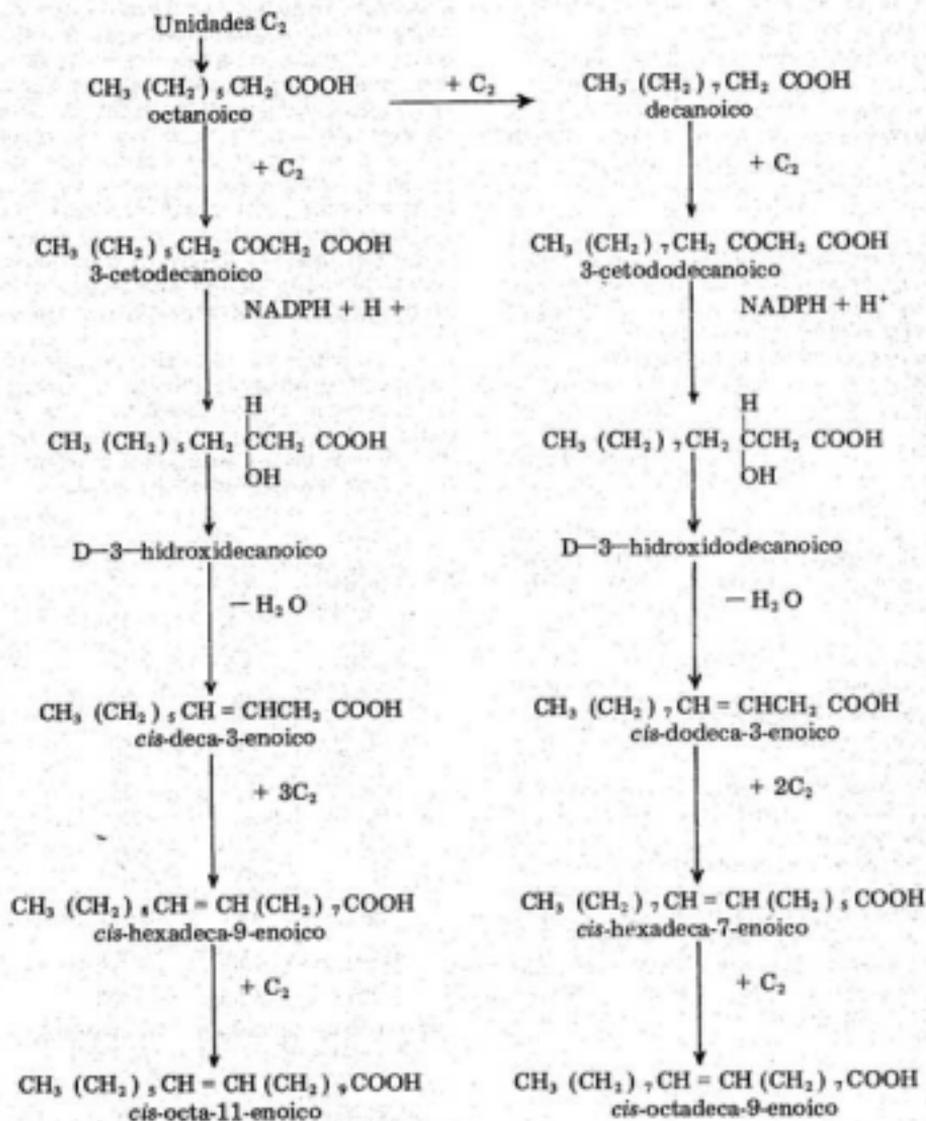
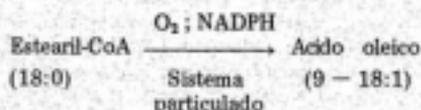
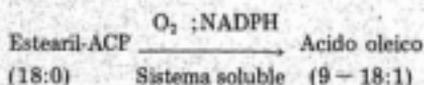


Figura 70. Biosíntesis anaerobia de ácidos grasos monoetilénicos.

en animales, pero no en plantas. Además de la desaturasa actúa un NADH citocromo reductasa, un citocromo y un compuesto de hierro inhibido por CN⁻.



Sistema II: Estudiado originalmente por Nagai y Bloch (1965) en cultivos estrictamente fotosintéticos de *Euglena gracilis*, parece ser exclusivo de los vegetales. La desaturación oxidativa es producida por una enzima soluble directamente sobre un ácido graso saturado unido a ACP. Por ejemplo, la estearil-ACP se convierte en oleil-ACP en presencia de O₂, NADPH y una proteína que contiene hierro de bajo potencial redox, denominada ferredoxina. En la reacción intervienen además dos enzimas, la desaturasa y una NADPH oxidasa.



Por más que existen en los vegetales otros ácidos monoetilénicos de 18 carbonos, diferentes del oleico, es decir que no tienen la doble ligadura ubicada entre los carbonos 9-10, es este ácido el que predomina tanto en el reino vegetal como animal. Ello se debe a que la desaturasa oxidativa que lo forma tiene una estructura que cataliza preferentemente la separación de esos hidrógenos.

BIOSINTESIS DE ACIDOS GRASOS POLIETILENICOS

Excepción hecha de las bacterias, todos los organismos son capaces de introducir más de una doble ligadura en

la cadena hidrocarbonada de los ácidos grasos. Sin embargo, las enzimas que introducen la segunda, tercera, cuarta, quinta y hasta la sexta doble ligadura han sufrido modificaciones y adaptaciones, a lo largo de la evolución, que han llegado a diferenciar netamente el mecanismo vegetal del animal. En los protistas, tanto vegetales como animales (*Ochromonas*, *Amoebas*, etcétera), es decir en los organismos poco evolucionados en que la diferenciación entre animal y vegetal no es clara, es posible hallar simultáneamente ambos mecanismos.

El mecanismo vegetal consiste en introducir progresivamente la segunda y las siguientes dobles ligaduras entre la primera doble ligadura y el grupo metilo. El mecanismo animal las introduce en la dirección del grupo carboxilo.

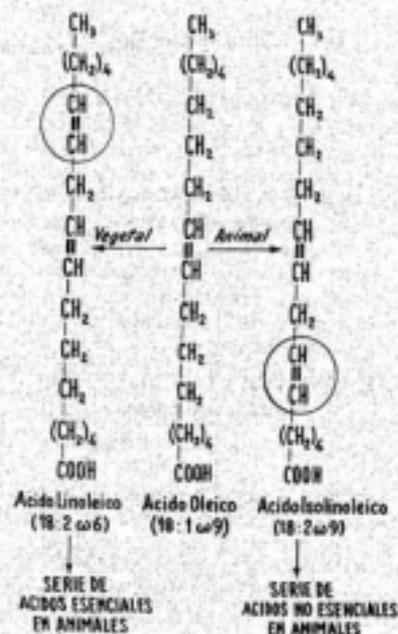


Figura 71. Reacciones de desaturación animal y vegetal.

Es decir, un vegetal desatura al ácido oleico (octadeca-9-enoico) a linoleico (octadeca-9,12-dienoico) y luego a α -linoléico (octadeca-9, 12, 15-trienoico). Un animal desatura el oleico a isolinoleico (octadeca-6, 9-dienoico), pero es incapaz de formar linoleico (véase la fig. 71).

En consecuencia, un animal recibe en sus alimentos el ácido linoleico sintetizado por los vegetales. Recibido el ácido linoleico, el animal lo convierte en γ linoléico, araquidónico y otros ácidos de esa familia al desaturarlo en dirección al COOH. El linoleico es un ácido esencial para los animales, y sus productos γ linoléico y araquidónico fueron considerados ácidos típicos del reino animal por mucho tiempo.

Sin embargo, en *Euglena* y otros protistas existen ambos mecanismos desaturantes; y se ha podido demostrar que, en condiciones fotoauxotróficas, predomina el mecanismo vegetal, y que en las células heterotróficas es muy activo el mecanismo animal (fig. 72).

Es por ello que en los lípidos de *Euglena* se encuentra ácido araquidónico y eicosapentaenoico, que son ácidos grasos típicos de los animales, juntamente

con el linoleico y el linoléico, que son típicamente vegetales.

Los ácidos animales se encuentran en los fosfolípidos (lecitina), localizados en las membranas de la célula y en la membrana externa de los plástidos no diferenciados de *Euglena* heterotrófica. El α -linoléico típicamente vegetal, por el contrario, se ha podido demostrar que se acumula tanto en *Euglena* como en mutantes de *Scenedesmus* y aun en las hojas de los vegetales superiores cuando funciona activamente la fotosíntesis. El α -linoléico se localiza casi exclusivamente en los cloroplastos y constituye los galactolípidos y sulfolípidos. Es necesario señalar que, si las *Euglena* heterotróficas son iluminadas, los cloroplastos comienzan a desarrollarse y aparecen primero los sulfolípidos, luego la clorofila y sólo después los galactolípidos. Por el contrario, la adaptación de una forma fotosintética a una heterotrófica conduce a un reemplazo de galactolípidos, sulfolípidos y diglicéridos por fosfolípidos.

El mecanismo de formación de las dobles ligaduras de los ácidos polietilénicos es similar al de los ácidos monoetilénicos. Es decir que se producen por

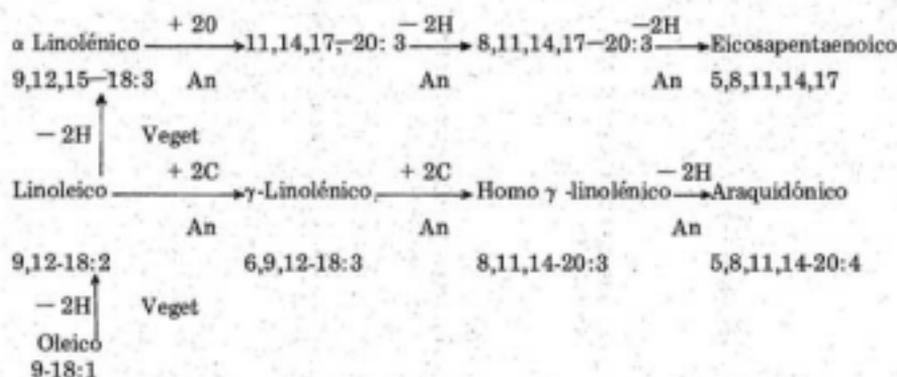


Figura 72. Mecanismos biosintéticos vegetal y animal en *Euglena* (según Erwin, 1968).

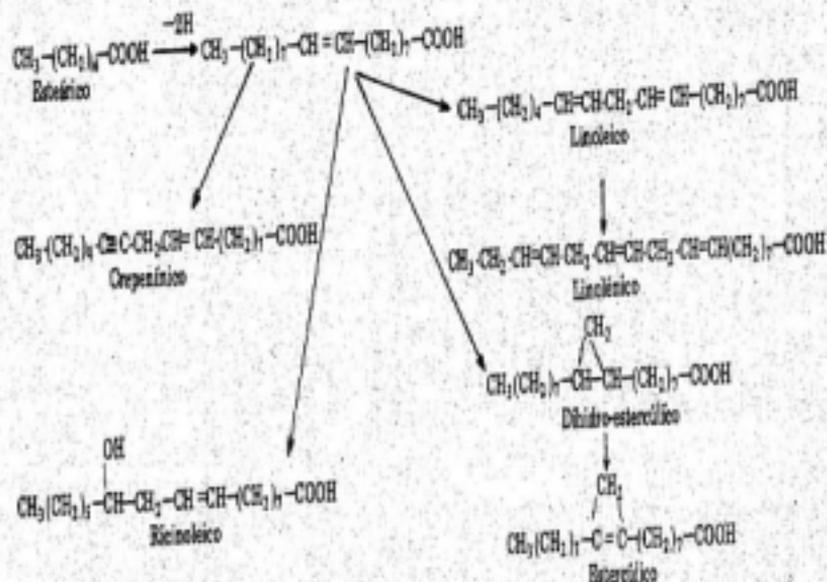


Figura 73. Biosíntesis de ácidos grasos a partir del oleico.

una desaturación oxidativa y se requiere similarmente O_2 y NADH o NADPH. El ácido está unido al ACP. Gurr (1971), sin embargo, ha sugerido, fundándose en estudios realizados en el alga *Chlorella*, que en éste y otros organismos se sintetizaría ácido linoleico a partir de un ácido oleico unido a un lípido.

BIOSINTESIS DE ACIDOS GRASOS ESPECIALES

Como ya se señaló anteriormente, los ácidos grasos saturados, cis monoetilénicos y polietilénicos con las dobles ligaduras interrumpidas por un metileno, son los constituyentes comunes de los vegetales. Sin embargo, en algunas familias o especies se han hallado ácidos grasos específicos con estructura anormal.

Estos ácidos raros se encuentran en las semillas formando parte de triglicéridos, es decir lípidos neutros, y no en los lípidos fisiológicamente activos de las membranas celulares de las hojas como son los fosfolípidos y los galactolípidos. Por ejemplo, se han hallado los ácidos cíclicos chaulmúgrico e hidnocárpico en el aceite de chaulmugra; los ácidos hidroxilados, como el ricinoleico, en las semillas de *Ricinus communis*, y los ácidos con estructura conjugada, como el eleosteárico, en semillas de *Aleurites*.

También se ha aislado un ácido crepenínico con una doble y una triple ligadura (fig. 73), y hace poco despertaron interés los ácidos ciclopropénicos de las semillas de las Esterculiáceas. Estos ácidos, como el esterculico y el malvático, tienen una doble ligadura y un ciclo de tres carbonos (fig. 73).

La biosíntesis de muchos de estos ácidos se realiza a partir del ácido oleico, que se comporta como intermediario fundamental y, en consecuencia, cumple una función clave en el metabolismo vegetal (fig. 73).

Por ejemplo, la biosíntesis del ácido ricinoleico (D-12-hidroxioléico), que constituye el 90% de los triglicéridos del aceite de ricino, se realiza en las semillas de esa planta a partir de oleil-CoA. La hidroxilación se produce en el carbono 12 en presencia de oxígeno molecular, NADH y un compuesto que contiene hierro. La enzima tiene propiedades similares a las oxigenasas de función mixta que realizan las hidroxilaciones animales, pero no utiliza el Citocromo P 450, que es un citocromo microsomal específico para esas reacciones en los animales.

Por otra parte, si bien se conoce poco el mecanismo de síntesis de los ácidos con ciclos grandes, como los ácidos chaulmúgrico e hidnocárpico, se ha aclarado bastante bien la formación de los ciclos propánicos y propénicos. El ácido dihidroesterculico, que es un ácido ciclopropénico, se sintetiza en el *Clostridium butyricum* por metilación del ácido oleico. El grupo metilo es entregado, como ocurre generalmente en las metilaciones, por la forma activa de la metionina, es decir la adenosilmetionina. Se fija sobre la doble ligadura de un ácido oleico unido a fosfatidiletanolamina. Estas reacciones ocurren también en las familias de las plantas superiores *Malvaceae* y *esterculiáceas*. En estas familias abundan los ácidos malvático de 16 carbonos y esterculico de 18 carbonos, que poseen una doble ligadura entre los carbonos 9-10 del ciclo. El ácido esterculico se produce por desaturación del ácido dihidroesterculico (véase el cuadro 1 y la fig. 73).

SISTEMAS OXIDATIVOS DE LOS ACIDOS GRASOS

En forma opuesta al proceso de biosíntesis de ácidos grasos, en los vegetales se verifica el proceso catabólico de su oxidación y degradación a sustancias de menor magnitud molecular. Estos procesos degradativos tienen el fin

fundamental, por una parte de liberar la energía contenida en las moléculas de los ácidos grasos y producir ATP y emplearlo para sus necesidades vitales; y, por otra parte, producir moléculas pequeñas (por ejemplo, acetil CoA) que,

acopladas a otros sistemas sintéticos o ciclos, conducen a la formación de otras sustancias necesarias para el vegetal. El metabolismo de los ácidos grasos está integrado con los metabolismos de otras sustancias, y esa vinculación es

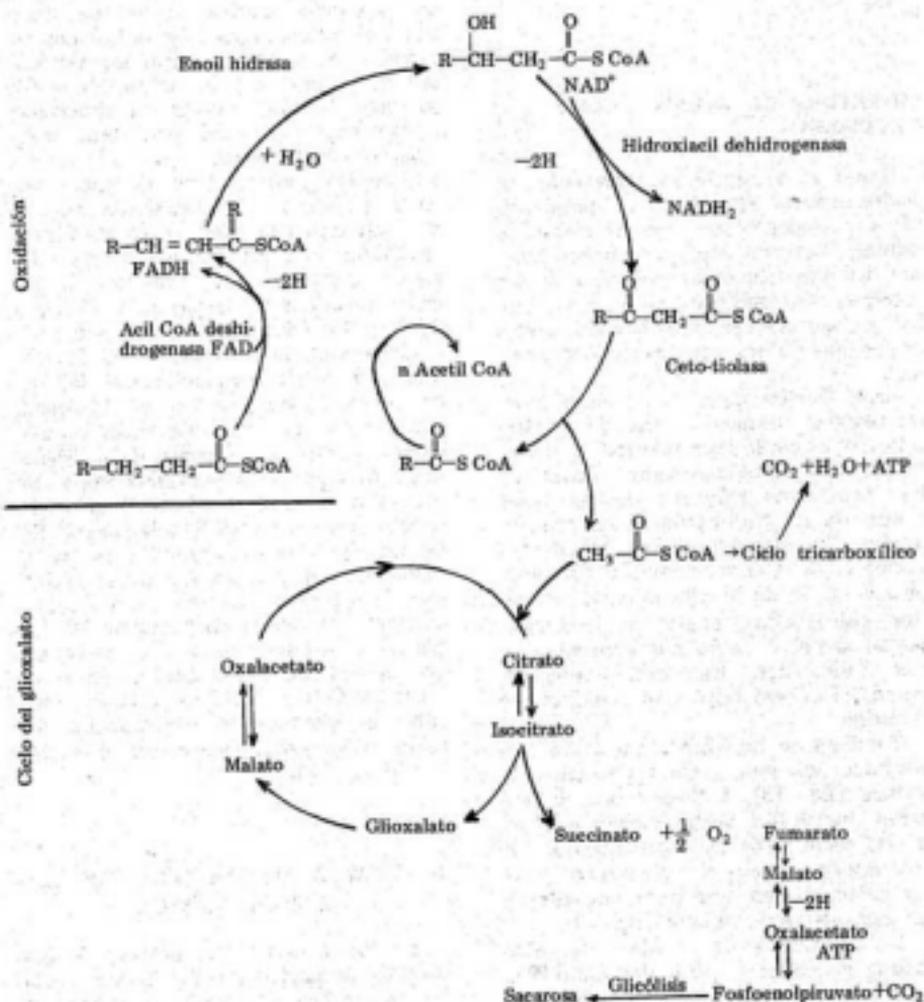


Figura 74. Acoplamiento de la β -oxidación al ciclo del glicoxalato.

tan estrecha que la modificación de aquéllos trae aparejada la de éstas y viceversa.

Los mecanismos oxidativos principales de los vegetales son: β -oxidación, α -oxidación y lipoxidación.

β -OXIDACION

Se ha demostrado que en las plantas superiores, existe la β -oxidación de los ácidos grasos como mecanismo degradativo y productor de energía. El mecanismo es similar al que ocurre en los animales (fig. 74). El ácido graso activado a acil-CoA se degrada a acetil-CoA en una serie de pasos. Una vez formada la acetil-CoA entra en el ciclo tricarbóxico de Krebs y se produce CO_2 , H_2O y energía (ATP).

Stumpf y Barber, utilizando cotiledones de semilla de maní en germinación, demostraron que la β -oxidación se produce, al igual que en los animales, en las mitocondrias. Existen evidencias, sin embargo, de que en otras semillas, como en las de ricino, una pequeña parte de la β -oxidación se produce en las mitocondrias, pero que la mayor parte se realiza en orgánulos muy frágiles llamados citosomas o glioxisomas. En estos glioxisomas, además de las enzimas de la β -oxidación se han hallado otras enzimas, como la malato sintetasa y la isocitrato liasa, que tienen un papel importante en el ciclo del glioxilato.

Este ciclo, acoplado a la β -oxidación, explicaría el mecanismo de la producción de sacarosa a partir de ácidos grasos que se observa en la germinación de las semillas ricas en aceite. En la figura 74 puede verse la integración de la β -oxidación con este ciclo.

α -OXIDACION

A pesar de que la β -oxidación es el mecanismo más importante para oxidar los ácidos grasos y producir energía,

existe otro mecanismo degradativo, descubierto por Newcomb y Stumpf en las plantas, que es la α -oxidación. En este proceso, a diferencia de la oxidación que va separando sucesivamente unidades de 2 carbonos de la molécula, se separa un solo carbono. En cada paso se desprende un grupo carboxílico bajo la forma de anhídrido carbónico, y el carbono contiguo se oxida formando un nuevo carboxilo. Algunos investigadores ingleses que trabajaron con hojas demostraron que los únicos cofactores necesarios para la reacción son O_2 y NAD, que en la reacción se produce un hidroxiderivado y que si falta NAD se acumula un aldehído en lugar de producirse un nuevo ácido. Un mecanismo bastante similar fue descubierto por Stumpf en los cotiledones de semillas de maní en proceso de germinación, y así demostró que en ellos es necesaria una peroxidasa para formar los aldehídos. El ciclo descubierto por Stumpf (1959) es el descrito en la figura 75.

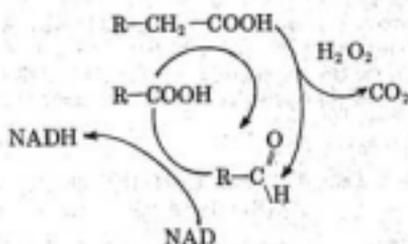


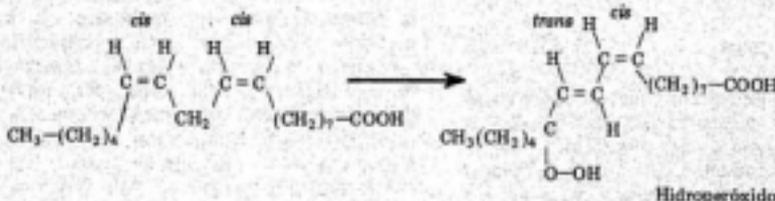
Figura 75. α oxidación de los ácidos grasos.

LIPOXIDACION

Se produce en las semillas. En las semillas de soja se ha aislado una lipoxidasa que cataliza la oxidación de ácidos grasos con dos dobles ligaduras *cis* en posición divinílica utilizando el

oxígeno molecular y produciendo un hidroperóxido conjugado *cis*, *trans*.

El ácido linoleico, el α -linoléico y otros ácidos similares son rápidamente atacados. La reacción para el linoleico se produce así:



La lipoxidación es inhibida por antioxidantes naturales y sintéticos. Por ejemplo, el tocoferol que se encuentra en las semillas inhibe la reacción, y en ellas tendría un papel importante a ese respecto.

La hidroquinona, el ácido nordihidroguayarántico de las jarillas (*Larrea divaricata*) y otros antioxidantes similares se utilizan para evitar la lipoxidación en los aceites de semilla. La función biológica de la lipoxidación no se conoce.

LIPIDOS QUE CONTIENEN ACIDOS GRASOS

Tanto en los animales como en los vegetales, los ácidos grasos libres existen en pequeña proporción. La mayoría de ellos están esterificados y forman parte de los lípidos. A éstos generalmente se los clasifica en neutros, o no polares, y polares (véase cuadro 2).

Los neutros están en su mayor parte representados por los triglicéridos (grasas o aceites), las ceras y los ésteres de esteroides. Entre los polares, el grupo polar puede ser un fosfato y una base en los fosfolípidos, un sulfato en los sulfolípidos, o un azúcar en los glicolípidos. La existencia de los grupos polares

incrementa la solubilidad en agua y la reactividad de la molécula. En la molécula de triglicéridos la mayor parte de los fosfolípidos así como el fosfatidil inositol y los glicósil glicéridos tienen en común una molécula de glicerol a la

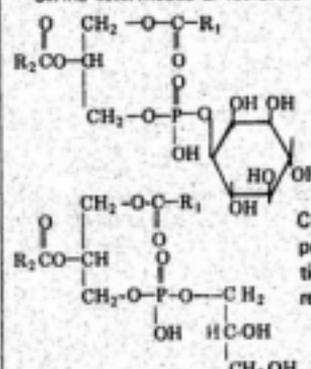
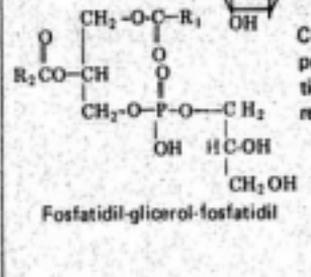
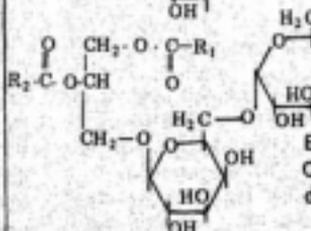
que están esterificados los ácidos grasos y su mecanismo de síntesis tiene por consiguiente pasos comunes.

En las plantas también existen esfingolípidos, es decir lípidos en los cuales el glicerol ha sido reemplazado por derivados de la esfingina. Además existen glicolípidos. Los glicolípidos son simplemente lípidos que contienen un azúcar. Por consiguiente, según tengan glicerol o derivados esfingos en su molécula, podrán ser clasificados como glicerolípidos o esfingolípidos. Es decir que existen superposiciones en la clasificación de los lípidos.

DISTRIBUCION Y FUNCIONES

Anteriormente ya se señalaron algunas propiedades de los diferentes lípidos, las cuales sin duda determinan las funciones que cumplirán en la célula vegetal. Mientras que a algunos de estos lípidos, como los triglicéridos, la fosfatidil colina, la etanolamina y la serina, se los encuentra en animales y vegetales en los que cumplen funciones similares, energéticas y estructurales respectivamente, otros son característicos de los vegetales.

Cuadro 2: Clases de lípidos.

		Lípido	Estructura y distribución
Glicerolípidos	Neutros	Triglicérido	Diferentes ácidos grasos esterificados a los tres grupos alcohólicos. Composición característica para cada familia; abundante en semillas.
	Fosfolípidos	Ácido fosfatídico	Intermediario en la síntesis de triglicéridos y glicerofosfátidos.
		Fosfatidil colina (lecitina).	Colina esterificada al fosfórico del ácido fosfatídico.
		Fosfatidil etanolamina (cefalina).	Etanolamina esterificada al fosfórico del ácido fosfatídico.
		Fosfatidil serina.	Serina esterificada al fosfórico del ácido fosfatídico.
		Fosfatidil inositol	
	Fosfátidos	Fosfatidil glicerol.	 <p>Componente muy importante y característico de plantas superiores y microorganismos.</p>
		Difosfatidil glicerol.	 <p>Fosfatidil-glicerol-fosfatidil</p> <p>Difosfatidil glicerol (cardiolipina) sólo existe en pequeñas cantidades.</p>
	Glicolípidos	Glicolípido glicéridos	Monogalactosil diglicérido
Digalactosil diglicérido.			 <p>En los cloroplastos. Contiene alta proporción de ácidos polietilénicos.</p>

glicero/lípidos	Glicosil glicéridos	Sulfoquinovosil diglicérido.	<p>En algas y hojas. La D quinovosa es 6-deoxi D-glucosa. El ácido sulfúrico está combinado con sulfona.</p>
Glicolípidos	Esfingolípidos	Glucocerebrósido.	<p>R = ácido graso de alto peso molecular. B = Fitoesfingosina (4-D-hidroxiestfingamina) puede ser reemplazada por la dehidro fitoesfingosina.</p>
		Fitoglicolípido.	<p>R=Ac. graso. Contiene inositol, manosa, ac. glucurónico, glucosamina, galactosa, arabinosa y fitoesfingosina.</p>
Clorolípidos		Clorosulfolípido.	<p>Lípido extremadamente raro. En las algas verdes. <i>Ochromonas danica</i>. Es el 11,15 diclorodocosano, 14 disulfato. Otros lípidos similares poseen hasta 6 Cl.</p>

Entre éstos debemos señalar los mono y digalactosil diglicéridos, los sulfolípidos y el fosfatidil glicerol. Estos lípidos forman parte de los cloroplastos y, específicamente, de las laminillas, y de allí su predominio en los vegetales. En los galactolípidos predominan los ácidos

no saturados y especialmente el α -linoléico, y es probable que este ácido esté involucrado en la liberación del oxígeno, pero no directamente. No cabe duda de que estos lípidos están relacionados con la estructuración del aparato fotosintético.

La lecitina parece estar en baja concentración en las estructuras laminares, y la fosfatidil etanolamina, fosfatidil serina, cardiolipina, cerebrósidos, glicéridos esteroleos y glicósidos de esteroleos aparentemente no se encuentran. En cambio están presentes en membranas no laminares. En ellas cumplen funciones también estructurales.

BIOSINTESIS DE LIPIDOS QUE CONTIENEN ACIDOS GRASOS

El mecanismo de la biosíntesis de novo de los lípidos que contienen glicerol en su molécula fue dilucidado recientemente, debido sobre todo a las investigaciones realizadas por Kennedy. Kennedy demostró que los primeros pasos de esta biosíntesis se realizan a partir del glicerol fosfato que se acila en los carbonos 1 y 2 convirtiéndose en ácido fosfatídico. El ácido fosfatídico pierde el fosfato por acción de una fosfatasa y se convierte en un diglicérido, que es el punto de partida para la síntesis de triglicéridos y glicerofosfátidos (véase la fig. 76). El glicerol fosfato puede formarse ya sea por fosforilación directa del glicerol o, más comúnmente, como producto colateral de la glicólisis anaeróbica de los azúcares por reducción de la dihidroxiacetona fosfato. Ello señala un nexo de unión entre el metabolismo de los hidratos de carbono y los lípidos.

El papel central del diglicérido en la síntesis de fosfolípidos ha sido bien comprobado en animales y está bien señalado en la figura 76, donde se demuestra que los tres glicerofosfátidos de colina, etanol amina y serina derivan directa o indirectamente de él. Las bases colina y etanol amina deben activarse previamente uniéndose al citidinadifosfato. Una transferasa los transfiere luego al diglicérido. Sin embargo, estas reacciones comunes en animales no han sido comprobadas en vegetales. La fosfatidil serina en los animales deriva de

la fosfatidil etanolamina por intercambio de bases, pero esto tampoco se ha comprobado aún en los vegetales. Esta reacción puede ser reversible en presencia de una decarboxilasa que, al eliminar el CO₂ de la fosfatidil serina, la reconvierte en fosfatidil etanolamina. Esta reacción se cumple en los vegetales. Además, la fosfatidil etanolamina puede ser metilada por la adenosil metionina y convertida en fosfatidil colina.

En resumen, si bien en los vegetales puede cumplirse, en consecuencia, la síntesis de los fosfátidos por unión del diglicérido con las bases activadas colina y etanolamina, esto no ha sido aún comprobado. En cambio se ha demostrado con bastante seguridad que se cumple un mecanismo que se verifica en las bacterias. Según este mecanismo, la fosfatidil serina se sintetiza por una condensación de la serina con el diglicérido activado por el citidina difosfato. La fosfatidil serina así formada se descarboxila a fosfatidil etanolamina y ésta se metila a fosfatidil colina. De esta manera, un fosfolípido puede convertirse en otro sin mayores modificaciones de los ácidos grasos que los componen. En los vegetales existen también fosfatidil inositol y fosfatidil glicerol. El fosfatidil glicerol es un componente muy importante de los cloroplastos. En los orgánulos fotosintéticos de *Chlorella vulgaris* se ha podido determinar que, curiosamente, este lípido posee un ácido completamente anormal de 16 carbonos y una doble ligadura *trans* en el carbono 3 (ácido *trans* hexadeca-3-enoico).

Tanto el fosfatidil inositol como el fosfatidil glicerol tienen un mecanismo sintético similar. En ambos, el citidina difosfato activa al glicerol fosfato y lo convierte en citidina difosfato diglicérido. Este compuesto activo, si transfiere el grupo fosfatidilo al inositol, da fosfatidil inositol; si en cambio reacciona con una nueva molécula de glicerol fosfato, da fosfatidil glicerol fosfato. El fosfatidil glicerol fosfato da fosfatidil glicerol al defosforilarse.

En los cloroplastos existen también

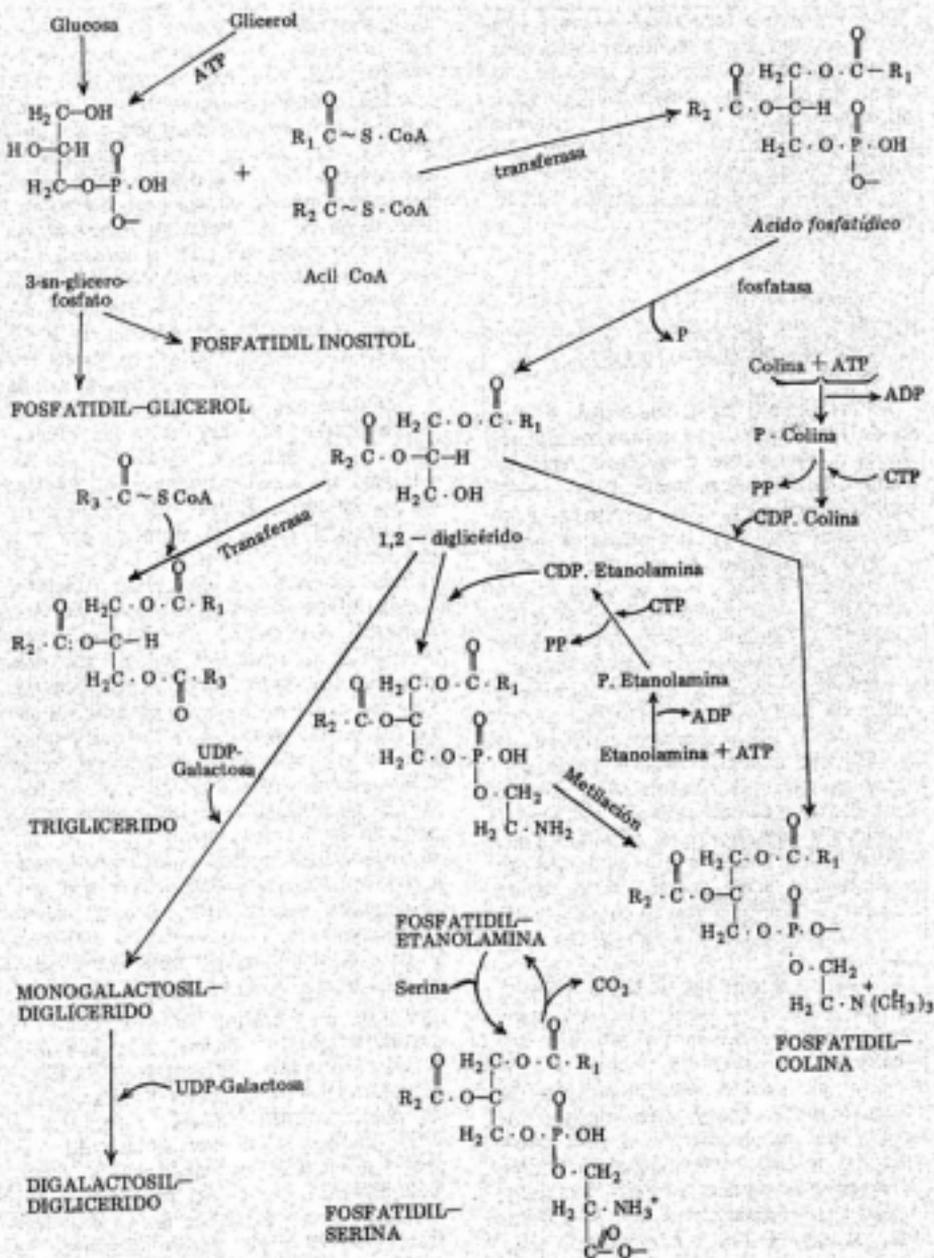


Figura 76. Biosíntesis de glicerolípidos.

galactolípidos, como los galactosil diglicéridos y el sulfoquinovosil diglicérido. La síntesis del monogalactosil y del digalactosil diglicérido se realiza por activación de la galactosa a uridín difosfato galactosa (UDP galactosa) que reacciona con el 1,2 diglicérido para dar un monogalactósido o un digalactósido, según el número de moléculas que intervienen (fig. 76).

El sulfoquinovosil diglicérido es un compuesto formado por la unión de una molécula de D-quinovosa (es una 6 desoxi D-glucosa) sulfonada en el carbono 6, con un diglicérido. El mecanismo de su biosíntesis no ha sido aún aclarado.

En lo que se refiere a la biosíntesis de los esfingolípidos vegetales, ésta ha sido muy poco estudiada.

DEGRADACION DE LOS LIPIDOS

Los tejidos de las hojas poseen una gran variedad de enzimas muy activas que hidrolizan los fosfolípidos y glicolípidos. Estas enzimas manifiestan su acción inmediatamente después que las hojas han sido rotas.

Entre las hidrolasas presentes en la hoja se encuentran las galactolipasas que hidrolizan galactolípidos. Se las detecta en el soluble celular y también en los cloroplastos. Deacilan rápidamente al lípido y dan galactosil glicerol y digalactosil glicerol. Estos son hidrolizados más lentamente por α y β galactosidasas y dan lugar a galactosa y glicerol.

En los vegetales abundan también las sulfolipasas que hidrolizan al sulfoquinovosil diglicérido. En *Scenedesmus* se ha hallado una sulfolipasa A que libera un ácido graso y produce un sulfoquinovosil diglicérido y una sulfolipasa B que lo convierte en sulfoquinovosil glicerol al liberar al segundo ácido graso.

La hidrólisis de los fosfolípidos es producida por una serie de enzimas asociadas con las hojas y otros tejidos. La fosfolipasa D (fosfatidil colina fosfátido hidrolasa) está ampliamente distribuida

y separa la base tanto de la lecitina como fosfatidil etanolamina, o serina formando ácido fosfatídico.

La fosfolipasa C también existe y puede separar directamente la fosforil colina de la lecitina dejando un diglicérido. Este diglicérido puede ser hidrolizado por una lipasa separando los ácidos grasos. También se ha podido demostrar la hidrólisis del ácido fosfatídico a glicerofosfato y ácidos grasos. Sin embargo, los detalles de la reacción no han sido aclarados con el cuidado que han merecido esas reacciones en los animales. De cualquier manera, los vegetales pueden hidrolizar sus lípidos. Los componentes así liberados, por ejemplo los ácidos grasos, pueden ser oxidados totalmente o nuevamente utilizados para sintetizar otros lípidos.

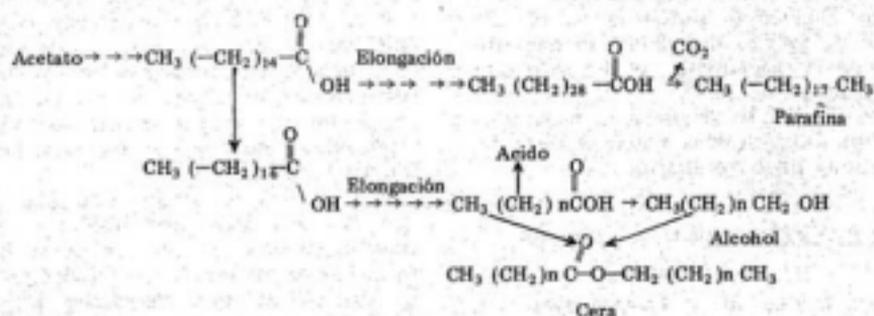
Eso explica el estado dinámico en que se encuentran los lípidos y las transformaciones de unos en otros. Ese recambio es favorecido por la existencia de transacasas que transfieren grupos acilo. Por ejemplo, una vez formado un lisofosfoglicérido puede ser convertido por acilación en un diacil fosfoglicérido. No solamente se puede transferir grupos acilos sino también grupos fosfatídicos completos. Yang (1967) ha demostrado la existencia de una transfosfatidilasa que transfiere el grupo fosfatídico de la lecitina a un aceptor que puede ser etanolamina, glicerol o serina. Por este mecanismo, la estructura ácida de la lecitina sería transferida a una etanol amina o serina, formando fosfatidil etanol amina o serina. El significado fisiológico preciso de esta reacción no se conoce aún, pero la implicación de ésta en la regulación de la composición de los lípidos es indudable.

CERAS

Estrictamente, una cera es un éster de ácidos grasos de cadena larga con monoalcoholes primarios, también de cadena larga. Sin embargo, en la práctica, estas sustancias —que recubren

hojas y tallos— van acompañadas de hidrocarburos de cadena larga y número impar, alcoholes libres y ácidos. Brenner y col. (1959) encontraron, por ejemplo, en la cera de hojas y tallos del retamo sanjuanino (*Bulnesia retama*) 19,8 % de hidrocarburos constituidos principalmente por n-hentriacontano (31 C) y n-nonacosano (29 C), así como ácidos libres nor-

males, ácidos hidroxilados, monoalcoholes, dioles y triterpenos, además de las ceras propiamente dichas. Los ácidos grasos constituyentes eran pares y tenían desde 14 a 34 carbonos. Los alcoholes tenían también entre 16 y 34 carbonos. En ambos predominaban los componentes de 30 y 32 carbonos.



Cuadro 3. Familia de isoprenoides.

Clase	Fórmula empírica	Distribución	Derivados oxigenados
Isopreno	C ₅ H ₈	No está libre en la naturaleza	Isopentenol pirofosfato
Monoterpenos	C ₁₀ H ₁₆	Aceites esenciales	Alcoholes, geraniol, aldehídos, cetonas.
Sesquiterpenos	C ₁₅ H ₂₄	Aceites esenciales reservas	Alcoholes (farnesol)
Diterpenos	C ₂₀ H ₃₂	Aceites esenciales reservas	Fitol, vitamina A
Triterpenos	C ₃₀ H ₄₈	Amplia distribución, ejemplo: Escualeno	Esteroles (C ₃₀) saponinas
Tetraterpenos	C ₄₀ H ₆₄	Carotenos	Xantofilas
Politerpenos	(C ₅ H ₈) _n	Caucho	Alcoholes poliprenoles

METABOLISMO DE TERPENOIDES

En las plantas existe un gran número de terpenoides, es decir sustancias producidas por la unión de unidades iso-

prénicas (C_5H_8). Este grupo incluye aceites esenciales, resinas, esteroides, carotenoides y caucho (fig. 77). Se acompaña el cuadro 3 para su mejor orientación, pues dada su gran amplitud es

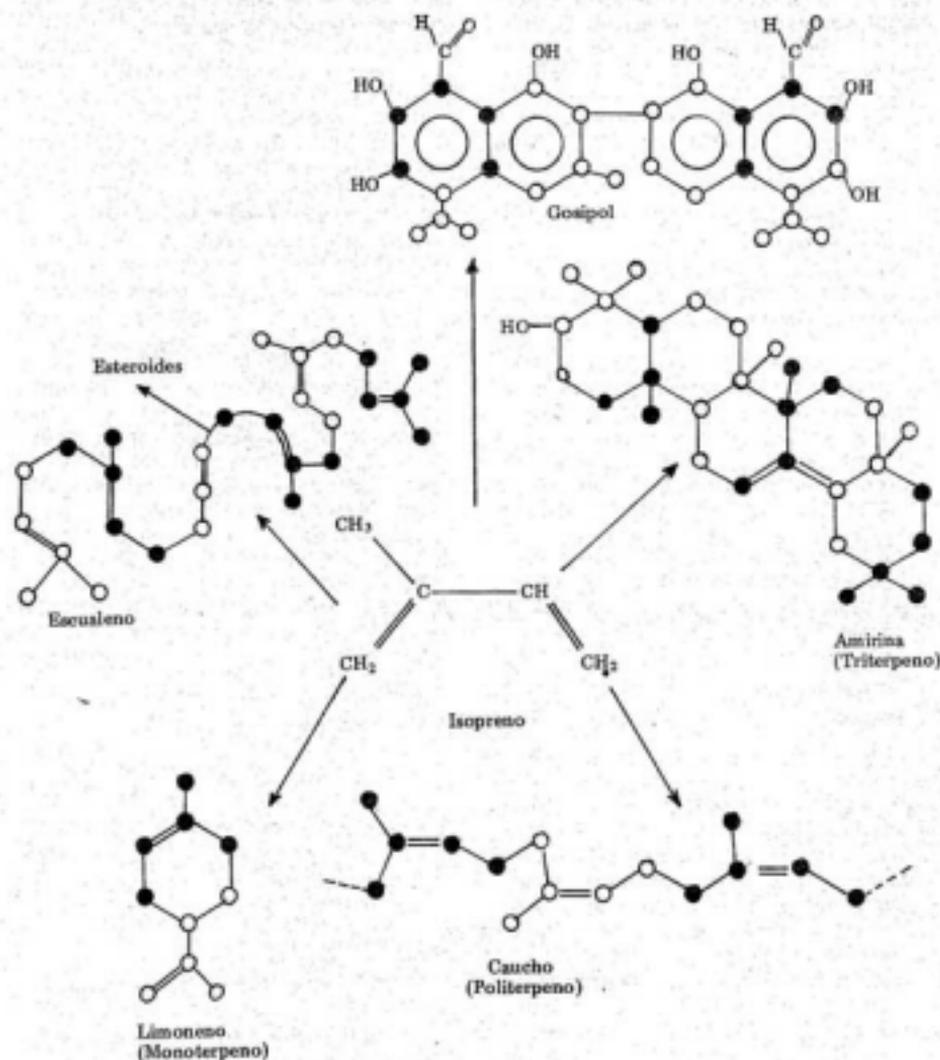


Figura 77. Relaciones estructurales de los terpenoides. La unidad isoprenica está indicada por círculos correspondientes.

imposible tratarlos en detalle. Por ello se recomienda, si se quiere mayor información, recurrir al artículo de Waller (1969).

La mayor parte de los terpenoides lineales o cíclicos se sintetizan por unión cabeza-cola de unidades isopré-

nicas. Existen, empero, algunas excepciones, como el escualeno, el gopiol y los carotenoides, que lo hacen cabeza a cabeza. Además, algunos terpenoides como los esteroides, las xantofilas etcétera, derivan de ellos por oxidación, reducción o descarboxilación.

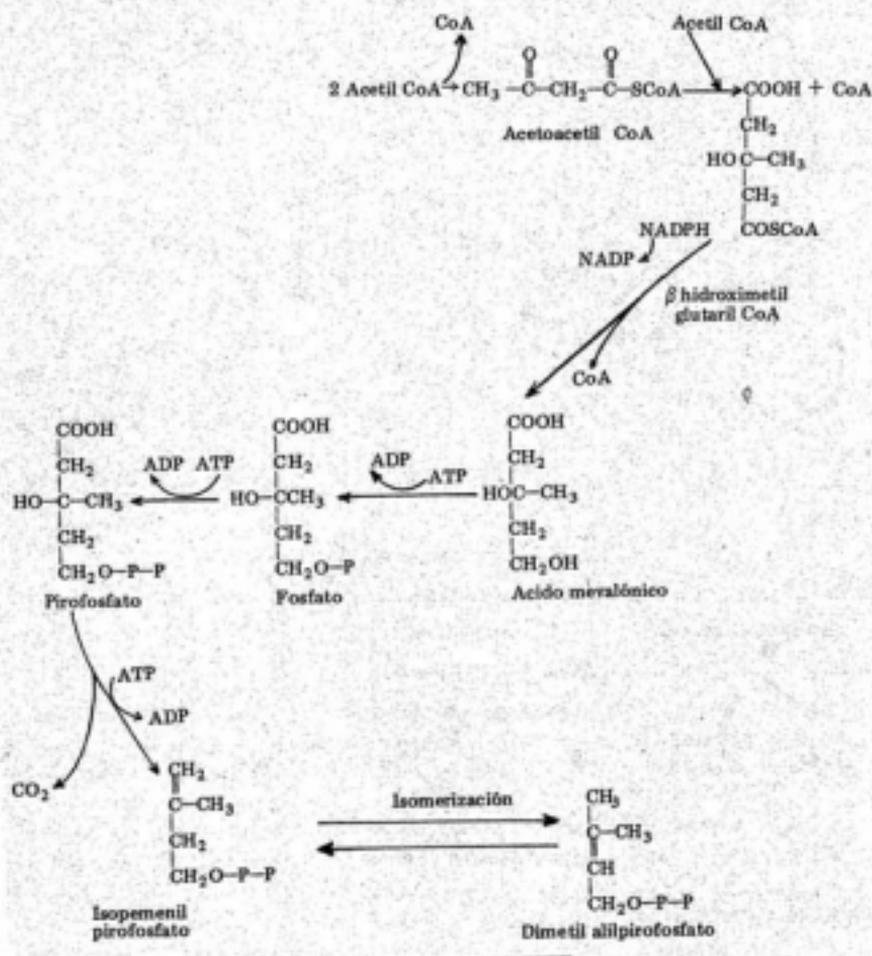


Figura 78. Formación de las unidades isoprenicas activas.

Biosíntesis

FORMACION DE UNIDADES ISOPRENICAS Y POLISOPRENICAS ACTIVAS

La biosíntesis de terpenoides requiere primero la formación de la unidad isoprenica activa que es el isopentenil pirofosfato. Esta se produce por vía de la síntesis del ácido mevalónico. Se forma a partir de acetil CoA pasando por acetacetil CoA y β -hidroxi β -metil glutaril CoA, según el mecanismo estudiado principalmente por Popjak, Lynen y Bloch, tanto en plantas como en levadura e hígado (véase la fig. 78). El isopentenil pirofosfato es activo por poseer la unión pirofosfato, y se isomeriza a dimetilalil pirofosfato. Ambas unidades isoprenicas pueden condensarse para dar geranyl pirofosfato, que tiene ahora 10 carbonos y es un terpeno activado. El geranyl pirofosfato más un isopentenil pirofosfato se convierte en un sesquiterpeno activado, el farnesil pirofosfato. El agregado de un nuevo isopentenil pirofosfato lo convierte en un geranyl geranyl pirofosfato, que es también activo (véase la fig. 79). Todos estos compuestos activados por el pirofosfato pueden perder los fósforos por una pirofosfatasa y dan terpenos con diferente grado de polimerización.

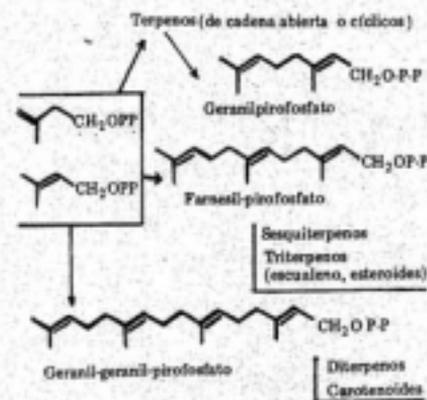


Figura 79. Camino de la biosíntesis de politerpenoides por unión cabeza-cola.

MONOTERPENOS

Del geranyl pirofosfato se forman monoterpenos de cadena abierta y sus alcoholes, aldehídos o cetonas, por ejemplo mirreno, cimeno, geraniol, nerol, citral, citronelol, etcétera, que aparecen en los aceites esenciales. También se formarían los monoterpenos monocíclicos como el terpineol, limoneno, etcétera, y los bicílicos como el borneol, α -pineno, tuyona, etcétera.

SESQUITERPENOS Y DITERPENOS

Los sesquiterpenos derivan del farnesil pirofosfato. Los sesquiterpenos farnesol, nerolidol, etcétera, se forman por esta vía.

Más interés han despertado, sin embargo, los diterpenos, dado que poseen actividades biológicas importantes. Algunos diterpenoides regulan el crecimiento de las plantas tal como sucede con los giberélicos. El ácido giberélico se forma a partir del geranyl geranyl pirofosfato y pasa por una serie de derivados del kaureno antes de convertirse en ácido giberélico. El fitol, que es el diterpenoide de la clorofila, también se forma, presumiblemente, del geranyl geranyl geraniol.

TRITERPENOS Y ESTEROIDES

Más importantes que los anteriores son los triterpenoides, que también se sintetizan del farnesil pirofosfato. Dos unidades farnesil se unen por la cabeza y dan el escualeno. Una de estas unidades previamente se isomeriza a nerolidol pirofosfato, que tiene la doble ligadura en posición dimetil alílica. El escualeno es el precursor de los esteroides vegetales y animales y de los triterpenoides. Del escualeno se forman fitoesteroides como el β -sitosterol (fig. 80), componente de algunas plantas.

Sin embargo, en fecha reciente también se ha podido demostrar que el colesterol, considerado hasta hace poco

como un esteroil exclusivamente animal, puede servir de precursor de las saponinas de *Digitalis lanata* y de la tomatidina del tomate, y convertirse en pregnenolona en *Haplopappus heterophyllus*. Ello demuestra el extraordinario estado dinámico en que se encuentran los triterpenoides de las plantas y la similitud de los mecanismos sintéticos con los de los animales.

TETRATERPENOS; CAROTENOIDES

Los carotenos son hidrocarburos tetraterpenoides y sus productos de oxidación son las xantofilas. Tienen gran importancia por ser precursores de las vitaminas A de los animales. El primer carotenoide que se sintetiza en los vegetales es el fitoeno y de él derivan los otros. Se forma por condensación de dos geranil geranil pirofosfato, como se demostró en los plástidos de la zanahoria.

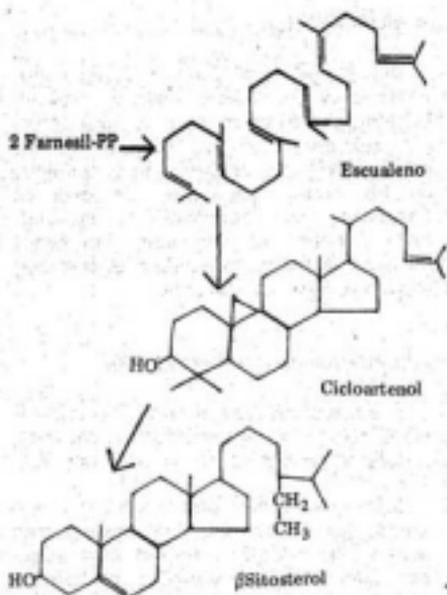


Figura 80. Biosíntesis del sitosterol.

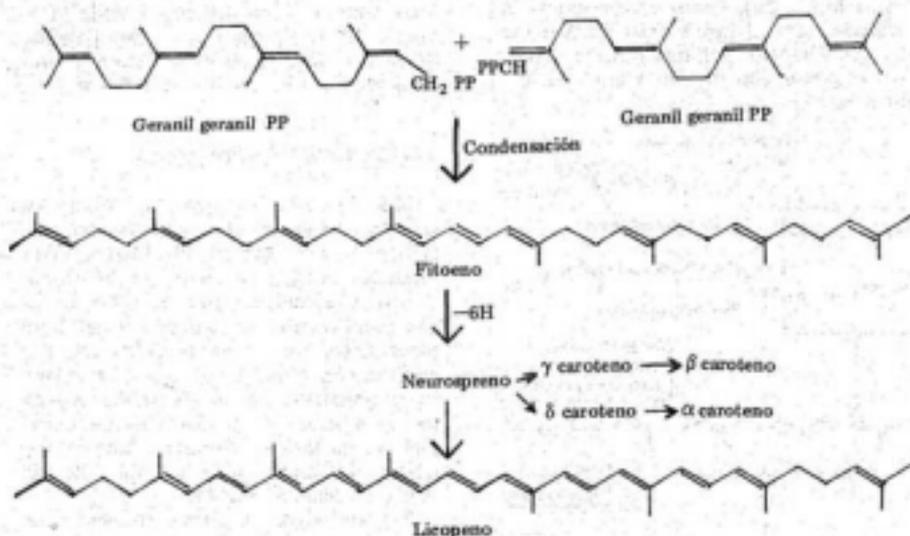


Figura 81. Biogénesis de los carotenoides.

El esquema de su síntesis está detallado en la figura 81.

CAUCHO

Se ha podido demostrar que en el látex de *Hevea brasiliensis* se encuentran presentes todas las enzimas necesarias para sintetizar el caucho. El caucho de esta planta está formado por un polímero de 500 a 5.000 unidades isoprénicas unidas linealmente, y se lo considera un cis hidrocarburo. Las enzimas conducen primero a la formación del isopentenil pirofosfato por el mecanismo ya señalado anteriormente, y luego la polimerización se realiza por uniones sucesivas de ese compuesto, de tal manera que la cadena se alarga progresivamente (fig. 82).

CATABOLISMO DE LOS TERPENOIDES

Es poco conocido, pero existe suficiente información para considerar que éstos no se acumulan meramente, sino que tienen actividad metabólica. En el caso de los giberélicos se ha demostrado que estimulan la división y la

elongación celular, y su síntesis parece ser controlada —por una inhibición *feed back*— por ciertos diterpenoides.

REGULACION DEL METABOLISMO DE LOS TERPENOIDES

A pesar de que existe aún mucha confusión sobre cómo se realiza el control del metabolismo de los terpenoides en las plantas, ya se tienen algunas ideas al respecto. Goodwin (1965) considera que el mecanismo regulatorio fundamental se basa en la ubicación de las enzimas dentro de la célula. Considera que, si bien las enzimas necesarias para las reacciones básicas están ubicadas tanto dentro como fuera del cloroplasto, en éste existen únicamente las enzimas específicas para producir los terpenoides cloroplásticos, mientras que afuera están las que sintetizan triterpenoides. Además, la membrana de los cloroplastos sería relativamente impermeable al mevalonato. La luz tiene un papel importante en este control dado que se ha demostrado que, al iluminar semillas germinadas, la utilización de los precursores primarios de los ter-

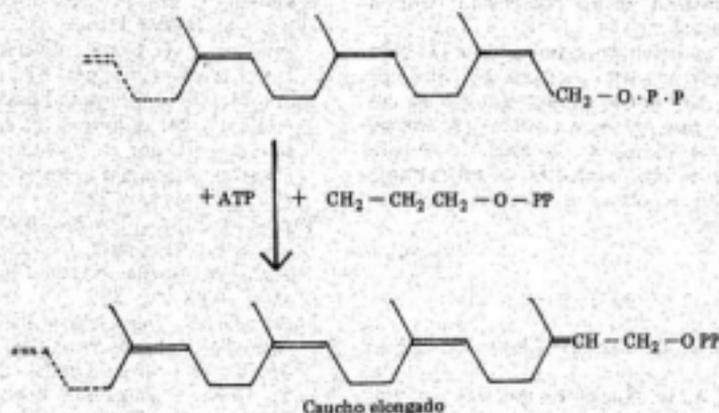


Figura 82. Formación de la cadena del caucho.

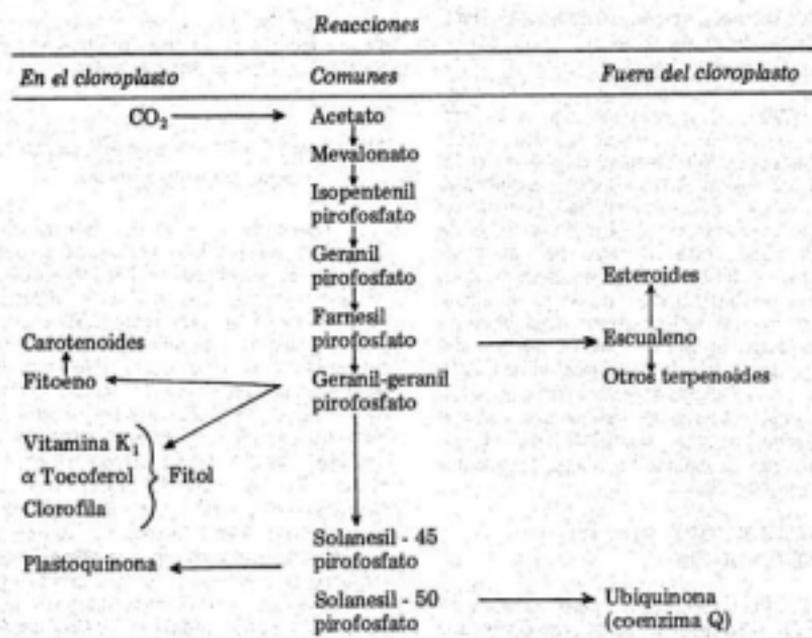


Figura 83. Separación compartimental de las enzimas que sintetizan terpenoides (según Goodwin, 1965).

penoides en lugar de convertirse en esteroides (triterpenoides) se desvían hacia la formación de los compuestos típicos del cloroplasto.

Un esquema de estos puntos de vista se puede ver en la figura 83. Sin embargo, hay varios puntos que no se conocen bien y que deben estudiarse, como el efecto de la edad, la movilización de una sustancia de un compartimiento a otro, el control genético, etcétera.

LECTURAS COMPLEMENTARIAS

Erwin, J. A.: "Lipid Metabolism". In: *The Biology of Euglena*, D. E. Buetow,

Academic Press Nueva York, 1968, vol. 2, pág. 143.

Goodwin, T. W.: In: *Biosynthetic Pathways in Higher Plants*, edit. por J. B. Pridham y T. Swain, Academic Press, Nueva York, 1965, pág. 57.

Kates, M.: "Plant Phospholipids and Glycolipids". In: *Advances in Lipids Research*, edit. por R. Paoletti y D. Kritchevsky, Academic Press, Nueva York, 1970, vol. 8, pág. 225.

Tappel, A. L.: In: *The Enzymes*, edit. por Eart. P. D. Boyer, H. Lardy y K. Myrback, Academic Press, Nueva York, 1963, vol 8, pág. 225.

Waller, G. R.: "Metabolism of Plant Terpenoids", In: *Progress in the Chemistry of Fats and other Lipids*, edit. por R. T. Holman, Pergamon Press, Oxford, 1969, vol. 10, 2ª parte, pág. 153.

CAPITULO VIII

BIOSINTESIS DE LAS HORMONAS

R. F. PONT LEZICA

GENERALIDADES

El estudio de la estructura química y de la actividad fisiológica de las hormonas naturales conduce a considerar que existen tres clases principales: auxinas, citocininas y giberelinas.

En los últimos años se han descubierto otros tipos de hormonas, como el ácido abscísico, que actúa principalmente como "inhibidor del crecimiento", además del etileno, que actúa en una serie de procesos fisiológicos. Asimismo no se excluye la posibilidad de que existan otros tipos de hormonas que no han sido aún aisladas o de cuya existencia sólo hay evidencia indirecta.

Los procesos metabólicos por los cuales las plantas sintetizan estos compuestos no están totalmente dilucidados. Nada se conoce sobre el mecanismo por el cual los vegetales pueden controlar su biosíntesis. Este es un aspecto fundamental, ya que permite la regulación del nivel de cada hormona y, por lo tanto, comprender una serie de fenómenos fisiológicos en los que ellas participan.

Considerando los precursores de cada tipo de hormona, existen básicamente tres grupos:

A) Las que tienen como precursores aminoácidos: auxinas y etileno.

B) Las que tienen como precursores isoprenoides: giberelinas y ácido abscísico.

C) Aquéllas cuyas moléculas están formadas por precursores de diferente origen, isoprenoide y purina: citocininas.

Para facilitar el estudio del camino biosintético de cada hormona, se analizarán estos tres grupos separadamente.

A) HORMONAS CUYOS PRECURSORES SON AMINOACIDOS, AUXINAS Y ETILENO

Si bien se han agrupado en esta sección las auxinas con el etileno, estas dos hormonas no tienen nada en común ni vías metabólicas similares que permitan predecir puntos de control, salvo que ambas son sintetizadas a partir de aminoácidos.

AUXINAS

El camino biosintético que lleva a la formación del ácido indolil 3-acético (AIA) no está totalmente aclarado. La evidencia experimental sugiere varias rutas probables a partir del aminoácido triptófano. Se ha sugerido que el anillo indólico del AIA no tiene por qué deri-

var necesariamente del triptófano, sino del indol, pero no existen pruebas serias al respecto. Se puede decir que sólo hay un acuerdo general para considerar al triptófano como el principal precursor del AIA, si no el único.

El triptófano, a su vez, puede ser sintetizado vía el ácido shiquímico y antranílico o provenir de la hidrólisis de proteínas que contienen triptófano.

En cuanto a las rutas por las que el triptófano puede ser convertido en AIA son varias y hay pruebas experimentales para todas, por lo que se deben considerar las siguientes posibilidades:

- a) que haya diferentes vías para la síntesis del AIA en especies distintas.
- b) que en una misma especie funcione más de una vía y que puedan ser distintas en diferentes partes de la misma planta o en diferentes estados del crecimiento y desarrollo de ella.

La figura 84 muestra dos de las vías más importantes por las que puede sintetizarse AIA. La que parece tener mayor importancia en las plantas es la que tiene ácido indol pirúvico (AIP) e indol-acetaldehído (IAAld) como intermediarios, es decir la que aparece marcada con flechas gruesas en la figura. Por esta vía, el triptófano pierde el grupo amino por transaminación (reacción 1 fig. 84), luego se descarboxila y finalmente es oxidado para dar AIA (reacciones 2 y 5). La última reacción es sumamente rápida, por lo que resulta generalmente difícil detectar IAAld. Las enzimas de esta vía han sido aisladas y parcialmente purificadas en plántulas de *Phaseolus aureus* y *Pisum sativum*.

Por la otra ruta, a través de las reacciones 3, 4 y 5 de la figura 84, el triptófano sufre primero una descarboxilación y luego una desaminación oxidativa. Esta última etapa es común para ambas vías. También se aislaron enzimas de este camino en ciertas plantas.

La regulación y control de la biosíntesis de auxinas es un punto importante

aún completamente desconocido. Sin duda, el primer paso sería aislar y purificar las enzimas que intervienen en las dos principales rutas de síntesis del AIA, y estudiar los posibles efectores alostéricos que puedan tener control por retroinhibición o retroactivación, etcétera, así como la posible influencia de otras hormonas en el control de la síntesis de auxinas. Hay algunas evidencias que indicarían que el ácido giberélico (GA_3) promueve la conversión de triptófano y triptamina en AIA, en *Avena* y *Pisum* (reacción 3). También se ha observado que, en algunos órganos como los frutos, la presencia de una cierta cantidad de auxina actúa estimulando una mayor síntesis de AIA, lo que indicaría que puede ser un efector positivo en algunas de las primeras etapas o provocar una mayor disponibilidad de triptófano para la síntesis de auxinas.

ETILENO

Se ha trabajado mucho en los últimos ocho años para aclarar el camino por el cual las plantas superiores sintetizan etileno. Una serie de sustancias han sido propuestas como precursoras, tales como etanol, ácido acético, propanol, glicerol, ácido acrílico, ácidos orgánicos, sacarosa, glucosa, α -alanina, ácido linoléico y metionina. Sin embargo, la evidencia actual señala al aminoácido metionina como el principal precursor en plantas superiores.

En la figura 85 se muestran dos posibles rutas metabólicas por las que puede sintetizarse etileno a partir de metionina. Se ha establecido que son los carbonos 3 y 4 de la metionina los que dan origen al etileno, en tanto que el carbono 1 se convierte en CO_2 y el carbono 2 se libera como ácido fórmico.

Como en el caso de la biosíntesis de auxinas, en distintos vegetales se han encontrado las dos rutas de la figura 85.

En la primera ruta (reacciones 1 y 2) hay una transaminación y una segunda

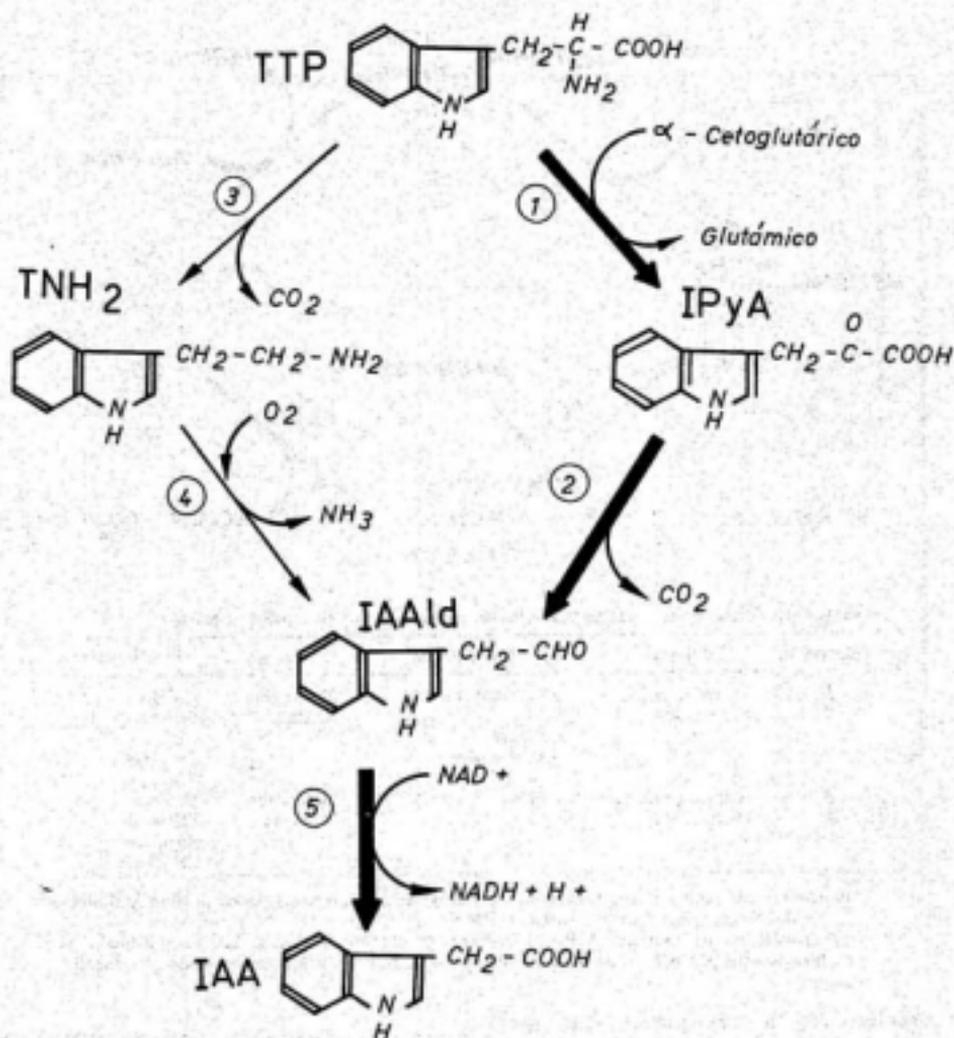


Figura 84. Principales vías de síntesis de ácido indolacético a partir del triptófano. Las líneas gruesas indican la vía más frecuente en los vegetales.

Reacción	Enzima	Cofactores	Sustrato	Producto
1	Triptófano-transaminasa	Piridoxal fosfato	TTP	IPyA
2	Indol pirúvico decarboxilasa	Tiamina pirofosfato	IPyA	IAald
3	Triptófano decarboxilasa	Tiamina pirofosfato	TTP	TNH ₂
4	Amino oxidasa		TNH ₂	IAald
5	Indolacetaldehído deshidrogenasa	NAD^+	IAald	IAA

Referencias: TTP = triptófano; IPyA = indol-3-pirúvico; IAald = indol-3-acetaldehído; TNH₂ = triptamina; IAA = indol-3-acético.

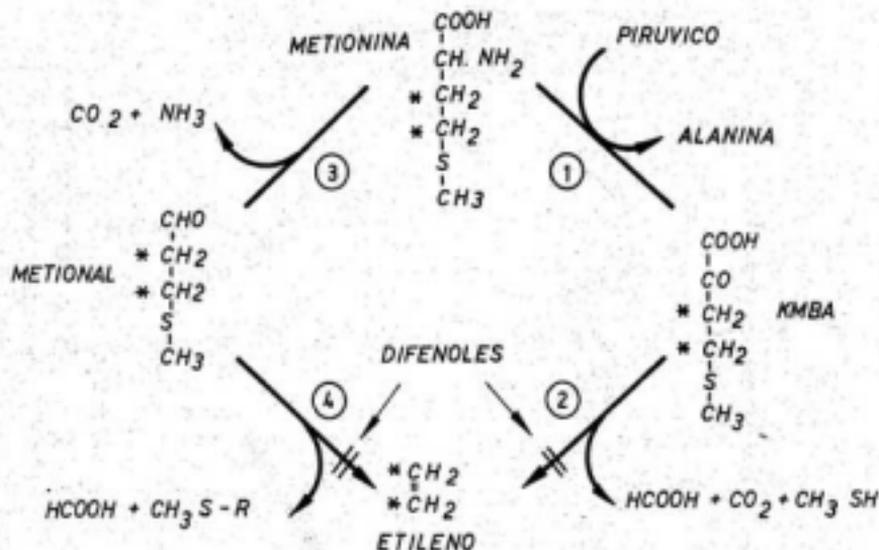


Figura 85. Vías alternativas para la biosíntesis de etileno en tejidos vegetales.

Reacción	Enzima	Cofactores	Sustrato	Producto
1	Transaminasa	Piridoxal fosfato	Metionina	KMBA
2	Peroxidasa	* H ₂ O ₂ * R.SO ₃ H * Monofenoles	KMBA	Etileno CO ₂ CH ₃ SH Fórmico
3	Amino oxidasa	FMN	Metionina	Metional
4	Peroxidasa	* H ₂ O ₂	Metional	Etileno Fórmico CH ₃ S-R

*Normalmente estos compuestos no se consideran cofactores, pero actúan oxidándose o reduciéndose en forma similar a FMN.

Referencias de la figura: KMBA = α -oxo- γ -metiltiobutirato. Las reacciones 2 y 4 son bloqueadas por difenoles. Los carbonos marcados con asteriscos son los que darán etileno.

reacción en la que parece que participan radicales libres.

Se ha observado con frecuencia que el AIA estimula la síntesis de etileno. En experimentos *in vitro*, el AIA activa la reacción 2. Sin embargo, hay que hacer notar que los resultados obtenidos *in vitro* no aseguran que ésta sea la explicación correcta de lo que ocurre *in vivo*, especialmente en lo que se refiere al papel del AIA como regulador de la síntesis de etileno, punto de mucho interés fisiológico.

B) HORMONAS CUYOS PRECURSORES SON ISOPRENOIDES. ACIDO ABSICICO, GIBERELINAS Y CITOCININAS (CADENA LATERAL)

El resto de las hormonas conocidas tienen un camino biosintético, en parte común, que es la vía isoprenoide. Algunos aspectos de esta ruta metabólica están esquematizados en la figura 86. (Véase el capítulo de Lípidos.)

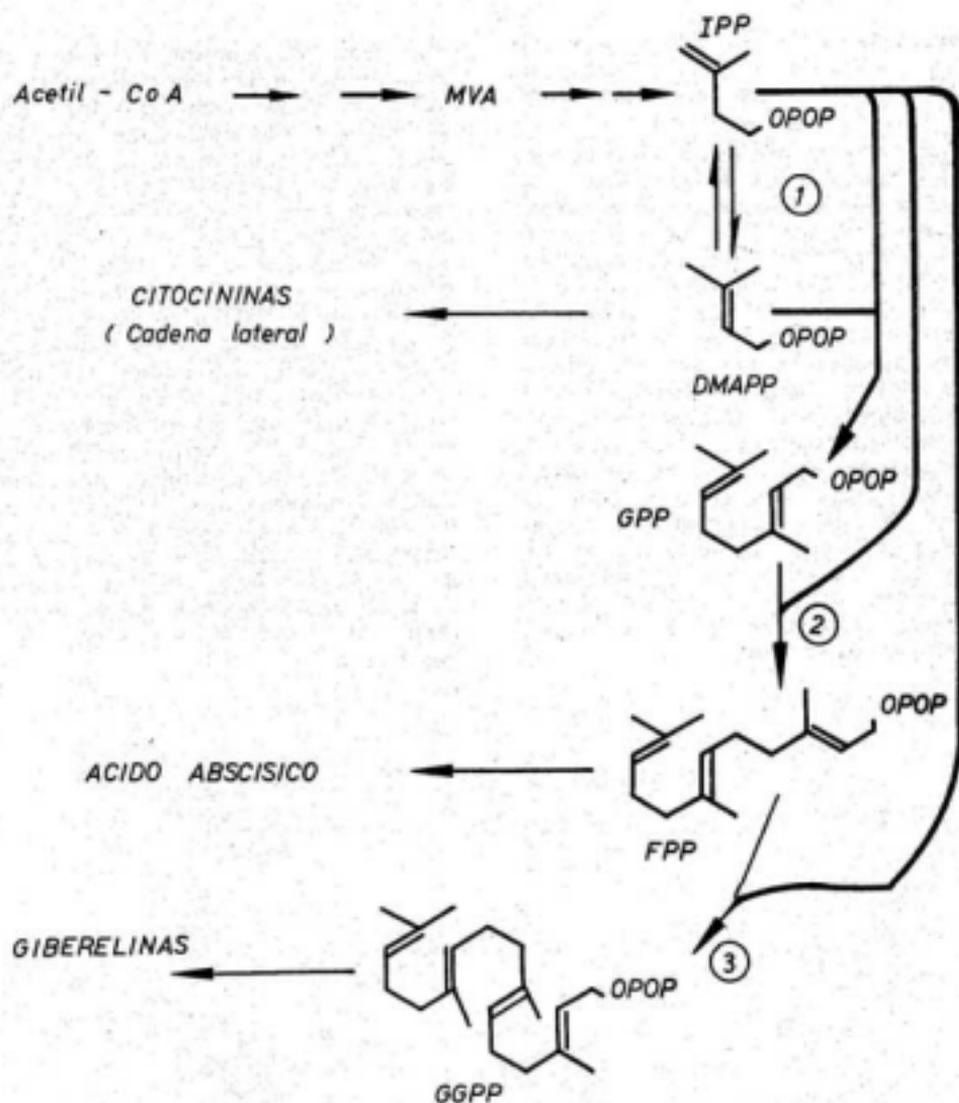


Figura 86. Esquema resumido de la vía isoprenoide y su relación con algunas hormonas vegetales.

Reacción	Enzimas	Sustrato	Producto
1	Isopentenilpirofosfato isomerasa	IPP DMAPP	DMAPP IPP
2	Geranil-PP sintetasa	IPP + DMAPP	GPP
3	Farnesil-PP sintetasa	IPP + GPP	FPP
4	Geranil-geranil-PP sintetasa	IPP + FPP	GGPP

Referencias: MVA = ácido mevalónico; IPP = isopentenil pirofosfato; DMAPP = dimetil alil pirofosfato; GPP = geranil pirofosfato; FPP = Farnesil pirofosfato; GGPP = geranil geranil pirofosfato.

GIBERELINAS

Las primeras evidencias sobre el origen isoprenoide de las giberelinas provienen de experimentos con el hongo *Gibberella fujikuroi* en que, partiendo de acetato-1-¹⁴C y mevalonato-2-¹⁴C (MVA), se logró la incorporación de radioactividad en el ácido giberélico. La mayor parte de los conocimientos actuales sobre la biosíntesis de giberelinas se deben al grupo de Charles West (Universidad de California) que investigó, principalmente en endospermas de *Echinocystis macrocarpa* y *Gibberella fujikuroi*, los compuestos formados a partir de MVA. Estos autores encontraron todos los intermediarios esperados entre el MVA y el geranyl-geranyl pirofosfato (GGPP), y también que las enzimas responsables de esta vía se encontraban en solución.

La figura 87 muestra el esquema de la biosíntesis de giberelinas a partir del GGPP. El primer compuesto libre que se detecta es (-)-Kaureno, que tiene los cuatro anillos que forman la estructura básica de las giberelinas. La enzima kaureno-sintetasa, aislada y purificada del hongo *G. fujikuroi* y de *E. macrocarpa*, es un complejo formado por dos proteínas A y B, cada una de ellas responsable de la catálisis de las dos reacciones que llevan a formar kaureno a partir del GGPP, para obtener como intermediario copalilpirofosfato (CPP) que, generalmente, no se encuentra libre. La enzima A requiere Mg⁺⁺ tanto como la B, pero es inhibida por retardantes, especialmente AMO-1618 y Fosfon D. No se conoce aún si existen compuestos naturales que tengan el mismo efecto que estos retardantes sintéticos, los cuales podrían eventualmente regular la biosíntesis de giberelinas en este punto.

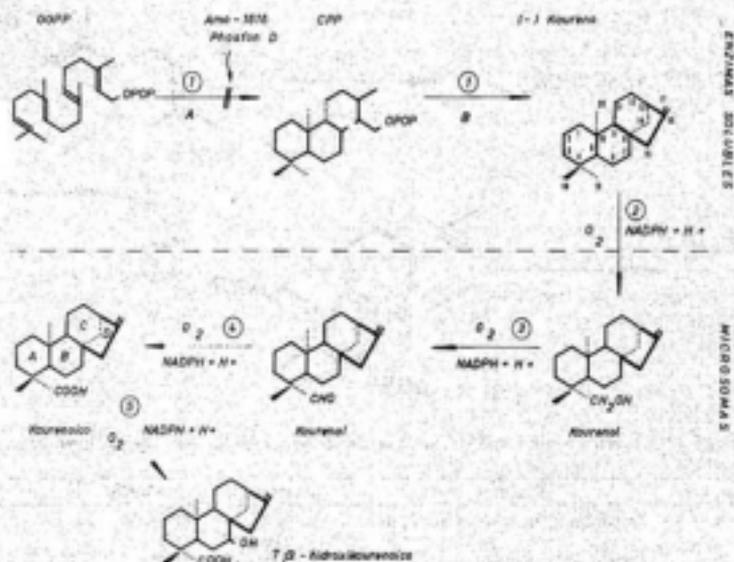


Figura 87. Biosíntesis de giberelinas a partir de geranyl-geranyl pirofosfato (GGPP). Referencia: CPP = copalil pirofosfato.

Enzimas: 1 A y B kaureno-sintetasa. Es un complejo de dos proteínas. Los retardantes Amo-1618 y Fosfon inhiben la proteína A.

2,3,4, 5 oxidases de función mixta. Todas ellas requieren O₂ y piridín nucleótidos reducidos, están además unidas a membranas. Las líneas punteadas indican que los carbonos se encuentran hacia atrás del plano del anillo, mientras que las gruesas indican que están hacia adelante.

Las siguientes etapas son de oxidación en el C-19 que llevan a formar un ácido y una posterior oxidación en el C-7, que produce ácido kauren-7 α -19-oico (7β -HKA). Estas reacciones son catalizadas por oxidasas de función mixta que requieren O_2 y NADPH, y están ligadas a estructuras membranosas. Con este compuesto termina la serie de ent-kaurenos en que el anillo B es de seis átomos, y en adelante se encuentran compuestos con estructura de ent-giberelanos, donde el anillo B es de sólo 5 carbonos —pues el C-7 queda fuera del anillo—, y será posteriormente oxidado a carboxilo. Las etapas que siguen a partir de este punto no se conocen con certeza. En la actualidad se conocen 35 giberelinas, pero se supone que no poseen actividad hormonal diferente entre sí. Aparentemente, muchas de ellas son intermediarios biosintéticos y se piensa que sólo hay tres o cuatro

giberelinas activas. La diferente actividad que presentan las giberelinas en distintos bioensayos podría atribuirse a la capacidad de la planta para convertir la giberelina suministrada en la giberelina activa propia de su especie. De las 35 giberelinas conocidas hay algunas propias del *G. fujikuroi*, otras que sólo se encuentran en plantas superiores y otro grupo que es común a los dos. En la figura 88 se presenta una posible ruta en que algunas giberelinas conocidas figuran como intermediarios metabólicos del ácido giberélico (GA_3). Hay que hacer notar que la numeración de las giberelinas corresponde al orden en que fueron aisladas y determinada su estructura, de modo que no tiene ninguna relación con su biogénesis. Existen algunos datos experimentales que apoyan este esquema, aunque el panorama está muy lejos de ser completo.

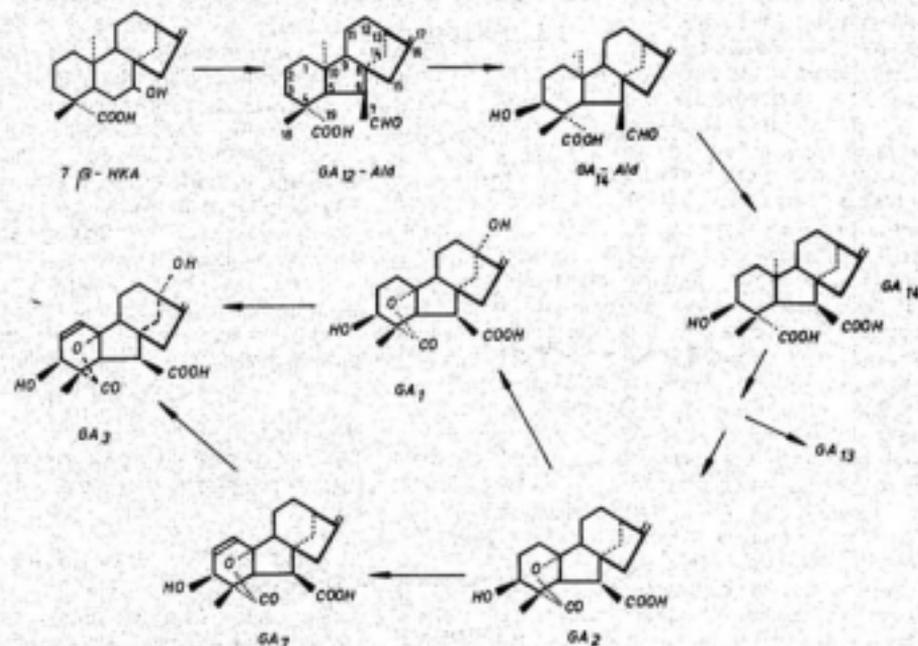


Figura 88. Posible ruta metabólica para la síntesis de ácido giberélico (GA_3) a partir de 7β -hidroxicarenoico (7β -HKA). Algunas de las giberelinas conocidas sería intermediarias en la biosíntesis de GA_3 .

Se conocen dos tipos principales de giberelinas, desde el punto de vista estructural, de C_{20} y C_{19} . La diferencia es que las últimas han perdido el C-20 unido a la posición 10. Esto hace suponer que las giberelinas C_{20} sean precursores metabólicos de las giberelinas C_{19} .

ACIDO ABCISICO

En 1965 se logró establecer la fórmula del ácido abscísico (ABA) y se unificó la nomenclatura, ya que los distintos grupos de trabajo llamaban al mismo compuesto de forma diferente (abscisina II, dormina, "factor que provoca la abscisión de las flores de lupino"). La estructura se confirmó el mismo año por síntesis química y se encontró que su configuración absoluta era S y dextrorrotatoria. Sin embargo, recientemente se ha rectificado la confi-

guración absoluta que ha resultado ser R (fig. 89).

Del estudio de la estructura química del ABA se desprende que es un sesquiterpeno, es decir que está formado por tres unidades isoprenicas. Esto fue confirmado al lograrse la incorporación de $MVA-2-14C$, un precursor conocido de isoprenoides, al ABA, en frutos de tomate y palta. Sin embargo, hay en principio dos posibles rutas propuestas para la síntesis:

- ruta directa por un precursor C_{15} (farnesilpirofosfato);
- ruta indirecta, como producto de la ruptura de un carotenoide (C_{40}) por efecto de la luz (fig. 89).

Como violoxantina es el producto de la condensación cabeza-cabeza (por salida de pirofosfato) de dos moléculas de GGPP, y el MVA es precursor tanto de carotenoides (vía indirecta) como de farnesilpirofosfato (vía directa), la incor-

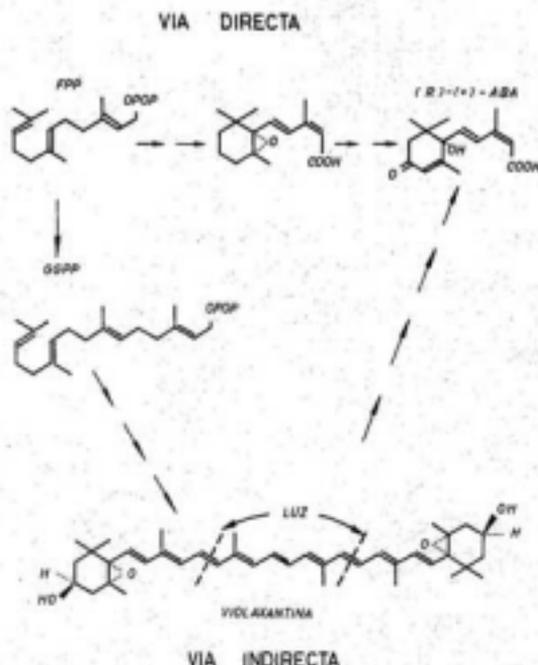


Figura 89. Esquema con las vías directa e indirecta de biosíntesis de ácido abscísico.

poración de MVA-2-¹⁴C a ABA no prueba cuál de las dos rutas es la seguida. D.R. Robinson trató de resolver este problema, para lo cual preparó fitoeno-¹⁴C (precursor de carotenoides) y lo suministró a frutos de palta (*Persea gratissima*) junto con (2-³H) - MVA. Varias horas más tarde se extrajeron y aislaron los carotenoides y ABA, encontrándose que el ABA contenía tritio mientras que los carotenoides tenían solamente ¹⁴C, lo cual probó que el fitoeno había penetrado a las células y se había metabolizado normalmente. Estos resultados indicarían que el MVA se incorpora directamente al ABA y no vía carotenoides. Sin embargo, esta evidencia no es suficiente para descartar la vía indirecta. La mayoría de los autores se inclinan por la vía directa, la que aparece como más razonable desde el punto de vista del control de la síntesis de una hormona. Se supone que ésta es la vía principal de síntesis, aunque en algunos tejidos o en ciertos momentos del ciclo vegetativo pueda haber síntesis de ABA por ruptura de carotenoides.

La figura 89 nos da un esquema de los conocimientos actuales en lo que se refiere a la biosíntesis de ABA.

Entre FPP y ABA solamente se conoce un posible intermediario (fig. 89) y prácticamente nada sobre las enzimas que participan, aunque se sospecha la participación de oxidasas de función mixta en las etapas últimas, en forma similar a lo que ocurre con las gibberelinas y con las hormonas esteroidales de los mamíferos.

C) MOLECULAS FORMADAS POR PRECURSORES DE DISTINTO ORIGEN

CITOCININAS

Cuando se pudo aislar en 1955 un compuesto llamado cinetina (6-furfuril aminopurina) de una muestra envejecida de ADN proveniente de espermatozoos de salmón, comenzó específicamente el descubrimiento de este grupo de fitohormo-

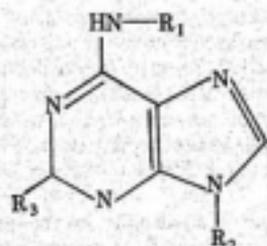
nas. Sin embargo, la cinetina no es considerada una citocinina natural y solamente en 1964 se aisló de semillas de maíz la primera citocinina natural: la zeatina. Desde ese momento a la fecha se han aislado varias cuyas características químicas son (fig. 90):

- una adenina sustituida en el grupo amino, en posición 6, por una cadena de estructura isoprenica;
- pueden encontrarse como bases libres o como nucleósidos; en algunos casos, también como nucleótidos;
- a veces se encuentran sustituidos con CH₃S-, en posición 2.

Es evidente que el origen biogénico de este grupo de hormonas es más complejo que los casos estudiados hasta ahora. Por una parte encontramos una purina o su nucleósido que suponemos sintetizado normalmente por la planta (véase el capítulo sobre Ácidos nucleicos), y por el otro nos encontramos con una cadena lateral que es un hemiterpeno (C₅) y que, en principio, puede provenir de la vía isoprenoide ya estudiada (véase el capítulo de Lípidos).

No se dispone en la actualidad de ninguna evidencia experimental que indique en qué forma se sintetizan las citocininas. Sin embargo, en algunas especies de ARNt se han encontrado bases sustituidas que son idénticas a algunas citocininas encontradas anteriormente. Un punto que despertó mucho el interés de los investigadores es que la posición de estas moléculas de 3-isopentenil adenosina (IPA) en ARNt era siempre vecina al anticodón (capítulo V). Inclusive pudo demostrarse que afectaba notablemente la capacidad de unión del aminoacil-ARNt a los ribosomas, sin alterarse en absoluto la unión con el aminoácido. Esto daba la posibilidad de explicar de alguna manera la acción de las citocininas en el control de la síntesis proteica y, en consecuencia, una forma de regular el metabolismo de la planta.

Se comprobó que si se hacía crecer tejidos de tabaco en medios que conte-



Adenina

R ₁	R ₂	R ₃	Compuesto
	H	H	Δ ³ -Isopentenil adenina
	Ribosa	H	Δ ³ -Isopentenil adenosina (IPA)
	Ribosa	CH ₃ S-	Metiltioisopentenil adenosina (msIPA)
	H	H	Zeatina
	Ribosa	H	Ribosil zeatina
	Ribosa	CH ₃ S-	Metiltiorribosil zeatina
	Ribosa	H	cis-ribosil zeatina
	H	H	Dihidrozeatina

Figura 90. Estructura de las citocininas naturales conocidas en la actualidad.

nían (2-¹⁴C)-MVA, se recuperaba una cantidad apreciable de la actividad en ARNt, la que correspondía a IPA, sin que apareciera ningún otro componente del ARNt marcado. Esto confirmaba el origen de la cadena lateral, pero un punto importante que hay que aclarar es si cuando se forma el ARNt se incorpora el nucleótido sustituido (citocinina) como tal, o si la cadena lateral se une a un residuo adenilico de una molécula ya preformada de ARNt, como ocurre con las bases metiladas. Se logró purificar parcialmente un sistema enzimático de levadura que puede incorporar dimetilalilpicrofosfato al ARNt, no siendo sustrato el isómero isopentenilpicrofosfato. Resultados similares se obtuvieron con un sistema crudo proveniente del cultivo de tejido de tabaco. Estas evidencias indicarían que las citocininas no son incorporadas al ARNt como tales, sino que, por el contrario, serían producto de la degradación de ácidos nucleicos. Es muy difícil pensar que si las citocininas actúan como hormonas *per se*, su biosíntesis sea el producto del catabolismo de ácidos nucleicos, pues poder controlar este proceso libremente adquiere una importancia fundamental para la célula y el organismo íntegro. Se debería admitir, en ese caso, que las citocininas son sintetizadas por una vía distinta que no involucra ARNt como intermediario y que es aún desconocida. La otra posibilidad es admitir que los resultados obtenidos en las plantas no prueban que el efecto de las citocininas sea un proceso natural en los vegetales ni que las citocininas aisladas sean hormonas reguladoras naturales.

REGULACION

Para que una planta pueda regular los procesos fisiológicos en que hay intervención de hormonas, es necesario que a la vez regule el nivel de concentración de éstas. Este nivel es el resultado del balance entre la biosíntesis, la destrucción y el traslado de la hormona. Con

respecto a la regulación de la biosíntesis, ya se ha visto que muy poco o nada es lo que se conoce. Sin embargo, hay que notar, en lo que se refiere a las hormonas que tienen origen isoprenoide, especialmente ácido abscísico y giberelinas, que hay algunas observaciones interesantes. Se ha visto que, en los fotoperíodos largos, generalmente hay un nivel alto de giberelinas y bajo de ABA, mientras que en los fotoperíodos cortos la situación se invierte. Esto sugeriría la posible intervención del fitocromo en la regulación de la biosíntesis de estas dos hormonas.

Otro punto que aún no está muy estudiado es el de la destrucción de las hormonas cuando en un momento determinado del ciclo de una planta alguna de éstas no es más necesaria. Con respecto a las auxinas, hay innumerables trabajos sobre la destrucción de AIA por peroxidasa. Sin embargo, no hay prácticamente datos sobre el resto de las hormonas. En principio, este problema no existe en el caso del etileno, ya que siendo éste un gas que difunde fácilmente, el control de su nivel estaría dado solamente por su síntesis.

PIGMENTOS

Es bien conocido el hecho de que la luz desencadena una serie de procesos en los vegetales.

Los más conocidos son la fotosíntesis y la fotomorfogénesis (algunos aspectos de éste último han sido observados en animales). Las plantas pueden reaccionar a la estimulación de la luz gracias a una variedad de moléculas conocidas como pigmentos, que tienen la propiedad de absorber luz de determinadas longitudes de onda. Si bien su estructura química es bastante variada, todos tienen una característica común: en su molécula se alternan enlaces dobles y simples, es decir que forman un sistema *conjugado*. Las moléculas cromóforas de esta estructura son bastante estables, ya que los grupos de átomos unidos por dobles enlaces no pueden girar alrededor de

estas uniones. Cada sistema conjugado tiene un estado energético bajo que puede ser excitado por la luz visible. Cuando un sistema es excitado puede ocurrir que ceda un electrón, como en el caso de la clorofila, o que un doble enlace pierda su carácter de tal y haya un cambio de una configuración *cis* en una *trans* en la molécula, como en el caso del fitocromo (fotorreceptor en el proceso fotoperiódico).

Desde el punto de vista estructural se puede clasificar a los diferentes pigmentos en:

- 1) Porfirinas, cuyos ejemplos más comunes son las clorofilas.
- 2) Ficobilinas, biogénicamente relacionadas con las porfirinas.
- 3) Flavonoides.
- 4) Carotenoides y xantofilas, pigmentos fotosintéticos cuya función ha sido estudiada en el capítulo de Fotosíntesis y de cuya estructura y biosíntesis se ha tratado en el capítulo de Lípidos, razón por la cual no volveremos sobre el particular en esta sección.

PORFIRINAS

Estructuralmente son tetrapirroles cíclicos unidos por sus átomos de carbono, los cuales están sustituidos con una variedad de cadenas laterales (fig. 91). Las porfirinas difieren entre sí por:

- a) distintos sustituyentes en los carbonos;
- b) presencia o ausencia de metales (coproporfinas: sin metal; protoporfinas: con metal);
- c) naturaleza del metal (en el caso de las protoporfinas) que puede ser Fe (hemoporfinas) o Mg (protoporfinas Mg);

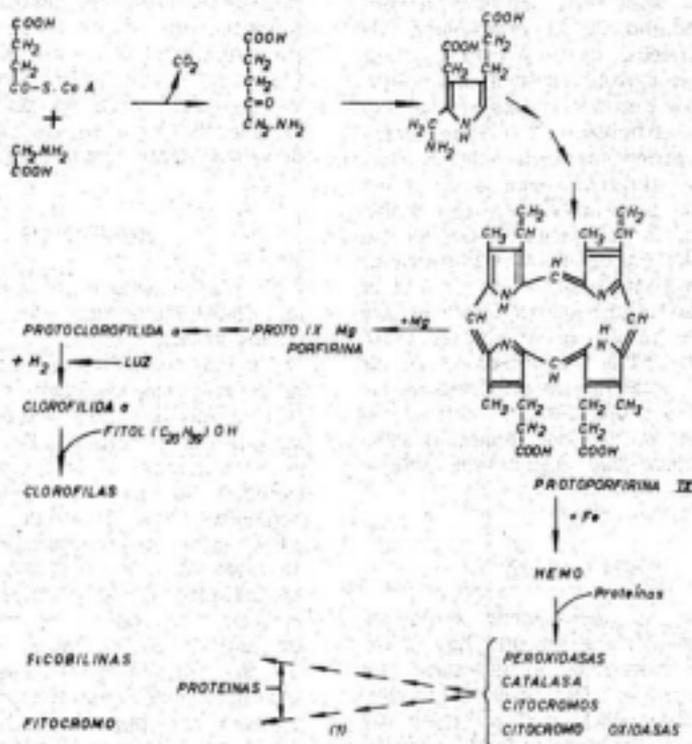


Figura 91. Esquema de la biosíntesis de porfirinas y posible ruta de síntesis de ficobilinas y fitocromo. Referencia: ALA = ácido δ-amino levulínico; PBG = porfobilinógeno.

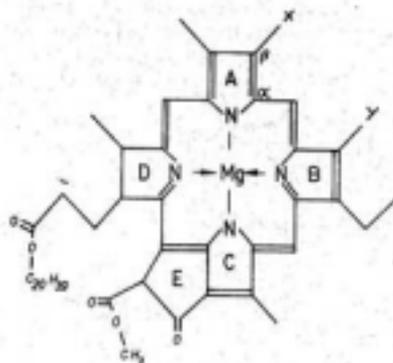
d) el grado de insaturación de los anillos pirrólicos.

BIOSÍNTESIS DE PORFIRINAS

La figura 91 muestra un esquema general de la biosíntesis de porfirinas. Con la formación de Proto IX se llega al punto en que dos rutas se separan. Por una parte se incorpora Mg y se llega a la síntesis de clorofilas; por otra se incorpora Fe y se originan las hemoproteínas, entre las que se encuentran peroxidasa, catalasa, citocromo oxidasa y citocromos. Algunas de éstas son enzimas, mientras que otras, como los citocromos, actúan en los sistemas transportadores de electrones (fotosíntesis y respiración).

CLOROFILAS

La estructura de las diferentes clorofilas se muestra en la figura 92. Todos los organismos fotosintéticos contienen clorofila *a*, con la excepción de las bac-



	Y	X
Clorofila <i>a</i>	-CH ₃	-CH=CH ₂
Clorofila <i>b</i>	-CHO	-CH=CH ₂
Clorofila <i>f</i>	-CH ₃	-CHO
Bacterioclorofila (anillo β reducido)	-CH ₃	-CO-CH ₃

Figura 92. Estructura de algunas clorofilas.

terias, que contienen bacterioclorofila. La clorofila *b* se encuentra generalmente en las plantas verdes, mientras que la *c* y *d* son comunes en algas pardas y rojas, diatomeas y dinoflagelados.

En la formación de clorofila a partir de protoporfirina IX Mg, hay varias etapas en las que se llega a protoclorofilo *a*. Cuando se iluminan las plantas, hay una rápida conversión de protoclorofilo *a* en clorofilo *a*. La esterificación de clorofilo *a* en el grupo propiónico del anillo D por fitol, parece ser llevada a cabo por la clorofila. Esta enzima es capaz de catalizar la reacción inversa, es decir transformar clorofila *a* en clorofilo *a* más fitol. Sin embargo, se piensa que el sentido de la reacción *in vivo* está volteado hacia la síntesis de clorofila *a*.

FICOBILINAS

Las ficobilinas son tetrapirroles de cadena abierta que derivan de las porfirinas. Están conjugadas con proteínas específicas (ficocianinas, aloficocianinas y ficoeritrinas) y actúan como pigmentos fotosintéticos accesorios en algunas algas.

Biogenéticamente se cree que son derivadas de la ruptura del anillo porfirínico de las hemoproteínas (fig. 91), aunque la mayor parte de la evidencia proviene de estudios con hemoglobina.

FITOCROMO

En la actualidad no se conoce con certeza la estructura del fitocromo. Sin embargo, se ha logrado establecer que su grupo cromóforo es un tetrapirrol lineal, similar al de las ficobilinas, asociado a proteínas. Se presenta en dos formas espectrofotométricamente distintas con máximos de absorción a 660 y 730 nm. Se piensa que las dos formas fotorreversibles tienen variaciones en el número y posición de los dobles enlaces

del cromóforo, como también en el grado de asociación con proteínas.

En otros capítulos de este libro han sido tratadas las funciones de este pigmento.

FLAVONOIDES

Los flavonoides son una serie de compuestos que tienen como estructura

básica común el esqueleto de la flavona (C_{15}) (fig. 93). Entre los flavonoides más distribuidos en la naturaleza se encuentran las antocianinas (rojizas), flavonas (amarillo pálido), chalconas y auronas (amarillas). Generalmente se encuentran como glicósidos, lo que es importante ya que eso les acuerda solubilidad y estabilidad a la luz y a la degradación enzimática. Es muy grande la va-

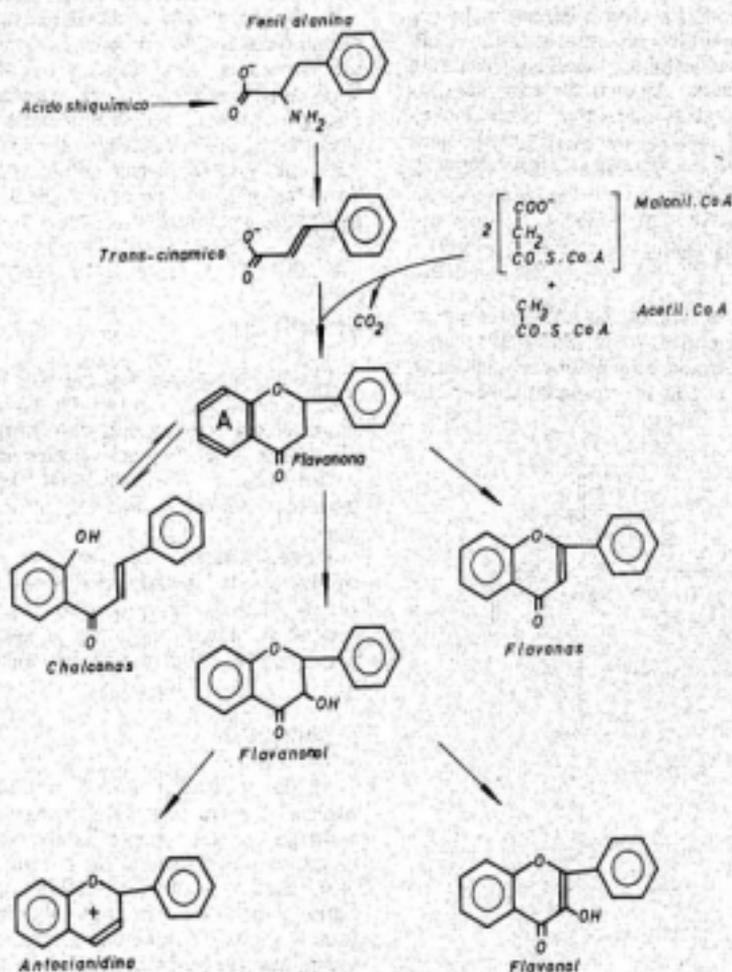


Figura 93. Esquema de biosíntesis e interconversión de flavonoides.

riación en cuanto a la composición de azúcares y los lugares de unión en la flavona.

La biosíntesis de los flavonoides implica la unión de dos vías metabólicas. Por una parte, el anillo A (fig. 93) proviene de la condensación de acetato (Acetil- + Malonil-CoA), mientras que la unidad de C₆ restante proviene de fenilalanina. La enzima que convierte fenilalanina en ácido *trans*-cinámico-fenilalanina amonio liasa (PAL)- es clave en el metabolismo de los flavonoides, ya que es la primera reacción dentro del sistema. Parece ser una enzima inducible principalmente por la luz, algunas hormonas vegetales, heridas o enfermedades.

La figura 93 muestra el esquema general de la biosíntesis e interconversión de los flavonoides.

La función de los flavonoides en las plantas es muy poco conocida. Se han sugerido varias funciones posibles, tales como la atracción de insectos para facilitar así la polinización, su posible papel como fitoalexinas en el control de parásitos, y el control del nivel de algunas hormonas. Sin embargo, no hay evidencias convincentes al respecto y su función sigue siendo una incógnita.

LECTURAS COMPLEMENTARIAS

- Bogorad, L.: *Plant Biochemistry*, ed. por Bonner y Varner, Academic Press, 1965, pág. 717.
- Bogorad, L.: *The Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*, ed. por Goodwin, Academic Press, 1965, pág. 29.
- Briggs, W. R. y Rice H. V.: *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 23, 1972, pág. 293.
- Geissman, T. A.: *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*, Academic Press, 1962.
- Harborne, J. B.: *Plant Biochemistry*, ed. por Bonner y Varner, Academic Press, 1965, pág. 618.
- O'Heocha, C.: *The Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*, ed. por Goodwin, Academic Press, 1965, pág. 175.
- O'Heocha, C.: *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 16, 1965, pág. 416.
- Smith, J. H. C. y French C. S.: *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 14, 1963, pág. 181.

CAPITULO IX

NUTRICION MINERAL

M. E. RESNIK

CONCEPTOS GENERALES

Se entiende por nutrición mineral de los vegetales todo lo relacionado con los diversos elementos inorgánicos que entran en su composición química (con excepción del carbono, el oxígeno y el hidrógeno).

Las plantas absorben los elementos minerales por medio de las raíces, junto con el hidrógeno y parte del oxígeno que toman en forma de agua. El carbono y parte del oxígeno se incorporan como dióxido de carbono durante el proceso de fotosíntesis.

El contenido de nutrientes minerales es mucho menor que el de compuestos orgánicos. Las cenizas y el nitrógeno (que se volatiliza al incinerar) constituyen un 5-25 % de la materia seca. El cuadro 1 da una idea del contenido mineral de las hojas de caña de azúcar.

Los análisis de plantas revelan la presencia de otros elementos, además de los citados en el cuadro 1, cualquiera de los cuales que se encuentre en el medio en que crezcan las raíces puede entrar virtualmente en la composición de los vegetales. Esto no significa que todos sean necesarios para el crecimiento y desarrollo normales de las plantas, pues sólo algunos son realmente esenciales. Como tales se considera a aqué-

Cuadro 1. Contenido de elementos minerales (% de la materia seca) en las hojas de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) cultivar CP 48-103 en Tucumán. (Cortesía de la Estación Agrícola Experimental de Tucumán, República Argentina).

Elemento	Contenido
Nitrógeno	2,15 %
Fósforo	0,15 %
Potasio	1,72 %
Calcio	2,58 %
Magnesio	0,14 %
Sodio	0,02 %
Cloro	0,88 %
Azufre	0,10 %
Hierro	22 ppm
Manganeso	242 ppm
Otros	1,65 %

llos en cuya ausencia se detiene el crecimiento o se interfieren procesos vitales, lo que impide a la planta completar su ciclo sin que esto pueda remediarse con el suministro de otro elemento. Un criterio más exigente propone que un elemento sea considerado esencial sólo cuando se ha determinado su función dentro del organismo.

Los elementos cuya esencialidad en las plantas ha sido demostrada son los siguientes: C, H, O, N, P, K, S, Ca, Fe, Mg, B, Mn, Cu, Zn, Mo y Cl (en el reino animal la lista incluye, además, V, Na y Co).

En el cuadro 1 se observa que el contenido de los distintos elementos minerales difiere mucho en una misma planta. Los elementos esenciales han sido clasificados, según su relativa abundancia en las plantas, en macro y micronutrientes.

Los macronutrientes (también llamados elementos mayores) son el N, P, K, Ca, Mg y S, y su contenido en los vegetales se expresa en valores porcentuales, mientras que los micronutrientes (o elementos menores), que constituyen el resto, se expresan en partes por millón.

Esta clasificación es arbitraria (hay autores que clasifican al Fe como macronutriente) y no implica desviación alguna de los criterios de esencialidad enunciados.

Ciertos elementos, sin ser esenciales, son beneficiosos para algunas plantas. Así sucede con el silicio en las gramíneas, con el sodio en algunas especies de diversas familias, y con el cobalto en las leguminosas noduladas. Se ha sugerido que algunos otros elementos podrían tener efectos favorables e incluso ser esenciales, pero no existen pruebas concluyentes de esas afirmaciones.

El contenido relativo de cada elemento no es el mismo en las distintas especies de vegetales, ni en una misma especie en distintas condiciones de cultivo, ni tampoco en los distintos órganos de una misma planta.

Si se varía experimentalmente el contenido de un solo elemento esencial en una planta, alterando su suministro y manteniendo constantes todos los demás, se obtienen efectos sobre el crecimiento de acuerdo con la curva de la figura 94.

Como se observa, con muy bajo contenido, todo incremento resulta en un aumento proporcional del crecimiento (sector "a" de la curva). Los posteriores

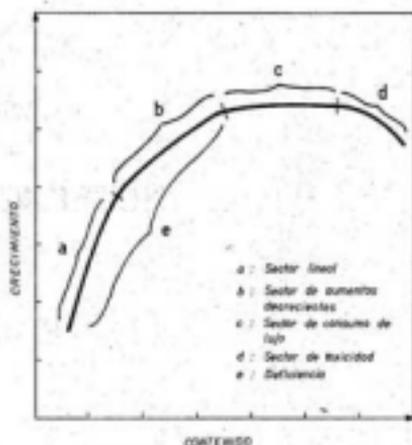


Figura 94. Relación entre el contenido de cierto elemento en la planta y el crecimiento. Curva generalizada en escala arbitraria.

aumentos de contenido traen aparejado un acrecentamiento, pero con declinación progresiva (sector "b"). Los sectores "a" y "b" de la curva constituyen la "zona de deficiencia". Su límite superior está en el punto en que un aumento en el contenido del nutriente ya no modifica el crecimiento de la planta (sector "c"). Allí es donde se acumula una cantidad mayor que la necesaria, por la cual recibe el nombre de "zona del consumo de lujo". Si el contenido del elemento continúa incrementándose, se llega a un punto en que el crecimiento disminuye por un efecto de toxicidad (sector "d").

Cuando más de un elemento se encuentra en una planta en el nivel de deficiencia de la curva, la llamada "ley de mínimo" determina que el crecimiento esté limitado por aquel elemento que presenta mayor grado de deficiencia. Dicho de otra manera, ese elemento se convierte en el factor limitativo del crecimiento, y aunque haya mayor disponibilidad de otros elementos éste no podrá incrementarse. Los otros elementos, en esas circunstancias, estarán ubicados en el sector de consumo

de lujo, mientras que el elemento limitativo estará en el sector de deficiencia de relación lineal.

FUNCIONES DE LOS ELEMENTOS MINERALES Y SINTOMAS DE DEFICIENCIAS

Generalmente las plantas producen síntomas característicos en respuesta a la carencia de elementos esenciales. Esos síntomas visibles permiten a menudo determinar las funciones del elemento en la planta, de modo que algunos de ellos son de importancia práctica para que los agricultores y agrónomos puedan determinar el momento y la forma en que han de fertilizar sus cultivos. Algunos de esos síntomas se describirán a continuación.

La mayoría de los síntomas descritos aparecen en la parte aérea de la planta y son fácilmente detectables. Las raíces, por supuesto, sufren también daños por la carencia de esos elementos, pero a menos que las plantas se cultiven en soluciones nutritivas, los síntomas no pueden ser observados sin removerías del suelo. Así pues, como ésta es una operación laboriosa y difícil, no se describirán los síntomas de deficiencias en las raíces.

ELEMENTOS MACRONUTRIENTES

NITROGENO

Es más común que la mayoría de los suelos sean deficientes en N que en los otros elementos. Los minerales que dan origen al suelo no contienen N, pues éste proviene principalmente de la fijación del existente en la atmósfera, en especial por mecanismos biológicos.

Por otro lado, este elemento se pierde fácilmente por lixiviación de los iones nitrato y por su conversión por los microorganismos a N_2 volátil.

El nitrógeno es esencial para las plantas, pues entra en la composición de un gran número de compuestos orgánicos que comprenden principalmente aminoácidos, proteínas, coenzimas, ácidos nucleicos y clorofila. Las plantas que viven en un medio deficiente en nitrógeno casi no crecen. Aquéllas que disponen de una cantidad suficiente para alcanzar un crecimiento limitado, exhiben síntomas de deficiencia que consisten en un amarillamiento general (clorosis) debido a la disminución de su contenido de clorofila, especialmente en las hojas viejas. En casos severos, estas hojas se vuelven totalmente amarillas y eventualmente caen de la planta. Las hojas jóvenes permanecen verdes más tiempo a causa de las formas solubles de N que se trasladan desde las hojas más viejas a medida que los compuestos nitrogenados se degradan. Algunas plantas, entre ellas el tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) y algunas variedades de maíz (*Zea mays* L.), muestran una coloración púrpura en los tallos, pecíolos y superficies de las hojas inferiores, debido a la acumulación de antocianinas.

Las cantidades elevadas de nitrógeno generalmente determinan un color verde oscuro y abundancia del follaje, con un sistema radical pobremente desarrollado. En el caso de la papa (*Solanum tuberosum* L.) las plantas muestran un crecimiento desproporcionado de la parte aérea, pero forman tubérculos muy pequeños. No se conoce aún la causa de este fenómeno, pero es indudable que el traslado de azúcares a los tubérculos se ve afectado de algún modo, y se piensa, además, que las relaciones hormonales de la planta se alteran. El exceso de nitrógeno también retarda la floración y la formación de las semillas en algunos cultivos agrícolas. Sin embargo, algunas especies breviviernas florecen más rápidamente con un suministro de nitrógeno relativamente alto.

Un problema en constante debate es el efecto del suministro de nitrógeno nítrico versus la forma amoniacal. Las

plantas superiores pueden absorber ambas formas de nitrógeno, pero su respuesta varía según la especie y las condiciones del medio. En condiciones de relativa deficiencia de nitrógeno, la absorción de nitrato predomina sobre la de amonio, y del mismo modo influyen la mayor edad de las plantas y un pH bajo. A un pH de alrededor de 6,0, algunas especies exhiben tan sólo una ligera preferencia por una de las dos formas. Así, el nabo (*Brassica napus* L.), el zapallo (*Cucurbita pepo* L.) y el trigo sarraceno (*Fagopyrum esculentum* Moench) prefieren el nitrato, mientras que la soja (*Glycine max* L.), el arroz (*Oryza sativa* L.) y el lino (*Linum usitatissimum* L.) prefieren el amonio.

El aumento del pH causa un mejor crecimiento de las plantas que prefieren amonio, pero ocurre a la inversa con las que prefieren nitratos. Las primeras aumentan más aún su preferencia por esa forma de nitrógeno y la absorción es mayor cuando el contenido de glúcidos es alto. La degradación de los glúcidos produce sustancias hidrocarbonadas intermedias de rápida disponibilidad para la formación de aminoácidos.

La capacidad de las plantas de reducir el nitrato a amonio no depende mayormente de su edad. Los procesos de síntesis disminuyen con el envejecimiento más rápidamente que la capacidad de reducir NO_3^- , y en algunos casos extremos se observa que las raíces absorben nitrato y liberan amonio.

El aumento en la respiración que acompaña a la absorción de nitrato (véase pág. 259) es mayor que con el amonio. Esto se debe primordialmente a que se necesita energía para reducirlo, pero también parece tener efectos favorables más generales. Prueba de eso es el hecho de que las plantas que prefieren nitrógeno amoniacal reaccionan favorablemente ante un pequeño agregado de nitrato.

Un tema aparte lo constituyen las plantas capaces de fijar el nitrógeno atmosférico en simbiosis con bacterias.

En este tipo de vegetales, el sumi-

nistro de ambas formas de nitrógeno resulta depresivo por el efecto inhibitorio que éstas tienen sobre el proceso de fijación.

Respecto a la nutrición nitrogenada con urea, véase la pág. 274).

FOSFORO

El fósforo se absorbe en las plantas como ion fosfato monovalente, y en menor medida como bivalente. Una parte sustancial del fosfato se incorpora a compuestos orgánicos al entrar en las raíces o luego de ser transportado a través del xilema a la parte aérea.

Entre las moléculas que contienen P se incluyen los azúcares-fosfato, nucleótidos, ácidos nucleicos, fosfolípidos y ciertas coenzimas. Su presencia en los azúcares-fosfato y coenzimas es muy importante porque en ellos este elemento permite que los azúcares sean metabolizados por la planta, y porque además éstos actúan como transportadores de energía. En el capítulo de Respiración se tratan estas funciones con mayor detalle.

Las plantas deficientes en P tienen forma achaparrada y, en contraste con aquéllas carentes de N, presentan a menudo un color verde bastante oscuro. También suelen acumularse antocianinas, que producen una coloración rojiza en la base de los tallos en las plantas herbáceas. El desarrollo de estas plantas a menudo se retrasa, a diferencia de aquéllas ricas en fosfato. Existe aparentemente una correlación estrecha entre P y N respecto a esto, pues cada uno de dichos elementos actúa en sentido opuesto.

En la mayoría de las plantas el fosfato es fácilmente redistribuido de un órgano a otro: se moviliza de las hojas viejas a las nuevas y a las flores y semillas en crecimiento, donde se acumula. Como resultado, los síntomas de deficiencia aparecen primero en las hojas más maduras.

La mayor parte del fósforo necesario en los cultivos anuales se absorbe durante los primeros estadios del desarrollo de las plantas. Así, en los cereales, un 80 % del P total se absorbe hasta el momento en que la planta posee un 25 % de su materia seca total. La nutrición fosforada del resto del follaje y las raíces se realiza mayormente a expensas de la redistribución posterior.

POTASIO

Así como el N y el P, el K se redistribuye fácilmente de los órganos maduros a los más jóvenes, y los síntomas de deficiencia se observan primero en las hojas inferiores, más viejas. En las dicotiledóneas, estas hojas se vuelven al principio algo cloróticas y rápidamente comienzan a desarrollarse lesiones necróticas dispersas. En muchas dicotiledóneas, así como en los cultivos de cereales, las células de los márgenes y ápices de las hojas son las primeras en morir, necrosis ésta que se expande hacia las partes más bajas de la hoja y finalmente se observa en casi todo el largo del borde. En el maíz (*Zea mays* L.) y otros cereales deficientes en K se desarrollan cañas débiles y sus raíces son más fácilmente infectadas por microorganismos causantes de podredumbres. Estas anomalías hacen a la planta más susceptible de volcarse por el viento o la lluvia.

A diferencia del N y del P, el K no forma parte estructural estable de ninguna molécula dentro de las células de la planta, a pesar de lo cual, cosa sorprendente, la planta necesita grandes cantidades de este elemento para un crecimiento y desarrollo normales. Es un elemento esencial porque actúa como activador de muchas enzimas. En su ausencia, éstas no pueden actuar como catalizadores eficaces para las reacciones metabólicas. La síntesis de proteínas es un proceso que requiere grandes cantidades de potasio, aunque la exacta reacción química en que interviene no ha

sido aún definida con certeza. Esto probablemente explique el hecho, conocido desde antaño, de que las plantas deficientes en K tienen un contenido bajo en proteínas, pero rico en los aminoácidos que forman parte de ellas.

Una de las enzimas activadas por el K es la piruvato-cinasa de la respiración, en la cual el elemento se halla muy fuertemente unido en forma iónica a la molécula de la enzima y le hace adquirir una estructura tal que le permite actuar como catalizador, con lo cual determina que se produzca la degradación normal de los glúcidos. También es mayor la relación polisacáridos/monosacáridos de las plantas deficientes, lo que indica que el potasio es esencial para la formación de compuestos de alto peso molecular.

CALCIO

Buena parte de este elemento se encuentra en la planta dentro de las vacuolas, donde a menudo precipita como cristales de oxalato de calcio. A veces se encuentran depósitos sólidos de oxalato de calcio y aun de carbonato de calcio a lo largo de los haces vasculares de las hojas, y en algunos casos probablemente se forman sales de calcio insolubles con iones sulfato y fosfato. También se encuentra calcio en las paredes celulares, donde se cree que forma sales relativamente insolubles al reaccionar con los ácidos pécticos de la laminilla media. Se piensa que esos pectatos de calcio actúan cementando entre sí las células de un tejido, lo cual de ser cierto, podría explicar por qué la deficiencia de calcio causa una inhibición notoria en el crecimiento de brotes y también la muerte de los ápices de las raíces, donde la división celular es más activa. El tabique que divide dos células hijas constituye la laminilla media y es rico en sustancias pécticas. Posiblemente el Ca desempeñe una función esencial en su síntesis y estabilidad. Atribuir este papel al Ca concuerda con la obser-

vación de que ciertos hongos y algas unicelulares que no poseen laminilla media requieren muy poco calcio.

En las plantas superiores el calcio es necesario también en las membranas para mantener sus estructuras normales y sus características diferenciales de permeabilidad. Por último, el Ca es parte esencial de la α -amilasa, la enzima que hidroliza el almidón.

En algunos casos las plantas pueden crecer con niveles relativamente bajos de calcio. En un experimento con plantas de poroto (*Phaseolus vulgaris* L.) éstas crecieron muy bien cuando el contenido de las hojas era sólo de 210 ppm (0,021 %) y el de las raíces de 350 ppm. También se pudo cultivar plantas sanas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) y maíz (*Zea mays* L.) con contenidos muy bajos de calcio. Para obtener plantas normales en soluciones nutritivas con muy bajo contenido de calcio es necesario reducir el nivel de algunos otros cationes como Mg, Cu y Fe, pues de otro modo éstos resultan tóxicos. Un suministro elevado de Ca puede ayudar a desintoxicar la planta de otros elementos, como ocurre con el exceso de cobre.

Algunas enzimas, como la amilasa, parecen requerir calcio como activador; pero en otros casos se ha observado que, por el contrario, tiene poco efecto estimulante, posiblemente por interferencias debidas al magnesio.

MAGNESIO

Este elemento parece desempeñar por lo menos dos papeles importantes en las plantas verdes. Es parte integrante de la molécula de clorofila y por ello esencial, y en su ausencia se desarrolla clorosis entre las nervaduras, comenzando por las hojas viejas. Las raíces y los microorganismos que carecen de clorofila también requieren Mg, pero en estos casos su principal función es la activación de numerosas enzimas. Se conoce, por ejemplo, su

acción sobre las que actúan en reacciones que utilizan la energía del ATP (cinasas). Probablemente el Mg se combine con el ATP, facilitando así la ruptura de los enlaces. También actúa como activador de algunas enzimas del ciclo de Krebs (véase el capítulo IV), en la activación y síntesis de ácidos grasos, en la síntesis de nucleótidos purínicos y en muchas otras reacciones individuales.

También es esencial que haya cantidades apropiadas de Mg para mantener la estructura de los ribosomas, orgánulos subcelulares que llevan a cabo la síntesis de proteínas.

AZUFRE

El S se absorbe como ion sulfato bivalente. Se metaboliza en las raíces sólo en la medida en que ellas lo necesitan para su propio metabolismo, y la mayor parte del SO_4^{2-} se traslada como tal a la parte aérea. Allí se incorpora a compuestos orgánicos para dar productos azufrados de los cuales, los más importantes, son los aminoácidos de cuya molécula forma parte. Estos son incorporados a las proteínas, algunas de las cuales contienen grupos -SH en sus sitios de actividad enzimática. Entre otros compuestos importantes que contienen azufre se hallan la coenzima A y las vitaminas tiamina y biotina.

No se encuentran con frecuencia deficiencias de S en las plantas cultivadas, pues la mayoría de los suelos están bien dotados de sulfatos, pero los síntomas consisten en un amarillamiento generalizado en todas las hojas afectadas. El S no se redistribuye fácilmente desde los tejidos maduros, por lo cual las deficiencias se suelen notar primero en las hojas más jóvenes.

ELEMENTOS MICRONUTRIENTES

HIERRO

Las plantas deficientes en hierro se caracterizan por el desarrollo de una

pronunciada clorosis internerval, similar a la causada por las deficiencias de Mg, pero en las hojas jóvenes. El Fe es muy poco móvil en la planta, tal vez porque está precipitado como óxido insoluble o en forma de fosfatos orgánicos o inorgánicos. Existen evidencias de que se trata de formas de precipitación débiles, pero quizá se produzcan otros compuestos insolubles similares. Una vez que el átomo de Fe ha sido incorporado a un órgano, su redistribución es extremadamente limitada.

No se conocen bien las razones por las que una deficiencia de Fe se traduce en una rápida inhibición de la formación de clorofila, a pesar de que este problema ha sido estudiado con gran detenimiento. Muchos investigadores creen que el Fe es un activador esencial para una o más de las enzimas que catalizan las reacciones que intervienen en la síntesis de ese pigmento.

El Fe es esencial tanto en las células fotosintéticas como en los organismos que carecen de clorofila. Forma parte de la molécula de los citocromos, que actúan como transportadores de electrones en la fotosíntesis y la respiración, y cuya posible función como transportadores de iones será tratada más adelante (véase página 259). También forma parte esencial de otro transportador de electrones fotosintético, llamado ferredoxina, y quizá de la nitrato-reductasa, una de las enzimas que interviene en la reducción de los nitratos a iones amonio. En los citocromos y la ferredoxina, el Fe se reduce y oxida del estado férrico al ferroso y viceversa, y esto puede demostrarse en la nitrato-reductasa. El Fe funciona también como activador de otras enzimas.

Algunas plantas presentan problemas de clorosis de Fe en suelos calcáreos, por lo cual se han hecho muchos esfuerzos para explicarla (véase también la pág. 272). La teoría más simple es la que señala que el CO_2Ca del suelo vuelve al hierro tan insoluble que las plantas no logran absorber cantidades suficientes. Sin embargo, en algunos casos

se encontró que las plantas que sufren este tipo de clorosis tienen un contenido total de Fe igual (y a veces superior) al de las plantas normales. Eso indicaría que no es la cantidad de Fe presente en la planta la que determina su estado nutricional, sino posiblemente una fracción activa de aquél. Es posible que parte del Fe de esas plantas esté inactivado, precipitado o confinado en un compartimiento en el cual no puede cumplir su función normal. La forma en que influye el carbonato de calcio (o el ion bicarbonato) en este proceso aún no se encuentra claramente dilucidada.

MANGANESO

El manganeso existe en el suelo en varios estados de oxidación, pero se considera que se absorbe mayormente como ion bivalente. Parece ser que el elemento en ese estado es más estable en la planta. No son muy comunes las deficiencias de Mn, pero a veces se presentan junto con una deficiencia de Fe. Esto ocurre cuando hay exceso de CO_2Ca en el suelo, especialmente en la fracción denominada "calcáreo activo".

Los síntomas iniciales consisten a menudo en una clorosis internerval en las hojas viejas o jóvenes, según las especies, asociada con lesiones necróticas. Por medio del uso de la microscopía electrónica se observó, en los cloroplastos de la hoja de espinaca (*Spinacia oleracea* L.), que la ausencia de Mn causa una desorganización del sistema de laminillas, pero que tiene poco efecto en la estructura del núcleo y mitocondrias. Esto sugiere que el elemento desempeña un papel estructural en el sistema de membranas del cloroplasto.

Se sabe que el manganeso activa muchas enzimas, algunas de las cuales son también activadas por el Mg, y ésta es una función importante en las plantas. Por ejemplo, actúa sobre varias enzimas que participan en la síntesis de ácidos grasos, así como sobre las responsables de la formación de los ácidos ribonucleicos y desoxirribonucleicos y sobre las del ciclo de Krebs, que decarboxilan y oxidan el ácido isocítrico.

También se encuentra directamente relacionado con la fotosíntesis, pues participa en la reacción por la cual el agua se desdobra y libera O_2 . Aquí probablemente actúa como un transportador de electrones. Además, podría desempeñar una función directa como catalizador de alguna reacción no determinada en la síntesis de la clorofila, pues su ausencia provoca clorosis.

BORO

El boro se absorbe del suelo principalmente como ion BO_3^- soluble. Las deficiencias no son comunes, pero se conocen algunos casos que producen la desintegración de los tejidos internos, como en los tallos de la acelga (*Beta vulgaris* var. *cycala* L.) y el apio (*Apium graveolens* L.), o en el fruto del manzano (*Pyrus malus* L.).

Las plantas deficientes en boro muestran gran variedad de síntomas, según las especies, pero la muerte de los meristemas apicales del tallo y las raíces es algo que se observa casi siempre en las afectadas. En algunas, los extremos de las raíces se toman romos. El B es bastante inmóvil y se redistribuye muy pobremente de un tejido u órgano a otro. En contraste con otros elementos esenciales, la función del B en las plantas no está aún bien definida. Se ha sugerido que actúa en el traslado de hidratos de carbono y está bien establecido que el movimiento de azúcares por el floema es realmente reducido cuando el nivel de B es bajo. Parece ser, sin embargo, que este elemento tiene también

otras funciones, como por ejemplo favorecer la germinación del polen y el crecimiento del tubo polínico.

CINCO

Entre las anomalías que se producen más comúnmente por carencia de Zn se encuentran la llamada "hoja pequeña" y el "arrosamiento" en manzanos (*Pyrus malus* L.), durazneros (*Prunus persica* L.) y pecanes (*Carya pecan* Engler y Graeb), que consisten en una gran reducción del tamaño de las hojas y de la longitud de los entrenudos. Los márgenes de las hojas tienen a menudo una apariencia deformada y arrugada. A menudo aparecen clorosis internervales en las hojas de algunos árboles frutales, bastante comunes en cítricos, lo que sugiere que el Zn participa de algún modo en la formación de la clorofila. El retraso observado en el crecimiento del tallo en ausencia de Zn probablemente se deba al hecho que éste elemento es necesario para la formación del ácido indolacético, hormona natural de crecimiento en las plantas.

El cinc es también parte esencial de ciertas enzimas cuyas funciones se conocen bien. Ellas son las deshidrogenasas alcohólica, láctica y glutámica, y ciertas peptidasas como la carboxipeptidasa. Si a estas enzimas se les elimina el Zn por medio de un agente quelante (véase pág. 272), éstas se vuelven inactivas y algunas llegan a desdoblarse en subunidades más pequeñas.

COBRE

Las plantas raramente presentan deficiencias de Cu. Los síntomas de carencia de cobre son conocidos principalmente a través de los estudios con soluciones nutritivas en las cuales no se lo ha incluido, puesto que son muy pocos los suelos con deficiencia de este elemento. Las hojas jóvenes se tornan a menudo de un color verde oscuro y re-

torcidas o deformadas, y suelen presentar puntos necróticos. Los montes cítricos son ocasionalmente deficientes, y en casos extremos puede producirse la muerte de las hojas jóvenes.

El Cu se absorbe principalmente como ion cúprico o cuproso. Probablemente exista en las plantas sobre todo en forma cúprica, a pesar de que sufre oxidaciones y reducciones alternadas, pues actúa como transportador de electrones, principalmente con enzimas llamadas polifenoloxidasas. Forma parte de la plastocianina, un compuesto que integra la cadena fotosintética de transporte de electrones, y tal vez de la nitrato-reductasa. Podría también desempeñar un papel catalítico en la fijación de nitrógeno y en otros procesos químicos de la planta.

MOLIBDENO

El Mo existe en el suelo mayormente como ion molibdato y como MoS_2 , pero no se sabe si puede ser absorbido en esta última forma. En los estudios con soluciones nutritivas se lo suministra generalmente como molibdato. No se conocen los compuestos con los que reacciona en la planta, excepto que es activo en el estado hexavalente. Sus funciones mejor conocidas son las de transportador de electrones cuando está presente en ciertas enzimas necesarias para convertir el nitrato a ion amonio, particularmente la nitrato-reductasa. Sin embargo, debe desempeñar algún otro papel, pues muchas plantas cultivadas con fertilizantes amoniacales aun requieren Mo.

Es también esencial en el proceso de fijación simbiótica del nitrógeno atmosférico.

La mayoría de las plantas requieren menos cantidad de molibdeno que de cualquier otro elemento, pero las deficiencias de Mo están geográficamente muy extendidas. Los síntomas consisten a menudo en una clorosis intersticial que primero aparece en las hojas más

viejas y luego va progresando hacia las más jóvenes. En muchos otros casos el síntoma coincide con el de deficiencia de nitrógeno, especialmente cuando el suministro de este último elemento se hace en forma de nitrato.

CLORO

El cloro se absorbe del suelo como ion cloruro y probablemente permanezca en esa forma en la planta, sin pasar a formar parte estructural de moléculas orgánicas. Los síntomas de deficiencia, descubiertos hace muy poco tiempo, consisten en marchitez de las hojas, que luego se vuelven cloróticas y necróticas y adquieren a veces un color bronceado. Las raíces se acortan y engrosan cerca de los extremos.

La función conocida del cloro en las plantas es la de estimulación de la fotosíntesis. Parece actuar como activador enzimático para una o más reacciones en las que el agua se desdobla y se libera oxígeno, pero el mecanismo de la reacción no está bien determinado. El hecho de que las raíces muestran también síntomas de deficiencias, sugiere una función adicional de los iones cloro.

COMPARTIMENTALIZACION

Como se ha visto (capítulo II), la célula vegetal tiene una estructura compleja que contiene orgánulos con subestructuras propias, así como zonas con cierto grado de inestabilidad en el citoplasma. Las diversas especies químicas y los elementos no están distribuidos en forma homogénea dentro de cada célula, sino que se encuentran diferencias entre distintas zonas. Estas "zonas" de diferente concentración intracelular de solutos reciben el nombre de *compartimientos*, y su existencia da lugar al estudio de los fenómenos de "comparti-

mentalización" celular. Los distintos compartimientos tienen una composición química característica dentro de ciertos límites y de acuerdo con las condiciones de vida de la célula.

La importancia de la compartimentalización se hace evidente si se recuerda que las reacciones químicas en el organismo sólo se realizan cuando las sustancias reaccionantes y las enzimas se encuentran en un mismo compartimiento físico. Por otro lado, la expresión *compartimiento químico* denota las distintas especies químicas en las cuales puede hallarse un elemento. Por ejemplo, puede hablarse de fósforo citoplásmico para determinar su existencia en un compartimiento físico, o de fósforo esterificado con hexosas, que indica su ubicación en un compartimiento o reservorio químico.¹ Como ejemplo de formas de compartimentalización del fósforo puede mencionarse que, en muchos tipos de células parenquimáticas, su mayor parte se encuentra en forma orgánica y sólo una fracción pequeña está en forma de ortofosfato. Los distintos compuestos orgánicos fosforados se hallan, a su vez, compartimentalizados en distinto grado. Así, el ADN² se encuentra casi totalmente en el núcleo, mientras que el APG³ se encuentra principalmente en el citoplasma y en los cloroplastos. Por su parte, la mayor parte del fósforo inorgánico se halla en la vacuola. Todos estos conceptos tienen implicaciones fundamentales en el metabolismo y en el pasaje de las sustancias de un compartimiento a otro. Muchos procesos bioquímicos dependen de esos fenómenos de pasaje, que ponen en contacto o separan sustancias reaccionantes, enzimas y cofactores, re-

gulado así el metabolismo. En general, cuando se use el término "compartimiento" éste se referirá a un compartimiento físico.

La célula en su conjunto puede, a su vez, ser considerada como un compartimiento con respecto a su medio exterior. Al estudiar los mecanismos del pasaje de las sustancias a través de membranas celulares, deberá tenerse siempre presente que la entrada de moléculas o iones en la célula modifica el nivel existente en el compartimiento celular al cual se incorporan, lo cual puede traer como consecuencia una redistribución, es decir un cambio en las compartimentalización.

El "análisis compartimental", o estudio de los compartimientos en que se encuentra un determinado elemento o compuesto, puede realizarse en ciertos casos por métodos directos. Así, por ejemplo, en algunas células gigantes como las de ciertas algas [*Nitellopsis obtusa* (Desv.) Groves, y *Halicystis oculis* (Lyngbye) Areschoug], que poseen una gran vacuola, el contenido de ésta puede ser fácilmente extraído por medios mecánicos y analizado. En algunos casos hasta puede ser reemplazado por un medio de composición conocida, y sus cambios determinados en el curso del tiempo en función de diversos factores ambientales o metabólicos. Los distintos orgánulos pueden asimismo ser separados por centrifugación diferencial de células desintegradas.

Cuando estos métodos directos no son posibles, pueden usarse otros indirectos, tal como el estudio cinético de entrada o salida de una molécula o ion determinado al medio exterior. Cuando la célula o tejido se coloca en un medio en el cual la sustancia que se estudia está ausente (método de lavado), se registra una cierta pérdida de la sustancia por el tejido. En el caso más simple, en el que cada célula constituiría un compartimiento único, la disminución del contenido de esa sustancia tendría una cinética igual a la de una

¹ Se utiliza mucho la expresión *ingress pool*, que significa aproximadamente "depósito" o "reservorio".

² ADN: Acido desoxirribonucleico.

³ APG: Acido fosfoglicéico.

reacción de primer grado¹, cuya representación semilogarítmica es una recta (fig. 95a). Cuando los resultados muestran una representación gráfica distinta de una recta, se entiende que la sustancia se encuentra en las células en más de un compartimiento. El número de compartimientos puede determinarse por extrapolación de la parte recta final de la curva, que representaría al compartimiento de salida más lenta, y por sustracción de éste y extrapolación posterior, el otro o los otros compartimientos. Todos los tejidos dan curvas de tipo multicompartmental.

mente al medio exterior sin interferencias de los otros, se puede también conocer por este método el valor λ^1 de cada compartimiento.

La determinación del número de compartimientos y su tamaño relativo por este método no permite saber cuáles son éstos, y el estudio debe ser complementado con otros métodos.

EL ESPACIO LIBRE APARENTE

Si se sumerge en agua un tejido o célula vegetal que ha estado en una so-

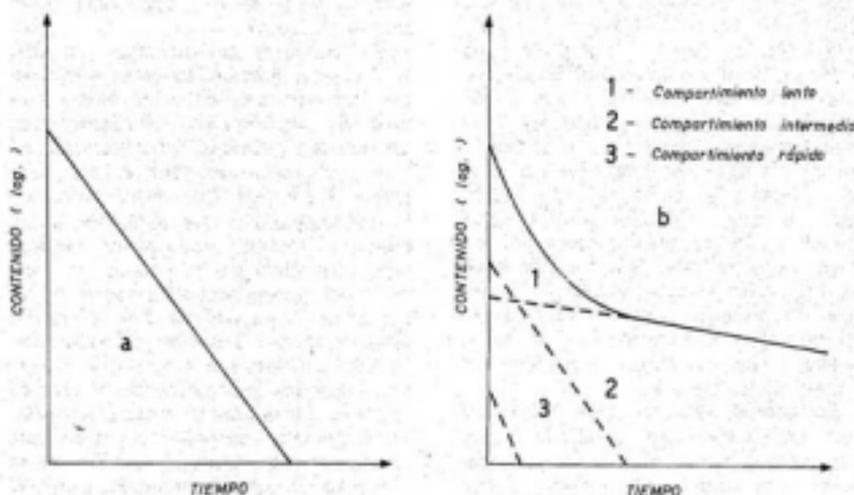


Figura 95. Curva de "lavado" de una sustancia endógena en un sistema con un compartimiento (a) y con varios (b). Véase el texto para mayores aclaraciones.

Aceptando ciertos supuestos, como por ejemplo que cada uno de los compartimientos se estén vaciando directa-

lución salina, se observa la existencia de un compartimiento que deja salir su contenido en un tiempo muy corto (alrededor de 30 minutos). Al volver el tejido a la solución original por un lapso similar, y someterlo luego a un segundo lavado, se observará que la "recarga" y nueva descarga de ese compartimiento son igualmente rápidas. A la parte del tejido ocupada por ese com-

¹ En una reacción de primer grado, la cantidad de sustrato presente (S) en cualquier momento es función sólo de la cantidad preexistente de él (S_0) y del tiempo transcurrido, de modo que $S = S_0 e^{-\lambda t}$, donde λ es la constante de desaparición del sustrato en función del tiempo (t).

partimiento se la ha llamado "espacio libre aparente" (E.L.A.) por cuanto su rápido equilibrio con el medio exterior sugiere la existencia de un pasaje libre de solutos en ambos sentidos. El calificativo "aparente" deriva de las dificultades iniciales que se encontraron para determinar sus características, volumen relativo y localización subcelular, y su peculiar comportamiento con respecto a iones de distinto signo. Luego de un período de incubación en una solución salina, por ejemplo cloruro de potasio, un lavado del tejido con agua destilada demuestra que en los primeros 30 minutos el tejido cede más iones Cl^- que iones K^+ . Si el lavado se realiza en una solución salina diferente, como $(\text{NO}_3)_2\text{Ca}$, en vez de hacerlo en agua destilada, se recobran cantidades aproximadamente iguales de ambos iones (Cl^- y K^+). La conclusión es que el K^+ se encontraba adsorbido¹ en sitios poseedores de cargas negativas. En las paredes celulares y en la laminilla media existe un gran predominio de las cargas negativas, debido principalmente a los grupos carboxílicos libres (disociados) de las pectinas. Esta consideración indica, en principio, que el E.L.A. comprende, total o parcialmente, la pared celular y los espacios intercelulares en el caso de los tejidos.

El estudio de este compartimiento arrojaba inicialmente resultados muy dispares en cuanto al espacio que ocupaba, pero actualmente se acepta que éste es del 10 - 15% del volumen del tejido, el cual prácticamente coincide con el de las paredes celulares y espa-

cios intercelulares, principalmente los primeros. Por medio de un método de análisis compartimental directo se pudo aislar las paredes celulares intactas de células gigantes de algas, las cuales se comportaron luego, en experimentos de lavado, igual que el E.L.A. de células intactas.

Los iones que se encuentran retenidos por cargas fijas del E.L.A. constituyen un sistema Donnan¹ cuyos grupos cargados no difusibles forman parte de la estructura. La fracción del E.L.A. que retiene cationes de este modo constituye el espacio libre Donnan (E.L.D.). Al resto del E.L.A., en el cual existe libre difusión, se lo llama espacio libre acuoso (E.L.Ac.).

En las raíces de estructura primaria, el E.L.A. comprende las paredes y espacios intercelulares del parénquima cortical. Se considera que el cilindro central no es libremente accesible a los solutos del medio exterior debido a la banda de Caspari, que torna impermeables las paredes de las células de la endodermis. De este modo puede pensarse que toda célula del parénquima cortical de la raíz se encuentra en contacto con una solución equivalente a la del medio exterior. Esta afirmación presenta ciertas limitaciones: por ejemplo, si las células exteriores absorben iones de su cercanía inmediata y la concentración de la solución es baja, es posible que esto determine una disminución en la concentración que alcanzan los iones en las adyacencias de las células más internas de la corteza. Por otra parte, se ha hecho notar que la banda de Caspari presenta ciertas imperfecciones, sugirién-

¹ La adsorción es un fenómeno de superficie causado por una atracción entre las moléculas de la superficie adsorbente y las adsorbidas, debido a fuerzas similares a las que causan la condensación de un gas para formar un líquido, o fuerzas de Van der Waals. En el caso de los iones existe una atracción electrostática entre los iones adsorbidos y las cargas de signo contrario en la superficie adsorbente. Su energía, medida en raíces, es de 600-1600 cal mol⁻¹ para distintos iones mono y bivalentes, respectivamente.

¹ Un sistema Donnan es aquí el en el cual a ambos lados de una membrana hay iones que pueden difundir a través de ella, excepto uno (en el caso más simple) que se encuentra de un solo lado y no puede pasar porque las propiedades particulares de esa membrana no se lo permiten. El equilibrio al que se arriba finalmente es el llamado equilibrio Donnan. En el equilibrio, la distribución de los iones difusibles es desigual.

dose que el E.L.A. podría llegar hasta el cilindro central.

La idea general predominante es que esta última posibilidad es muy pequeña y su significación fisiológica igualmente reducida.

LA CAPACIDAD DE INTERCAMBIO CATIONICO DE LAS RAICES

La observación de que las raíces poseen cierta capacidad para fijar iones en forma intercambiable coincide con la descripción hecha del espacio libre Donnan.

Se ha observado que la capacidad de intercambio catiónico (C.I.C.) de las raíces presenta valores relativamente constantes para cada especie vegetal, si bien éstos difieren mucho entre las especies. Primariamente clasificadas éstas en plantas de alta y baja C.I.C., se encuentran ciertas correlaciones entre esos valores y algunos aspectos de la nutrición mineral.

Si se toma como ejemplo de plantas de alta C.I.C. (entre 30 y 45 meq/100 g de materia seca) a las leguminosas, y de baja C.I.C. (10 a 20 meq/100 g) a las gramíneas, se observa que las primeras tienen un alto contenido de calcio mayor que el de potasio cuando su crecimiento es normal, mientras que con las gramíneas sucede a la inversa. Más aún, la capacidad de absorción de Ca de las leguminosas es mayor que la de las gramíneas cuando se mantienen plantas de ambas especies con bajos niveles de suministro, mientras que las gramíneas se comportan de ese modo con el potasio. En general, las leguminosas tienen preferencia por los cationes bivalentes y las gramíneas por los monovalentes.

Estas correlaciones aún no han sido bien clarificadas por lo que atañe a su posible mecanismo de acción; pero, como se verá en las páginas siguientes, ninguna teoría sobre el mecanismo de

absorción de iones toma en consideración la C.I.C. de las raíces.

Algunas de las razones para no asignar mayor importancia a la C.I.C. en el proceso de absorción son las siguientes:

a) la selectividad en la absorción de iones en general (véase página 259) es diferente de la selectividad de los sitios de intercambio, que siguen la llamada serie *liotrópica* (común con distintas resinas de intercambio sintéticas); b) la C.I.C. está radicada fundamentalmente en las paredes celulares, mientras que los procesos de incorporación al citoplasma de las células se desarrollan en el nivel de la plasmalemma; c) la absorción es un proceso relativamente lento en comparación con el de intercambio, que es prácticamente instantáneo.

Estas objeciones han llevado a la convicción casi general que la C.I.C. no tiene influencia directa en los procesos de absorción, y que mientras no se encuentren relaciones de causa y efecto entre las características nutricionales de las plantas con su C.I.C., estas correlaciones deben ser consideradas como meramente circunstanciales.

MECANISMOS DE ABSORCION DE LOS NUTRIENTES

PROCESOS DE DIFUSION

La idea que prevaleció durante muchos años para explicar la entrada de elementos minerales en la planta fue la de que éstos difunden del medio acuoso exterior hacia el interior de las células. El proceso de difusión está regido por la ley de Fick:

$$J = -D \left(\frac{dc}{dx} \right)$$

donde J: flujo, cantidad de sustancia que difunde por segundo, perpendicularmente a un área de 1 cm².

$\frac{dc}{dx}$: gradiente de concentración entre dos puntos situados a una distancia x .

D : coeficiente de difusión, propio de cada soluto y solvente. Su signo negativo en la fórmula indica un movimiento del soluto con un gradiente negativo de concentración.

Esta ecuación es similar a la del flujo de carga eléctrica (proporcional a la diferencia de potencial, de acuerdo con la ley de Ohm) y a la del flujo de calor (proporcional al gradiente de temperatura). La ecuación es válida solamente en condiciones de temperatura constante.

El proceso de difusión se debe a la energía cinética de las moléculas, o energía térmica, que para cada temperatura está dada por la expresión:

$$E = kT$$

donde k : constante de Boltzman ($1,38 \times 10^{-16}$ erg grado⁻¹).

y T : temperatura absoluta.

La energía de las distintas moléculas en un sistema dado no es la misma, sino que existe una distribución normal (curva de Gauss) entre ellas, y kT es la energía promedio. Como la energía es una función lineal de T y el proceso de difusión una función de esa energía, se puede predecir el efecto de la temperatura sobre el proceso de difusión. A 20°C (293°K), un cambio en la temperatura de ± 10 causará un efecto de $10/293$, o sea de aproximadamente 3% que es un valor muy pequeño que muchos métodos de medición no pueden detectar. El coeficiente térmico de un proceso o Q_{10} se ha definido antes como:

$$Q_{10} = \frac{V_{T+10}}{V_T}$$

donde V_T : velocidad del proceso a la temperatura T .

V_{T+10} : velocidad del proceso a la temperatura $T + 10$.

El Q_{10} del proceso de difusión sería, entonces, a las temperaturas ordinarias aproximadamente: $\frac{293 + 10}{293} = 1,03$, o

sea ligeramente superior a la unidad. Los Q_{10} , medidos para diversos solutos en agua, son en realidad más elevados debido a las interacciones entre el solvente y el soluto. Para numerosos iones, un valor de aproximadamente 1,2 se considera válido. La difusión es, por lo tanto, casi insensible a los cambios de temperatura, dentro de los límites en que las plantas se desenvuelven.

En lo que respecta a la constante D , ésta tiene un valor determinado para cada combinación de solvente y soluto. Cuando la difusión se realiza a través de una membrana, entra en juego un nuevo factor que es la permeabilidad de ésta.

PERMEABILIDAD DE LAS MEMBRANAS

El término "permeabilidad" expresa la facilidad relativa de pasaje de las sustancias a través de una membrana. Inicialmente, la permeabilidad de las membranas se explicaba en función del tamaño de los poros existentes presumiblemente en ellas, como en el caso de las membranas inertes (no biológicas). La diferente permeabilidad de algunas membranas celulares a distintas sustancias (no iónicas) podría explicarse en algunos casos por este mecanismo, especialmente en el de las moléculas pequeñas. Esta teoría se conoce con el nombre de "tamiz molecular" y su origen se remonta a 1867, año en que la formuló el biólogo alemán M. Traube. Hacia 1895, Overton propuso la teoría que se conoce con su nombre —según la cual en las células vivas la permeabilidad de muchas sustancias orgánicas está relacionada con su solubilidad relativa en un medio lipídico— y señaló que los solutos del medio exterior podrían disolverse en los constituyentes

lipóideos de la membrana celular, como primer paso en su proceso de absorción. En los casos en que los fenómenos de permeación se realizan conforme a alguna de las dos teorías expuestas, las cantidades absolutas absorbidas de las distintas sustancias pueden a su vez modificarse notablemente, según varíen las condiciones del proceso. Así, por ejemplo, la presencia de calcio en el medio generalmente restringe la permeabilidad, mientras que el sodio y el potasio la aumentan.

El efecto de la hidratación del protoplasma sobre la permeabilidad arroja resultados contradictorios. Un alto grado de hidratación podría incrementar la permeabilidad al aumentar el tamaño de los poros de las membranas, pero también puede considerarse que el "hinchamiento" de los componentes hidrofílicos de la membrana misma podría bloquear parcialmente los poros. En realidad, los resultados obtenidos no permiten sustentar ninguna de las dos ideas, excepto con respecto a las células en condiciones de plasmólisis, en las que se manifiesta un aumento en la permeabilidad a muchas sustancias.

Algunas sustancias tóxicas pueden causar variaciones en la permeabilidad cuando actúan en concentraciones relativamente bajas; pero cuando se daña al citoplasma hasta una situación cercana a su muerte, se observa siempre un aumento de la permeabilidad. Esto indica que esta propiedad está directamente relacionada con el metabolismo de las células, pues pierden toda selectividad tan pronto como cesa la producción metabólica de energía.

Las teorías que hemos visto carecen casi totalmente de validez en cuanto al pasaje de sales minerales por las membranas, hecho que ocurre generalmente en forma iónica. La única generalización posible es que con los iones monovalentes se observa una mayor rapidez de pasaje que con los bivalentes, y con éstos, más que con los trivalentes; pero esta afirmación se encuentra condicionada por los numerosos factores que in-

fluyen en la absorción de iones por las plantas, de lo cual se tratará más adelante.

En general, el concepto de permeabilidad, tal como ha sido considerado aquí, deja traslucir la idea de que las membranas "permiten" pasar sustancias a través de ellas en mayor o menor medida. Ello implica que, de no existir la membrana, esas sustancias se habrían trasladado con una velocidad generalmente mayor. Si bien esto es exacto en ciertos casos, tal concepto de la permeabilidad no contempla las situaciones en las cuales las membranas "ayudan" a pasar, proceso que describiremos a continuación.

ABSORCIÓN METABOLICA DE IONES¹

En el mecanismo de difusión ya descrito, el proceso ocurre en forma espontánea. El cambio de energía libre en el proceso es:

$$\Delta G = -RT (\ln C_1 - \ln C_2)$$

Por esa razón, el proceso de difusión sólo puede explicar situaciones en las cuales la concentración de iones en el medio exterior es mayor que en el tejido vegetal. Tales casos se presentan en los tejidos vegetales con algunos elementos minerales en las condiciones en que prevalecen normalmente en la naturaleza, pero no con la mayoría de ellos. En esas condiciones, el proceso de difusión podría sólo ocurrir con un flujo en la dirección contraria, es decir con una pérdida de solutos hacia el medio. Este fenómeno ocurre efectivamente en cierta medida, pero entonces es necesario considerar otros mecanismos para expli-

¹ El término iones se usa indistintamente con las expresiones "elementos minerales" y "sales", por cuanto los elementos minerales se encuentran en el medio en forma de sales, y éstas están disociadas y son absorbidas las formas iónicas.

car la absorción, por medio del uso de la energía metabólica de las células.

Un importante paso en el estudio de estas situaciones fue el descubrimiento, realizado en 1923 por los investigadores Hoagland y Davis, de que el jugo vacuolar de las algas del género *Nitella* contenían elementos minerales en concentración muy superior a la del agua del estanque en el cual crecían y de cuyas sales se nutrían. Los "factores de concentración", o sea la relación entre la concentración de un ion en el jugo vacuolar y la del agua del estanque, tenían valores de aproximadamente 10 para el magnesio, 870 para el fósforo, y mucho mayores aún para el potasio. Este último elemento era casi indetectable en el estanque, y sin embargo alcanzaba una concentración de 2,1 ‰ en la vacuola. En otra clase de estudios se demuestra el mismo fenómeno mediante el corte de tallos de plantas jóvenes y la recolección del exudado del xilema producido por presión radical. Una comparación del contenido de diversos elementos minerales en el exudado con el de los nutrientes del medio en que las plantas crecen revela factores de concentración muy superiores a la unidad, los cuales aumentan notoriamente cuando la concentración en el medio exterior disminuye. Estos fenómenos no pueden explicarse como procesos espontáneos, infiriéndose, por lo tanto, la existencia de una relación con otros procesos que aporten energía.

El fisiólogo sueco Lundegårdh fue el primero que encontró una relación cuantitativa entre una función metabólica, la respiración y la absorción de iones por las raíces. Este investigador midió la respiración en raíces aisladas de trigo en un medio libre de sales, y encontró que cuando se agregaba al medio una sal, la respiración aumentaba y la sal comenzaba a absorberse.

A la respiración en ausencia de iones Lundegårdh la llamó "respiración básica", y el incremento observado durante la absorción recibió el nombre de "respiración salina". Si durante el período de absorción se agregaba al medio un inhibidor de la cadena de electrones

(véase el capítulo IV) como el cianuro, en una concentración adecuada (10^{-4} M), la respiración disminuía hasta su nivel básico y la absorción se detenía (véase la fig. 96). Estos hechos indujeron a Lundegårdh a proponer una teoría sobre el mecanismo de absorción de iones. Esta teoría propone que los citocromos de la cadena respiratoria actúan como "transportadores" de iones a través de la membrana celular. Considera que entre el lado externo y el interno de la membrana existiría un gradiente de potenciales de óxido-reducción, merced al cual los citocromos transportarían electrones hacia el exterior, y que el oxígeno sería su acceptor final. Este gradiente dependería de diferencias en la presión de oxígeno entre ambos lados de la membrana. Los citocromos podrían difundir dentro de la membrana, y reducirse y oxidarse sucesivamente. Al quedar un citocromo oxidado junto al borde externo de la membrana podría ligar un anión (en lugar del electrón cedido al oxígeno) y transportarlo hacia el lado interno, o pasarlo a otro citocromo y posiblemente a un tercero hasta ser "descargado" finalmente dentro de la célula.

La teoría de Lundegårdh propone que sólo los aniones son absorbidos por este mecanismo, y que luego son incor-

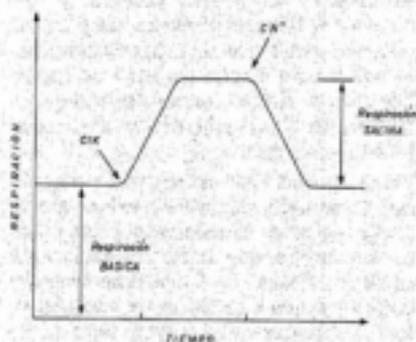
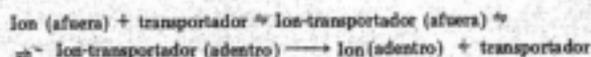


Figura 96. La respiración salina (escala arbitraria).

porados los cationes en forma pasiva como consecuencia de la concentración de cargas negativas acumuladas en la célula por la entrada de aniones, por atracción de cargas contrarias.

Es de interés hacer notar que la respiración salina se prolonga durante muchas horas, incluso después que las raíces dejan de estar en contacto con la solución salina (y cuando la absorción, por consiguiente, ha cesado). Esta teoría, por las importantes aproximaciones que tiene con los conocimientos actuales, sirvió de base para las interpretaciones posteriores.

Como ya se ha visto, en el proceso de difusión el desplazamiento de moléculas o iones es proporcional al gradiente de concentraciones siempre que el coeficiente de permeabilidad de la membrana no sufra alteraciones. Se ha demostrado, en cambio, que cuando la concentración en el medio exterior aumenta, el incremento en la absorción se hace proporcionalmente menor y la curva que expresa esa relación llega a valores asintóticos. Esta relación se adapta bien a la idea de que existe una sustancia transportadora que, en el exterior de la membrana, se combinaría con un ion para formar un complejo, el cual descargaría luego el ion en el lado interno. El esquema sería, pues:



Esa secuencia de hechos y la curva mencionada que la caracteriza serían similares a la relación entre enzima y sustrato en una reacción enzimática, donde el transportador, al igual que la enzima, quedaría saturado con el sustrato a altas concentraciones.¹ Si esta

¹ La formación de un complejo ion-transportador no es la única explicación compatible con una curva de absorción que alcanza un valor máximo con el aumento de la concentración. También si los iones pasaran a través de poros pequeños en la membrana, y esos poros existieran en número limitado de modo que los iones

explicación es correcta, la absorción diferencial de los distintos iones podría explicarse por la existencia de distintos transportadores, más o menos específicos, que podrían tener una diferente afinidad por su correspondiente ion y, presumiblemente, un distinto número de recambio.

Acceptada la necesidad del uso de la energía del metabolismo para impulsar la actividad del transportador, ésta podría teóricamente emplearse: a) en la formación del complejo; b) en el movimiento del complejo; y/o c) en la separación del ion de su transportador (véase la fig. 97). La suposición más co-

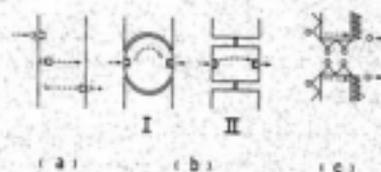


Figura 97. Esquema de los mecanismos propuestos respecto del transporte de iones a través de las membranas celulares: a) transportadores que difunden en la membrana; b) transportadores que cambian de posición (I y II) en el mismo lugar; c) transportadores que funcionan por extensión y repliegue de moléculas de proteínas. Los círculos corresponden a los iones.

riente es que a) y b) no requieren el uso de energía metabólica, porque el primer paso puede explicarse como formación espontánea del complejo, y el segundo como consecuencia de la energía térmica (rotacional o vibratoria, figura 97, a y b) de la partícula del complejo. Por otra parte, la fuente de energía está fundamentalmente radicada en el lado interno de la célula y allí

pasaran en "fila india", llegaría un momento en que se saturaría el número de poros y se alcanzaría un máximo.

podría ser utilizada para la destrucción del complejo y la liberación del ion del lado interno de la membrana.

Muchos hechos avalan la teoría de los transportadores. Establecida una similitud entre el modo de operación del transportador y la acción enzimática, la representación gráfica de la recíproca de la velocidad de absorción en función de la recíproca de la concentración (representación doble recíproca de Lineweaver y Burk, figura 98) debe dar una recta, como realmente ocurre.

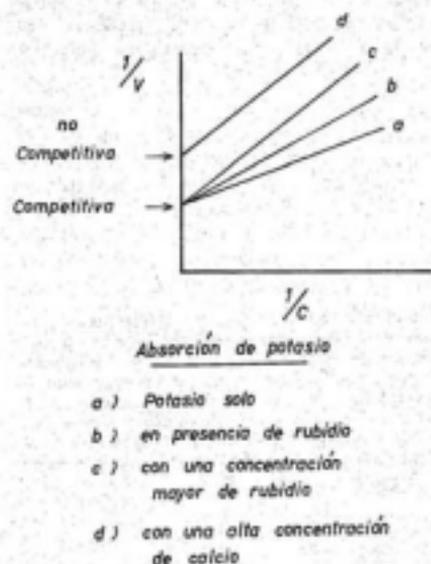


Figura 98. Representación doble recíproca de la absorción en función de la concentración (escala arbitraria).

Además, en presencia de inhibidores competitivos¹ se obtiene otra recta cuya intersección con el eje de las ordenadas es el mismo; es decir que la velocidad máxima de absorción no resulta

¹ Inhibidor competitivo es aquel que tiene una semejanza con el sustrato en su estructura molecular, lo que le permite ocupar su lugar en el sitio activo de la enzima y competir por él.

afectada. Ese es el caso de la absorción de potasio en presencia de rubidio o de cesio (fig. 98). Esa interacción es mutua, lo cual permite suponer que esos tres iones se absorben por acción de un mismo transportador.

Los hechos descritos permiten explicar la existencia de fenómenos de "antagonismo" entre distintos elementos. Los diversos iones presentes en el medio circundante de la planta influyen mutuamente en su absorción, y cuanto más especies iónicas hay en el medio más complejas resultan las interacciones. En soluciones de una sola sal, los cationes tienden a absorberse más cuando el anión acompañante es de absorción rápida, y viceversa. Cuando dos o más especies iónicas del mismo signo están presentes, se observan interacciones de antagonismo o de sinergismo. Se ha encontrado, por ejemplo, que los aniones químicamente relacionados entre sí se interfieren en su absorción de manera antagónica, mientras que aquéllos no relacionados se comportan de diferente manera. La absorción de cloruro, por ejemplo, es menor en presencia de bromuro y de yoduro, pero no resulta afectada (e incluso puede ser estimulada) por la presencia de fosfato o nitrato. El sulfato y el selenato son antagónicos, e igualmente lo son el arseniato y el fosfato.

La acción estimulante del nitrato y el fosfato, que se observa en algunos casos, probablemente pueda ser explicada por su efecto beneficioso sobre el metabolismo. Así, en las plantas de maíz deficientes en fósforo, la absorción de nitrato disminuye notoriamente debido, posiblemente, a la reducción general que la deficiencia causa en los varios procesos de síntesis en los que se utiliza el nitrógeno.

La representación doble recíproca ofrece un medio para explicar la naturaleza de los antagonismos entre iones del mismo signo, siempre que la hipótesis básica (la existencia de los transportadores) sea correcta, e incluso la inhibición de naturaleza no competitiva,

en cuyo caso la intersección de la recta con la ordenada (fig. 98) se verifica a valores de $1/V$, mayores que en ausencia del inhibidor.

Al igual que en las reacciones biológicas con energía de activación, el coeficiente térmico (Q_{10}) de los procesos de absorción es elevado cuando el metabolismo está implicado en el mecanismo. Es importante que esta afirmación —intervención del metabolismo— se haga en esos términos, y no se afirme, sobre la base de ese sólo criterio, que la absorción es activa, pues existe una clara distinción entre ambos conceptos. La definición más reciente de transporte activo exige que la energía sea utilizada

lo constituye la absorción del ion calcio. En las plantas de cebada (*Hordeum vulgare* L.) y poroto (*Phaseolus vulgaris* L.), los Q_{10} hallados para la absorción de ese ion se encuentran en una amplitud de 1,00 a 1,58. La absorción de calcio es, además, insensible a la presencia de inhibidores del metabolismo como el dinitrofenol y el p-cloromercuribenzoato¹ (PCMB). (Véase el capítulo IV.) Este hecho constituye otro criterio que permite desligar la absorción del calcio del metabolismo energético celular. El cuadro 2 muestra datos comparados de la absorción de calcio y potasio a distintas temperaturas y efectos del PCMB.

Cuadro 2: Efecto de la temperatura y el p-cloromercuribenzoato (10^{-3} M) sobre la absorción de Ca y K en plántulas de cebada (*Hordeum vulgare* L.), en 14 horas a la oscuridad. Ambos elementos fueron suministrados como cloruro.

Elemento y concentración	Absorción mmoles/100 g mat. seca		Q_{10}	24 C + PCMB	% inhibición por PCMB
	0° C	24° C			
Ca 10^{-3} M	0,0109	0,0146	1,03	0,0141	3,2
K 10^{-2} M	0,0400	0,1500	1,84	0,0166	89,0

directamente en el pasaje del ion por la membrana. Así pues, un metabolismo activo que resultara en una disminución de la concentración de la forma iónica por incorporación a un compuesto o a un compartimiento subcelular, determinaría una disminución de la actividad de ese ion en el citoplasma, restableciendo continuamente las condiciones para la absorción por simple difusión. Es posible, aunque no existe coincidencia absoluta al respecto, que la absorción de fosfato en algunas circunstancias esté mediada por ese mecanismo.

Contrariamente, un Q_{10} bajo, en el proceso de absorción, indica un mecanismo pasivo. Un ejemplo de esta clase

La absorción de potasio, en cambio, aparece ligada al metabolismo celular, a juzgar por los mismos parámetros (cuadro 2). Los efectos de la temperatura y de los inhibidores sobre el proceso de absorción permiten encontrar relaciones entre éstos y el metabolismo general de la planta, pero sería erróneo afirmar sobre esa sola base que un cierto ion se absorbe activamente.

¹ El dinitrofenol desacopla la reacción $ADP + P_i \rightarrow ATP$ de la cadena de electrones sin disminuir el consumo de oxígeno, el cual incluso aumenta. El PCMB inhibe las enzimas que tienen grupos -SH activos.

LA NATURALEZA DE LOS TRANSPORTADORES

La proposición de Lundegårdh, en el sentido de que el sistema de citocromos actuaría como transportador de aniones, tiene el valor teórico de sugerir la existencia de un mecanismo de transportadores, pero éstos no pueden ser los citocromos por varias razones. En primer lugar, una cuidadosa separación de partículas subcelulares revela que el sistema citocrómico se encuentra fundamentalmente en las mitocondrias. Habiendo sido claramente demostrado que el espacio libre aparente de las células comprende solamente la pared celular y los espacios intercelulares, el transportador debería hallarse en la plasmalemma, requisito éste que los citocromos no cumplen. Otro aspecto es que existen evidencias de que la respiración está ligada a la absorción de iones por la producción de ATP (véase el capítulo IV.) y no por el consumo de oxígeno. Cuando la raíz se trata con dinitrofenol y cesa la fosforilación oxidativa, la absorción de iones se reduce considerablemente. Este hecho demuestra que el ATP es el activador del mecanismo de absorción activa y que el transportador no es el sistema citocrómico. Por otra parte, si fuere el citocromo terminal el que, al entregar el electrón al oxígeno, se ligara a un anión, la relación entre los aniones absorbidos y el O_2 consumido sería de 4 por molécula de oxígeno, siempre que la eficiencia del sistema fuese máxima. Pero los hechos no avalan la hipótesis, pues se han hallado valores experimentales de hasta 10 aniones absorbidos por molécula de oxígeno consumido en la respiración.

Existen más razones que no permiten aceptar que los citocromos sean transportadores de iones. Si una sola clase de transportador fuese responsable de la absorción de los diversos aniones, éstos competirían entre sí en todos los casos al ser suministrados simultáneamente. Como hemos visto anteriormente, esto

no siempre es así, pues no hay una clara inhibición de tipo competitivo entre el sulfato y los halogenuros (aunque sí de éstos entre sí), ni entre sulfato, nitrato y fosfato.

Tampoco puede la teoría de los citocromos explicar que los iones se absorban como consecuencia de una actividad respiratoria anterior; pero se ha demostrado que esto es posible, y puede comprenderse fácilmente si el ATP acumulado actúa como activador del sistema.

En este punto del planteo es lógico preguntarse cuál o cuáles serían los transportadores de iones. La respuesta es hasta hoy desconocida. Se han propuesto diversas hipótesis, ninguna de las cuales ha sido demostrada fehacientemente. Según una de ellas, que está de acuerdo con muchos hechos conocidos, el transportador podría ser la lecitina. La molécula de lecitina, provista de cargas que podrían formar enlaces iónicos con aniones y cationes, está dotada de afinidad con los lípidos de la membrana y podría luego ser hidrolizada en el lado interno y descargar los iones transportados.

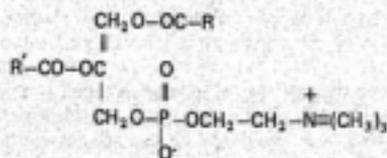


Figura 99. Estructura de la molécula de lecitina. Los radicales (R) indican estearato o palmitato.

La lecitina se regeneraría luego a partir de su producto de hidrólisis (el ácido fosfatídico), y se formaría primero acetilcolina y, a partir de ésta, lecitina. La formación de la acetilcolina requiere la energía de un ATP. En esta teoría, el transportador sería una molécula de existencia real en la membrana, con características compatibles con la función propuesta y con un mecanismo que su-

pone la utilización de ATP en un paso del proceso, pero la viabilidad de la teoría no constituye prueba de su veracidad. Del mismo modo podrían concebirse otras hipótesis no menos compatibles con los hechos conocidos.

Otra teoría sugiere que en la membrana podrían existir proteínas dotadas de una capacidad de extenderse y replegarse como un fuelle, las cuales, fijas en un extremo, podrían ligar iones en el otro al extenderse y liberarlos luego de contraerse, proceso éste que estaría activado por el ATP.

Los caminos que la investigación recorre actualmente en la búsqueda del sistema transportador van en un sentido inverso: se trata de encontrar, en las membranas celulares, enzimas con actividad de ATPasas¹ para luego determinar su afinidad con los diversos iones, su necesidad de cofactores y otras características que permitan determinar su posible intervención en el proceso de absorción de iones.

CRITERIO ABSOLUTO DEL TRANSPORTE ACTIVO O PASIVO

Cuando una célula o un tejido alcanza un equilibrio con su medio exterior, es decir cuando no hay flujo neto de iones en ningún sentido (siempre habría flujos de igual magnitud y distinto signo), se pueden estudiar las condiciones de ese equilibrio. El trabajo de Hoagland y Davis fue un esfuerzo en ese sentido, del cual sacaron las conclusiones que ya hemos visto. Sin embargo, son necesarias otras consideraciones para extraer conclusiones sobre la naturaleza del proceso de absorción por la mera relación de concentraciones.

Se ha encontrado que existen diferencias de potencial eléctrico entre el interior de las células vegetales y su medio

exterior. Esto se ha confirmado en muy diversos tipos de células. Cuando un microelectrodo se introduce en la vacuola de una célula y se mide su potencial, invariablemente se encuentra que la célula tiene carga negativa con respecto al medio. Valores de 50 a 200 milivoltios son típicos de diversas clases de células y situaciones.

Cuando se trata de los factores de concentración de moléculas sin carga, la existencia de esos potenciales no tiene ninguna implicación directa en su pasaje a través de la membrana; pero en el caso de iones, la existencia de un exceso de cargas negativas en el interior de la célula puede justificar la entrada de cationes que tiendan a neutralizarlas. La distribución por mecanismos pasivos no tendería, entonces, a la igualación de los potenciales químicos a ambos lados de la membrana, sino de los potenciales electroquímicos, o de la actividad electroquímica, que se define como:

$$a = a_0 e^{(zFE/RT)}$$

- donde a = potencial electroquímico
 a_0 = actividad electroquímica de un valor cero arbitrario
 e = base de los logaritmos naturales
 z = número de cargas del ion
 F = El Faradio (=96,500 coulombios)
 E = potencial eléctrico respecto al cero correspondiente a a
 R = constante de los gases
 T = temperatura absoluta

La actividad electroquímica así definida no tiene interés en sí, sino la diferencia de actividades electroquímicas, que puede ser medida con cierta facilidad en algunas células.

Si el movimiento es estrictamente pasivo, en el equilibrio el cociente es

$$\frac{a \text{ (afuera)}}{a \text{ (adentro)}} = e^{(zFE/RT)}$$

En el caso particular de una molécula que no tenga carga, es decir que su $z =$

¹ ATPasas: enzimas que hidrolizan el ATP en ADP y P inorgánico.

0, todo el exponente es igual a cero (con lo cual E pierde toda importancia) y el segundo término será igual a la unidad, con lo cual nuevamente se han igualado los potenciales químicos, tal como lo prevé la ley de Fick. Si los valores a (adentro) / a (afuera) hallados no son equivalentes a $e^{(zF E/RT)}$, la desviación observada debe ser atribuida a la existencia de un transporte activo. Este es el único criterio que permite por sí solo afirmar la existencia de procesos de transporte activo en el sistema que se estudia. En las células gigantes del alga *Nitellopsis obtusa* (Desv.) Groves, por ejemplo, se ha concluido que las mayores concentraciones de potasio en la célula con respecto a un medio de cultivo no obedecen a un transporte activo, sino que se explican por la existencia de un potencial eléctrico. En ese sistema, el ion cloruro sería incorporado contra un gradiente electroquímico (activamente), y el sodio, por su parte, sería activamente expelido de la célula. Esta excreción del sodio es un fenómeno característico de muchas clases de células.

La existencia de potenciales eléctricos en sí es causada por el metabolismo celular, ya que no existe separación espontánea de cargas en la naturaleza. Su posible explicación, sobre la cual no existen aún definiciones concluyentes, puede estar dada por el transporte activo de ciertos cationes hacia el interior de la célula, como el cloruro en el caso de *Nitellopsis*, o por la excreción de cationes, muy posiblemente el Na^+ y el H^+ . Este último es excretado por casi todo tipo de tejidos, y fundamentalmente por las raíces de las plantas.

Es de gran interés señalar que la absorción de potasio en *Nitellopsis*, considerada pasiva, es sensible a la temperatura y a la acción de inhibidores del metabolismo. El mecanismo más probable de este efecto sería la reducción general del metabolismo por las bajas temperaturas e inhibidores, con una disminución en la formación de ATP, el cual es indispensable para la

formación y el mantenimiento del potencial eléctrico entre la célula y el medio, como efectivamente se ha observado. Estos hechos confirman el aserto, ya expresado, de que los efectos de la temperatura e inhibidores no constituyen criterios absolutos para determinar la posible naturaleza activa del proceso de absorción.

OTROS FACTORES RELACIONADOS CON LA ABSORCIÓN DE IONES

Al tratar del mecanismo de la absorción se ha considerado ya el efecto de la temperatura, la concentración exterior, la interacción de los distintos iones y los efectos de inhibidores del metabolismo, pero hay muchos otros factores que influyen en el proceso, los cuales serán tratados separadamente.

PRESIÓN DE OXÍGENO

En ausencia de oxígeno las sales absorbidas por los procesos ligados al metabolismo resultan naturalmente inhibidos. En diversas plantas se ha encon-

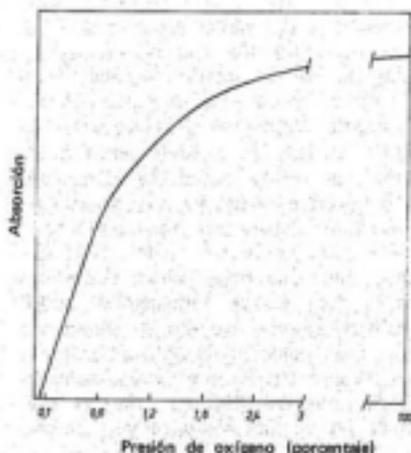


Figura 100. Relación entre la presión de oxígeno y la absorción de iones en soluciones nutritivas.

trado, sin embargo, que la presión de oxígeno necesaria para que se registre la absorción máxima no es preciso que sea equivalente a la del aire, sino que es del 2 al 3 %.

En la gradación comprendida entre 0 y 3 %, la absorción aumenta hiperbólicamente y es casi lineal entre 0 y 0,6 %, con aumentos decrecientes a partir de allí (fig. 100). Esto resulta explicable por el conocimiento que se tiene de la gran rapidez de difusión del oxígeno en el tejido radical.

ACTIVIDAD DE IONES HIDROGENO

El pH del medio afecta la absorción de varias maneras. La cantidad de iones bicarbonato, por ejemplo, aumenta en soluciones alcalinas, y esto puede conducir a una mayor absorción de cationes con un efecto similar al de un incremento de la concentración de sales. Sin embargo, si los iones bicarbonato u oxhidrilo compiten con otros aniones, por ejemplo fosfato o nitrato, con altos valores de pH, la absorción de éstos puede disminuir.

En concordancia con esto, se ha encontrado que las células de *Nitella* absorben nitrato y fosfato más rápidamente de un medio ácido que de uno alcalino. En *Elodea canadensis* Mich., la inhibición de la absorción de iones con pH alcalino fue mayor con concentraciones bajas de sales debido, presumiblemente, a que los iones bicarbonato compiten más efectivamente cuando la proporción de bicarbonato con relación a otros aniones es alta (caso de las inhibiciones de tipo competitivo; véase la pág. 259 y la fig. 96). En soluciones libres de iones bicarbonato, la absorción de nitrato es relativamente independiente del pH entre los valores 4 y 9 en esa especie; pero, en cambio, en plantas de maíz (*Zea mays* L.) decrece cuando aumenta el pH, y en ese caso se debe a la actividad de los iones hidrógeno y no a la competencia con los

iones bicarbonato, porque al variar la concentración de bicarbonato y mantener constante el pH no se modifica la absorción de nitratos.

La concentración de iones hidrógeno en el medio tiene un efecto especialmente importante en la absorción de fosfato porque, dentro de la serie fisiológica de los valores de pH, la forma iónica predominante pasa de univalente ($H_2PO_4^-$) a bivalente (HPO_4^{2-}) y, finalmente, a trivalente (PO_4^{3-}) a medida que el medio se hace más alcalino. Los estudios realizados sobre el efecto del pH en la absorción de fosfato por las plantas de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) muestran resultados concordantes con la idea de que sólo los iones fosfato monovalentes son absorbidos en cantidades apreciables. Al aumentar el pH la absorción disminuye en forma paralela a la disminución del monofosfato, y es posible que los efectos perjudiciales de la alcalinidad sobre el crecimiento de algunas plantas puedan atribuirse a su incapacidad para absorber suficiente fosfato en esas condiciones.

Un incremento en la concentración de iones H^+ del medio generalmente causa una disminución en la absorción de cationes, y esto puede atribuirse a la competencia de iones del mismo signo por los sitios activos de un transportador. Con valores de pH extremadamente ácidos, la absorción neta de sales puede verse disminuida por daño causado a las membranas celulares, lo cual resulta en un aumento de la pérdida pasiva de sales de las vacuolas.

En condiciones de campo, los efectos del pH causados por modificaciones en las condiciones del suelo se tornan predominantes. Así, por ejemplo, con valores bajos se produce una acentuada solubilización del aluminio en muchos tipos de suelos, de modo que los efectos dañinos de la acidez, observados en diversas especies, se atribuyen a la toxicidad de ese elemento. En condiciones de alcalinidad se observan muchas deficiencias (muy notables en culti-

vos de Citrus y otros frutales) debidas a la insolubilización en el suelo del fósforo, del hierro y del manganeso.

Como conclusión podría decirse que el efecto del pH en cada caso puede deberse a un mecanismo de acción diferente, pero no existe ninguna generalización válida al respecto.

LUZ

Los efectos de la luz en la absorción de sales son en general indirectos. La luz visible suministra energía para la absorción, en las plantas verdes, a través de la fotosíntesis, proceso éste que crea, además, condiciones favorables para un metabolismo activo, también asociado con la acumulación de iones. La luz surte efecto, también, sobre la apertura de los estomas, y esto influye sobre la transpiración, la cual a su vez afecta indirectamente la absorción de sales (véase la pág. 269).

Se sabe que los organismos fotosintetizadores mantenidos en la oscuridad dejan gradualmente de absorber sales y finalmente las liberan cuando los sustratos respiratorios han sido consumidos. Así, por ejemplo, se encontró que la velocidad de absorción de fósforo en las plantas de maíz disminuye hasta ser prácticamente nula luego de cuatro días de haber sido transferidas de la luz a la oscuridad, pero comienza a aumentar nuevamente tan pronto como se las vuelve a la luz. La *Nitzschia closterium* (Ehrenb.) W. San. (una diatomea marina) absorbe fosfato sólo en presencia de luz, pero puede inducirse su absorción en escala limitada si se la mantiene previamente a la luz en condiciones de deficiencia de fosfato.

SÍNTESIS DE PROTEÍNAS

En investigaciones paralelas sobre los factores que afectan la síntesis proteica y la absorción de sales en los tejidos de

reserva, se observó que existe una relación muy íntima entre estos dos procesos. Una teoría que se propone explicar esa correlación es la de que un precursor de la proteína se combinaría con aniones y cationes en la superficie del protoplasma, funcionando como un transportador anfótero. Dentro del citoplasma, el transportador sería utilizado en la síntesis de proteínas y los iones quedarían liberados.

Se ha señalado que pueden acumularse iones en las células en ausencia de síntesis neta, o aun cuando se esté produciendo hidrólisis de proteínas. Sin embargo, como la descomposición y resíntesis de proteína parece ser una característica constante del protoplasma vivo, sería concebible que este proceso pudiera estar ligado a un transporte activo en ausencia de síntesis neta. La observación de que la acumulación de iones disminuye en presencia de cloranfenicol (inhibidor específico de la síntesis proteica) en concentraciones que no afectan el consumo de oxígeno, apoya la idea expresada. El cloranfenicol, en las concentraciones usadas, no interfiere la circulación citoplásmica (ciclosis), y este hecho es de interés en relación con la teoría de absorción de iones por "plegado" y "desplegado" de cadenas proteicas. En efecto se cree probable que el "plegado" y el "desplegado" de proteínas sea el fenómeno responsable de la circulación citoplásmica. Al no ser afectado este proceso por el cloranfenicol, tampoco lo sería la absorción de iones si estuviera mediada por un proceso similar; sin embargo, lo es, por lo cual quedaría descartado ese mecanismo.

Una importante observación es la de que las células de los tejidos reservantes, inmediatamente de separadas del órgano en dormición, son incapaces de acumular sales, pero adquieren esa capacidad si durante cierto tiempo se las lava en soluciones aereadas. La adquisición de la capacidad de absorber sales se ha atribuido a la síntesis o activación de moléculas de transportadores, que re-

sultan de un aumento del metabolismo, el cual es inhibido por el cloranfenicol.

La correlación que se observa entre la síntesis de proteínas y la absorción de iones no ha sido aun interpretada, pues la relación de causa y efecto no es clara al no conocerse el mecanismo que las vincula. Una razón para dudar de la existencia de tal relación de causa y efecto es que la cinetina, hormona vegetal que favorece la síntesis de proteínas (véase el capítulo V), no promueve la absorción de iones y en algunos casos resulta inhibidora.

CRECIMIENTO

Las células que no están en crecimiento pueden absorber sales rápidamente, pero una absorción prolongada no es posible en esas condiciones. Las células maduras, que han perdido su capacidad para crecer, también tienen restringida su capacidad para absorber iones, mientras que las células en dormición, que pueden readquirir tal capacidad, son capaces de volver a absorber iones.

El fenómeno de crecimiento estimula de varias maneras el proceso de absorción de sales. Como resultado de este proceso se produce la síntesis de nuevos sitios aceptores¹ y posiblemente de moléculas de transportadores, así como el aumento del depósito (*pool*) inorgánico general. El crecimiento, a su vez, implica una activa síntesis de proteínas (véase el punto anterior), y la expansión celular da lugar a un incremento de la superficie de las membranas a través de las cuales se produce la absorción. Estos procesos tienden a estimular la incorporación de sales, con

¹ Se usa aquí la expresión "sitios aceptores" para englobar varios conceptos: moléculas orgánicas a las cuales pueden incorporarse los iones absorbidos, orgánulos o compartimientos subcelulares en los cuales pueden acumularse, y moléculas grandes o estructuras a las cuales pueden ligarse por fenómenos de superficie.

más intensidad en caso de que el contenido inicial haya sido bajo. Cuando el crecimiento por agrandamiento celular disminuye, la concentración interna de sales tiende a aumentar y la absorción decrece. Al cabo de un tiempo el metabolismo comienza a declinar y las células entran en estado de senectud o de dormición.

Las células envejecidas pierden no sólo su capacidad de absorber iones, sino que liberan los suyos al medio circundante, si bien eso ocurre también en cierta medida en los tejidos en dormición.

Existe cierta correlación entre crecimiento y absorción de sales en la planta entera. La fase de crecimiento rápido va acompañada por una fuerte absorción, y cualquier tratamiento que la reduzca produce en un plazo más o menos breve, una disminución de la absorción.

POTENCIAL AGUA DEL MEDIO

Se sabe que la absorción de iones en general ocurre más lentamente en las células que se encuentran en estado de turgencia máxima que en aquellas que tienen un grado de turgencia menor; pero, por otra parte, también con bajos potenciales agua se observa una disminución en la absorción de algunos iones. Las interacciones del estado hídrico del tejido radical y del medio tienen numerosas facetas que es necesario deslindar. En primer lugar, cuando la planta crece en el suelo, el déficit hídrico crea condiciones especiales en el suelo mismo: a) mayor concentración de solutos en la solución del suelo; b) mayor concentración de otras sustancias con posibles efectos sobre el metabolismo de la raíz; c) menor movilidad de la solución en la cercanía de la raíz; d) cambios en la actividad de la flora microbiana, etcétera. Sin duda, estos fenómenos son inseparables en sus efectos agronómicos, pero dificultan el estudio de los aspectos puramente fisiológicos,

que exigen variables controladas para su dilucidación. En los estudios con soluciones, parte de estos inconvenientes se superan, pero subsiste el problema en cuanto a la forma de someter a la planta a un déficit hídrico, con solutos que no siempre dejan de causar efectos secundarios. Reducidos los efectos secundarios, se encuentra que la acción del déficit hídrico es compleja. En el caso del fósforo —en el maíz, por ejemplo— con concentraciones comunes en el suelo (10^{-3} M) se encuentra que el efecto primario no se ejerce sobre la absorción, sino sobre el traslado del fósforo absorbido a la parte aérea de las plantas, con lo cual se induce una deficiencia de este elemento en esa parte. Si el potencial agua se mantiene bajo durante un período prolongado, la absorción también resulta inhibida. Hasta -15 bares, la acción primaria es perfectamente reversible; con concentraciones mayores o menores se presentan otros efectos de interpretación más compleja.

En las raíces de remolacha, con bajas concentraciones de fósforo (10^{-5} M), se reduce su absorción tan pronto como se inicia el tratamiento de sequía. Paralelamente disminuye la respiración y la incorporación del fósforo absorbido a los azúcares. En las mismas circunstancias, si el fosfato se encuentra en altas concentraciones en el medio (10^{-3} M), la absorción registra un sensible aumento. Estos hechos, aparentemente contradictorios, se interpretan admitiendo la presencia de dos mecanismos de absorción simultáneos, uno netamente pasivo y otro que depende del metabolismo. Las condiciones de déficit hídrico influirían para modificar la acción relativa de cada uno de esos mecanismos, inhibiendo el metabolismo (esto explica la menor absorción con bajas concentraciones de fosfato) y aumentando la permeabilidad de la plasmalemma y el tonoplasto, lo cual explicaría a su vez la rápida entrada de fósforo en las células por simple difusión con altas concentraciones. Este aumento de la permeabilidad de las

membranas con bajo potencial agua (-10 a -15 bares) opera en ambos sentidos, al tiempo que también es notablemente mayor la pérdida de sales y otras sustancias.

Generalmente, en ensayos de campo o en macetas no se mide la absorción misma sino el contenido relativo del elemento de que se trata en la parte aérea de la planta o en alguno de los órganos aéreos, parámetro que se toma como índice de la disponibilidad de ese elemento en el suelo, además de la capacidad de absorción de la planta. Estos ensayos, por su naturaleza, se llevan a cabo en períodos relativamente prolongados, por lo cual es necesario tomar en cuenta el crecimiento producido durante su transcurso y poder determinar si un mayor contenido relativo de un elemento refleja en realidad una mayor absorción o es consecuencia de una reducción en la producción de materia seca a la cual está referido. Por lo tanto, esa información, si bien valiosa, es de interpretación compleja y en ella pueden intervenir factores de otra índole, como el efecto de la sequía en la microflora asociada a la raíz.

En experiencias realizadas con alfalfa pampeana se encontró (cuadro 3) que en condiciones de sequía el contenido relativo de P, K y Ca disminuía, mientras que el de N no se modificaba.

En las leguminosas, en particular, es necesario tener en cuenta el efecto de la sequía sobre las bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno atmosférico, que es fuertemente inhibitorio. En el caso mencionado de la alfalfa pampeana (cuadro 3) pobremente nodulada, no se manifestó un efecto neto de la falta de agua sobre el contenido de N, pero en condiciones de nodulación normal se observa generalmente una disminución.

En otros casos, como por ejemplo en el maíz, la absorción de K resulta poco afectada, mientras que el crecimiento disminuye. Entonces, las plantas sometidas a sequía muestran un mayor contenido relativo de ese elemento.

Cuadro 3. Efecto de tres meses de déficit hídrico sobre el contenido relativo de nutrientes en plantas de alfalfa (*Medicago sativa* L.) pampeana (parte aérea). Testigos a capacidad de campo permanente; "stress" hídrico hasta marchitez temporal, seguida de riego hasta capacidad de campo. Estado de nodulación deficiente de las raíces.

TRATAMIENTO	PORCIENTO SOBRE MATERIA SECA			
	N	P	K	Ce
Testigos	1,60	0,12	1,20	4,00
Sequia	1,60	0,09	0,90	3,25

El déficit hídrico puede también tener efectos indirectos sobre la absorción y el traslado en el xilema. Al disminuir la transpiración, el ascenso de la columna de agua y solutos por el xilema se torna más lento. Si la entrada en el xilema estuviere determinada exclusivamente por procesos de difusión, o si el metabolismo sólo actuara para equilibrar las concentraciones con más rapidez, sin modificar el estado final, la absorción y traslado seguirían fielmente las variaciones en la transpiración. En esas circunstancias, los distintos tejidos ubicados entre un elemento del xilema y el exterior de la raíz se comportarían como una prolongación del xilema hacia el medio exterior. Esas condiciones se presentan con alguna aproximación cuando la concentración del elemento estudiado en el medio es elevada y la difusión representa el componente más importante dentro del proceso de absorción. El caso típico puede ser el calcio, el cual se absorbe principalmente por difusión, pero la tendencia expresada puede cumplirse con otros elementos. Con bajas concentraciones en el medio, prácticamente todos los elementos se alejan de ese esquema. En ensayos de larga duración realizados con soluciones nutritivas de bajas concentraciones, con períodos intercalados en los cuales las raíces se colocaron en agua destilada y se hizo coincidir, en dis-

tinta medida, con períodos de luz y oscuridad (mayor y menor transpiración), el estado de nutrición de las plantas resultó al final el mismo en todos los casos. La explicación es relativamente simple: con bajas concentraciones existe un margen mayor para la acumulación de iones en los tejidos de la raíz y en el xilema, hasta el momento en que se intensifica el movimiento ascendente, el cual lleva entonces una solución de concentración mayor. El resultado, al final de un ciclo de mayor y menor transpiración, es igual al de una continua transpiración alta.

Un posible efecto de la alta concentración de sales en el xilema durante un período prolongado sería la reducción en la absorción. Esa situación raramente se ha observado en condiciones naturales.

METABOLISMO DE ACIDOS ORGANICOS

Cuando las raíces de cebada (*Hordeum vulgare* L.) se nutren de una solución de bromuro de calcio, el jugo vacuolar posee un poder "buffer" menor que si la solución hubiera sido de la correspondiente sal de potasio. Se comprueba que en este caso, y en general, cuando se absorben más cationes que aniones aumentan los aniones de

ácidos orgánicos en el jugo vacuolar. Por lo contrario, cuando se absorbe un exceso de aniones (caso de la solución de bromuro de calcio), el contenido de ácidos orgánicos disminuye.

Se ha sugerido que la absorción desigual de aniones y cationes es la que, de alguna forma, induce los cambios en el contenido de los ácidos orgánicos para mantener la neutralidad eléctrica o las diferencias de potencial existentes. Debe puntualizarse que en la operación normal del ciclo de Krebs no se acumulan ácidos orgánicos (véase el capítulo IV); esto más bien se logra por medio de la fijación de CO_2 o bicarbonato. Al parecer, según las condiciones de pH, por ejemplo, o la clase de tejido utilizado, el CO_2 o el bicarbonato se incorporan a los ácidos orgánicos con intervención de distintos sistemas enzimáticos. En el caso de la fijación de CO_2 , el exceso de cationes absorbidos resulta balanceado con una liberación de hidrogeniones, pero cuando se absorbe bicarbonato no hay lugar a ese intercambio.

Cuando se registra una mayor absorción de aniones que de cationes ocurre, a veces, una reducción en el contenido de ácidos orgánicos de la célula y simultáneamente se observa un incremento en el cociente respiratorio. Posiblemente se trate del mismo mecanismo que opera en sentido inverso, y en ese caso no se observa liberación de hidrogeniones de la raíz al medio exterior.

Hay otras evidencias de que el metabolismo de los ácidos orgánicos y la absorción de sales están relacionados, obtenidas mediante estudios con inhibidores del ciclo de Krebs. Así, por ejemplo, el malonato, inhibidor de la deshidrogenasa succínica, inhibe la absorción de iones en las raíces, así como la respiración. El agregado de ácido málico revierte parcialmente el efecto sobre la respiración, pero la reactivación de la absorción de iones es mayor que el efecto positivo sobre la respiración y,

además, la absorción de cationes recibe un estímulo mayor que la de aniones.

La interpretación de todos estos hechos aún dista mucho de estar claramente explicada.

ABSORCION DE ELEMENTOS MINERALES EN FORMAS NO IONICAS

Existen varias formas no iónicas en que pueden ser absorbidos diversos elementos. Algunos compuestos orgánicos de peso molecular bajo, por ejemplo los aminoácidos, pueden absorberse con relativa facilidad, de modo que es posible que esta forma sea de interés en la agricultura si se considera que existe una microflora, asociada con las raíces de las plantas superiores, que puede proveer aminoácidos al medio.

La forma no iónica que mayor interés presenta para la práctica agrícola es la de los "quelatos". La palabra "quelato" proviene de una palabra griega que significa pinza. Técnicamente se refiere, en química orgánica, a una configuración en anillo que resulta cuando un ion metálico se combina con dos o más grupos dadores de electrones de una misma molécula mediante enlaces de coordinación que cierran el anillo. Los metales ligados en esa forma pierden sus características catiónicas y están menos sujetos a participar en algunas reacciones químicas. Esta propiedad los hace útiles a la agricultura como fertilizantes, pues quedan protegidos de la inactivación en el suelo y son aprovechables por las plantas. El hierro iónico, por ejemplo, resulta rápidamente fijado en ciertos suelos, y lo mismo sucede con otros metales. Por lo tanto, si bien se encuentran en el suelo no se hallan disponibles para las plantas.

Los quelatos pueden corregir o controlar las clorosis por deficiencia de hierro y algunos otros micronutrientes en las plantas. En suelos no alcalinos, don-

de existe clorosis por deficiencia de hierro, las aplicaciones de quelatos de ese elemento al suelo pueden ser razonablemente económicas. En los suelos calcáreos son utilizados cuando el valor del cultivo es elevado (plantas ornamentales). Las aplicaciones de agentes quelantes sintéticos, por pulverización sobre el follaje, no siempre han dado resultados satisfactorios.

Las plantas cloróticas pequeñas, en macetas, toman color verde luego de tres días o menos de aplicado el quelato al suelo, mientras que, en los arbustos pequeños, eso sucede luego de varios días de aplicado el agente quelante, ya sea por pulverización o por habérselo agregado al suelo. En los árboles grandes, con aplicaciones al suelo se necesitan hasta seis meses para comenzar a observar los resultados. Este lapso parece variar según el quelato empleado, pero tal vez sea más importante la cantidad de agua utilizada para llevarlos a las distintas profundidades del suelo y alcanzar toda la extensión del sistema radical. La mayoría de los árboles y arbustos se toman verdes luego de cuatro a seis semanas de esa aplicación al suelo.

En la incorporación de algunos quelatos de Fe parecen intervenir dos mecanismos. El quelato soluble de Fe puede ser absorbido por las raíces y ser trasladado como tal a la parte aérea. Existe poca probabilidad de que el Fe quede fijado en el trayecto.

El otro mecanismo consiste en la separación del Fe del agente quelante, en la superficie de las raíces, de modo que aquél queda libre para ser absorbido y transportado a través de la planta, mientras que el agente quelante podría o no ser absorbido. En cualquiera de estos dos últimos casos, el Fe debe ser separado del agente quelante por un transportador o por un proceso de quelación con una molécula quelante natural más estable.

Los ácidos ascórbico, húmico, cítrico y tartárico, así como algunos aminoácidos y muchos otros compuestos que

se encuentran naturalmente en las plantas, son agentes quelantes. Sin embargo, hay inconvenientes para aplicarlos al suelo como tales porque la estabilidad de sus quelatos metálicos es relativamente baja. En los suelos alcalinos o calcáreos, estos agentes quelantes no pueden impedir la precipitación del hierro y, además, los microorganismos del suelo los descomponen con mucha facilidad, lo cual los hace ineficaces. Algunos de esos quelatos naturales han demostrado, en cambio, que son bastante eficaces al ser aplicados en pulverizaciones sobre el follaje.

En general, la clorosis de hierro causada por suelos calcáreos se corrige parcialmente con algunos de los quelatos, pero nunca totalmente, aun cuando las plantas se tornen verdes y sus reacciones bioquímicas sean similares a las de las plantas que nunca estuvieron cloróticas.

Algunos de los agentes quelantes sintéticos de mayor uso en la agricultura son el ácido etilén-diamino-tetraacético (EDTA), el ácido etilén-diamino (di-o-hidroxifenil acético) (EDDHA) y el ácido nitrilo-acético (NTA). La estructura molecular del Fe-EDTA se indica en la figura 101.

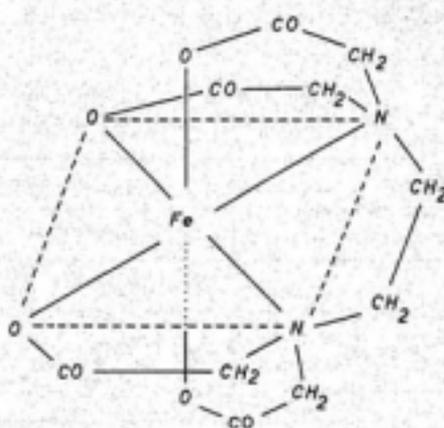


Figura 101. La molécula de quelato de hierro del ácido etilén-diamino-tetraacético (Fe-EDTA).

La forma en que los quelatos entran en la planta no está satisfactoriamente explicada. El Q_{10} de absorción de la sustancia ligante es bajo, mientras que el del Fe es elevado. Eso indica una absorción desigual de cada uno de ellos, que parece depender del pH. Si las plantas alimentadas con quelato de hierro se transfieren a un medio que no lo contiene, se observa una progresiva liberación del radical ligante por las raíces, mientras que el hierro queda retenido en la planta. Es posible que una parte del quelante sea separada del Fe en la plasmalemma de las células de la corteza radical y quede reversiblemente ligada a ella, mientras que, tal vez, el resto sea absorbido y pueda ser detectado incluso en la parte aérea de la planta.

En las plántulas de cebada (*Hordeum vulgare* L.), en condiciones de pH ligeramente ácido, mientras el ion férrico se mantiene en solución se absorbe con más facilidad en esa forma que el Fe-EDTA (cuadro 4).

El cuadro 4 indica que, por lo menos en la cebada, no existe dificultad de absorber el Fe en forma iónica, cosa que posiblemente ocurra en muchas otras especies en las cuales el problema de clorosis sólo depende de condiciones edáficas. La menor rapidez de absorción

del quelato, en este caso, ilustra acerca de la dificultad de un suministro total de hierro en esa forma.

La urea es una sustancia no iónica que presenta mayor interés en la nutrición por vía foliar, por lo cual se la trata en el punto siguiente.

NUTRICION FOLIAR

Ciertas plantas vasculares acuáticas absorben la mayor parte de sus sales a través de la superficie de las hojas, y lo mismo probablemente ocurra en algunas epífitas de regiones tropicales y subtropicales que crecen adheridas a objetos inanimados. Aun las plantas terrestres que no absorben normalmente muchas sales de este modo, lo hacen fácilmente cuando se aplican a las hojas nutrientes en solución. Esto ha conducido a técnicas de alimentación foliar que son de gran importancia en la agricultura, tanto en lo referente a macro como a micronutrientes.

En la actualidad pueden suministrarse económicamente cantidades adicionales de elementos esenciales mediante pulverizaciones sobre el follaje. La pulverización de insecticidas, fungicidas y her-

Cuadro 4. Absorción de hierro como Fe Cl₃ y como Fe-EDTA (10⁻⁴ M), durante 17 horas a 25 °C (pH 6,0), en plántulas de cebada de 10 días, en la oscuridad.

Variedad	$\mu\text{moles Fe absorbidos}/100 \text{ mg mat. seca}$					
	Quelato			Cloruro		
	Raíz	p. aérea	Planta entera	Raíz	p. aérea	Planta entera
Fetox ¹	2,80	0,082	1,23	17,0	0,245	6,73
Multan-Atlas	2,48	0,064	1,06	18,8	0,073	7,70

¹ Fetox es una mutante de la variedad Multan-Atlas, caracterizada por exceso de Fe en las hojas, obtenida en el Centro de Investigaciones en Ciencias Agronómicas, Castelar, República Argentina.

bicidas desde el aire puede combinarse convenientemente con la de fertilizantes. El hecho de que las sales minerales puedan ser suministradas de este modo cuando el cultivo posee una gran superficie foliar, asegura la absorción de un alto porcentaje de éstas y las probabilidades de pérdidas por lavado del suelo sean mínimas. Dado que es la temperatura del aire, y no la del suelo, la que controla la absorción foliar, la aplicación de sales minerales a las hojas es más ventajosa que la práctica convencional en climas fríos, cuando la temperatura del aire aumenta en primavera más rápidamente que la del suelo. Asimismo, al ser absorbidos, los nutrientes se encuentran ya en la parte aérea, con lo cual los síntomas de deficiencia visibles, de estar presentes, desaparecen en el plazo mucho menor que con la aplicación de abonos al suelo.

Entre los factores que afectan la absorción foliar se encuentran principalmente la superficie, forma y distribución de las hojas. En general, las hojas de las plantas monocotiledóneas típicas retienen líquidos sobre su superficie con menor eficacia que las de muchas dicotiledóneas, y por lo tanto su absorción también es menor. Para que las sales puedan entrar en las células de la hoja es preciso que la superficie esté en contacto íntimo con la solución, y eso depende, entre otras cosas, del contenido de sustancias grasas de la cutícula, de su rugosidad y de la tensión superficial de la solución aplicada. Existen grandes diferencias en la humectabilidad de las hojas de las distintas especies, y eso varía también según la edad de la hoja y su estado de hidratación. Se ha demostrado la presencia de capas o hebras de material hidrofílico en la cutícula de las hojas de muchas especies, que llegan a las paredes de las células epidérmicas y posiblemente hasta las membranas celulares, por lo cual se las ha denominado *ectodesmas*. Es posible que los solutos se desplacen por esa vía hacia el interior de la hoja.

La presencia de pelos o partículas de

cera tiende a disminuir la humectabilidad de la hoja al retener burbujas de aire, pero pueden mejorar la retención de una solución una vez logrado que se moje. La adición de sustancias tensioactivas o agentes mojantes a la solución promueve la absorción en algunas condiciones.

La absorción está claramente relacionada con el tiempo que la solución permanece sobre la superficie foliar, y por ende es sensible a los factores externos —como movimientos de aire, temperatura y humedad— que influyen en la evaporación, así como a la existencia de rocío, que podría redissolver los residuos no absorbidos y facilitar una absorción posterior.

Existe cierto desacuerdo acerca de la importancia de los estomas como puertas de entrada de los solutos a las hojas. Se cree que los ostíolos, aun completamente abiertos, son demasiado pequeños como para que la tensión superficial impida la penetración de soluciones acuosas. Así, por ejemplo, no se ha encontrado correlación entre el número y la apertura de los estomas con la rapidez de entrada de las soluciones de nitrato de calcio y sulfato de amonio en las hojas de los árboles de manzano (*Pyrus malus* L.). Las gotas muy diminutas pueden penetrar directamente por los estomas en la cavidad subestomática cuando se aplica una pulverización de alta presión, y en esas condiciones puede producirse una mayor absorción. Dado que una fina capa de cutícula cubre las paredes internas de la cavidad subestomática, la entrada a través del estoma no exime necesariamente a los nutrientes de atravesar esa barrera.

La mayoría de los investigadores ha encontrado que los nutrientes penetran más rápidamente en las hojas jóvenes que en las hojas maduras. Las diferencias estructurales de la cutícula y la epidermis pueden ser importantes, pero posiblemente se halle involucrada una diferencia en la actividad metabólica.

La rápida absorción inicial de ca-

ciones por las hojas y la reversibilidad del proceso sugieren que por lo menos una parte de la absorción se realiza por difusión e intercambio de iones en la cutícula y paredes celulares, las que se comportarían en forma similar al espacio libre aparente de la raíz (véase la pág. 255).

Por otra parte, la absorción de aniones es casi completamente irreversible y, a juzgar por su sensibilidad a los inhibidores metabólicos, parece depender del metabolismo en mayor medida que la absorción de cationes.

Algunos elementos son de muy difícil absorción por la vía foliar. El hierro, aun en estado ferroso, el manganeso y el calcio se encuentran entre ellos. La barrera parece encontrarse en la cutícula, porque cuando se causan pequeñas heridas por abrasión en las hojas y luego se pulveriza con SO_4Fe , a los pocos días se nota que en las partes de la hoja previamente afectadas por la clorosis aparecen numerosas áreas verdes pequeñas. Eso indica que las células del parénquima en empalizada son capaces de absorber del medio exterior cuando la barrera cuticular desaparece. Esta interpretación se ha confirmado al observar que las células aisladas de las hojas absorben Fe, Mn y Ca sin ninguna dificultad.

El N es un elemento mayor que se suministra frecuentemente por vía foliar para eliminar en forma rápida su deficiencia. Muchas plantas lo absorben bien en forma de urea —que tiene la ventaja de poseer un alto contenido relativo de nitrógeno—, pero otras lo absorben en forma limitada. La absorción de urea parece estar en relación con la presencia y actividad de la ureasa¹ en las hojas, pues en estudios comparados de numerosas especies se ha encontrado una correlación entre ambos procesos.

El hierro y el manganeso pueden ser suministrados por vía foliar en forma

de quelatos, pues generalmente son absorbidos con eficacia (véase la pág. 272).

TRANSPORTE DE NUTRIENTES MINERALES DE LA CORTEZA RADICAL HACIA EL XILEMA

Los iones absorbidos en el parénquima cortical de la raíz se mueven predominantemente en dirección transversal hacia el cilindro central. Aquellos que no quedan retenidos por otras células a lo largo de ese trayecto llegan al xilema y de allí se trasladan a la parte aérea. Una pequeña fracción pasa al floema y de allí al ápice de la raíz.

Existen dos ideas con respecto al camino que siguen los iones absorbidos hasta el xilema. Según una de ellas, los iones serían absorbidos en el citoplasma de las células exteriores del parénquima cortical, transportados de célula a célula por el "simplasma" y liberados en los elementos conductores. El término "simplasma" designa la propiedad de las células contiguas de un tejido entre las cuales hay pasaje de solutos por vía de plasmodesmas. El simplasma es, entonces, el "citoplasma continuo" o conjunto de células entre las cuales se registra un equilibrio de solutos.

Según la otra hipótesis, los iones podrían moverse libremente por las paredes celulares de todas las células de la epidermis y parénquima cortical hasta la endodermis, ser absorbidos por células exteriores tanto como por otras células del parénquima cortical, y luego ser trasladados vía simplasma hasta el xilema. Por el conocimiento que se tiene actualmente del espacio libre de las raíces, la segunda posibilidad resulta más aceptable. Es posible, sin embargo, que la superficie radical presente alguna resistencia al movimiento pasivo de sales, a juzgar por el hecho de que cuando por inmersión durante un tiempo limitado en ácido di-n-amiloacético se extrae la capa externa de células, la

¹ Ureasa: enzima que hidroliza la urea en ácido carbónico y amoníaco.

absorción de sales se realiza con mayor rapidez.

Existe aún discrepancia de opiniones sobre si los iones absorbidos son o no previamente retenidos en las vacuolas de las células del parénquima cortical, antes de ser transferidos al xilema. Actualmente predomina la opinión de que la retención en las vacuolas no es necesaria y que, por el contrario, la incorporación a éstas torna a los iones menos aptos para ser trasladados al xilema. Según esta concepción, las vacuolas competirían por los iones con el simplasma por el cual se trasladan. Por

otra parte, la acumulación en las vacuolas no implica separar a las sales del resto de la planta de manera irreversible, pues en condiciones de deficiencia, al disminuir las concentraciones en el citoplasma, pueden ser liberadas y después llegar a la parte aérea.

Como es de suponer, las raíces de plantas con bajo contenido de sales retienen una mayor proporción de las absorbidas que las plantas de contenido elevado dado que la capacidad de acumulación de las vacuolas no se encuentra satisfecha. En la cebada (*Hordeum vulgare* L.), cuando disminuye la concentra-

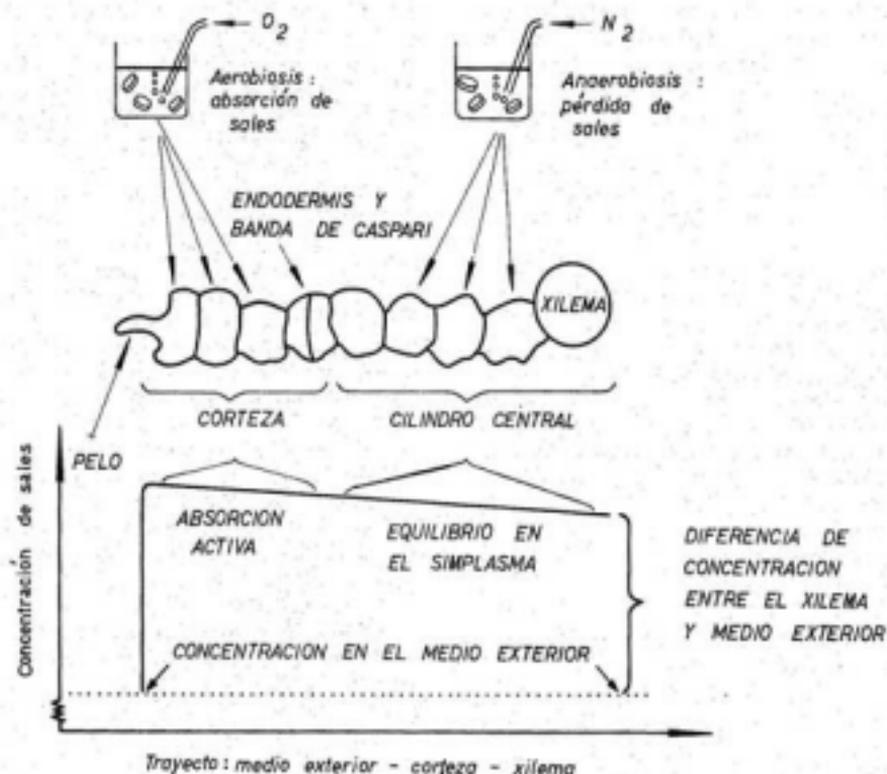


Figura 102. Esquema de los procesos por los cuales las células de la corteza absorben sales (aerobiosis) mientras que las adyacentes al xilema las liberan en él (anaerobiosis) y la curva de concentraciones (en escala arbitraria) en el medio exterior, en los tejidos de la corteza, en el cilindro central y en el xilema.

ción externa de fosfato, sólo una pequeña porción del absorbido alcanza la parte aérea.

Se han propuesto dos hipótesis para explicar la transferencia de sales del citoplasma de las células vivas del cilindro central a los elementos conductores del xilema, los cuales están desprovistos de actividad metabólica y constituyen para las células adyacentes una especie de espacio exterior. Una de las hipótesis propone la existencia de sistemas más o menos específicos de "bombeo", cuya naturaleza podría ser similar a la de los transportadores que absorben iones en las células de la epidermis y parénquima cortical. La otra hipótesis, más generalmente aceptada, sugiere que las células vivas adyacentes al xilema son incapaces de retener sales en la misma forma en que podrían hacerlo las células situadas cerca de la superficie de la raíz, debido a las condiciones de relativa anaerobiosis que existirían en el centro de ésta última, por lo cual las sales serían liberadas en el xilema (véase la fig. 102).

Hasta el presente no se ha demostrado la existencia de una deficiencia de oxígeno en el cilindro central de la raíz, aunque la suposición parece aceptable. Si las condiciones de anaerobiosis son reales, las conclusiones son necesariamente válidas, pues está comprobado que, en esas condiciones, los tejidos son incapaces de absorber y, en cambio, liberan parte de sus sales.

La viabilidad de esta teoría hace innecesario demostrar la existencia de algún sistema transportador para explicar el pasaje desde las células vecinas al xilema, lo cual sería, además, de difícil comprobación.

Sin embargo, debe hacerse una anotación sobre la teoría. El funcionamiento normal del simplasma está condicionado por la circulación citoplásmica interna de cada célula, que acelera los equilibrios en el interior de la célula y favorece la continuación del pasaje de

una a otra. La circulación citoplásmica, a su vez, está íntimamente relacionada con la provisión de ATP, con lo cual una restricción del metabolismo de las células de la raíz puede afectar el traslado de iones al xilema, aun de aquéllos que ya han sido absorbidos. Así, el PCMB, que no inhibe la absorción del calcio, inhibe su traslado a la parte aérea de las plantas.

El establecimiento de un gradiente de concentración de solutos entre el jugo xilemático y el medio externo es responsable por el movimiento de agua a través de la raíz, que conduce al desarrollo de una presión radical (véase el capítulo XII). La presión radical disminuye cuando la concentración de sales en el medio es muy baja o cuando el metabolismo de las raíces se encuentra reducido. La presencia de una presión radical demuestra la importancia de los procesos activos en el transporte de sales hacia el cilindro central.

El transporte de sales hacia el xilema tiene una característica en común con la absorción celular, que es la selectividad entre iones. Algunos, como el hierro y el manganeso, tienden a quedar más retenidos en las raíces que otros cationes, lo cual se atribuye a la formación de sales inorgánicas insolubles—tales como fosfatos o complejos orgánicos— que hacen que esos iones no estén disponibles para ser transferidos a la parte aérea. Otra explicación se basa en la distinta selectividad del tonoplasto, o sea la diferente capacidad de acumulación de la vacuola, que por retención diferencial de ciertos iones modificaría la proporción en que pueden transferirse al xilema. Los iones potasio, por ejemplo, se mueven hacia la parte aérea con preferencia a los iones sodio, que tienden a quedar atrás y acumularse en la raíz. En otros casos, la distribución de las sales entre la parte aérea y las raíces depende sólo de la discriminación entre iones que ocurre en el transporte de sales desde el exterior.

DISTRIBUCION DE LOS NUTRIENTES EN DISTINTOS ORGANOS DE LA PLANTA

A medida que la corriente transpiratoria asciende por el tallo, los iones van siendo absorbidos por los tejidos que rodean al xilema, especialmente por el cámbium, y así la concentración de solutos en los elementos conductores se reduce. Por esa razón, las hojas más altas de la planta reciben menos sales —aunque absorban la misma cantidad de agua— que aquellas situadas más abajo. A pesar de ello, el contenido de sales de las primeras tiende a ser mayor que el de las segundas. Se encontró una relación aproximadamente lineal entre el logaritmo de la concentración de fosfato en las hojas y la posición de éstas en los tallos de las plantas de poroto (*Phaseolus vulgaris* L.). Las hojas jóvenes reciben evidentemente un suministro adicional de sales que proviene de las hojas más viejas por vía del floema. Se pudo demostrar que las hojas de una misma ortóstica tienden a funcionar como una unidad nutricional, y esto está relacionado con la disposición de las conexiones vasculares entre ellas.

La mayor parte de las sales que se acumulan en los órganos de almacenamiento, como son los frutos y tubérculos, llega indirectamente de las hojas por el floema, más que con la corriente transpiratoria. La salida de sales minerales desde las hojas maduras hacia otras partes de la planta puede ser demostrada fácilmente poco antes de su caída, cuando la concentración de ciertos iones, especialmente potasio y fosfato, decae rápidamente.

Los tejidos en crecimiento compiten entre sí por el suministro de las sales disponibles. Si se cultivan plantas de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.) hasta el momento de la floración en un medio nutritivo completo, y entonces se las transfiere a un medio carente de fosfato, algunos frutos se forman a expensas del fósforo extraído de las

hojas y los tallos, pero el rendimiento que se obtiene es muy bajo. En cambio, las plantas cuyas flores se eliminan luego de transferirlas al medio libre de fosfato, alcanzan un mayor crecimiento vegetativo que aquellas a las que se les permite fructificar.

Cuando se cultivan plantas de avena con bajo suministro de fosfato se encuentra que el fósforo requerido para el desarrollo de la inflorescencia se obtiene principalmente del medio exterior, pero cuando las plantas crecen en un medio abundante y tienen por lo tanto un alto contenido de fósforo, una gran cantidad proviene de las hojas y los tallos.

Luego de una aplicación foliar, una parte de las sales absorbidas por las hojas queda retenida dentro del mismo órgano, especialmente cuando son jóvenes, y el resto se traslada al floema. Cuando se suministran pequeñas cantidades de fosfato a áreas limitadas de una hoja primaria de poroto (*Phaseolus vulgaris* L.), a las 24 horas éste puede encontrarse en las células que estuvieron en contacto con la solución de fósforo y en algunas otras adyacentes, demostrándose así que en la hoja, como en la raíz, un elemento móvil como el fósforo se traslada muy lentamente mientras la capacidad de acumulación de las células absorbentes no se encuentra satisfecha. Si en cambio se pulveriza la lámina entera de la hoja, el fósforo, a las 24 horas, se encuentra en el ápice, en el tallo y en la raíz (véase la fig. 103).

La capacidad de los órganos en crecimiento de acumular sales a expensas de los tejidos maduros es un fenómeno bien establecido, pero la razón por la cual los nutrientes son así desviados no está bien aclarada. Presumiblemente, en el tejido en crecimiento las sales se acumulan en las vacuolas o son utilizadas en la síntesis de los constituyentes celulares, de manera que la concentración de iones libres en el citoplasma se reduce y esto provoca el movimiento de sales hacia ese sitio de baja concentración desde los tubos cribosos a través

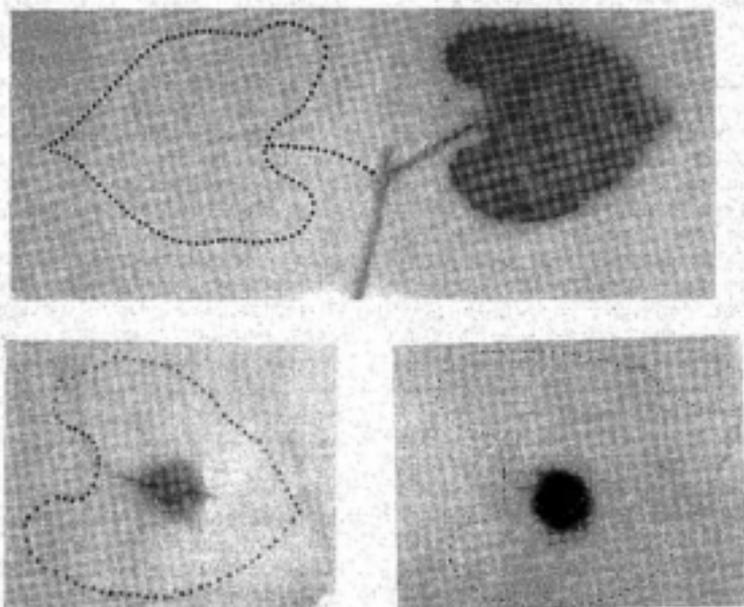


Figura 103. Autoradiografías que muestran la distribución a las 24 h del ^{32}P aplicado sobre hojas primarias de plántulas de poroto (*Phaseolus vulgaris* L.). Arriba: fósforo aplicado a toda la límina de la hoja derecha; abajo izquierda: aplicación de ^{32}P sobre la nervadura central; abajo derecha: aplicación de ^{32}P en un área internerval (véase el texto para mayor aclaración). Nótese arriba que no parece existir conexión vascular directa entre ambas hojas primarias.

de las células adyacentes. El mecanismo puede ser fundamentalmente similar al descrito respecto del movimiento polarizado de sales a través del parénquima cortical hacia el cilindro central.

Los iones calcio no se trasladan en el floema, y es por esa razón que el contenido de ese elemento en las hojas no decrece antes de su abscisión, como sucede con otros elementos. El contenido de calcio de muchos frutos es relativamente bajo debido a que el suministro depende exclusivamente de la corriente transpiratoria, que es muy lenta en dirección a esos órganos. En el maní (*Arachis hypogaea* L.), donde la transpiración es prácticamente nula debido a

que el fruto se desarrolla subterráneamente, el calcio y otros elementos los absorbe el fruto en forma directa.

Se considera que algunos elementos "circulan" en las plantas, moviéndose principalmente hacia arriba en el xilema y hacia abajo en el floema. Este fenómeno ocurre particularmente con los elementos más móviles, como el nitrógeno, el fósforo y el potasio. Cuando el suministro es alto, aquéllos no utilizados en la parte aérea se trasladan por el floema a las raíces, donde reingresan al xilema y vuelven así a circular. La recirculación de sulfato, en cambio, es muy reducida debido a su incorporación irreversible a las hojas jóvenes. El cal-

cio, por su parte, no recircula. El exceso de este elemento, que va siendo incorporado de manera casi continua con la corriente transpiratoria, se deposita como sales orgánicas en las células.

Las sales de reserva acumuladas por los tejidos son redistribuidas cuando los procesos de crecimiento aumentan la demanda. Al comienzo de la germinación, las sales pasan a la radícula y a la plúmula desde los cotiledones. Las raíces de las plántulas que crecen en condiciones de deficiencia de azufre reciben un aporte mayor procedente de los cotiledones que el que reciben cuando el azufre se suministra en una medida adecuada.

MÉTODOS EMPLEADOS PARA LA SOLUCION DE PROBLEMAS DE NUTRICION MINERAL

Se tratarán aquí aquellos problemas que se refieren al estado nutricional de las plantas en relación con la producción, y no se incluirá la metodología del estudio de los mecanismos fisiológicos.

Si el primer síntoma de una nutrición inadecuada (deficiencias en la mayoría de los casos, excesos en algunos) es una limitación en el crecimiento, este síntoma puede no ser perceptible en ausencia de un adecuado control de comparación. Los llamados "ensayos a campo" no proveen otra cosa que patrones de comparación experimentales, en los cuales se compara la cantidad y calidad de la producción en relación con tratamientos diversos de fertilización con distintos elementos, dosis, modo y momento de aplicación, y sus combinaciones posibles. Estos ensayos se realizan de acuerdo con un plan experimental y deben repetirse durante varios años para obviar la posible interacción de factores climáticos incontrolables. Se trata de una operación de en-

vergadura que generalmente no puede realizar el agricultor, excepto en pequeñas pruebas que no alcanzan el nivel de ensayos, sino que debe ser realizada por estaciones experimentales regionales con arreglo a cada cultivo. Sin embargo, todos los otros métodos que se verán a continuación, si bien son útiles en gran medida, carecen de interés agrícola si sus predicciones no resultan finalmente confirmadas en un ensayo a campo. Esto se ilustra con un ejemplo: en los naranjales de la Florida (E.U.A.) se determinó que existía una deficiencia de cinc. Los ensayos a campo realizados con aplicaciones masivas de SO_4Zn al suelo no lograron corregir la deficiencia, aun cuando se recurrió a distintas combinaciones con nitrógeno, enclado del suelo y modificaciones de su pH. Sin embargo, el diagnóstico resultó correcto y sólo se apreció su verdadera importancia agro-económica cuando se hizo el ensayo a campo con aplicaciones foliares de SO_4Zn . Es decir que existen métodos cuyos resultados tienen un valor indicativo, lo cual permite luego realizar ensayos más extensivos a campo.

Un método que permite sacar conclusiones más fácilmente es el ensayo en macetas. Las plantas se cultivan con suelo de la región en recipientes de dimensiones "adecuadas", lo que facilita un control más eficaz en la distribución de fertilizantes, del riego y de los cuidados culturales. Desde luego, este método resulta inadecuado para especies arbóreas, y su principal inconveniente reside en la falta de representatividad que en muchas ocasiones presenta la maceta con respecto al cultivo a campo, particularmente por la limitación en el crecimiento de las raíces, la imperfección del drenaje y la rapidez de los cambios en el potencial agua en la maceta.

Los ensayos a campo o en macetas con tierra permiten estudios en los cuales se agregan nutrientes al suelo, pero no permiten sustraer ninguno. Esto, en cambio, puede hacerse en cultivos en soluciones nutritivas, cuya com-

posición puede modificarse a voluntad para alcanzar la finalidad que se busca.

El cultivo en soluciones (hidroponia) permite reproducir a voluntad síntomas de deficiencia o exceso de elementos (individuales o combinados) observados a campo y determinar la posibilidad de su reversión en los distintos estadios y sus interacciones.

En el caso de los micronutrientes deben observarse cuidados especiales con la calidad del agua destilada que se utiliza en la preparación de las soluciones, porque bastan cantidades ínfimas de aquéllos para satisfacer las necesidades de las plantas, y esas cantidades pueden hallarse como contaminantes aun en agua varias veces destilada.

También es importante la clase de "soporte" que se utiliza, si éste se encuentra inmerso en la solución, como arena, vermiculita, esferas de plástico, etcétera, por la dificultad de asegurar la incontaminación.

Para predecir el probable comportamiento de un cultivo en una zona nueva puede recurrirse al análisis del suelo, pero es muy difícil que este método pueda ser utilizado correctamente a causa de las diferentes formas en que los nutrientes se presentan, ya que pueden asimilarse en diferente grado. Existen métodos de análisis de fracciones llamadas "asimilables" para las plantas, y aún así subsiste el error de considerar como si la capacidad de absorción fuese igual en todas ellas. Si estas dificultades se obvian, pueden hacerse algunas predicciones de valor. Así, se sabe que si la solución del suelo contiene 10 ppm de nitrato, en condiciones de aereación normales no habrá deficiencia de nitrógeno en los naranjos y otras especies cítricas.

También pueden hacerse determinaciones de fracciones consideradas asimilables en el suelo por medio de pruebas biológicas. El crecimiento de microorganismos o de plántulas puede dar indicios, a veces valiosos, sobre el posible comportamiento de plantas superiores adultas en el suelo estudiado.

Las limitaciones de estos métodos radican, como se expresó inicialmente, en que sus resultados deben pasar por la prueba final del cultivo a campo para tener valor agrícola, y sólo cuando esta prueba confirma los resultados éstos se consideran válidos.

Cuando aparecen síntomas visibles de deficiencia (o exceso), se los coteja con descripciones y atlas de deficiencias ya existentes respecto de numerosas especies, para determinar cuál es el elemento que provoca esa anomalía. En algunas circunstancias los síntomas sólo coinciden parcialmente con los ya descritos, y en ese caso las razones pueden ser de carácter local: la variedad empleada, la deficiencia de más de un elemento, o su modificación por factores climáticos.

Un medio sencillo de comprobar la exactitud del diagnóstico primario de los síntomas de deficiencia consiste en suministrar, por vía foliar, el o los elementos necesarios, solos, conjuntamente o en forma sucesiva, utilizando distintas formas químicas de cada elemento, con lo cual se evita desechar resultados aparentemente negativos que podrían ser erróneos. Cuando se trata de plantas pequeñas se pulverizan varias en cada tratamiento, mientras que en los árboles el tratamiento se reduce a ramas o partes de ramas, quedando el resto de la planta como testigo. Este modo de aplicar nutrientes permite obtener respuestas más rápidas que agregando el elemento al suelo, y sus resultados pueden interpretarse con más simplicidad.

Los síntomas visibles de exceso no admiten comprobaciones de esta clase, y aquí es cuando el análisis de las hojas u otro órgano es imprescindible. Los síntomas de toxicidad se encuentran, en todos los casos conocidos, en el sitio mismo donde el contenido del elemento es alto. Un ejemplo de esto (véase la fig. 104) se observa en el palto (*Persea americana* Mill), especie sensible al exceso de sodio en el suelo.

El método de análisis de plantas se realiza, por lo general, utilizando las

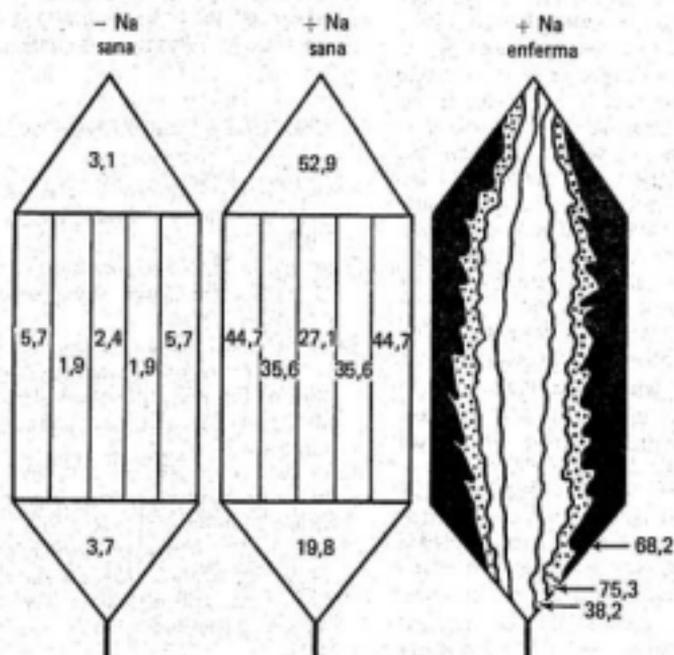


Figura 104. Síntomas de toxicidad de sodio en hojas de palto y distribución de ese elemento en las zonas afectadas de las hojas (mmoles/100 g de materia seca).

hojas, y es el único seguro para el diagnóstico de casos de toxicidad. Si se trata de deficiencias y su corrección económica, existen también otros métodos, pero el análisis es, no obstante, el más completo. Puede decirse que constituye una pregunta directa a la planta, ante la cual los otros métodos sólo dan una respuesta parcial o indirecta.

El principio en que se basa este método está constituido por dos nociones fundamentales: 1) la relación existente entre la disponibilidad de nutrientes y su concentración en los tejidos vegetales, y 2) la relación entre la concentración de nutrientes y el rendimiento. De estas dos relaciones puede formularse una tercera, que permite el uso práctico del método, y es la relación

entre la disponibilidad de elementos minerales (la cual se verifica analizando su contenido en la planta) y el rendimiento.

Hemos tratado la segunda de esas relaciones al comienzo de este capítulo. La primera de ellas se manifiesta en una curva igualmente hiperbólica, pero no se alcanza un nivel máximo en el contenido relativo de los elementos con un aumento sostenido de su disponibilidad, sino que se siguen produciendo aumentos, aunque decrecientes, y eso hace que se produzca toxicidad.

El mayor interés para la determinación de las dosis de fertilizantes radica en el sector de los aumentos decrecientes (véase la fig. 94). Los valores en esa parte de la curva indican cuál es el agregado de fertilizantes necesario para

obtener el rendimiento máximo sin entrar en el sector de consumo "de lujo". Más aún: dado que los aumentos en el rendimiento son decrecientes con el aumento del contenido, y que, además, el aumento del contenido es decreciente con el agregado mayor de fertilizante, es posible que los incrementos finales en el rendimiento no sean económicamente convenientes. Desde ese punto de vista, el "consumo de lujo económico" se alcanza antes que el "consumo de lujo fisiológico", y éste es el parámetro que debe buscarse en los ensayos de fertilización combinados con los análisis de plantas, para luego utilizar la información obtenida a fin de resolver los problemas existentes dentro de la misma área ecológica.

Parte de los estudios previos necesarios en el uso de este método consiste en la búsqueda del órgano de la planta que mejor refleje la acción del fertilizante y su correlación con el rendimiento. Generalmente, las hojas cumplen bien este requisito, pero en algunas especies pueden usarse los entrenudos

de los tallos (caña de azúcar), la nervadura central de la hoja (maíz) o los pecíolos (batata —*Ipomoea batatas* L.).

LECTURAS COMPLEMENTARIAS

- Fried, M. y H. Broeshart: *The soil-plant system*, Academic Press, Nueva York, 1967.
- Jennings, D. H.: *The absorption of solutes by plant cells*, Oliver Boyd, Edimburgo y Londres, 1963.
- Rorison, I. H.: *Ecological aspects of the mineral nutrition of plants. (A symposium of the British Ecological Society.)* Blackwell Sci. Publ., Oxford y Edimburgo, 1968.
- Sutcliffe, J. F.: *Mineral salts absorption by plants*. Pergamon Press, Nueva York, Oxford, Londres y París, 1962.
- Yoshiaki, I.: *Nutrient deficiencies of crops. In relation to inorganic nutrition*. Food and Fertilizer Technology Center, República Popular de China, 1971.

METABOLISMO DEL NITROGENO

S. O. TRIONE

IMPORTANCIA DEL NITROGENO
EN LOS VEGETALES

Las complejas moléculas orgánicas que integran el organismo vegetal consisten de seis elementos livianos: C, H, O, N, P y S. Después del C (y, obviamente, del H y el O), el N es el elemento más importante de la vida y el que presenta el metabolismo más variado. En estado reducido ($-\text{NH}_2$) forma parte de compuestos de enorme importancia en la biología como son las proteínas y los ácidos nucleicos.

Sin la presencia del nitrógeno resultaría imposible que existiese la estructura y organización del protoplasma, asiento de todo el metabolismo celular. Los ambientes internos del protoplasma, donde se produce la división del trabajo, son creados en su mayor parte por numerosos compuestos nitrogenados.

Por otra parte, la coordinación de las actividades específicas de dichos ambientes, que da lugar al comportamiento armonioso de la totalidad, se realiza casi enteramente a través de la acción de los catalizadores nitrogenados, es decir las enzimas.

El metabolismo del nitrógeno confiere a los vegetales un papel especial en la economía de la naturaleza. A diferencia de los animales, aquéllos convierten formas inorgánicas y muy

simples del nitrógeno (N_2 , NO_3^- , NH_4^+) en formas orgánicas de distintos grados de complejidad (aminoácidos, amidas, proteínas, ácidos nucleicos, etcétera). Además, tienen la particularidad, en condiciones fisiológicas normales, de no excretar casi su nitrógeno orgánico sino que, por el contrario, lo almacenan en reservorios apropiados y posteriormente lo reutilizan en nuevos procesos sintéticos.

Corrientemente, en toda consideración sobre el metabolismo del nitrógeno se estima que el curso principal de este elemento se canaliza hacia la síntesis de proteínas, producto final indispensable a partir de cualquier forma de nitrógeno rápidamente disponible. Sin embargo, debemos tener presente que una parte del nitrógeno total que contienen las plantas no se encuentra como proteína.

Una gran variedad de aminoácidos (más de 150), amidas, ureídos, derivados guanidínicos, aminas, etcétera, se encuentran en estado libre y son de gran significación en la economía del nitrógeno de la planta entera. Las bases nitrogenadas simples (colina, betaínas y aminas muy diversas) han despertado la atención por su relación con los alcaloides y compuestos complejos (fosfátidos, lípidos y otros).

Los péptidos forman un grupo de compuestos, un tanto mal definidos, que incluyen desde sustancias activas en

mecanismos celulares (p. ej. glutatión) hasta antibióticos y toxinas. Aun la producción de alcaloides y glucósidos cianogénéticos, en una pequeña proporción de las especies del reino vegetal, son canales de utilización del nitrógeno cuya significación biológica se está comenzando a entender.

Por otro lado, los procesos por los cuales se sintetizan las bases purínicas y pirimidínicas de los nucleótidos, los pigmentos fotosintéticos que contienen nitrógeno, ciertos grupos prostéticos, coenzimas, fitohormonas, etcétera son también caminos muy importantes del metabolismo del nitrógeno. Su estudio pertenece, más propiamente, al de los sistemas catalíticos de los cuales forman parte como sustancias esenciales.

Una de las paradojas del metabolismo del nitrógeno en las plantas es que, con frecuencia, éstas sintetizan muchos compuestos complejos que parecen no tener relación, o tenerla apenas, con la síntesis de proteínas. La incidencia de los factores que operan durante el curso de la evolución y que, aparentemente, producen esta situación, son todavía muy difíciles de interpretar.

En este capítulo intentaremos relacionar la química fundamental del nitrógeno con los mecanismos biológicos por los cuales éste se transforma y se utiliza, y en particular nos referiremos a los diferentes estados fisiológicos de las plantas, creados por la edad, la adversidad, los cambios nutricionales y ambientales, etcétera, que influyen sobre la actividad de este elemento.

DINAMICA DEL NITROGENO EN LA NATURALEZA

Al comenzar resultará útil delinear, muy brevemente, el proceso global de las transformaciones que sufre el nitrógeno en la naturaleza, para luego desarrollar con más detenimiento cada proceso en particular. A esta serie de

hechos que implican la circulación del nitrógeno, se la conoce corrientemente como "ciclo del nitrógeno" y es la esquematizada en la figura 105.

En la naturaleza existen dos fuentes principales de nitrógeno, una (inmediata) constituida por los nitratos del suelo y otra (mediata) que corresponde al nitrógeno atmosférico (N_2).

La forma elemental es fijada por microorganismos del suelo, de vida libre (aerobios y anaerobios), o por aquellos que viven en simbiosis en las raíces de las distintas especies. El nitrógeno fijado por las formas microbianas es reducido a amonio. Este, mediante cetoácidos producidos durante el metabolismo de los carbohidratos, pasa a una combinación orgánica en forma de aminoácido.

Por otro lado, las excreciones nitrogenadas y los microorganismos muertos, como asimismo los productos de la descomposición de los materiales vegetales, las deyecciones, los restos y cadáveres de animales, junto con las aguas de albañal y los fertilizantes orgánicos agregados, contribuyen a formar la materia orgánica del suelo.

Esta materia orgánica se descompone por la acción de una serie muy diversa de microorganismos de la putrefacción (oxidantes, amonificadores, etcétera) que, entre otros productos, liberan amoníaco por un proceso llamado amonificación. Una parte muy pequeña del amoníaco así formado puede escapar a la atmósfera, pero la mayor parte, junto con el que se agrega como fertilizante inorgánico, es retenida por las bases de intercambio del suelo.

Aunque la forma NH_4^+ puede ser absorbida por las plantas, lo común es que sufra un proceso de oxidación, pues los microorganismos nitrificantes lo convierten en nitrato, previo paso por nitrato.

El nitrato formado por este proceso (nitrificación), más el que se forma por acción de las descargas eléctricas y el que se agrega como fertilizante inorgánico, pasa a la solución del suelo. Una

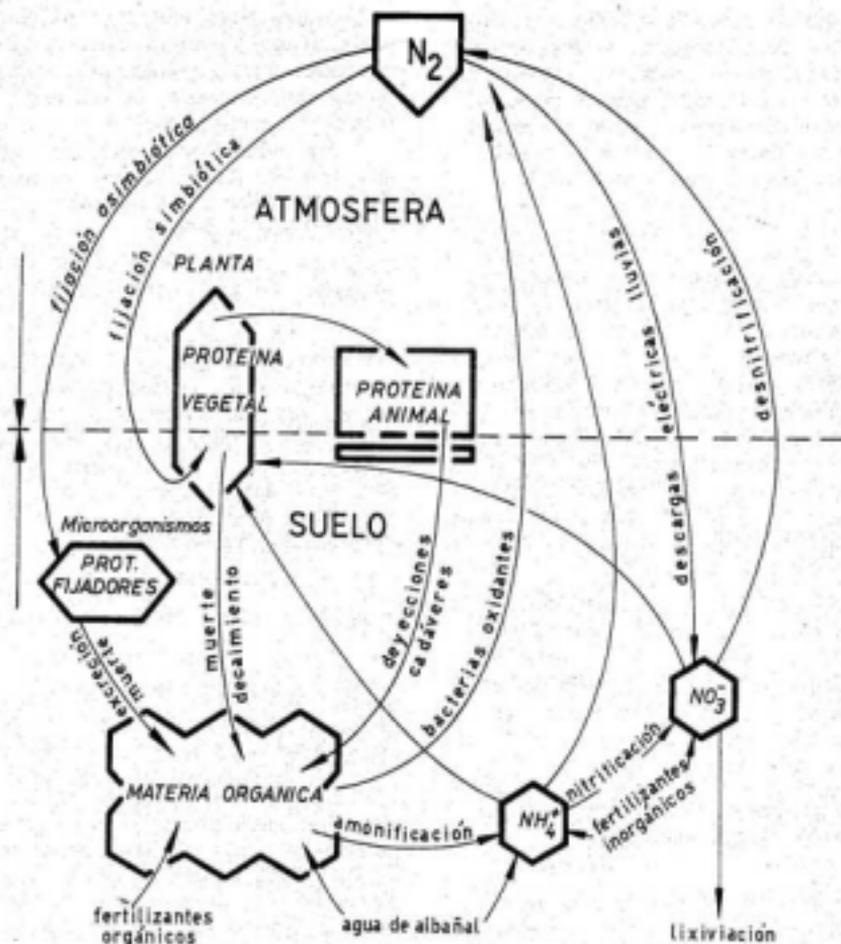


Figura 105. Ciclo del nitrógeno en la naturaleza.

parte puede lixivarse y perderse en el agua de drenaje; otra, bajo ciertas condiciones de suelo, puede ser utilizada por bacterias desnitrificantes que lo reducen a óxidos de nitrógeno y nitrógeno elemental, que escapan a la atmósfera.

Sin embargo, la mayor parte de los nitratos son absorbidos por las raíces de

las plantas, que primero los reducen a nitritos y luego a amoníaco, el cual pasa a la forma orgánica como aminoácido. Los aminoácidos forman luego la proteína vegetal que servirá de alimento nitrogenado a los animales y otras formas de vida heterótrofas.

Se considera que las pérdidas de nitrógeno en este ciclo, sea por lixivación

de nitratos, por desnitrificación o por acción de bacterias oxidantes, es compensada por el nitrógeno en estado de óxidos, los cuales se forman durante las tormentas eléctricas y son arrastrados por las lluvias.

TRANSFORMACIONES PRIMARIAS DEL NITROGENO

En este punto vamos a estudiar cómo se forma el nitrato en los suelos, cómo lo reduce la planta hasta originar el primer aminoácido (forma orgánica del nitrógeno), y de qué manera los microorganismos fijan el nitrógeno atmosférico, lo reducen a amoníaco y lo convierten en aminoácido.

Las reacciones que originan la gran variedad de aminoácidos y amidas que se forman después que el nitrógeno es convertido a la forma orgánica, serán tratadas en la página 292.

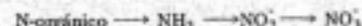
Mineralización del nitrógeno orgánico en el suelo

A pesar de que las plantas superiores pueden absorber y emplear variadas formas de nitrógeno orgánico, su nutrición nitrogenada depende principalmente de la utilización de los iones nitrato y amonio.

Debido a que las rocas madres de los suelos no son ricas en compuestos de nitrógeno, este macronutriente se encuentra en los suelos, al comienzo, en combinación orgánica. Es decir que forma parte de los materiales vegetales, animales y celulares microbianos —deteriorados y algo modificados por la acción de diferentes poblaciones de microorganismos— que constituyen la materia orgánica edáfica.

Tales combinaciones orgánicas incluyen aminoácidos libres, aminoazúcares, péptidos, complejos ligno-proteicos del humus (constituyente coloidal negro de la materia orgánica), etcétera.

Todos estos compuestos, a menos que sean absorbidos, sufren un proceso de mineralización de acuerdo con la transformación biológica:



En la etapa N-orgánico \rightarrow NH_3 , intervienen una gran variedad de microorganismos del suelo —aerobios y anaerobios—, que durante el curso de su metabolismo (acción de enzimas hidrolíticas y oxidantes) liberan amoníaco, entre otros productos, por un proceso denominado *amonificación*:

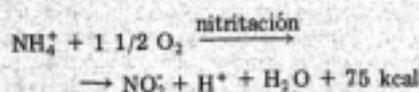


La concentración final de NH_3 o NH_4^+ formado depende de la cantidad de material carbonado de fácil descomposición. Si la relación C : N excede de 10:1 (valor casi constante debido al equilibrio entre población microbiana y suministro continuo de materia orgánica), el NH_3 no aparece porque es utilizado por los propios microorganismos para la síntesis de su protoplasma, es decir para el aumento de población.

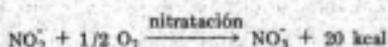
La mayor parte del NH_4^+ así formado, y el que se agrega como fertilizante, queda adsorbido en la fracción coloidal del suelo o fijado en las micelas de arcilla, si bien una pequeña parte puede escapar a la atmósfera como gas NH_3 .

El NH_3 es una forma de nitrógeno muy reducida (número de oxidación = -3) y por lo tanto contiene mucha energía, la cual es aprovechada por las bacterias quimiosintéticas que oxidan el NH_3 a NO_3^- , por un proceso denominado *nitrificación*. El primer paso de esta oxidación, o sea el pasaje de NH_3

a NO_2^- , lo lleva a cabo principalmente el grupo de las *Nitrosomonas*, *Nitrocystis* y *Nitrospira*:



El grupo de los *Nitrobacter*, *Nitrocystis*, *Bactoderma*, etcétera, completan la oxidación:



El nitrato así obtenido, igual que el agregado como fertilizante, permanece en la solución del suelo en su casi totalidad.

El proceso de nitrificación es relativamente lento, y la concentración final de nitrato que se puede alcanzar depende de varios factores:

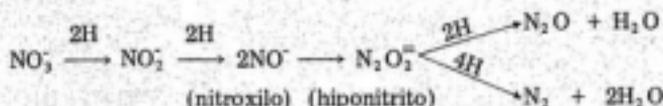
a) *Cantidad de ion amonio adsorbido en las bases de intercambio.* Puesto que las bacterias de la nitrificación se establecen sobre el NH_4^+ adsorbido, su proliferación no se puede extender más allá de la saturación de los sitios ocupados por estos cationes en la micela. En los suelos en que está agotado el amonio, dicha

buen regulador de dicho poder y mejora la nitrificación.

c) *Presencia de ciertos aminocidos libres y de sustancias bacteriostáticas y bactericidas en el suelo.* Los aminoácidos azufrados, metionina y cisteína, inhiben la acción de los nitrificadores, y lo mismo ocurre con ciertas sustancias producidas por las raíces de muchos pastos perennes.

d) *Permeabilidad del suelo y cantidad de agua de lluvia o de riego.* Como el nitrato se encuentra en la solución del suelo, las lluvias y/o riegos abundantes lo lixivian hacia las capas inferiores de éste y se pierde con el agua gravitacional.

e) *Condiciones de suelos de drenaje pobre, medio anaerobio y pH por debajo de 5,5.* Estas condiciones favorecen el proceso de desnitrificación, por el cual el nitrato es reducido a óxidos de nitrógeno y nitrógeno elemental. Las denominadas bacterias desnitrificadoras, que llevan a cabo el proceso, pertenecen fundamentalmente a los géneros *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Spirillum* y *Thiobacillus*. En la anaerobiosis utilizan el NO_3^- como oxidante terminal en lugar del oxígeno (respiración nítrica, ya que los productos de reducción no son, posteriormente, utilizados por las bacterias):



población puede disminuir, pues los organismos son autótrofos y dependen de la energía obtenida de la oxidación.

b) *pH del suelo.* El pH óptimo de nitrificación por *Nitrosomonas* es 8,5, con un límite inferior de 4,0. A medida que el proceso avanza, el pH disminuye (formación de NO_2H), a menos que el suelo posea un buen poder tampón. El CO_3Ca es un

Reducción del nitrato en las plantas superiores

Aunque cuatro grandes formas de nitrógeno estén involucradas en la asimilación de este elemento por las plantas (N-orgánico, N_2 , NH_4^+ y NO_3^-), con propósitos prácticos podemos considerar que la nutrición nitrogenada de la planta se basa en la utilización de los ni-

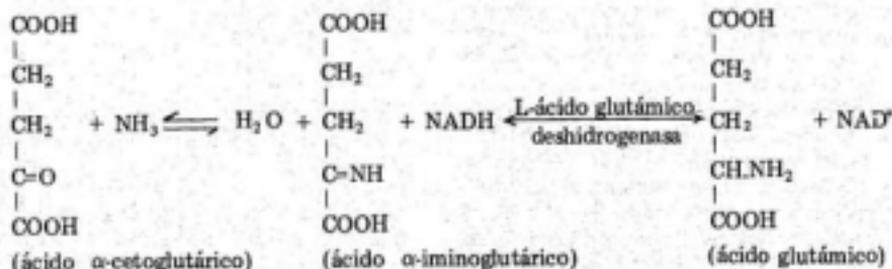
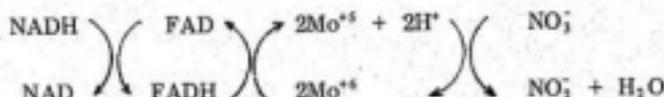
tratos como fuente de nitrógeno inorgánico natural.

Después de absorbido, el proceso biológico por el cual el NO_3^- es reducido a NH_3 y convertido en aminoácido se conoce como *asimilación del nitrato*. El concepto actual de la asimilación del nitrato por las plantas superiores (y también por los microorganismos) incluye al nitrito como intermediario, el que parece ser reducido directamente a NH_3 sin la intervención de intermediarios libres (óxido nitroso, nitroxilo, hidroxilamina, etcétera). Globalmente, dicha reducción puede expresarse con la ecuación:



La transformación del nitrógeno, de número de oxidación +5 a -3, requiere 8 átomos de hidrógeno (o electrones), los que deben ser suministrados por otros procesos metabólicos de la célula.

La primera etapa de la reducción ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$) es catalizada por la nitrato-reductasa. Esta es una metal-flavoproteína que posee molibdeno como componente metálico y flavin-adeninad nucleótido (FAD) como grupo prostético. La donadora de H_2 o electrones (e^-) es la coenzima nicotinamida-adeninad nucleótido reducida (NADH), que inicia el flujo de e^- o H_2 hacia el NO_3^- :



La nitrato-reductasa es una enzima inducida (o bien activada) por su sustrato. Pero la inducción requiere, además de nitrato, luz y CO_2 . Al parecer, el efecto de la luz no ocurre a través de la fotosíntesis sino que se produce por medio de la síntesis de citocininas y giberelinas (o por el retardo en la destrucción de éstas). Si se suministran dichas fitohormonas, en condiciones de oscuridad producen más actividad de la nitrato-reductasa que la luz misma. Por su parte, la necesidad de CO_2 no parece estar ligada directamente a la producción de azúcares fotosintéticos, sino a la de ácido málico, necesario para evitar cambios bruscos de pH en el tejido donde se lleva a cabo el proceso.

La etapa siguiente, reducción a NH_3 , es catalizada por la nitrito-reductasa. Esta es también una metalflavoproteína que contiene FAD o FMN como grupo prostético, y que emplea como donador de electrones, según los casos, ferredoxina, NADH o NADPH. El componente metálico puede ser Fe o Cu. Es, asimismo, una enzima inducida, pero a diferencia de la nitrato-reductasa, es sensible a los agentes desacoplantes de la fosforilación oxidativa. Por lo tanto, esta etapa de la reducción es la que requiere fosfatos de alta energía (ATP).

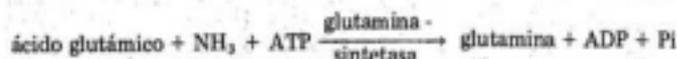
La parte final de esta cadena de reacciones la constituye el pasaje de N-inor-

gánico (NH_4^+) a la forma orgánica (aminoácido). La "puerta de entrada", universalmente demostrada, para la combinación orgánica del nitrógeno, es el ácido α -cetoglutarico, intermediario prominente del ciclo de Krebs. El mecanismo químico, que se denomina *aminación reductiva*, es catalizado por la L-ácido glutámico deshidrogenasa (NAD-dependiente) y produce ácido glutámico previa formación del intermediario, el ácido α -imino glutárico (página anterior).

La enzima está universalmente distribuida en toda clase de organismos y es el componente clave del proceso. Se han encontrado deshidrogenasas para otros aminoácidos (p. ej. alanina-pirúvico), pero no parecen ser de distribución universal. Se piensa que en la formación de ácido aspártico se produce una reacción similar, pero todavía no se ha aislado la enzima que catalizaría la aminación del ácido oxalacético.

Sin embargo, hay evidencia experimental de que los ácidos α -cetoglutarico, oxalacético y pirúvico son los aceptores favoritos del NH_3 y forman, respectivamente, ácido glutámico, ácido aspártico y alanina, que por esta razón son considerados aminoácidos *primarios*.

Las dos principales amidas que se encuentran en las plantas —es decir la glutamina y la asparagina, de gran importancia fisiológica— se forman muy rápidamente a partir de sus respectivos ácidos dicarboxílicos, glutámico y aspártico, con requerimientos de ATP:



CONEXION DEL METABOLISMO CELULAR CON LA REDUCCION DEL NITRATO

Dijimos que la reducción del nitrato a amoniaco requiere 8 átomos de hidrógenos, los cuales deben ser suministrados por algunos procesos metabólicos de la célula. Las enzimas que inter-

vienen en su reducción emplean, como donadores de H_2 o electrones, nucleótidos de nicotinamida. Por lo tanto, se debe esperar que tal reducción se pueda acoplar a cualquier proceso que genere, a velocidad suficiente, dichas coenzimas reducidas. Se ha probado que esto es cierto, al menos, para tres procesos: respiración, fotosíntesis y reacción de la hidrogenasa.

En oscuridad (raíz) o en órganos heterotróficos, la *respiración*, a través de la oxidación de los hidratos de carbono, constituye la fuente principal de los hidrógenos que requiere la reducción de los nitratos. Dicho fenómeno vital también suministra los ATP y cetoácidos necesarios para el proceso de aminación reductiva.

Cuando la reducción se liga a la respiración, el nitrato compite con el oxígeno del aire por los nucleótidos reducidos, y la intensidad respiratoria se acelera. El desdoblamiento de hidratos de carbono "extra" que sigue produce una cantidad "extra" de CO_2 sin un consumo concomitante de O_2 . Esta es la causa por la cual el cociente respiratorio se incrementa mientras se reducen los nitratos.

Si la reducción se lleva a cabo en condiciones de luz (hojas verdes), el proceso se liga a la *fotosíntesis*. Las reacciones fotoquímicas, que involucran a las fotofosforilaciones cíclicas y no-cíclicas, proveen los cofactores necesarios (NADPH y ATP) para tal reduc-

ción. Los intermediarios de la reacción oscura (ácidos pirúvico, hidroxipirúvico y glioxílico) suministran los aceptores para la aminación. Aquí, el nitrato compite con el CO_2 , tanto por los ATP como por las coenzimas reducidas. Esto provoca una disminución de la velocidad de reducción del CO_2 y un

umento de la de liberación de O_2 fotosintético.

Muchas bacterias y plantas inferiores, que contienen la enzima *hidrogenasa*, pueden emplear el hidrógeno molecular para reducir los nitratos. El H_2 , activado por la hidrogenasa, reduce los nucleótidos de nicotinamida. En el caso de la reducción del nitrato, parece que la ferredoxina interviene en el transporte del hidrógeno, desde la hidrogenasa al NADP, el cual los cede al nitrito (la NAD no es capaz de aceptar los hidrógenos de la ferredoxina).

Es de destacar que las bacterias en condiciones de anaerobiosis pueden emplear el nitrato, además, como aceptor terminal de electrones en el proceso de la respiración. En los vegetales superiores, este mismo mecanismo—llamado *respiración nitríca*— parece tener una distribución más amplia de lo que se creyó en un principio.

Reacciones del N_2 en los organismos que lo fijan

El nitrógeno elemental de la atmósfera puede ser llevado a la circulación biológica por una serie de organismos muy especializados que lo fijan, reducen y posteriormente lo convierten en proteína. Tal fijación biológica es considerada un fenómeno fundamental en el mantenimiento de la vida. Únicamente del 2 al 3% del nitrógeno contenido en las cosechas anuales del mundo se origina de fertilizantes nitrogenados producidos por la industria. El resto proviene del N atmosférico y de las reservas orgánicas del suelo.

La capacidad para utilizar el N_2 , aunque está repartida entre diferentes clases de organismos, es bastante restringida. Las plantas superiores, excepto en asociación simbiótica, son incapaces de fijarlo. El proceso puede ser llevado a cabo por un grupo tan amplio como variado de agentes fijadores. Los hay de vida libre—heterótrofos aerobios y anaerobios, quimio o fotosintéticos— y

de vida simbiótica. Entre los primeros (asimbióticos) se encuentran los grupos pertenecientes a los géneros *Azotobacter*, *Clostridium*, *Aerobacter*, *Methanobacterium*, *Rhodospirillum*, *Chromatium*, *Chlorobium*, *Rhodospseudomonas*, *Rhodotorula*, *Desulfotribrio*, distintos géneros de algas verde-azules, etcétera.

La fijación simbiótica incluye diversos tipos de plantas y diferentes microorganismos. Las asociaciones mejor conocidas son las de las leguminosas con bacterias del género *Rhizobium*, en nódulos radicales. Sin embargo, otras asociaciones en nódulos radicales, ciertas o posibles (con endófitos no bien determinados), incluyen especies de los géneros *Alnus*, *Eleagnus*, *Casuarina*, *Myrica*, o la simbiosis *Podocarpaceae*-micorriza. En nódulos foliares, se citan casos en las familias *Rubiáceas* y *Myricináceas*. Las algas verde-azules (por ejemplo: *Anabaena*) forman asociaciones con *Azoella*, *Hepáticas* y *Líquenes*.

Digna de mención es la asociación *filosfera* (sin formación de nódulos) de muchas plantas de zonas tropicales, sobre cuyo follaje se desarrollan microorganismos muy variados (se han aislado fijadores de vida libre como *Azotobacter* y *Beijerinckia*). El follaje de tales plantas, en esas regiones, excreta abundante materia orgánica (casi 1 tonelada/ha/año), suficiente para proveer el sustrato energético que requieren los fijadores.

En la asociación simbiótica, la planta hospedante contribuye con compuestos carbonados como fuente energética. Los autótrofos de vida libre la obtienen por la vía de la quimiosíntesis o de la fotosíntesis; mientras que los heterótrofos libres deben buscar la energía en una nutrición saprofítica (el agregado de azúcares solubles al suelo incrementa su capacidad de fijación de N_2).

MECANISMO DE LA FIJACION DEL N_2

Para entender el proceso de fijación y reducción del nitrógeno atmosférico,

es necesario dilucidar en qué forma se lleva a cabo la activación de la molécula de nitrógeno por parte del agente fijador, cuál es el intermediario "clave" —es decir el compuesto que representa el final de la reacción de fijación y el comienzo de la asimilación— y cómo se encadena el mecanismo químico del proceso.

Es necesario tener presente que la molécula de nitrógeno ($N \equiv N$), debido a su estructura electrónica muy particular, es singularmente inerte. Dicha inercia está asociada fundamentalmente con: a) una alta energía de disociación (224,5 kcal), que equivale a una alta energía de unión; y b) un elevado potencial de ionización (15,6 eV, casi igual al del argón), dado por el gran poder con que están retenidos sus electrones.

A temperaturas ordinarias, el N_2 es tan difícil de oxidar como el argón, y únicamente puede ser reducido por potentes reductores como los metales alcalinos (p. ej. el litio). Sin embargo, los átomos de la molécula de nitrógeno pueden, al parecer, ser desplazados por elementos ligantes de gran poder de coordinación (p. ej. Fe^{++} , Co^{++} , Ni^{++}), con los cuales pueden formar complejos reactivos.

Es evidente que, en la fijación biológica del N_2 , no puede estar involucrada una mera oxidación o reducción del tipo de las señaladas. No existen tales agentes en el ambiente acuoso celular, porque el H_2O sería rápidamente reducida a H_2 . Es necesario pensar que, en un medio tal, la molécula de nitrógeno puede ser activada sólo a través de un mecanismo con secuencias de aceptores y donadores apropiados de electrones.

Con muy ligeras variantes, se puede admitir que el mecanismo químico de la fijación y reducción del N_2 es básicamente igual tanto en los agentes de vida libre como en los simbióticos. Debido a que estos últimos presentan un proceso global lógicamente más complicado, resultará útil tomar la asociación leguminosa-*Rhizobium* como modelo de estudio de dicho mecanismo, sin per-

juicio de referirnos en particular —cuando corresponda— a los organismos de vida libre.

En dicha asociación, la serie de hechos se inicia con la penetración de la bacteria en la raíz y la subsiguiente formación del nódulo, donde se lleva a cabo la fijación.

Generalmente, las bacterias se encuentran libres en casi todos los suelos y comúnmente penetran en las raíces de las leguminosas por los pelos radicales (aunque pueden hacerlo también por las células epidérmicas y corticales lacradas). El sitio de entrada está asociado a la aparición de una mancha brillante cerca de la punta o en el costado terminal del pelo. Allí, un encurvamiento —al parecer provocado por acción de AIA bacteriano— precede a la infección.

Inmediatamente a su penetración, la bacteria se organiza en forma de filamento y migra hacia la base del pelo radical. La invasión siguiente a las células se lleva a cabo en las paredes celulares y finalmente penetra en el citoplasma de las células tetra u octaploides, en la vecindad de la endodermis y periciclo. Allí pierde su forma filamentososa y se reproduce.

La célula que aloja a la bacteria, lo mismo que las vecinas, comienzan a dividirse primero y a hipertrofiarse después (por la probable intervención del AIA bacteriano), y dan lugar a un nódulo que crece hacia la periferia, el que madura cuando se diferencia el sistema vascular (vía de transporte de nutrientes por parte de la planta hospedante, y conducto de pasaje de los productos de la fijación del N_2 por la bacteria). La bacteria se aloja en los tejidos centrales del nódulo, y cuando comienza la fijación cesa su multiplicación.

La fijación y reducción del nitrógeno atmosférico por los organismos simbióticos requiere, aparte de N_2 a relativamente bajas tensiones, la concurrencia principal de O_2 , CO_2 , P, Mo, Co, Cu, Fe, H_2 , sacarosa, el pigmento leghemoglobina y el sistema enzimático nitrogenasa.

Se sabe que el cobalto forma parte de derivados de la vitamina B₁₂ implicada en muchas reacciones metabólicas del agente fijador. En cambio, aún no se conoce bien el papel que desempeña el cobre. En lo que se refiere a las implicaciones del resto de los factores enunciados, podemos trazar con ellos, muy aproximadamente, las secuencias de hechos que componen el proceso global (a pesar de que todavía no está totalmente esclarecido el mecanismo químico de la fijación).

La *nitrogenasa*, sistema multienzimático que contiene Fe y Mo, es responsable de la fijación y reducción del N₂. Se encuentra en la bacteria y es un sistema enzimático inducido. En el *Rhizobium*, tal inducción parece que se inicia en la planta huésped y, en forma de mRNA, pasa a la bacteria, donde se realiza su síntesis. El Fe y el Mo, intervendrían en la fijación y activación de la molécula inerte de nitrógeno y formarían, por coordinación, un complejo "activado" de hierro, nitrógeno y molibdeno que acarrearía un cambio en la estructura electrónica interna del N₂. En forma de tal complejo, el N₂ se haría susceptible a la reducción por hidrógeno metabólico.

La sacarosa, provista por la planta huésped, es el sustrato que da la energía y el poder reductor para el metabolismo de la bacteria. Esta la emplea a través de una invertasa y las hexosas resultantes se canalizan, por vía de la glucólisis, hacia una de las rutas posibles del ciclo de Krebs para producir β -hidroxibutirato. Este es justamente el metabolito donador de electrones. Para ello es oxidado por NAD, el que por intermedio de citocromos transfiere H₂ a la nitrogenasa.

En los organismos aerobios de vida libre, la canalización del sustrato proveedor de energía se hace por la vía del ciclo de las pentosas el que luego da ácido pirúvico que entra en el ciclo de Krebs. En los anaerobios, el ATP necesario es obtenido de la glucólisis.

Los fijadores simbióticos nodulados y

los asimbióticos aerobios requieren O₂, para su respiración y consiguiente producción de ATP. Sucede que el O₂ en concentraciones superiores a la atmosférica, inactiva la nitrogenasa y es inhibidor competitivo de la fijación del N₂, mientras que en el nivel de los densos tejidos del nódulo, se encuentra en déficit. En la solución de este problema interviene el pigmento rojo llamado *leghemoglobina*, sintetizado por la cooperación entre los tejidos del nódulo y el bacteroide, y dispuesto dentro de la envoltura membranosa que rodea a la bacteria. Se trata de una cromoproteína del tipo de la mioglobina, que se comporta como un regulador del transporte de O₂ hacia el agente fijador. La leghemoglobina regula el transporte de tal manera que el O₂ llega a una tensión suficientemente alta como para proveer adecuada cantidad de ATP, y suficientemente baja como para evitar una acumulación de oxígeno libre en la superficie del bacteroide.

Es de hacer notar que el pigmento leghemoglobina, típico de las bacterias noduladas, está ausente en los organismos de vida libre, aerobios y anaerobios.

Mientras el N₂ es fijado por el endófito, la absorción del O₂ se reduce. Esto sugiere una competencia entre O₂ y N₂, a través de dos ramas de la cadena del flujo de electrones, una que termina con una oxidasa (respiración) y la otra con una nitrogenasa (fijación). Posiblemente el punto de divergencia se encuentre en el nivel de la NAD-reductasa.

El modelo (hipotético) que resume estas secuencias es el que se presenta en la figura 106.

El hidrógeno molecular también puede ser empleado para la reducción, e igualmente se ha comprobado que actúa competitiva y específicamente con el N₂. Tal reducción es catalizada por la enzima hidrogenasa, la que puede transferir electrones a la nitrogenasa por intermedio de la ferredoxina.

A pesar de la posible existencia de

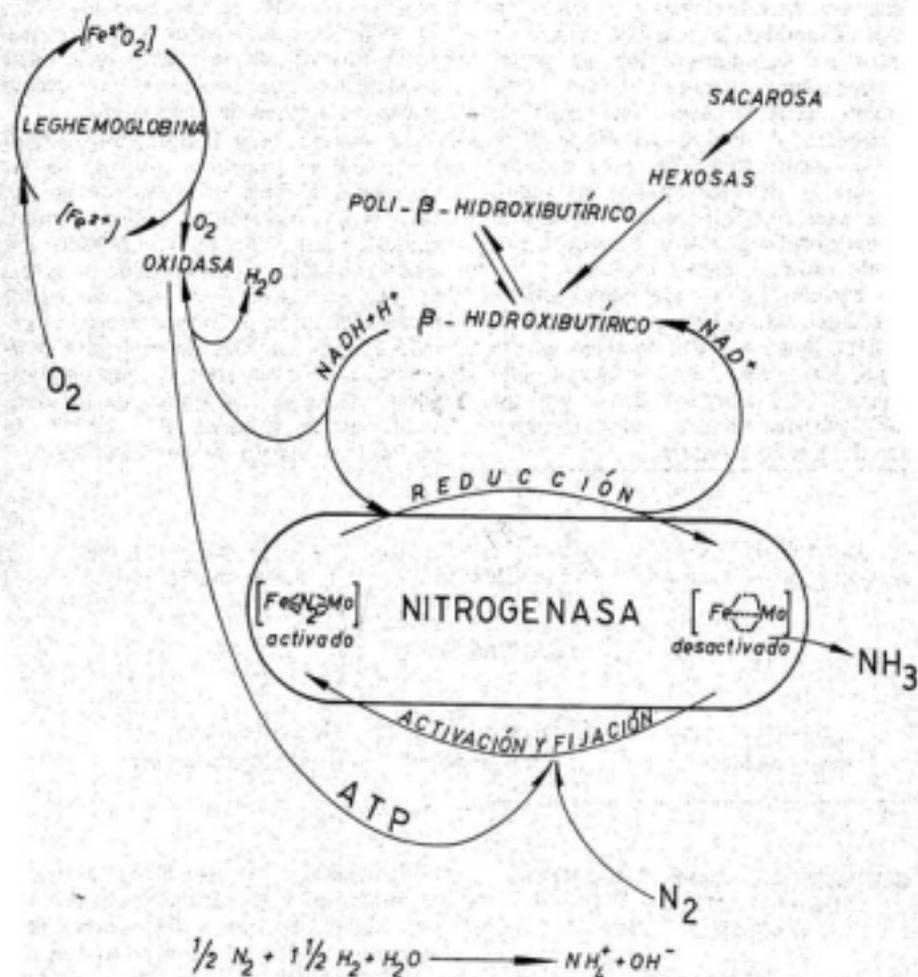


Figura 106. Modelo de la fijación simbiótica del nitrógeno.

intermediarios en la cadena de reducción (p. ej.: hidrazina, hidroxilamina), hoy se admite que el intermediario "clave" es el NH_3 . El nitrógeno fijado es rápidamente reducido a NH_3 , el que luego es incorporado por la vía de los cetoácidos, como ácido glutámico y glutamina.

El nitrógeno, en forma de amino-

ácido y amida, es excretado por la bacteria hacia el nódulo, lugar donde se forman otros aminoácidos por reacciones de transaminación. Estos compuestos pasan, por la vía del xilema nodular, a la corriente transpiratoria y se trasladan rápidamente a las zonas de crecimiento de la planta huésped.

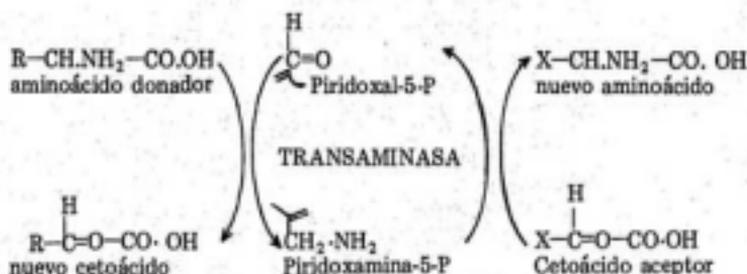
Del 10 al 30% del nitrógeno fijado

puede ser excretado hacia el suelo en forma de amidas, lo cual beneficia a las plantas no leguminosas. Por su parte, los organismos fijadores de vida libre excretan hacia el suelo, en forma de aminoácidos y amidas, del 40 al 60 % del N_2 incorporado. Tal excreción parece que se produce cuando las condiciones para la fijación son buenas, pero hay deficiencias de otros elementos, por ejemplo carbono, hierro, etcétera.

La fijación del N_2 que tiene lugar en los nódulos de las leguminosas se puede calcular que es, en condiciones de campo, del orden de los 200 a 300 kg/ha/año. La cantidad fijada por los agentes de vida libre es mucho menor y varía de 1 a 20 kg/ha/año.

hoy se conocen (sobrepasan los 150). Es evidente que, a partir de los productos primarios, deben operar otras rutas biosintéticas que involucren una extensa y variada síntesis de aminoácidos.

La reacción más importante, mediante la cual se generan la mayoría de los aminoácidos libres, es la *transaminación*. Esta es una reacción en la que el grupo amino ($-NH_2$) de un aminoácido, llamado donador, es transferido al grupo carbonilo ($C=O$) de un cetoácido, llamado aceptor. La transferencia es catalizada por enzimas denominadas *transaminasas* o *aminoforrasas*, que emplean como coenzimas cualquiera de los derivados de la vitamina B_6 (fosfato de piridoxal o fosfato de piridoxamina):



SINTESIS Y TRANSFORMACIONES DE LOS AMINOACIDOS Y AMIDAS LIBRES

En los vegetales está bien reconocida la posición central del NH_2 en el metabolismo del nitrógeno. Su formación se produce con rapidez por reducción enzimática del nitrato, y durante la fijación del N_2 se incorpora fácilmente a la célula y enseguida se metaboliza para dar lugar a la aparición de glutamato y glutamina y también de aspartato y asparagina.

Las reacciones de *aminación* por las cuales se forman los aminoácidos llamados "primarios", no explican la aparición del gran cúmulo de aminoácidos libres, secundarios por su origen, que

El resultado es la formación de nuevos aminoácidos y cetoácidos, cada uno con un número de átomos de carbono igual, respectivamente, al aceptor y donador.

La transaminación participa en forma directa o indirecta, y fundamentalmente a través del ácido glutámico, en la formación de la mayoría de los aminoácidos. Si bien hasta hace poco se pensaba que aquélla estaba limitada a las reacciones que involucraban al glutamato, aspartato y alanina, hoy se sabe que interviene un gran número de aminoácidos (aunque no sean α -aminoácidos), amidas, y compuestos que poseen el grupo amino (como la adenina).

Los cetoácidos, componentes indispensables de la reacción, son provistos

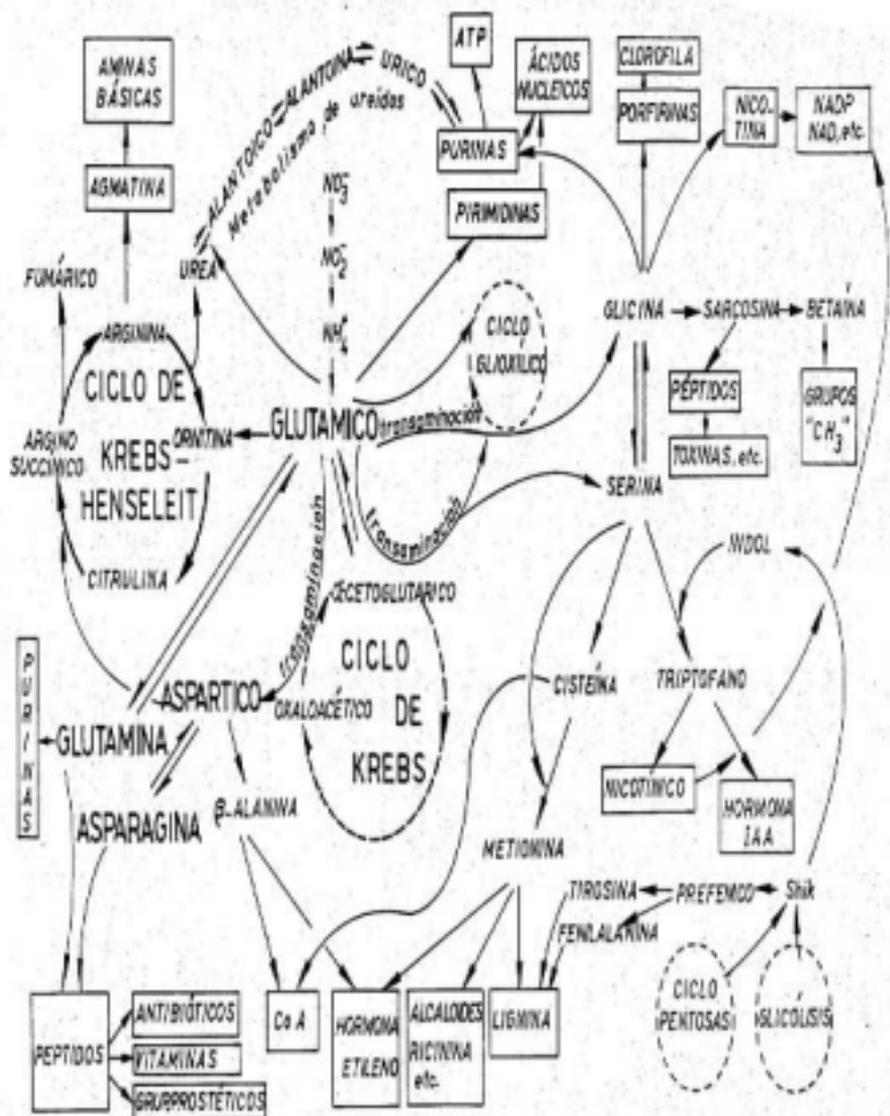


Figura 107. Relaciones del metabolismo del nitrógeno con el metabolismo general.

por el metabolismo celular: ácido pirúvico, como producto final de la glicólisis; ácido glioxílico, del ciclo del glioxalato en el metabolismo de los ácidos grasos; ácido α -cetoglutarico y ácido oxalacético, intermediarios del ciclo de Krebs. Modernamente ha sido detectada una enorme variedad de cetoácidos correspondientes a aminoácidos, conocidos y desconocidos, originados por las diversas rutas del ciclo de Krebs. Este es un ejemplo de lo versátil que es la capacidad de síntesis de las plantas.

Además de la transaminación, hay otras reacciones que coadyuvan a la síntesis de aminoácidos, como las de descarboxilación, desmetilación, ciclización, transulfuración, transamidación, etcétera.

Los aminoácidos formados por toda esta serie de reacciones o por cualquiera de ellas, además de ser usados —directa o indirectamente— en la síntesis de proteínas, sirven como puntos de partida para la biosíntesis de otros compuestos simples pero químicamente muy variados. Tales compuestos (ácidos orgánicos, cetoácidos, hidroxiaácidos, ácidos no saturados, etcétera) se comportan como intermediarios en las secuencias de las reacciones respiratorias, en la síntesis de carbohidratos, o bien se acumulan como productos finales. Las reacciones que más facilitan su formación son, fundamentalmente, la *desaminación* (oxidativa, hidrolítica, reductiva, mutásica, de Stickland, de saturación), la *desamidación* y la *descarboxilación*.

Otros tipos de reacciones degradativas producen la modificación de los esqueletos carbonados de los aminoácidos y conducen a la síntesis de sustancias de gran complejidad y mayor peso molecular que sus aminoácidos precursores.

En la figura 107 se trata de dar una idea, aunque en extremo parcial y simplificada, de tales transformaciones.

Al recorrer el diagrama, no sorprende encontrar que los residuos aminados, covalentemente ligados en una gran variedad de sustancias nitrogenadas no

proteicas, se unen también a sustancias no nitrogenadas.

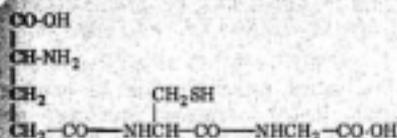
Al llevar a cabo estos tipos de transformaciones, la mayoría de los aminoácidos de los vegetales son canalizados a través del ácido glutámico por acción de la deshidrogenasa glutámica y numerosas transaminasas. Podemos decir que el ácido glutámico, junto con el aspártico y sus respectivas amidas, está ubicado en el centro de la enrucijada metabólica, entre el metabolismo del nitrógeno y el de los carbohidratos. De ellos radian conexiones, directas o indirectas, con diversas rutas biosintéticas (glicólisis, ciclo de Krebs, ciclo de las pentosas, ciclo del glioxalato, ciclo de Krebs-Henseleit, etcétera).

PEPTIDOS Y PRINCIPALES TIPOS DE PROTEINAS VEGETALES

Péptidos vegetales

Entre otros compuestos aminados, el ácido glutámico y su producto (energético) de amidación, la glutamina, son capaces de iniciar la síntesis de una serie de compuestos γ -glutámicos que concurren a la formación de péptidos.

Estos compuestos, intermedios entre los aminoácidos y las proteínas, tienen interés porque algunos de ellos, los llamados *heteroméricos* (es decir los formados por aminoácidos y otras moléculas distintas), poseen propiedades fisiológicas específicas, como los antibióticos (penicilina, actinomicina), las toxinas (licomarasmina, viscotoxina), las vitaminas (del grupo del ácido fólico), etcétera. Otros, los *homoméricos* (o sea los formados únicamente por aminoácidos), aunque de acción no bien conocida, intervienen en varios puntos del metabolismo celular. El mejor conocido es el tripeptido llamado *glutión*, de amplia distribución en los vegetales:



Glutación (γ -glutamyl-cisteinil-glicina)

El glutación tiene la propiedad de ser reversiblemente oxidado.

Se encuentra en su forma activa, que es la reducida (GSH), o en su forma oxidada (GSSG) que es la combinada como disulfuro (inactiva).

La forma reducida está asociada al reinicio de la actividad respiratoria y otros procesos metabólicos. Por eso abunda en las semillas que germinan, en los tubérculos de papa en brotación y en las regiones meristemáticas activas. El glutación es el grupo prostético de la triosa fosfato deshidrogenasa, coenzima de la glioxalasa y regulador general de la actividad de los grupos sulfhidrilos de muchas enzimas.

Principales tipos de proteínas vegetales

No existe aún un sistema totalmente satisfactorio para establecer una clasificación fisicoquímica de las proteínas vegetales. Sin embargo, por nuestros propósitos podemos reconocer, desde el punto de vista de su localización en la estructura vegetal, dos tipos principales de proteínas: de *reserva* y *protoplas-máticas*.

Las proteínas de *reserva* se encuentran típicamente, como productos de almacenamiento, en cotiledones o endospermas de semillas, en frutos y en otros órganos reservantes. Estas estructuras constituyen importantes fuentes proteicas para los seres humanos y los animales.

Según su solubilidad en distintos solventes, las proteínas de reserva se suelen clasificar en: *albúminas*, *globu-*

linas, *prolaminas* y *glutelinas*. Si bien los límites no son del todo precisos, esta clasificación ha resultado útil hasta el presente.

Una gran parte de las proteínas de reserva de la mayoría de las semillas de las dicotiledóneas se encuentra como globulina (sobre todo en las semillas y frutos que contienen grasas). Estas se hallan depositadas en los tejidos de almacenamiento, en estado semicristalino, y constituyen los granos de aleurona. Entre las globulinas se puede mencionar las siguientes: edestina (semillas de cáñamo), excelsina (nuez de Brasil), vicilina y legumina (arveja), glicinina (soja), arachina y conarachina (maní). Respecto de los granos de cereales ya se han mencionado las α , β , γ y δ -globulinas, pero por su bajo contenido parecen ser proteínas protoplasmáticas.

Las principales proteínas de reserva de los cereales son las prolaminas y las glutelinas. Entre las primeras encontramos la gliadina (trigo), la hordeína (cebada) y la zeína (maíz). Como rasgo general, la composición aminada de estas proteínas muestra una riqueza en ácidos dicarboxílicos (glutámico y aspártico) y sus amidas (glutamina y asparagina). Además, son ricas en prolina y deficientes en compuestos azufrados (metionina, cisteína) y básicos (lisina). Las globulinas a diferencia de las anteriores tienen mucha arginina y ácido aspártico, y son relativamente pobres en amidas.

En contraste con las proteínas de reserva se encuentran las *protoplas-máticas*, que son activas metabólica y fisiológicamente, y tienen íntima relación con las estructuras y funciones de la célula. Una fracción se encuentra fundamentalmente en el citoplasma y constituye la mayoría de las enzimas solubles de la célula. Estas pueden separarse por electroforesis, sobre columnas de gel de acrilamida. Otra fracción, aparentemente combinada, es la que forma las diferentes estructuras protoplasmáticas. Dentro de ellas podemos distinguir las denominadas proteínas conjugadas.

A las proteínas conjugadas se las clasifica, según la naturaleza del grupo prostético, en: *glicoproteínas* (los términos mucoproteínas y mucoides son sinónimos), *nucleoproteínas*, *lipoproteínas*, *cloroplastina* (complejo proteína-clorofila), *hierro-proteínas* (citocromos, catalasa, peroxidasa, etcétera), *metaloproteínas* (contienen metales como cobre y molibdeno: tirosinasa, lactasa, ácido ascórbico oxidasa, nitrato reductasa, etcétera), *flavoproteínas* (D-aminoácido oxidasa, citocromo C-reductasa, diarforasa, etcétera) y *proteínas-tetrapirrólicas* (sin formar porfirinas: ficocitrina, ficocianinas, etcétera).

SIGNIFICACION BIOLÓGICA DE LAS PROTEÍNAS VEGETALES

Dos grandes significaciones biológicas se pueden atribuir a las proteínas vegetales, ambas de importancia en la nutrición de los animales y el hombre, una correspondiente a las protoplasmáticas, por su papel fundamental en la regulación del metabolismo (a lo cual nos referiremos en la página 303); y otra, correspondiente a las proteínas de reserva. Los cereales proveen anualmente más de cien millones de toneladas de proteínas, la mayor parte de las cuales es consumida en la alimentación humana. Aproximadamente otros veinte millones de toneladas anuales las suministran las semillas de las leguminosas y oleaginosas, cuya mayor parte se emplea en la alimentación animal. La producción anual de proteína animal oscila también, en los veinte millones de toneladas.

Una de las posibilidades mediatas, en cuanto al incremento del suministro mundial de proteínas, radica en la perspectiva de emplear directamente las proteínas de reservas de las semillas como alimento humano.

SITIOS DE SÍNTESIS Y DESDOBLAMIENTO DE LAS PROTEÍNAS EN LAS PLANTAS

Los sitios principales de lo que se podría llamar "síntesis primaria" de proteínas, son las regiones donde se forman nuevas células y se produce nuevo crecimiento (ápices de raíces y vástagos, cámbium, etcétera).

Las proteínas de estas regiones —donde se crean las estructuras celulares— son ricas en aminoácidos de carácter básico (arginina, lisina, histidina). También las hojas verdes, en crecimiento y expuestas a la luz, son centros primarios de síntesis proteica.

Los sitios donde predomina el desdoblamiento están constituidos, fundamentalmente, por órganos en senescencia. En tales órganos, el porcentaje de proteína va decreciendo a medida que su maduración avanza, debido principalmente a que la síntesis proteica no marcha acorde con la síntesis de carbohidratos. De manera que cuando el órgano entra en senescencia, hay pérdida neta de proteína, a pesar de que el aparato sintetizador siga trabajando.

El catabolismo proteico, en órganos de determinada edad, lejos de constituir una desventaja, es un proceso útil para la economía nitrogenada de la planta. En este sentido, las hojas desempeñan un importante papel, ya que los productos de la hidrólisis de las proteínas foliares son los materiales de partida de donde derivan las proteínas que se encuentran en las semillas y otros órganos reservantes.

Las semillas en germinación, los tejidos parenquimáticos de reserva (en época de brotación), así como las hojas verdes en oscuridad conforman sitios de hidrólisis o desdoblamiento proteico.

RELACION DE LOS AMINOACIDOS LIBRES CON LA SINTESIS DE PROTEINAS

En las plantas, el metabolismo del nitrógeno culmina con la síntesis de proteína y la regulación proteica. Aparte de la necesidad de conocer el mecanismo molecular de la síntesis de proteína (que se origina de la información codificada en el ADN, su transcripción por la vía del ARN-m y posterior traducción en el nivel de complejo activado aminoácido-ARNt, cap. XX), al estudiar de la fisiología vegetal le interesa conocer de qué manera se produce la síntesis de las proteínas metabólicamente activas en las células o estructuras en crecimiento.

Todos los aminoácidos que forman parte de las proteínas no se encuentran en la célula necesariamente, como compuestos libres. Aquellos que aparecen como tales no están tampoco cuantitativamente presentes en las proporciones que serían de esperar como para formar directamente proteínas (esto es cierto, sobre todo, en las células en activo crecimiento).

Además, en estado libre se encuentran una gran variedad de aminoácidos que, por razones estructurales, no pueden ser condensados directamente en proteínas; únicamente ciertos L- α -aminoácidos (alrededor de 22) entran en su constitución. Esto equivale a decir que los aminoácidos que se encuentran libres (o solubles) en la célula no son, en la inmensa mayoría de los casos, precursores de proteínas.

La frecuente participación de tales compuestos libres, con la típica acumulación —en una situación dada— de uno u otro compuesto (glutamina, asparagina, arginina, ácido glutámico, prolina, etcétera) por bloqueo metabólico o causas genéticas, sugiere la existencia de otras rutas de utilización. Una de ellas la constituye la reutilización de su nitrógeno (grupo amino) en la síntesis de proteína.

Es oportuno volver a destacar que las plantas, a diferencia de los animales, bajo condiciones fisiológicas normales no excretan los productos de la hidrólisis proteica (aminoácidos), sino que los transforman para almacenarlos como compuestos muy nitrogenados (asparagina, glutamina, arginina, etcétera), y oportunamente los movilizan y los vuelven a utilizar en nuevos procesos sintéticos.

Las células vegetales que están más capacitadas para sintetizar proteínas lo hacen a partir de fuentes nitrogenadas muy simples, inorgánicas (nitrato o amonio) u orgánicas (urea, asparagina, glutamina y, en general, cualquier aminoácido acumulado en la vacuola). Los estímulos que regulan tal síntesis actúan en forma paralela a los que favorecen el crecimiento.

La síntesis proteica depende de los azúcares. Estos, con un adecuado suministro de oxígeno, proveen tanto la energía como los "esqueletos" carbonados necesarios para todo el proceso de síntesis.

Hay claros ejemplos que muestran que la glucosa C-14, suministrada a un tejido, entra en la molécula de proteína mucho más rápidamente que los aminoácidos C-14 (p. ej. el γ -aminobutírico C-14), suministrados en la misma forma. Esto indica que la mayoría de los aminoácidos libres entran principalmente en compartimientos subcelulares, donde sus reacciones se hallan separadas de otras que ocurren en diferentes áreas de la célula.

Para comprender este mecanismo es necesario visualizar a la célula como una compleja organización, compuesta de diferentes fases o compartimientos, donde el anabolismo y catabolismo se producen concurrentemente. Es decir que la síntesis y el desdoblamiento proteico son procesos concomitantes.

Estos hechos se entenderán mejor si analizamos el esquema presentado en la figura 108.

Hay experimentos que demuestran la existencia de compartimientos celulares

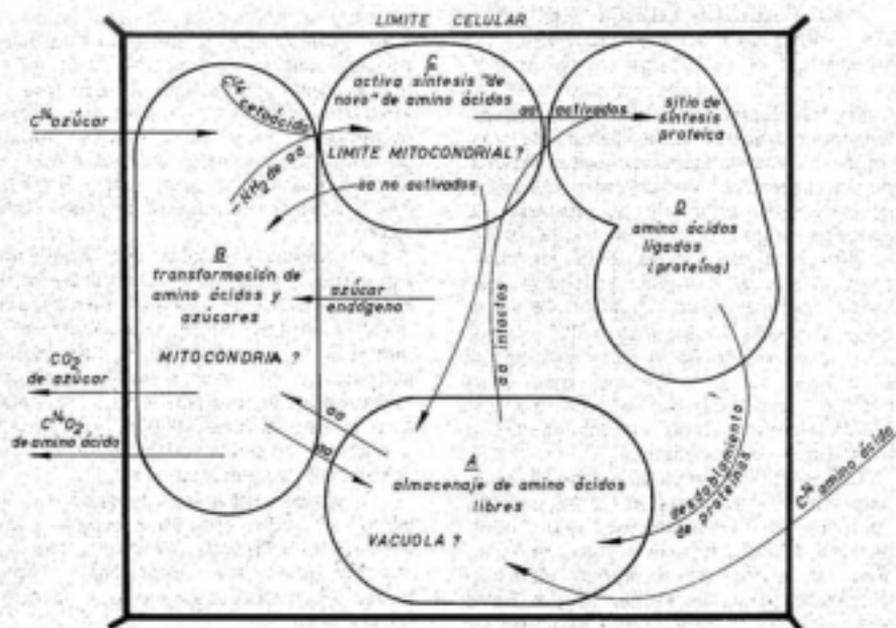


Figura 108. Aminoácidos y compartimentalización celular.

que se parecen entre otros, a una vacuola, mitocondria, cloroplasto, etcétera. Los metabolitos alojados en un determinado compartimiento quedan perfectamente separados de sus similares, ubicados en otras fases o compartimientos.

Respecto de los aminoácidos y amidas libres, consideraremos los siguientes compartimientos celulares: A) almacenaje (vacuola); B) transformación (mitocondria); C) síntesis activa "de novo" de aminoácidos en ruta a proteína (límite mitocondria-citoplasma); D) aminoácidos ligados, o sea que forman proteínas (cualquier lugar donde exista proteína).

En el compartimiento de almacenaje se acumulan los aminoácidos y amidas no empleados en la síntesis de pro-

teínas y aquéllos provenientes del desdoblamiento proteico. Cuando la célula necesita sintetizar proteínas, si no dispone de fuentes inorgánicas simples de nitrógeno (nitrato o amonio), emplea el de los compuestos orgánicos simples almacenados. Para ello, dichos metabolitos deben pasar (por transporte activo) de la vacuola al compartimiento de transformación.

En este compartimiento, los aminoácidos y amidas son canalizados —fundamentalmente por reacciones de transaminación hacia la formación de compuestos ricos en nitrógeno y metabólicamente activos, como la glutamina y el ácido glutámico. Estos metabolitos pueden donar más fácilmente su nitrógeno (grupo amino) en el sitio de síntesis proteica. En el comparti-

miento de transformación también son procesados los azúcares, a través del ciclo de Krebs.

Los productos de la transformación de azúcares y aminoácidos reaccionan entre sí en el compartimiento de síntesis activa "de novo" de aminoácidos. Este está tan íntimamente ligado al sitio de síntesis de proteína, que los de formación reciente no se mezclan (no quedan libres en la célula) con el resto de los compuestos alojados en otros compartimientos.

En toda transformación de aminoácidos, o transferencia de grupo amino, en que intervenga la transaminación, los esqueletos carbonados de los aminoácidos donadores son respirados a CO_2 y H_2O , en reacciones oxidativas que transforman energía y constituyen ATP (ciclo de Krebs).

Los nuevos compuestos aminados de reciente formación —a los que podríamos llamar "aminoácidos en ruta a proteína"— son inmediatamente activados y convertidos en proteína (según las secuencias de transcripción y traducción de la información genética del ADN), y se alojan en el compartimiento de los aminoácidos ligados.

La mayoría de estas proteínas (en las células en crecimiento) reinician el ciclo y pasan sus aminoácidos (intactos o previamente transformados) al compartimiento de almacenaje, de donde serán posteriormente movilizados de la manera explicada.

Sin embargo, no toda la síntesis de proteína se realiza en esta forma, pues existen proteínas con muy baja o nula capacidad de "reciclación" que emplean, preferentemente, como precursores, moléculas enteras de aminoácidos libres, procedentes del compartimiento de almacenaje.

Como podemos apreciar, la síntesis de proteína involucra muchas etapas, y se necesitan mecanismos sumamente complejos y específicos para llevar a cabo esta tarea, que es tan sólo una parte, aunque fundamental, del metabolismo global de la célula. Por eso el co-

nocimiento del metabolismo del nitrógeno debe ser profundizado, especialmente en su relación con otras funciones fisiológicas, en particular con la respiración y la fotosíntesis.

PROCESOS HOMEOSTATICOS DEL METABOLISMO NITROGENADO

En la planta existen reacciones llamadas homeostáticas. La homeostasis es el proceso autorregulador por el cual el estado normal de la organización fisiológica tiende a mantenerse constante (equilibrio homeostático de sus procesos). Esto no implica una condición estática, puesto que el equilibrio cambia progresivamente a medida que la planta pasa de una fase a la siguiente.

El nitrógeno, en primer lugar, es de significación por el papel que desempeña en la nutrición vegetal. Una vez absorbido y asimilado, se traslada de una a otra región morfológica. Como constituyente del protoplasma, afecta marcadamente el crecimiento y curso del desarrollo de las plantas, de diversas maneras, ya que forma parte del mecanismo orgánico.

Para muchos propósitos resulta útil tener un conocimiento conceptual de cómo se llevan a cabo dichas influencias. Por ejemplo, varios de los efectos de las sustancias nitrogenadas son locales; por lo tanto, es interesante examinar qué sucede en las regiones particulares de la planta, a medida que se altera la concentración de nitrógeno en esas partes. El papel de las mismas sustancias también cambia con el tiempo, ya que la planta va experimentando cambios progresivos que implican alteraciones estructurales, como entre el estado juvenil y el adulto.

Si el metabolismo del nitrógeno cambia, es lógico esperar que sus metabolitos estén sujetos a mecanismos de regulación. Los mecanismos del control biológico involucran procesos de variación de los equipos enzimáticos, por

medio de la *represión* y *desrepresión* (*inducción*) de enzimas, *activación* e *inhibición* de enzimas constitutivas, mecanismos de *retroalimentación*, de *interacción alostérica*, etcétera, todos los cuales determinan el curso del crecimiento y desarrollo y de su autorregulación. Algunos ejemplos ilustrarán acerca de estos conceptos.

La reducción de los nitratos en las plantas está regulada por el control de la actividad de la reductasa específica y por los productos de su misma ruta metabólica (retroalimentación). Cuando dicho proceso es más rápido que el de aminación reductiva del amoníaco, la acumulación de este producto puede ser perjudicial. Por lo tanto, una vez que el NH_3 alcanza cierta concentración, reprime a la nitrato-reductasa, aún en presencia de nitrato. Otro tanto ocurre si los productos de la aminación reductiva y de la transaminación, por cualquier causa, se acumulan y no son procesados. Ciertos aminoácidos, (alanina, asparagina, serina, metionina, prolina, treonina, tirosina, valina, aspártico, glutámico, histidina, leucina) reprimen la acción de la nitrato-reductasa. Cuando el bloqueo desaparece, otros aminoácidos (por ejemplo: la lisina y la arginina) desreprimen la enzima.

La nitrito-reductasa no es sensible a la inhibición por retroalimentación de aminoácidos y nucleótidos, y esto puede explicar la toxicidad de las concentraciones relativamente altas de nitritos.

Uno de los factores de complicación en el metabolismo de las plantas superiores es el hecho de que una función catalítica particular puede ser llevada a cabo por más de una enzima. Cada enzima tiene diferentes propiedades reguladoras y, generalmente, están localizadas en compartimientos diferentes.

En cuanto a la célula, existe una deshidrogenasa glutámica en la mitocondria y otra en la fase soluble. Por lo que atañe a la planta entera, hay una deshidrogenasa glutámica (dependiente del NADH) en las hojas, sujeta a

represión e inhibición por aminoácidos exógenos, mientras que la que predomina en la raíz (dependiente del NADPH) no lo está. Lo mismo ocurre con la nitrato-reductasa: la dependiente del NADH predomina en las hojas y es inhibida únicamente por aminoácidos, mientras que la dependiente del NADPH predomina en la raíz y es inhibida por aminoácidos, nucleótidos y carbamilo-fosfato.

La producción de aminas básicas, en respuesta a condiciones internas de incremento de acidez, representa un nuevo efecto de homeostasis. La deficiencia de metales alcalinos cambia el balance interno entre cationes y aniones en la dirección de un aumento de acidez. Se ha constatado que, en muchas especies, la deficiencia de K^+ conduce a la acumulación de la amina putrescina. Al parecer, el K^+ controla la velocidad de la secuencia metabólica arginina \rightarrow agmatina \rightarrow putrescina. En ausencia de éste catión, la enzima que descarboxila a la arginina aumenta su actividad y, con ella, la concentración de la amina básica que mantiene el pH interno en un valor constante.

La existencia de compartimientos celulares tiene importancia también en otro aspecto del sistema sintetizador de proteínas relacionado con los fenómenos de regulación. Muchos aminoácidos libres, que normalmente no entran en la formación de proteínas, tienen estructuras análogas a ciertos aminoácidos proteicos y pueden ser activados e incorporados a la proteína.

Tales compuestos —ácido azetidín-2-carboxílico (análogo de prolina), etionina (análogo de metionina), canavanina (estrechamente relacionado con arginina), mimosina (posible análogo de tirosina y/o fenilalanina) —son formados por un juego de enzimas idénticas a las que sintetizan a sus respectivos análogos. Esto implica que, a pesar de que la etapa de activación muestre alta especificidad entre los aminoácidos proteicos, cuando un análogo natural se encuentra presente en cierta concen-

tración, puede ser activado. Si no hay discriminación en la etapa de transferencia del ARN-t, se produce su posterior incorporación en la proteína, ya que la síntesis de ésta depende, en última instancia, del ARN-t. En esta forma, dichos compuestos actúan como inhibidores competitivos, impidiendo el proceso del crecimiento. La inhibición puede revertirse si se aumenta la concentración del verdadero aminoácido proteico.

INTERACCION DEL METABOLISMO DEL NITROGENO CON OTROS PROCESOS

Como contraparte de las especulaciones bioquímicas corrientes, al fitofisiólogo le interesa, sobre todo, conocer el metabolismo nitrogenado como respuesta del vegetal a los estímulos externos e internos, y cómo ciertos procesos fisiológicos son controlados por reguladores del tipo de las auxinas, giberelinas, citocininas, etcétera.

Evidentemente, no es posible analizar el efecto de los estímulos externos y de los reguladores del crecimiento sobre todo los sistemas que entran en juego durante el curso de la síntesis proteica. Sin embargo, examinando la composición y tamaño de los diferentes compartimientos aminados, se puede tener una idea de las fases del metabolismo del nitrógeno que son afectadas.

Para ello, hay que extraer de los tejidos los aminoácidos y amidas y evaluarlos cuantitativamente. Los componentes nitrogenados solubles se pueden extraer con etanol 70 % para luego purificarlos a través de resinas de intercambio catiónico y separarlos por cromatografía bi-direccional sobre papel. Los compuestos así separados se revelan con ninhidrina y se evalúan cuantitativamente por espectrofotometría. Los datos pueden calcularse sobre la base del contenido de nitrógeno de cada

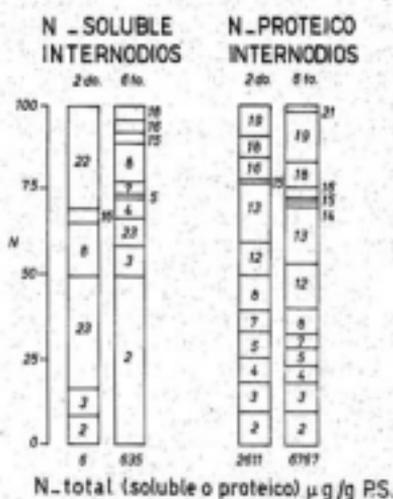


Figura 109. Fracciones de nitrógeno soluble y proteico en distintos internodios.

compuesto y expresarse como porcentaje del nitrógeno total soluble. Luego pueden ser convenientemente representados en forma de histogramas (figura 109) que muestren el espectro del compartimiento aminado soluble y el tamaño de éste (dado por el contenido de N-total soluble, colocado en la base de cada histograma).

El residuo insoluble en alcohol puede ser hidrolizado y subsiguientemente procesado de la manera indicada, para obtener la información correspondiente a la composición de la fracción proteica global (aminoácidos insolubles o ligados).

El conjunto de los aminoácidos y amidas libres, por intermedio de los ácidos cetónicos, une el metabolismo del nitrógeno con el de los carbohidratos. Por lo tanto, la composición de los compartimientos aminados solubles e insolubles puede proveer bastante información acerca de la respuesta de la planta (o de sus órganos) a los factores nutricionales, ambientales y endógenos.

En el caso de la figura 10 se puede apreciar que el tamaño de ambos reservorios aminados es mucho mayor en el internodio joven (6² a contar de la base) de la planta de *Wedelia glauca*, en comparación con el internodio más maduro (2² a contar de la base). El espectro aminado soluble del 2² internodio muestra la primacía del ácido γ -aminobutírico y de la β -alanina. Ambos compuestos son productos de descarboxilación, respectivamente, de los ácidos glutámico y aspártico, circunstancia que indica un activo proceso descarboxilante. En cambio, en el internodio 6² es notable la presencia de ácido aspártico, que constituye prácticamente el 50 % del N-soluble total.

La composición porcentual de la fracción proteica global—donde no se deben esperar mayores cambios debido a que involucra el grueso de la proteína—también muestra diferencias entre ambos internodios. Estas son más evidentes en cuanto a serina, glicina, treonina, alanina, valina, lisina y fenilalanina.

Muchos de los micronutrientes son componentes de enzimas, por lo que, en las plantas deficientes en algunos de ellos, disminuye su actividad (por ejemplo: la de la nitrato reductasa, con deficiencia de Mo). Otras veces, la deficiencia provoca un aumento de actividades enzimáticas no relacionadas con dicho nutriente. Las deficiencias de Zn, Cu o B conducen, respectivamente, a un exceso de peroxidasa, deshidrogenasa isocítrica y tirosinasa. Estas alteraciones enzimáticas provocan cambios de importancia en la composición aminada soluble.

La plasticidad de las plantas y la rapidez con que el ambiente afecta sus respuestas biológicas o fisiológicas, también se reflejan en el espectro aminado soluble e insoluble. Los análisis de las hojas de menta (*Mentha piperita*) muestran fluctuaciones diurnas en el contenido de amidas. La glutamina tiende a aumentar durante el día, y la asparagina durante la noche. Esto concuerda con el hecho de que la glutamina está estre-

chamente relacionada con la síntesis de proteína en condiciones de luz, mientras que la asparagina lo está con el desdoblamiento proteico en condiciones de oscuridad.

La composición aminada soluble de las hojas de esta planta varía notablemente, también, según se cultive bajo regímenes fotoperiódicos largos o cortos, alteración ésta que se acentúa por efecto de las temperaturas nocturnas.

Los estudios de este tipo muestran claramente que una de las funciones más importantes y menos conocidas en las plantas es la regulación de la síntesis de proteínas.

FUNCIONAMIENTO DEL SISTEMA NUTRICIONAL NITROGENADO EN LA PLANTA

Para tener una cabal idea de las transformaciones que experimentan los diferentes complementos nitrogenados durante el crecimiento y desarrollo de la planta entera, ensayaremos un modelo muy general de sistema nutricional, que podría aplicarse con propiedad a una planta anual. Partiremos de la semilla en el estadio de madurez y de su ulterior germinación y transformación en plántula, para proseguir luego con los estadios juvenil y adulto (reproductivo), y culminar con la senescencia y muerte de la planta o de sus partes.

Cuando la semilla entra en el período de maduración, estando aún en la planta madre, su metabolismo nitrogenado se caracteriza por una rápida síntesis y acumulación de proteínas de reserva. Dicha síntesis se realiza a expensas de grandes cantidades de materiales nitrogenados solubles, proveniente de otras regiones de la planta. Las reservas así formadas se depositan, en estado semicristalino, como granos de aleurona.

El contenido de nitrógeno soluble, es pequeño lógicamente, comparado con el de proteínas. Los factores climáticos y edáficos imperantes durante ese período

parecen determinar, en buena medida, las diferencias cuantitativas en el contenido de éstas.

A medida que la maduración avanza, la semilla se va independizando de la planta madre y comienza a entrar en el período de dormición, el cual se caracteriza por una reducción de la actividad biológica general. Sobre todo, la actividad organizada de los sistemas multiienzimáticos es muy baja y las mitocondrias no exhiben, prácticamente, fosforilación oxidativa.

Una vez superado dicho estadio, la semilla está en condiciones fisiológicas de germinar. La rápida incorporación de agua que precede al proceso eleva su contenido hídrico del 10-20 % al 90 %. Este cambio brusco inicia una serie de reacciones complejas cuyo efecto general es movilizar los materiales de reserva y convertirlos en formas apropiadas para una nueva síntesis y para ser usados como sustratos respiratorios.

Los granos de aleurona comienzan a aglomerarse para dar partículas mayores, las que luego se fragmentan en unidades más pequeñas que los granos originales y empiezan a desaparecer a medida que la germinación avanza. En este estado, el metabolismo del nitrógeno es dominado por la hidrólisis de proteínas de reserva, cuyos aminoácidos más importantes por su abundancia (por ejemplo: la arginina) desaparecen para originar otros compuestos (por ejemplo: los ácidos glutámico y aspártico), al mismo tiempo que comienzan a acumularse las amidas (principalmente la asparagina).

Durante el crecimiento del embrión, la intensidad respiratoria —y con ella la fosforilación oxidativa— comienza a incrementarse sostenidamente. Los aminoácidos producidos se trasladan en parte a regiones de síntesis enzimática activa (capa aleuronífera), donde se forman enzimas hidrolíticas del tipo de las α -amilasa y lipasas. Este proceso lo inician las giberelinas, con la posible participación de auxinas y citocininas. El ácido giberélico también puede parti-

cipar, principalmente en los cotiledones, en la inducción de la síntesis de otras enzimas como las fosfatasa, peroxidasa, maltasa, liasa isocítrica, etcétera.

La alta intensidad respiratoria que se registra en la plántula está correlacionada con la absorción de nitrógeno inorgánico, con la formación de nuevo protoplasma (síntesis de proteína estructural) y con la acumulación de amidas. En la mayoría de las especies predomina la asparagina sobre la glutamina, pero en algunas leguminosas aparece urea.

Como en el estadio de plántula el crecimiento es dependiente de las reservas, las proteínas de almacenaje se utilizan también como sustratos respiratorios (a través de la desaminación oxidativa). El amoníaco que se libera durante esta reacción es inmediatamente incorporado por el ácido glutámico, que pasa a glutamina, por medio de ATP.

Durante la germinación, la glutamina no llega a acumularse porque se comporta como sustancia metabólicamente muy activa. Además participa en la síntesis de proteína y como agente "desintoxicador" del amoníaco. Es decir, que por un lado, dona su nitrógeno a los cetoácidos apropiados para formar aminoácidos en ruta a proteína; y, por otro, transfiere su grupo amino (de la función carboxiamida) al ácido aspártico, que queda convertido en asparagina, mientras la glutamina pasa a ácido glutámico. La asparagina se acumula y permanece como tal mientras la plántula se encuentra cerca del punto de compensación. Si está muy por debajo de éste (agotamiento), se produce el desdoblamiento de la asparagina, con liberación de amoníaco libre, y la velocidad de crecimiento de la plántula disminuye o se inhibe por efecto tóxico del NH_3 .

Cabe aclarar que la acumulación de amonio libre (sin disociar) en los brotes tiene importantes consecuencias inhibitorias sobre la síntesis de proteínas, ya que es un inhibidor efectivo de la respi-

ración. Además, al estar comprometidos los aminoácidos en la tarea de neutralizar dicho NH_3 (para formar amidas), no están disponibles para la síntesis de proteínas. Por otro lado, en forma de ion amonio (NH_4^+), puede restringir la fotosíntesis al desacoplar la fosforilación fotosintética.

Una vez que la plántula se ha transformado en planta comienza un nuevo modo de nutrición. Los sistemas conductores de solutos orgánicos (xilema y floema) permiten el movimiento diario de los metabolitos nitrogenados solubles (las proteínas no se trasladan como tales) entre órganos de toda clase y edad. El transporte de nitrógeno, en sentido ascendente, se realiza por los conductos xilemáticos, mayormente en forma orgánica (muy poco nitrato circula por el xilema). Los compuestos ricos en nitrógeno, como la glutamina, la asparagina, la arginina, los ureidos y también otros aminoácidos (según las especies), son entidades prominentes en la savia xilemática.

Una parte de estas formas de nitrógeno proviene directamente de la reducción de los nitratos en la raíz, mientras que otra se debe a la movilización de los compuestos aminados solubles que se acumulan en las células parenquimáticas del xilema. Cualquiera que sea su origen, estos aminoácidos se vuelcan activamente en los vasos leñosos donde los arrastra la corriente transpiratoria y los distribuye en las diferentes regiones del vástago.

Con bajos niveles de nitratos en la solución del suelo, la raíz funciona como el sitio principal de la reducción; mientras que, con niveles superiores, acumula el nitrato (inhibición de la nitrato-reductasa) o lo envía al vástago. Aquí, el nitrato es reducido (fundamentalmente ligado al proceso fotosintético) en las hojas y tallos jóvenes, de donde es redistribuido, por vía del floema, a las otras partes de la planta.

Uno de los papeles principales de las hojas es suministrar hidratos de carbono (especialmente sacarosa) a los diferentes

centros receptores de la planta, entre ellos el sistema radical. El carbono suministrado a las raíces retorna en parte a los brotes, por vía xilemática, en forma de aminoácidos y amidas.

Los compuestos nitrogenados que así llegan al vástago pueden quedar acumulados, como reservas solubles en los tallos y órganos de almacenaje, sin participar en el crecimiento hasta que dichos órganos entren en senescencia. Si tales compuestos no se acumulan, pasan a otros órganos donde son procesados metabólicamente. Esto ocurre sobre todo en las hojas, donde durante el proceso fotosintético se consumen las amidas y se sintetizan aminoácidos como la alanina, la serina, la glicina y los aromáticos.

Puede apreciarse que la capacidad de síntesis de las hojas y la de las raíces son complementarias: mientras las raíces proveen las amidas y sus aminoácidos relacionados, las hojas suministran sacarosa y aminoácidos no disponibles en cantidades en las raíces.

A medida que en la planta, cualquiera que sea su estadio, van apareciendo y creciendo los diferentes órganos, éstos manifiestan demandas específicas de nutrientes que a la vez aportan al resto del vegetal. Al comienzo tienen un requerimiento absoluto de carbono y nitrógeno para fijarlos como material estructural; pero posteriormente, cuando van completando su crecimiento, comienzan a "enviar" sus compuestos nitrogenados e hidrocarbonados.

En lo que a las raíces se refiere, estas estructuras no están programadas para acumular grandes cantidades de nitrógeno soluble, sino que en su mayoría lo envían al vástago. Los aminoácidos que llegan al vástago entran primero en las hojas basales, o son retenidos por los internodios más viejos o por los pecíolos. La absorción que efectúan estos órganos, es superior a su requerimiento corriente, de modo que la mayor parte es inmediatamente procesada y enviada a los órganos en crecimiento de los ápices vegetativos.

Por su parte, al comienzo de su crecimiento, las hojas toman materiales nitrogenados de sus similares más viejas, y sólo cuando alcanzan, aproximadamente, un cuarto de su tamaño definitivo, comienzan a enviar una pequeña parte. Al completar su tamaño y entrar en maduración, la emisión de compuestos supera a la incorporación y su nitrógeno es cedido a las hojas más jóvenes o es acumulado en tejidos de reserva del tallo o raíz.

Mientras la planta está en el estadio juvenil, la circulación de sus productos de asimilación es libre. Las hojas, jóvenes y viejas, envían su nitrógeno —en forma soluble— indistintamente a los brotes y las raíces. El complemento nitrogenado soluble presenta un amplio espectro de aminoácidos y amidas.

Cuando sobreviene la fase adulta, la nutrición de la planta se torna estratificada: las hojas de la parte superior suministran su nitrógeno a las hojas más jóvenes y a los ápices meristemáticos del tallo; las de la parte inferior lo envían al sistema radical y órganos reservantes, y las hojas de la zona media de la planta abastecen a los tejidos adyacentes del tallo y, en menor cantidad, a los ápices foliares y radicales.

Otra característica de la nutrición nitrogenada del estadio adulto es la que presentan los tejidos maduros del tallo y de los órganos de almacenaje (por ejemplo: los tubérculos, bulbos, rizomas, etcétera) de aquellas especies que los poseen. Tales estructuras funcionan como depósitos —en continua expansión— de los productos del metabolismo del nitrógeno en la planta.

La acumulación, sobre todo en los tallos, de estos metabolitos es importante, porque pueden servir de tampón en los períodos en que la absorción radical y la fotosíntesis están temporalmente detenidas.

Una vez que comienza la floración, la actividad radical decrece mucho y el requerimiento nitrogenado de los órganos reproductores es satisfecho a través de la movilización de las reservas del tallo.

En los órganos de almacenaje, la composición de las sustancias nitrogenadas es la misma que la de las otras partes de la planta. La diferencia es más bien cuantitativa. Además, la proporción de nitrógeno soluble es mayor generalmente que la del insoluble o proteico.

En la mayoría de los casos, cuando el jugo celular es ácido, el nitrógeno se acumula en forma amínica (aminoácidos); cuando no es tan ácido, la acumulación se efectúa en forma amídica (amidas). La mayor parte del material acumulado es posteriormente empleado en los primeros estadios de su brotación, mientras que el resto es usado gradualmente a lo largo de la estación de crecimiento y se agota cuando se alcanza la fructificación.

La aparición de las flores, que caracteriza al estadio reproductivo, involucra una rápida demanda de nitrógeno total, desde el estado de yema floral hasta el de flor totalmente abierta. Dicho nitrógeno es suministrado principalmente por las hojas jóvenes. El máximo contenido de N-proteico aparece en la yema floral; luego, durante la apertura de ésta, se produce un intenso desdoblamiento de aquél.

La polinización induce una rápida traslación de nitrógeno del perianto a los órganos reproductivos. Después de la caída de los pétalos, el nitrógeno total vuelve a ser mayor en aquellas flores que dan lugar a los frutos ("cuaje").

Entre las sustancias odoríferas, producidas por las flores (y también por las hojas), se encuentran el amoníaco y una variedad de aminas que se originan posiblemente por descarboxilación de diferentes aminoácidos.

Los frutos, en general, también se comportan como depósitos de N-soluble más que de N-proteico, y la mayor parte se acumula en la pulpa. Durante el "climaterio" del fruto se producen intensos cambios cualitativos y cuantitativos en su composición nitrogenada soluble e insoluble. En la vid, por ejemplo, el climaterio está asociado a una

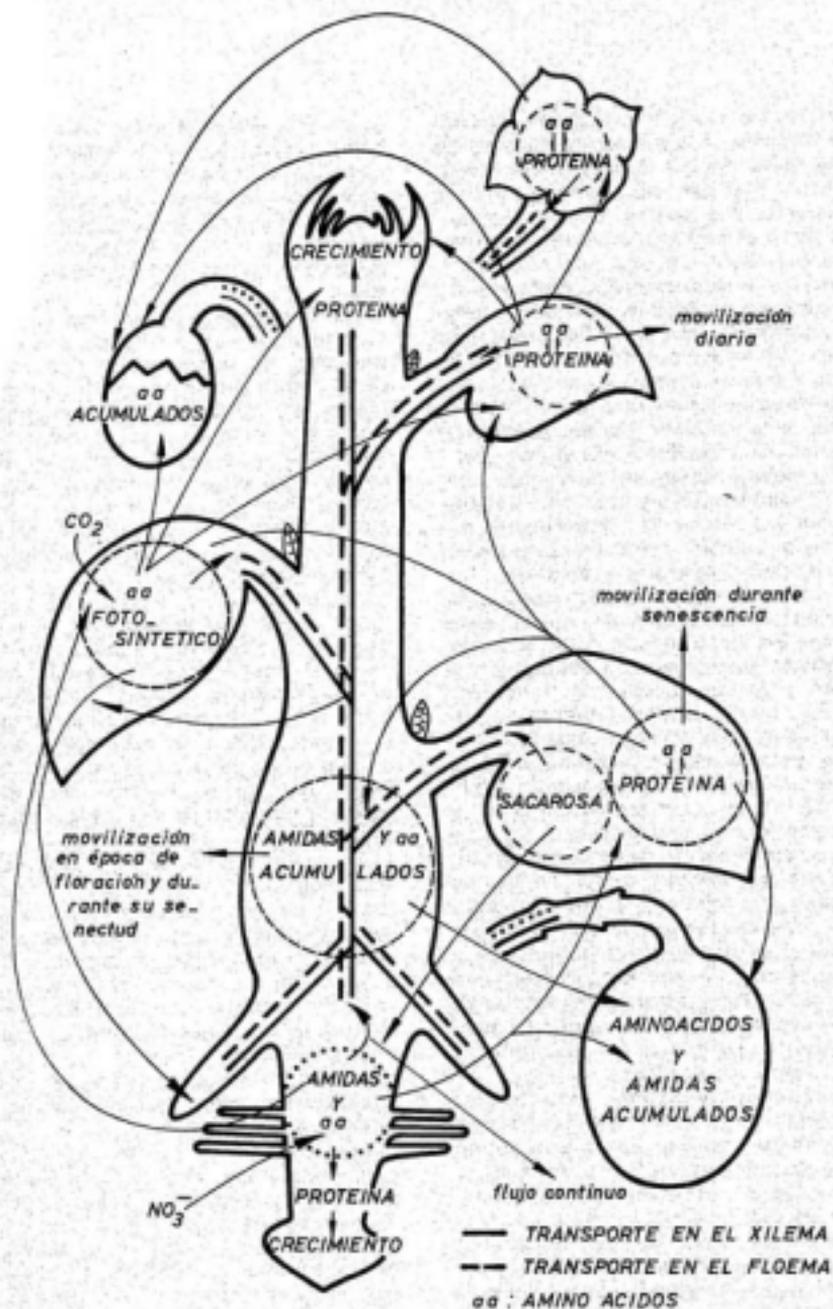


Figura 110. Sistema nutricional nitrogenado en una planta.

disminución del N-proteico y a un aumento concomitante del N-soluble. En ambas fases domina, fundamentalmente, el nitrógeno de arginina. Durante la maduración comercial que sigue al clímax, el N-total por fruto se incrementa.

Con la fructificación, la planta comienza a entrar en el período de senescencia que culmina posteriormente con la muerte total o parcial del vegetal. El sistema foliar es el primero que muestra el fenómeno, el cual se manifiesta por el característico amarillamiento.

Debemos recordar que las proteínas foliares no son materiales estáticos, sino que se están "reciclando" continuamente. El envejecimiento y senescencia de las hojas están acompañados por un significativo decrecimiento de la velocidad de la síntesis proteica y un aumento de la velocidad de degradación. Concomitantemente se produce una disminución de todo tipo de ARN.

La intensidad de la degradación de las proteínas y del ARN depende mucho del suministro de nutrientes. Es posible reverdecer una hoja en amarillamiento pulverizándola con solución de NO_3NH_4 . Esto demuestra que, durante el envejecimiento y senescencia, todo el sistema sintetizador de proteínas permanece intacto y que lo que se altera es la velocidad de síntesis y la de degradación.

Al parecer, de alguna manera el flujo de citocininas —procedente de las raíces— está impedido durante este estado, ya que dichas hormonas son las que mantienen la activación de la síntesis proteica a través de la activación de todo tipo de ARN.

Una vez que el sistema foliar ha completado su senescencia se acelera el mismo proceso en las demás regiones morfológicas de las plantas anuales, y luego sobreviene, rápidamente la muerte del sistema radical.

En la figura 110 puede verse en forma gráfica el sistema nutricional nitrogenado esbozado precedentemente.

De este panorama general del metabolismo del nitrógeno surge que aún es mucho lo que falta averiguar acerca de la metabolización de numerosos compuestos nitrogenados, no solamente en el aspecto bioquímico y celular, sino en el fisiológico de la planta entera y de sus órganos componentes.

APLICACIONES AGRONOMICAS DE CONCEPTOS FISIOLÓGICOS SOBRE EL METABOLISMO DEL NITRÓGENO

El nitrógeno ocupa una posición clave como nutriente vegetal, de modo que el conocimiento adecuado de su asimilación y metabolismo es importante para el manejo inteligente de muchas prácticas agrícolas.

En lo que sigue plantearé algunos problemas de carácter agronómico, por los cuales se podrá apreciar la conveniencia del conocimiento de diversos aspectos fisiológicos relacionados con el metabolismo del nitrógeno.

I.) Problemas relacionados con el empleo de herbicidas.

El uso amplio de herbicidas en agricultura —muchos de los cuales persisten, en el suelo durante lapsos de diversa duración y tienen efecto residual más o menos prolongado en la planta contaminada— hace necesario llamar la atención sobre algunas relaciones que existen entre aquéllos y el metabolismo del nitrógeno.

Dichos efectos se pueden apreciar en tres aspectos principales: 1) oxidación del nitrógeno en el suelo; 2) reducción del nitrato en la planta; 3) síntesis de proteínas.

OXIDACION DEL NITROGENO EN EL SUELO

Los herbicidas que se aplican al suelo pueden tener efecto sobre las bacterias nitrificantes y los organismos de vida libre fijadores de N_2 . Del grupo de compuestos pertenecientes a las triazinas y ureas sustituidas, únicamente el monurón (N^p -clorofenil-N N-dimetilurea), en las dosis que por lo común se emplean en agricultura, tiene un efecto inhibitorio temporario sobre el proceso de nitrificación.

Debido a que las bacterias del género *Nitrosomonas* son más tolerantes que las del *Nitrosobacter*, los suelos tratados con monurón muestran una acumulación anormal de nitritos, muy tóxica para las plantas. Cuando la concentración de monurón en la solución del suelo es de alrededor de 100 ppm, inhibe también la acción del *Azotobacter* y la fijación del nitrógeno atmosférico.

Sin embargo, este herbicida es adsorbido con rapidez por los coloides del suelo, adsorción que ocurre fundamentalmente en los horizontes superiores. De manera que, excepto en los suelos arenosos, su efecto resulta muy localizado. Como el monurón se descompone por acción bacteriana del suelo, al cabo de cierto tiempo éste recupera su total capacidad nitrificante y, con ella, la fertilidad.

REDUCCION DEL NITRATO EN LA PLANTA

Las plantas que toleran a los herbicidas (o sea que son capaces de metabolizarlos), una vez que absorben el producto lo mantienen en sus tejidos en una concentración inferior al nivel tóxico. En muchos casos, estas dosis internas subletales producen efectos estimulantes sobre el crecimiento y la productividad.

Algunas plantas bajo cultivo, resistentes a ciertos herbicidas como el DNOC (2,4-dinitro-o-cresol), la sima-

zina, la atrazina, etcétera, y contaminadas con ellos, pueden mostrar, al principio, un retardo en el crecimiento. Una vez que han metabolizado suficiente cantidad del herbicida absorbido, crecen más rápidamente (aumenta su contenido en clorofila y nitrógeno) que las plantas no contaminadas. En muchas especies, el contenido nitrogenado aumenta de 20 a 25 veces. Al parecer, estos herbicidas actúan activando la nitrato-reductasa e induciendo a la planta a aprovechar mejor el nitrógeno disponible. Estos hechos plantean problemas particulares con respecto a la especie bajo cultivo. En los manzanos, por ejemplo, estos herbicidas deben manejarse con cuidado porque provocan en el árbol un crecimiento vegetativo muy vigoroso que trae como consecuencia una reducción en el número de yemas florales o una demora en su aparición.

El 2,4-D, en dosis subletales, también tiene un efecto estimulante sobre la acción de la nitrato-reductasa y produce incrementos notables en el rendimiento de la remolacha azucarera, la papa y otros cultivos, cuando se suministra por el follaje.

En cambio, existen otros herbicidas que son potentes inhibidores de la inducción de la nitrato-reductasa, como ocurre con ciertos derivados del uracilo como el bromacil y el isocil, en concentraciones bajas (de 1 a 10 ppm). Un efecto similar tiene también el clorato de sodio. Por lo tanto, en lo que a nutrición nitrogenada se refiere, puede esperarse un efecto depresivo de dichos herbicidas sobre las plantas cultivadas.

SINTESIS DE PROTEINAS

Muchos herbicidas actúan por diversas vías e interfieren la síntesis de proteínas. Los carbamatos producen un bloqueo en la incorporación de los aminoácidos a las proteínas. Esto se ha constatado respecto de la mayoría de las plantas susceptibles. Otros, como los

amitroles —que son herbicidas no selectivos—, afectan en forma indirecta el metabolismo del nitrógeno y provocan la quelación de micronutrientes. Estos son indispensables para la actividad de muchas enzimas que intervienen en diversas rutas biosintéticas del nitrógeno. Además, forman complejos con aminoácidos como glicina, alanina y serina, o interfieren la síntesis de otros (por ejemplo: la histidina). Cualquiera que sea la forma de actuar, el resultado es un bloqueo en la síntesis de proteínas.

Uno de los efectos primarios del dalapón sobre el metabolismo del nitrógeno en las plantas susceptibles y resistentes, es el notable aumento que provoca en el contenido de aminoácidos y amidas libres. Mientras que las plantas resistentes se recuperan de esta alteración —que indudablemente afecta la síntesis proteica—, con las susceptibles no ocurre lo mismo. Los fenoxiácidos, como el 2,4-D parecen actuar de un modo que afecta el contenido de proteína en los distintos órganos, con respecto al de las plantas no contaminadas con el herbicida.

II.) Problemas relacionados con la fertilización nitrogenada

Para estudiar el comportamiento de las plantas en relación con la nutrición nitrogenada (formas de nitrógeno que hay que suministrar, época de fertilización, etcétera) se requiere aplicar un criterio metabólico. Un conocimiento sobre el metabolismo del nitrógeno, en todos sus aspectos, es necesario para entender sus interacciones con otros nutrientes y con los diversos factores ambientales que operan durante el crecimiento y desarrollo de las plantas.

CONSIDERACIONES SOBRE EL COCIENTE CARBONO/NITROGENO (C/N) Y SU RELACION CON EL CRECIMIENTO

El nitrógeno es uno de los elementos esenciales de mayor efecto morfogénico y, por lo tanto, es importante en muchos aspectos. Las plantas que crecen con poca disponibilidad de nitrógeno tienden a ser lignificadas y a tener paredes celulares gruesas. Esto se produce, muy posiblemente, porque la mayor parte de los carbohidratos se depositan en tales estructuras, ya que si hubiese suficiente cantidad de nitrógeno serían canalizados hacia la síntesis de proteínas, es decir síntesis de protoplasma. La relación C/N puede dar un índice de la productividad de una planta y del crecimiento vegetativo de sus diferentes regiones morfológicas.

La productividad de una planta es el resultado de una regulación secuencial de dos procesos fundamentales: crecimiento y desarrollo. Ambos procesos, en cierta forma, se excluyen. Una buena expresión de crecimiento se obtiene en ausencia de estructuras reproductivas, y viceversa. Con el manejo de fertilizantes nitrogenados, en épocas y cantidades adecuadas, se puede regular cuantitativamente estos procesos. Mientras exista buena disponibilidad de carbohidratos en la planta y el nitrógeno no sea limitativo, ambos tipos de compuestos se canalizarán hacia la síntesis de proteínas y el crecimiento aumentará (relación C/N baja). Si, en cambio, el suministro de nitrógeno es deficiente, una gran parte de los carbohidratos se desvía hacia la síntesis de celulosa con la consiguiente disminución del crecimiento (relación C/N alta).

Por lo tanto, cuando la planta es joven (ausencia de estructuras reproductivas), la aplicación de nitrógeno favorece el crecimiento. Pero cuando está

terminando su período juvenil no se debe fertilizar con nitrógeno a fin de tener una relación C/N alta que amiore el crecimiento en favor de una mayor expresión cuantitativa de las estructuras reproductivas.

Este cociente también se aplica a la relación vástago / raíz. En general, hay que tener presente que el nitrógeno tiende a pasar al vástago, mientras que el carbono se dirige a la raíz. Si el nitrógeno en el suelo es deficiente (C/N alto en la planta), el tamaño de la raíz será comparativamente grande respecto del vástago, pues gran parte del N absorbido es reducido y utilizado en aquélla. Con buen contenido de nitrógeno en el suelo, el incremento de crecimiento tiende a producirse en el vástago (C/N bajo en la planta).

CONSIDERACIONES SOBRE LA ÉPOCA DE FERTILIZACIÓN NITROGENADA

Si tomamos el caso de un frutal en plena producción, vemos que conforma un organismo muy complejo, con un gran número de diferentes puntos de crecimiento, la actividad de los cuales puede variar ampliamente con las estaciones. Los factores ambientales pueden alterar el metabolismo del nitrógeno agregado como fertilizante, sobre todo en los órganos en activo crecimiento. Por lo tanto, la respuesta de un monte frutal a una determinada forma de fertilizante nitrogenado puede variar ampliamente con las circunstancias y época del año en que se lleva a cabo su aplicación.

En los manzanos, por ejemplo, se debe tener en cuenta la fecha de cesación del crecimiento en extensión de las ramitas. La duración de este crecimiento está en proporción directa con el estado nutricional nitrogenado al comienzo de la primavera. Cuando dicho crecimiento cesa, se produce la diferenciación e iniciación de los primordios florales. Esto quiere decir que

no es conveniente fertilizar en primavera, pues el crecimiento en extensión de las ramitas se prolongaría hasta el final del verano. Por lo tanto, esta operación debería realizarse en verano u otoño. Entre estas dos estaciones hay que decidirse por la que provoque menor crecimiento del óvulo. Un alto contenido de nitrógeno incrementa el crecimiento de dicha estructura y hace que aumente su flujo auxínico, lo cual compromete su propio "cuaje". Mediante una adecuada restricción de nitrógeno se puede disminuir la longevidad del óvulo.

Otro hecho que hay que tener en cuenta es la forma en que el nitrógeno aplicado se distribuye en la planta. El nitrógeno que se absorbe en primavera o verano se distribuye a todas las regiones de la planta; en cambio, el absorbido después de la caída de las hojas, queda casi enteramente acumulado en las raíces durante el invierno. En consecuencia, en la primavera siguiente se moviliza y puede afectar (a través de la actividad de las citocininas) el crecimiento de las yemas florales (por ejemplo, el crecimiento del óvulo, lo que implica poco "cuaje").

La época de aplicación de nitrógeno también influye en el color de la fruta y en su calidad durante el almacenaje. En el caso de las manzanas se requiere una restricción de nitrógeno en la época de maduración para que el metabolismo de los carbohidratos se desvíe hacia la síntesis de antocianinas y aumente la coloración de las frutas (con buena intensidad lumínica).

CONSIDERACIONES SOBRE LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA ORGÁNICA

Aparte de la utilización de las fuentes de nitrógeno inorgánico (nitrato, amonio, etcétera) se acepta, en general, que las plantas superiores pueden utilizar el nitrógeno de fuentes orgánicas. Sin embargo, existe una gran variación

según el compuesto orgánico que se suministre y según la especie que lo absorba.

Cuando se aplica al suelo un compuesto nitrogenado orgánico (por ejemplo: urea, sangre desecada, estiércol, abono verde, etcétera), su nitrógeno es principalmente utilizado por las plantas después que se ha convertido en nitrato. Pero debido a que el proceso de nitrificación es relativamente lento (según los tipos de suelo, las temperaturas, etcétera), las raíces pueden estar expuestas, durante cierto tiempo, a apreciables concentraciones de compuestos orgánicos nitrogenados. Tales compuestos pueden estar bajo la misma formulación química en que fueron aplicados (por ejemplo: la urea) o como productos de degradación bacteriana (aminoácidos, péptidos diversos, etcétera). Por ejemplo, después de fertilizar con urea pueden transcurrir varias semanas antes que tenga lugar su conversión total en NH_4^+ y NO_3^- . A 20 °C, después de una semana de haber aplicado 200 kg/ha, más del 50 % se puede encontrar todavía como urea. A las tres semanas queda un remanente, como tal, de 20 kg/ha aproximadamente.

Mientras se produce el proceso de su conversión a la forma inorgánica, la urea va siendo absorbida por las raíces como molécula entera, sin previo desdoblamiento en NH_3 y CO_2 y su nitrógeno puede ser utilizado por la planta.

Durante la degradación que sufren los compuestos nitrogenados orgánicos agregados al suelo, aparecen muchos aminoácidos, los que pueden ser absorbidos como molécula entera. Algunos aminoácidos son buena fuente de nitrógeno para ciertas especies, mientras que otros producen malformaciones (por ejemplo, plantas de arveja con hábito de crecimiento arbustivo y ramificado, con sistema radical corto y en "penacho", producidas por concentraciones de 0,0015 a 0,0030 % de beta-alanina; etcétera). Otros resultan extremadamente tóxicos (el 0,0005 %

de hidroxiprolina puede provocar la muerte de las plantas de tabaco en muy breve plazo).

No es raro que muchas alteraciones morfogénicas, observadas en condiciones de campo, se deban a la acción de aminoácidos libres del suelo. Los desórdenes nutricionales provocados por ellos producen cambios acentuados en la concentración y calidad de los aminoácidos y amidas libres de las plantas. Algunos parecen ser de carácter general, pero otros pueden variar según el individuo.

CONSIDERACIONES SOBRE LA INTERACCION DEL N CON OTROS ELEMENTOS EN EL SUELO Y EN LA PLANTA

Dicha interacción resulta en alteraciones mutuas en el metabolismo de los elementos que interactúan. Veamos algunos ejemplos: las altas dosis de fósforo en los primeros estadios del crecimiento del maíz, la cebada, la remolacha azucarera, etcétera, incrementan la intensidad del metabolismo del nitrógeno, sobre todo cuando éste se suministra como nitrato. Esto se debe a que el P interviene en la fosforilación de los azúcares, paso previo para que estos metabolitos inicien su degradación oxidativa a ácidos cetónicos, los cuales son requeridos para la síntesis de aminoácidos. También el P, a través de la formación de ATP, interviene en la reducción de los nitratos.

A su vez, una buena fertilización nitrogenada aumenta la absorción y utilización del P por las plantas. Esta respuesta está asociada a un mayor crecimiento del vástago (relación C/N baja), a través de la síntesis de proteínas.

Podemos decir, en general, que las plantas abonadas con nitrato requieren un alto suministro de P. Además, el N puede contrarrestar una eventual toxicidad por exceso de P.

**CONSIDERACIONES SOBRE LA
APLICACION DE N COMO
NO₃ o COMO NH₄**

La preferencia en cuanto al uso del NO₃⁻ o del NH₄⁺ en las prácticas agrícolas puede depender de una serie de factores. El pH de la solución del suelo es uno de ellos. Los aniones (incluyendo el NO₃⁻) se absorben más cuando la solución es de reacción ácida (pH 5,0 - 5,5) que cuando es neutra. Al contrario, los cationes (incluyendo al NH₄⁺) se absorben mejor con pH más bien alcalinos (6,1 - 7,1).

El ion acompañante tiene influencia en la absorción de otros elementos. El Fe y el Zn están más al alcance de la planta cuando se fertiliza con (NH₄)₂SO₄ que cuando se hace con NaNO₃. Esto se debe a que al absorberse el NO₃⁻, el pH de la solución se va alcalinizando, pero lo contrario ocurre cuando se absorbe NH₄⁺.

El Ca⁺⁺ ejerce un efecto beneficioso sobre el crecimiento cuando el N se suministra como NH₄⁺, pues ensancha el intervalo de pH para la absorción del NH₄⁺. En cambio, el mismo ion deprime el crecimiento cuando acompaña al NO₃⁻. Este se absorbe mejor en presencia de K⁺ (efecto mutuo).

El NH₄⁺ se opone al Mg⁺⁺. La deficiencia de este elemento en las plantas es mayor a medida que el suministro de NH₄⁺ aumenta. El NO₃⁻, en relación al NH₄⁺, incrementa el metabolismo del S (en la remolacha azucarera). Las altas concentraciones de Cl⁻ deprimen la absorción de NO₃⁻ debido a un posible efecto antagónico.

Cuando la tensión del oxígeno en los suelos es relativamente baja, se debe preferir el NO₃⁻, ya que éste compite con el O₂ como aceptor de H₂ respiratorio.

Debido a que el Mn interviene en el metabolismo del NH₄⁺ y el Mo en el del NO₃⁻ cuando haya deficiencia de Mo se fertilizará con NH₄⁺ y cuando la deficiencia sea de Mn se preferirá el NO₃⁻.

El estado nutricional hidrocarbonado de la planta también es un factor que se debe tener en cuenta. La asimilación de ambas formas de nitrógeno requiere una fuente de esqueletos carbonados para pasar a la forma orgánica (aminación reductiva) y para que provea los ATP necesarios para la reducción de los nitratos. El efecto inmediato de la asimilación del NO₃⁻ será más o menos localizada, según el lugar donde se produzca la reducción (raíz o vástago). La asimilación del nitrato es más lenta que la del amonio, por lo que aquél tiende a acumularse por un tiempo. Dicha asimilación consume más hidratos de carbono que la correspondiente al amonio; pero éste, bajo condiciones de no muy intensa actividad fotosintética, puede (al igual que el nitrato, cuando ambos se suministran continuamente) agotar de carbohidratos a la planta, de manera tal que ésta se torne blanda, verde oscura y con hábito de crecimiento saculento. A la par, el contenido de lignina y celulosa disminuye y la planta se torna relativamente improductiva.

**III.) Problemas relacionados con la
fijación del N₂ (atmosférico)**

La cantidad de N₂ que fijan las leguminosas representa cerca del 75 % del N total que utilizan en el crecimiento. En las leguminosas anuales, la cantidad de N₂ fijado varía de 60 a 120 kg/ha/año, en las perennes, posiblemente, es mayor. Por lo tanto, desde el punto de vista agronómico, es interesante asegurarse de que la planta esté inoculada con su bacteria específica. La inoculación es la práctica de agregar la bacteria específica a las semillas de las leguminosas con el fin de obtener los mayores beneficios de esta asociación.

Ciertas clases de bacterias son muy efectivas cuando están asociadas a una variedad especial de leguminosa. La inoculación con una clase de bacteria no específica para una planta puede ser

perjudicial. Por lo tanto, debemos tener en cuenta que el objetivo que se persigue con la inoculación es el de proporcionar a las leguminosas la bacteria específica.

En un programa de inoculación se debe tener presente que las bacterias son muy sensibles a la acidez del suelo, falta de aireación, altas temperaturas y sequía. Además se requiere que no hayan deficiencias minerales, porque las leguminosas son muy exigentes en nutrientes minerales, entre ellos el cobalto.

La inoculación se debe realizar 1) cuando no hayan crecido, previamente, leguminosas en el terreno; 2) cuando, habiéndose cultivado, éstas no hayan presentado nódulos; 3) cuando se emplee una especie muy diferente de la que se cultivó previamente; 4) cuando, en una rotación, el cultivo de una leguminosa sigue a una no leguminosa.

La inoculación de las semillas no es necesaria cuando existe en el suelo abundante cantidad de bacterias. En caso de duda es aconsejable practicar la inoculación.

Para tener éxito en esta práctica agrícola hay que mezclar completamente las semillas con el nitrocultivo. La dosis indicada por el fabricante puede elevarse 5 ó 10 veces. Después de efectuar la mezcla conviene sembrar inmediatamente o a las pocas horas, tratando de no exponer las semillas a la acción directa de la luz solar.

Muchos autores han estudiado el efecto inhibitorio de los fertilizantes nitrogenados sobre el desarrollo de nódulos en las raíces de las leguminosas. Hay evidencia de un efecto local y específico del nitrato sobre los primeros estadios de la formación del nódulo. Por otra parte, hay también un efecto del alto contenido de nitrógeno en la raíz, en todos sus estadios del crecimiento.

La aplicación de cualquier forma de nitrógeno rápidamente disponible (urea, nitrato, amonio) provoca dichas acumulaciones de nitrógeno en la raíz, lo que a su vez ocasiona una deficiencia de

azúcares que previene o demora la formación de nódulos.

En los primeros estadios de la fijación del N_2 , el consumo de hidratos de carbono es comparativamente grande, por lo que una alta relación C/N está asociada a las plantas susceptibles de nodularse; mientras que cuando dicha relación es baja, la planta no forma casi nódulos.

La auxina ácido indol-3-acético (10^{-7} a 10^{-8} M), ha mostrado un efecto favorable sobre la nodulación y una atenuación del efecto inhibitorio de concentraciones relativamente altas (10 a 50 ppm en la solución del suelo) de nitrógeno en forma de nitrato o amonio.

LECTURAS COMPLEMENTARIAS

- Bonner, J. y Varner, J. E. (comps.): *Plant Biochemistry*, Academic Press, 1965.
- Chibnall, A. C.: *Protein Metabolism in the Plant*. Yale Univ. Press, New Haven, Connecticut, E.U.A., 1965.
- Hewitt, E. J. y Cutting, C. V. (comps.): *Recent Aspects of Nitrogen Metabolism in Plants*, (1st Long Ashton Symposium 1967), Academic Press, 1968.
- McElroy, W. D. y Glass, H. B. (comps.): *A Symposium on Amino Acid Metabolism*, McCollum-Pratt Institute, Johns Hopkins Press, 1955.
- : *A Symposium on Inorganic Nitrogen Metabolism*, McCollum-Pratt Institute, John Hopkins Press, 1956.
- Meister, A.: *Biochemistry of the Amino Acids*, Academic Press, 1957.
- Ruhland, W. (comp.): "Nitrogen Metabolism", *Encyclopedia of Plant Physiology*, Springer-Verlag, Berlín, vol. 8, 1958.
- Steward, F. C. y Durzan, D. B.: "Metabolism of Nitrogenous Compounds". In: *Plant Physiology, a treatise*, comp. por F. C. Steward, Academic Press, 1965, vol. 4 A, págs. 379-636.
- Webster, G. C.: *Nitrogen Metabolism in Plants*, Row Peterson and Co., 1959.

RELACIONES HIDRICAS

A. SORIANO Y E. R. MONTALDI

INTRODUCCION

La manera más simple de poner en evidencia la importancia fundamental que tiene el agua para las plantas es reducir o suprimir su suministro. Al hacerlo, según la naturaleza de la planta y de las condiciones del medio en que se encuentre, se alterará de modo más o menos intenso la marcha de una serie de funciones y procesos indispensables para el crecimiento y la vida. La multiplicación celular y el alargamiento de las nuevas células disminuirá brusca o paulatinamente, la fotosíntesis se reducirá hasta cesar por completo, diversas rutas de la intrincada red del metabolismo intermedio modificarán su ritmo de actividades —alterándose, incluso, el curso mismo de esas rutas—, y el traslado y acumulación de algunas sustancias en ciertos órganos se reducirá hasta cesar totalmente.

El resultado de estas disfunciones, provocadas por una disminución en el suministro de agua, se manifiesta, en el caso de los cultivos agrícolas o de los pastizales, en la disminución más o menos acentuada de los rendimientos, hasta llegar a la pérdida total de las cosechas. En un ensayo realizado en Pergamino, provincia de Buenos Aires, donde algunas parcelas de cultivo de maíz eran regadas cada vez que la disponibilidad

de agua en el suelo descendía por debajo de un cierto valor, mientras que otras parcelas contaban sólo con el agua proveniente de las lluvias, los rendimientos en grano fueron, respectivamente, de 4100 y 2660 kilos/hectárea. Las plantas de las parcelas no regadas habían sufrido en varias ocasiones, a lo largo de su ciclo de vida, déficits hídricos de una magnitud tal que, si bien no provocaron la muerte de ciertos órganos como las hojas o las inflorescencias, influyeron en la formación y crecimiento de los granos. El origen de esas diferencias entre las plantas que sufrieron déficits de agua y las que no lo sufrieron debe buscarse en fenómenos que tienen lugar en el nivel molecular. Es en él donde la peculiar molécula de la especie química que llamamos agua ejerce algunas de sus más importantes funciones, como son las de interactuar, como solvente, con moléculas de solutos; reaccionar con otras moléculas; y asociarse a ciertos grupos químicos de macromoléculas modificando su capacidad para reaccionar.

LA MOLECULA DE AGUA

La peculiaridad de la molécula de agua se manifiesta en la discrepancia entre sus valores para una serie de cons-

tantes físicas y los correspondientes de otras sustancias con peso molecular del mismo orden de magnitud, tales como el amoníaco o los ácidos sulfhídrico o fluorhídrico.

Si las propiedades del agua no discrepan tan notablemente de las de esos otros hidruros se manifestaría en estado gaseoso a las temperaturas habituales en que se hallan los seres vivos, y sus puntos de fusión y de ebullición serían mucho más bajos. En efecto, el agua se congela y entra en ebullición a temperaturas desusadamente elevadas para una sustancia de su tamaño molecular. Lo mismo ocurre con otras propiedades físicas: el calor específico, la tensión superficial, la viscosidad y la constante dieléctrica. ¿A qué se deben esas discrepancias tan notables entre las propiedades del agua y las de otras sustancias químicamente muy similares? La causa debe buscarse en la naturaleza dipolar del agua. Su molécula, aunque eléctricamente neutra, posee sus electrones distribuidos de tal modo que aparece negativamente cargada en un extremo y positivamente en el otro. Esta característica determina su facilidad para formar *puentes hidrógeno*.

Cada molécula de agua tiende a formar cuatro de estas uniones con moléculas de su contorno. Esas uniones hidrógeno son mucho más débiles que las uniones covalentes, pero más fuertes que la simple atracción intermolecular o fuerza de *van der Waals*, y se presentan siempre que un protón relativamente descubierto se une a otro átomo. Es la energía para vencer esa atracción entre las moléculas del agua la que determina los valores desusados (para una molécula de su tamaño) de las constantes físicas antes mencionadas. La estructura adoptada por el conjunto de moléculas de agua depende del grado de agitación térmica. Así, en el hielo, la frecuencia de uniones hidrógeno estables es máxima y el resultado es una estructura cristalina en forma de tetraedro. El aumento de la agitación térmica, a temperaturas mayores, determina la con-

tinua ruptura de un número creciente de uniones hidrógeno, con lo cual se pierde la disposición regular de las moléculas.

Debido a sus propiedades eléctricas, las moléculas de agua interaccionan con otras partículas cargadas, por ejemplo los iones. El resultado es que, de acuerdo con la carga del ion, una o más series de moléculas de agua se disponen ordenadamente en su periferia dando lugar a un ion hidratado. Como el agua es dipolar, ello ocurrirá tanto en el caso de los iones positivos como negativos, variando en cada uno de estos casos la orientación de las moléculas de agua respecto de la superficie del ion. Si se trata de un anión, los hidrógenos del agua con sus protones incompletamente cubiertos serán los que se orienten hacia el ion, mientras que si se trata de un catión será el oxígeno con sus dos pares de electrones no compartidos el que haga lo propio.

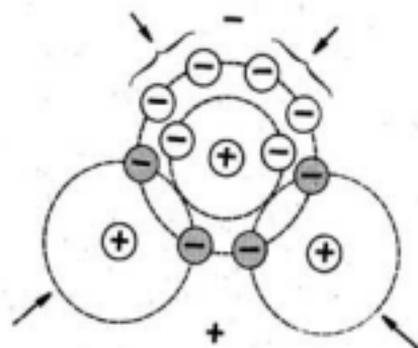


Figura 111. Estructura de la molécula de agua.

La disposición y la actividad de las moléculas del agua son influenciadas por las cargas existentes en el medio, sea que pertenezcan a iones o a micelas coloidales o superficies hidrofílicas expuestas por sustancias orgánicas o inorgánicas. En el caso de macromoléculas, como las

de muchas proteínas o polímeros de azúcares, la existencia en su periferia de grupos carbonilo, hidroxilo, amina, etcétera constituye el origen de las cargas que polarizan las moléculas de agua alrededor de ellas.

Tanto alrededor de las moléculas de proteínas como en relación con superficies moleculares extensas, las moléculas de agua más fuertemente retenidas se disponen formando una estructura semejante al hielo. Los iones no penetran en esa trama de "hielo" cuyo espesor puede alcanzar un valor de 10 a 20 Å. Más allá de esa distancia las moléculas de agua asociadas a la superficie por fuerzas eléctricas se disponen en un orden cada vez menos estricto. Según un autor, el número de moléculas de agua asociadas a grupos polares de una sola molécula de proteína es del orden de 20.000. El agua retenida de ese modo por las superficies hidrofílicas existentes en los distintos compartimientos de una célula vegetal constituye gran parte de lo que diversos autores han denominado "agua ligada", en oposición al agua libre, no sometida a esas fuerzas y por tanto dotada de mayor movilidad.

FUNCION DEL AGUA EN LA PLANTA

Estos conocimientos acerca de las propiedades del agua, aunque sumarios, permiten avanzar en la comprensión de las relaciones entre las células o los tejidos y el agua. ¿Cuáles son las funciones que, de acuerdo con los conocimientos actuales, desempeña el agua en las células y tejidos vegetales?

En primer lugar, el agua es un integrante fundamental de la estructura funcional de la célula. Ya se ha visto cómo sus propiedades eléctricas la capacitan para ello. El hecho es que una gran cantidad de agua se encuentra comúnmente asociada a componentes coloi-

dales, moléculas proteínicas, membranas, etcétera, que constituyen la estructura necesaria para que se produzcan en la célula los cambios fisicoquímicos básicos de su actividad. El mantenimiento de esa funcionalidad normal exige, en la mayor parte de los tejidos vivos, un contenido de agua muy elevado. Por esta razón, en los órganos herbáceos dicho contenido oscila alrededor del 80 ó 90 % del peso fresco. Por su cantidad, el agua es, pues, el principal componente de esos órganos, pero su importancia no reside tanto en su participación desde el punto de vista cuantitativo como en el papel que desempeña en la dinámica de la célula vegetal.

El dinamismo celular requiere la producción de un gran número de reacciones y transformaciones de sustancias que, para sufrirlas, deben chocar entre sí. El hecho de encontrarse esas sustancias en solución favorece notablemente esos choques o colisiones. Los iones inorgánicos, azúcares, aminoácidos, proteínas, nucleótidos, etcétera, reaccionan entre sí y con otras sustancias en el grado en que la actividad de la célula lo requiere, gracias a su interacción con el agua en su carácter de solvente. En estado disuelto, esas sustancias se desplazan de un punto al otro del sistema celular siguiendo sus propios gradientes de concentración y actividad.

También pueden ser arrastradas en forma masiva cuando el agua, es decir la solución, se desplaza como un flujo continuo. Es ésta una función muy importante del agua gracias a la cual reaccionantes y productos se trasladan a velocidades superiores a las que alcanzarían por simple difusión. De este modo se logra que los productos de la reacción que ocurre en un punto o compartimiento se alejen de él (modificando así las situaciones de equilibrio de las que depende, en parte, la velocidad de las reacciones) y se hallen disponibles en otros donde han de ser utilizados o almacenados.

El agua cumple también el papel de reaccionante o de producto en numerosos puntos de la intrincada red del metabolismo celular. Así pues, las moléculas de ésta se incorporan (hidrólisis) a un gran número de reacciones metabólicas. Es del agua de donde proceden los hidrógenos que han de hacer operativo el poder reductor generado en la fotosíntesis en la mayor parte de los vegetales, y el oxígeno que es liberado como uno de los productos del proceso.

El agua en la célula.

Concepto de potencial agua

La célula vegetal, debido a la existencia de una pared celulósica apreciablemente rígida, es capaz de desarrollar presiones internas considerables de resultas de la entrada de agua. Esa presión existente en las células en estado turgente, además de cumplir un papel en el alargamiento o expansión celular, constituye la causa de la rigidez que normalmente poseen los órganos herbáceos, ya se trate de tallos, hojas, raíces u órganos florales. Basta haber visto el aspecto flácido de una hoja sometida a déficit hídrico para apreciar esta función del agua en la planta. La turgencia de las células oclusivas de los estomas es la que determina la apertura de éstos, la cual a su vez, controla la entrada en la hoja del dióxido de carbono utilizado en la fotosíntesis.

A esta altura del tratamiento de las funciones que cumple el agua en las células y tejidos vegetales se puede preguntar si existe la posibilidad de caracterizar y cuantificar, de alguna manera, su capacidad para ejercer esas funciones: disolver sustancias e interactuar con ellas, fluir entre dos puntos y entrar en reacción con otras sustancias. La cantidad o proporción de agua de la célula o tejido con respecto a su peso fresco o seco es sólo uno de los caracteres que influyen, pero no basta, por sí, para caracterizar esa capa-

cidad de actuar que interesa conocer. Lo que da realmente una idea y una medida de cómo el agua puede desempeñar esas funciones en distintas situaciones es su capacidad para realizar trabajo.

Efectivamente, esa capacidad varía con las circunstancias físicas y fisicoquímicas. La temperatura del agua, la presión a la que esté sometida, la presencia de una cantidad de sustancia disuelta en ella y la atracción ejercida por superficies sobre sus moléculas son variables que modifican esa capacidad del agua para realizar trabajo. Existe un concepto para expresar esa capacidad, no sólo respecto del agua sino también de cualquier otra sustancia: Es el concepto de *potencial químico*. El potencial químico del agua que se halla en el protoplasma de las células de una hoja (al que llamaremos en forma genérica μ_a) podrá ser igual o distinto al de una masa de agua pura, a 25 °C y presión normal (condiciones estándar), por las razones ya apuntadas de que puede estar a distinta temperatura y a distinta presión, y porque puede contener sustancias disueltas y estar retenida por diversos tipos de superficies. Dado que no es sencillo determinar el potencial químico absoluto del agua en una condición determinada (μ_a), lo que se hace habitualmente es compararlo con el potencial del agua pura en las condiciones estándar antes mencionadas, al cual se denomina μ_a° . Es esa diferencia, a la que denominamos *potencial agua* ($\psi = \mu_a - \mu_a^\circ$), la que nos permite caracterizar y medir el nivel energético del agua en un sistema cualquiera, en nuestro caso particular una célula, tejido u órgano vegetal. Es decir:

$$\psi = \mu_a - \mu_a^\circ \quad (1)$$

La idea de potencial agua, en una primera aproximación, resulta más aséptica si se apela a los conceptos intuitivos de trabajo y de movimiento. En el primer caso, se puede afirmar que habrá

que aplicar menos trabajo para extraer agua de una masa de agua pura que para extraer la misma cantidad de una solución (agua + soluto) o de un sistema en el que se halla sometida a atracción por partículas coloidales u otras superficies. La mayor necesidad de trabajo para la extracción mencionada, significa que el agua en el sistema tiene menor capacidad para realizar trabajo, menor nivel energético, menor potencial agua. Por otra parte, se puede decir que el agua, dentro de un sistema cualquiera se mueve desde puntos donde su capacidad para realizar trabajo, su nivel energético o su potencial agua es mayor, hacia puntos donde es menor. Si el potencial agua es uniforme en todo el sistema, no habrá movimiento neto de agua entre ninguno de sus puntos. Ana-

licese el sistema constituido por dos recipientes abiertos, uno con agua pura y el otro con una solución cualquiera preparada con un azúcar, una sal inorgánica o agar, colocados en un compartimiento cerrado, todo mantenido a temperatura uniforme y a presión normal. Dado que el agua no posee el mismo potencial agua, nivel energético o capacidad para realizar trabajo en todos los puntos de ese sistema, se ha de mover. Se puede predecir qué es lo que ocurrirá: el agua se evaporará del recipiente con agua pura, difundiendo hacia la atmósfera del compartimiento, la cual se saturará con vapor, y éste se condensará en la superficie expuesta de la solución del segundo recipiente.

Habrà, pues, un pasaje neto de agua desde el recipiente con agua pura, con

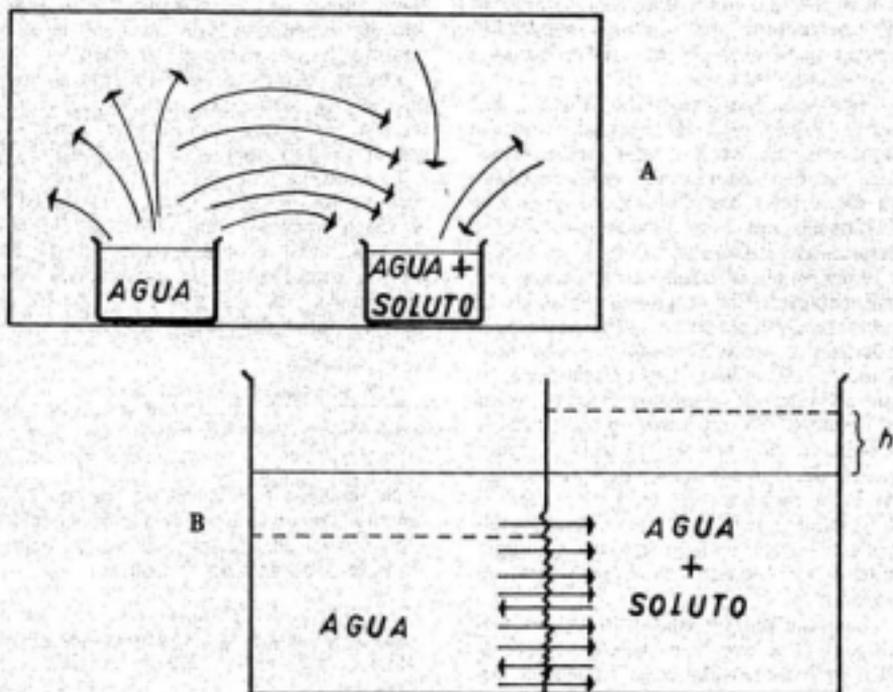


Figura 112 A. Movimiento de vapor de agua causado por una diferencia de potencial de agua. B. Pasaje de agua a través de una membrana semipermeable provocado por la diferencia de potencial agua.

un potencial agua mayor, al recipiente con solución, donde el potencial agua es menor.

Si en lugar de encontrarse el agua pura y la solución en dos recipientes separados por una amplia brecha de vapor, las colocamos en un mismo recipiente, pero separadas por una membrana semipermeable, es decir, capaz de permitir el paso de las moléculas de agua pero no de las moléculas del soluto, el agua pura se moverá desde su compartimiento hacia el que contiene la solución. El agua pura del compartimiento que la contiene, posee un nivel energético, una capacidad para realizar trabajo y un potencial agua superior al del agua que forma la solución en el otro compartimiento, y por eso tiende a moverse, a fluir hacia éste a través de los poros de la membrana, que por su tamaño lo permiten. Se trata, como en el caso anterior, de un movimiento de difusión, pero esta vez en un sistema líquido continuo.

Este caso particular de difusión, en que el flujo neto de agua se produce desde el agua pura a una solución a través de una membrana semipermeable, recibe el nombre de ósmosis y es un fenómeno que se produce corrientemente entre células vecinas o entre compartimientos celulares separados por membranas. Por supuesto que si la membrana no existiera o los poros permitieran el pasaje de agua y soluto, éste también difundiría hasta alcanzarse la uniformidad de concentración en todo el sistema. En tal caso no se produce fenómeno de ósmosis. Cuando el fenómeno de ósmosis tiene lugar, tal como se halla representado en la fig. 112 b, la consecuencia será una disminución del nivel en el compartimiento con agua pura y un aumento en el que contiene solución.

La situación de equilibrio se alcanzará cuando el exceso de presión hidrostática, que representa la diferencia de nivel entre los dos compartimientos, sea de un valor tal que lleve el nivel energético del agua de la solución —o sea

su capacidad de realizar trabajo o su potencial agua— a una magnitud igual a la del agua pura a la misma temperatura.

Con un osmómetro provisto de un manómetro se podría registrar directamente ese exceso de presión hidrostática, consecuencia del pasaje del agua al seno de la solución. Es a ese valor, expresado en unidades de presión, atmósferas o bares, al que se denomina *presión osmótica* o *potencial osmótico* de la solución. Se trata de la presión que una solución es capaz de desarrollar cuando llega a la situación de equilibrio con agua pura, en las condiciones dadas en un osmómetro, es decir cuando agua y solución se hallan separados por una membrana semipermeable. A menos que la solución se encuentre en esas condiciones, la presión osmótica no se manifiesta como una presión real y es por ello que muchos autores prefieren la denominación de *potencial osmótico*.

Pfeffer demostró experimentalmente que en las soluciones diluidas de sacarina el potencial osmótico es directamente proporcional a la temperatura y a la concentración del soluto. Sobre la base de los datos registrados por aquél, el físico holandés van't Hoff señaló la similitud entre el comportamiento de la presión osmótica de las soluciones y las propiedades de los gases. De acuerdo con los datos de Pfeffer, la relación es:

$$\frac{\text{Presión osmótica}}{\text{concentración de la solución}} = K \text{ (constante) (2)}$$

Si tenemos en cuenta que la concentración de una solución varía en relación inversa al volumen en que se halla disuelta una cantidad de soluto,

$$\frac{1}{c} = V \text{ donde } c \text{ es la concentración}$$

y V el volumen.

Entonces, de acuerdo con lo sostenido en (2)

$$\text{si } \frac{P}{c} = K \quad PV = K \quad (3)$$

La ecuación (3) es una expresión de la ley de Boyle, que nos dice que a temperatura constante la presión varía en forma inversa al volumen.

Los resultados de Pfeffer también indicaban que la presión osmótica variaba directamente con la temperatura absoluta T , lo cual puede expresarse,

$$\frac{P}{T} = K \quad (4)$$

ecuación que representa lo expresado en la ley de Charles y Gay Lussac.

Con el apoyo de los resultados empíricos obtenidos por Pfeffer, van't Hoff pudo enunciar, pues, las leyes de la ósmosis. Estas sostienen que:

- 1) La presión osmótica de una solución varía directamente con la concentración del soluto en la solución, y es igual a la presión que el soluto ejercería si estuviera en forma de gas en el volumen de la solución, en caso de que el volumen de las moléculas del soluto, en relación con el volumen del solvente, fuera despreciable.
- 2) La presión osmótica de una solución varía directamente con la temperatura absoluta, igual que ocurre con la presión de un gas a volumen constante.

Sólo las soluciones diluidas se comportan de esa manera. En ese caso podemos afirmar que, así como para los gases ideales

$$PV = nRT \quad (5)$$

donde n es el número de moles y R la constante de los gases (0,082 atm. litro mol⁻¹. grado⁻¹), para las soluciones diluidas

$$\pi V = nRT \quad (6)$$

donde π es la presión osmótica. De donde,

$$\pi = \frac{n}{V} RT \quad (7)$$

o sea

$$\pi = cRT \quad (8)$$

La mejor manera de expresar la concentración c es en términos de *molaridad*, ya que de este modo el volumen de las moléculas del soluto no introduce error. La relación moléculas de soluto/moléculas de solvente en soluciones equimolales, será igual cualquiera que sea el soluto, cosa que no ocurre cuando se utiliza la *molaridad* como punto de partida.

Se dijo más arriba que era útil apelar a las ideas intuitivas de movimiento y trabajo para presentar los conceptos de potencial químico del agua (μ_a) y potencial agua (1). Hemos visto que en el caso general de la difusión y en particular de la ósmosis, el agua fluye siguiendo diferencias de su potencial químico. Esa misma idea se desprende de un tratamiento algo más riguroso del fenómeno de ósmosis. Para ello, es necesario considerar una cantidad de un gas perfecto encerrado en un cilindro provisto de un pistón de sección A (fig. 113). Si la presión del gas es P , la fuerza ejer-

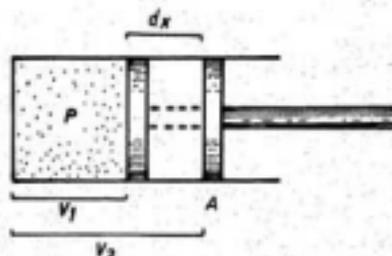


Figura 113.

cida por el gas sobre dicho pistón será PA. Si el pistón se desplaza dentro del cilindro, esa fuerza aumenta si el gas se comprime y disminuye si se expande. En el caso de un desplazamiento infinitesimal dx, el trabajo (W) será

$$dW = PA \cdot dx \quad (9)$$

$$\text{o sea } dW = P \cdot A dx \quad (10)$$

$$\text{de donde } dW = PdV \quad (11)$$

De este modo, cuando el desplazamiento modifica el volumen del gas de V_1 a V_2 , el trabajo total W (fig. 113) será

$$W = \int_{V_1}^{V_2} P \cdot dV \quad (12)$$

$$\text{siendo } P = \frac{RT}{V} \quad (13)$$

podemos reemplazar en (11)

$$W = \int_{V_1}^{V_2} \frac{RT}{V} \quad (14)$$

integrando esta ecuación tendremos:

$$W = RT \ln \frac{V_2}{V_1} \quad (15)$$

o sea que el trabajo máximo por mol será:

$$W = RT \ln \frac{P_1}{P_2} \quad (16)$$

Ahora bien, este mismo desarrollo puede ser utilizado para el trabajo osmótico en lugar del de un gas que se expande. Para ello solamente hay que reemplazar el gas por una solución en el compartimiento del cilindro encerrado por el pistón, que deberá consistir

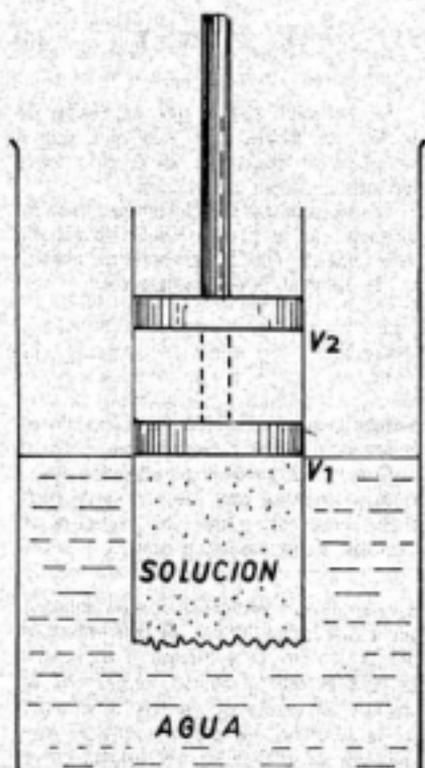


Figura 114. Demostración del trabajo osmótico (ver texto).

en una membrana semipermeable. Hacia afuera de esa membrana, en el cilindro, habrá agua pura (fig. 114). En estas condiciones se producirá el fenómeno de ósmosis. El agua fluirá desde el compartimiento exterior al émbolo, donde hay agua pura, hacia la solución. El émbolo se desplazará y el volumen del compartimiento donde está la solución pasará del volumen V_1 al V_2 . Si el proceso descrito ocurre a temperatura constante y de modo reversible, el trabajo W es el trabajo máximo o energía libre del sistema. Es a esa energía o capacidad de trabajo máximo a lo cual se denomina *potencial químico*. No se trata aquí del potencial químico absoluto

del agua de la solución, sino de su diferencia con el del agua pura en condiciones estándar, por lo tanto,

$$\mu_a - \mu_a^0 = RT \ln \frac{P_1}{P_2} \quad (17)$$

Como las presiones P_1 y P_2 son directamente proporcionales a las presiones de vapor del agua en la solución (e) y del agua pura (e_0), podemos reemplazar esos valores en (17).

$$\mu_a - \mu_a^0 = RT \ln \frac{e}{e_0} \quad (18)$$

Las unidades en que se expresa el potencial químico de una sustancia —en nuestro caso el agua— son las de ergios por mol de sustancia, es decir erg mol⁻¹.

A la diferencia entre el potencial químico del agua en una situación particular y el del agua pura en condiciones estándar, $\mu_a - \mu_a^0$, expresada por unidad de volumen, es a lo que se denomina potencial agua ψ , tal como se dijo más arriba.

$$\psi = \frac{\mu_a - \mu_a^0}{\bar{V}_a} \quad (19)$$

donde \bar{V}_a es el volumen molar parcial del agua cuyas unidades son cm³ mol⁻¹. Sustituyendo, pues, en (18) tendremos

$$\psi = \frac{RT}{\bar{V}_a} \ln \frac{e}{e_0} \quad (20)$$

De este modo el potencial agua ψ se expresa en unidades de presión, es decir bares o atmósferas, ya que

$$\frac{\text{erg mol}^{-1}}{\text{cm}^3 \text{ mol}^{-1}} = \frac{\text{erg}}{\text{cm}^3} = \text{dina cm}^{-2} = \text{bar} \quad (21)$$

Las correspondencias numéricas son 10⁶ dinas cm⁻² = 1 bar = 0,987 atm

La constante de los gases R se expresa en: $\frac{\text{litros} \times \text{atmósfera}}{\text{moles} \times \text{grados K}}$

lo cual multiplicado por la temperatura absoluta (véase la ecuación 20) da:

$$\text{litros} \times \text{atmósferas} \times \text{moles}^{-1}$$

Expresado en unidades cegesimalas esto es igual a:

cm³ dinas cm⁻² moles⁻¹, de lo que resulta: dinas cm moles⁻¹

La fuerza de una dina ejercida a lo largo de 1 cm representa el trabajo de 1 ergio, por lo tanto:

$$\text{dinas cm mol}^{-1} = \text{erg mol}^{-1}$$

La idea central que nos ocupa, pues, es que el potencial agua de un sistema cualquiera —sea célula, tejido, órgano o también una simple solución y el suelo— nos permite caracterizar y cuantificar la relación del agua con ese sistema (su energía libre, su capacidad para realizar trabajo, su mayor o menor facilidad para moverse o fluir). Además, que el potencial agua es directamente proporcional a la temperatura, directamente proporcional al logaritmo natural de la presión de vapor del agua en el sistema e indirectamente proporcional a la presión del vapor del agua pura en condiciones estándar.

De acuerdo con (20), cuando la presión de vapor del agua en un sistema es igual a la presión de vapor del agua pura, el cociente e/e_0 es igual a la unidad y el logaritmo natural es cero; por lo tanto el potencial agua es cero. Siempre que la presión de vapor e sea inferior a la del agua pura, ψ será negativo, y en cambio será positivo cuando

la presión de vapor del agua en el sistema de que se trata sea superior (piénsese en condiciones de temperatura y presión superiores a las estándar), a la del agua pura en condiciones estándar.

Cualquier factor que influya sobre la presión de vapor del agua afecta el potencial agua del sistema. ¿Cuáles pueden ser esos factores o fuerzas? En primer lugar, el agua del sistema puede no ser agua pura, sino agua que forma parte de una solución. En este caso, tal como hemos visto, las moléculas del soluto ejercen fuerzas sobre las del agua y modifican su estado energético. En segundo lugar, si el agua del sistema está sometida a una presión superior a una atmósfera (situación de referencia), sus moléculas se hallarán más apretadas que en la condición estándar y la repulsión entre ellas será mayor, con lo cual aumenta su presión de vapor. Por último, si el sistema comprende interfases sólido-líquido o líquido-gas, las moléculas de agua se hallarán sometidas en ellas a campos de fuerzas que les restarán capacidad para fluir.

La célula como osmómetro

Los sistemas que aquí interesan son los constituidos por células y tejidos vegetales. La célula vegetal madura, con su pared celular relativamente inextensible y la presencia de una gran vacuola, ha sido comparada con un pequeño osmómetro por lo que atañe a su relación con el agua. Dainty ha comparado sus distintas partes con sistemas físicos o fisicoquímicos relativamente simples. Por supuesto, cualquiera de estas comparaciones constituye sólo un modelo cuya simplicidad ayuda a comprender el funcionamiento de algo tan complejo como es la célula real.

La observación bajo el microscopio de células vegetales nos pone fácilmente ante la evidencia de sus cambios de turgencia: la célula se hincha o se contrae a consecuencia de la entrada o salida de

agua. En diversos tejidos vegetales es fácil observar cómo, al producirse exósmosis —salida de agua de la célula por el proceso de ósmosis—, la vacuola se contrae y con ella el citoplasma que, al hacerlo, se separa de la pared celular. Es éste el fenómeno llamado *plasmólisis*. Al plasmolizarse las células, según las condiciones en que lo hacen y las características del tejido, los protoplastos adoptan formas diversas. Son las denominadas figuras de plasmólisis (fig. 115).

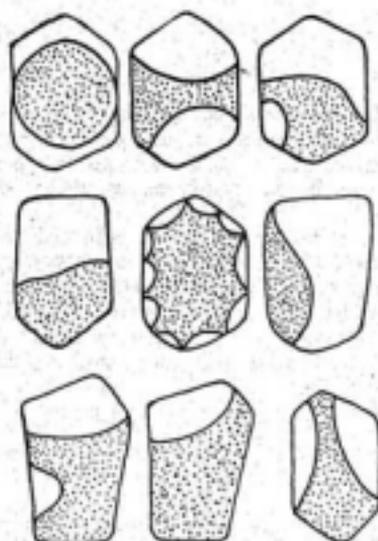


Figura 115. Distintos tipos de plasmólisis.

En la célula turgente, como en el osmómetro en el que ha habido entrada de agua a través de su membrana semipermeable, se manifiesta un cierto exceso de presión hidrostática que recibe el nombre de *presión de turgencia* cuyo valor varía mucho, según las condiciones y los tejidos. En la célula turgente,

el plasmalemma —o sea la membrana que limita exteriormente al citoplasma— presiona contra la pared celulósica de la célula. Esta presión, ejercida contra la pared apreciablemente rígida, se manifiesta en definitiva en todo el contenido celular.

Los cambios de turgencia que se observan en las células y tejidos son, pues, consecuencia del proceso de ósmosis. Las membranas citoplasmáticas —el plasmalemma y el tonoplasto— pueden ser consideradas como aceptablemente semipermeables. El tonoplasto —membrana que limita la vacuola— impide de manera muy efectiva la salida de las sustancias disueltas en su interior.

La pared celular constituye una trama molecular con poros y espacios suficientemente grandes como para que el agua o la solución exterior a la célula se mueva en ella como un flujo masal, hasta llegar al plasmalemma. Ya hemos visto que los cambios visibles de turgencia son una evidencia del pasaje de agua desde y hacia el interior del protoplasto. Es lógico preguntar cuál es la fuerza directriz que determina ese intercambio de agua. El gradiente de potencial agua ($\Delta \psi$) entre el interior del protoplasto y el medio circundante (o las células vecinas) constituye esa fuerza directriz. Un *gradiente* es una diferencia en la magnitud de una variable cualquiera, a lo largo de una distancia. Si el potencial agua en el medio externo y en el interior de la pared celular es mayor que en el protoplasma y la vacuola, el agua fluirá hacia el interior y la turgencia celular aumentará. En el caso contrario, el agua fluirá desde la célula hacia afuera y la turgencia disminuirá.

Si se retoma ahora el concepto de potencial agua desarrollado más arriba se podrán analizar los componentes, es decir las fuerzas que lo determinan en la célula. En primer término se reconoce un componente osmótico, ya que en el protoplasto, sea en el jugo vacuolar o en el citoplasmático, existen sustancias disueltas que disminuyen el potencial químico del agua. En segundo lugar, el

agua en el interior de la célula puede estar sometida, tal como se vio anteriormente, a un exceso de presión hidrostática: la presión de turgencia, que incrementa su potencial químico. Por otra parte, las interfases sólido-líquido constituyen fuerzas de atracción que restan potencial químico al agua. Toda la trama o matriz sólido-coloidal de la célula actúa de esta manera. Por último, es preciso considerar el campo gravitatorio, ya que éste ejerce influencia sobre el potencial del agua. Efectivamente, el agua asciende a alturas considerables en los árboles, por lo cual el término $\rho_a gh$ se debe agregar al potencial del agua en cada punto considerado por encima del plano de referencia. En este término, ρ_a es la densidad del agua, g es la aceleración de la gravedad y h la distancia vertical al plano de referencia. El potencial agua sería pues la suma algebraica de los cuatro componentes: el potencial osmótico (π), el potencial de presión (P) el potencial mátrico (τ) y el potencial gravitatorio ($\rho_a gh$). De este modo:

$$\psi_a = \pi + P + \tau + \rho_a gh \quad (22)$$

Ya hemos visto que el potencial agua del agua pura, en condiciones estándar y según (19), es igual a cero. La serie posible de potenciales agua en los distintos sistemas de los que el agua forma parte va, pues, desde valores positivos, pasando por cero, hasta valores negativos. Como en el caso de las temperaturas bajo cero, en que cuanto mayor es el módulo con signo negativo tanto menor es la temperatura (-13° es una temperatura inferior a -8°), así también un potencial agua de -13 bares es inferior a otro de -8 bares.

En la ecuación (22) es preciso tener en cuenta que tanto el signo del potencial osmótico como el del potencial mátrico son siempre negativos. El agua de una solución, por diluida que sea, tendrá siempre un potencial químico inferior al del agua pura a igual temperatura y presión. Lo mismo vale para el agua retenida en interfases (potencial mátrico) con respecto al agua libre. La

expresión (22) se hace, pues, para agua a la altura del plano de referencia,

$$\psi_a = P + (-\pi) + (-\tau)$$

$$\psi_a = P - \pi - \tau \quad (23)$$

ya que la *presión de turgencia* o *potencial de presión* P , cuando existe, siempre es positiva.

En el caso de células perfectamente vacuoladas, es muy probable que la componente mátrica del potencial agua sea despreciable, por lo que puede aceptarse para ellas

$$\psi_a = P - \pi \quad (24)$$

Para la situación de plasmólisis, en la que el potencial de presión es nulo, tendremos

$$\psi_a = -\pi \quad (25)$$

lo mismo que en una solución cualquiera a presión atmosférica.

La intervención del agua en los procesos celulares estará, pues, regida por la cantidad de sustancias disueltas, por la magnitud de las fuerzas de retención de la matriz celular y por el exceso de presión que la turgencia significa, todo ello integrado en el potencial agua. El conocimiento de los valores de potencial agua de las células, los tejidos y el medio circundante permite predecir la dirección del flujo de agua en una situación determinada.

Medición del potencial osmótico y del potencial agua

Diversos métodos han sido elaborados para medir el potencial osmótico y el potencial agua de las células y los tejidos.

El potencial osmótico puede ser medido utilizando el método crioscópico, el método plasmolítico, el método plas-

mométrico o el método de equilibrio de vapor.

La medición del potencial osmótico por el *método crioscópico* se basa en el comportamiento de las soluciones a que se refieren las llamadas propiedades coligativas de éstas, a las que ya se ha hecho alusión más arriba al hablar de las propiedades del agua. En efecto, ciertas propiedades como la presión de vapor, el punto de congelación, el punto de ebullición y la presión osmótica dependen de la concentración de la solución, o mejor, del número de partículas del soluto por unidad de volumen de la solución. Así, por cada mol de sustancia no disociable disuelta en 1.000 g de agua, la temperatura de congelación de ésta desciende 1,86 °C.

Por otra parte, y tal como se desprende de la primera ley de la ósmosis, esa concentración de soluto que provoca un descenso crioscópico (Δt) de 1,86° produce un potencial osmótico de 22,4 atm. De aquí que:

$$\pi : 22,4 :: \Delta t : 1,86$$

o sea:

$$\pi = 12,04 \Delta t \quad (27)$$

Para determinar con este método el potencial osmótico de un tejido, es preciso extraer el jugo celular —generalmente sometiéndolo a presión en una prensa— y registrar el descenso crioscópico (Δt) en dicho jugo. Para ello se utiliza un crioscopio, aparato en el cual se enfría la solución hasta la congelación del agua, punto en que la temperatura se lee en un termómetro diferencial. Existen osmómetros eléctricos que permiten la determinación directa del potencial osmótico de soluciones, una vez calibrado el instrumento con soluciones patrón.

El *método plasmolítico* para la medición del potencial osmótico requiere la observación microscópica de trozos de tejido que contienen células intactas que han permanecido sumergidas en so-

luciones de concentración conocida hasta alcanzar el equilibrio con ellas.

Cuando se colocan distintos trozos de un mismo tejido en soluciones que componen una gama suficientemente amplia de concentraciones diferentes, es posible hallar que en algunas de esas soluciones las células se plasmolizan completamente; en otras se presentan turgentes. Las células se plasmolizan en soluciones que son hipertónicas con respecto al jugo celular, y se presentan turgentes en soluciones hipotónicas. Probablemente alguna de las soluciones, dentro de la gama usada, sea isotónica con el jugo celular, es decir que tenga el mismo potencial osmótico. El tejido, en esa solución llegará al punto en que las células alcanzan turgencia cero, punto éste al cual se denomina de *plasmólisis límite*. En realidad, por razones prácticas, el punto que se observa bajo el microscopio es el más avanzado, denominado *plasmólisis incipiente*, en el cual el protoplasma comienza a separarse de la pared en uno o más puntos. La solución correspondiente tiene, en ese caso, el mismo potencial osmótico que el tejido. Si se conoce la concentración de dicha solución y su temperatura, es posible determinar el potencial osmótico aplicando la ecuación (8).

El método *plasmométrico* se aplica a células individuales en aquellos casos en que es factible medir bajo el microscopio las dimensiones de la vacuola y calcular sobre esa base su volumen. De este modo, si se determina el volumen de la vacuola en la situación en que el tejido se encuentra, que suponemos turgente (V_t), y se determina de nuevo (V_p) después que ha llegado al equilibrio con una solución hipertónica de potencial osmótico conocido (π_p), es posible calcular el potencial osmótico (π_t) correspondiente al primer volumen, ya que

$$\pi_t \times V_t = \pi_p \times V_p \quad (28)$$

de donde

$$\pi_t = \pi_p \times \frac{V_p}{V_t} \quad (29)$$

Los métodos en los que se utiliza el equilibrio de vapor se basan en el hecho de que la presión de vapor de la atmósfera que en un recipiente circunda a un trozo de tejido cuyas células han sido rotas, exponiendo así el jugo vacuolar, se halla en equilibrio con el potencial osmótico de dicho jugo. Los procedimientos y detalles de estos métodos pueden variar considerablemente. Existen en la actualidad psicrómetros de termocupla que permiten hacer estas determinaciones con facilidad.

Por tratarse de un instrumento que se emplea también para medir el potencial agua de los tejidos, será descrito al tratar este tema.

La medición del potencial agua en trozos de tejidos o de órganos, o en órganos intactos, se basa en la situación de equilibrio de vapor ya mencionada, o en el hecho de que el flujo neto de agua es nulo en el caso de que el potencial agua de un tejido sea igual al potencial osmótico de la solución circundante. En efecto, si se miden los cambios de peso o de volumen de los trozos de un mismo tejido que han permanecido hasta el equilibrio en soluciones de distinto potencial osmótico, se encontrará que en alguno de ellos no ha habido cambio. Ello significa, pues, que en ese caso no ha habido flujo neto de agua, lo cual permite asegurar que los potenciales agua del tejido y la solución externa son iguales.

Los psicrómetros de termocupla permiten determinar el potencial agua —y el potencial osmótico— de pequeños trozos de un tejido u órgano, o pueden ser usados también para mediciones en órganos intactos. El material se coloca en una pequeña cámara cerrada en la que la atmósfera llega a un equilibrio con el potencial del material en un lapso breve.

En la cámara se halla instalada una pequeña termocupla. Para la medición del potencial agua de la atmósfera de la cámara en equilibrio con el tejido se utiliza el denominado *efecto Peltier*. Una débil corriente eléctrica enfría la termocupla determinando la condensa-

ción de una muy pequeña cantidad de agua sobre ella. Interrumpido el paso de esa corriente, el agua condensada se evapora de la termocupla con mayor o menor intensidad, según el valor de la presión de vapor en la atmósfera de la cámara. El enfriamiento de la termocupla se lee, como paso de corriente, en un microamperímetro. Una vez calibrado el instrumento se hace posible transformar directamente las lecturas en valores de potencial agua en bares o atmósferas. Para la determinación del potencial osmótico del tejido se suele apretar un trozo sobre un disco de papel absorbente, de modo que éste quede embebido de jugo celular. El disco de papel, saturado con jugo celular, se coloca en la cámara del psicrómetro y se procede del modo indicado.

En el método de Chardakov se utiliza este mismo principio, pero en lugar de explorar los cambios de peso o de volumen de una serie de trozos de tejido sumergidos en soluciones que forman una gama de concentraciones se explora los cambios de concentración en las soluciones.

Cuando hay equilibrio entre los potenciales agua del tejido y la solución circundante, no habrá flujo neto de agua y por tanto la concentración de ésta permanecerá invariable. Para determinarlo se procede del siguiente modo: se preparan dos series de tubos con las soluciones que representan una sucesión de concentraciones distintas. En una de las series se sumergen los trozos de tejido y se dejan equilibrar. Con una fina pipeta de vidrio se extrae un poco de la solución de uno de los tubos testigos (ligera y coloreada) y se deja caer algunas gotas sobre la solución del tubo correspondiente, del que previamente se ha extraído el trozo de tejido.

Las gotas coloreadas, si son menos densas, no descenderán en el seno de la solución testigo. En caso contrario, las gotas caerán rápidamente hasta el fondo del tubo. Si el tejido y la solución tienen el mismo potencial agua no habrá flujo neto de agua en ningún sentido y

la densidad no cambiará, por lo cual las gotas quedarán suspendidas, sin caer ni ascender, en el seno del líquido.

Se ha alcanzado, pues, el punto en que se cuenta con una variable —el potencial agua— apta para integrar todas las fuerzas que pueden influir sobre la capacidad del agua para intervenir en los procesos celulares, y disponemos ya de métodos para medirla.

El movimiento del agua en la planta

En relación con el movimiento del agua en la célula y los tejidos, tema de fundamental interés para todo el que se ocupe del crecimiento de las plantas (piénsese en las preguntas: ¿por qué no pasa más agua de un suelo a una planta?, o ¿por qué no pasa más rápidamente?, o ¿por qué pasa tanta agua de la planta a la atmósfera?), sabemos que la fuerza directriz que lo gobierna es la diferencia de potenciales agua en los puntos entre los cuales ésta se mueve. Pero el flujo de agua no depende solamente de esa fuerza directriz. Cuando el flujo de agua se produce a través de una membrana semipermeable, tenemos

$$J_v = L_p \Delta \psi \quad (30)$$

donde J_v es el flujo de volumen de agua expresado en cm^3 , $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, y L_p el coeficiente de conductividad hidráulica de la membrana, expresado en $\text{cm} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{atm}^{-1}$. Si se reemplaza la diferencia de potencial agua $\Delta \psi$ por sus componentes ya conocidos, tendremos

$$J_v = L_p (\Delta P + \Delta \pi + \Delta \tau) \quad (31)$$

El coeficiente de conductividad hidráulica de una membrana (pongamos por caso una biomembrana como el tonoplasto) representa el mayor o menor grado de facilidad con que el agua pasa

a través de ella. Indica, pues, la permeabilidad al agua, tal como lo hace el coeficiente de permeabilidad, generalmente simbolizado por K_w , cuyas dimensiones son cm s^{-1} .

Importa saber que las biomembranas que las sustancias deben atravesar para pasar de un compartimiento celular a otro, o de una célula a la vecina, no son igualmente permeables a cualquier sustancia. Por otra parte, las barreras que limitan el pasaje de sustancias en diferentes células y tejidos pueden ser distintas y, por último, las características de permeabilidad de una misma membrana pueden variar por la acción de factores internos y externos. De todo esto se concluye que la permeabilidad de las membranas, caracterizada por el coeficiente de conductividad hidráulica o de permeabilidad, influye de manera directa sobre el movimiento del agua desde y hacia un tejido cualquiera. Esto determina el interés por conocer los valores de estos coeficientes y sus variaciones.

Existen varios métodos para alcanzar ese conocimiento. El método plasmométrico, por ejemplo, es una técnica que ha sido utilizada por muchos autores, pues permite determinar el coeficiente L_p a partir de la relación entre el cambio de volumen del protoplasto, observado microscópicamente, y el tiempo. El cambio de volumen se puede provocar dejando equilibrar el tejido sucesivamente en dos soluciones con potenciales osmóticos distintos, pero ambas hipertónicas con respecto a la célula. Por supuesto que el soluto utilizado debe ser de tal naturaleza que no pase a través de las membranas.

El tiempo necesario para alcanzar el nuevo equilibrio depende del valor de $\Delta\psi$, conocido en este caso, y de L_p . Stadelmann ha desarrollado una ecuación, derivada de (30), con la cual es posible determinar L_p . Los valores obtenidos se hallan alrededor de $0,5 \times 10^{-6} \text{ cm s}^{-1} \text{ bar}^{-1}$.

La forma en que ha sido tratada hasta aquí la dinámica del agua en las células y tejidos vegetales se apoya en la imagen de la célula vegetal vacuolada con funcionamiento de osmómetro. Este modelo ha resultado sumamente útil y permite encarar aspectos de las relacio-

nes entre la planta y el agua. Es necesario, de todos modos, tomar en consideración que dicho modelo constituye una hipersimplificación con respecto a la realidad: la pared celular no es rígida, sino que está dotada de elasticidad y plasticidad; las membranas celulares no son perfectamente semipermeables; y el comportamiento del plasmalemma y del tonoplasto no son idénticos. El sistema celular, aun el de la célula vacuolada, no consiste en una gran vacuola rodeada de una membrana semipermeable. Por el contrario, el citoplasma que rodea a la vacuola se imbebe, cambia de volumen, ejerce presiones, produce e inmoviliza sustancias osmóticamente activas, etcétera. Las células no se hallan bañadas por agua pura, sino que están en contacto con soluciones complejas cuyos componentes tienen comportamientos particulares. Las soluciones que bañan las membranas celulares no son perfectamente homogéneas. Las capas que están en contacto directo con las membranas se hallan, por razones de rozamiento, más quietas que la masa de la solución libre de esa influencia, y constituyen una barrera difusional.

Todos estos hechos y fenómenos han sido investigados en alguna medida y su incidencia debe ser tenida en cuenta cuando se analizan problemas referentes a las relaciones planta-agua.

Podemos ver algo más de cerca algunas de esas situaciones. Cuando uno o más solutos de los presentes son capaces de atravesar una membrana, la magnitud del flujo de agua se modifica. En la figura 116 se ha esquematizado este fenómeno. En A, el soluto s , que determina una presión osmótica π , provoca un flujo de agua J_v^1 que puede ser anulado aplicando con el émbolo una presión P igual a π . De ese modo no habrá flujo neto de agua ni de volumen. En B, el soluto s' permea, la membrana es permeable a él. El soluto s' difundirá hacia el compartimiento con agua, con lo cual habrá un cierto flujo de volumen en esa dirección. Para compensarlo será necesario permitir un

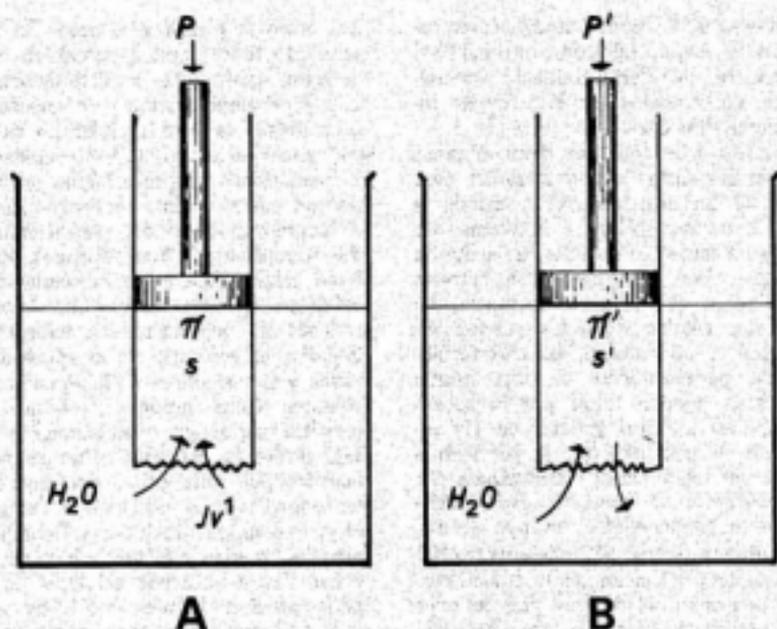


Figura 116. Dispositivo para determinar el coeficiente de reflexión de la membrana.

flujo de agua equivalente en sentido contrario, para lo cual la presión P' aplicada deberá ser algo inferior a P . La relación P'/P será igual a la unidad en el caso de los solutos que no permean (membrana perfectamente semipermeable) y menor que 1 cuando el soluto atraviesa la membrana. A esa relación se la denomina *coeficiente de reflexión σ* (sigma) de la membrana para un soluto determinado. Para las situaciones en que uno o más solutos presentes permeen, los respectivos coeficientes de reflexión deben ser introducidos en la ecuación del flujo de agua.

Ya se ha hablado de la influencia que los diversos factores internos y externos (temperatura, luz, ciertos electrolitos, hormonas) ejercen sobre la permeabilidad al agua de las membranas celulares. El conocimiento actual acerca de la estructura y dinámica de dichas

membranas permite interpretar ciertos fenómenos de este tipo. Kuiper se ha referido al distinto tipo de interacción del agua con las fases laminar o globular de la membrana. En el primer caso, dos series de moléculas de lípidos se enfrentan por su porción hidrofóbica y en su proximidad las moléculas de agua actúan entre sí adquiriendo una estructura parecida al hielo (hieloide). En el segundo caso, las porciones hidrofóbicas de lípidos y proteínas de la membrana interaccionan dejando expuestas porciones hidrofílicas a las cuales se asocia el agua polarizada. Ambas circunstancias pueden coexistir en la membrana, pero algunos resultados experimentales indican que los cambios de temperatura o de la actividad metabólica de las células pueden provocar en las membranas un pasaje de la fase laminar a la globular. Esto determinaría el derrumbe de la estructura hieloide del agua en la mem-

brana con el consiguiente aumento de permeabilidad, ya que dicha estructura constituye una barrera mayor que la del agua polarizada por los grupos hidrofílicos. Estos fenómenos se trasladan a la respuesta de la planta entera al ambiente, puesto que constituyen su fundamento. Así se ha visto que en las plantas de alfalfa cuya resistencia al frío ha sido incrementada sometiéndolas a bajas temperaturas, se produce un cambio en la composición de los ácidos grasos de las raíces durante el tratamiento y que al mismo tiempo, aumenta el coeficiente de permeabilidad.

MOVIMIENTO ACTIVO

Si bien ya se ha dicho antes que el agua se mueve de un lugar a otro por una diferencia de potenciales químicos ($\Delta\mu$) el pasaje a través de una membrana puede ocurrir por otros mecanismos. Es decir, que puede ocurrir un flujo de agua a pesar de que $\Delta\mu = 0$. El fenómeno es denominado *movimiento activo o no osmótico*. Algunos autores estiman que si hay partículas cargadas eléctricamente que se mueven en una solución cuando se establece un gradiente de potenciales eléctricos (electroforesis), de la misma manera se movería el solvente si las cargas se hallaran fijas, por ejemplo, sobre una membrana. El fenómeno se conoce como *electroósmosis*. En el caso del agua, en una membrana polarizada eléctricamente adquiriría una carga inducida que haría trasladar a sus moléculas según una diferencia de potencial electroquímico. Se ha calculado que una diferencia de potencial de 1 voltio generaría una presión de 10^7 bares, de manera que con sólo 0,01 voltios se podría obtener una presión de 10 bares. La mayor parte de los autores consideran que el movimiento del agua por este mecanismo es insignificante, debido a la alta permeabilidad del agua en las membranas biológicas, comparado con el fenómeno osmótico.

Sobre la base de que la absorción de agua por las células es afectada por la temperatura, la tensión del oxígeno y

los inhibidores de la respiración, se ha considerado que funciona, además del mecanismo osmótico, una bomba que impele este elemento al interior de la vacuola con gasto de energía. No obstante, estudios cuidadosos han demostrado que la energía producida por la respiración sería insuficiente para crear el gradiente necesario para mover el agua. Otros autores también han hablado de un movimiento activo del agua, fundados en el hecho de que las auxinas (ácido indolacético, etcétera) estimulan la absorción.

La hipótesis ha sido descartada considerando que estos reguladores del crecimiento aumentan el área de las paredes celulares con una consecuente disminución en el potencial de turgencia, que explica el ingreso de agua en la célula por el mecanismo explicado anteriormente.

Las relaciones de la planta entera con el agua

La mayor parte de las plantas superiores son terrestres. Crecen con sus raíces en contacto con el agua del suelo y sus órganos aéreos en una atmósfera de la que el vapor de agua forma una parte variable según ambientes y condiciones. El agua de los tejidos de la planta constituye, pues, sólo un tramo de este sistema hídrico continuo que abarca el suelo, la planta y la atmósfera. Es importante considerarlo de esta forma, como un sistema continuo o *continuum*, porque la situación del agua en cualquiera de los tramos influye sobre la situación en los otros. Dicho de modo más directo, el potencial agua de los tejidos, la magnitud y dirección del flujo de agua en ellos, recibe la influencia de los parámetros correspondientes del suelo y la atmósfera, y a la vez influye en ellos. Así, por ejemplo, mientras exista un gradiente negativo entre el potencial agua en el suelo y en los tejidos de la raíz, el agua se moverá en esa dirección. Las características de ese flujo influirán en el poten-

cial agua de las hojas y, por lo tanto, en el flujo que en forma de vapor pase a la atmósfera en el proceso de transpiración. Este proceso, a su vez, es directamente influido por el potencial agua en la atmósfera (que depende de la cantidad de vapor), ya que el movimiento de agua de la hoja hacia el aire responderá al gradiente de presión de vapor existente entre esos puntos. Por otra parte, yendo en sentido inverso, la magnitud de la pérdida de agua por transpiración hará sentir su influencia sobre el potencial agua de los tejidos de la hoja, del que, como ya vimos, depende el flujo de agua desde las raíces. En éstas, a su vez, su potencial agua, en parte fijado por la magnitud del flujo hacia la parte aérea, condiciona el movimiento del agua desde el suelo.

El movimiento de agua descrito no depende solamente de la magnitud de los gradientes de potencial agua, sino también de las resistencias que se oponen al flujo.

En este sentido resulta útil e ilustrativa la analogía con un sistema eléctrico presentada por van der Honert. En cada tramo del sistema continuo que forma el agua en el suelo, la planta y la atmósfera, la magnitud del flujo es directamente proporcional al gradiente de potencial agua e inversamente proporcional a la resistencia que ese tramo ofrece al paso del agua. Al igual que en otros casos en que se usa el concepto de resistencia, éste es recíproco del de conductividad:

$$\text{conductividad} = \frac{1}{\text{resistencia}} \quad (32)$$

Es preciso tener en cuenta que estas propiedades varían en los distintos tramos del *continuum*. La resistencia que ofrece el suelo al flujo puede ser muy distinta de la que opone la raíz, y ésta, a su vez, distinta de la resistencia del sistema conductor del tallo y de la del parénquima de la hoja, etcétera. De acuerdo con estas premisas, en un momento en que el flujo de agua sea uni-

forme a través de todo el continuo suelo-planta-aire (estado estacionario), la ecuación del flujo será según lo propuesto por van der Honert,

$$q = \frac{\Delta \psi_{sr}}{R_{sr}} = \frac{\Delta \psi_{rx}}{R_{rx}} = \frac{\Delta \psi_{xh}}{R_{xh}} = \frac{\Delta \psi_{ha}}{R_{ha}}$$

donde $\Delta \psi_{sr}$, $\Delta \psi_{rx}$, $\Delta \psi_{xh}$ y $\Delta \psi_{ha}$ representan los gradientes de potencial agua entre suelo-raíz, raíz-xilema-hoja, hoja-aire. Los divisores R_{sr} , R_{rx} , R_{xh} y R_{ha} son las resistencias respectivas.

Si se tiene en cuenta que así como los valores de ψ varían con las condiciones del medio en que se halla la planta y con la actividad de ésta, las resistencias son también variables. De ningún modo debe pensarse en cada una de las resistencias mencionadas como una constante del tramo correspondiente, aunque no en todos ellos la serie de variaciones posibles sea de la misma amplitud. En general podemos decir que cuanto menor es el potencial agua mayor es la resistencia que ofrece. Si se piensa, por ejemplo, en un sistema poroso como el suelo o el esqueleto de las paredes celulares de un tejido, cuando el sistema está saturado todos los poros, canales y capilares, aun los mayores, se hallan llenos de agua. La mayor parte de ésta no se halla, pues, sometida a las fuerzas de retención de la matriz (potencial mátrico), sino que se halla libre. El potencial agua será cero o cercano a cero. La resistencia al movimiento del agua, en estas circunstancias, será baja. En el caso en que el flujo de agua desde un sistema como el descrito continúe durante un tiempo sin que el resuministro lo iguale (piénsese en un suelo que se deseca cuando el agua consumida por la planta no es repuesta por lluvia o riego), algunos poros y conductores empezarán a vaciarse, comenzando por los más grandes. El agua restante estará, cada vez más sometida a las fuerzas de atracción de la trama sólida (partículas del suelo, trama

de celulosa, etcétera). Esas fuerzas, que disminuyen el potencial agua, hacen al mismo tiempo que el esfuerzo para mover el agua sea mayor. La conductividad es, pues, menor y la resistencia ha aumentado.

El movimiento del agua en el sistema suelo-planta-aire, y por lo tanto todo lo que se refiere al aprovisionamiento de agua por parte de los tejidos y órganos, el consumo de agua por la planta, etcétera, se basa en los principios generales enunciados, que resultan así fundamentales para la comprensión del análisis que sigue.

ENTRADA DEL AGUA A LA PLANTA

Las plantas superiores se aprovisionan de agua en el medio que las rodea: el suelo, un cuerpo de agua (estero, laguna, etcétera) y, a veces, la atmósfera. Es a través de la interfase raíz-suelo donde se produce generalmente, en las plantas superiores, la entrada del agua. Ello no debe hacer olvidar los casos en que el agua líquida (proveniente de lluvia, niebla, rocío, riego o pulverizaciones) penetra por las hojas y otros órganos aéreos.

El fenómeno del pasaje de agua desde el suelo a las raíces de las plantas, de fundamental significación para la vida de éstas y de enorme importancia práctica en la agricultura, puede ser analizado partiendo de algunas preguntas básicas que es lícito formularse. He aquí algunas de ellas. ¿Cuál es el mecanismo o los mecanismos que determinan ese pasaje de agua? ¿Todas las porciones del sistema radical de una planta se comportan de manera uniforme en cuanto al pasaje del agua o, por el contrario, hay diferencias en las distintas partes de este órgano? ¿El movimiento del agua dentro de la raíz obedece a los mismos mecanismos en todo su paso o es necesario distinguir fenómenos diferentes en distintos tejidos? ¿Qué papel desempeña el crecimiento de las

raíces durante la vida de la planta en la absorción del agua? ¿Qué relaciones —si es que existen— hay entre la absorción del agua y la absorción de sustancias nutritivas, sales minerales en primer lugar? ¿Qué factores del medio influyen de modo decisivo sobre la entrada del agua a las raíces? Y, también, ¿a qué se debe la diferente capacidad de las distintas plantas para absorber agua de un mismo suelo? Un análisis de los conocimientos actuales acerca del proceso de absorción del agua por las plantas nos permitirá dar respuesta a estas preguntas.

MECANISMOS INVOLUCRADOS EN LA ABSORCIÓN DEL AGUA

El agua se mueve a través del suelo y desde éste entra en las raíces obedeciendo a mecanismos pasivos: difusión y flujo masal. Como ya se vio más arriba, en ambos casos la fuerza directriz es una diferencia de potencial químico del agua entre dos puntos. Ya sabemos que, a igualdad de condiciones de conductividad, cuanto más empinado sea el gradiente tanto mayor será el flujo de agua, mayor volumen de agua se moverá por unidad de área y de tiempo. Las raíces ofrecen, por lo general, una superficie muy extensa a la entrada posible del agua desde el suelo. Al entrar en contacto con la cara externa de las paredes de las células epidérmicas, el agua puede ser arrastrada hacia el interior de dichas paredes, en las zonas poco cutinizadas, por un flujo masal. Este flujo continúa moviéndose hacia el cilindro central a través de la red tridimensional de paredes celulares y meatos (apoplasma) del parénquima cortical de la raíz. Una vez más se dirá que el flujo obedece a diferencias de potencial agua que desde las hojas se transmite a lo largo de la red continua de agua hasta las raíces. En este flujo masal son arrastradas las sustancias en solución, generalmente en concentraciones bajas.

Desde esa corriente que se mueve por el apoplasta, el agua puede difundir hacia el interior de las células epidérmicas y corticales.

Ello ocurre por ósmosis y la resistencia que oponen las membranas celulares a este pasaje es mayor que la que ofrecen las paredes y los espacios intercelulares. Al llegar el agua a la endodermis, una porción considerable del flujo masal de agua se interrumpe ante la resistencia ofrecida por las bandas de Caspari. En las llamadas células de pasaje, o en los puntos en que las ramificaciones laterales interrumpen la endodermis, esa resistencia no se presenta. La endodermis, por otra parte, sólo aparece diferenciada a cierta distancia del ápice. De todos modos, donde existe la endodermis el agua puede atravesarla y entrar en el cilindro central a través de sus protoplastos, pasando las membranas gracias al mecanismo de ósmosis. Será la diferencia entre el potencial agua en esos protoplastos de la endodermis y en el interior de los vasos próximos la que gobierne ese movimiento. Podemos preguntarnos aquí cuáles pueden ser las fuerzas que disminuyen el potencial agua en el interior de los vasos manteniendo la fuerza directriz del flujo. En una planta que está transpirando con un ritmo más o menos intenso, el agua en los vasos está en tensión (presión con signo negativo). En la ecuación (23) debemos considerar, pues, en lugar de un exceso de presión hidrostática, un déficit de dicha presión. De este modo, y toda vez que en la masa de agua contenida en los vasos al potencial mátrico se lo puede considerar nulo, el potencial agua en este caso sería

$$\psi_a = -P - \pi \quad (33)$$

En ciertas condiciones del ambiente que viven las plantas no se produce transpiración y, por lo tanto, no se da el fenómeno de tensión en los vasos. Por el contrario, el agua en su interior aparece sometida a una presión mayor

que la atmosférica. La forma simple en que ésta se pone en evidencia es la exudación de agua por los vasos expuestos al cortar el tallo de una planta en estas condiciones. Ello ocurre cuando a una buena provisión de agua en el suelo se unen condiciones de alta presión de vapor en la atmósfera, de tal modo que no se produce transpiración.

En algunos casos, para observar el fenómeno no es necesario cortar un tallo o rama de la planta, pues se pone de manifiesto en la gutación. Gutación es pérdida de agua líquida por los órganos aéreos, especialmente por las hojas. Las gotas de agua que se ven en los ápices o bordes de las hojas de muchas plantas cuando existe alta humedad ambiente, son resultado de ese fenómeno. Se denomina *presión radical* a la que origina dicho fenómeno. A su vez, el origen de la presión radical ha dado lugar a una gran cantidad de investigaciones. Diversos autores han podido comprobar que el exudado recogido en las plantas que mostraban presión radical, registraba un potencial osmótico inferior al de la solución que bañaba en esos casos las raíces. Puede adjudicarse, pues, a la concentración osmótica de la solución contenida en los vasos, la disminución del potencial químico del agua y el consiguiente mantenimiento del gradiente de potencial agua con respecto a la solución externa.

Esto nos permite hacer dos afirmaciones: 1) El mecanismo gracias al cual el agua penetra en la raíz y se mueve en ella hasta el xilema, es esencialmente el mismo y de carácter pasivo, tanto en las plantas que se hallan transpirando intensamente como en aquellas que muestran presión radical. La diferencia no se halla en el mecanismo, sino en la componente del potencial agua que, de manera preponderante, interviene en un caso y en otro: el potencial de presión (con signo negativo) y el potencial osmótico, respectivamente. 2) Debe existir en las células vivas de la raíz algún mecanismo capaz de introducir solutos

en la solución que fluye por los vasos, que contrarresta la dilatación que de otro modo se produciría al fluir el agua desde la solución exterior. Sin embargo, es preciso considerar el papel, aunque proporcionalmente mínimo, que puede tener la absorción de agua por los mecanismos activos antes mencionados.

La entrada del agua a la raíz y su movimiento a través de ella guarda estrechas relaciones con la estructura de la superficie que la pone en contacto con el agua del suelo y también con la estructura anatómica de sus tejidos. En términos generales se puede afirmar que, cuanto mayor es la relación superficie/volumen y cuanto menor es la cutinización o suberificación de los tejidos, tanto mayor será la entrada de agua. Estas características se presentan favorables a dicha entrada en las porciones subapicales de las raíces, todavía en crecimiento. En ellas, la resistencia que ofrecen las paredes de la epidermis es mínima. Las células alargadas, muy vacuoladas, no ofrecen la densa masa de protoplasma que poseen las del meristema apical. Los elementos del xilema ya se hallan diferenciados a esa altura. Los pelos absorbentes incrementan notablemente la superficie de contacto entre la raíz y la fuente de agua en esa zona de ella, hecho que adquiere máxima importancia cuando la disponibilidad de agua en el suelo disminuye por debajo de ciertos valores.

Esto no significa de ningún modo que las porciones de la raíz cuyo crecimiento en largo ha cesado y han sufrido cutinización o suberificación intensa, o las que por efecto del crecimiento secundario se hallan recubiertas de capas de súber, no representan papel alguno en la absorción. Aunque no parecen existir determinaciones estrictas de la cantidad de agua que penetra en las raíces, por ejemplo en los árboles, por las zonas suberificadas, diversos autores llegan a la conclusión de que es difícil aceptar que la cantidad de agua transpirada por algunas de esas plantas en ciertas situaciones haya sido absorbida a

través de la escasa superficie no suberificada.

Los distintos tejidos que constituyen la raíz y las distintas vías que dentro de un mismo tejido puede seguir el agua, pueden significar, tal como hemos visto, resistencias diferentes.

El trayecto por el apoplasto parece representar, como se vio más arriba, la vía de menor resistencia si se la compara con el simplasma. En plantas de tomate decapitadas, Mees y Weatherley compararon el movimiento del agua, inducido por la aplicación de una presión de valor conocido a la solución en que crecían las raíces, con la reducción del movimiento que provocaba la modificación del potencial osmótico de la solución externa. La medida del movimiento a través de la raíz la obtenían del exudado que fluía del tallo decapitado. Sus resultados indicaron que el flujo provocado por la aplicación de una presión de 1 atmósfera no alcanzaba a ser contrarrestado por la aplicación de una solución con una presión osmótica idéntica, tal como hubiera podido esperarse si una barrera permitiera solamente el paso difusional del agua. Los autores interpretan los resultados como señal de la existencia de un flujo masal de agua, por ser mayor la respuesta a una presión aplicada que al gradiente equivalente de presión osmótica.

El flujo de agua entre la solución en el medio externo y la de los conductos del xilema sería, pues,

$$J_v = LpP \overbrace{(P^e - P^i)}^{\Delta P} + LpO \overbrace{(\pi^e - \pi^i)}^{\Delta \pi} \quad (33)$$

donde LpP y LpO corresponden a los coeficientes de conductividad hidráulica para el flujo masal y difusional u osmótico, respectivamente, y P y π tienen el significado habitual. Los sobrescritos e e i indican el exterior e interior respectivamente.

La ecuación representa, pues, los dos componentes, uno masal, a través de paredes y espacios intercelulares, y otro

difusional, que en uno o varios puntos atraviesa membranas, cada uno con su propio coeficiente de conductividad hidráulica.

Según los autores citados la relación entre L_pP/L_pO es aproximadamente 1,3.

Por supuesto, el hecho de que la vía por la que se mueve el flujo masal sea la de menor resistencia no implica que la mayor proporción del total del flujo se produzca por esa vía. Con los métodos empleados por Mees y Weatherley, los resultados indicaron que el 75% del flujo era osmótico. Esto plantea la cuestión de identificar la localización de la barrera que hace que la raíz "como un todo" se comporte como un osmómetro, si bien un osmómetro peculiar con capacidad para introducir activamente solutos en su interior. Muchos autores han adjudicado a la endodermis ese papel de barrera, y si bien no existen pruebas de carácter fisiológico en ese sentido, justo es señalar que su estructura la hace sumamente sospechosa. Resulta aparentemente obvio pensar que el agua arrastrada por el flujo transpiracional, al encontrarse bloqueada en su marcha por las paredes celulares por las bandas de Caspari, halle en los protoplastos de la endodermis, que le imponen un pasaje difusional, la mayor barrera en su camino a través de la raíz.

Sin embargo, House y Findlay han sugerido, sobre bases experimentales, otra localización distinta. Para ellos, la barrera estaría en la superficie de los conductos del xilema que aún contienen protoplastos vivos. En plantas jóvenes de maíz decapitadas y con sus raíces en una solución diluida de ClK, siguieron el ritmo de exudación después de agregar a la solución un soluto incapaz de permear a través de las células. Por supuesto, el ritmo de exudación mostró una brusca caída al disminuir el potencial agua de la solución externa, pero después se observó un ascenso paulatino hasta que la exudación alcanzó un nuevo estado estacionario. El aumento se

debe a la reanudación del bombeo de la sal al interior del xilema. La cuestión clave es que del ritmo de ese bombeo —que se manifiesta en el ritmo de ascenso de la exudación—, los autores han hallado una forma de estimar el volumen al cual es bombeado. Dicho volumen corresponde a la mitad del xilema y coincide aproximadamente con el de los elementos que poseen protoplasma.

La participación de la actividad de los tejidos vivos de la raíz, en lo que respecta al flujo de agua a través de este órgano, ha sido motivo de mucha atención por parte de diversos autores. De un modo general se puede afirmar que todos aquellos factores que de manera directa o indirecta modifican la actividad metabólica de las células de la raíz influyen sobre la penetración y pasaje de agua a través de ella.

Entre esos factores podemos mencionar la temperatura, la presión parcial de O_2 , la presencia de inhibidores de la respiración, las hormonas vegetales, algunos elementos minerales, etcétera. No estará de más insistir sobre la importancia que esas relaciones tienen para la economía del agua de las plantas y, desde un punto de vista aplicado, la trascendencia de un empleo adecuado de esos conocimientos para el manejo de los sistemas agrícolas. En este orden de cosas, la temperatura y aireación del suelo, la temperatura del agua de riego, el uso de fertilizantes y la capacidad de la planta de producir sustrato respiratorio utilizable por las raíces, habrán de influir ciertamente sobre la permeabilidad de éstas al agua.

Si, tal como hemos visto, se considera que ordinariamente el agua penetra en las raíces y se mueve a través de ellas gracias a mecanismos pasivos, es correcto pensar que la influencia que ejerce la actividad metabólica de los tejidos sobre ese movimiento obedece principalmente a su efecto sobre la permeabilidad de las membranas.

En las experiencias realizadas por Kuiper con plantas de sandía se pone en evidencia el efecto de una serie de

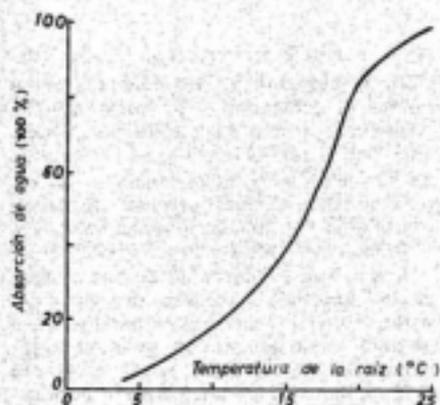


Figura 117. Efecto de la temperatura de la raíz sobre la absorción de agua en plantas de sandía (*Citrullus vulgaris* L.). (Tomado de R. H. Bohning y B. Lusanadana: "A comparative study of gradual and abrupt changes in root temperatures on water absorption", *Plant Physiology*, vol. 27, pág. 475, 1962.)

temperaturas sobre la absorción de agua por la raíz (fig. 117). Está claro que el efecto de la temperatura no se hace sentir sobre un solo aspecto del sistema sino sobre una serie de características, entre ellas, por ejemplo, la viscosidad del agua misma. Kuiper asocia la respuesta de la permeabilidad de las raíces al agua, cuando se las coloca a distintas temperaturas, con una posible transformación de las propiedades hidrofóbicas de los lípidos a una temperatura crítica, la cual promovería el pasaje de la fase laminar a la globular. En este sentido, el comportamiento de las raíces varía según las condiciones de temperatura en que han crecido previamente. Como se puede ver en la figura 118, en el caso de las raíces de las plantas de poroto que habían crecido a 17 °C, la absor-

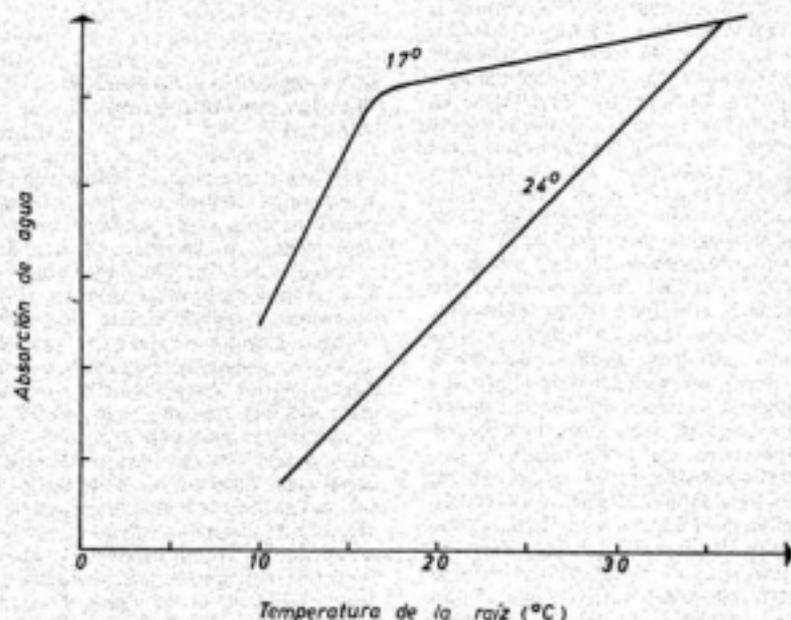


Figura 118. Absorción de agua por plantas de *Phaseolus vulgaris* L. que había crecido previamente a 17 y 24°C. (Tomado de: P.J.C. Kuiper: "Some considerations on water transport across living cell membranes". In: *Stomata and water relations in plants*, edit. por I. Zelitch, Connecticut Agric. Exp. Sta., New Haven, Conn., E.U.A., Bulletin 664, 1964.)

ción a bajas temperaturas fue superior a la de las raíces que habían crecido a 24°C. De ello podría inferirse que la estructura de las membranas puede diferir según las condiciones de temperatura en que su organización tiene lugar.

La absorción del agua por parte de las raíces se halla estrechamente ligada al crecimiento de éstas. Por una parte, ya se ha visto que por sus caracteres, la zona subapical y la de los pelos absorbentes ofrecen mínima resistencia al pasaje del agua. Los pelos radicales son, por lo general, efímeros, y los demás caracteres evolucionan hacia una mayor resistencia en función del tiempo. Es el crecimiento, pues, el que asegura la presencia de esas zonas de menor resistencia, en el sistema radical de la planta.

Por otro lado es preciso tener en cuenta que, siendo el suelo un reservorio de agua de capacidad limitada que cuenta por lo general con resuministro discontinuo (lluvia o riego), a medida que la superficie de la raíz en contacto con él extrae agua, la disponibilidad a lo largo de la interfase disminuye. El crecimiento de los ápices existentes y la aparición de nuevas ramificaciones asegura la utilización de un volumen creciente de agua que, de otro modo, no llegaría a tomar contacto con la superficie radical.

El agua se mueve en el suelo siguiendo los mismos principios generales que hemos visto respecto de los tejidos vegetales. El flujo depende, pues, del gradiente de potencial agua y del coeficiente de conductividad hidráulica, que disminuye a medida que el contenido en agua decrece. Como en el suelo no hay membranas que establezcan un movimiento osmótico del agua, las fuerzas que determinan las diferencias de potencial químico del agua son fuerzas mátricas. O sea que es la retención del agua por parte de las partículas minerales y orgánicas del suelo la que disminuye su capacidad para fluir. A medida que el suelo se deseca alrededor de una sección de raíz o de un pelo absorbente, disminuye el potencial agua en esa

capa y aumenta la resistencia que se opone al movimiento a través de ella (véase más arriba, pág. 336). Puede ocurrir, pues, que el agua que se localiza en el suelo a cierta distancia de la superficie radical más cercana no tenga posibilidad de fluir hacia dicha superficie y de ese modo resulte inaprovechable.

Los mismos valores de potencial agua de la superficie radical y del agua del suelo, pero separados por una distancia menor, redundan en un gradiente más empujado que a veces puede mantener el flujo, en esas condiciones de conductividad. De ahí que el crecimiento de las raíces de las plantas tenga importancia, no sólo porque aumenta el radio y profundidad a la que llegan las superficies capaces de absorber, sino porque puede también incrementar la densidad, acortando las distancias a todos los puntos en que hay agua en el suelo.

MOVIMIENTO DEL AGUA EN EL SISTEMA CONDUCTOR DE LA PLANTA

El agua que desde el suelo llega hasta el cilindro central de cada una de las ramificaciones del sistema radical de una planta, se distribuye dentro de ella y circula por los elementos del xilema que menor resistencia ofrecen al flujo: los vasos y las traqueidas. De ese modo el agua llega, por ejemplo, hasta la lámina de las hojas, donde la nervadura, formada por hacesillos fibrovasculares, hace posible que no haya células en el clorénquima separadas por más de dos o tres células del vaso proveedor de agua más cercano. No sólo las hojas, sino todos los otros órganos (partes de la flor, fruto, semilla, etcétera) se hallan inervados y son provistos de agua proveniente del suelo por el xilema. Los vasos, en los que los tabiques transversales han desaparecido, constituyen conductos continuos cuyo diámetro es muy variable (10 a 400 μm), y representan la vía que menor resistencia ofrece al flujo

del agua. Las traqueidas, aunque conservan sus tabiques transversales, poseen puntuaciones areoladas que facilitan el pasaje del agua a través de las paredes. Es indudable que la estructura del sistema conductor, con las variaciones que presenta en los distintos representantes de las antófitas, constituye uno de los caracteres que determinan la diversidad de comportamiento frente al agua.

Se puede preguntar qué pruebas experimentales existen en cuanto a la identificación de las vías del movimiento del agua en las plantas. Debido a que la cuestión que plantea el ascenso del agua hasta la copa de los árboles de gran altura intrigaba a los naturalistas y fisiólogos desde mucho tiempo atrás, algunos autores clásicos como Hales, Sachs y Strasburger llevaron a cabo experimentos en este sentido.

Con la práctica del anillado en tallos leñosos se demuestra que el agua llega a las hojas por los tejidos internos al cámbium. El anillado consiste, precisamente, en la eliminación alrededor del tallo, de un segmento de esos tejidos, que los propagadores y viveristas suelen denominar "corteza". En esas condiciones, las hojas insertas por encima de la descorticación continúan recibiendo agua; lo contrario ocurre si se elimina un disco de leño y médula, sin alterar los tejidos por fuera del cámbium. En este caso las hojas se marchitan. Pero ¿cuáles, de los tejidos interiores al cámbium, son los que cumplen la función de conducir el agua? Para responder a esta cuestión se han utilizado diversos métodos. El más simple es cortar, dentro de una solución de un colorante, una rama cuyas hojas se hallan transpirando con un ritmo más o menos intenso. El corte de la rama a distancias cada vez mayores de la sección inicial y su observación bajo el microscopio permiten comprobar que el líquido coloreado aparece en el interior de los elementos de conducción del xilema.

También se ha hecho uso de agua isotópicamente marcada, suministrándola en el medio en que absorben las raíces.

La marcha del agua isotópica puede ser seguida mediante instrumentos que detectan la radiación emitida, de modo que los autores mencionados comprobaron que ésta reemplazaba rápidamente al agua en el interior de los vasos y traqueidas. En lapsos mayores, el agua isotópica también aparece en los tejidos vecinos al xilema, con lo cual se pone en evidencia su pasaje a través de las paredes. Esto se relaciona con la cuestión, muchas veces debatida, de si la red de microespacios contenidos en las paredes celulares de todos los tejidos, desde la raíz a las hojas, cumple un papel en la conducción del agua. Tal como lo han señalado Scholander y otros, por lo menos en el caso de las lianas estudiadas por ellos, el sistema conductor comprende macroporos y microporos. Los primeros corresponden al lumen de los vasos y los segundos a los poros de las paredes celulares. En los experimentos realizados, estos autores comprobaron que cuando se cortaba el tallo de una liana cuyas hojas estaban transpirando, el flujo de agua se interrumpía y el aire penetraba por los extremos abiertos de los vasos. Después de un lapso de algunos minutos, al volver a sumergir en el agua el extremo seccionado observaron que el flujo se restablecía, aunque con un ritmo menor. Si el agua no podía circular por los macroporos interrumpidos por la entrada de aire, es posible pensar que el restablecimiento del flujo se producía a través de la red de microporos.

La segunda pregunta que se puede plantear, en relación con el movimiento ascendente del agua en el xilema, es la que se refiere al mecanismo mismo del ascenso. En este sentido, se pueden descartar las explicaciones basadas en el mecanismo de la capilaridad o de las diferencias de presión, tal como ocurren en un barómetro o en una bomba de vacío. En el primer caso, dado el diámetro de los conductos del xilema, el agua no podría ascender por capilaridad a la copa de los árboles de cierta altura. En el segundo, el ascenso no puede

sobrepasar el que determina una presión de 1 atmósfera, o sea 10,33 m. El mecanismo tiene que ser distinto, ya que muchos árboles sobrepasan esa altura. Una explicación del movimiento ascendente del agua —que resulta compatible con la provisión de ésta a las hojas de los árboles de mayor altura— es la que tiene en cuenta el papel de la transpiración, la fuerza de cohesión del agua y la importancia del crecimiento.

La transpiración, o sea la evaporación del agua desde las superficies húmedas de las hojas (paredes celulares más o menos cutinizadas) expuestas a la atmósfera, es el fenómeno determinante del movimiento ascendente de aquella en la planta. Ya Boehm en 1892, demostró que la evaporación del agua desde una superficie porosa podía mover el agua de un sistema continuo por encima de la altura a la que la presión atmosférica es capaz de levantarla. Posteriormente, Dixon y Joly, en 1894, y Askenasy en 1895, presentaron estas ideas básicas en forma de una hipótesis para la explicación del ascenso del agua en las plantas. Al evaporarse el agua de las superficies húmedas expuestas, la disminución del potencial químico de la que se halla en las paredes celulares (por debajo de esas superficies) acentúa o mantiene los gradientes de potencial que hacen que fluya desde puntos vecinos. Del mismo modo, hacia la capa más externa de células fluirá agua desde la capa subyacente. Siempre siguiendo gradientes negativos de potencial, el agua pasará desde los elementos xilemáticos, llenos de ésta, a las células vecinas del clorénquima. Dentro de los vasos, a través de la hoja y en el tallo, el arrastre de los "hilos" de agua puestos en marcha por la transpiración determina un estado de tensión o presión negativa. Ahora bien, las fuerzas de cohesión entre las moléculas del agua mantienen la continuidad de la masa líquida dentro de vasos y poros, siempre que la tensión a que se vea sometida no exceda el valor de esas fuerzas de cohesión. En tal caso, la continuidad de los hilos

de agua en el interior de los vasos se rompería. La transpiración determina, pues, el desarrollo de gradientes de potencial agua en las superficies evaporantes y la cohesión hace posible que el agua se mueva hacia esas superficies como una red continua. Es ésta la esencia de la denominada hipótesis de la cohesión para la explicación del movimiento ascendente del agua en las plantas.

Steward ha hecho resaltar el papel del crecimiento en este proceso. La hipótesis de la cohesión, tal como es presentada habitualmente, no hace hincapié en este aspecto de la cuestión. Steward hace notar cómo, en un árbol de 100 m de altura, el agua ha llegado hasta allí acompañando el crecimiento de la planta y no de una sola vez, como podría ocurrir en un caño inicialmente vacío por el que se hiciera succión para levantar el agua desde la base. Cada año, desde el estado de plántula, después del período de reposo, el cámbium retoma su actividad y produce nuevos elementos de xilema que, a lo largo del proceso de vacuolización y pérdida del contenido protoplasmático, van recibiendo agua que fluye desde los elementos conductores producidos en los años anteriores. El agua va incrementando la altura máxima a la cual llega, con cada etapa de crecimiento del árbol. Por supuesto que, cuando las hojas del árbol situadas a 100 m de altura transpiran activamente, el agua fluye hacia ellas y es agua que, en definitiva, ha ascendido desde el suelo; pero la continuidad del sistema ya estaba establecida.

Uno de los aspectos de la hipótesis de la cohesión que ha dado lugar a mayores objeciones es, tal vez, el de la necesidad de que los hilos de agua sean continuos.

La hipótesis de la cohesión reposa en la premisa de que la fuerza de cohesión en el agua es superior a las tensiones que se desarrollan en las plantas. Se hace necesario, por tanto, conocer el valor de la fuerza de cohesión y el de las tensiones mencionadas.

Numerosos métodos han sido aplicados para la determinación de la resistencia a la tensión del agua contenida en finos capilares de diámetro similar al de los elementos conductores de las plantas superiores. Los resultados obtenidos en este sentido por diferentes autores discrepan ampliamente, pero la mayoría indican valores de tensión superiores a -30 atmósferas y muchos de ellos muestran que la resistencia a la tensión del agua excede -200 atmósferas. Esto significa que, para romper la continuidad del agua líquida dentro de los conductos capilares ensayados, es preciso desarrollar tensiones superiores a -30 atmósferas y que, en muchos casos, deben sobrepasarse las -200 atmósferas para que la ruptura se produzca. Estos valores son compatibles con las mínimas tensiones requeridas para el ascenso del agua a la copa de los árboles más altos existentes. En efecto, si se considera que un máximo de 130 m separa las raíces de las ramas más altas de esos árboles, el ascenso a esa altura requiere como mínimo la aplicación, en la base, de una presión de 13 atmósferas o de una tensión de -13 atmósferas en la parte extrema superior. Con esto sólo se satisface la componente estática, es decir el mantenimiento de los hilos de agua a la altura mencionada. La resistencia que ofrecen las paredes y los tabiques de los conductos al flujo del agua hasta llegar a esa altura constituye la componente dinámica que es necesario considerar y cuyo valor se estima similar al de la componente estática. De este modo serían suficientes tensiones del orden de -30 atm, para el ascenso a la cúspide de los árboles más altos, las cuales no excedería la resistencia a la tensión del agua, es decir que no serían suficientes para romper su cohesión. Hasta hace pocos años no se contaba con un método apto para medir la presión hidrostática negativa existente dentro de los vasos y traqueidas, la que sólo era posible poner de manifiesto por medios indirectos como, por ejemplo, la penetración de una solución co-

loreada por los conductos del xilema, a ambos lados de una sección transversal practicada en una rama o tallo, cuando el corte se practica bajo la superficie de la solución. Es obvio que dicha penetración, fácilmente comprobable haciendo cortes sucesivos a distancias cada vez mayores de la sección practicada inicialmente, no se produciría en caso de hallarse el contenido de los vasos a una presión igual o superior a la atmosférica. Otra evidencia indirecta es la que proveen los cambios de diámetro del tronco de un árbol a lo largo de un ciclo diario, cambios que pueden ser registrados con ayuda de un *dendrógrafo*.

Cuando la transpiración acelera el flujo de agua desde las hojas a la atmósfera durante el día, la absorción no alcanza a proveer toda el agua perdida por el árbol y la tensión aumenta en los vasos, lo cual se pone de manifiesto en la contracción del tronco. Por la noche, con el cese de la transpiración, el agua que las raíces continúan absorbiendo provoca la disminución de la tensión en el interior de los vasos y la dilatación del tronco.

En la actualidad es posible medir la tensión existente en el xilema de un órgano cualquiera, mediante una bomba de presión del tipo de la descrita por Scholander.

TRANSPIRACION. NATURALEZA DEL PROCESO

Cuando durante el proceso evolutivo los vegetales abandonaron el medio acuático y se convirtieron en seres terrestres, desarrollaron estructuras adaptadas a la utilización aérea de la luz, del dióxido de carbono y del oxígeno, gases involucrados en el metabolismo energético. Fruto de esta evolución son los órganos foliares de las plantas superiores. Pero si bien la nueva morfología y anatomía aumentó la capacidad fotosintética, la respiración, la disipación de calor y el traslado de sales a las hojas,

paralelamente se incrementó el área de los tejidos expuestos al aire y, en consecuencia, las superficies donde el agua se evapora. Respecto de esto la evolución ha alcanzado una situación en la cual las plantas, por el desarrollo de estructuras y mecanismos especiales, tienden a minimizar y regular la pérdida de agua.

La pérdida de agua por las plantas en forma de vapor se denomina transpiración. Esencialmente es un proceso físico de evaporación que ocurre en las paredes de las células del mesófilo y epidermis de las hojas y de otros órganos en contacto con el aire. El vapor de agua escapa a la atmósfera, por difusión, a través de los estomas y las lenticelas, o atravesando directamente la cutícula. Por su naturaleza está sujeto a las leyes físicas que gobiernan el fenómeno de evaporación, pero modificado o regulado por estructuras biológicas: estomas, cutícula, etcétera.

Se ha discutido mucho respecto a los beneficios que brinda a la planta el flujo transpiracional. En la actualidad existe acuerdo en admitir que el movimiento de agua en el xilema facilita la transferencia de los solutos desde las raíces hasta la parte aérea de la planta. En ausencia de transpiración, el proceso de migración de sustancias continuaría por difusión, pero muy lentamente.

También se ha mencionado que la evaporación del agua en las hojas impide el calentamiento excesivo de éstas cuando sobre ellas incide la radiación solar. Es lógico que la carga de energía sobre las hojas aumente su temperatura. Es común que en días de sol intenso, con la transpiración disminuida por el cierre de los estomas, la temperatura de una hoja sea superior a la del aire en varios grados. Cuando las plantas poseen un potencial agua alto y la transpiración es normal, la diferencia de la temperatura de la hoja y el aire es pequeña. Esto se debe a la *reirradiación*, a la pérdida de calor por *convección* y al efecto de la *transpiración*.

Si la hoja fuese enfriada solamente

por *reirradiación* mantendría una temperatura mucho más alta que la del aire circundante. Por ejemplo, si la radiación absorbida fuese $1 \text{ cal cm}^{-2} \text{ min}^{-1}$ y la temperatura del aire 30°C , la de la hoja sería de 62°C . Es decir que, en ausencia de *convección* y *transpiración*, la temperatura de la hoja sería 32°C más alta que la del aire. Si el calor de la hoja se disipa por *convección* y *reirradiación*, en ausencia de *transpiración* y en aire calmo, la temperatura de la lámina sería de 48°C , o sea 18°C superior a la del aire.

En una hoja que no transpira, la pérdida por *convección* es forzada si sopla viento, pero no ocurre lo mismo con la *reirradiación*. Con viento de 2 km.h y una temperatura del aire de 30°C , la hoja tendría 42°C , 12° más que el aire. Si la velocidad del viento aumenta a 8 km.h la temperatura de la hoja será de 37° , 7°C más que la del aire.

A pleno sol, las hojas pueden permanecer vivas sin transpirar a una temperatura de 50° si la del aire no es muy alta o, aun si es elevada, si sopla viento. Por ejemplo, en las condiciones arriba mencionadas, sin transpirar, con viento de 2 km.h y aire a 30°C , la temperatura de la hoja sería de 42°C ; pero con aire a 40°C la hoja tendría 49°C . Si las hojas se hallan expuestas a pleno sol en aire calmo, la transpiración tiene una gran influencia sobre la temperatura de la hoja. Una débil transpiración en esa situación significa la disipación de varias calorías si se tiene en cuenta que, por cada $1,7 \times 10^{-4} \text{ g cm}^{-2} \text{ min}^{-1}$ de agua evaporada, la carga de calor sobre la hoja se reduce $0,1 \text{ cal cm}^{-2} \text{ min}^{-1}$. Por consiguiente, en condiciones de falta de viento y alta insolación, la transpiración puede mantener a las hojas por debajo de temperaturas letales.

Causas del proceso

La evaporación del agua en las paredes celulósicas se debe a la diferencia

de potencial agua (ψ) existente entre la atmósfera y esas superficies húmedas. Por lo tanto, la intensidad del proceso está dada por el gradiente de presión de vapor de agua entre las superficies evaporantes y la atmósfera. Por lo general, el potencial agua de la atmósfera es mucho menor que el de las células y su valor depende de su contenido en vapor o humedad relativa. Si el aire que rodea a una hoja se halla saturado y a igual temperatura que la hoja, el intercambio neto de vapor con las células tendrá un valor de cero en razón de la inexistencia de gradientes de potenciales agua, y, en consecuencia, la transpiración será también nula. En estas condiciones ocurre la pérdida de vapor de agua de las células solamente si se aumenta su presión de vapor por calentamiento de la hoja. En esta situación, el aire circundante quedará sobresaturado y parte del vapor de agua se condensará.

En las mesófitas, el potencial agua de las células del mesófilo es muy variable según las especies y otras condiciones, pero se puede considerar que su valor se halla entre -10 y -50 atmósferas. En el aire, a 27°C y una humedad relativa del 99 %, el potencial agua es de -14 atmósferas, y a la misma temperatura, con sólo 30 % su valor desciende a $-1,689$ atmósferas. Es decir que, excepto en caso que el aire se halle saturado, las diferencias de potencial agua de las hojas y la atmósfera son muy grandes.

Es de interés señalar que una pequeña variación en los valores de la humedad relativa se traduce en grandes cambios en el ψ aire.

El valor del ψ aire, conociendo la humedad relativa (HR), se calcula con la siguiente fórmula:

$$-\psi = 10,7 T \log \frac{100}{HR} \quad (34)$$

que se obtiene sobre la base de las leyes de los gases y de Raoult:

$$\psi = \frac{R T}{V} \ln \frac{P}{P^0}$$

donde ψ = potencial agua, R = constante general de los gases = $0,0834$ bar litro mol^{-1} grado^{-1} , T = temperatura absoluta = $^\circ\text{K}$, y V = volumen molar parcial del agua = $\frac{1 \text{ litro}}{55 \text{ M}}$

$0,018$ litro mol^{-1} . P^0 es la presión de vapor del aire saturado a la temperatura T , y P la del aire a la misma temperatura. Reemplazando los valores:

$$-\psi = \frac{0,0834 \text{ bar l mol}^{-1} \text{ grado}^{-1}}{0,018 \text{ litro mol}^{-1}} \times T^\circ \times 2,30 \log_{10} \frac{P^0}{P}$$

y cambiando $\log \frac{P^0}{P}$ por su equivalente $\log \frac{100}{HR}$

se obtiene:

$$-\psi = 10,7 T \log \frac{100}{HR} \text{ bares} \quad (35)$$

De acuerdo con los conceptos anteriores, la transpiración estaría dada por la simple ecuación:

$$T = C_{\text{hoja}} - C_{\text{aire}} \quad (36)$$

donde T = transpiración, C_{hoja} = concentración del agua en la pared, C_{aire} = concentración de agua en el aire, o más correctamente:

$$T = e_{\text{hoja}} - e_{\text{aire}} \quad (37)$$

donde e_{hoja} y e_{aire} son los correspondientes valores de presión de vapor de agua en mm de Hg.

FUENTE DE ENERGIA

Siendo la transpiración un fenómeno físico de evaporación, es obvio que requiere energía para convertir el agua líquida de las paredes celulares en vapor. La fuente de esta energía es la radiación solar que llega a la superficie terrestre. Las hojas, principales órganos que transpiran, absorben la radiación directa del sol y reciben, además, aquí-

lla reflejada y reirradiada por las superficies de los cuerpos vecinos (otras plantas, el suelo, etcétera) y el calor sensible de masas de aire que se desplazan en forma horizontal (advección).

Parte de la energía absorbida es utilizada para evaporar el agua de las superficies celulósicas, convirtiéndose de este modo en calor latente. El resto se pierde por reirradiación y por flujo de convección de calor sensible, y una mínima parte (1%) es consumida en el proceso fotosintético.

La transferencia de calor latente (vapor de agua) desde la hoja a la atmósfera ocurre siempre que existen gradientes de potenciales agua. Esta situación se presenta durante la mayor parte del día debido al flujo de energía que reciben las hojas y al reducido valor que normalmente posee el potencial agua del aire, excepto en los casos en que las hojas se hallan mojadas (lluvia, riegos por aspersión, etcétera). Durante la noche el gradiente de calor sensible se invierte —el flujo de calor ocurre desde las hojas hacia la atmósfera—, los tejidos, en consecuencia, se hallan más fríos que el aire circundante, y la diferencia entre la presión de vapor de las células y del aire se hace menor, nula o negativa, y su valor y signo dependen de las temperaturas y potenciales agua respectivos.

El siguiente ejemplo aclarará estos conceptos. Al mediodía una hoja de tabaco posee una temperatura de 30 °C y la presión de vapor de agua en las paredes de las células del mesófilo es de aproximadamente 28 mm de Hg. En el aire la temperatura es de 20 °C, la humedad relativa del 60%, y su presión de vapor tiene un valor de 10,5 mm de Hg. La diferencia $e_{\text{hoja}} - e_{\text{aire}}$ es relativamente grande: $28 - 10,5 = 17,5$ mm de Hg, y la transpiración, por consiguiente, será intensa. En horas de la madrugada las hojas se han enfriado, su temperatura es de 12 °C y la presión de vapor de sus superficies evaporantes es de 10,5 mm de Hg. La temperatura del aire en esos momentos es de 14 °C, la

humedad relativa del 80% y la presión de vapor de 9,5 mm. El gradiente se ha reducido a sólo $10,5 - 9,5 = 1,0$ mm; en consecuencia, la tendencia del agua a evaporarse en las células es mucho menor. Cuando la pérdida de calor de las hojas es aún mayor y la humedad relativa del aire es alta, el gradiente $e_{\text{hoja}} - e_{\text{aire}}$ puede invertirse y tomar valores negativos. En este caso, el vapor de agua de la atmósfera se condensará sobre las hojas en forma de rocío y será absorbido en parte por los tejidos si éstos no han alcanzado su turgencia máxima.

MECANISMO DE REGULACION. RESISTENCIAS. MECANISMO ESTOMATICO.

Se ha dicho antes que la transpiración difiere de la evaporación en que el flujo de agua desde la planta hacia el aire es modificado o regulado por las estructuras anatómicas que ofrecen resistencia al mismo. Estas resistencias, que constituyen ventajas adaptativas de los vegetales en los ambientes terrestres, se localizan principalmente en los mestos irregulares del mesófilo (R_m), en las epidermis cutinizadas (R_c), en los estomas (R_e), en el aire que rodea las hojas (R_a) y en la raíz (R_r). Por consiguiente, la fórmula 37 se convierte en:

$$T = \frac{0,622^*}{P} \times \frac{e_{\text{hoja}} - e_{\text{aire}}}{R_m + R_c + R_e + R_a + R_r} \quad (38)$$

o sea:

$$T = \frac{0,622}{P} \times \frac{e_{\text{hoja}} - e_{\text{aire}}}{\Sigma R}$$

* El término $0,622/P$ es un factor de conversión para cambiar diferencias de concentración en diferencias de presión de vapor, y tiene un valor aproximado de 10^{-6} , es decir que 1 mg de vapor de agua por litro de aire es equivalente a 1 mm de presión de vapor.

De la fórmula 38 se deduce, por lo tanto, que la estructura de la hoja, las condiciones del aire que la circundan y la conductancia de la raíz, afectan la actividad transpiratoria.

Resistencia del mesófilo

El valor de R_m (dado por las superficies expuestas a los espacios intercelulares así como por la geometría de éstos), si bien varía entre las especies, posee un valor bajo ($0,25 \text{ s. cm}^{-1}$), por lo cual se lo considera constante. Si se lo compara con la resistencia cuticular (R_c) y estomática (R_e), R_m sólo tiene importancia cuando los estomas se hallan totalmente abiertos o cuando las hojas se hallan marchitas, posiblemente por deformación de los mestos. En general, R_m es mayor en las hojas gruesas o con espacios intercelulares pequeños que en las hojas delgadas o con gran desarrollo del tejido lagunoso.

Resistencia cuticular. Transpiración cuticular

La resistencia cuticular (R_c) a la difusión del vapor de agua es muy alta (20 a 60 s. cm^{-1} en las mesófitas y 50 a 400 s. cm^{-1} en las xerófitas), pero nunca llega a ser una barrera infranqueable. La dificultad que encuentra el vapor de agua para atravesar la cutícula se debe a la presencia en ella de sustancia hidrofóbicas, como cutinas, ceras, resinas, etcétera. Su diferente permeabilidad depende de su composición y espesor, que a su vez varían según las especies, edad de la hoja, condiciones ambientales, grado de hidratación de las células epidérmicas, etcétera.

La pérdida de agua a través de la cutícula (transpiración cuticular) es casi despreciable cuando los estomas se hallan abiertos, pero en ciertas especies reviste gran importancia en casos de sequía, cuando estas aberturas se hallan cerradas. La transpiración cuticular es nula o muy reducida en el laurel (*Laurus nobilis*), pino de Alepo (*Pinus halepensis*) y ciprés (*Cupressus sempervirens*) cuando habitan regiones secas. En varias especies del nordeste semiárido del Bra-

sil, la transpiración cuticular tiene un valor que varía entre el 5 y el 30 % de la pérdida de agua total, y en *Impatiens holstein*, especie esciófila de cutícula delgada, es cinco veces mayor que en el pino (*Pinus sylvestris*), especie heliófila de cutícula gruesa.

La transpiración cuticular más elevada en las hojas viejas que en las jóvenes se debe a la presencia de fisuras en la película hidrofóbica, principalmente cuando la epidermis está sometida a déficit hídrico. En general, a medida que una hoja se deshidrata, la transpiración cuticular decrece por disminución del potencial agua de las paredes de las células directamente expuestas a la atmósfera.

Este fenómeno explica por qué el valor de R_c disminuye durante la noche, momento en el cual toda la pérdida de agua se efectúa por la cutícula debido al cierre de los estomas, pero cuando las células epidérmicas han aumentado su potencial agua significativamente.

Resistencia estomática

La mayor parte del intercambio gaseoso entre la planta y la atmósfera se realiza por los estomas. Estos poros microscópicos se hallan en la epidermis de todos los órganos, con excepción de las raíces, y su número y tamaño es variable según las especies, condiciones ambientales, etcétera. La característica fundamental de los estomas es su movimiento de cierre y apertura, operado por mecanismos biológicos complejos y regulados por factores internos y externos aún no bien conocidos todos.

Esta propiedad de los estomas y su ubicación en el trayecto que sigue el vapor de agua desde las paredes mojadas del mesófilo hasta el aire externo, hacen de ellos el dispositivo más apto de regulación de la pérdida de agua que poseen las plantas. Para entender la importancia de la resistencia estomática (R_e) es necesario tener en cuenta que el mayor gradiente de Ψ (o de presión de vapor), a lo largo del recorrido del agua en la planta, se halla comúnmente entre esas super-

ficies evaporantes y el aire. En consecuencia, esa diferencia de potencial y el valor de Re son los factores que, por lo general, más influyen sobre la cantidad de agua que pierden las plantas.

En las mesófitas Re varía entre 0,5 s. cm^{-1} cuando los estomas se hallan abiertos e infinito cuando se encuentran cerrados por completo. En las xerófitas Re es mayor, pues aun con los estomas abiertos, puede alcanzar valores hasta de 25 s. cm^{-1} .

La apertura y cierre de los poros son causados por el movimiento de las células oclusivas, debido a la diferencia de turgencia entre ellas y las células epidérmicas que las rodean.

Cuando las células oclusivas aumentan de turgencia en relación con las células vecinas, el estoma se abre por la deformación elástica de sus paredes desigualmente engrosadas. Si la turgencia disminuye, el poro se cierra por acercamiento de las mismas paredes.

Es evidente que los cambios de turgencia se deben a la entrada o salida de agua de las células, pero lo que aún no está bien aclarado es el mecanismo que regula este flujo (influxo y eflujo).

Los últimos estudios realizados parecen indicar que los cambios de turgencia se deben a la entrada y salida de potasio de las células oclusivas. La acumulación de potasio proveniente de las células subsidiarias sería el factor causante de la disminución del potencial agua de las células estomáticas. La variación del potencial osmótico de estas células —que varía entre -5 bares en los estomas cerrados, y -13 bares en los abiertos— concuerda con la cantidad de potasio que sale y entra en sus células (0,1 M a 0,5 M). Se ha supuesto la existencia de un mecanismo de transporte activo del potasio, es decir que las células oclusivas gastarían energía para el funcionamiento de una "bomba" de potasio. Esta hipótesis está avallada por la necesidad de ATP para el influxo y eflujo de este catión, así como por el hecho de depender este fe-

nómeno de la temperatura y la presencia de oxígeno.

La energía para el proceso provendría de sustancias como el almidón o de otros hidratos de carbono fotosintetizados. Esto explicaría la modificación en el contenido de almidón que ocurre durante el día en función del pH de las células, que varía según la concentración del ion potasio, además del efecto directo que tiene este ion como activador de la hidrólisis enzimática del polisacárido. El anión que mantendría la neutralidad eléctrica sería sintetizado en las propias células oclusivas o transportado desde las vecinas. Todavía no se conocen los mecanismos que controlan el bombeo de potasio hacia adentro durante el día y hacia afuera durante la noche. La luz parece desempeñar un papel importante en esa regulación (véase más adelante), aunque su modo de obrar aún se ignora. Esta afirmación se basa en que la presencia de este factor provoca la apertura estomática, mientras que su ausencia causa el efecto contrario. Por otro lado, es sugestivo que la luz azul (439 nm) sea mucho más activa, en este fenómeno, que otras longitudes de onda. Esto indica que su acción debe ser específica sobre algún proceso no vinculado con la fotosíntesis, dado que la luz roja tiene un efecto 7 veces menor que la azul.

Otro factor importante que determina la apertura y cierre de los estomas es el CO_2 . Los estomas que se hallan abiertos se cierran cuando la concentración de CO_2 en el aire se eleva. El mecanismo es sensible a partir de 0,01%, y a medida que este porcentaje aumenta los poros se van cerrando, pero la cantidad que provoca el cierre completo depende de la intensidad de la luz. A mayor irradiancia, más alta es la concentración del CO_2 requerida para causar el cierre. Esta relación se ha explicado por el consumo de este gas en la fotosíntesis. En general se ha observado que una concentración de 0,08% en la cavidad subestomática es suficiente para inducir el cierre del poro. Cuando el es-

toma se halla cerrado completamente no se abre si el aire que rodea a la hoja está libre de CO_2 , pero tal cosa ocurre si con una microjeringa se elimina este gas de la cavidad subestomatística. Este experimento indica que la acción del CO_2 se ejerce en esta cavidad.

El mecanismo responde al CO_2 , tanto a la luz como a la oscuridad. Es decir que el estoma se cierra aun estando la hoja iluminada si la concentración del CO_2 aumenta más allá de cierto nivel, y no se cierra completamente en la oscuridad si el aire se mantiene con un tenor muy bajo de este gas (cerca de 0,01 %). El modo de actuar de la luz y del CO_2 no se halla dilucidado. Es probable que ambos factores actúen sobre la "bomba" de potasio antes mencionada, e indiquen la dirección en que este ion es impulsado.

Algunos autores han sugerido que para el cierre de los estomas operan dos mecanismos distintos e independientes, uno controlado por la luz y el otro por el CO_2 . El primero actuaría en una primera fase del movimiento y sería rápido; el segundo operaría gradualmente a medida que el CO_2 se acumula.

Según el ritmo diario de apertura y cierre, los estomas han sido clasificados en 5 tipos:

- 1) *Tipo alfalfa*. Los estomas de esta clase se abren durante el día y se cierran a la noche. Permanecen completamente abiertos durante un período que varía entre 3 y 6 horas, y la apertura y cierre es gradual. Al mediodía pueden cerrarse parcialmente, y en este caso pueden abrirse algunas horas a la noche. De este grupo son los estomas que poseen la mayoría de las mesófitas, incluidas muchas especies leñosas, como el café, el manzano, el peral, el duraznero, etcétera.
- 2) *Tipo papa*. Estos estomas están abiertos de continuo, excepto algunas horas durante el crepúsculo vespertino. En el resto del día sólo los cierran en casos de marchitez. Las especies

que poseen este tipo de estomas son la cebolla (*Allium cepa*), el puerro (*Allium porrum*), el repollo (*Brassica oleracea* var. *capitata*), algunas cucurbitáceas (*Cucurbita maxima* y *Cucurbita pepo*), etcétera.

- 3) *Tipo cebada*. Estos estomas se encuentran semiabiertos durante casi todo el día. Sólo se abren completamente 1 ó 2 horas por día; la apertura y cierre es gradual y nunca se abren de noche. Los estomas de la cebada, la avena y el trigo se abren al máximo los días frescos y húmedos, pero de baja intensidad lumínica. Los del maíz y el sorgo (*Sorghum vulgare*), en cambio, se abren en condiciones de luz intensa y temperaturas altas.
- 4) *Tipo Equisetum*. Los estomas de *Scirpus validus*, varias especies de *Equisetum* y algunos mutantes de tomate permanecen abiertos día y noche, aun en condiciones de desequilibrio hídrico.
- 5) *Tipo cactáceas*. En las especies de *Cactaceae* y *Crassulaceae*, los estomas se encuentran cerrados durante el día y se abren a la noche, aunque existen algunas excepciones.

En ciertas especies, al margen del ritmo diario de cierre y apertura condicionado por factores externos, se producen cambios en la apertura aun en condiciones constantes del medio. Son ritmos endógenos que dependen de procesos aún no conocidos, pero se considera que son adaptaciones al ambiente, cuyas fluctuaciones son atenuadas por mecanismos homeostáticos. Una planta con un ritmo de apertura y cierre estomático en un determinado medio, llevada a otro diferente lo mantiene durante cierto tiempo, a veces varios días, pero luego ese ritmo va desapareciendo paulatinamente hasta acomodarse a las nuevas condiciones.

Resistencia del aire

R_0 es la resistencia a la difusión de vapor de agua que le oponen las mo-

lécúlas de este mismo gas ubicadas en el seno de la capa límite, o sea en aquella masa de aire calmo adyacente a las superficies de las hojas y a la cual se adhiere el aire que circula en la atmósfera. Como el espesor de la capa límite depende de la velocidad del viento, cuanto mayor es ésta menor es el valor de R_a . Por consiguiente, en días de viento de mucha velocidad ($> 40 \text{ km h}^{-1}$), la transpiración es elevada debido a la rápida difusión del vapor de agua desde el interior de las hojas hacia la atmósfera. De esto se deduce fácilmente que el tamaño del ostiolo tiene muy poca importancia en condiciones de aire calmo; en cambio, cuando existe viento, ese factor determina la velocidad con que la planta pierde el agua.

Resistencia de la raíz

Se ha observado que cuando la transpiración es intensa y el contenido de agua en el suelo no limita su absorción, el pasaje de esta sustancia a través de la raíz aumenta pero, por lo general, este flujo no alcanza a satisfacer la demanda de la parte aérea. Teniendo en cuenta que la resistencia del xilema a los hilos de agua que se mueven en él es relativamente pequeña, se deduce entonces que, bajo esas condiciones, la entrada de agua al sistema conductor está restringida.

Si bien el agua se traslada desde el suelo hasta los vasos por el apoplasto y el simplasto, la compacidad de las células de la corteza y, especialmente, la endodermis suberificada (bandas de Caspary) ofrecen resistencia a su movimiento. Esta se pone de manifiesto matando los protoplastos de la raíz con agua caliente o eliminando este órgano y sumergiendo el tallo en agua. En ambos casos la transpiración aumenta, como consecuencia de la mayor entrada de agua al xilema.

La magnitud de esta resistencia es grande, pero no es constante, pues depende de aquellos factores que modifican la viscosidad del agua y la conductancia

hidráulica de las membranas (temperatura, aireación, cantidad de solutos, hidratación de la raíz etcétera).

MÉTODOS PARA MEDIR LA INTENSIDAD TRANSPIRATORIA

Se han ideado diversos métodos para determinar la magnitud de la transpiración, aunque ninguno está libre de críticas. No obstante, son muy útiles para fines comparativos si se mantienen constantes las variables que afectan el proceso.

1) Métodos del cambio de peso de plantas enteras

La transpiración se determina pesando periódicamente la planta, el sustrato y el recipiente que la contiene. Si se impermeabiliza este último, lo mismo que la superficie del sustrato, la diferencia de peso obtenida en períodos cortos ofrece una medida adecuada del agua transpirada. Si se determina inmediatamente el área foliar se pueden expresar los valores en gramos de agua perdida por unidad de superficie foliar en unidad de tiempo ($\text{g dm}^{-2} \text{ h}^{-1}$).

Las desventajas de este método son: 1) los experimentos deben ser cortos, de manera que el agua del sustrato no se convierta en un factor limitativo y no haya aumento apreciable de peso por la actividad fotosintética; 2) está limitado a plantas que puedan crecer normalmente en recipientes relativamente pequeños, a lo sumo de 50 litros de capacidad; 3) la absorción de agua por las raíces puede modificarse por la temperatura del recipiente y la aireación del sustrato, haciendo variable el flujo de agua hacia las hojas, lo cual introduce un error.

2) Métodos del cambio de peso de ramas, hojas o porciones de ellas

El método consiste en separar de una planta una rama, una hoja o discos

de ésta, y pesarlos a intervalos de 1 minuto y durante no más de 5. La determinación se realiza en el mismo ambiente donde crece la planta entera, por lo general con balanzas de torsión que permiten mantener el material al aire libre y realizar las lecturas rápidamente. Se estima que en el lapso de 5 minutos el contenido de agua del órgano cortado no limita la transpiración (fig. 119).

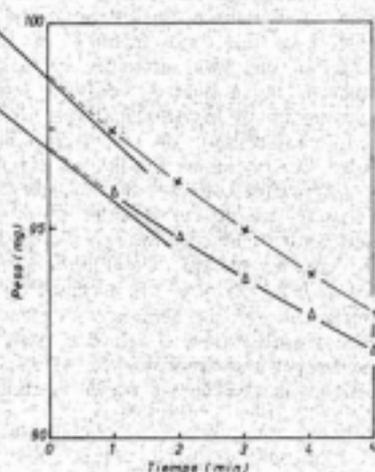


Figura 119. Variación de la transpiración, en función del tiempo, en dos especies diferentes, utilizando el método de las pesadas rápidas. Las líneas a y b muestran cómo se obtiene por extrapolación el valor de la transpiración a tiempo cero. (Tomado de J. Sutcliffe: *Plants and water*, Edward Arnold Ltd., Londres, 1968.)

Los inconvenientes del método son: 1) la porción del material usado no se encuentra transpirando en el ambiente estrictamente natural, ya sea en cuanto a la orientación con respecto a la radiación solar, como tampoco al movimiento de aire que generalmente ocurre en el entorno de la planta entera; 2) en algunas especies, entre los 2 y 5 min la transpiración aumenta debido a

que se incrementa la apertura estomática por los efectos de la rápida disminución de la turgencia de las células epidérmicas; luego declina progresivamente a medida que los estomas se cierran por disminución del ψ . El método, no obstante, resulta muy útil en estudios ecológicos de carácter comparativo, dada su simplicidad y rapidez, lo que permite realizar en poco tiempo numerosas determinaciones. Los resultados no pueden ser extrapolados a la planta entera ni a comunidades. Este método ha sido decididamente desaconsejado por algunos autores.

3) Método de la medición del vapor de agua transpirado

Las plantas se colocan en cámaras generalmente transparentes, de ambiente controlado, a través de las cuales pasa una corriente de aire de humedad conocida. La diferencia entre el vapor de agua del aire que entra y que sale de las cámaras corresponde a la transpiración, siempre que se tomen las debidas precauciones para que la evaporación de la maceta y de la superficie del sustrato donde crecen las plantas sea nula. La medición del vapor de agua se realiza de diversas maneras. Actualmente se utiliza un aparato que determina la intensidad con que el vapor de agua absorbe las radiaciones infrarrojas de una fuente. Otro instrumento muy usado es el que determina el vapor de agua mediante dos termocuplas, una húmeda y otra seca (véase página 331). Una técnica que también se emplea es la que consiste en absorber el vapor de agua en ácido sulfúrico y medir, por medio de termistores, la elevación de temperatura que se produce.

Las desventajas de este método son: 1) el equipo es utilizable principalmente para experiencias de laboratorio; 2) la extrapolación de los resultados a las plantas que viven en un ambiente natural exige condiciones idénticas a las de las cámaras (tempe-

ratura, luz, humedad relativa, viento, etcétera), por lo común muy difíciles de obtener.

MAGNITUD DE LA TRANSPIRACION

No se pueden obtener valores exactos de la cantidad de agua perdida por las plantas debido a que son varios los factores que modifican el proceso y lo hacen muy variable. En cada especie existe una diferencia diaria que depende de las condiciones meteorológicas y edáficas (figura 120). Durante el día la transpiración puede variar entre 0,5 y 2,5 $\text{g} \cdot \text{dm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$, mientras que a la noche los valores se hallan entre 0,1 y 0,3 $\text{g} \cdot \text{dm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$, que corresponden a una pérdida de agua de más de 200 litros de una planta de maíz, durante todo su ciclo vegetativo. En las xerófitas suculentas, que abren sus estomas durante la noche, los valores de transpiración más altos se obtienen en este período. El efecto de la variación de la carga energética sobre la transpiración se puede ilustrar con el ejemplo siguiente: un banano transpira 25 l de agua en un

día de sol, 9,5 en un día nublado y 18 en uno semicubierto.

La variación estacional también depende de las condiciones climáticas, pero además de la especie considerada. En las plantas de hojas perennes la transpiración es máxima a mediados del verano, lo mismo que en las de hojas caedizas. Pero en estas últimas, la pérdida es nula en el invierno, mientras que en las primeras, si bien se reduce, el proceso prosigue.

En las regiones donde la estación seca es el verano, la abscisión del follaje hace que sea mínima la transpiración en esta estación y máxima cuando la humedad edáfica permite nuevamente la expansión foliar.

La intensidad de la transpiración sufre fluctuaciones rápidas, en términos de aproximadamente 30 minutos. La variación puede ser grande: en un experimento con algodones, la pérdida de agua en el lapso de 50 min pasó de 0,1 a 0,7 $\text{g} \cdot \text{dm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$. La causa de este fenómeno es la siguiente: en condiciones ambientales constantes, pero que favorecen una transpiración elevada, la resistencia alta de las raíces al flujo de

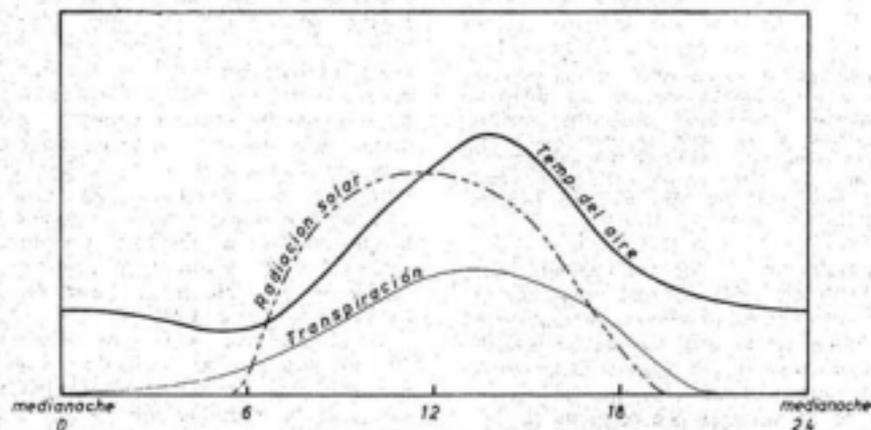


Figura 120. Curso de la transpiración durante el día.

agua provoca en las hojas un déficit hídrico con el consecuente cierre de los estomas. En esta situación, la transpiración disminuye y permite que las hojas recuperen su turgencia. Cuando ocurre este fenómeno, los estomas vuelven a abrirse hasta que se inicia un nuevo ciclo. El papel que desempeña la resistencia radical en estos cambios de ψ se prueba cortando las raíces y sumergiendo el tallo cortado en agua. En estas condiciones, la fluctuación rápida de la transpiración desaparece.

BALANCE HÍDRICO. PUNTO DE MARCHITAMIENTO PERMANENTE

Cualquiera que sea el hábitat de una especie, su crecimiento puede ser limitado por un exceso o una deficiencia de agua. Esta última situación es la que comúnmente se observa, no sólo en los desiertos, sino en regiones con suficientes lluvias, pero sometidas a una distribución estacional o a sequías temporarias. Al margen de estas situaciones extremas, es importante señalar que sólo ocasionalmente el contenido de agua del suelo se encuentra en los niveles óptimos para las necesidades de una mesófito.

El estado hídrico interno de una planta está determinado por la intensidad relativa con que absorbe el agua y la velocidad con que la pierde. Los dos procesos son interdependientes, pues si la transpiración aumenta la absorción se hace más intensa. Por otro lado, si la absorción decrece la transpiración también merma, fenómeno que se deduce fácilmente de la fórmula 38, dado que al disminuir la cantidad de agua de los tejidos el valor $\frac{e_{hoja} - e_{aire}}{\Sigma R}$

se hace menor. Esto ocurre en razón de que el ψ en las paredes celulares decrece por concentrarse los solutos que se hallan en ellas, pero en mayor medida por el gran aumento de la resistencia estomática (R_e).

En las regiones de luz y temperaturas moderadas y alta humedad relativa del aire, el agua que las plantas pierden por evaporación es compensada por la que absorben por las raíces. A lo sumo se produce un desequilibrio temporario en las horas de mayor flujo de energía sobre la planta, fenómeno denominado *déficit hídrico del mediodía*. En cambio, en los climas de luz intensa y temperaturas elevadas, la transpiración durante la mayor parte del día excede la absorción, aun si el agua en el suelo se halla a capacidad de campo. En consecuencia, durante casi todo este período los tejidos se hallan sometidos a un déficit hídrico, es decir que sus células no se encuentran en el máximo de la turgencia. Si periódicamente se determina el potencial agua de las hojas se observa que el valor más bajo se encuentra al atardecer y el más alto antes de la salida del sol.

Si no llueve o no se riega, el potencial agua del suelo disminuye gradualmente en función del tiempo y lo mismo ocurre con el potencial agua de las plantas. Cuando la cantidad de agua del suelo es alta (ψ_{suelo} alto), el ψ_{hoja} y $\psi_{raíz}$ disminuyen durante el día debido a la transpiración, pero a la noche aumentan hasta igualar el ψ_{suelo} porque el gradiente favorece la absorción (fig. 121).

Este proceso continúa diariamente: la planta y el suelo siguen disminuyendo su potencial agua, la primera más rápidamente que el segundo, por lo cual el gradiente se va atenuando. Llega así un momento en que $\psi_{suelo} = \psi_{planta}$ y las raíces no pueden absorber agua. En este estado, la depresión diurna del ψ_{planta} no se recupera en el transcurso de la noche como venía sucediendo; en las células de las hojas y de otros órganos, el potencial de turgencia llega a cero, los tejidos se vuelven flácidos y los estomas no se abren. Se ha alcanzado el *punto de marchitamiento permanente* o *coeficiente de marchitamiento permanente*.

Cuando los mecanismos y estructuras

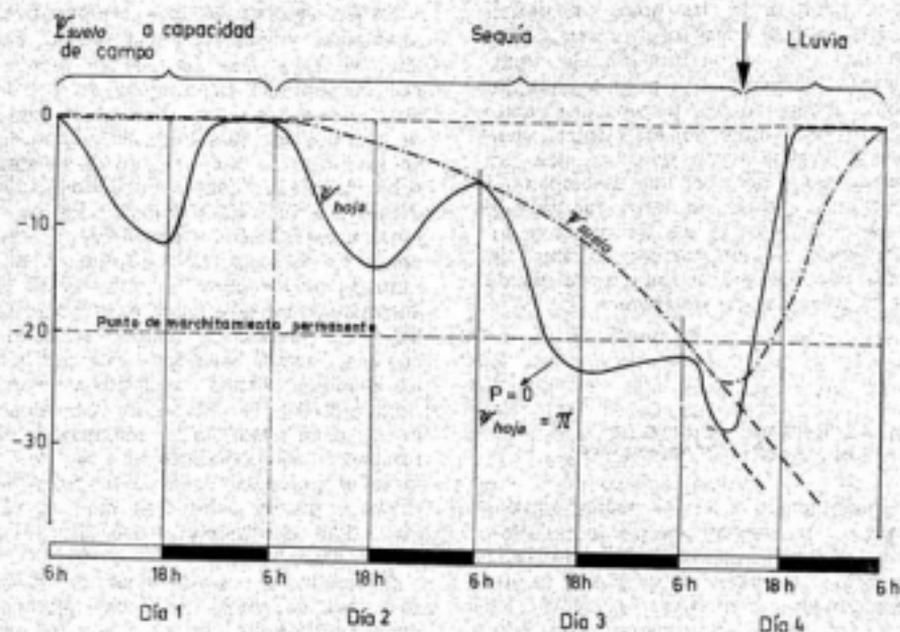


Figura 121. Representación esquemática de los cambios en el potencial agua del suelo (ψ_{suelo}) y de la hoja (ψ_{hoja}), en condiciones de agua a capacidad de campo, en período de sequía y bajo lluvia.

anatómicos y fisiológicos del vegetal (cutícula, estomas, acartuchamiento o abscisión de hojas, desarrollo de raíces, etcétera) son insuficientes para mantener el desequilibrio, dentro de los límites críticos que les impone el metabolismo, la marchitez se hace progresivamente más severa debido a que la transpiración continúa, con lo cual la planta puede morir por desecación. El ψ_{suelo} que varía desde $-0,5$ atmósferas a capacidad de campo hasta -200 atmósferas en suelos muy secos o salinos, adquiere entonces, aparentemente, el carácter de factor decisivo para la recuperación nocturna del balance hídrico. Respecto de un gran número de las especies mesófilas estudiadas, el punto de marchitez permanente se halla entre -10 y -20 atmósferas, cualquiera

que sea el tipo de suelo; pero su valor no es una constante para una especie o un estado de crecimiento dado de ella, ya que depende del potencial osmótico que puede alcanzar la planta, el cual se extiende desde -2 a -200 atmósferas.

Es decir que el valor de turgencia cero depende del potencial agua del suelo y también del potencial osmótico de la planta.

El punto de marchitez también se expresa en cantidad (%) de agua respecto del peso seco del suelo y se lo denomina *porcentaje de marchitamiento permanente*. Su valor no es constante para suelos diferentes y también es muy afectado por las variaciones en el potencial osmótico de las raíces. En las mesófitas, su magnitud se halla entre el 10 y el 20 %.

La denominación de *agua disponible* es muy usada en la terminología fisiológica y agronómica y expresa la cantidad de esta sustancia que se halla en el suelo entre los valores de capacidad de campo (aproximadamente $-0,5$ atmósferas) y el punto de marchitamiento permanente (-20 atmósferas).

Los dos parámetros mencionados arriba —porcentaje de marchitamiento permanente y agua disponible— deben manejarse con ciertas precauciones. Es frecuente que las determinaciones arrojen resultados que por su magnitud deberían provocar una marchitez visible, no obstante lo cual el fenómeno no se presenta. En la mayoría de los casos esto se debe a la extensión del sistema radical, que suplente la baja disponibilidad de agua en el suelo, y a condiciones que no favorecen la transpiración (alta humedad relativa del aire, área foliar reducida, baja intensidad del flujo de energía hacia la planta). En otras ocasiones se presenta el caso inverso, es decir, las plantas se marchitan en suelos con agua disponible o por arriba del porcentaje de marchitamiento permanente. Esto ocurre a causa de una demanda muy elevada de agua, por razones meteorológicas, que un sistema radical poco desarrollado y las resistencias que aquélla encuentra en su trayecto no permiten satisfacer.

Paralelamente a la fluctuación diaria del contenido de agua de los tejidos ocurren cambios en el espesor o volumen de ciertos órganos, como las hojas, los tallos herbáceos y los frutos. Al respecto, es de interés mencionar que la excesiva pérdida de agua por las hojas no sólo establece gradientes de potencial entre éstas y el suelo, sino también entre los distintos órganos de la misma planta. En ciertas especies (cítricos, algodónero, cerezo, trigo, etcétera) es frecuente el movimiento de agua desde los frutos hacia las hojas durante el día, que de esta manera disminuyen su volumen. En el período nocturno los frutos recuperan su turgencia directamente por el agua absor-

bida por las raíces. Para estas plantas los frutos constituyen órganos de reserva limitada de agua. En ciertas condiciones (potencial osmótico de los tejidos muy bajo, absorción de agua abundante), ciertos órganos (frutos, raíces carnosas, tubérculos, etcétera) pueden aumentar su contenido de agua, distender las paredes celulares más allá del límite de su resistencia mecánica y hendirse.

DETERMINACION DEL ESTADO HIDRICO DE UNA PLANTA

El fenómeno de marchitez es un síntoma visible que se observa en la mayoría de las mesófitas que están sometidas a un déficit hídrico acentuado y que no poseen tejidos mecánicos muy desarrollados. Pero antes que éste se presente, la disminución del potencial agua de los tejidos afecta a numerosos procesos fisiológicos relacionados con el crecimiento (véase la pág. 365). Por consiguiente, es necesario contar con un parámetro que indique el estado hídrico de la planta antes que éste se ponga en evidencia a través del marchitamiento de sus órganos. El conocimiento del grado de hidratación de los tejidos, además, es de importancia en los cultivos que se realizan bajo riego para poder administrar racionalmente el agua, para hacer estudios comparativos de resistencia a la sequía, etcétera. Los métodos para esta determinación deben ser simples, rápidos y de fácil utilización en condiciones de campo. A continuación se describen brevemente aquéllos más utilizados.

1) Potencial agua

El potencial agua es el parámetro que caracteriza más exactamente la situación hídrica de las plantas. Sirve especialmente para comparar la tolerancia de los diferentes procesos fisiológicos a

las condiciones de sequía, en razón de que su magnitud no es afectada por la estructura de los diferentes tejidos. De su determinación se ha hablado en la página 331.

2) Contenido relativo de agua

Otro índice de utilidad para evaluar el estado hídrico es el *contenido relativo de agua* (CRA) o *turgencia relativa* (TR). El CRA es el porcentaje de agua de un tejido, considerando como 100 % el contenido de agua de éste en condiciones de turgencia máxima. Así, si a un tejido, un órgano o toda una planta se los mantiene en condiciones que permitan que sus células alcancen su turgencia máxima ($\psi = 0$) se puede determinar luego, respecto de una situación hídrica cualquiera, en qué porcentaje difiere ésta de la primera determinación.

El CRA admite comparación entre tejidos idénticos, pero no con el de otros que poseen distinta estructura. El CRA de una hoja de lechuga no se puede comparar con el de una hoja de maíz, porque la relación pared/citoplasma es diferente. Tampoco es equivalente al de una hoja de una especie suculenta, pues además de poseer ésta distinta anatomía, por lo general sus células contienen mucílagos que modifican más el valor de ψ , a través de su potencial mátrico, que el del CRA.

Su mayor desventaja es que, a menos que el déficit hídrico sea muy severo, un pequeño cambio del contenido de agua afecta mucho menos al CRA que al ψ . De cualquier manera, es un método muy usado para evaluar comparativamente el déficit hídrico de las plantas.

El método consiste en cortar hojas o discos de ellas, pesarlás (PF) y hacerlas flotar en agua durante 3 ó 4 horas para que alcancen su turgencia máxima. Este último paso debe realizarse bajo una in-

tensidad de luz correspondiente al punto de compensación para evitar la pérdida de materia seca por respiración o la ganancia por fotosíntesis. Luego se seca con papel de filtro el agua que tienen en la parte exterior y se las vuelven a pesar (PFT). Posteriormente se las seca en una estufa, a 105°C, hasta que alcancen un peso seco constante (PS), y los tres valores obtenidos se usan para determinar la TR o el CRA.

$$\text{CRA} = \text{TR} = \frac{\text{PF-PS}}{\text{PFT-PS}} \times 100 \quad (39)$$

El *déficit de saturación hídrica* (DSH), es decir la magnitud en que esos tejidos difieren de la cantidad máxima de agua que pueden absorber, se calcula por diferencia.

$$\text{DSH} = 100 - \text{CRA} \quad (40)$$

3) El porcentaje de agua referido al peso fresco o seco

Este parámetro ha sido usado en algunos casos (semillas, vegetales inferiores) como indicador del estado hídrico de un tejido. No es un método satisfactorio en razón de que el peso seco fluctúa constantemente por la actividad fotosintética y respiratoria o por el traslado de sustancias. Así, por ejemplo, una hoja que aumenta de peso seco en un período de 12 horas, disminuye proporcionalmente en cuanto al porcentaje de agua a pesar de que la cantidad total presente en el órgano puede no sufrir modificaciones.

4) El espesor de la hoja

Es un método indirecto de establecer el estado hídrico de una hoja. Se basa en el hecho de que el contenido de agua de una hoja guarda relación entre determinados límites, con su espesor. Si bien el espesor de una lámina también

es afectado por la acumulación de sustancias de la fotosíntesis, los cambios en el potencial osmótico, etcétera, su magnitud tiene más correlación con la turgencia relativa.

El sistema que se utiliza consiste en medir el espesor de la hoja colocando en una cara de ella un emisor de radiaciones β y en la opuesta un detector (tubo Geiger). La cantidad de radiación absorbida está en función de la masa atravesada, de modo que a mayor contenido de agua menor es el número de partículas β que llegan al detector. El método es satisfactorio cuando se desea medir los cambios de contenido de agua que ocurren en períodos de tiempo cortos, en los cuales la modificación del espesor se debe en su mayor parte al aumento o disminución de la cantidad de aquélla. Su principal ventaja consiste en que no destruye las hojas, el emisor cubre sólo algunos mm^2 de la lámina y el detector puede estar separado de ésta.

5) Abertura estomática

El grado de apertura de los estomas es, por lo general, un indicador del estado hídrico de la planta, aunque no es un valor comparable entre especies diferentes. Si los estomas se hallan completamente abiertos, esto constituye un índice de que el balance hídrico de las hojas es favorable; por el contrario, si se encuentran cerrados en los momentos del día en que normalmente no deben estarlo, es una evidencia de que la planta está sufriendo un déficit de agua.

Para medir la apertura estomática se han ideado diversos métodos, pero los más utilizados son los siguientes:

réplica la abertura estomática con un microscopio, previo montaje de ésta en un portaobjetos. Existen otras sustancias que se pueden usar, como por ejemplo el acetato de celulosa, gomas siliconadas, etcétera. Esta técnica da resultados comparables con los obtenidos por otros métodos, pero no satisface cuando se la usa con hojas muy pubescentes o de estomas hundidos en criptas. Tiene la ventaja de que no daña la hoja y de poder obtener numerosos calcos con rapidez y fácilmente.

La crítica más importante que se le hace es la de que la abertura que se mide es la correspondiente a la parte superior del poro, siendo que el cierre ocurre, en casi todos los tipos de estomas, en su parte media.

Técnica de la infiltración

Es un viejo método, usado a principios de siglo por Molish, que consiste en medir el tiempo que tardan algunos líquidos de distinta viscosidad en infiltrarse dentro de las hojas. El grado de apertura se estima por la menor o mayor rapidez de penetración de una serie de gotas de distintas soluciones cada vez más viscosas. Alvim, en Brasil, lo ha usado con éxito empleando aceites de parafina (vaselina líquida) y n-dodecano, que en distintas proporciones forman soluciones de viscosidad y tensión superficiales diferentes.

Otros investigadores han utilizado otras sustancias, como benzol, queroseno, xilol, trementina, soluciones de violeta cristal en etanol, etcétera. El método exige numerosas mediciones para obtener resultados correctos, y la hoja se puede usar sólo una vez.

Técnica de las impresiones

Consiste en aplicar sobre la hoja una delgada película transparente de una resina acrílica en aerosol, dejarla secar durante algunos segundos y, luego de despegarla de la epidermis, medir en la

Método de la resistencia de la hoja al flujo masal de aire o flujo viscoso

Básicamente, el método consiste en medir el flujo de aire que pasa a través de una hoja debido a una diferencia de

presiones totales. Se considera que la intensidad del flujo es una función de la apertura estomática. Para la determinación se usa un instrumento denominado *porómetro*, ideado a principios de siglo, del cual existen numerosas modificaciones en la actualidad.

El porómetro más conocido es el ideado por Alvim. Es un instrumento de construcción simple (fig. 12) con el cual se mide el tiempo que tarda la presión del depósito A en disminuir, según cierta escala del manómetro (esfigmomanómetro) B, al pasar el aire a través de la hoja.

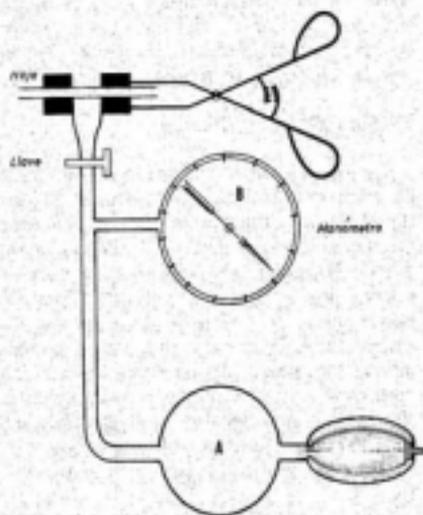


Figura 122. Porómetro de Alvim.

Este tipo de porómetro funciona muy bien con hojas anfiestomáticas y mucho mejor, con aquellas que son heterobáricas (con estomas opuestos en ambas epidermis). En las hojas hipoestomáticas, el flujo de aire debe atravesar los estomas y desplazarse en el mesófilo en dirección aproximadamente paralela a la epidermis; por consiguiente, el valor que se obtiene con este tipo de hoja incluye, en mayor

proporción, la resistencia del mesófilo a la corriente de aire.

Los resultados de los porómetros de flujo masal o flujo viscoso se expresan en unidades de resistencia o conductancia, para lo cual hay que transformar los cm^3 de aire que pasan por un dm^2 de hoja en un minuto en s. cm^{-1} . La conversión es complicada y no del todo exacta.

Método de la resistencia de la hoja a la difusión

El principio del método consiste en medir la resistencia de la epidermis a la difusión de un gas (vapor de agua, hidrógeno, N_2O), provocada por las presiones parciales diferentes de ambos lados del tejido. Para ello se utilizan *porómetros de difusión*, de los cuales uno de los más usados es el construido por Wallihan, pues posee la ventaja de poder medir la resistencia a la difusión del vapor de agua de la cara adaxial y abaxial de la hoja, separadamente. Está compuesto de un vaso que contiene un "hidrosensor", cuya resistencia varía inversamente con el grado de humedad, y un medidor portátil de resistencia eléctrica (ohmiómetro). Para su empleo se adosa herméticamente el vaso a la hoja y se mide con un cronómetro el tiempo que tarda la resistencia en disminuir entre dos valores dados. Cuanto mayor es la abertura estomática más rápido es el cambio.

Una desventaja de este instrumento es que, con los estomas apenas abiertos, una sola lectura requiere varios minutos. Además, como el sensor y la hoja deben estar a la misma temperatura, esta última debe ser sombreada durante 60 segundos antes de comenzar la medición.

Los porómetros de difusión en los que se utilizan otros gases (hidrógeno, N_2O , etcétera), sólo se usan en el laboratorio a causa de su complejidad.

EFFECTO DEL DEFICIT HIDRICO SOBRE ALGUNOS PROCESOS FISIOLOGICOS

Se ha dicho en páginas anteriores que el déficit hídrico modifica, en mayor o menor grado, todos los procesos fisiológicos. El tema interesa a los investigadores desde hace muy largo tiempo, principalmente por su relación con el rendimiento de los cultivos.

La respuesta de las plantas a este estado adverso es muy variable, pues entran en juego otros factores además de la disminución del potencial agua. El efecto depende de la intensidad, frecuencia y duración del desequilibrio, así como del estado de crecimiento y desarrollo de la planta. Por otro lado, es de mucha importancia la historia previa del individuo, es decir su estado fisiológico. Por todo esto es casi imposible dictar principios generales sobre los efectos del stress hídrico sobre las plantas.

CRECIMIENTO

La expansión celular es el proceso más sensible al déficit hídrico, mucho más que la división celular. La turgencia celular ha sido considerada capital en el crecimiento de la pared, proceso mediado por las auxinas. Una reducción de -2 atmósferas en el potencial agua de las hojas de maíz disminuye de manera acentuada su expansión y la paraliza si el decrecimiento es de -7 atmósferas. En otras especies, el alargamiento celular es tan sensible al ψ que el proceso ocurre sólo de noche, cuando el desequilibrio diurno se atenúa o desaparece. Este efecto de la disminución del potencial agua hace que la reducción del tamaño de una planta pueda considerarse como denominador común para todas las especies sometidas a sequía.

La acción depresora depende del grado del stress hídrico. Si éste ha sido moderado y persistió durante un período corto, el daño se compensa si

luego la planta crece en condiciones favorables. Cuando el desequilibrio es más duradero y/o severo, la recuperación es menos probable. Además, es muy importante el estado de crecimiento. Cuando el déficit hídrico coincide con los períodos de sensibilidad máxima de la planta a la falta de agua (período crítico), el daño es irreversible (véase la pág. 364).

FOTOSINTESIS

Este proceso disminuye en intensidad o cesa por completo cuando la planta está sometida a un desequilibrio hídrico severo (fig. 123), debido principalmente al cierre de los estomas que impiden el pasaje de CO_2 hacia los cloroplastos. Los estomas se cierran cuando el stress alcanza cierta intensidad que depende de las especies. En el tomate, los estomas permanecen abiertos hasta que el ψ_{hoja} es de -7 a -9 atmósferas, mientras que en la vid no son afectados hasta que es de -12 a -16 atmósferas. En el algodón, la resistencia estomática no se modifica hasta que el CRA llega al 80-85%. Una especie xerofítica (*Acacia* sp) es capaz de mantener los estomas abiertos con un ψ_{hoja} que llega a -50 atmósferas, aunque este valor depende de la intensidad de la luz. A partir de estos potenciales, los estomas comienzan a cerrarse. Al respecto es de interés mencionar que, una vez alcanzado el umbral crítico para el cierre, unas pocas atmósferas de disminución del ψ_{hoja} (15 a 20% del CRA) aumentan de 20 a 30 veces la resistencia estomática.

Algunos estudios recientes con respecto al cierre de los estomas parecen indicar que el mecanismo no es una simple relación hídrica entre las células oclusivas y epidérmicas. Se ha observado que, en las hojas, el déficit hídrico aumenta el ácido abscísico —regulador que inhibe la apertura estomática—, mientras que las citocininas, que la promueven, disminuyen. Sobre esta base se ha su-

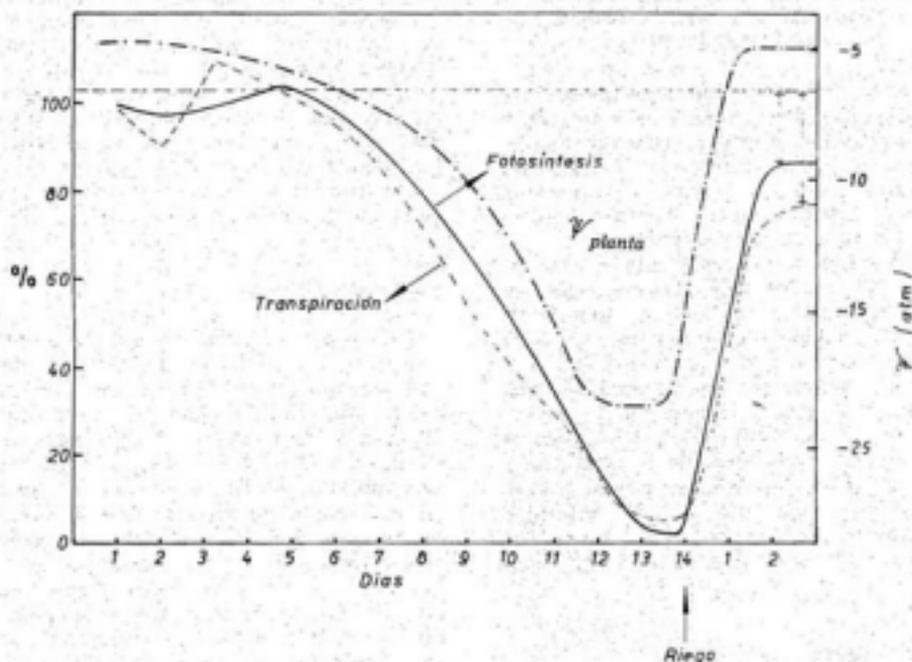


Figura 123. Efecto de disminución de una sequía progresiva sobre la actividad transpiratoria y fotosintética, y la recuperación incompleta luego de la reincorporación de agua al suelo.

puesto que el cierre de los estomas de las plantas sometidas a sequía se debe al incremento de la síntesis del ácido abscísico en las hojas.

Si el déficit hídrico es muy severo, la falta de hidratación de las hojas altera, además, la maquinaria fotosintética y, en consecuencia, el proceso de fijación de CO₂ se paraliza. Cuando las plantas sometidas a una sequía moderada se riegan, la absorción de CO₂ se reanuda rápidamente (fig. 123), pero rara vez alcanza los valores normales. El tiempo de recuperación depende de la severidad del déficit, pero por lo general se necesitan desde uno a varios días.

RESPIRACION

La respiración "oscura" y la fotorrespiración disminuyen de manera acentuada con un desequilibrio hídrico, sea éste moderado o severo. En ciertas especies, un ligero déficit reduce la respiración "oscura" o mitocondrial; pero si se torna severo, la aumenta por arriba de lo normal para luego hacerla declinar. Las causas de este efecto no se conocen, pero al parecer se debe a la alteración de las membranas y estructuras internas de las mitocondrias.

TRANSPIRACION

Es lógico que la transpiración disminuya cuando se somete a la planta a un período de sequía, debido fundamentalmente a la disminución del ψ_{hoja} y al consecuente cierre de los estomas, como se ha explicado más arriba. Se ha observado que si el ψ_{hoja} baja rápidamente en respuesta a un suministro deficiente, la apertura del ostiolo aumenta por algunos momentos debido a que las células de la epidermis pierden turgencia más rápidamente que las oclusivas. En este lapso la transpiración se intensifica hasta que se inicia el cierre. El fenómeno contrario ocurre cuando la absorción de agua por la hoja a través de las ramificaciones del xilema se realiza con intensidad elevada. En consecuencia, el poro se cierra y la transpiración disminuye por un período corto, aunque sea alto el ψ_{hoja} .

Con respecto a la relación apertura estomática/transpiración, debe considerarse que si R_a es elevada (aire calmo), el cierre parcial del poro estomático no modifica apreciablemente la transpiración. Además, cuando R_c es anormalmente baja a causa, por ejemplo, del ataque de royas a la hoja, el cierre del estoma tampoco afecta la transpiración de manera significativa. No debe dejarse de mencionar que, en los casos de sequía, la energía libre del agua de las paredes celulósicas disminuye; pero aun perdiendo la hoja el 50% de su contenido de agua, el decrecimiento de la transpiración por un reducido ψ_{pared} es insignificante (véase la ecuación 38).

ACTIVIDAD ENZIMATICA

Por lo común, la síntesis de enzimas se reduce, así como su actividad. Como fenómeno general que ocurre en los casos de desequilibrios hídricos, se puede citar la hidrólisis del almidón y de las proteínas, y la acumulación en las células de sus productos: azúcares solubles y aminoácidos.

FLORACION

Numerosos experimentos indican que, con respecto a la inducción floral, el déficit hídrico retarda la diferenciación de las yemas reproductivas. Contrariamente a lo que se suele opinar, el desequilibrio hídrico provoca por lo general un retardo, más que una aceleración, de la floración. En relación con la antesis de yemas preformadas, como ocurre con *Prunus* sp., *Pyrus* sp., etcétera, la respuesta es similar.

En el café, un período de sequía luego de la diferenciación de las yemas florales mantiene a éstas en estado latente durante un tiempo prolongado; una simple lluvia o un riego causa la antesis. Por otro lado, si luego de formadas las yemas el potencial agua se mantiene alto éstas no abren, a menos que sufran un período de sequía seguido de una lluvia (véase el punto referente a los períodos críticos).

En la mayoría de las especies, una sequía en el momento de la floración acelera la senectud de los órganos reproductores y ocasiona el cese de la antesis antes de lo normal. Este fenómeno reduce, pues, el número de frutos y semillas que producen.

ABSCISION DE LAS HOJAS

El déficit prolongado de agua provoca clorosis y marchitamiento de las hojas, síndrome éste que depende de la resistencia mecánica de sus tejidos. Si el desequilibrio se mantiene por un período prolongado se produce la abscisión de las hojas. Existen evidencias de que la falta de agua en las hojas causa un aumento de la síntesis del ácido abscísico y que esta hormona ocasiona la caída de aquéllas.

Cuando el ψ_{hoja} disminuye bruscamente se produce la muerte súbita de las hojas pero éstas permanecen verdes y adheridas a la planta en razón de no funcionar el mecanismo normal de ab-

cisión a causa de la inhibición de la síntesis del ácido abscísico.

En las plantas herbáceas, los efectos de la sequía se observan inicialmente en las hojas inferiores y luego en las apicales. En las especies leñosas esta diferencia no es evidente.

ABSORCION DE NUTRIENTES

Las plantas absorben los minerales de la solución edáfica que baña las raíces. A medida que el suelo se seca existe menor contacto entre los pelos radicales y la solución. Estos quedan en una atmósfera de vapor de agua, pero la superficie de absorción de iones se reduce. En razón de que el movimiento del agua en el suelo es relativamente lento, si el crecimiento de la raíz no es rápido para explorar sitios del suelo donde exista suficiente agua libre y solutos disueltos, el suministro de minerales a la planta se afecta.

Traslado de sustancias desde las raíces a las hojas

Como ya se ha dicho, la transpiración no afecta mucho la absorción de iones. No obstante, su traslado hacia las hojas depende mucho de este proceso. Varias experiencias indican que, en ausencia de transpiración, los iones se mueven lentamente hacia las hojas y con frecuencia no llegan a las situadas en la parte superior de la planta. Si el flujo transpiracional es rápido, el proceso de traslado de nutrientes se acelera. Por consiguiente, es lógico que durante un período de sequía, en el cual disminuye el proceso transpiratorio, la velocidad de movimiento de los nutrientes minerales y de otras sustancias sintetizadas en las raíces (hormonas, aminoácidos, etcétera) también decrezca.

PERIODOS CRITICOS

El crecimiento de la planta entera depende de la intensidad con que se desarrollan los numerosos procesos fisiológicos que ocurren en sus diversos órganos. Cada uno de ellos es afectado por el ambiente de manera distinta, por lo cual, el crecimiento es la resultante de las respuestas de los diferentes procesos a los factores del medio.

La actividad fisiológica de cada órgano responde a esos factores según su estado de crecimiento o de desarrollo. Por lo tanto, en relación con el factor agua, el crecimiento final o rendimiento de un cultivo depende del estado hídrico imperante en las diversas etapas de su ciclo. El contenido óptimo de humedad en estas diversas fases del crecimiento no debe ser necesariamente el que conduce a la turgencia máxima de la planta. Existen especies que se benefician si sufren un déficit hídrico leve en determinado momento de su vida; pero a su vez, en otros estados, son muy sensibles a la disminución de su potencial agua. La escasez de agua en estos *períodos críticos* conduce a una disminución irreversible del crecimiento o rendimiento final. Los períodos críticos han sido determinados respecto de un gran número de especies anuales cultivadas, en las que el balance hídrico desempeña un papel fundamental. En las perennes, donde la reacción al agua depende más de otros factores —desarrollo del sistema radical, temperatura, etcétera—, es difícil detectar períodos de sensibilidad máxima a este elemento. Tanto en las plantas anuales como en las perennes, el período de sensibilidad máxima a la falta de agua es el correspondiente a la transición del período vegetativo al reproductivo, cuando los órganos sexuales se están diferenciando, y el del momento de la fertilización. Un déficit hídrico en estos lapsos causa la formación de órganos defectuosos, un reducido número de flores, fallas en la antesis y esterilidad. Este período coincide generalmente con el de transpiración más elevada, debida a la alta radiación y a la amplitud

del área foliar. En el trigo, la mejor respuesta a la irrigación se ha obtenido durante la fase de encañado (alargamiento de los internodios), más precisamente, cuando dos nudos del tallo floral son visibles, y durante la espigazón (emergencia de la espiga del tubo formado por la hoja "bandera"). El agua suministrada cuando el grano ha pasado el estado "lechoso" no modifica el rendimiento. Desde el punto de vista de la economía del agua, es preferible que el suelo permanezca relativamente seco hasta comienzos del encañado y luego con humedad óptima hasta que el grano pase el estado lechoso, y no la situación inversa. El alto potencial agua durante el período de maduración del cariopse reduce el rendimiento. Algunas variedades en las cuales el CRA ha sido alto, durante las primeras fases del crecimiento vegetativo, han diferenciado mayor número de mazorcos y posteriormente produjeron rendimientos elevados de granos; pero el período más sensible siempre fue, para todas ellas, el de encañado y espigazón. Algunos investigadores han observado que cierto grado de marchitez en las primeras semanas de crecimiento ejerce un efecto estimulante sobre el crecimiento si durante el período de diferenciación de la espiga y floración el CRA es alto.

En el maíz se ha observado un comportamiento similar al del trigo en cuanto a la respuesta al contenido de agua. La mayor parte de los estudios coinciden en que el período crítico de este cereal, se extiende desde el comienzo de la formación de los estigmas hasta la madurez. Hasta las plantas que han estado sometidas a deficiencias no muy severas de agua durante el estado vegetativo se recuperan y arrojan altos rendimientos de grano si el balance hídrico en ese período es favorable.

Los períodos críticos arriba mencionados para el trigo y el maíz, que además se observan en otros cereales, coinciden con el cese del crecimiento radical de estas especies. Sobre esta base se considera que el alto requerimiento de agua en este período se debe a la menor su-

perficie relativa de absorción en momentos de elevada pérdida por transpiración.

En el tabaco y la lechuga, lo mismo que en otros cultivos anuales en los cuales las hojas son de interés económico, el potencial agua del suelo nunca debe ser limitativo, pues el estado hídrico influye de manera acentuada sobre el cociente de área foliar y la tasa de asimilación neta.

En el algodón y el lino para semilla, el período crítico se halla al comienzo de la floración y durante el desarrollo de las cápsulas, mientras que, en el lino para fibra, el balance hídrico debe ser favorable durante todo el ciclo. En la papa, la fase más sensible corresponde al momento en que los tubérculos han comenzado a crecer, aunque en algunas variedades se extiende a través de todo el cultivo. En la cebolla, el período crítico coincide con la iniciación del engrosamiento del bulbo; mientras que, en el gladiolo, las fases del crecimiento del nuevo bulbo, del crecimiento del tallo y de la floración poseen, cada una, sensibilidad alta al déficit hídrico.

En el café y en numerosos árboles caducifolios, el suministro de agua debe ser continuo durante todo el período vegetativo. Su carencia reduce el crecimiento de manera acentuada y hace que la diferenciación de las yemas florales sea irregular. Esta acción del déficit hídrico se observa en la cosecha del año siguiente, pues las yemas reproductoras se forman en las ramas del año anterior.

La falta de agua en el café mantiene estas yemas en estado latente por varias semanas y aun meses, hasta que una lluvia o un riego producen la antesis. Por el contrario, si se riegan continuamente las plantas de manera de mantener un ψ_{planta} alto, las flores no se abren. Necesitan, por lo tanto, cierto período de sequía previo a las lluvias.

Se ha pensado que un potencial agua bajo causaría la síntesis de un inhibidor de la antesis que sería removido por una hormona (β -giberelinas?) formada en condiciones de ψ_{planta} elevados.

EFICIENCIA DEL USO DEL AGUA

La eficiencia con que las plantas utilizan el agua es de interés, especialmente en lugares donde este elemento es el factor limitativo de los cultivos.

La eficiencia se mide por la relación entre el agua perdida y la materia seca formada, cociente llamado *coeficiente transpiratorio* (CT) o *requerimiento hídrico*:

$$CT = \frac{\text{unidades de agua perdida}}{\text{unid. de materia seca producida}} \quad (41)$$

También se usa la inversa de esta relación, denominada *eficiencia transpiratoria* (ET):

$$ET = \frac{\text{Peso de materia seca formada}}{\text{Peso de agua perdida}} \quad (42)$$

Siendo CT un coeficiente, el resultado es un número sin unidades. Las medidas efectuadas en numerosas plantas arrojan valores que varían de 200 a 2.000, aunque se han obtenido cifras excepcionales en especies suculentas como el ananá (25 a 40). Estos resultados indican que existen plantas (mijo, sorgo, maíz, etcétera) con requerimientos de agua reducidos: 168 a 200; mientras que otras (agropiro, *Bromus* sp.) transpiran mucha agua en relación con la materia sintetizada: 900 a 1.000. La mayoría de las plantas cultivadas (trigo, cebada, centeno, etcétera) arrojan valores intermedios: 350 a 500.

Como la fotosíntesis y la transpiración son procesos influidos por numerosos factores del medio, algunos de ellos no comunes, el coeficiente transpiratorio no es una constante para cada especie, sino que fluctúa de año en año.

El valor que hace variar la eficiencia más significativamente es la producción de materia seca, en razón de que la fotosíntesis aumenta o disminuye más rápidamente que la transpiración. Desde el punto de vista agronómico es más factible tratar de aumentar la producción de materia seca que reducir la transpiración.

La eficiencia aumenta cultivando variedades de alta actividad fotosintética, con sistemas radicales muy expandidos, fertilizadas adecuadamente y sembradas de manera de obtener una densidad de plantas óptima para las condiciones hídricas de la región.

No obstante, es posible disminuir la pérdida de agua por medios de sustancias antitranspirantes que: a) cierran los estomas (sulfato de 8-hidroxiquinoleína, acetato fenilmercurio); o b) forman una película impermeable en las hojas (alcoholes superiores, ceras, siliconas, plásticos del tipo del polietileno o vinil-acrilatos, etcétera).

Las sustancias que provocan el cierre de los estomas reducen más la transpiración que la fotosíntesis, pero tienen el inconveniente de disminuir ambos procesos. Además, el cierre de los estomas causa el calentamiento de las hojas (en el algodonero se encontró una diferencia de 9 °C en la temperatura de las hojas en las cuales la transpiración estaba suprimida).

Algunas de las sustancias que forman películas en las hojas son diferencialmente permeables al dióxido de carbono y al vapor de agua, por lo cual los resultados experimentales son promisorios.

MEDIDA DE LA RESISTENCIA A LA SEQUÍA

Ninguno de los métodos usados hasta el presente para evaluar la capacidad de una planta para resistir la sequía ofrece resultados satisfactorios. La estimación de la resistencia sobre la base de los rendimientos no es correcta, pues éstos dependen no solamente de los procesos que funcionan durante la sequía, sino de aquellos que ocurren antes, durante y después del período adverso.

Uno de los métodos más aceptados consiste en cultivar las plantas en el campo, someterlas a un déficit hídrico y determinar el marchitamiento permanente (véase página 355). Esta manera de evaluación tiene el inconveniente de que

es difícil que las condiciones ambientales se mantengan constantes todos los años. Debido a esto se adoptó el mismo sistema con las plantas cuyo crecimiento transcurría en cámaras de ambiente controlado. Este método tiene serias desventajas debido a la necesidad de controlar los numerosos factores que influyen en la resistencia a la falta de agua (humedad relativa, temperatura, luz, viento, desarrollo del sistema radical, cantidad de agua edáfica, etcétera). Otro método aplicado a plántulas consiste en cultivarlas en soluciones de ψ conocidas y mantener constantes las otras variables. Lamentablemente, todos los solutos utilizados para simular condiciones de sequía son, en mayor o menor grado, absorbidos por las raíces, a menos que el ensayo sea de corta duración. Una de las sustancias usadas es el PVP (polivinilpirrolidona), pero las experiencias no deben durar más de 24 ó 48 horas. Es preferible utilizar polietilenglicol (PM 4.000 ó 6.000), puesto que las raíces lo absorben muy lentamente. Sin embargo, el ψ que se puede obtener no es menor de -17 atmósferas, lo que limita su uso considerablemente. Un interesante método de campo es estimar el tiempo máximo de supervivencia a la sequía (TMSS) calculando el cociente:

$$\text{TMSS} = \frac{\text{contenido de agua disponible}}{\text{transpiración cuticular}} \quad (43)$$

El contenido de agua disponible se determina restando al contenido de agua de las plantas, en el estado de "estomas cerrados", el existente cuando las plantas han muerto. Los valores de TMSS se expresan en horas.

La tolerancia a la deshidratación ($T_{\text{sequía}}$) también se mide determinando la diferencia entre el valor del potencial agua de las plantas cuando ha muerto el 50% de ellas (ψ_{m50}) y el valor con turgencia máxima (ψ_0), es decir:

$$T_{\text{sequía}} = \psi_0 - \psi_{m50} \quad (44)$$

Otros autores han usado la "resistencia a la deshidratación". La técnica es la siguiente: se cortan ramas y se exponen en una cámara a una corriente de aire con 15% de HR, manteniendo constantes la luz y la temperatura. A ciertos intervalos se sacan ramas de la cámara y se determina su supervivencia colocándolas en agua. Las especies ensayadas por este método han sobrevivido desde 5 horas hasta 32 días. Tiene la desventaja de que la raíz no se encuentra incluida en la resistencia que se mide.

RUSTICACION

Desde hace muy largo tiempo, posiblemente desde el siglo pasado, el hombre ha intentado dar a las plantas cultivadas resistencia a la sequía, tratando de suplir los mecanismos estructurales y fisiológicos que las células no poseen como características genéticas. Al fenómeno se lo ha denominado *rusticación* y, en general, consiste en someter a las plantas, en los primeros estados de su crecimiento (embrional, juvenil), a un déficit hídrico subletal para que adquieran resistencia a potenciales agua del suelo que de otro modo serían letales. En la práctica, el método más usado es hacer sufrir a las plántulas una sequía, durante varios días, que provoque una marchitez temporal o aun permanente (véase la pág. 355). Como resultado de este tratamiento de presequía, las plantas son capaces de sobrevivir con déficit hídrico durante más largo tiempo. La exposición de las plantas a bajas temperaturas —como suele hacerse para rusticarlas frente a las heladas—, también puede darles resistencia a la sequía, a veces mayor que la que se obtiene con la técnica de la presequía.

El tratamiento puede efectuarse también sobre las semillas, antes de su siembra. Para ello se las coloca en condiciones de que absorban agua hasta un 30% de su peso seco, se las deja aproximadamente 24 horas a 10-25 °C y luego se secan al aire. Esta operación, por lo ge-

neral, se realiza 2 ó 3 veces antes de la siembra.

Otro método es el de embeber las semillas con una solución de cloruro de calcio o borato de sodio, secarlas al aire y sembrarlas. Algunos retardantes del crecimiento producen la rusticación de ciertas especies. El Cycocel (cloruro de 2-cloroetiltrimetilamonio) pulverizado sobre soja y maní provoca resistencia de las plantas a la sequía. La misma acción parece tener el ALAR (ALAR-85, B-9 o ácido N,N-dimetilaminosuccinámico).

En algunas especies, estos tratamientos pueden causar cambios que reducen la pérdida de agua por aumento de la resistencia cuticular, disminución del ψ de la epidermis, reducción de la superficie foliar, aumento en la absorción de agua por las raíces, etc. En estos casos, en los cuales no se modifica la resistencia del protoplasma a la falta de agua, sino que sólo se impide la disminución de su contenido, el resultado se denomina *seudorusticación*.

El término rusticación se emplea para los cambios fisiológicos que traen aparejada una resistencia de las células a la deshidratación. La acción de la rusticación puede ser directa o indirecta. El efecto directo consiste en modificar el estado del citoplasma de manera de resistir la falta de agua. Por lo general, los cambios que ocurren en las plantas rusticadas y a los cuales se les atribuye la resistencia a la sequía son: aumento de los ácidos ribonucleicos (ADN y ARN), disminución de las enzimas que descomponen el ARN, aumento de la presión osmótica y de los azúcares solubles, incremento del agua ligada y de la viscosidad del protoplasma, aumento de proteínas de bajo peso molecular a expensas de la fracción de alto peso molecular, mayor cantidad de proteínas que contienen hierro, etcétera. La acción indirecta se manifiesta por el aumento de la actividad fotosintética, que impide el agotamiento de los nutrientes orgánicos durante el período adverso de sequía en el cual los estomas cerrados restringen el proceso.

CAUSAS DE LA MUERTE POR DESHIDRATACION

Se ha tratado de explicar, por medio de varias hipótesis, la muerte del citoplasma a causa de la disminución de su contenido en agua. Según Iljin, la muerte obedece al daño mecánico que provoca la deshidratación. Cuando un tejido se deseca, el protoplasma se retrae, de modo que si las paredes son delgadas y blandas lo acompañan en su deformación y solamente muere si al recuperar el agua sufre una tensión mecánica súbita. En cambio, si las paredes son lo suficientemente rígidas para ofrecer resistencia a la contracción del protoplasma, la tensión que sufre éste por hallarse adherido a ellas causa su destrucción. Además, los plasmodesmos que unen los protoplastos se cortan al producirse la plasmólisis, impidiendo la normal comunicación intercelular. Iljin planteó la hipótesis de que la resistencia a la pérdida de agua está en relación con la capacidad de las células de no contraerse, debido a una elevada concentración de azúcares en la vacuola y a la resistencia del protoplasma a la desecación extrema.

Otra teoría es la que se funda en la correlación, ampliamente demostrada, que existe entre la resistencia al frío y a la sequía. Según diversos autores, la muerte de las células es causada por el desdoblamiento y desnaturalización de las proteínas que provocan las fuerzas mecánicas durante la contracción del protoplasma. La falta de agua hace que las moléculas proteicas se encuentren más cerca unas de otras y permitan, así, la formación de enlaces entre distintos grupos. De esta manera se formarían agregados proteicos de conformación molecular anormal. Al mismo tiempo disminuiría el potencial de reducción del protoplasma y aumentarían los grupos S-S a expensas de los sulfhidrilos (SH), los cuales provocarían, por activación enzimática, la hidrólisis de las proteínas. Esto último explicaría la resistencia a la sequía de las células que poseen un contenido alto de estos radicales.

ADAPTACIONES A LAS CONDICIONES HIDRICAS

En el curso de la evolución de los vegetales ha ocurrido un ajuste de los diferentes organismos a las condiciones de disponibilidad de agua. Aquellos que, en el transcurso de los cambios climáticos que se sucedieron en las distintas eras geológicas, no desarrollaron estructuras anatómicas y mecanismos fisiológicos adaptados a las nuevas condiciones, desaparecieron. Solamente persistieron los que fueron capaces de vivir en las diversas situaciones hídricas que hoy se encuentran sobre el planeta. Warming ha distinguido tres tipos de plantas: hidrófitas, mesófitas y xerófitas en relación con la adaptación al ambiente hídrico.

HIDROFITAS

Son especies que viven con agua disponible permanentemente y el factor limitativo para su crecimiento es el oxígeno. Habitan en suelos saturados (pantanos) o en masas de agua dulce o salada (lagos, arroyos, ríos, mares). Son, por lo general, especies terrestres capaces de vivir en condiciones de exceso de agua, debido a que poseen una serie de adaptaciones, algunas de las cuales se mencionan a continuación.

Adaptaciones estructurales de las hidrófitas

- 1) Hojas lineares, disectas, delgadas, con gran superficie de absorción de oxígeno, dióxido de carbono y luz.
- 2) Epidermis no cutinizadas. Las hojas flotantes poseen cera que evita que el agua obture los estomas.
- 3) Carecen de estomas o, si los tienen, son rudimentarios y no son funcionales.
- 4) Tejidos de resistencia poco o nada desarrollados, xilema atrofiado.
- 5) Hojas del clorénquima lagunoso con grandes cámaras de aire; a menudo de pocas células de espesor.

- 6) Estructuras adaptadas a la aireación de los tejidos (aerénquimas).
- 7) Raíces reducidas o nulas, poco ramificadas y desprovistas de pelos, excepto en aquellas especies que viven en el cieno de los pantanos.
- 8) Reproducción vegetativa predominante, por medio de estolones y rizomas.

MESOFITAS

Son plantas que habitan lugares donde por lo general no se presenta ni exceso ni deficiencia de agua. No poseen estructuras anatómicas que les permitan disminuir totalmente la pérdida, ni soportar por lapsos prolongados la falta de oxígeno que se produce cuando sus raíces y otros órganos son cubiertos por el agua. Como las hidrófitas y xerófitas, son especies producto de un hábitat particular, con características intermedias de los ambientes hídricos y xéricos. Una gran cantidad de especies han evolucionado a partir de las mesófitas y han ocupado sitios con exceso o con deficiencia de agua. Dentro del grupo existe, por lo tanto, una serie gradual de exigencias hídricas y de estructuras que controlan el flujo. La mayoría de las especies cultivadas pertenecen a este grupo.

Adaptaciones estructurales de las mesófitas.

- 1) Hojas grandes y de grosor moderado.
- 2) Epidermis con cutícula delgada.
- 3) Estomas abundantes, distribuidos en ambas superficies, excepto en algunas especies leñosas.
- 4) Espacios intercelulares de la hoja intermedios entre las xerófitas y las hidrófitas.
- 5) Tejidos de conducción (xilema y floema) bien desarrollados.
- 6) Tejidos de resistencia en cantidad moderada, excepto en los árboles.
- 7) Raíces con pelos radicales.
- 8) Relación tallo/raíz equilibrada.
- 9) Reproducción predominantemente sexual.

XEROFITAS

Son especies que viven en lugares donde el agua es el factor limitativo. Se hallan adaptadas anatómica y fisiológicamente para crecer en condiciones de suelos secos o de muy alta transpiración potencial. Las adaptaciones estructurales de este grupo que les permiten mantener un balance hídrico favorable son numerosas, pero se considera fundamental para definir una xerófita la resistencia de sus células a la desecación. Mientras la mesófita se marchita de manera permanente antes de perder el 25% de su contenido normal de agua, con la xerófita esto ocurre entre el 50 y el 75% de pérdida. Es decir que la xerófita muere cuando el potencial agua es extremadamente reducido comparado con el de la mesófita. El ψ letal para el tomate, que es una mesófita, es de -45 atmósferas, mientras que para algunas especies xerófitas de *Acacia* es de -130 atmósferas. De acuerdo con este concepto, no todas las plantas que tienen las estructuras xeromórficas que se mencionan más adelante son verdaderas xerófitas, ya que las xeromorflas aparecen aun con abundancia de agua y pueden ser provocadas por diversas razones (exceso de hidratos de carbono, carencia de nitrógeno y otras causas). Por otro lado, no todas las plantas que crecen en suelos áridos son verdaderas xerófitas, como ocurre con las efímeras, que aprovechan un corto período de humedad edáfica para cumplir su ciclo ontogénico, o con las *freatófitas*, que utilizan el agua de las napas profundas. A las plantas de estos dos grupos se las considera *seudoxerófitas*.

Adaptaciones estructurales de las xerófitas.

- 1) Tamaño reducido de los órganos transpirantes: *Larrea* spp (jarillas).
- 2) Reducción temporaria de las hojas por enrollamiento o plegamientos: *Stipa* spp *Festuca* spp.
- 3) Epidermis con cutículas gruesas, im-

pregnadas de sustancias hidrofóbicas: *Agave* spp.

- 4) Estomas en criptas, surcos, protegidos por pelos, escamas, etcétera: *Neurium oleander*.
- 5) Gran desarrollo de los tejidos de resistencia mecánica: palmeras.
- 6) Hojas con pocos espacios intercelulares y con células pequeñas: pino de Alepo.
- 7) Estructuras de acumulación de agua: parénquimas reservantes suculentos, con mucilagos que reducen el potencial mátrico (aumentan el poder de imbibición): cactáceas
- 8) Relación tallo/raíz reducida: *Larrea divaricata* (jarilla).
- 9) Alta densidad de estomas, pero pequeños: La mayoría de las xerófitas.
- 10) Gran capacidad reflectora de sus superficies: cactáceas pilosas.
- 11) Disposición de las hojas en ángulo oblicuo a los rayos solares: varias especies de eucaliptos.

Adaptaciones fisiológicas de las xerófitas

- 1) Transpiración por planta reducida; muy rápida por unidad de área, con agua disponible en el suelo.
- 2) Fotosíntesis muy elevada por unidad de área.
- 3) Presión osmótica alta.
- 4) Aumento del agua ligada por unidad de peso seco de tejido.
- 5) Resistencia al marchitamiento.
- 6) Resistencia del protoplasma a la desecación.
- 7) Estomas de reacción rápida.

Según la idea de Kearney y Schantz, que clasificaron las plantas con arreglo a los mecanismos que les permiten a las especies vivir en regiones donde el agua es el factor limitativo del crecimiento, se distinguen los cuatro grupos siguientes:

- 1) *Plantas que escapan a la sequía*: por ejemplo, efímeras y *freatófitas*.
- 2) *Plantas que evaden la sequía*: son especies que reducen su superficie transpirante por abscisión o transformación de las hojas (de mesófilas en xerófilas)

- y eliminación de otras partes del sistema vegetativo. Ejemplo: *Tymus capitatus*, *Salvia triloba*.
- 3) Plantas que previenen la sequía: sobreviven el período seco sin absorber agua del suelo por haberla almacenado y/o reducido su pérdida al mínimo. Ejemplo: suculentas, arbustos afilos, etcétera.
- 4) Plantas que resisten la sequía: toleran la desecación extrema, a veces por tiempos prolongados, debido a propiedades fisiológicas de su citoplasma. Ejemplo: ciertas algas, líquenes y algunas especies de helechos.
- Según Levitt, existen posibilidades de que las características mencionadas se combinen. Por lo tanto, clasifica las plantas en tres grupos:
- 1) Las que previenen o evaden la sequía, pero no la resisten.
- a) que ahorran el agua. Ejemplo: Cactáceas.
- b) que gastan el agua, pero que la absorben fácilmente debido a un sistema radical muy desarrollado. Ejemplo: freatófitas, *Rubus* sp., etcétera.
- 2) Las que evaden la sequía y además la resisten.
- a) que restringen la pérdida de agua y su protoplasma resiste la desecación. Ejemplo: arbustos afilos.
- b) que no poseen mecanismos para disminuir la transpiración, pero absorben el agua fácilmente del suelo y sus células resisten la desecación. Ejemplo: *Pinus radiata*.
- 3) Las que no previenen ni evaden la sequía, sino que la resisten. Ejemplo: algas (*Nostoc*, *Oscillatoria*, *Gloeocarpus*), líquenes, musgos (*Bazzania stolonifera*), helechos (*Selaginella*, *Ceterich*, *Ramondia*).

- Bermann, B., H. D. Ginzo y A. Soriano: "Eco-fisiología del maíz. I. Relaciones entre la economía del agua y el crecimiento, en plantas de maíz con riego y sin riego. *Rev. Inv. Agrop.*, Serie 2, Biología y producción vegetal 6 (3), 1969, págs. 35-64.
- De Lis, B. R., B. Cavagnaro, R. Tizio y H. Morales: "Estudios sobre requerimientos hídricos en especies hortícolas. V. Influencia de períodos de sequía sobre la modalidad vegetativa y rendimiento del pimiento (*Capsicum annum* L.)" *Rev. Inv. Agrop.*, Serie 2, Biología y reproducción vegetal 6 (8), 1969, págs. 145-153.
- Fischer, R. A. y R. M. Hagan: "Plant water relations, irrigation management and crop yield". *Exp. Agric.*, 1, 1965, págs. 166-177.
- Kozlowski, T. T.: *Water metabolism in plants*. Harpen and Row, Nueva York, 1964.
- Framer, P. J.: *L'eau et la production végétale*. Institut National de la Recherche Agronomique, París, 1964.
- : *Plant and soil water Relationships. A modern synthesis*. McGraw Hill Book Co., Nueva York, 1969.
- Meidner, H. y T. A. Mansfield: *Physiology of stomata*. McGraw Hill Book Co., Nueva York, 1968.
- Slatyer, R. O.: *Plant-water relationships*. Academic Press, Londres y Nueva York, 1967.
- Spanner, D. C.: *Introduction to thermodynamics*. Academic Press, Londres y Nueva York, 1964.
- Sutcliffe, J.: *Plants and water*. Edward Arnold Ltd., Londres, 1968.
- UNESCO: *Plant-water relationships in arid and semiarid conditions*. Arid Zone, Research XV, 1960.

TRASLADO DE SUSTANCIAS ORGANICAS*

H. L. MARODER

INTRODUCCION

El sistema conductor de los vegetales es consecuencia de la alta especialización alcanzada por sus órganos durante la evolución. Las primeras formas de vida fueron organismos simples que no poseían tejidos diferenciados y que se hallaban en contacto directo con la solución acuosa en la que se encontraban. En ellos, el movimiento de sustancias se producía por difusión, y por el movimiento del protoplasma vivo. Cuando los vegetales emergieron del agua, parte de su organismo quedó expuesto al aire, a cierta distancia de aquélla que contenía los nutrientes minerales en disolución. Este hecho debió ocurrir simultáneamente con la diferenciación de un conducto (xilema) por el que el agua y las sales se trasladaban a las partes emergidas del organismo. En otras palabras, el medio que antes bañaba las células externamente se "internalizó". Además, las estructuras aéreas resultaron más eficientes para utilizar la luz y el anhídrido carbónico que las que se hallaban inmersas en el agua. En consecuencia, esta parte del vegetal fue perdiendo su carácter autótrofo con el transcurso del tiempo y pasó a depender de la parte emergida, productora de los nutrientes energéticos fotosintetizados. Esta dependencia llegó a ser definitiva y total cuando las plantas se adaptaron a la vida terrestre, dependencia que debió desarrollarse a medida que ciertas células se especializaban en la

función de trasladar los nutrientes fotoasimilados en cantidades apropiadas para satisfacer las necesidades de todos los tejidos que habían perdido la capacidad de producirlos, aun cuando se encontraran a distancias considerables de los órganos productores. El traslado por este tejido especializado (floema) superaba en cantidad y velocidad al que ocurría en otros tejidos, de célula a célula, por los mecanismos de transporte activo, difusión y corriente citoplásmica. Es evidente que esta especialización fisiológica debió estar asociada a una especialización de la estructura del tejido.

Si bien todos los procesos que se desarrollan en el vegetal están indisolublemente unidos a la estructura, se considera que el traslado por el floema y el xilema son los ejemplos más notables. En lo que respecta al floema, esa característica se podrá apreciar en este capítulo. El traslado por el xilema se trata en el capítulo correspondiente a la nutrición mineral.

TRASLADO DE SUSTANCIAS FOTO ASIMILADAS

Uno de los primeros experimentos realizados para estudiar el movimiento de los nutrientes en las plantas consistió en

*El autor agradece a la ingeniera agrónoma L.A. Prego por su colaboración en la preparación del tema "Aspectos anatómicos" y, asimismo, su ayuda en la corrección del manuscrito.

la remoción de un anillo de corteza de un tallo. Cuando se practicó esta operación en el tronco de un árbol, se comprobó que los tejidos de la corteza, contiguos al anillo, pero del lado cercano a las hojas, acumulaban azúcares y que la acumulación sólo se producía si el tejido removido incluía el floema (fig. 124)

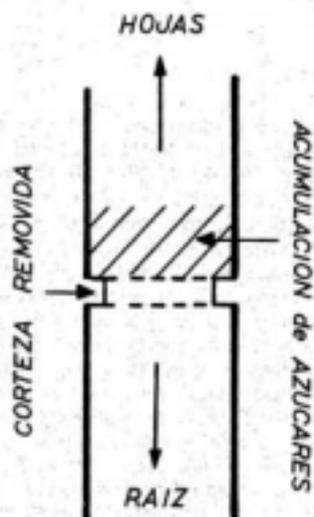


Figura 124. Efectos producidos por la remoción de un anillo de corteza en un tallo vegetal.

La interpretación que se dio de estos resultados fue que tal acumulación se debía a que los azúcares producidos en las hojas se trasladaban por el floema hacia la raíz. Desde estos experimentos hasta los más recientes, en los que se emplean técnicas más avanzadas, se acrecentó el número de hechos que indican que los productos de la fotosíntesis se trasladan por el floema desde los tejidos que los producen (fuente) a aquellos que los utilizan (destino). Se considera que son fuentes los tejidos verdes (que fotosintetizan) y los órganos de reserva, cuando éstos ceden su materia acumulada. Los destinos son los tejidos y órganos que no fotosintetizan o que no lo

hacen con la intensidad suficiente para sustentar un crecimiento normal. Es obvio que no todos los destinos son igualmente activos. El consumo es alto en los meristemas, raíces, frutos y órganos de reserva en crecimiento y en algunos tejidos como el címbium y el parénquima cortical de los árboles. Es bajo, en cambio, en ciertos tejidos, tales como la médula, que sólo necesitan mantenerse en un nivel de subsistencia.

La función de fuente o destino de algunos órganos y tejidos no es permanente: las hojas, durante los primeros estadios de crecimiento, reciben fotosasimilados y posteriormente los ceden, y los tejidos y órganos de reserva los acumulan o los ceden, según la época del año o las condiciones fisiológicas de la planta. Estos cambios en el sentido del traslado y la aparición de nuevas fuentes y destinos a medida que la planta crece y se desarrolla van asociados a una continua modificación de la distribución de estos nutrientes carbonados. Los aspectos del traslado a los que hace referencia esta sección se ilustran con experimentos en los que se emplea CO_2 radiactivo (los diferentes métodos que se usan en el estudio del traslado, incluido el empleo de $^{14}CO_2$, se tratan en la dedicada a los métodos).

La figura 125 ilustra cuál es el destino de los fotoasimilados producidos por las distintas hojas de una planta de soja con tres hojas maduras. Se comprueba que el sentido del movimiento depende de la edad y posición de la hoja en la planta. Para las hojas inferiores el destino principal es la raíz y para las superiores la zona apical (tallo y hojas en crecimiento).

De la figura 125 se deduce que, a medida que la planta crece y la hoja pasa de su posición apical a la de hoja adulta cada vez más alejada del ápice, la distribución se modifica gradualmente. En las plantas con mayor número de hojas maduras, las hojas basales sólo trasladan hacia la raíz. Esto indica que el sentido del traslado por el floema no es constante, sino que puede ser acrópeto o

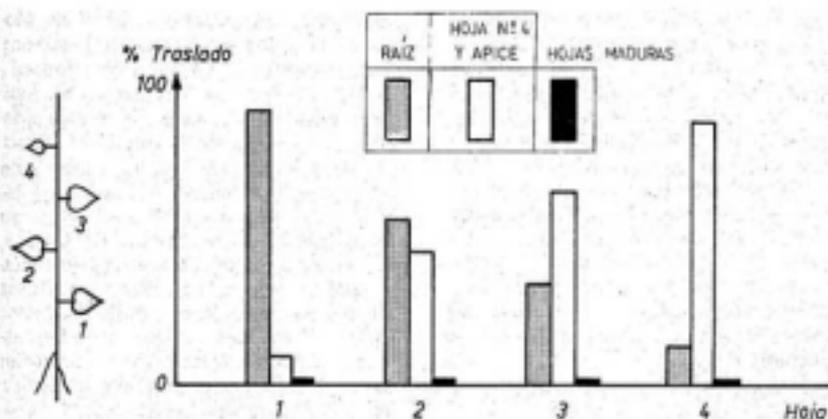


Figura 125. Distribución de fotosimilados radiactivos en la planta, según la hoja fuente (expresada en porcentaje). El total trasladado desde cada hoja se toma como 100 %.

basípeto, según donde se encuentren la fuente y el destino; o sea que en el tallo pueden producirse al mismo tiempo, movimientos, en sentidos opuestos. En opinión de algunos investigadores, el movimiento en ambos sentidos ocurriría dentro de un mismo tubo criboso; otros sostienen, en cambio, que el movimiento en cada tubo sólo es unidireccional y que, por lo tanto, el traslado en sentidos opuestos debería realizarse por diferentes tubos (véase Mecanismos y Aspectos anatómicos).

La misma figura muestra que las hojas maduras no reciben fotosimilados. Excepto el caso de algunas especies (remolacha), una vez que la hoja ha alcanzado su madurez ya no incorpora nutrientes carbonados provenientes de otros tejidos, aun cuando le falte la luz. Las hojas de tabaco, por ejemplo, mueren si se las oscurece durante algún tiempo. La ausencia de traslado a las hojas maduras explica por qué no son retenidas en las plantas las hojas que viven debajo del punto de compensación.

La hoja, mientras es joven, crece a expensas de sustancias orgánicas que recibe y de las que produce. A medida que la producción aumenta y sobrepasa los requerimientos, el sentido del movimiento cambia y la hoja comienza a cederlas

hacia otras partes. Este estado se alcanza cuando la hoja posee entre el 30 % y el 50 % de su expansión máxima, según la especie. En la figura 126 se ve que la hoja

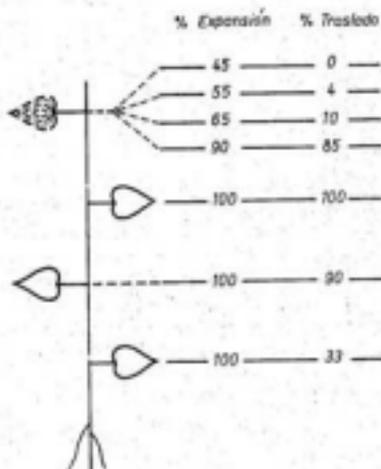


Figura 126. Traslado (en porcentaje) desde hojas de diferente edad. Lo que se traslada desde la hoja 3 se considera 100 %.

comienza a ceder sustancias fotosintetizadas cuando alcanza, aproximadamente, el 50 % de su expansión máxima. La figura también muestra que la cantidad que la hoja cede disminuye según su edad. En general, una vez que la hoja comienza a ceder, la intensidad (cantidad por unidad de tiempo) con que lo hace aumenta hasta que se alcanza la expansión máxima y luego comienza a disminuir. La figura 127 ilustra acerca de la relación que existe entre el área foliar, la producción de fotoasimilados y el traslado de éstos en la tercera hoja en expansión de una planta de trigo.

Al iniciarse la etapa reproductiva, se produce en la planta un acentuado cambio en el esquema de distribución de los nutrientes carbonados. Con el comienzo de la floración y el subsiguiente desarrollo de los frutos, la distribución va

adquiriendo un carácter sectorial debido a que los frutos en crecimiento polarizan el movimiento de las sustancias fotoasimiladas de las hojas cercanas. Se van conformando, así, zonas de follaje que alimentan determinados frutos. El efecto polarizador de éstos es tan acentuado que en ciertos casos la remoción de las hojas más próximas a ellos no afecta su crecimiento. En las plantas de tomate, por ejemplo, la separación de hasta cuatro hojas contiguas a un racimo de frutos jóvenes no reduce el desarrollo de dichos frutos. Asimismo, el destino de las sustancias fotosintetizadas que se trasladan hacia el fruto va cambiando a medida que éste desarrolla. La figura 128 muestra el cambio en el destino de lo producido por la *hoja bandera* en las plantas de trigo, en diferentes períodos, luego que emerge la espiga.

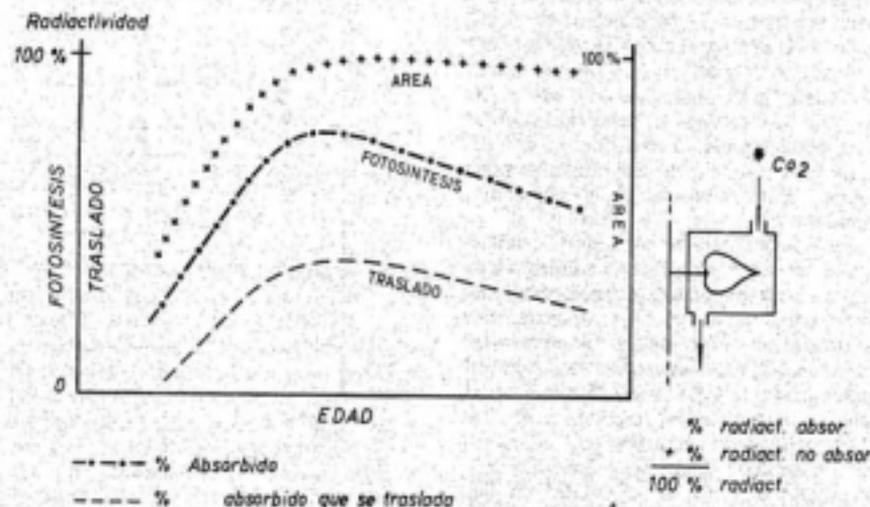


Figura 127. Relación entre área foliar, fotosíntesis (absorción de CO_2 radiactivo) y traslado. El $^{14}CO_2$ absorbido se expresa como porcentaje de la cantidad total de $^{14}CO_2$ suministrado.

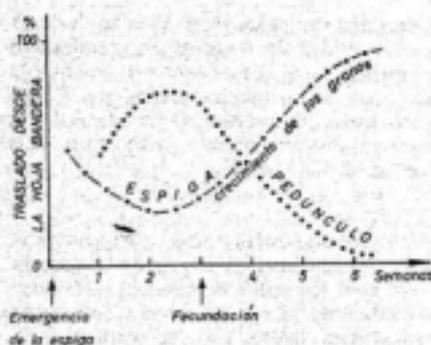


Figura 128. Traslado de fotosimilados desde la hoja "bandera", luego de emerger la espiga.

La casi totalidad de los productos de la hoja bandera son trasladados hacia las distintas partes de los órganos reproductivos: pedúnculos, espigas, granos. Cuando la espiga emerge de la hoja bandera aún está creciendo y, por lo tanto, hay un intenso traslado hacia ese órgano; además una gran proporción de las sustancias fotoasimiladas es incorporada al tallo en crecimiento. Cuando la espiga está completamente desarrollada, el tallo aún se sigue alargando y, por lo tanto, continúa incorporando gran cantidad de material. Al finalizar el alargamiento del tallo se inicia la floración y algunos días después los granos comienzan a crecer rápidamente. Esto determina un nuevo aumento en el traslado hacia la espiga; de la hoja bandera se trasladan directamente al albumen de los granos, donde en su mayor parte son polimerizados y depositados como almidón.

Según se mencionó anteriormente, el traslado desde la hoja puede efectuarse hacia el ápice, hacia la raíz o en ambos sentidos, según cuál sea la posición de la hoja en el tallo. En algunas dicotiledóneas, como el tabaco, cuando una hoja que traslada hacia el ápice realiza fotosíntesis con CO_2 radiactivo, se encuentra que los mayores valores de radiactividad se hallan en las hojas en expansión ortósticas a la hoja tratada. A las hojas situadas en el lado opuesto llegan muy pocas

sustancias radiactivas. Este hecho indica que el traslado entre los haces del floema (movimiento lateral) es escaso y que las hojas situadas sobre un lado del tallo suministran principalmente sus sustancias fotosintetizadas a aquellas hojas en crecimiento ubicadas sobre ese mismo lado. En el girasol, el movimiento lateral es también muy limitado. El empleo de $^{14}\text{CO}_2$ permite comprobar que cada sector de la inflorescencia es alimentado sólo por las hojas que se encuentran debajo de él. La remoción de las hojas correspondientes a tres ortósticas no determina, sin embargo, la detención del crecimiento del respectivo sector de inflorescencia, sino un crecimiento asimétrico de ésta y un retardo en la formación de las semillas de ese sector, lo que indicaría que la remoción de dichas hojas provoca cierto movimiento lateral. En algunas monocotiledóneas, como en las gramíneas, los haces de floema de la vaina foliar se continúan en el tallo y se distribuyen sobre todos sus lados; hecho que, unido a la existencia de complejas anastomosis de haces en cada nudo, determina que el traslado desde cada hoja, a diferencia de lo que sucede en las dicotiledóneas mencionadas anteriormente, pueda ocurrir por todos los haces del tallo.

Métodos para medir el traslado

1.) La cantidad de sustancias que un órgano cede o recibe se puede calcular por la diferencia entre lo que el órgano produce [fotosíntesis (F)] y lo que utiliza [respiración (R) + incremento del peso seco (ΔPS) debido a crecimiento y/o acumulación de reservas]. El método se ilustra en la figura 129.

De un grupo A de plantas se separa, al comienzo del experimento, el órgano en estudio y se determina su peso seco. En el grupo B se mide la fotosíntesis y la respiración del órgano unido a la planta mientras dura el experimento, y una vez finalizado éste se separa el órgano y se



Figura 129. Esquema del método para calcular el traslado por diferencia entre lo que el órgano produce y lo que utiliza.

determina su peso seco. Con los valores así obtenidos de fotosíntesis, respiración y variación de peso seco se calcula la cantidad de sustancias trasladada. El órgano cede compuestos si lo utilizado es menor que lo producido, pero, en el caso contrario, los recibe.

II.) Un método más simple para determinar la cantidad de sustancia trasladada —en el que sólo es necesario efectuar mediciones de peso seco— es el que ilustra la figura 130. La variación de peso seco de un órgano se debe a tres procesos: a) traslado de sustancias hacia o desde dicho órgano (T), b) fotosíntesis (F), y c) respiración (R). Para medir la contribución debida al proceso de traslado es necesario descontar de

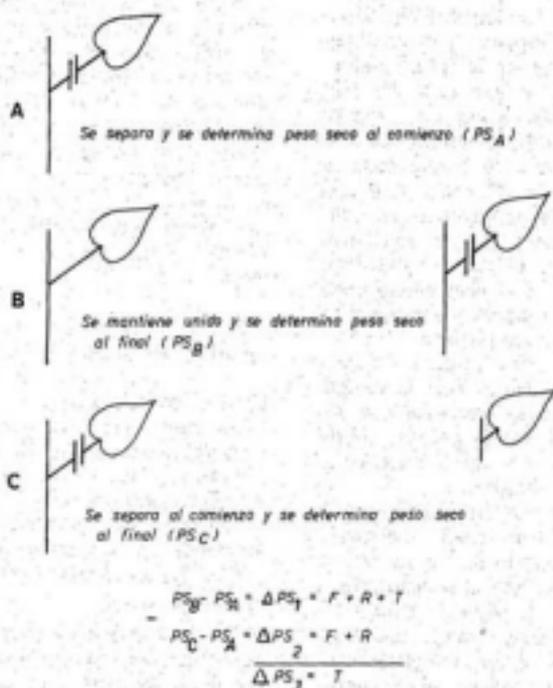


Figura 130. Esquema del método para calcular el traslado por medición de peso seco.

la variación de peso seco total (debida a los tres procesos mencionados, ΔPS_1) el aporte de los otros dos procesos (fotosíntesis y respiración, ΔPS_2). Para ello se divide un lote de plantas en tres grupos (A, B y C). En el grupo A se separa el órgano en estudio al comienzo del experimento y se determina su peso seco (PS_A). En el grupo B se mantiene el órgano unido a la planta (hay traslado) y se determina su peso seco al final del experimento (PS_B). En el grupo C se separa el órgano al comienzo del experimento (no hay traslado), pero se determina su peso seco al final de éste (PS_C). En este último caso, el órgano separado se mantiene en iguales condiciones que las plantas del grupo B.

La validez de los resultados obtenidos por este método depende de la medida en que la separación del órgano afecte su fotosíntesis y su respiración.

Existen evidencias de que estos procesos resultan más afectados cuanto mayor es el lapso durante el cual el órgano permanece separado; en consecuencia, una manera de reducir la perturbación que puede provocar la separación del órgano en su fotosíntesis y respiración es limitar la duración de los experimentos a períodos relativamente cortos. Por ejemplo, los valores en un período de 24 h se pueden obtener efectuando cuatro experimentos consecutivos de 6 h de duración cada uno (cuatro mediciones cada seis horas).

Si el método se aplica a cada uno de los órganos de una planta (desmembrada en hojas, tallo, raíz, etcétera) se obtendrán las cantidades que cada órgano recibe o cede; es decir que se conocerá cómo se distribuyen los fotoasimilados en la planta.

En el caso de los órganos cuya fotosíntesis y/o respiración contribuye muy poco a la variación del peso seco (frutos y tubérculos en crecimiento), la ganancia de peso seco se puede considerar debida exclusivamente al traslado de metabolitos al órgano en estudio.

III.)

Un gran avance en el conocimiento de los distintos aspectos del traslado por el floema se obtuvo a partir de la irrupción de los radioisótopos en el campo de la fisiología vegetal. En la sección "Traslado de sustancias fotoasimiladas" se consideraron varios ejemplos de empleo de $^{14}CO_2$. Las sustancias radiactivas son particularmente útiles en experimentos de corta duración (minutos, pocas horas), lo que sería imposible realizar por los otros métodos y en el caso de sustancias que se movilizan y se acumulan en cantidades pequeñas (herbicidas, hormonas).

La presencia de estas sustancias en la planta puede detectarse no sólo con los métodos en los que se emplea instrumental *ad hoc*, sino por la propiedad de las radiaciones de impresionar películas fotosensibles. Para ello, la planta se seca y se adosa a una placa radiográfica, y luego de cierto tiempo se revela (autorradiografía). Aunque éste no es un método cuantitativo, en muchos casos permite hacer una estimación semicuantitativa de la cantidad de sustancia trasladada hacia un órgano y es particularmente útil con fines de comparación.

La figura 131 ilustra respecto de la aplicación de esta técnica al estudio de la distribución del 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) radiactivo en una planta de *Wedelia glauca* ("sunchillo"), compuesta por la planta madre y los vástagos originados en los rizomas. Se observa que el 2,4-D, aplicado a un par de hojas de la parte media de la planta madre, se traslada hacia los centros de crecimiento y no hacia las hojas maduras.

Una imagen (autorradiografía) similar a la de la figura se obtiene si ese par de hojas, en lugar de ceder 2,4-D ^{14}C , fotosintetiza $^{14}CO_2$. Así, el herbicida resulta un adecuado indicador del movimiento de las sustancias fotoasimiladas. En consecuencia, de la figura se deduce que los vástagos, a medida que crecen, se independizan de los nutrientes que pro-

vee la planta madre (el primer vástago incorpora muy poco material radiactivo y los más jóvenes la mayor parte).



Figura 131. Distribución del 2,4-D-¹⁴C aplicado en un par de hojas de la parte media de la planta madre. Referencias: A) planta utilizada; B) autorradiografía de la planta.

Otro ejemplo del empleo de las sustancias radiactivas es su aplicación al estudio de las velocidades de traslado. Estas se pueden medir por el tiempo que transcurre hasta que el frente radiactivo alcanza un punto determinado. Las velocidades de traslado de sustancias fotosintetizadas varían, medidas de esta manera, según la especie, entre 50 y 250 cm/h.

Esta técnica también se puede aplicar al estudio del movimiento por los haces vasculares en el tallo. Luego de suministrar CO₂ radiactivo a una hoja se separa el tejido externo al cámbium; el tejido separado, que contiene el floema, se seca y la superficie interna se autorradiografía.

Existen sustancias, como el dalapon, ion fosfato, etcétera, que a medida que se trasladan por el floema pasan de éste al xilema y de ese modo pueden circular por toda la planta. La autorradiografía en este caso indicaría la presencia de sustancias radiactivas no sólo en los tejidos en crecimiento, sino también en las hojas maduras.

Aspectos anatómicos

El tejido floemático está formado por diferentes clases de células: elementos cribosos, células acompañantes, parénquima y fibras. Las sustancias se trasladan por los elementos cribosos; éstos son células alargadas, dispuestas longitudinalmente y conectadas entre sí a través de perforaciones en las paredes (áreas cribosas).

Los elementos cribosos de las gimnospermas, con áreas cribosas poco especializadas, se denominan células cribosas. Los elementos de las angiospermas, con áreas cribosas altamente especializadas (placas cribosas) que se localizan principalmente en las paredes terminales, se denominan miembros de tubos cribosos, dado que usualmente forman series longitudinales llamadas tubos cribosos.

La morfología del elemento joven es semejante a la de otras células no diferenciadas: posee un núcleo grande, el tonoplasto que delimita la vacuola, mitocondrias, plástidos y demás inclusiones. La especialización de estas células comprende una serie de profundos cambios en la estructura de las paredes y del protoplasma. Se desarrollan las perforaciones (poros) en las paredes, el núcleo y el tonoplasto se desintegran, el retículo endoplásmico se desorganiza y, finalmente, el citoplasma queda reducido a una capa delgada (capa parietal de citoplasma) en la que se encuentran mitocondrias y plástidos en número reducido y con sus estructuras más o menos modificadas. Estos cambios van asociados con una reducción en la actividad metabólica.

Acerca del contenido del poro y de la región central del elemento criboso, que al desaparecer el tonoplasto resulta inapropiado llamar región vacuolar, no coinciden las opiniones de los investiga-

dores. Se discute la posible existencia de estructuras citoplásmicas y el papel que éstas podrían desempeñar en el traslado de sustancias. Las divergencias se deben, en gran medida, a la difi-

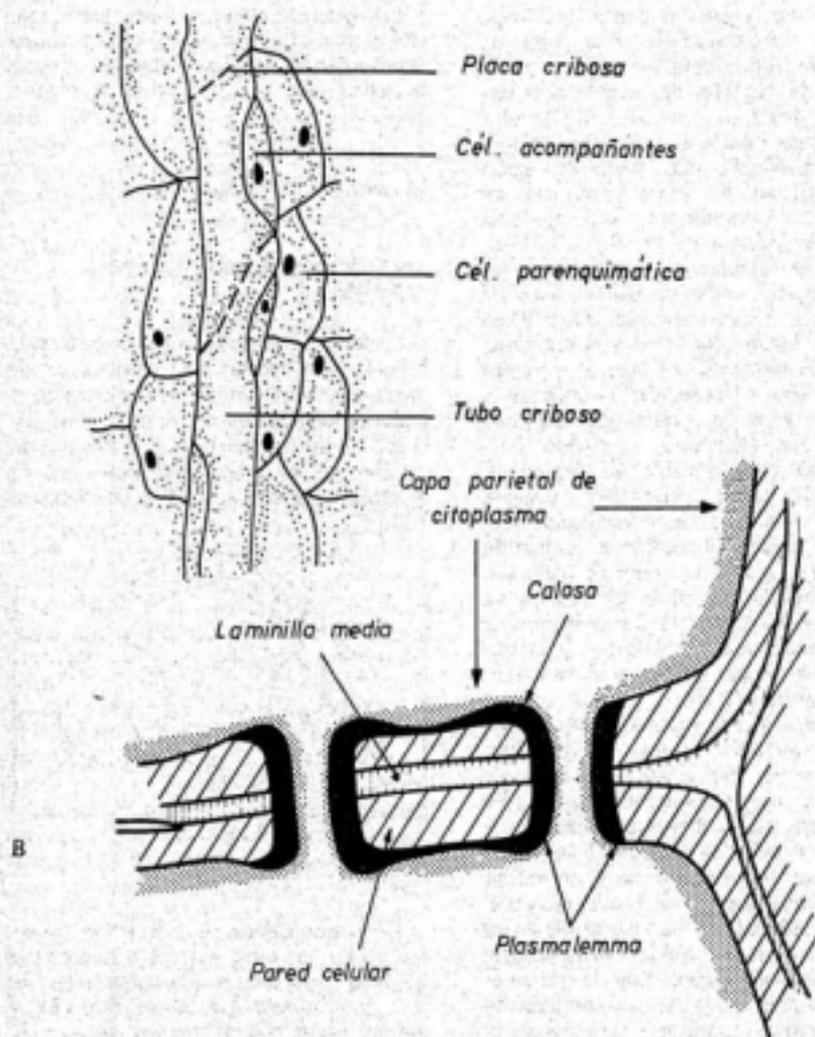


Figura 132. A) estructura del floema de una angiosperma; B) detalle de la placa cribosa.

cultad que representa para los estudios citológicos la extrema sensibilidad de este tejido al manipuleo a que es sometido cuando se lo prepara para la observación. En opinión de algunos investigadores la región central semejaría una vacuola y el poro una abertura de aspecto tubular, recubierta por plasmalema, por la cual se continúa la capa parietal de citoplasma. Este tipo de estructura permitiría el libre movimiento de líquido de elemento a elemento: los solutos serían llevados pasivamente por el solvente (agua). Otros consideran que tanto la región central como los poros contienen estructuras citoplásmicas que podrían participar activamente en el movimiento del líquido. También se sostiene que los poros estarían completamente llenos de citoplasma, lo que imposibilitaría el flujo de una solución: los solutos se moverían independientemente del solvente, ya sea por difusión a través del citoplasma o con éste (véase la sección Mecanismos).

Según se mencionó, el tejido floemático es muy sensible al manipuleo: cuando de alguna manera se lo daña se produce una inmediata reacción tendiente a impedir la pérdida de contenido del tubo criboso. La reacción consiste, fundamentalmente, en la obturación de los poros mediante la acumulación de algunas sustancias citoplásmicas y la formación de calosa. La calosa es un carbohidrato polímero de la glucosa que se encuentra, según se supone, en muy poca cantidad, en los elementos cribosos funcionales y que tapiza las paredes de los poros y a veces sus adyacencias, y forma una delgada capa sobre el área cribosa.

Junto a cada elemento del tubo criboso (angiospermas) se encuentran comúnmente una o más células acompañantes. Ambos tipos de células tienen su origen en la misma célula meristemática; pero, a diferencia de lo que sucede en el elemento criboso, la célula acompañante madura retiene el núcleo, numerosas mitocondrias, el retículo endoplásmico, etcétera. Se cree que entre el elemento criboso y las células acompañantes existe

una estrecha relación fisiológica, dado que la desorganización de un elemento criboso está asociada a la muerte de sus células acompañantes.

El floema de las gimnospermas no posee células acompañantes, pero las denominadas células albumináceas parecen desempeñar una función similar.

Las células parenquimáticas están asociadas con el almacenamiento y movimiento lateral de las sustancias que se trasladan por el tubo criboso (figura 132).

Mecanismos de traslado

1.) FLUJO POR PRESION O FLUJO MASAL

Según este mecanismo, propuesto por Münch, las sustancias fotosintetizadas producidas en las hojas se trasladan a las regiones de utilización por los tubos cribosos, a lo largo de un gradiente de presión desarrollado osmóticamente. El mecanismo puede apreciarse en la figura 133.

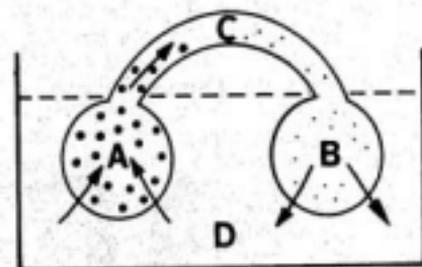


Figura 133. Modelo de Münch.

Dos osmómetros (A y B) están conectados por un tubo (C). La solución que contiene uno de los osmómetros (A) es más concentrada que la del otro (B), y ambos están sumergidos en agua o en una solución muy diluida (D). Como la solución en A tiene un potencial agua menor (más negativo) que en el medio

D, el agua tiende a entrar en este osmómetro. Lo mismo sucede en el osmómetro B, pero como en éste la solución es menos concentrada que en A, la tendencia del agua a entrar es menor, de manera que el aumento de la presión es mayor en A que en B. Este exceso de presión se transmite por el tubo que une ambos osmómetros y eleva el potencial agua (valores menos negativos) en B. Cuando se alcanzan valores mayores de potencial agua que en el medio D, se establece un nuevo gradiente y el agua difunde desde B hacia D. El resultado es la entrada de agua en A y la salida en B, lo que produce un flujo de agua de A hacia B que arrastra consigo los solutos (flujo masal).

En este sistema, el sentido del movimiento está dado por el gradiente de concentración total (determinado por la concentración de todos los solutos). En esta forma, aun cuando el gradiente de concentración de alguna sustancia fuera opuesto al gradiente total, aquélla sería llevada por el flujo generado por dicho gradiente total.

En la hipótesis original, el osmómetro A representaba las células fotosintetizantes (alta concentración de hidratos de carbono), el conducto C el floema, y el osmómetro B las células consumidoras (baja concentración de hidratos de carbono). Esto es, el gradiente de presión ocurría entre estos dos extremos. De acuerdo, también, con esta teoría, el flujo de solución desde las células fotosintetizantes hasta el floema ocurría a través de los plasmodesmos que interconectan las células; en el otro extremo del conducto floemático, de modo similar, el flujo llegaba hasta las células consumidoras. Sin embargo, existe evidencia de que, tanto la entrada de sustancias en el floema como su salida son procesos metabólicos que requieren gastos de energía, de modo que no son pasivos como se suponía en la teoría original. En consecuencia, la teoría de Münch fue restringida al movimiento de solutos dentro del tubo criboso; a lo largo de éste, se consumiría energía sólo

en mantener las condiciones de funcionalidad y no en impulsar la solución. De acuerdo con ello, los osmómetros del modelo no representarían las células productoras y las consumidoras, sino los extremos de entrada en el floema y de salida de éste (figura 134).

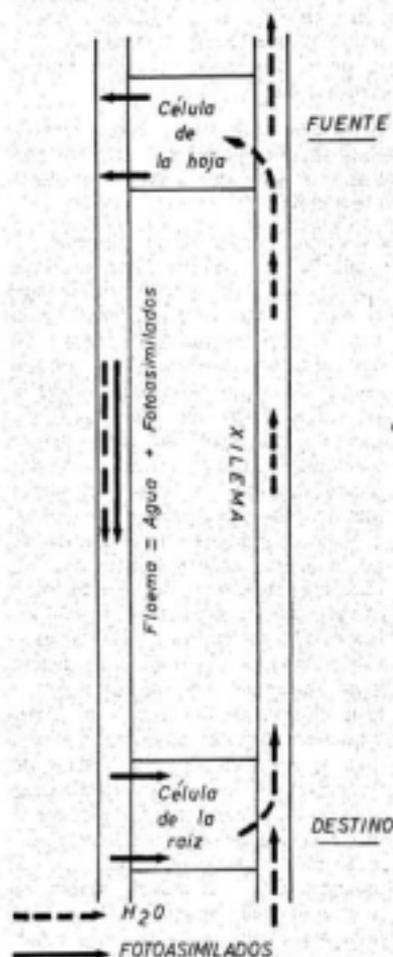


Figura 134. Esquema del mecanismo de flujo por presión o masal: A) pasaje activo de solutos al floema; alta concentración de solutos; entrada de agua; alta presión de turgencia; B) pasaje activo de solutos a las células vecinas; baja concentración de solutos; salida de agua; baja presión de turgencia.

Para que el traslado ocurra según este mecanismo, es decir, para que haya un movimiento pasivo de solutos a lo largo de un gradiente de presión, se requiere:

- a) un gradiente de presión positivo en el mismo sentido del flujo.
- b) que las células del floema sean permeables en dirección longitudinal y semipermeables en dirección transversal.
- c) un medio acuoso exterior de baja concentración.

A continuación se exponen algunos hechos experimentales que parecen confirmar el cumplimiento de las condiciones requeridas:

- a) La comprobación de la existencia de gradientes de presión por medición directa presenta grandes dificultades técnicas debido a las reducidas dimensiones de los tubos cribosos. Sin embargo, una medida de la presión estaría dada por la concentración del jugo floemático en aquellos tejidos que no están creciendo, dado que en los tejidos en crecimiento la presión puede disminuir a causa del alargamiento de la pared celular y, en consecuencia, el gradiente de concentración no reflejaría necesariamente un gradiente de presión. Esta condición se satisface en los árboles en cuyos troncos existen longitudes considerables de tubos cribosos en condiciones fisiológicas uniformes. La concentración del jugo floemático del tronco de ciertos árboles es fácil de determinar debido a que el contenido de las células del floema exuda cuando se practica una incisión en la corteza. Para que se produzca la exudación es necesario que el corte alcance al tubo criboso, lo que indicaría que el material exudado es una verdadera muestra del material que se traslada. Dado que el exudado no proviene de un solo tubo criboso, sino de todos los que hayan sido alcanzados por el corte, y que se desea relacionar gradientes de concentración con sentido de movimiento, es conveniente que por todos los tubos el tras-

lado ocurra en el mismo sentido. De no ser así, como el traslado en sentido opuesto se debería, según la teoría, a gradientes de concentración opuestos, el gradiente que se determina experimentalmente sería un gradiente resultante de gradientes opuestos que podrían llegar a anularse. Tal sería el caso en un tallo con hojas que ceden hacia el ápice y hacia la raíz. Por el contrario, en el tronco principal de los árboles el sentido del movimiento por todos los haces del floema es el mismo: hacia la raíz. Esta es otra de las ventajas que ofrece el tronco de los árboles para la determinación de gradientes de concentración. En algunas especies arbóreas se han determinado gradientes de concentración, equivalentes a gradientes de presión, y se obtuvieron valores hasta de 0,5 atm/m siempre positivos en dirección a la raíz. En la mayoría de las especies, sin embargo, la aplicación de esta técnica no es posible debido a que una herida en el floema origina una reacción inmediata del tejido que impide la salida del jugo por ella.

- b) Inmediatamente después de practicar una incisión en el tronco se comprueba que la presión dentro del tubo floemático disminuye por encima y por debajo de la zona de corte; es decir que el volumen de exudado que se obtiene de incisiones hechas por encima y por debajo de la primera es menor que el producido por ésta. Este hecho es una prueba de la permeabilidad de las células en sus extremos dado que, de no ser así, la disminución de la presión en el tubo debida a la primera incisión no tendría por qué determinar una disminución en la presión y en el volumen de exudado por encima y por debajo de ésta. Se observa, además, que la concentración del exudado disminuye gradualmente. Esto se debería a que, como consecuencia de la caída de presión causada por la incisión, el potencial de presión disminuye y, por lo tanto, disminuye

el potencial agua; como éste se encuentra en equilibrio con el potencial agua de los tejidos adyacentes, el agua difundirá desde éstos hacia el tubo criboso. Es evidente que si las sustancias fotoasimiladas se movieran libremente a través de las paredes laterales del tubo criboso, la entrada de agua no se produciría. Este comportamiento es una evidencia del carácter semipermeable de las paredes laterales del tubo criboso (éste se comportaría como un sistema osmótico).

- c) Esta condición se cumple dado que los tubos cribosos se encuentran en el medio acuoso como es el conformado por las paredes celulares y el xilema.

Estos hechos indicarían que se cumplen los requisitos necesarios para que en el floema opere un mecanismo como el flujo por presión, es decir que ocurre un flujo de líquido a lo largo de un gradiente de presión.

De todas las evidencias, la exudación parece ser la que más directamente avala la existencia del flujo. Sin embargo, la exudación a través de un corte ha sido objetada frecuentemente como prueba de la existencia de un flujo. Se sostiene que el exudado, sin lugar a dudas, indica que el contenido del tubo criboso se encuentra a presión, pero que podría producirse no como consecuencia de que exista un flujo en el tubo criboso, sino por desplazamiento del contenido de éste debido al descenso brusco de la presión provocado por el corte. Un argumento más convincente respecto de la existencia de flujo es la exudación a través de los estiletes de los áfidos. Estos parásitos, para alimentarse, introducen su estilete hasta un elemento del tubo criboso. Si mediante un corte se separa el cuerpo del insecto de su estilete, se observa una exudación por el extremo cortado. El estilete penetra sólo un elemento criboso y se obtienen volúmenes de exudado de hasta 5 mm³/h. Este exudado, a diferencia del que se obtiene de un corte, continúa fluyendo sin dilución ni dismi-

nución de la intensidad durante horas. Esto se debería a que la cantidad de jugo que sale del estilete no llega a producir una caída de presión tal que provoque la disminución del potencial agua y la consiguiente entrada de agua desde los tejidos adyacentes. El estilete semejaría un destino de proporciones naturales como lo sería un grupo de células alimentadas por dicho tubo criboso.

Un flujo de solución implica que agua y soluto se mueven con la misma velocidad. Para comprobar si esto sucede en el floema se tratan hojas con agua (tritiada) y CO₂ radiactivos, y se mide la velocidad con que se desplazan tanto el agua tritiada como los fotoasimilados radiactivos a lo largo de un pecíolo o un tallo. Los resultados de este tipo de experimento indican que el agua tritiada se mueve con menor velocidad que las demás sustancias. Este hecho, sin embargo, no es suficiente para invalidar la existencia de un flujo. Como las paredes de los tubos cribosos son más permeables al agua que a los solutos, la velocidad de traslado que se mide no es real sino aparente, ya que el agua tritiada, a medida que se mueve, se intercambia con el agua de los tejidos adyacentes. Las sustancias fotoasimiladas, si bien pueden moverse lateralmente, lo hacen con intensidad mucho menor que la del agua tritiada, de manera que su velocidad de traslado resulta mayor.

Asimismo, si diferentes solutos fueran arrastrados por un flujo, deberían moverse con la misma velocidad. Usando diferentes sustancias radiactivas se comprueba que esta condición no se cumple. Sin embargo, como en el caso anterior, esto podría deberse a que los solutos pasan a los tejidos adyacentes en diferente cantidad, según las necesidades de éstos. Además, a medida que se trasladan, los solutos podrían interactuar con las estructuras del tubo criboso (absorción, solubilidad), de manera que sucedería algo similar a lo que ocurre en un cromatograma donde, si bien hay flujo de solución, las sustancias se mueven con diferente velocidad.

Otra condición necesaria para que haya flujo es que el gradiente de presión sea de magnitud tal que pueda impulsar la solución por un conducto de características similares a las del tubo criboso. La fórmula de Poiseuille, que permite calcular el gradiente de presión de un flujo que corre por un tubo, se puede aplicar al floema siempre que éste tenga una estructura como la de la figura 135 A, es decir, que la región central del tubo criboso semeje una vacuola y que los poros estén libres de estructuras protoplásmicas. Aplicando dicha fórmula se obtiene un valor de gradiente de aproximadamente 0,5 atm/m, que coincide, como ya se vio, con algunos de los que se han encontrado experimentalmente. Desde este punto de vista, entonces, la hipótesis del flujo por presión o masal parecería también posible.

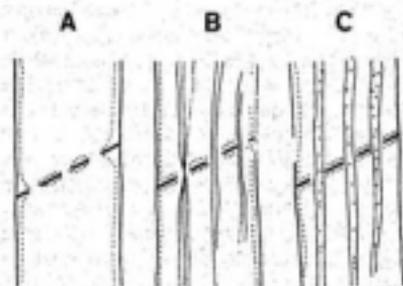


Figura 135. Diferentes estructuras internas propuestas respecto de los tubos cribosos, según los diferentes mecanismos de traslado.

II. FLUJO ACTIVADO

Según se mencionó anteriormente (Aspectos anatómicos), algunos investigadores sostienen que el tubo criboso contiene estructuras protoplásmicas en la región central del elemento y en los poros, además de la capa parietal de protoplasma. Si así fuera, la resistencia que estas estructuras ofrecerían al flujo, sobre todo en los poros, haría que los

gradientes de presión tuvieran que ser mucho más elevados que los que se encuentran experimentalmente. De existir estas estructuras, se piensa que el flujo, en lugar de ser conducido a lo largo del tubo criboso por una diferencia de presión entre sus dos extremos (flujo por presión), lo sería debido a una acción de bombeo localizada en cada célula o placa cribosa. Esto significa una desviación acentuada respecto de la teoría considerada anteriormente, de la que se desprende que la energía metabólica a lo largo del tubo criboso sólo es necesaria para mantener las condiciones de funcionalidad de éste y no para impulsar el líquido de elemento a elemento (bombeo). La fuente de energía para activar el flujo debería provenir de la respiración del tubo criboso mismo y, posiblemente, de las células adyacentes. Por consiguiente, los requerimientos energéticos de cualquier mecanismo de bombeo deberían estar dentro de la capacidad respiratoria del tejido: Estudios realizados sobre el tema permiten concluir que la energía de la respiración sería suficiente para impulsar el flujo siempre que las estructuras protoplásmicas no fueran demasiado compactas y tuvieran un ordenamiento tal que no ofreciera excesiva resistencia al flujo de solución. Una estructura que satisface esta condición sería la de los filamentos protoplásmicos transcelulares, según algunos autores. Estos filamentos atravesarían la región central del elemento y los poros, y el líquido se movería por los intersticios, entre los filamentos (fig. 135 B). Con respecto al mecanismo de bombeo, o activación, al parecer hay dos posibilidades:

- Electrósmosis: se ha demostrado que existen gradientes de potencial eléctrico a través de las placas cribosas. Estos podrían ocurrir a lo largo de los filamentos dentro del poro.
- Propulsión del líquido por contracciones u otros movimientos de las estructuras filamentosas.

III. DIFUSION

Ciertos aspectos del proceso de traslado, como la correlación entre el sentido y la intensidad del movimiento y los gradientes de concentración, tienen semejanza con la difusión y, por esta razón, se pensó que las sustancias se movían según este mecanismo. Sin embargo, posteriormente se llegó a la conclusión de que la difusión es un proceso demasiado lento para que explique las cantidades relativamente grandes de sustancia que se trasladan por el floema.

IV. CORRIENTES CITOPLASMICAS

Según esta teoría, las sustancias se trasladarían a lo largo de un gradiente de concentración, y la velocidad de traslado sería acelerada debido al arrastre de las sustancias por el citoplasma en circulación (corrientes citoplásmicas). De esta manera, dentro de cada elemento criboso las sustancias se trasladarían de un extremo a otro de él y el pasaje por los poros ocurriría ya sea por difusión a través del protoplasma que los llenaría o con el protoplasma, si éste circulara también por los poros. Sin embargo, si bien la corriente citoplásmica ha sido observada en varios tipos de células, su existencia en los elementos cribosos es cuestionada. Por otra parte, el traslado de sustancias con la intensidad con que normalmente ocurre exigiría velocidades de circulación del citoplasma que requerirían valores de respiración superiores a los que se han encontrado experimentalmente.

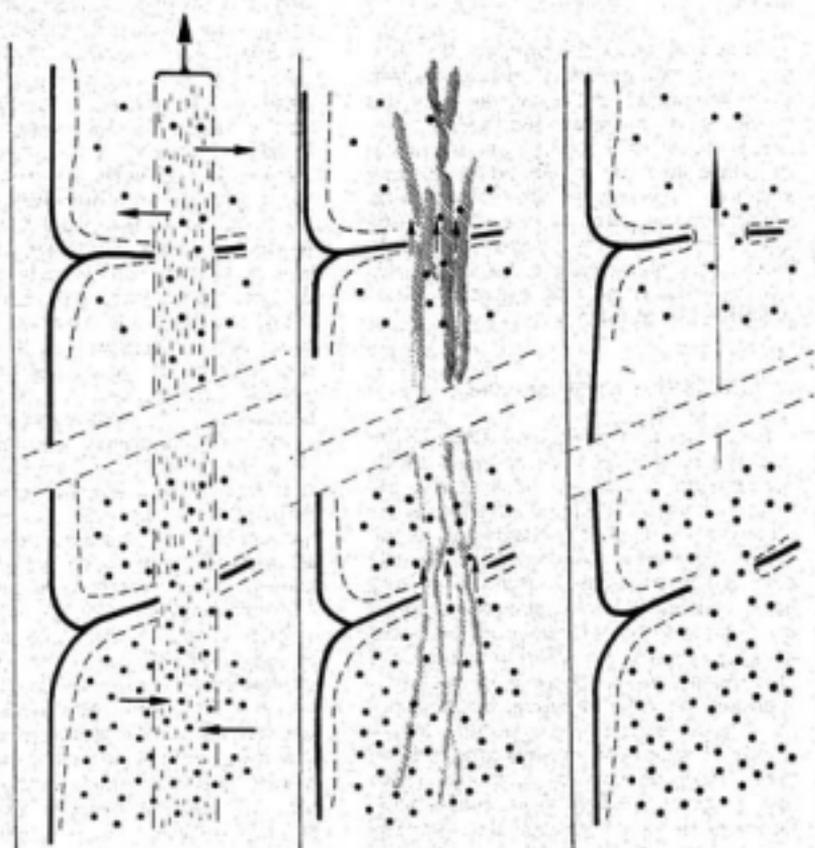
Una variante relativamente reciente de esta teoría sostiene que existen cordones de protoplasma que circulan a lo largo del tubo atravesando los poros y la región central del elemento que contiene líquido vacuolar (figura 135 C). La concentración de sustancias fotosintetizadas del líquido vacuolar y la del cordón tenderían a equilibrarse; de manera que, donde la concentración del líquido vacuolar fuera alta, los solutos difundirían hacia el cordón, y en aquellos elementos

donde fuera baja, ocurriría lo inverso, es decir, los solutos difundirían desde el cordón hacia la solución. El traslado, entonces, se produciría a lo largo de un gradiente de concentración determinado por la utilización del soluto. Esta teoría ha sido expuesta para explicar el movimiento de partículas, en sentidos opuestos, dentro de un mismo tubo criboso, lo cual algunos investigadores sostienen haber observado. La teoría sostiene que esas partículas forman parte de cordones de protoplasma que se mueven en sentidos opuestos a lo largo de un mismo tubo. Este movimiento hacia uno y otro lado parece una condición necesaria, ya que de otra manera se produciría una acumulación de protoplasma en un extremo del tubo criboso. En consecuencia, el soluto también se moverá en ambos sentidos, llevado por los cordones. Sin embargo, no obstante este movimiento bidireccional, un traslado neto de soluto se producirá a lo largo del gradiente de concentración determinado por la remoción del soluto (destino).

Existen otras teorías que no se tratan en este capítulo porque los hechos experimentales en los que se fundan son muy escasos. Es posible que ninguna de las teorías anteriormente consideradas explique totalmente el proceso de traslado. Se admite que éste podría ocurrir debido a más de uno de los mecanismos hasta ahora expresados. No se excluye la posibilidad de que, lo que aún resta por saber sobre la estructura del floema y las propiedades de sus componentes, no sólo pueda explicar algún aspecto que no tienen en cuenta las teorías que se conocen, sino incluso que conduzca a formular algún mecanismo aún desconocido.

Sustancias que se trasladan por el floema

El análisis del jugo floemático que exuda a través de una incisión o de un estilete de áfido revela que aquél contiene entre 10 y 25 % (p/v) de materia seca, de la cual más del 90 % (p/p) es sacarosa. En la mayoría de las plantas la



Mecanismo	Flujo a presión o masal - Flujo activado	Cordones protoplásmicos transcelulares	
Estructura	Poró y región central del elemento libre de estructuras	Poró y región central del elemento atravesados por filamentos	Poró y región central del elemento atravesados por cordones protoplásmicos en circulación
Vehículo de transporte	Agua	Agua	Protoplasma
Movimiento debido a	Diferencia de presión entre los extremos del tubo criboso. No se consume energía metabólica en el movimiento.	Consumo de energía metabólica para impulsar el flujo en cada elemento	Consumo de energía metabólica en el movimiento del protoplasma

Figura 136. Características de los movimientos

sacarosa es el único azúcar que se traslada. En algunas especies arbóreas se encuentra, además de ese azúcar, rafinosa, verbascosa y estaquiosa, azúcares éstos formados por la unión de una molécula de sacarosa con una, dos y tres moléculas de galactosa, respectivamente.

El nitrógeno se moviliza por el floema, principalmente en la forma de aminoácidos y aminas. En los árboles se encuentra que la concentración de estas sustancias varía entre 0,03 y 0,4 % (p/v); los valores mayores se obtienen en el otoño, durante el envejecimiento de las hojas, y como consecuencia de la movilización de los aminoácidos y amidas provenientes de la degradación de las proteínas foliares hacia el tallo y la raíz. Por el floema se movilizan también herbicidas, pesticidas, ion fosfato, etcétera.

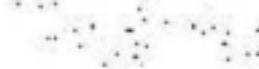
El traslado de la sacarosa en las plantas tiene semejanza fisiológica con la circulación de la glucosa en los animales, como sustancia energética y fuente de carbono para los procesos de síntesis. Este hecho, junto a la función primordial de la glucosa en el metabolismo de todos los organismos vivos, llevó a la pregunta de por qué es la sacarosa, y no la glucosa, el azúcar que se traslada en las plantas. Se han formulado algunas hipótesis para explicar este hecho, una de las cuales se basa en consideraciones energéticas sobre estos dos azúcares. Una molécula de glucosa o fructosa, metabolizada según los ciclos glicolítico y tricarbóxílico, puede dar 38 moléculas de ATP. También se obtiene este rendimiento (38 moléculas de ATP por cada molécula de azúcar) a partir de la sacarosa hidrolizada por la enzima invertasa. Si, en cambio, sobre la molécula de sacarosa actúa la enzima fosforilasa para dar glucosa-fosfato y fructosa, el rendimiento es de 39 y 38 moléculas de ATP, respectivamente. Es decir que de la sacarosa se obtendría, en este último caso, un incremento en el rendimiento energético de 0,5 ATP por equivalente glucosa.

Otra de las hipótesis sostiene que la sacarosa actuaría como derivado "pro-

tegido" de la glucosa. De acuerdo con esta teoría, la distribución generalizada de las enzimas que catalizan el metabolismo de la glucosa (normalmente se encuentran en todo citoplasma y, por ende, también en el del floema) haría que este azúcar fuera extremadamente vulnerable si se trasladase. La sacarosa es mucho menos reactiva y, por lo tanto, capaz de moverse en trayectos largos y liberar moléculas de glucosa en los lugares específicos de crecimiento o acumulación. El hecho de que las células en crecimiento muestren alta actividad de invertasa parecería ser interpretado por esta teoría. Otros derivados de la glucosa, como los glucósidos, no servirían como molécula protegida debido a que las agluconas liberadas por hidrólisis podrían ser tóxicas e ineficientes como fuente de energía, lo que no sucede con la fructosa, componente de la sacarosa.

LECTURAS COMPLEMENTARIAS

- Crafts, A. S. y C. E. Crisp: *Phloem transport in plants*. W. H. Freeman & Co., San Francisco, 1971.
- Kursanov, A. L.: El transporte de sustancias orgánicas en las plantas. *Endeavour*, 1961, XX (77).
- : "Metabolism and the transport of organic substances in the phloem". *Adv. Bot. Res.* 1, págs. 209-274, 1963.
- Peel, A. J.: *Transport of nutrients in plants*. Butterworths, Londres, 1974.
- Swanson, C. A.: "Translocation of organic solutes". *Plant Physiol.* (ed. por F. C. Stewart), Nueva York, Academic Press, 1959, vol. 2, págs. 480-551.
- Weatherley, P. E. y R. P. C. Johnson: "The form and function of sieve tube". *Intern. Rev. Cytol.* 24, págs. 149-192, 1968.
- Zimmermann, M. H.: "Transport in the phloem". *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, II, págs. 167-190, 1960.



CAPITULO XIII

CRECIMIENTO

O. H. CASO

GENERALIDADES

Entre todos los fenómenos biológicos, el crecimiento es, posiblemente, el más sugestivo. Muchos aspectos de la actividad científica y tecnológica están dirigidos a comprender y, en lo posible, a controlar el crecimiento de las plantas y los animales. Sin embargo, poco es lo que se puede explicar acerca de este proceso.

Durante el desarrollo de este tema se analizarán el concepto de *crecimiento* y las características generales de este proceso en las plantas superiores. Aunque no constituye el objetivo de este capítulo (véase el capítulo XVII), también se definirá el *desarrollo*, dado que, aunque en el lenguaje cotidiano ambos conceptos suelen emplearse como sinónimos, en el lenguaje científico aluden a procesos totalmente diferentes.

CONCEPTO DE CRECIMIENTO Y DESARROLLO

Podemos definir al *crecimiento* como el *aumento irreversible* de volumen de una célula, tejido, órgano o individuo, generalmente acompañado de un aumento de masa. Para que exista crecimiento no basta con que se haya producido división celular, dado que la simple división de una célula no constituye aumento de volumen o masa. Un excelente

ejemplo de esto último se encuentra durante el proceso de formación del endosperma. Este tejido, que inicialmente tiene carácter cenocítico, es decir que en él ocurren numerosas *mitosis* sin que se produzca *citocinesis*, en una etapa posterior adquiere carácter tisular al iniciarse la formación de las paredes celulares, sin que haya aumento de volumen ni de materia seca.

Durante el crecimiento, la *división celular* es seguida por la *expansión celular* en forma tal que, muy rápidamente, las células hijas alcanzan el tamaño de la célula madre y pueden llegar a superarlo, como en el caso de las células altamente vacuoladas, producto de la división de células meristemáticas (fig. 137). El crecimiento celular es una propiedad del protoplasma, dado que la síntesis de nuevo protoplasma es producto de su actividad.

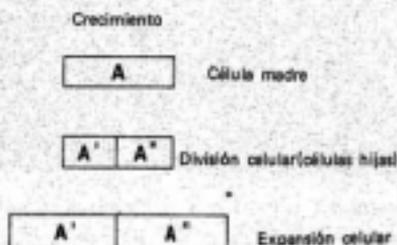


Figura 137. Crecimiento celular. La división celular (mitosis) es seguida por la expansión celular y da por resultado dos células hijas que pueden o no diferenciarse.

Este aumento de volumen y masa es seguido muchas veces por cambios permanentes en la forma y organización interna de las células. Este proceso se denomina *diferenciación* y ocurre tanto en el nivel celular como en el tisular (fig. 137).

Resumiendo, el proceso del crecimiento incluye tres fases: *división celular* (mitosis y citocinesis), *expansión* de las células resultantes y *diferenciación* ulterior, por la cual pueden obtenerse células que dieron origen al proceso.

En la mayoría de los casos, en las células de las plantas superiores, la *división celular* precede a la expansión ce-

lular. Esto es lo opuesto de lo que ocurre en las bacterias y en la mayoría de las algas unicelulares y filamentosas. En ellas, las células se dividen luego que han alcanzado cierto tamaño.

Sin embargo, al operar en forma aislada, no coordinada, estas fases del crecimiento son incapaces de dar origen al organismo multicelular, altamente organizado, que es una planta superior. Si consideramos un cultivo *in vitro* de células vegetales —que puede llegar a obtenerse a partir de una o de unas pocas células aisladas (técnica utilizada en estudios de *morfogénesis*)— se puede lograr una masa voluminosa de éstas (callo)

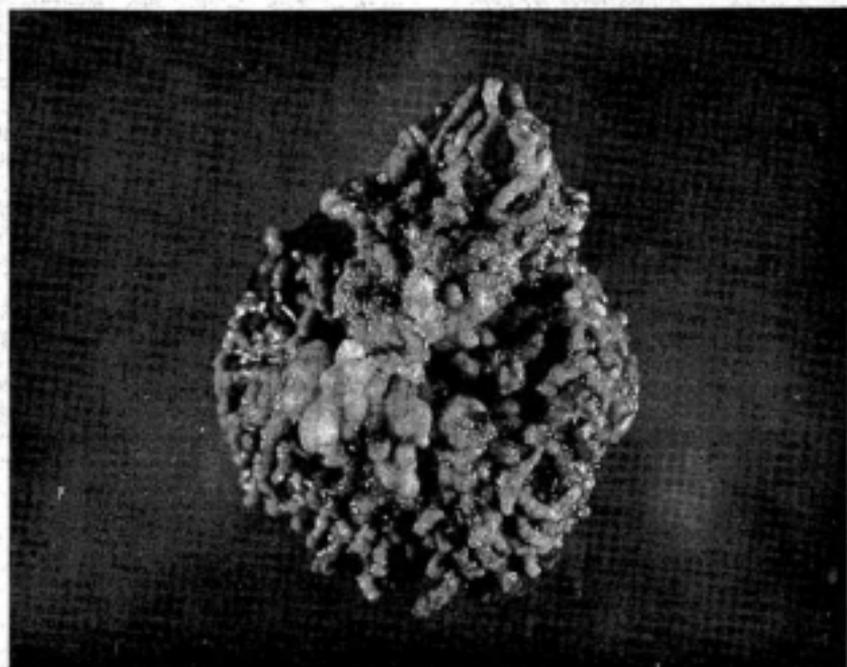


Figura 138. Cultivo *in vitro* de tejidos vegetales. Si bien puede observarse cierta diferenciación y organización, no puede ser considerado un individuo, pues aquéllas se producen en forma desordenada. (Cultivos de tejidos de *Eucalyptus* sp., obtenido por M. C. Maravillaca. Fotografía, gentileza de B. G. Piccinini.)

entre las cuales se encontrarán algunas células altamente diferenciadas, pero el todo está muy lejos de ser considerado un individuo (fig. 138). Más bien se trata de una colonia —del tipo que es dable observar en muchos animales y vegetales inferiores—, aunque en ella puede encontrarse una cierta división del trabajo, ya que algunas células llegarán a poseer cloroplastos y depósitos ergásticos especiales (taninos, cristales, etcétera). En algunos casos ocurren cambios morfogenéticos que llevan a la producción de yemas caulinares y raíces. En ninguno de estos casos podemos hablar de individuo, pues para que sea posible, esas fases del crecimiento deben ocurrir en forma coordinada. Durante el crecimiento de una planta se producen muchos cambios morfogenéticos y fisiológicos, sujetos a un control muy complejo de factores internos y externos. Desde la formación de la cigota hasta la muerte de un individuo (ciclo ontogénico), ocurren cambios cualitativos y cuantitativos que constituyen su *desarrollo*.

Así pues, podemos definir el *desarrollo* como la *serie de cambios cualitativos por los cuales pasa un organismo durante su ciclo ontogénico*. Si bien el desarrollo de un organismo se inicia con la célula huevo fecundada (cigota), su manifestación más visible se observa cuando ese mismo individuo pasa del estado vegetativo al reproductivo. Por ello, muchos autores restringen el uso del término *desarrollo* para designar este cambio de estado.

Algunos autores lo aplican también, en su sentido más amplio, a la *diferenciación de células, tejidos u órganos*, y así, al hablar del desarrollo de una hoja, consideran la serie de cambios que se producen desde el primordio foliar hasta llegar a la hoja madura. Sin embargo, si nos atenemos a las definiciones dadas anteriormente, a este último proceso, que puede ocurrir en el nivel celular, tisular o de un órgano lo consideramos como de *diferenciación*. La diferenciación de nuevas estructuras en un individuo puede ocurrir de manera paralela

con su desarrollo, pero ello no es imprescindible. Este aspecto de la fisiología de los vegetales es presentado in extenso en un capítulo. En este texto, el concepto de desarrollo se aplica, únicamente, al nivel individual.

En la mayoría de los casos, *crecimiento* y *desarrollo* se cumplen en forma armónica y paralela; es decir que la planta se desarrolla a medida que crece. Cuando ello ocurre, estamos en presencia de un individuo normal que completa su ciclo ontogénico. Sin embargo, no es necesario que ambos procesos mantengan el mismo ritmo. En el caso de las *efemerófitas* puede observarse un desarrollo muy rápido que va acompañado por escaso crecimiento.

Las semillas de algunas plantas de desierto germinan luego de una lluvia de relativa intensidad y forman sus frutos antes que el suelo esté nuevamente seco. Durante este ciclo, que en algunos casos dura 10-15 días, alcanzan a formar 2-4 hojas y su tamaño no supera los 5-7 cm.

El caso opuesto (mucho crecimiento con poco desarrollo) puede observarse en algunas plantas de coníferas, en las cuales el cambio de una etapa del desarrollo (período juvenil) a otra (período reproductivo) puede demorarse varios años, llegando el individuo a alcanzar gran tamaño. Estos aspectos de la fisiología del desarrollo se tratan en el capítulo correspondiente.

CARACTERÍSTICAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL, COMPARADO CON EL ANIMAL.

El crecimiento de los seres vivos se diferencia del crecimiento de las cosas inanimadas en que aquél se cumple en forma ordenada y se elaboran estructuras cada vez más organizadas a partir de compuestos simples.

Por otro lado, el crecimiento de las plantas superiores difiere del de los ani-

males superiores en varios aspectos. En el nivel celular se manifiestan tres características fundamentales que ejercen notable influencia en el proceso:

a) Las células vegetales, en su gran mayoría, se encuentran rodeadas por una pared de forma definida y cierta elasticidad, formada por mezclas diversas de polisacáridos y poliorónidos (capítulo II). Esta pared impide que las células puedan desplazarse o cambiar de forma una vez que alcanzan la madurez.

b) En las células vegetales maduras, una vacuola relativamente grande ocupa la mayor parte del volumen celular. En la mayoría de los casos, el contenido vacuolar es una solución muy diluida. Como se verá más adelante, el aumento de volumen durante el alargamiento celular va acompañado de la entrada de agua en la vacuola.

c) En los tejidos vegetales maduros, las células no se multiplican, salvo en los casos de actividad regenerativa o patológica.

En el nivel individual, las dos diferencias más importantes son:

a) El crecimiento de los vegetales, sean inferiores o superiores, es *indefinido* o *indeterminado*. El cuerpo vegetal continúa creciendo durante toda la vida del individuo o, por lo menos, mientras las condiciones ambientales lo permiten. Como será ampliado más adelante, algunos órganos vegetales (hojas, flores, frutos, etcétera) tienen un crecimiento *definido* o *determinado*, similar al que se observa en los animales superiores.

b) El crecimiento vegetal de las plantas superiores se cumple en áreas localizadas, los *meristemas*, lo cual es válido tanto para el individuo como para sus órganos constitutivos. En los vegetales inferiores, como las algas y los hongos, no se observan tejidos meristemáticos del tipo de los que se presentan en los vegetales superiores, aunque en estos casos puede existir una zona en el ápice del individuo o en sus cercanías, donde las células se dividen rápidamente y luego se

aiargan. Esas áreas con características embrionales se perpetúan durante toda la vida. En los animales superiores, el incremento del número de células generalmente termina una vez que el organismo alcanza el tamaño adulto y el número y tamaño de sus órganos queda fijado. A partir de ese momento, la producción de nuevas células sirve para reemplazar aquéllas que mueren.

A partir de la división de la célula huevo o cigota, la planta vascular generalmente produce nuevos elementos y órganos hasta que muere. Si bien en un comienzo la producción de nuevas células está distribuida a través de todo el joven organismo, es decir en el embrión, a medida que éste crece y se transforma en una planta independiente la multiplicación celular queda localizada en los meristemas ubicados en ciertas regiones de los órganos. En todo vegetal encontramos, pues, estas estructuras, que tienen caracteres embrionales que persisten a través de toda su vida. Ya se ha dicho que la presencia de estos meristemas diferencia a la planta del animal. Los meristemas se presentan en los ápices de todos los tallos y raíces, tanto en los principales como en los laterales. Además, muchas plantas poseen meristemas adicionales muy extensos, los *cambios vasculares* y del *corcho* o *felógeno*, que están relacionados con el aumento de espesor del eje y dan lugar a la estructura secundaria de estos órganos.

El crecimiento primario que se produce en los meristemas apicales aumenta el cuerpo vegetal, incrementa su superficie y su área de contacto con el aire y el suelo, y puede eventualmente llegar a producir órganos reproductores. Los otros dos meristemas, denominados *meristemas laterales*, son los responsables del aumento de volumen del sistema vascular y de las células que forman los tejidos de protección y soporte. Si bien el número de meristemas que puede haber en una planta es muy grande, no todos están necesariamente en actividad al mismo tiempo. Un ejemplo de esta actividad parcial de los meristemas lo

constituye el fenómeno de *dominancia apical* (cf. XV), en el cual solamente crece al ápice del eje principal mientras que las yemas laterales quedan inhibidas en su crecimiento.

Las características sobresalientes de los meristemas consisten en que, por un lado, agregan nuevas células al cuerpo vegetal, y por otro, y al mismo tiempo, se perpetúan como tejido embrional. Por ello, en todo meristema activo coexisten dos tipos de células: unas que se comportan como meristemáticas (*células iniciales*) y otras que se diferencian y se transforman en los distintos elementos de los tejidos (*células derivadas*).

Características citológicas de los meristemas

Las características citológicas de los meristemas no son fundamentalmente diferentes de las correspondientes a los tejidos maduros. Sin embargo, durante el período de división activa, las células de los primeros suelen tener menores cantidades de retículo endoplasmático y mitocondrias de estructura interna menos elaborada, y sus plástidos se encuentran en estado de proplástidos. Es decir que sus orgánulos se hallan en un estado relativamente indiferenciado. Esto no es general dado que, por ejemplo, el felógeno puede contener cloroplastos perfectamente desarrollados y, por lo común, en los meristemas de los embriones se encuentran materiales de almacenamiento como el almidón. Si bien durante mucho tiempo se consideró que las células meristemáticas carecían de vacuola, por medio del microscopio electrónico se ha determinado en muchos casos que éstas son muy pequeñas y se encuentran dispersas en el citoplasma. Es decir que, si bien no existe una gran vacuola —como la que se halla en las células del parénquima, por ejemplo—, existen numerosas pero pequeñas vacuolas distribuidas en toda la masa citoplásmica. La forma y tamaño de las células meristemáticas son muy variados. En un extremo podemos

considerar prácticamente isodiamétricas a las células pequeñas de los meristemas apicales, mientras que, por el otro, tenemos que las células iniciales (fusiformes) del cámbium vascular son muy alargadas y estrechas. El núcleo puede ser relativamente grande, y es común que las células meristemáticas tengan paredes muy delgadas. Una característica general de los meristemas es la ausencia de espacios intercelulares. En los tejidos meristemáticos, las divisiones que dan origen a nuevas células, pueden estar dispuestas en diversas formas. En muchos helechos, en el meristema de cuyo vástago se distingue una sola célula inicial, la distribución de las nuevas células es muy ordenada. En las plantas superiores, en las cuales el número de células iniciales es mayor, la secuencia de las divisiones celulares es menos precisa, aunque no al azar.

El meristema apical crece como una estructura organizada, y la división y expansión de las células individuales están relacionadas con la distribución interna del crecimiento y de la forma externa del ápice. En los meristemas apicales, algunas células se dividen por medio de paredes que forman ángulos rectos con la superficie del meristema y causan un aumento del área superficial. Este tipo de división se denomina *división anticlinal*. En otras partes del mismo meristema apical las células pueden dividirse con arreglo a varios planos, lo cual determina el crecimiento en volumen. En los meristemas laterales, el plano de división más común es aquél que corre paralelo con la superficie más próxima del órgano, lo que trae como resultado el establecimiento de hileras de células paralelas a los radios de los ejes, con un aumento en el espesor o diámetro del órgano. Este tipo de división se denomina *división periclinal*.

TIPOS DE MERISTEMAS

La más común de las clasificaciones de los meristemas se basa en la posición de

éstos en el cuerpo vegetal. Según ella, los meristemas se dividen en apicales y laterales. Apicales son los que están localizados en los ápices de los tallos y raíces, mientras que los meristemas laterales son los que están situados en forma paralela a los lados del órgano en el cual se encuentran.

En estos meristemas apicales, también llamados primarios, a las células iniciales y a sus derivadas más inmediatas se las suele designar con el nombre de *protomeristemas*, en tanto que el resto de los tejidos más próximos —que, aunque todavía meristemáticos, ya se encuentran parcialmente diferenciados— son el *protoderma*, que se diferenciará en el sistema protector superficial, el *procómbium*, que dará lugar a los tejidos vasculares primarios, y el *meristema fundamental*, precursor del sistema de tejido fundamental o basal.

En los meristemas terminales del vástago, la actividad mitótica de las células derivadas determina el crecimiento en longitud de la parte aérea de la planta. En los flancos del meristema apical se observan divisiones periclinales que dan por resultado la formación de prominencias que serán los futuros *primordios foliares* (fig. 139).

El meristema apical de la raíz ocupa una posición subterminal y da origen a tejidos, tanto hacia afuera —la piloriza— como hacia el interior de ella. En sus flancos no se determina la formación de ningún tipo de apéndices. Las raíces laterales se originan a cierta distancia del meristema y se forman por la actividad del periciclo. Modernamente se considera que en el meristema de la raíz existe un *centro quiescente* (Clowes, 1961) (figura 140 a y b). La zona de células en activa división en las raíces se extiende hasta una distancia variable del ápice. En el maíz, por ejemplo, llega hasta 8-10 mm, con un máximo de actividad mitótica a los 4 mm.

El centro quiescente constituye una región de forma aproximadamente hemisférica en la cual la multiplicación de ADN y la mitosis presentan un ritmo muy bajo. En su perifería estarían las células iniciales verdaderas. El resto de las células del centro quiescente se dividen para reemplazar a las células meristemáticas si éstas son dañadas.

Por la actividad de los meristemas laterales se produce el crecimiento en grosor de las raíces y los tallos. Son ellos el



Figura 139. Corte longitudinal del ápice caulinar de *Vicia faba* L. Se nota el meristema apical, varios primordios foliares y la zona de iniciación de una yema en la axila del primordio situado en el extremo derecho del corte. Gentileza de la Dra. E. Ancibor.

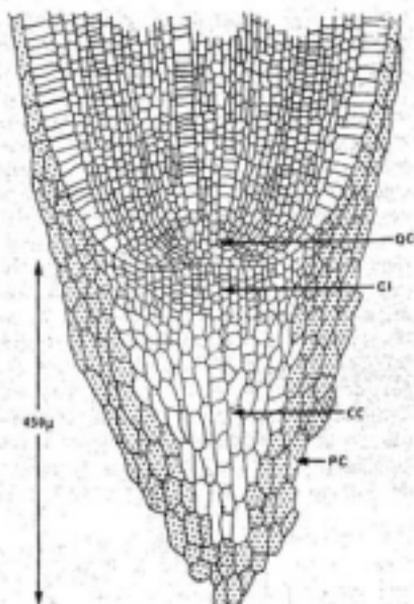
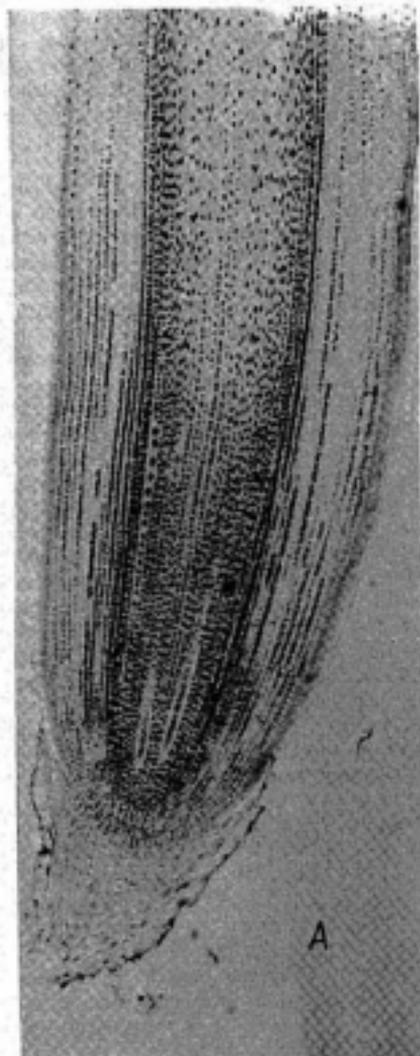


Figura 140. A. Meristema radical de *Zea mays* L. (corte longitudinal). Se nota la ubicación de la estela (zona central más oscura), de la corteza y de la coleorriza. B. Ubicación del centro quiescente en el meristema apical de la raíz de maíz. (Tomado de Clowes, F.A.L. y Juniper, B.E.: *Plant Cells*, Blackwell Scientific Publ., Oxford, 1968.) Referencias: GC = centro quiescente; CI = células iniciales de la coleorriza; CC = células centrales; CP = células periféricas.

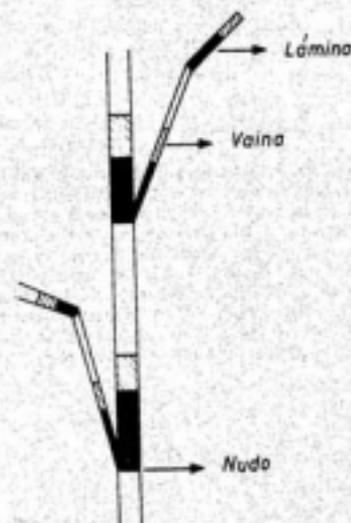
cámbium vascular y el felógeno, a los que, por actuar durante el crecimiento secundario de estos órganos, se los denomina también meristemas secundarios.

El primero constituye un tejido que, situado entre el xilema y el floema, dife-

rencia nuevos elementos celulares en ambos tejidos vasculares. El felógeno es responsable de la formación de los tejidos protectores de origen secundario —la peridermis— que aparecen de manera característica en la superficie de las raíces, el

tronco y las ramas de las gimnospermas y dicotiledóneas, las que presentan un aumento continuado de diámetro.

Además de los meristemas apicales y laterales, existe en algunas plantas otro meristema denominado *meristema intercalar*, situado entre las regiones diferenciadas. La actividad de este meristema es de duración limitada, por lo cual es *determinado* o *definido*. Los mejores ejemplos de meristemas intercalares son los que se encuentran en los entrenudos, láminas y vainas de las gramíneas. Si se observa las porciones más jóvenes de un tallo de trigo, no existen entrenudos diferenciados. Estos, que al alargarse formarán la caña, se diferencian por medio de la división y alargamiento de las células que están en la base de las zonas de inserción de las hojas (figura 141).



- Zona de crecimiento
- ▨ Zona de alargamiento y diferenciación
- Tejidos maduros

Figura 141. Crecimiento de los entrenudos, vainas y láminas de las hojas de una planta de trigo.

Por crecimiento intercalar, las áreas de inserción de las hojas o nudos, que estaban superpuestas, se separan unas de otras. Estos meristemas intercalares se encuentran en todos los tallos de estructura primaria que están articulados en nudos y entrenudos y que se alargan de la manera descrita.

Los primordios de las hojas, que son producidos por el ápice caulinar, luego se irán separando unos de otros por el alargamiento de los entrenudos. En muchas plantas que crecen en forma arrossetada, la actividad de los meristemas intercalares se inicia casi al mismo tiempo en que se produce el pasaje del estado vegetativo al reproductivo.

En lo que se refiere a los órganos con crecimiento determinado, como son las hojas, flores y frutos, la actividad meristemática en ellos puede ser descrita tomando como modelo a la hoja. Ya se ha dicho que estos órganos se originan en los flancos del meristema apical del vástago. El primordio foliar toma, inicialmente, un aspecto de clava, con una sección casi circular en un corte transversal. Algunas células de los flancos de esta estructura comienzan a dividirse y constituyen el *meristema marginal* que dará origen a la lámina (figura 142). Si bien el origen de la estructura foliar es consecuencia de un crecimiento apical, muy pronto este meristema cesa en su actividad y son las células de la base de la hoja las que retienen la capacidad de dividirse. Es decir que si bien inicialmente la hoja crece por la actividad de un *meristema apical*, la forma y tamaño final se alcanzan por la acción de un *meristema intercalar* situado en la base de la hoja. En las gramíneas, este meristema es muy activo y es responsable tanto del crecimiento de la lámina como del de la vaina. En la hoja, las distintas capas celulares dejan de dividirse y expandirse en distintos momentos, lo cual hace que aquellas células que cesan antes —como, por ejemplo, el parénquima esponjoso—, sufran desplazamientos debido al crecimiento continuo de las células epidérmicas. Por ello se forman los grandes

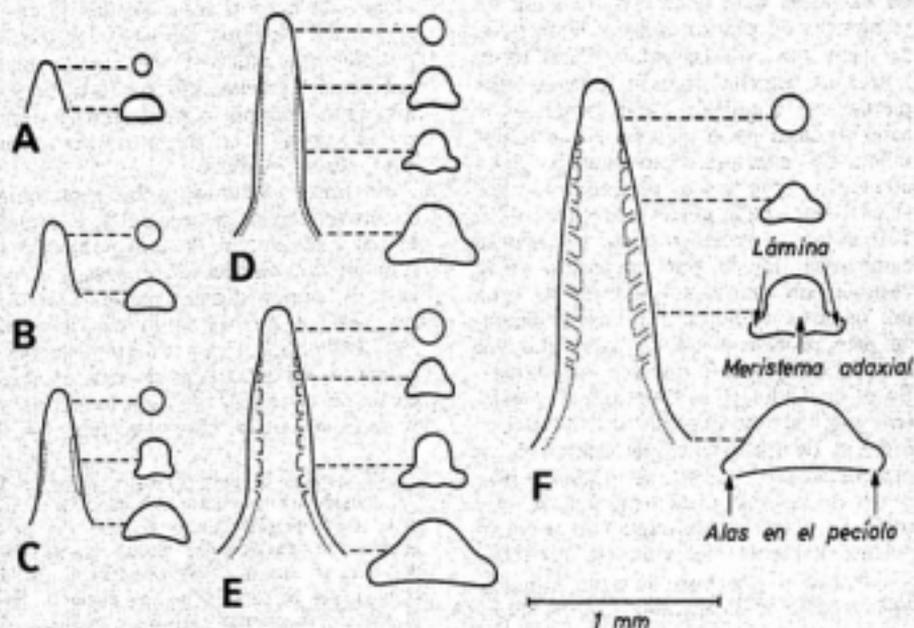


Figura 142. Estados iniciales de la diferenciación de una hoja de tabaco (según G. S. Avery, *Amer. J. Bot.*, 20, 1933, págs. 565-592).

espacios intercelulares que constituyen una característica de ese tejido. En una hoja en expansión pueden distinguirse una etapa en la cual predomina la división celular, con muy poco alargamiento de las células resultantes, y otra en la cual predomina esta última fase del crecimiento, con muy escasas divisiones celulares; sin embargo, ambas fases pueden, en diferentes grados, superponerse.

En estos órganos con crecimiento determinado, el tipo de éste es muy parecido al que se observa en los animales. En ambos casos hay una etapa embrionaria de corta duración, que se presenta antes que el órgano alcance su madurez, y, además, el crecimiento es generalizado, a diferencia de lo que ocurre en el tallo y la raíz donde está localizado.

BASES CELULARES DEL CRECIMIENTO

Debido al hecho de que el crecimiento de una planta es el resultado del crecimiento de sus células, se presentará un esbozo de este aspecto de la unidad estructural de los seres vivos. Como ejemplo se considerará lo que ocurre en el meristema de la raíz.

En el meristema apical, donde predomina la citocinesis, de cada célula se originan otras dos que tienen la mitad del tamaño de la célula madre. Ambas células aumentan de volumen por síntesis de los constituyentes de la pared celular y del citoplasma. Potencialmente, ambas podrían volver a dividirse; sin embargo,

en las áreas meristemáticas no aumenta el número de células *iniciales*. Esto quiere decir que, de las células hijas resultantes de aquella división, una de ellas pierde su condición meristemática al cabo de unas pocas mitosis. A cierta distancia del meristema propiamente dicho comienza el proceso de *vacuolización* por el cual una célula puede aumentar 100 ó 150 veces de volumen. Este proceso se caracteriza por la gran expansión de la vacuola con una rápida entrada de agua por ósmosis. Como se verá más adelante, en este proceso tiene un papel preponderante un grupo hormonal: las *auxinas*. En el capítulo XI se describió la manera en que, al modificarse las relaciones hídricas de las células por cambio de la plasticidad de la pared, se origina el descenso de la presión de turgencia, lo que produce el ingreso del agua con el consiguiente aumento del volumen vacuolar.

Además del ingreso de agua, durante este proceso se realiza una síntesis activa de constituyentes de la pared celular y del citoplasma, por lo cual la célula en expansión muestra un considerable aumento de materia seca. Por esta razón, la intensidad respiratoria de las células en franco proceso de alargamiento es muy alta, así como lo es, también, su requerimiento de sustancias energéticas y de oxígeno. Una célula vacuolada puede considerarse *diferenciada*, pues ya no volverá, en condiciones normales, a dividirse nuevamente. Solamente en casos de heridas o en procesos regenerativos, una célula diferenciada puede volver a recuperar su capacidad meristemática. En esos casos se produce la *desdiferenciación* de algunas células adultas, pero con contenido citoplásmico, las cuales recapitulan todo el proceso del crecimiento celular ya descrito.

ASPECTOS CUANTITATIVOS DEL CRECIMIENTO

Hasta ahora se han analizado aspectos cualitativos de este proceso, y al definir el concepto se puso de relieve el incre-

mento de masa o volumen que ocurre a través del tiempo. Empero, también es posible emprender el tratamiento matemático del crecimiento de todo órgano, individuo, colonia o población, y expresar el aumento en forma de peso, volumen, altura, etcétera.

En primer lugar es posible representar, en un sistema de coordenadas, el tamaño de un individuo o de una población en función del tiempo. Se observa, así, que la curva que se obtiene presenta una forma peculiar que se denomina *sigmoidea* (fig. 143a). Si se tratara de representar el aumento del peso seco de una planta, a partir de la semilla, el aspecto de la curva sería levemente diferente (fig. 144).

El fisiólogo alemán Julius Sachs, del siglo XIX, puede ser considerado el iniciador de este tipo de representaciones gráficas del crecimiento. Este investigador supuso que este tipo de curva se obtenía independientemente de las condiciones ambientales en las cuales se produjera el crecimiento. Aunque esta forma sigmoidea de la curva del crecimiento puede demostrarse en numerosos casos, existen otros en los cuales, si se representan los valores del aumento de masa o volumen en función del tiempo, se obtienen curvas atípicas. Un ejemplo de esta naturaleza lo constituye el caso de muchos frutos cuyas curvas presentan un período en el cual se observa una detención del crecimiento, lo que les confiere el aspecto de una doble S.

Se pueden determinar las distintas características de las tres fases en que puede dividirse toda *curva sigmoidea de crecimiento*. Durante la fase inicial, el aumento se produce en forma exponencial, o sea según una progresión geométrica del tipo 1, 2, 4, 8, 16, etcétera. Es decir que, durante esta *fase exponencial*, el crecimiento ocurre con la máxima intensidad, no limitado virtualmente por los factores externos. Durante esta fase predomina la división celular. Por el hecho de que si se utiliza en el gráfico el logaritmo del crecimiento en función del tiempo se obtiene una línea recta, a esta fase se la suele designar como *logarítmica* (fig. 143b). En las plantas superiores, esta fase exponencial

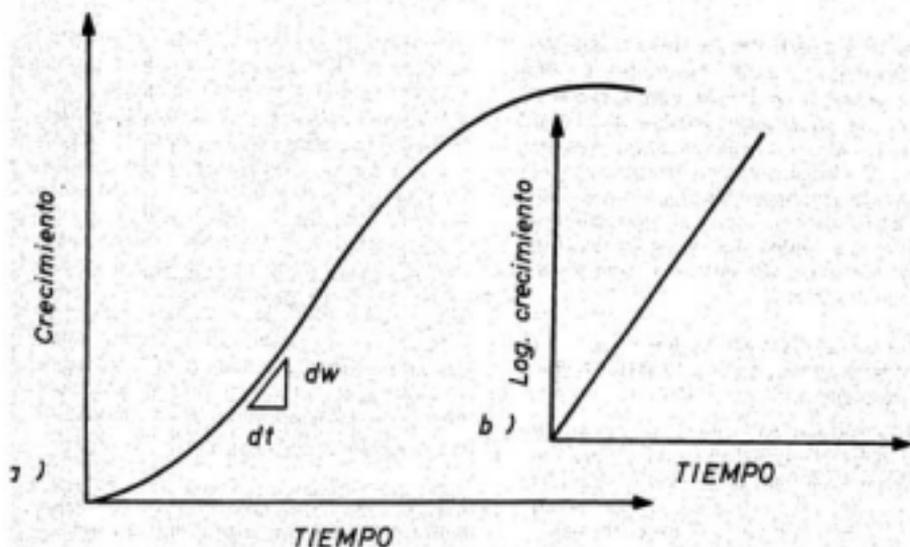


Figura 143. A) Curva sigmoidea del crecimiento (ideal); B) relación lineal entre el logaritmo del crecimiento y el tiempo, durante la fase exponencial o logarítmica.

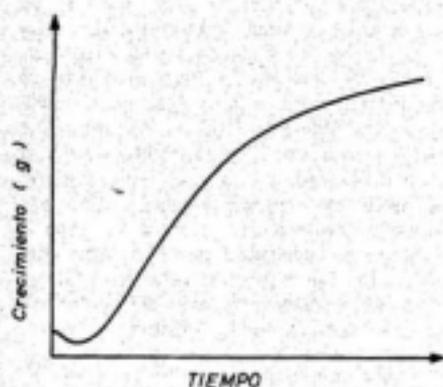


Figura 144. Curva sigmoidea del crecimiento, considerando el aumento de peso seco (en gramos) a partir de la germinación de la semilla. En los primeros estados, inmediatamente después de la germinación, se nota una disminución del peso, aunque se ha producido un crecimiento (aumento de volumen). Ello se debe a la utilización de las reservas contenidas en la semilla.

se presenta para el aumento en peso durante las primeras etapas del crecimiento, es decir cuando la relación entre las áreas meristemáticas y el resto del cuerpo del vegetal es alta.

La segunda fase se caracteriza porque a períodos iguales de tiempo corresponden aumentos iguales de crecimiento, sin que importe el tamaño del sistema considerado. Esta fase se denomina *lineal* o *rectilínea* y es característica de los aumentos de longitud, volumen, peso y número de las células de estructuras cilíndricas o filamentosas, en las cuales las áreas meristemáticas permanecen constantes en tamaño. En las plantas superiores, el crecimiento del tubo polínico, de la raíz principal y de los tallos con entrenudos de longitud uniforme y que se extienden, a partir de la yema apical, a intervalos regulares, presentan en forma acentuada esta fase de la curva de crecimiento.

La última fase es la de crecimiento desacelerado y en su transcurso el sistema se vuelve cada vez menos efectivo hasta que aquél cesa totalmente. Se la denomina de *envejecimiento* o de *senescencia*. En los órganos de crecimiento determinado, como son las hojas, puede prolongarse durante mucho tiempo, iniciándose mucho antes que se noten los primeros síntomas visuales de la real senescencia del órgano.

RELACIONES ABSOLUTA Y RELATIVA DE CRECIMIENTO

Si consideramos el ejemplo presentado en la figura 143b, el aumento de peso en cualquier momento de la curva sigmoidea del crecimiento estará dado por el aumento (dW) en gramos durante un período infinitamente breve de tiempo (dt). Esta relación se denomina *relación absoluta de crecimiento* (r); es decir que:

$$r = \frac{dW}{dt}$$

se la define como el incremento de materia vegetal por unidad de tiempo.

Este valor r representa la pendiente de la curva de crecimiento y puede ser determinado empíricamente si se traza la tangente en un punto cualquiera de la curva, como se muestra en la figura 143. Las relaciones absolutas de crecimiento se expresan como $g \text{ día}^{-1}$, o $g \text{ semana}^{-1}$.

También es posible expresar en un gráfico la relación absoluta de crecimiento en función del tiempo (fig. 145). En una curva de este tipo se ve que el valor de r crece en forma constante durante la fase exponencial del crecimiento, hasta alcanzar un punto máximo que corresponde al punto de inflexión de la curva de crecimiento (fig. 145), para luego decaer hasta el valor cero. Este punto máximo fue designado por Sachs como *período de gran crecimiento*. La relación absoluta de crecimiento es proporcional al tamaño del sistema en crecimiento durante el período de tiempo que se consi-

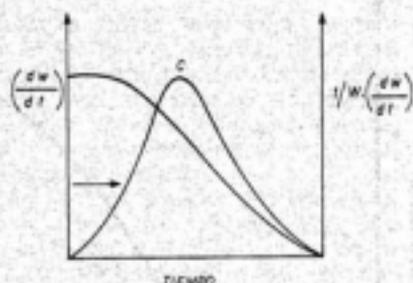


Figura 145. Relaciones absolutas ($\frac{dW}{dt}$) y relativas ($\frac{1}{W} \cdot \frac{dW}{dt}$) del crecimiento. C marca el período de gran crecimiento (Sachs).

dere. La base fisiológica de esto es fácilmente comprensible si se tiene en cuenta que, durante dicha fase, el aporte de nuevo material es realizado por una gran proporción del sistema, sea éste un individuo, colonia o tejido.

Sin embargo, esta forma de expresar el crecimiento no es muy adecuada cuando se trata de comparar la eficiencia en la producción de materia seca. Esto se ve claramente si consideramos que una relación de $1 g \text{ día}^{-1}$ puede ser suficiente en el caso de una planta cuyo peso total es de 5-10 g, pero es muy baja si se considera una planta de 100 o más gramos de peso seco total. Con el objeto de evitar esta dificultad, y con fines comparativos, es preferible expresar la relación de crecimiento teniendo en cuenta el peso o tamaño ya alcanzado por el sistema considerado. La expresión resultante (R) se denomina *relación relativa de crecimiento* y se expresa por la fórmula:

$$R = \frac{1}{W} \left(\frac{dW}{dt} \right)$$

en la cual W representa el peso de la estructura y dW el incremento durante un período de tiempo (dt). La relación relativa de crecimiento de una planta en determinado tiempo (t) se define como el aumento de masa por unidad de masa presente por unidad de tiempo y se ex-

presa como $g\ g^{-1}\ \text{día}^{-1}$ o $g\ g^{-1}\ \text{semana}^{-1}$. Se llega al mismo valor si se usan otras unidades de peso y tiempo; por lo tanto, R puede ser presentado como un índice. También se acostumbra expresarlo como porcentaje de incremento en peso por unidad de tiempo. Al igual que lo que ocurre con r el valor de R es de significación momentánea, pues representa la relación de aumento de un momento dado. Volviendo al ejemplo anterior, si suponemos un valor de $W = 50\ g$ y un valor de $r = 10/g\ \text{semana}^{-1}$, se tendrá que el valor de R para esa semana en particular será igual a un aumento de 0,2 g por cada g de materia seca por semana, o sea 0,2, lo cual expresado como porcentaje, sería 20 %.

Si, al igual que lo expresado para r, se grafica el valor de R en función del tiempo (fig. 145), se obtendrá una curva que mostrará que aun cuando dicho valor se mantiene constante durante un corto tiempo, luego declina progresivamente durante el resto de la vida del individuo. La relación relativa de crecimiento es constante durante la fase exponencial y su declinación puede explicarse si consideramos que, a medida que aumenta la edad de la planta, se irá haciendo cada vez menor la proporción de tejidos meristemáticos con respecto a aquellos otros (vasculares, de protección, de sostén, etcétera) que dejan de aportar nuevo material una vez que sus células se diferenciaron totalmente.

ANÁLISIS DEL CRECIMIENTO

Durante mucho tiempo, los fitofisiólogos de distintos países trataron de encontrar una ley única que permitiese expresar, en forma matemática, el incremento de masa o volumen de un sistema en crecimiento. Se suponía que, en caso de hallarse dicha expresión matemática, sería posible predecir el crecimiento final, o sea el posible rendimiento de una planta o cultivo.

Si bien se realizaron algunos intentos anteriores, fue el investigador inglés V. H. Blackman (1919) quien propuso aplicar una ley al crecimiento de las plantas superiores, para lo cual sugirió que durante la fase inicial del crecimiento de una planta (fase exponencial) el incremento de materia seca sigue la "Ley del Interés Compuesto", la que responde a la ecuación:

$$W = W_0 \cdot e^{rt}$$

en la cual

- W = peso de la planta luego de un intervalo $t(t_2 - t_1)$.
- W_0 = peso inicial
- r = tasa de incremento o interés
- e = coeficiente exponencial (2,7182) base de los logaritmos neperianos o naturales.

También puede ser expresada en forma logarítmica:

$$\log_e W = \log_e W_0 + r(t_2 - t_1)$$

de la cual puede despejarse

$$r = \frac{\log_e W - \log_e W_0}{t_2 - t_1}$$

La diferencia notable entre el crecimiento de una planta y el aumento de capital estriba en que este último es incrementado después de ciertos lapsos (capitalización mensual, semestral, anual, etcétera), lo que hace que el aumento sea a "saltos", mientras que el crecimiento ocurre constantemente, lo cual da lugar a una curva de crecimiento continua.

Según este concepto, aplicado por Blackman y su escuela, el peso final de una planta sería consecuencia de: 1) su peso inicial; 2) la tasa de interés, o sea la tasa de incremento de masa o materia seca, y 3) el tiempo que dura dicho crecimiento. Empero, aun los pequeños cambios en el valor de r provocan variaciones muy notables en el tamaño final de una planta.

Blackman supuso que dicho valor r podía ser usado como un "índice de eficiencia", característico para cada especie, y que serviría para medir la efectividad con que una planta produce materia seca. De la fórmula antedicha resulta claro que la constante r de la fórmula del interés compuesto corresponde a la relación relativa de crecimiento (R), tal como se la presentó anteriormente. Ya se dijo que este valor es constante durante la fase exponencial del crecimiento y que luego decae constantemente; por ello, esta ley del Interés Compuesto sólo se puede aplicar en dicha fase, pues no es válida para todo el ciclo vital de una planta. Lo mismo puede decirse acerca del crecimiento de un cultivo de bacterias, algas, etcétera.

Antes y después de estos estudios de Blackman, distintos investigadores realizaron intentos para explicar, también en términos matemáticos, el crecimiento de los seres vivos. Hasta ahora ha resultado infructuosa la búsqueda de una ley general que permita predecir el tamaño final de un sistema en crecimiento. Esto es fácil de comprender considerando que el crecimiento es el resultado de reacciones muy complejas del metabolismo, sujetas a controles en distintos niveles (intracelular, intercelular, extracelular), y que depende de la disponibilidad de diferentes sustratos (O_2 , CO_2 , H_2O , nutrientes minerales).

Además de las expresiones dadas anteriormente (r y R), se han elaborado otras muy útiles para emplearlas cuando se quiere analizar y comparar el crecimiento de individuos o cultivos sometidos a distintas condiciones. Las contribuciones más importantes a este análisis cuantitativo del crecimiento sirven para estudiar la acumulación de materia seca y las diferencias entre distintas especies de plantas, entre distintas variedades de una misma especie y aun dentro de una misma variedad cuando varían las condiciones culturales. En todas ellas, para el análisis se establece la diferencia entre las superficies fotosintetizantes y el resto de la planta.

Para realizar un análisis cuantitativo del crecimiento simple es necesario efectuar dos tipos de determinaciones: 1) la del material vegetal total (W), y 2) la del sistema fotosintetizante de dicho material (F). Por lo general, las determinaciones de W consisten en la medida del peso seco total de la planta, el cual puede, también, subdividirse en distintas fracciones (parte aérea, órganos subterráneos, altura de corte, etcétera), según el interés del investigador. Por otro lado, para medir F se puede utilizar el área foliar total expresada como superficie de las hojas, peso de ellas, contenido de proteínas, clorofila, etcétera. Los valores que se obtienen con estas determinaciones se usan para resolver algunas de las ecuaciones que se expresan a continuación.

Relación de área foliar (F), que es el cociente entre la superficie de las hojas (AF) y el peso seco de las plantas (W), es decir

$$F = \frac{AF}{W}$$

Área foliar específica (SLA), que relaciona la superficie de las hojas con el peso seco de éstas (W_h)

$$SLA = \frac{AF}{W_h}$$

Esta expresión es una medida útil de las diferencias que pueden existir entre las plantas que resultan de factores genéticos, ambientales o de tratamientos distintos y de los diversos cambios estacionales. Su magnitud refleja la interacción de los factores ontogenéticos (edad de las hojas, su posición, etcétera) con los ambientales (luz, agua, nivel de nutrientes, etcétera).

Relación de peso foliar (WF), que es el cociente entre el peso seco de las hojas y el peso seco total, o sea

$$WF = \frac{W_h}{W}$$

Tasa de unidad foliar (E), o sea la relación entre el incremento de materia seca y el área foliar, que sirve para medir la velocidad media de acumulación de peso seco por unidad de área foliar. Esta expresión, debida a West (1920), es semejante a la propuesta por Gregory (1917), que la denominó *relación de asimilación neta* (NAR) y que expresa el aumento del peso seco total de la planta por unidad de tiempo y por unidad de superficie de las hojas. Se denomina "neta" debido a que el aumento de materia seca representa lo asimilado menos las pérdidas ocasionadas por la respiración. Estas pérdidas pueden ser importantes y son levemente compensadas por ganancias a partir de fuentes distintas de la fotosíntesis (absorción de nutrientes minerales). Esta expresión es, posiblemente, la que mayor información brinda en los estudios analíticos. Suele ser representada por la ecuación:

$$NAR = \frac{1}{AF} \cdot \frac{dW}{dt}$$

y para su determinación se requiere efectuar mediciones periódicas (diarias o semanales). Los resultados se expresan en unidad de peso/unidad de superficie/unidad de tiempo. Las unidades más comunes son $g \cdot dm^{-2} \cdot semana^{-1}$, o $mg \cdot cm^{-2} \cdot día^{-1}$.

Conviene tener en cuenta que, en el caso de estas dos últimas expresiones, es necesario conocer su valor medio durante el lapso considerado, para lo cual se debe estimar la relación existente entre las variaciones de W y AF. Los casos más frecuentes corresponden a las relaciones lineal y cuadrática. En el primer caso, la expresión correspondiente es:

$$NAR = \frac{(W_2 - W_1) (\log_e A_2 - \log_e A_1)}{(A_2 - A_1) (t_2 - t_1)}$$

Si se trata de una relación cuadrática:

$$NAR = \frac{2(W_2 - W_1)}{(A_2 + A_1) (t_2 - t_1)}$$

En ambas expresiones, los distintos términos corresponden a las determinaciones antes mencionadas.

Si se trata de efectuar el análisis de poblaciones pueden usarse otras expresiones, tales como:

Índice de área foliar (L), que es la relación entre la superficie de las hojas u otra superficie fotosintetizante y una cierta superficie de suelo, expresadas en las mismas unidades. En el caso de cultivos anuales, por ejemplo cereales, las unidades son m^2 hojas. m^{-2} de terreno. En esta expresión, debida a Watson (1952) y que tiene gran aplicación agronómica y ecológica, se considera que el aumento de peso de una planta es el producto de su NAR por el área foliar total. Este índice refleja la capacidad real de la productividad de un cultivo o pastura. Juntamente con la disposición de las hojas y la altura de la planta constituye el factor más importante en la competencia por la luz entre los distintos individuos de una población o comunidad. Para que una especie o variedad de interés económico presente la mayor eficiencia en la producción de materia orgánica, el valor máximo de L debe alcanzarse cuando el valor de la radiación llega a su mayor valor (véase la página 645).

Asociado a la expresión anterior se encuentra el concepto de: *duración de área foliar* (L), o sea la integración del valor de L durante todo el ciclo vital de una planta o cultivo. L indica la capacidad de una planta o cultivo para cubrir la unidad de superficie del suelo con sus hojas durante toda su vida, de modo que es una medida de su capacidad de asimilación.

La relación entre R, NAR y F se puede expresar con la ecuación:

$$R = NAR \times F$$

$$\frac{1}{W} \cdot \frac{dW}{dt} = \frac{1}{A} \cdot \frac{dW}{dt} \cdot \frac{A}{W}$$

Así se puede demostrar que cualquier efecto sobre la tasa de crecimiento puede deberse a un efecto sobre la eficiencia neta (NAR), sobre el tamaño relativo de las superficies asimilantes (F) o sobre ambos.

Existen evidencias de que ambos parámetros muestran una declinación durante el ciclo ontogénico de la planta, lo cual explicaría la constante disminución que se observa en los valores de R una vez que ha cesado el crecimiento exponencial.

Otro método para la determinación de las características del crecimiento es la utilización de curvas ajustadas para el cálculo de R , NAR, etcétera. Una de las dificultades, y fuente de error de las mediciones que se efectúan por medio de las fórmulas antes citadas, proviene del gran número de plantas que hay que procesar en cada uno de los muestreos, lo

cual obliga a espaciar las cosechas en forma poco satisfactoria para la obtención de resultados correctos. Este inconveniente puede superarse por medio del uso de curvas ajustadas para los valores de W y A .

Ello permite utilizar un número menor de plantas de cada muestreo y realizar éstos con intervalos más breves (2-3 días). El principio del procedimiento consiste en la elección de una función matemática adecuada que represente la curva continua que se ajusta a los valores registrados del peso seco total (W) y área foliar (A), en forma tal que se aproxime a la curva real del crecimiento. El grado de complejidad de la función que describa la curva dependerá de las observaciones efectuadas y del nivel de precisión requerido.

LECTURAS COMPLEMENTARIAS

- Avery, G. S.: *Amer. Jour. Bot.*, 20: 565-592, 1933.
- Bloch, R.: "Growth. A general survey"; en W. Ruhland (comp.), *Encycl. of Plant Physiol.*, 1961, 14 págs. 1-12.
- Clowes, F. A. L. y B. E. Juniper: *Plant cells*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1968.
- Esau, K.: *Plant anatomy*. J. Wiley & Sons, Nueva York, 1965, 2ª edición.
- Evans, G. S.: *The quantitative analysis of plant growth*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1972.
- Kofler, L.: *Croissance et développement des plantes*, Gauthier Villars Editeurs, París, 1973.
- Kvát, J., J. P. Ondok, J. Nécas y P. G. Jarvis: "Methods of growth analysis", en *Plant photosynthetic production* (W. Sesták y col., comps.), W. Junk N. V., La Haya, 1971.
- Richards, F. J.: "The quantitative analysis of growth", en *Plant physiology. A treatise*, (F. C. Steward, comp.), VA, Academic Press, Nueva York, 1969, págs. 3-71.
- Wareing, P. F. e I. D. J. Phillips: *The control of growth and differentiation in plants*, Pergamon press, Oxford, 1970.
- Watson, D. J.: "The physiological basis of variation in yield", *Adv. Agron.*, 1952, 4, págs. 101-145.

MORFOGENESIS

FOTOMORFOGENESIS

A. MORFOGENESIS

O. CASO

En capítulos anteriores se estudió el fenómeno del crecimiento vegetal como proceso general determinante del aumento de tamaño del individuo, se trató acerca de las hormonas que pueden regular sus distintas manifestaciones y asimismo se habló de los fenómenos de correlación que son mediados por esos reguladores del crecimiento.

En otras partes de esta obra, además, se ven aspectos del desarrollo vegetal, es decir de los cambios cualitativos y cuantitativos que ocurren desde la formación de la cigota hasta la muerte del individuo. Dichos cambios morfológicos se denominan *cambios morfogénicos*, pues *morfogénesis* es la parte de la fisiología que se ocupa del estudio de la iniciación o génesis de la forma. Hasta cierto punto, el desarrollo puede ser considerado como un proceso que incluye el aumento (*crecimiento*) y la disposición en el tiempo y el espacio (*morfogénesis*) de las células, tejidos y órganos.

Los cambios morfogénicos pueden suceder en distintos niveles: celular, tisular, de órgano, etcétera. En el primer nivel se los designa como procesos de *diferenciación celular*.

Los cambios morfogénicos que ocurren durante el crecimiento y desarrollo del individuo están sometidos a tres tipos de control:

- a) **Control intracelular o genético.** Toda célula de un ser vivo contiene información genética suficiente para reproducir un individuo similar. La expresión de esa información está controlada por la actividad de los genes. Como se verá luego, este concepto está vinculado con la idea de la *fotipotencia* de cualquier célula con contenido citoplásmico (véase la página 594). Las manifestaciones ordenadas de dicha información contenida en los genes es expresada durante la ontogenia del individuo en las distintas especializaciones celulares y orgánicas que se suceden. El modo de operación de este control intracelular, ejercido por el núcleo, está bastante dilucidado en lo que se refiere a los microorganismos (véase la página 593). Sin embargo, el panorama no es tan claro cuando se trata de extender este conocimiento a la situación mucho más compleja de los seres pluricelulares, con infinidad de genes que deben activarse o desactivarse en forma secuencial y/o cíclicas durante toda la vida del individuo, que en algunos casos puede prolongarse varios siglos.
- b) **Control intercelular.** Este tipo de control es ejercido por las hormonas, las cuales por su acción a distancia determinan interacciones celulares que se manifiestan como *fenómenos de correlación* (véase la página 454).
- c) **Control extracelular o ambiental.** Es el que ejercen los factores del medio, los más importantes de los cuales son la luz y la temperatura. Podrían darse numerosos ejemplos de la

forma en que se ejerce este nivel de control, pero basta decir que la expresión floral está controlada por estos dos factores ambientales, dentro de un sistema con base genética y regulación hormonal (véase la página 239). Salvo en el caso de las mutaciones, la constitución genética (*genotipo*) no es alterada por los factores del ambiente, pero su expresión (*fenotipo*) puede ser modificada por ellos.

Como la planta intacta es una estructura altamente integrada es muy difícil estudiar los distintos cambios morfogénicos separando las interacciones con otras partes del mismo individuo. En los últimos años se han desarrollado métodos de cultivo de tejidos *in vitro* y aun de células aisladas que permiten analizar la interdependencia de las distintas partes del vegetal, su capacidad de síntesis y el efecto de los factores externos e internos sobre el curso de la *diferenciación celular* y el modelo de distribución de los tejidos (*histogénesis*). Asimismo, este método es útil para el estudio del modo de iniciación y de expansión de los distintos órganos (*organogénesis*), así como del efecto de los distintos factores sobre el curso del desarrollo.

Polaridad

La primera manifestación de la diferenciación es la polaridad. Con este término se designa el establecimiento de diferencias estructurales o fisiológicas entre dos extremos de una célula, órgano o individuo. Debido a ello se establece un eje morfológico y fisiológico, con una cierta gradación entre esos polos. La polaridad se manifiesta muy temprano en la vida del individuo. Se ha demostrado, en el algodón, que en la primera mitosis de la cigota, existe una polarización en la distribución del citoplasma: la célula apical aparece con contenido citoplás-

mico más denso y menos vacuolado que la que se halla en la base.

Como consecuencia de esa polaridad, en el embrión muy joven se determina inmediatamente una estructura axial con un polo que dará origen a la raíz y otro a la parte aérea o vástago.

Si bien muy poco se sabe aún acerca de las causas que determinan esta polarización tan prematura en el organismo, hay factores del ambiente interno de la planta que deben ser importantes. En los últimos tiempos está tomando cuerpo la idea del establecimiento de gradientes de todo tipo (hormonales, nutritivos, etcétera) que serían los que provocan cambios estructurales, como podría ser la disposición de moléculas de proteínas en las capas externas del citoplasma.

Esta polaridad se observa durante toda la existencia del individuo. En la mayoría de las divisiones celulares, las dos células hijas son diferentes en tamaño y cada tipo se encuentra invariablemente del mismo lado con respecto al eje del órgano donde ocurren estas divisiones. Por ejemplo, en la formación de los pelos absorbentes de las raíces, en la célula epidérmica próxima a dividirse se observa la polarización del citoplasma, que es seguida de una división celular que produce una célula más grande y otra más pequeña. Esta última se diferenciará en el pelo radical. Un caso similar se produce durante la diferenciación de los estomas (fig. 146).

La polaridad puede manifestarse en otras formas. Ejemplos de ellas son el transporte polar de algunas sustancias, que refleja la existencia de una polaridad fisiológica en los tejidos y órganos; la necesidad de mantener la orientación adecuada de los tejidos cuando se practica un injerto; las diferencias entre los extremos apical y distal de hojas, tallos y raíces en lo que se refiere a la capacidad de regenerar órganos adventicios.

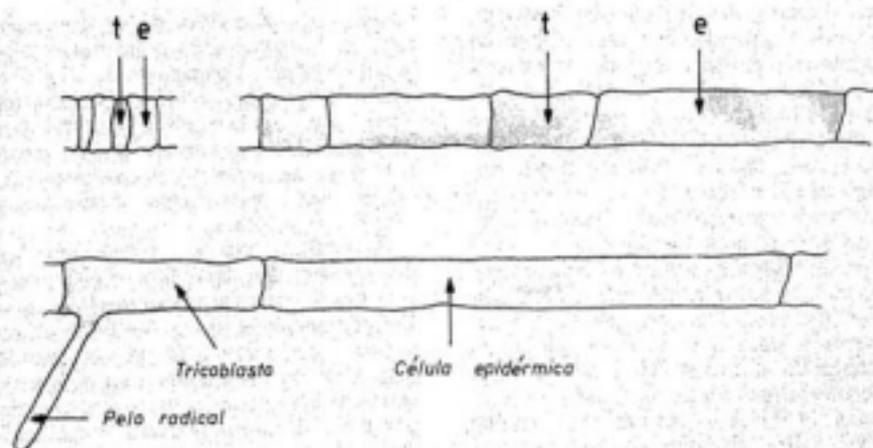


Figura 146. Polarización en la diferenciación de los pelos radicales (véase el texto en la página 408; tomado de E. W. Sinnott y R. Block, Proc. Nat. Acad. Sci., 25: 248-252, 1939).

Diferenciación celular

Ya se dijo que, en los vegetales, el crecimiento se manifiesta en áreas localizadas y que en ellas se van originando las células de los nuevos tejidos que formarán el conjunto del cuerpo vegetal. El proceso por el cual las células derivadas y las células de los meristemas se transforman en los elementos de los distintos sistemas de tejidos de una planta adulta se denomina *diferenciación*. Este fenómeno comprende muchos procesos interrelacionados de naturaleza morfológica, fisiológica y química, que provocan la especialización de las células. El grado de especialización alcanzado puede ser pequeño y quedar en un estado que puede revertir al meristemático, o ser tan profundo que alcance un estado irreversible, lo que trae como consecuencia una importante alteración de su protoplasma o aun su completa desaparición.

Así, por ejemplo, en un vaso del xilema encargado de la conducción de agua existe un alto grado de especialización, dado que no solamente pierde todo su contenido citoplásmico cuando alcanza la madurez, sino que también adquiere paredes celulares relativamente gruesas con impregnación de lignina. Esta célula ha

perdido la capacidad de dediferenciación. Un cambio menos profundo ocurre durante la diferenciación de una célula del parénquima fotosintético en el mesófilo de la hoja. Esta célula puede llegar a tener un aspecto completamente diferente del de su precursor meristemático, pero su citoplasma permanece completo y su pared se engrosa muy poco. El hecho más importante en la diferenciación de esta célula está en la adquisición de cloroplastos. Asimismo, una característica muy importante en la diferenciación de este tipo es que puede ser estimulada a reasumir su actividad meristemática. En general, mientras las células mantengan su contenido citoplásmico pueden recuperar su actividad de meristema. Esto es lo que sucede, por ejemplo, con la formación del periderma en los tallos, durante el crecimiento secundario. Lo mismo ocurre en la regeneración de las raíces y yemas adventicias como consecuencia de la diferenciación de los parénquimas del xilema y floema. Un aspecto de significación en la diferenciación es que las células con ciertas características semejantes aparecen en posiciones definidas en el cuerpo de la planta, es decir que la diferenciación celular da como resultado la aparición de los distintos ti-

pos tisulares del vegetal. Sin embargo, durante el proceso de diferenciación de nuevas estructuras o regiones se observa que éstas se establecen a cierta distancia unas de otras, como si existiera una incompatibilidad o inhibición mutua entre estructuras similares. Bünning llamó meristemoides a los sitios de crecimiento activo que pueden estar ubicados entre áreas diferenciadas, tal como ocurre en la formación de los estomas en la epidermis foliar. Este autor cita hechos experimentales que demostrarían que se forman nuevos estomas sólo una vez que se ha establecido una distancia mínima entre los preexistentes. Esa separación es consecuencia de la expansión de la lámina foliar. Otros ejemplos de esta distribución espaciada son la formación de raíces laterales y pelos absorbentes, de las es-

clereidas en la corteza de algunas especies, en la disposición de las hojas (filotaxia), etcétera. Las razones de esta inhibición mutua son actualmente desconocidas, pero se han propuesto distintas explicaciones: competencia por los metabolitos necesarios para el crecimiento y diferenciación, producción de sustancias inhibitorias, etcétera.

Es evidente que en la determinación del destino que tendrá la célula meristemática intervienen varios factores tanto físicos (ambientales) como químicos (nutricios, hormonales). El mejor ejemplo del efecto que el ambiente puede ejercer sobre la diferenciación ha sido producido por los trabajos de Steward y colaboradores. Estos investigadores demostraron la posibilidad de obtener plantas enteras a partir de pequeños grupos celulares o

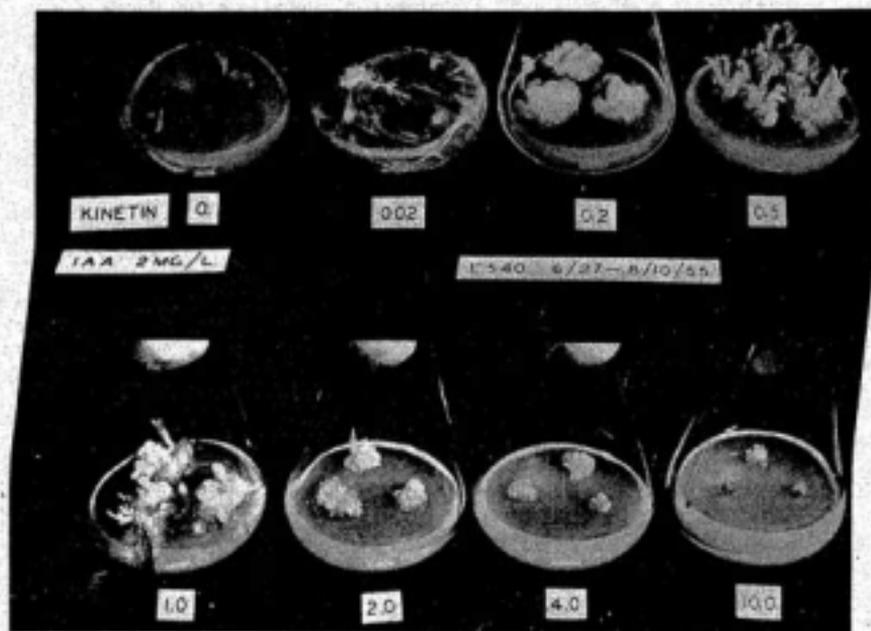


Figura 147. Efecto de las hormonas sobre la diferenciación (véase el texto; tomado del trabajo de F. Skoog y C. O. Miller: "Biological action of growth substances", Symposium Soc. Exp. Biol. 11: 1180131, 1957, Cambridge University Press, Cambridge).

células aisladas tomadas de embriones o de tejidos de la planta adulta.

Estas células crecían formando una masa indiferenciada cuando el medio de cultivo, suplementado con reguladores del crecimiento y leche de coco, era líquido y se lo sometía a rotación. Sin embargo, algunas células desprendidas de ese caldo llegaron a organizarse en formaciones que eran semejantes a embriones en distintos estados de su diferenciación. Cuando algunos de esos "embrioides" y, aun, células aisladas, fueron cultivados en un medio similar pero solidificado con agar, se diferenciaron todos los estados característicos de la embriogénesis de esas especies (globular, torpedó, corazón, etcétera) y se obtuvieron plantas perfectamente normales.

Con respecto a los cambios que pueden producirse en el curso de la diferenciación por el efecto de los factores hormonales, son suficientemente claros los trabajos de Skoog y Miller. Estos autores, utilizando un cultivo de tejidos de tabaco, demostraron que era posible modificar el curso de la diferenciación y obtener distintas estructuras según fuese el balance hormonal (auxinas y citocininas). Dicho caldo diferenció ya sea raíces o yemas o proliferó como indiferenciado y aun llegó a detener su crecimiento, según las cantidades relativas de AIA y cinetina que existiesen en el medio de cultivo (figura 147).

Todos estos resultados, extendidos a otras plantas por distintos investigadores, sirven para corroborar una idea expresada por Haberlandt (1902), quien formuló la posibilidad de obtener plantas a partir de cualquier célula somática, como sucede con el desarrollo de una cigota. Esta idea de la *totipotencialidad* de las células constituye el fundamento de los métodos de cultivo de trozos de meristemas y bases de hojas que se han desarrollado, para la obtención de plantas libres de virus, en la papa, el clavel, etcétera, y para la multiplicación vegetativa de las orquídeas.

HISTOGENESIS

La diferenciación de los distintos tipos de células que constituyen los tejidos no ocurre al azar, sino en forma ordenada, y su resultado es una organización característica de la especie. No existen evidencias claras de las causas que determinan esto, aunque se ha señalado que sería consecuencia del "modelo" de distribución y balance de los reguladores de crecimiento desde el meristema apical, a lo cual se sumarían otros compuestos, como los azúcares. Hace varios años se obtuvieron evidencias experimentales de esta hipótesis al comprobarse que el tipo de tejido vascular (floema o xilema) que podía formarse en una masa de tejido poco diferenciado (callo) dependía de la concentración y gradiente de auxinas y azúcar. Si esas sustancias se colocaban sobre el callo o en el medio de cultivo, se originaban nódulos vasculares en las cercanías del lugar de aplicación. Asimismo, el tipo de tejido vascular que predominaba estaba relacionado con la concentración de sacarosa en el medio de cultivo. Las bajas concentraciones favorecían la formación de xilema y las altas concentraciones formaban floema, en tanto que las concentraciones intermedias promovían la formación de ambos tipos de tejidos, con un cambio entre ellos. Es decir que no sólo se formaban los tejidos vasculares característicos, sino que ello ocurría según el modelo normal de disposición de dichos tejidos. Efectos semejantes obtuvieron otros autores injertando ápices caulinares de *Syringa vulgaris* sobre callos: mientras que el ápice crecía formando una planta normal, en el seno del callo, y en forma basípeta desde el ápice, se diferenciaron haces vasculares, especialmente traqueidas. Es evidente que la histogénesis que se produjo en el callo fue promovida por una sustancia morfogénica trasladada desde el ápice injertado. Tal como se describió en el capítulo correspondiente (véase pág. 444), este órgano es el productor principal de auxinas.

No se conoce bien el papel que representan otras hormonas, como las citocininas, en el proceso de formación de los tejidos. Algunos autores, como Thimann, atribuyen a la acción histogénica de las citocininas la ruptura de la dormición de las yemas laterales, inhibidas en su crecimiento por la yema apical.

También es poco conocido el control de la diferenciación del cámbium y de los tejidos secundarios. Aquí la situación es muy complicada, dado que a partir de una célula meristemática pueden diferenciarse tipos celulares diversos (vasos, traqueidas, tubos cribosos, células anexas, fibras, etcétera), los cuales se disponen según un modelo que es característico para la especie. La iniciación de la actividad cambial, así como la disposición específica de los tejidos a que dará origen, está genéticamente determinada y bajo el control hormonal y de los factores ambientales. Existen trabajos, efectuados con distintas plantas caducifolias, que aportan evidencias sobre el papel de las auxinas (producidas en las yemas y hojas jóvenes que reanudan su actividad en primavera) sobre la actividad cambial de los tallos y raíces. Por otro lado, en *Robinia pseudoacacia* se comprobó que este proceso está condicionado por el fotoperíodo y que el estímulo se origina en las hojas maduras.

En algunos casos, también se ha implicado a las giberelinas y a las citocininas en este proceso estacional. Así, en el damasco, las pulverizaciones con AG_3 estimularon la actividad del cámbium y la formación de xilema, sin un aumento paralelo en la formación de floema.

En *Acer sp.*, se requirieron tratamientos combinados de AG_3 y AIA para obtener un desarrollo normal del xilema secundario. Por otro lado, en los segmentos ahilados de los epicótilos de arveja, se observó que se requería cinetina para obtener elementos xilemáticos normales. En el proceso deben de estar implicadas también otras sustancias —como los nutrientes— ya que se observó que, para obtener lignificación en cultivos *in vitro*, era necesario que el medio tuviese un

adecuado nivel de calcio. Es evidente que aún falta investigar mucho más para aclarar el panorama confuso de la diferenciación de los tejidos.

ORGANOGENESIS

El trabajo de Skoog y Miller sobre la iniciación de órganos en tejidos cultivados *in vitro* ya ha sido descrito (pág. 411 y figura 147). Posteriormente, el control hormonal de la organogénesis ha sido repetido por otros autores utilizando especies diversas. Por ello, resulta claro que la canalización de la actividad meristemática hacia la organización de una estructura particular —yema caulinar o radical— está controlada por un balance muy sutil de auxinas y citocininas. Los resultados de Skoog y Miller se han aplicado al control de la organogénesis en raíces separadas del resto de la planta (figura 148), e incluso en individuos completos. Así, en *Taraxacum officinale*, el tratamiento de las plantas por medio de SD 8339 (que es una citocinina sintética) indujo la formación de yemas adventicias en las raíces. El agregado exógeno de la citocinina alteró el balance de los reguladores endógenos en forma tal que se produjeron yemas fuera del sitio normal de origen. Sin embargo, el proceso no es tan simple, ya que además pueden actuar otros factores, como el nivel de los carbohidratos y/o fosfatos, la fuente nitrogenada que se emplee, la presencia de ciertas purinas, etcétera.

Diferenciación y crecimiento del vástago y las raíces

Una vez producida la iniciación del vástago, su posterior alargamiento y diferenciación es un fenómeno muy complejo sobre el cual actúan distintos grupos hormonales. Si se considera el crecimiento en longitud de los tallos de una planta, las auxinas determinan el grado de elongación de las células derivadas del meristema apical (véase pág. 396). Tanto

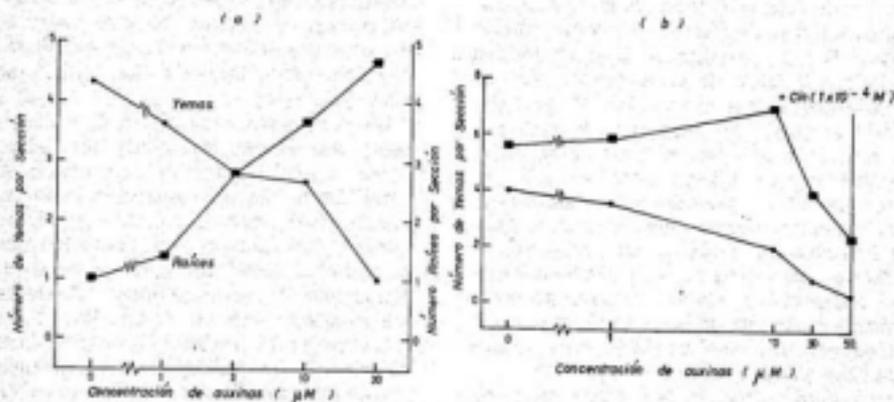


Figura 148. Organogénesis en raíces separadas del resto de la planta (véase el texto; tomado del trabajo de N. P. Kefford y O. H. Case: "Organ regeneration on excised roots of *Chondrilla juncea* an its chemical regulation". *Aust. J. Biol. Sci.* 25: 691-706, 1972).

en las arvejas como en el coleóptilo de la avena se ha encontrado una correlación estrecha entre la cantidad de auxinas obtenidas por difusión y la relación de crecimiento (figura 149). En general se acepta que el crecimiento del tallo es proporcional al logaritmo de la concentración de auxinas.

Las giberelinas, por su parte, actúan sobre las células del meristema subapical,

tanto en la mitosis como en el alargamiento celular. Este hecho se observa claramente luego del tratamiento con AG_3 de una planta arrosada (véase pág. 503). En esta forma se obtiene un aumento del número de células que produce ese meristema, así como una mayor longitud de ellas, que se traduce en entrenudos más largos. También se ha obtenido una correlación positiva entre

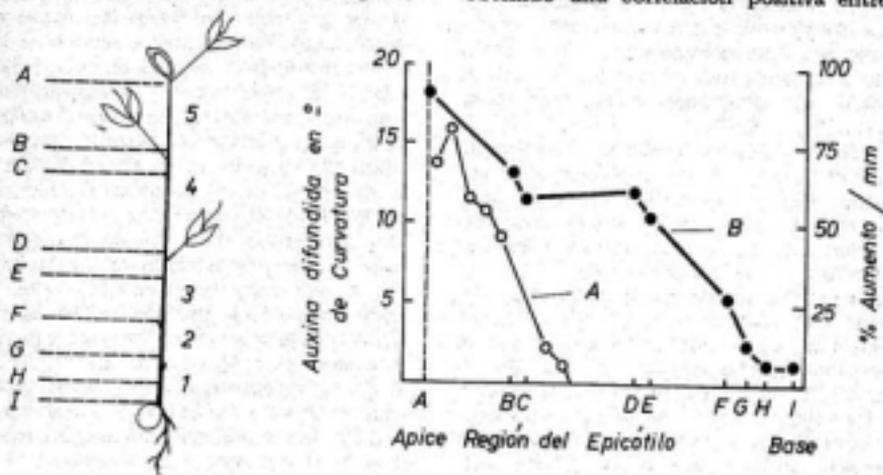


Figura 149. Correlación entre crecimiento y contenido de auxinas a lo largo del epicótilo de una planta de arveja (tomado de T. K. Scott y W. R. Biggs, *Amer. J. Bot.*, 47: 492-499, 1960).

el crecimiento de los entrenudos de una planta joven de girasol y el contenido de giberelinas, y asimismo existen evidencias circunstanciales de que ambos grupos hormonales interactúan en el proceso. Esto se probó en segmentos de entrenudos, los cuales no responden al tratamiento con auxinas; pero si éstas se agregan a las giberelinas se obtiene un crecimiento mayor que cuando se emplean sólo las últimas. Es decir que, al parecer, la acción de las giberelinas sobre el alargamiento de los entrenudos necesita la presencia de las auxinas que, en el caso de una planta intacta, serían producidas por el ápice.

Recientemente se han obtenido pruebas de que también el etileno actuaría sobre el crecimiento de los tallos. El tratamiento con este regulador de plantas intactas o entrenudos aislados provocó una inhibición del crecimiento en longitud, pero también un aumento en el diámetro debido a una expansión isodiamétrica de las células.

Este proceso se ve complicado todavía más en el caso de las plantas leñosas caducifolias, en las cuales el alargamiento de los tallos, así como otros procesos, disminuye o cesa al llegar el otoño. En estas plantas, el ABA es el responsable de esa detención del crecimiento, y además se ha demostrado que su reiniciación en primavera está correlacionada con el nivel de giberelinas endógenas (véase cap. XV).

No se ha comprobado ningún papel de las citocininas en el crecimiento en longitud de los tallos. Sin embargo, estas hormonas actúan en el proceso de crecimiento de las yemas axilares, inhibidas por la yema apical (véase pág. 506).

Distintos factores externos actúan sobre la morfogénesis de los tallos. Uno de los más notorios es la luz, cuya ausencia provoca el alargamiento de los entrenudos, la falta de pigmentación y una estructura interna escasamente desarrollada. A la planta que presenta estos caracteres se la denomina *ahilada*. Asimismo, la acción de la luz se manifiesta en toda claridad en las plantas bienales

(véase pág. 503). Además, la duración del fotoperíodo influye en el engrosamiento de los tallos subterráneos, como ocurre en el proceso de tuberización en la papa (véase pág. 505).

La temperatura puede influir en el grado de diferenciación de los tallos. Como ejemplo podemos mencionar el alargamiento de los entrenudos de las plantas jóvenes de frutales, como el duraznero y el manzano, que requieren que las semillas pasen un período de bajas temperaturas para que luego presenten una elongación normal de aquéllos.

Las hojas se originan como apéndices laterales de los tallos, cuando un grupo de células superficiales comienzan a dividirse en forma periclinal y con un ritmo mayor que el resto del meristema apical. Muy poco se sabe acerca de los factores que determinan el ordenamiento característico de las hojas a lo largo del tallo (filotaxia) el cual depende de la especie, el crecimiento y aun del estado de desarrollo del individuo. En este campo se han realizado interesantes trabajos de microsección para poder aclarar los factores que intervienen en la diferenciación y crecimiento de una hoja nueva.

Se han elaborado dos teorías: una considera que la proximidad inmediata de un primordio inhibe la formación de otro semejante —similar a la idea de los meristemoides de Bünning (véase pág. 410)—, mientras que la otra propone que un primordio nuevo puede formarse siempre que exista un espacio libre mínimo. No existen evidencias fisiológicas y bioquímicas que permitan establecer cuál de las dos interpretaciones es la correcta. En todo caso, el origen de una nueva hoja parece estar controlado por la interacción de agentes producidos por el ápice caulinar y por los primordios y hojas jóvenes vecinas. Sin embargo, se desconoce la naturaleza de esos factores.

El crecimiento de las hojas es consecuencia de la actividad de zonas meristemáticas que funcionan durante un lapso y en forma secuencial. Las auxinas, giberelinas y citocininas parecen actuar sobre este proceso, pero la información que se

posee actualmente es muy escasa. Las auxinas, según el grado de concentración, estimulan o inhiben el crecimiento de la nervadura con acción muy escasa o nula sobre el mesófilo; sobre éste actúan los otros dos grupos hormonales. Con respecto a las giberelinas se han presentado evidencias experimentales de que existe una correlación positiva entre el contenido de ellas y el crecimiento de las hojas. Además utilizando discos cortados de hojas aisladas se determinó que actúan sobre el proceso de expansión foliar a través del alargamiento celular, en la misma forma que actúan las citocininas. El período de división celular que precede al del alargamiento de las células parece más afectado por factores ambientales como la luz roja. Además, la luz es fundamental para la expansión de la lámina foliar, especialmente en las dicotiledóneas.

El agua es otro factor ambiental que afecta el grado de diferenciación y crecimiento de las hojas. El ejemplo más claro se presenta en los casos de xeromorfismo, que puede observarse en las plantas que han crecido con escasez de agua. Estas poseen hojas de menor tamaño, con células de paredes más gruesas, cutícula más espesa y una mayor proporción de tejido mecánico. Estas adaptaciones pueden encontrarse en la misma planta, ya que la orientación y disposición de las hojas pueden afectar su disponibilidad de agua.

Todavía más oscuro es el problema de la determinación de la forma de las hojas, especialmente en aquellas plantas que presentan heterofilia. En estos casos, la forma cambia progresivamente o en forma abrupta, a medida que se originan nuevas hojas. En el control de la heterofilia parecen actuar factores internos (nivel de giberelinas y/o citocininas, de azúcares en el ápice, etcétera) y externos (cantidad y calidad de la luz, duración del fotoperíodo, estado hídrico, etcétera). Hacen falta más investigaciones para dejar aclarado este aspecto de la morfogénesis foliar.

En el embrión se encuentra diferenciada la raíz primaria, aunque en el caso de las monocotiledóneas pueden observarse hasta cuatro raíces seminales. Estas raíces primarias se ramifican en forma más o menos característica, y con intervalos más o menos constantes a partir de una cierta distancia desde el ápice. La información acerca de los factores que controlan esta disposición es nula. Con respecto a la iniciación de las raíces, las auxinas desempeñan un papel fundamental. Los datos más importantes provienen de los estudios sobre la formación de las raíces adventicias en las estacas de los tallos (véase la pág. 640). Sin embargo, otros factores parecen estar involucrados en el proceso. Cooper (1936), trabajando con estacas foliosas de limonero, estimuló considerablemente la formación de raíces con ácido indolil butírico (IBA). No obstante, una segunda aplicación sobre la base de las estacas, previa remoción de la zona donde se generaron las raíces, no produjo enraizamiento. Con ello se demuestra que la rizogénesis en esa especie no sólo depende de la auxina, sino también de otro factor endógeno, probablemente sintetizado en las hojas, que se agota en el primer tratamiento. A estos factores de carácter desconocido, naturalmente producidos en las estacas, se les dio el nombre genérico de "rizocalinas" por la propiedad que poseen de formar raíces (Bouillenne y Went, 1933).

Análogamente se demostró que el enraizamiento de ápices de espárrago cultivados *in vitro* depende del suministro de auxina y de un factor endógeno sintetizado sólo a la luz.

Particularmente interesantes resultan las experiencias realizadas sobre *Hibiscus*. La capacidad de enraizamiento de un cultivar de flores rojas en presencia de auxina se correlaciona directamente con el número de hojas dejadas en la estaca. Cuando ésta es defoliada totalmente, la auxina aplicada (IBA) no ejerce ningún efecto. Del mismo modo, cuando las estacas con hojas no se tratan con auxina, el fenómeno tampoco tiene

lugar. De éstas y otras experiencias se deduce que la formación de raíces en las estacas de *Hibiscus* rojo depende de la acción conjunta de la auxina y de un factor endógeno sintetizado en las hojas y trasladado hacia la base del eje caudinal. También es posible demostrar que el efecto foliar puede reemplazarse con compuestos orgánicos como la arginina y aun con sales de amonio $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$.

Los cultivos de tejidos *in vitro* permitieron demostrar fehacientemente la naturaleza hormonal de ese tipo de estímulos y los fenómenos histológicos que provocan durante la inducción rizogénica. Los fragmentos de parénquima de reserva de topinambur, cv. Violeta de Rennes,

sólo enraízan si el medio de cultivo contiene azúcares y ácido naftaleno acético (ANA), y si además se los expone a luz continua durante 7 u 8 días. Injertando fragmentos previamente iluminados y cultivados en medios desprovistos de auxina sobre portainjertos cultivados en medios con auxina, pero crecidos en la oscuridad, se demostró que el estímulo generado por la luz se trasladó a través del injerto induciendo la formación de raíces en el pie (fig. 150).

Simultáneamente se estudiaron los fenómenos histológicos que cada factor induce durante el proceso rizogénico. Al tercer día de la "siembra", la auxina (ANA) provoca proliferación celular por

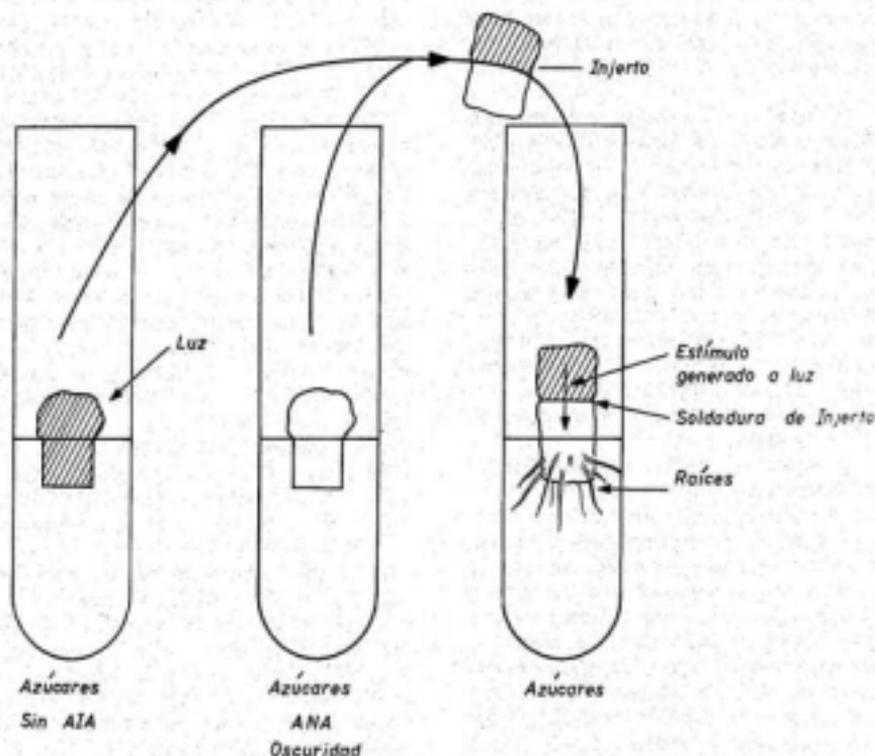


Figura 150. Experimento en el que se demuestra que la formación de raíces en *Hibiscus* depende de auxina y de un factor endógeno (véase el texto).

desdiferenciación de las células del parénquima de reserva. Veinticuatro horas después la misma auxina induce la diferenciación de "islotos" floemáticos y de grupos de traqueidas entre los que se forma, al día siguiente, una zona de tipo cambial. Si a partir de ese momento el fragmento no se ilumina, el cambium puede seguir diferenciando tejidos vasculares. Luego de la exposición a la luz, las células cambiales se desdiferencian activamente y en su interior se originan numerosas células de tipo meristemático que pronto se organizan en un meristema primario (9^o día). A partir de ellos se forman los primordios radicales.

En las estacas preparadas para enraizar, los procesos histogénicos y morfogénicos son semejantes a los descritos anteriormente. La auxina provoca la desdiferenciación de células del parénquima floemático y aun del cambium. Luego, juntamente con otros factores endógenos (cofactores) o exógenos (adenina, biotina, citocininas), provocan la formación de primordios radicales que dan lugar a raíces, las que crecen si la concentración auxínica no es demasiado elevada.

Experiencias similares demostraron que, en la mayoría de los casos, la capacidad rizógena de las estacas depende de la participación de la auxina y los cofactores cuando actúan en determina-

das relaciones de concentración. Se demostró que, en la vid, la máxima expresión rizógena se logra cuando la auxina (IBA) actúa junto con un cofactor —presumiblemente biotina— contenido en el extracto de levadura autolizada. La capacidad rizógena aumenta considerablemente mediante fenómenos de sinergismo entre ambos factores de crecimiento (cuadro 1).

Es necesario destacar que algunos autores sustentan aún el concepto de "rizocalina", atribuido a esos factores endógenos necesarios para la rizogénesis. No obstante, y a medida que se conoce la naturaleza química de algunos de ellos, el concepto tiende a debilitarse o a caer en desuso.

Otras sustancias participan también en el control de la rizogénesis. Muchas sustancias endógenas de naturaleza inhibitoria interfieren el fenómeno. Mediante el lavado con agua durante períodos variables (24, 48, 72 h), los inhibidores pueden eliminarse o atenuarse en las estacas, lo cual permite la expresión rizógena. El aumento gradual de la capacidad de enraizamiento, que en muchas especies se manifiesta hacia la primavera, se correlaciona, en general, con una disminución progresiva del contenido de inhibidores y con un aumento simultáneo del tenor de auxinas endógenas.

Cuadro 1. Efectos del IBA y de la biotina sobre la capacidad de enraizamiento de pémpenos de vid cultivares Malbeck (M) y Kobber 5 BB (K) cultivados *in vitro* (Tizio, 1967).

	IBA (ppm)							
	0				5			
	Biotina (ppm)							
	0		0,001		0		0,001	
	M	K	M	K	M	K	M	K
% de enraizamiento	15	0	0	7	55	44	90	85
N ^o de raíces por estaca	1,0	0	0	1,0	2,5	3,4	6,0	9,1

La capacidad de enraizamiento también depende del estado fisiológico de las plantas dadoras de estacas, de la edad del material y de las condiciones reinantes durante el enraizamiento. Así, por ejemplo, muchas especies difíciles de enraizar lo hacen si sus tejidos se hallan en estado de máxima turgencia, lo cual se logra manteniendo una humedad relativa muy alta alrededor de las estacas.

Por último, la estratificación de estacas tiene por objeto acelerar la desaparición de sustancias inhibitoras así como la aparición de la actividad auxínica y, probablemente, de cofactores.

El cultivo *in vitro* de raíces aisladas ha aportado datos concernientes a los factores que podrían actuar sobre la ramificación radical. Así, en los cultivos de segmentos de raíces de arveja se observó que la carencia de tiamina, ácido nicotínico, adenina, arginina, lisina, ornitina y auxinas limitaba este proceso, en el cual asimismo intervienen factores externos. La luz roja suprime totalmente la iniciación de raíces laterales y su efecto es revertido por la luz roja lejana, lo cual implicaría la acción del pigmento fitocromo (véase 241). La cantidad de nutrientes disponibles puede afectar, también, el número de raíces laterales, de modo que es frecuente observar un mayor número de ellas en las capas del suelo donde se han aplicado fertilizantes.

Con respecto al crecimiento en longitud de las raíces, tanto las auxinas como las giberelinas actúan como inhibidores. Recientemente se ha sugerido que las primeras ejercerían esa acción por medio del control de la biosíntesis del etileno (véase 517), aunque existen algunas diferencias acerca del efecto de ambos reguladores sobre el proceso. Las citocininas, en cambio, parecen desempeñar un papel fundamental en la diferenciación de los tejidos vasculares secundarios. En el caso del rabanito se demostró que debía suministrarse cinetina, junto con AIA, para obtener un crecimiento secundario de las raíces cultivadas *in vitro*. En este crecimiento empero que puede dar lugar a la formación de raíces engrosadas, influyen

las condiciones ambientales, sobre todo el fotoperíodo.

REGENERACION

Muchas plantas vasculares muestran una capacidad muy acentuada para reemplazar o restaurar partes de órganos, e incluso órganos enteros, que han perdido por daños, enfermedades o ataques de depredadores. El fenómeno se denomina *regeneración* y su estudio ha despertado el interés de muchos investigadores por el hecho de que los procesos regenerativos son muy similares o idénticos a los procesos normales de diferenciación. Su importancia práctica es muy grande, ya que el fenómeno se aplica frecuentemente en la propagación de muchas especies útiles. Además, algunas malezas perennes, que se caracterizan por su agresividad, tienen esta propiedad de regenerar fácilmente la parte aérea, lo que hace muy difícil su control.

Si bien Sinnott (1960) incluye dentro de este proceso a aquellos de reconstitución de tejidos que ocurren luego de una herida, por razones de extensión sólo se tratan aquí los fenómenos de "restauración". Este autor denomina así a la actividad meristemática que se verifica en las cercanías del lugar en donde se ha producido el daño o la separación de un órgano, actividad que lleva a la producción de estructuras nuevas que reemplazan a las perdidas y llegan a dar origen a un nuevo individuo. Para que esto ocurra, las células ya diferenciadas se "desdiferencian", recuperan su actividad meristemática y posteriormente se produce la rediferenciación de una estructura nueva. El proceso puede incluir la formación de un callo en el que se originan los nuevos órganos.

Prácticamente, cualquier órgano puede regenerar órganos adventicios (raíces, tallos, hojas, ejes florales, etcétera). Sin embargo, las raíces y los tallos son los más utilizados en la práctica de la propagación vegetativa, por lo cual son los más estudiados. Aquí también se observa

una polaridad en la diferenciación (véase pág. 565), la que es más acentuada en los tallos que en las raíces u hojas. Así, indistintamente de la posición que tenga el órgano o segmento de órgano colocado en situaciones de regenerarse, las yemas se formarían en un extremo y las raíces en el otro. Si se trata de un tallo, las yemas se producirán en el extremo distal y las raíces en el extremo proximal; en tanto que, en una raíz, la situación es la inversa.

Distintos factores exógenos y endógenos pueden afectar el proceso de regeneración. Entre los primeros, la gravedad puede llegar a interferir al alterar el número de órganos neoformados, su lugar de origen y el modo de formación. Así, en la alfalfa, la orientación impuesta al segmento de raíz determinó que se formaran menos yemas adventicias, y de

tamaño menor sobre el callo que proliferó en el extremo distal, cuando era invertido con respecto a la posición normal (extremo proximal hacia abajo) (fig. 151).

Con respecto a los factores internos, ya se mencionó anteriormente el efecto que el balance de auxinas/citocininas tiene sobre la expresión morfológica de la actividad meristemática.

Este tipo de formación de órganos adventicios como resultado de lesiones o separación de órganos tiene su contraparte en la formación de individuos completos sobre órganos de la planta intacta, como un proceso normal y espontáneo de propagación vegetativa. Son bien conocidos los embriones foliares de numerosas especies de la familia *Crassulaceae* (*Kalanchoe*, *Bryophyllum*, etcétera). Dado que, en muchos casos, el nuevo individuo se origina a partir de células no meristemáticas (epidérmicas o subepidérmicas), este proceso es un buen ejemplo de la totipotencialidad celular. A este ejemplo de regenera-

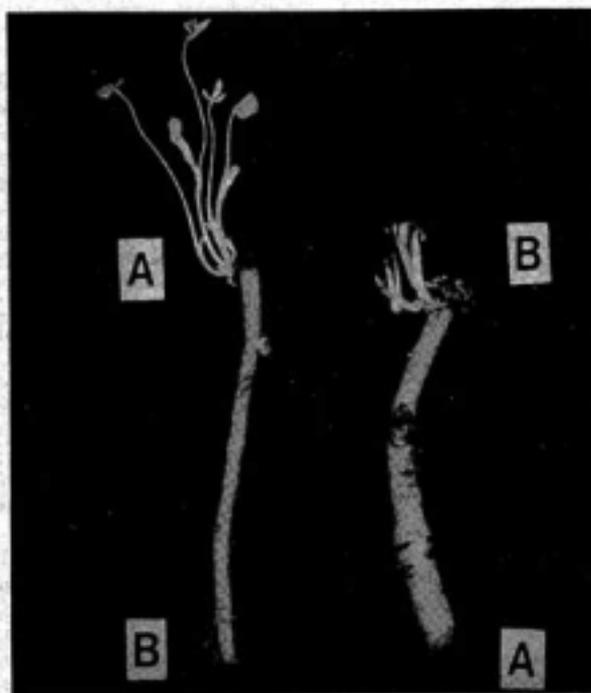


Figura 151. Efecto de la gravedad sobre la regeneración de un tallo de alfalfa (véase el texto).

ción reproductiva —como lo denomina Sinnott— deben agregarse los casos de poliembrionia adventicia que se observa en géneros como *Citrus*, *Funkia* y otros. Se trata de la formación de embriones a partir de tejidos de la nucela o del saco embrionario, como síngridas o antípodas. Estos casos son muy utilizados en el mejoramiento fitotécnico.

B. FOTOMORFOGENESIS

R. SANCHEZ

En el capítulo de Fotosíntesis se ha estudiado el mecanismo por el cual las plantas convierten la energía luminosa en la energía química necesaria para su crecimiento. Pero para las plantas, la luz significa más que la fuente de energía ya que es uno de los medios a través de los cuales pueden detectar la situación del ambiente en el que están viviendo.

El ajuste de un organismo a un ambiente determinado depende, entre otros factores, de la capacidad para detectar los cambios del mismo y traducirlos en modificaciones fisiológicas y morfológicas, que le permitan cumplir con todas las funciones necesarias para completar su ciclo. Por ejemplo, el acortamiento de los días, que en condiciones naturales precede a las épocas de temperaturas más bajas, es en muchas plantas la señal que induce la detención del crecimiento y la adquisición de resistencia a las bajas temperaturas.

Existen en los vegetales mecanismos que pueden percibir la composición, duración e intensidad de la luz e influir en la actividad de las plantas de tal manera que su funcionamiento se hace dependiente del momento del día, de la estación del año, del estrato de vegetación en que están ubicadas, etcétera.

El estudio de la fotomorfogénesis comprende todos los procesos dependientes de la luz, distintos de la fotosíntesis, y que intervienen en el crecimiento y desarrollo de las plantas. A través de la fotosíntesis se producen cadenas carbonadas y se almacena energía. Los procesos fotomorfogénicos, jugando un pa-

pel regulador, intervienen en el control de la forma y momento de la utilización de los productos de la fotosíntesis, influyendo el tamaño, la forma y la composición de los distintos órganos, así como el momento en que algunos órganos comienzan o dejan de ser formados.

Esta asociación de la fotosíntesis con la nutrición y la fotomorfogénesis con la regulación puntualiza el "rol" más característico de los dos tipos de procesos, aunque en algunos casos los productos de la fotosíntesis tienen efecto regulador, y en otros los procesos fotomorfogénicos influyen sobre la producción de materia seca.

Si bien los procesos dependientes de la luz se estudian por separado, es conveniente tener presente que el comportamiento de las plantas en determinadas condiciones de luz es una respuesta integrada: el producto de la interacción de numerosas reacciones que comenzaron con un acto fotoquímico.

Cuando una molécula absorbe un quantum de luz, su nivel de energía se incrementa y pasa a un estado excitado. La excitación a nivel electrónico, además de un nivel de energía superior, confiere a la molécula una estructura electrónica diferente a la que posee en el estado fundamental. De manera que pueden esperarse cambios en el comportamiento químico de las moléculas así excitadas.

Aunque la mayoría de las moléculas que componen las células vegetales (H_2O , azúcares, proteínas, lípidos) no absorben energía en la porción del espectro visible, hay suficientes especies químicas capaces de ser excitadas por λ entre 400 y 700 nm como para que la luz pueda afectar en forma profunda la actividad de las plantas.

Para ilustrar la magnitud de esos cambios, podemos apelar a un caso extremo y comparar una plántula que ha crecido en oscuridad durante varios días después de la germinación, con otra que durante el mismo período ha recibido varias horas de luz por día (figura 152). Las reservas de las semillas han sido la principal fuente de nutrientes en ese lapso,

por lo que las diferencias entre esas plántulas no pueden ser atribuidas a diferencias en la nutrición. La que ha crecido en oscuridad, a la que se llama ahilada, presenta el hipocótilo extremadamente largo, una ausencia casi total de pigmentos (los que están presentes se encuentran en concentraciones bajas), y muy limitada expansión de los tejidos foliares. Estas diferencias morfológicas tan visibles, son el reflejo de numerosas alteraciones fisiológicas en todos los niveles: celular, subcelular y molecular.

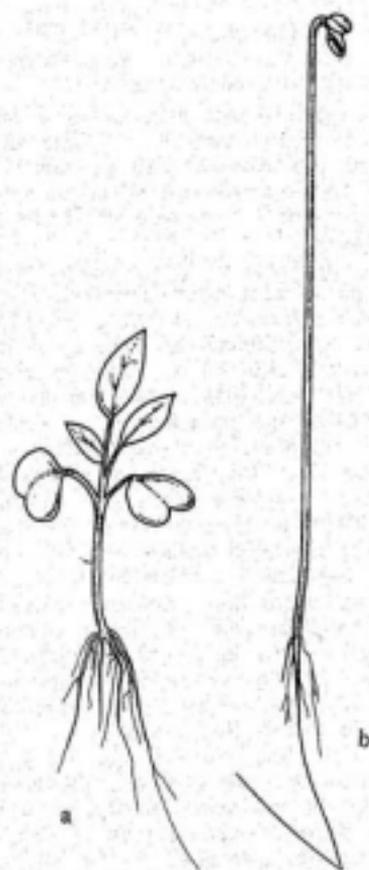


Figura 152. Dos plantas de la misma especie, una creció expuesta a la luz (a) y la otra en oscuridad (b).

Algunos efectos de la luz pueden ser puestos en evidencia exponiendo las plantas a intensidades muy bajas; por ejemplo el umbral de ciertas respuestas está por debajo de la intensidad de la luz lunar. Otros procesos, en cambio, requieren intensidades mayores como la fotosíntesis de las plantas de C_4 que en determinadas condiciones no se satura aun con la intensidad de la luz del sol en un mediodía claro de verano. En el cuadro 2 se indican las intensidades de luz capaces de provocar ciertas respuestas biológicas. Se puede observar que la variación se extiende sobre unos trece órdenes de magnitud.

Cuadro 2. Variaciones de intensidades de luz características de algunas respuestas biológicas. Adaptado de I. B. Salisbury: *The flowering process*, Pergamon Press.

$\mu W/cm^2$	
10^5	Luz solar, medio día de verano, cielo claro.
10^4	Saturación de la fotosíntesis (trigo).
10^3	Luz solar, mediodía, cielo nublado.
10^2	Control fotoperiódico de la floración.
10	Luz crepuscular.
1	Umbral de la inducción de la floración.
10^{-1}	Luz lunar (luna llena).
10^{-2}	Límite de la visión en colores.
10^{-3}	Umbral del fototropismo.
10^{-4}	Umbral de la apertura del gancho plumular.
10^{-5}	Límite de la visión.
10^{-6}	
10^{-7}	
10^{-8}	Umbral de la fotomorfogénesis.
	Respuesta a la luz roja del primer entrenudo de avena.

En la figura 153, se ejemplifican algunos de los efectos de la intensidad de la luz sobre el crecimiento y la morfogénesis. A medida que se incrementa la intensidad de la luz, la tendencia general es que los ejes sean cada vez más cortos. Es frecuente también que dentro de ciertos límites la concentración de pigmentos, como las antocianinas, sea mayor, y aumente el espesor de la lámina foliar.

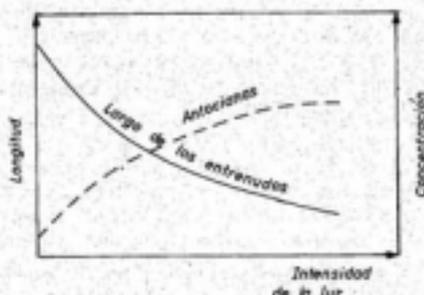


Figura 153. Efecto de la intensidad de la luz sobre el alargamiento de los entrenudos y la síntesis de antocianinas.

La respuesta del crecimiento en el área de las hojas, varía según las especies y las condiciones de crecimiento. La lámina de las hojas de las dicotiledóneas no se expande en oscuridad. Una pequeña dosis de energía luminosa es suficiente para que se inicie el crecimiento y éste es mayor a intensidades más altas. En muchos de los casos investigados se ha encontrado que cuando se excede un determinado valor aumentando la intensidad de la luz el área foliar es cada vez menor (fig. 154). En algunas especies ese punto óptimo no se observa, y en otras no se encuentra netamente definido debido a que es muy pequeña la pendiente de la fase decreciente de la curva.

Conviene tener en cuenta que la exposición de las hojas a distintas intensidades de luz, además de los efectos directos sobre los procesos fotoquímicos, puede tener consecuencias indirectas a través de modificaciones en la temperatura y el ritmo transpiratorio. Las reduc-

ciones en el área foliar a las intensidades más altas de luz podrían, al menos en parte, deberse a déficits en el balance de agua.

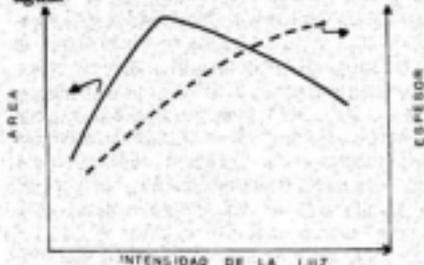


Figura 154. Efecto de la intensidad de la luz sobre el área y el espesor de las hojas.

El ritmo de producción de primordios foliares depende también de la intensidad de la luz; dentro de una variación amplia, cuanto mayor es la intensidad luminosa, mayor es el número de primordios formados.

Como hemos visto, la intensidad de la luz puede tener mucha influencia sobre las dimensiones del aparato fotosintético (área foliar, número de hojas, espesor de la lámina, etcétera) en algunas especies esa influencia alcanza también al sistema enzimático que interviene en la fotosíntesis, como es el caso de *Solidago virgaurea*. Cuando las hojas de esta especie crecen expuestas a intensidades altas de luz tienen un nivel de carboxidismutasa mayor que hojas similares que han crecido sometidas a bajas intensidades.

Otro factor importante para el crecimiento de las plantas es la duración del período diario de luz (fotoperíodo). La mayor parte de los estudios sobre fotoperiodismo se han realizado en relación con el control de la floración.

Se conoce también que el fotoperíodo puede regular varios aspectos del crecimiento vegetativo. En muchas especies la formación de órganos de reserva depende de la longitud del día; algunas variedades de cebolla sólo forman bulbos cuando los días son largos, y las plantas de papa son estimuladas por los días cortos para la formación de tubérculos. La formación de raíces en estacas de

Salix undulata es mucho mayor cuando son cortadas de plantas que han estado expuestas a días largos. También la dormición de las yemas, el tamaño y forma de las hojas, el alargamiento de los entrenudos, el grado de ramificación, etcétera, se encuentran entre los fenómenos que pueden ser controlados por la duración del fotoperíodo.

Las respuestas morfogénicas a una determinada intensidad y duración del período diario de luz están condicionadas en grado superlativo por la calidad, es decir por la composición espectral de la luz provista. En la figura 155 pueden observarse tres plantas de melón que crecieron bajo un régimen de 10 horas de luz por día. Durante 8 horas las tres estuvieron expuestas a una fuente de luz fluorescente, pero durante las 2 últimas horas recibieron luz de tres fuentes distintas aunque con la misma intensidad. La planta tratada con luz de lámparas incandescentes presenta entrenudos y pecíolos sumamente alargados y las hojas delgadas y de color verde claro. Por el contrario, la expuesta a luz fluorescente tiene entrenudos y pecíolos más cortos y una pigmentación más intensa. El tratamiento con una fuente de luz que incluía lámparas incandescentes y fluorescentes produjo una planta de aspecto intermedio.

La composición espectral constituye un factor a tener en cuenta no sólo cuando se cultivan plantas con luz artificial sino también en la interpretación del comportamiento de las plantas creciendo en condiciones naturales.

En la comunidad vegetal al ser interceptada la luz solar por las hojas de los estratos superiores de la canopia no sólo disminuye la intensidad, sino que también se modifica la composición. Debido a los pigmentos presentes en las hojas, principalmente la clorofila, las radiaciones con longitudes de onda en las zonas del azul y el rojo son más absorbidas que las correspondientes al verde y al rojo lejano. El aumento en la proporción en λ entre 700 y 800 nm en relación a aquéllas entre 600 y 700 nm tiene consecuencias

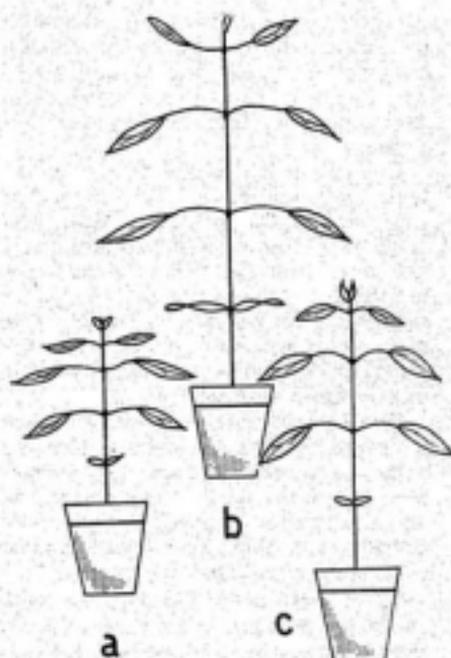


Figura 155. Efecto de la calidad de la luz durante las dos últimas horas del día: (a) recibió luz fluorescente; (b) luz incandescente y (c) luz de una fuente compuesta por una mezcla de luz fluorescente e incandescente.

importantes en la actividad de las plantas y es uno de los factores que intervienen en el ajuste del crecimiento en condiciones como las de un sotobosque o una plantación muy densa.

Luego de haber pasado revista a algunos de los muchos efectos que puede tener la luz sobre las plantas según su intensidad, duración y calidad, es pertinente preguntarse cuáles son los mecanismos a través de los cuales se traducen en cambios fisiológicos las modificaciones en las características del flujo radiante que llega a las plantas.

Un elemento central en estos procesos fotoactivados es la sustancia que absorbe la luz, es decir un pigmento, al que se lo

denomina *fotorreceptor*. La excitación del fotorreceptor posibilita la reacción primaria; el primer cambio químico al que sucederán otros que eventualmente darán como resultado una respuesta morfológica.

Una descripción adecuada de un sistema fotomorfogénico debería incluir respuestas a las preguntas siguientes: ¿cuál es el fotorreceptor?, ¿dónde está ubicado?, ¿qué sucede con las moléculas excitadas?, ¿qué dosis de energía se requieren para activar el proceso?, ¿de qué manera los productos de la reacción fotoquímica influyen en la expresión de una respuesta morfológica?

Para obtener respuestas acerca de esos interrogantes existen diversas técnicas; entre las determinaciones que aportan elementos útiles para el conocimiento de un fotosistema se incluyen el espectro de actividad y el grado de proporcionalidad entre la luz absorbida y la respuesta.

El espectro de actividad se construye midiendo la respuesta a distintas longitudes de onda. Uno de los procedimientos que se han usado, como en el caso de la figura 156, consiste en determinar la energía necesaria para obtener una determinada respuesta (por ejemplo 50% de germinación) en cada longitud de onda. Si se establecen las condiciones experimentales necesarias para que la magnitud de la respuesta sea proporcional a la cantidad de luz absorbida por el fotorreceptor entonces en aquella λ donde el requerimiento en energía incidente sea mínimo debe esperarse que el fotorreceptor tenga un máximo de absorción. De modo que comparando el espectro de actividad de un proceso con los espectros de absorción de los pigmentos se puede inferir cuál puede ser el fotorreceptor en ese proceso. Sin embargo esta técnica puede estar limitada por varias razones: la presencia de otros pigmentos que pueden enmascarar al fotorreceptor o cambios en los espectros de absorción según el medio en que se encuentren los pigmentos. De modo que comparando el espectro de actividad de un proceso con los espectros de absorción de los pigmentos se puede inferir

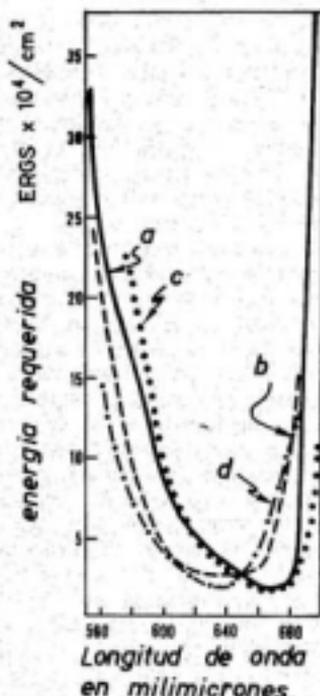


Figura 156. Espectro de actividad de la promoción de la germinación de semillas de lechuga: (a), inhibición de la floración; (b), promoción de la expansión de las hojas de arveja; (c), se representa la energía necesaria para promover en un 50% la germinación, 45% la expansión de las hojas y la inhibición de la floración en un 50%. (Tomado de S. B. Hendricks, "Photochemical aspects of plant photoperiodicity", en *Photophysiology* (comp. por A. C. Giese), Vol. I, 1964, pág. 305-331.)

cuál de ellos puede ser el fotorreceptor en ese proceso. Sin embargo, esta técnica puede estar limitada por varias razones; la presencia de otros pigmentos que pueden enmascarar al fotorreceptor, o la falta de proporcionalidad entre la respuesta y P , o si ϕ no es constante en toda la variación de λ . Además, los pigmentos *in vivo* pueden presentar espectros de absorción diferentes de los que se determinan en solución.

Si se estudia el efecto de distintas combinaciones de intensidad de luz y el

tiempo de exposición se puede conocer en qué medida la respuesta es proporcional a la cantidad de luz absorbida, es decir, si se cumple la llamada ley de Bunsen-Roscoe ($R = kIt$).

Cuando la respuesta del sistema en estudio no se ajusta a las predicciones de la ley de reciprocidad significa que la concentración del fotorreceptor cambia dentro de los lapsos de irradiación elegidos, o es función de la intensidad de la luz, o que la respuesta no es proporcional a P .

Fitocromo

Una plántula de arveja puede crecer varios días en la oscuridad sin que sus hojas se expandan en forma apreciable; pero 10 minutos de luz son suficientes para que comiencen a crecer. Las semillas de chamico (*Datura ferox*) no germinan varios meses después de la maduración si son incubadas en oscuridad completa. Es suficiente exponerlas durante 20 minutos a una luz de baja intensidad para que germinen más del 80%. En un régimen de 9 horas de luz por día, las plantas de *Chrysanthemum morifolium* son inducidas a florecer. Pero si cerca de la mitad de la noche reciben 1 minuto de luz fluorescente, permanecen en estado vegetativo.

Estudiando el espectro de actividad de esos tres efectos de la luz (figuras 156 y 157), observamos que es casi exactamente el mismo. Las longitudes de onda más efectivas se encuentran cerca de los 660 nm, es decir en el sector del espectro correspondiente a la luz roja. Otra característica común a los tres es el bajo requerimiento energético. Para la inducción de la germinación de las semillas de chamico, por ejemplo, son suficientes 10 a 20 minutos de luz roja de intensidad del orden de los $100 \mu W cm^{-2}$ (aproximadamente unas 1000 veces menos que la intensidad de la luz solar cerca del mediodía en el verano).

Una particularidad notable de este fenómeno, es que el efecto de la luz roja

(600-700 nm) puede anularse por la luz de la región del espectro denominada rojo lejano (700-800 nm). Las semillas de chamico que no germinan en la oscuridad pueden ser inducidas a germinar si son sometidas durante 20 minutos a luz roja; pero si inmediatamente después de la luz roja (R) reciben 10 minutos de rojo lejano (RL), la germinación que se obtiene es igual a la de las semillas mantenidas todo el tiempo en la oscuridad.

En el cuadro 3 se muestra el resultado de tratamientos alternados con R y RL. La magnitud de la germinación depende de la clase de luz que han recibido en último término.

Cuadro 3. Germinación de semillas de *Datura ferox* expuestas a diferentes irradiaciones con luz roja (600-700 nm) o roja lejana (700-800 nm) (tomado de A. Soriano et al., Can. J. Bot. 42 (1964)).

Tratamiento	Germinación (%)
Oscuridad	2
10 min R	66
10 min R + 20 min RL	0
10 min R + 20 min RL + 10 min R	64

El espectro de actividad de la reversión por el rojo lejano del efecto de la luz roja, también es sumamente parecido para los tres procesos, y el máximo de actividad se encuentra en los 730 nm.

La similitud entre los espectros de actividad y en los requerimientos energéticos indican que en los tres procesos mencionados el fotorreceptor es el mismo pigmento. El conocimiento que se posee actualmente de ese pigmento se debe en gran parte al trabajo desarrollado desde 1952 por un grupo de investigadores del Departamento de Agricultura de E.U.A. en los laboratorios de Beltsville, Maryland. Ese grupo, encabezado por S. B. Hendricks y H. A. Borthwick, sobre la ba-

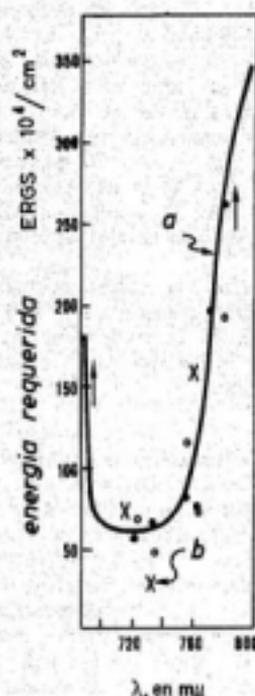
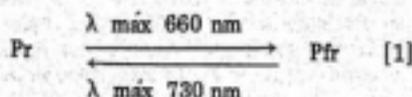


Figura 157. Espectro de actividad para la reversión del efecto de la luz roja sobre la germinación (a) y la floración (b). (Tomado de ídem figura 156).

se de experiencias fisiológicas, predijo una serie de características del pigmento, al que se llamó fitocromo, que fueron luego corroboradas cuando el fitocromo fue detectado *in vivo*, extraído y parcialmente purificado por el mismo equipo.

El fitocromo puede encontrarse en dos formas: una con un máximo de absorción en los 660 nm (Pr) y otra con un máximo en los 730 nm (Pfr). Ambas formas son interconvertibles, es decir que como consecuencia de la absorción de la luz, Pr se transforma en Pfr y Pfr en Pr.



Se cree que la forma activa es la Pfr. Si se iluminan las semillas de *chamico*, o las plantas de crisantemo con luz roja en el medio de la noche Pr se transforma en Pfr; la presencia de éste determina de alguna manera la inducción a la germinación en un caso, y la inhibición de la floración en el otro.

Dos elementos útiles para evaluar la importancia del fitocromo son la distribución del pigmento en el reino vegetal y las actividades fisiológicas afectadas por el nivel de Pfr.

Este pigmento ha sido detectado, ya sea por medición directa o por medio de experimentos fisiológicos, en representantes de todas las jerarquías taxonómicas vegetales, con excepción de los hongos, por lo que su distribución es similar a la de la clorofila.

En el cuadro 4 se indican las actividades fisiológicas en las que podría participar como elemento de regulación. Esta lista no es exhaustiva y podría hacerse aún más larga. Entonces existen argumentos suficientes como para afirmar que son numerosos los mecanismos importantes que en una variedad muy amplia de plantas pueden ser controlados por la luz a través del fitocromo.

Cuadro 4. Procesos fisiológicos en cuyo control participe el fitocromo.

La germinación
El alargamiento de los entrenudos
El crecimiento de las hojas
La formación de primordios foliares
La diferenciación de estomas
La síntesis de antocianinas
El alargamiento de los pecíolos
La síntesis de clorofila
La forma de las hojas
La producción de pelos en el hipocótilo
La floración
La formación de los tubérculos
La distribución de los productos de la fotosíntesis

El fitocromo es una cromoproteína capaz de absorber luz desde los 200 hasta los 800 nm. Como consecuencia de la absorción de la luz, las propiedades físico-químicas de la molécula cambian, y una de las manifestaciones de esos cambios es la modificación del espectro

de absorción. Después de ser iluminada con R, la cromoproteína presenta un pico cerca de los 730 nm, y otro próximo a los 660 nm. Después de irradiada con RL, el pico de absorción se encuentra próximo a los 660 nm (figura 158). Las propiedades espectrales son diferentes *in vivo* e *in vitro*. Los picos de absorción *in vivo* en plántulas de arroz se encontraron entre 665 y 735 nm, mientras que en soluciones de fitocromo extraído de esas mismas plantas se situaban entre 665 y 725 nm. El hecho que después de la irradiación con RL se observe un pico, en el espectro de absorción y después de la irradiación con R dos, indica que el RL desplaza la reacción fuertemente hacia la formación de Pr. En cambio, irradiando con rojo lo máximo que se puede desplazar la reacción hacia

Pfr es hasta conseguirse una mezcla compuesta de 81 % de Pfr y 19 % de Pr debido a que Pfr absorbe luz entre los 600 y 700 nm. La absorción del Pr en la zona de $\lambda > 700$ nm es sumamente reducida, por lo que irradiando con rojo lejano se puede conseguir desplazar la reacción hasta que aproximadamente un 98 % del fitocromo se encuentre en la forma Pr. Estas transformaciones de una forma a otra son reversibles y mediante irradiaciones con R o RL, Pfr se puede transformar en Pr y viceversa, muchas veces sin que se deteriore el sistema.

El fitocromo ha sido aislado y se ha visto que la reversibilidad se mantiene en solución de la misma manera que originariamente en las células, siempre y cuando se preserve la integridad de la proteína.

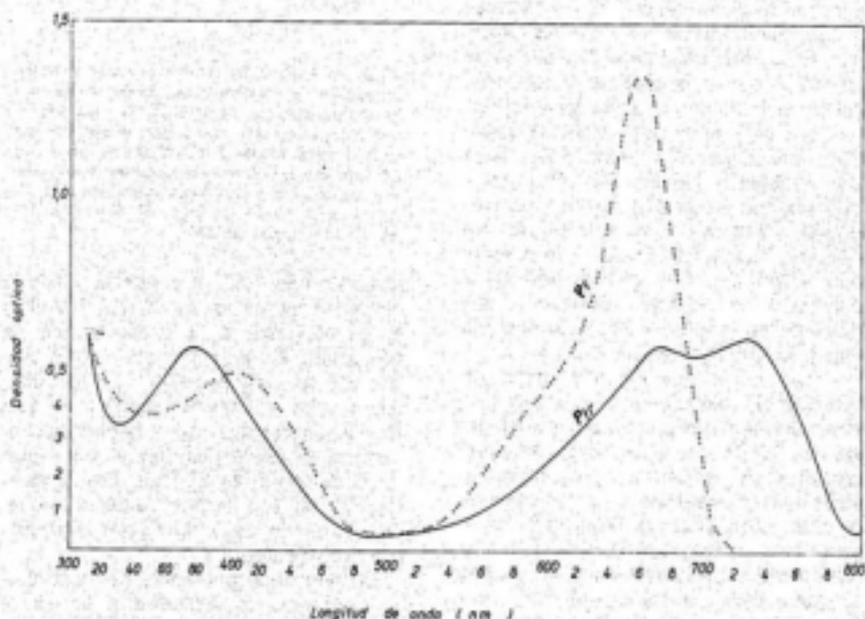


Figura 158. Espectro de absorción de una solución de fitocromo después de irradiada con rojo o rojo lejano. (Tomado de Butler, W. L., S. B. Hendricks y H. W. Siegelman 1964. *Photochem. and Photobiol.* 3, 521-528.)

Hasta el momento no se sabe con certeza en qué consisten, a nivel molecular, las diferencias entre las dos formas. La estructura propuesta para el cromóforo es la de un tetrapirrol, como la clorofila, pero en lugar de formar un anillo los cuatro piroles están en cadena abierta. El cambio de Pr a Pfr podría involucrar modificaciones tanto en el cromóforo como en la proteína. Cualquiera que sea el cambio en la estructura determina importantes diferencias en las propiedades del fitocromo, ya que el Pfr es más reactivo, más susceptible a la destrucción y, según se cree, la forma con actividad biológica.

La fotorreversibilidad es la propiedad más peculiar del fitocromo y provee un procedimiento para su localización y cuantificación. En los cotiledones de las semillas de melón se puede encontrar fitocromo en concentración suficiente para su medición y por ello se pueden utilizar para ilustrar uno de los procedimientos para estudiarlo. El espectro de absorción de los cotiledones varía según las condiciones de luz a que sean expuestos. Así es posible determinar la absorción inmediatamente después de haber sido irradiados con luz roja (660 nm) y otra vez luego de irradiarlos con luz roja lejana (730 nm), determinándose los cambios de absorción para la zona entre 600 y 700 nm. Con dichos cambios se construirá un espectro diferencial, que precisará en qué λ la absorción cambió más y en qué dirección (fig. 159).

Como no se conoce otro pigmento que cambie reversiblemente en esta región del espectro, esas modificaciones señalan la presencia de fitocromo y la magnitud de las mismas son proporcionales a su concentración. Frecuentemente para cuantificar el fitocromo no se mide todo el espectro de absorción, sino los cambios en la absorción de alguna longitud de onda relacionada con otra tomada como referencia. Por ejemplo, se mide la diferencia en absorción (ΔA) 730-800 entre la absorción en 730 nm y en 800 nm después de exponer al tejido a una dosis saturante de R y otra vez

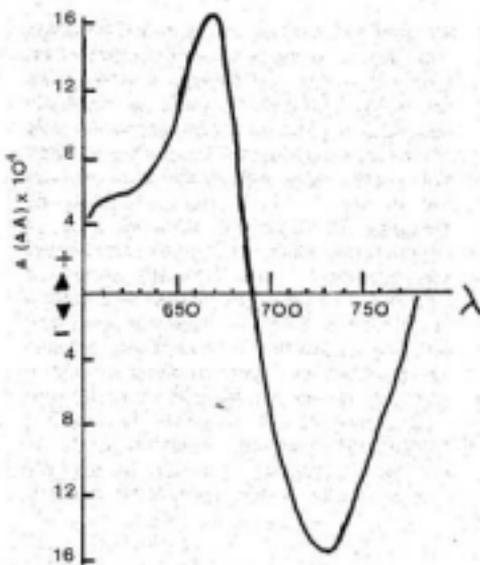


Figura 159. Espectro de diferencia de la transformación del fitocromo en semillas de pepino incubadas durante 24 h a 22 °C. Después de una irradiación con rojo lejano la absorbencia en 665 nm aumenta y en 730 nm disminuye en relación con las observadas después de una irradiación con luz roja. (Tomado de Malcoate, R. et al, 1970, *Medel. Landbouwhogeschool Wageningen, Holanda*, 70-16).

luego de una dosis saturante de RL y la diferencia entre ambas Δ (ΔA 730-800) es proporcional a la concentración de fitocromo. Es evidente que cuanto mayor sea la concentración de fitocromo, mayor será el aumento después de una irradiación con luz roja y la disminución después de una exposición al rojo lejano de la absorción en 730 nm. Los cambios en 800 nm son extremadamente pequeños ya que es una λ muy poco absorbida por el fitocromo.

Cuando una población de moléculas de fitocromo es expuesta a la luz se producirán las transformaciones Pr \rightarrow Pfr y Pfr \rightarrow Pr en distinta magnitud relativa según sea la λ . La transformación de Pr en Pfr es proporcional a la cantidad de luz absorbida por Pr y al rendimiento

cuántico de esa transformación (ϕr). A su vez la cantidad de luz absorbida depende de la intensidad del haz de luz E_λ ($\text{erg. cm}^{-2} \text{ seg}^{-1}$), de la concentración de Pr y del coeficiente de extinción para esa λ : $\epsilon r \lambda$. La velocidad de la reacción cuando se activa con luz monocromática está determinada por:

$$\frac{dPfr}{dt} = E_\lambda \epsilon r_\lambda \theta r_\lambda Pr - E_\lambda \epsilon fr_\lambda \theta fr_\lambda Pfr$$

Después de un cierto tiempo de exposición a E_λ se llegará al fotoequilibrio, o equilibrio fotoestacionario; en ese momento la velocidad de la reacción en ambas direcciones es igual y por lo tanto

$$\frac{dPfr}{dt} = 0; \text{ entonces:}$$

$$\frac{Pfr}{Pr} = \frac{E_\lambda \epsilon r_\lambda \theta r_\lambda}{E_\lambda \epsilon fr_\lambda \theta fr_\lambda} = \frac{\epsilon r_\lambda \theta r_\lambda}{\epsilon fr_\lambda \theta fr_\lambda} y$$

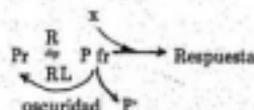
$$\frac{Pfr}{Pt} = \frac{1}{1 + \frac{\epsilon fr_\lambda \theta r}{\epsilon r_\lambda \theta \lambda}}$$

donde $Pt = Pr + Pfr$

Es decir, la relación Pfr/Pr en el fotoequilibrio no depende de la intensidad de la luz sino de la calidad. Según R. Clayton, para que se establezca el fotoequilibrio alcanza con que cada molécula de fitocromo absorba varios fotones, por lo que son suficientes unos 10^{10} fotones cm^{-2} . Si se trata de luz roja ello equivale a 3×10^4 ergs cm^{-2} , lo que resulta coherente con los bajos requerimientos energéticos para poner en operación al fitocromo.

No solamente mediante la luz se puede modificar el estado del fitocromo; también participa en reacciones importantes que pueden suceder en la oscuridad. En estas reacciones, el principal actor es el Pfr (hemos visto que Pr es mucho más estable, y por lo tanto, menos propenso a entrar en reacciones). Una vez formado, el Pfr tiene que reaccionar con alguno de los componentes celulares para determinar un cambio en la actividad fisiológica. La ignorancia nos

obliga a denominar a ese componente como: X. La consecuencia final de esa reacción primaria es una respuesta, es decir, un cambio observable en la actividad de la planta.



En la oscuridad el Pfr puede convertirse lentamente en Pr; esta reacción es afectada por la temperatura, el potencial redox, el nivel de cationes divalentes, etcétera.

Otra vía que puede seguir el Pfr es la comúnmente denominada destrucción. Por un proceso todavía no conocido se transforma en un producto no detectable espectrofotométricamente (P') y, por lo que se sabe, sin actividad biológica. Esta destrucción del fitocromo depende también de la temperatura y requiere O_2 . Tanto la reversión como la destrucción se han observado *in vivo* e *in vitro*, aunque no en todos los tejidos suceden ambas en cualquier circunstancia. Una vez formado el Pfr, comienza a destruirse inmediatamente y, en algunos casos, la destrucción se completa al cabo de 3 ó 4 horas. Se ha encontrado que tanto la reversión como la destrucción en oscuridad en plántulas de *Cucurbita pepo* y *Sinapis alba* dependen de la relación Pfr/Pt . Para esas especies ambos procesos presentan un óptimo en $\frac{Pfr}{Pt} \approx 0.4 - 0.5$.

Pt

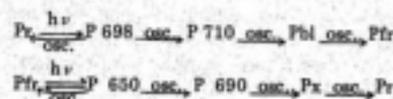
Ambas reacciones pueden ser importantes en el control de la concentración de Pfr en los tejidos.

Por lo descrito en los párrafos precedentes es de esperar que en los tejidos nunca expuestos a la luz, o mantenidos en oscuridad durante varias horas, la forma predominante sea Pr. Efectivamente, en casi todos los casos en que se ha medido el fitocromo en plantas mantenidas en oscuridad, prácticamente todo el pigmento se encuentra en la forma Pr.

Una excepción importante a esta generalización es la que se encuentra en

algunas semillas secas y en las primeras etapas de su imbibición. Mediante experimentos fisiológicos y mediciones directas se ha establecido que en las semillas de varias especies, en el momento de comenzar la imbibición, el % Pfr puede variar entre 40 y 60 %. En las semillas de tomate o de pepino, por ejemplo, la cantidad de Pfr presente cuando se incuban en oscuridad es suficiente para que germinen, sin necesidad de ser expuestas a la luz. Si el Pfr que tienen esas semillas es eliminado por medio de irradiaciones con rojo lejano, la germinación resulta inhibida. En algunas variedades de pepino y lechuga capaces de germinar en oscuridad no es suficiente una sola irradiación con RL para inhibir la germinación: se requiere una irradiación prolongada continua o repetidas irradiaciones breves separadas por períodos de oscuridad. Estos resultados fueron interpretados postulando que el Pfr que estaba en las semillas secas y que era transformado por la primera irradiación con RL, volvía a formarse en oscuridad (cuadro 5). Mediciones realizadas en semillas de varias especies dieron resultados coherentes con esa hipótesis demostrando la reaparición de Pfr en oscuridad después que el preexistente fuera eliminado por la irradiación con RL. En relación con el origen del Pfr que aparece en oscuridad, en un principio se pensó que provenía de Pr formado por el RL, aunque la hipotética transformación de Pr en Pfr sin la activación de la luz fuera termodinámicamente poco plausible. Sobre la base de

estudios más recientes hechos principalmente en el laboratorio de C.J.P. Spruit en Wageningen, Holanda, se han propuesto dos orígenes más probables del Pfr que se forma en oscuridad. Para analizar esta proposición debemos volver a la transformación de Pr en Pfr y viceversa de las que la ecuación (1) es solamente una simplificación ya que tanto en un sentido como en otro en la reacción están involucrados varios intermediarios, según el siguiente esquema:



No se pueden tener transformaciones completas en tejidos deshidratados, como de las semillas secas. Sin embargo, alguna de las etapas pueden cumplirse como se ha visto en semillas secas de pepino y en tejidos deshidratados de hipocótilo de arveja. En esos sistemas se observó que mediante RL se puede desplazar al Pfr convirtiéndolo en un producto con las características de P650, el cual mediante R u oscuridad puede revertir a Pfr. Por otra parte, en ese mismo material se vio que después de una irradiación con R el Pr se transforma en P698 el que en oscuridad revierte a Pr. Es decir que en los tejidos deshidratados, aunque pueden tener lugar algunas reacciones fotoquímicas, la reacción Pfr → Pr no se completa sino que queda detenida en los primeros intermediarios, los cuales pueden en oscuridad revertir al estado original.

A medida que se produce la hidratación el fitocromo va adquiriendo la capacidad de transformarse totalmente. En un estado de hidratación parcial parecería que el Pr, después de absorber luz, forma intermediarios que lentamente producen Pfr. La etapa de Pbl a Pfr parece ser la más lenta, y es posible que después de una iluminación breve con R una fracción apreciable del pigmento podría encontrarse como Pbl. Si inmedia-

Cuadro 5. Niveles de Pfr en las semillas de *Cucumis sativus*. Tomado de J. Boisard et al. Mededel. Landbouwhogeschool 68-17 (1942).

Tiempo de imbibición en oscuridad antes del tratamiento (h)	Tratamiento	Tiempo en oscuridad después del tratamiento (h)	Pfr/Pr
0	0	0	0.60
0	RL	0	< 0.02
0	RL	8	0.33
16	0	0	0.23
12	RL	0	< 0.02
12	RL	8	0.24

tamente después del R se irradia con RL se revertiría el Pfr formado, pero no el Pbl, el cual luego lentamente en oscuridad seguiría formando Pfr. De manera que parece posible que en tejidos parcialmente hidratados Pfr pueda aparecer en oscuridad aún después de una irradiación con RL, sea a partir de Pbl producto de una irradiación anterior con R, o a partir de P650 formado por el RL actuando sobre Pfr.

Al disponerse de métodos para medir el fitocromo, una de las primeras preguntas que se trataron de contestar, fue la siguiente: ¿qué relación existe entre el nivel de Pfr y la magnitud de las respuestas? Varios de los experimentos realizados intentando responderla dieron resultados dificultosos para su interpretación. En algunos casos se ha encontrado una correlación clara entre la concentración de Pfr y la respuesta. En la promoción por la luz roja del crecimiento de las frondas de *Lemna gibba*, o en la inhibición del alargamiento del mesocótilo de avena, la magnitud de la respuesta es proporcional al logaritmo de la concentración de Pfr.

Sin embargo, en varias ocasiones no se observó correlación entre los niveles de fitocromo y la respuesta. Uno de los resultados que más ha preocupado a los que investigan este tema, se puede ejemplificar con la situación que se presenta al estudiarse el alargamiento del tallo de arvejas ahiladas. Se ha encontrado que el efecto inhibitorio de una irradiación con R puede revertirse por otra irradiación con RL, en momentos en que las mediciones espectrofotométricas indicaban que todo el Pfr formado por la irradiación con rojo ya había desaparecido. En otros casos se observaron efectos debidos a R causados por dosis mucho menores que las necesarias para una transformación de Pr a Pfr susceptible de ser detectada mediante mediciones espectrofotométricas.

Las causas posibles de la falta de explicación para muchas de esas discrepancias entre los niveles medidos de Pfr y las respuestas son varias. Por una parte se ha argumentado que es muy posible

que el Pfr pueda tener efectos importantes aún a concentraciones por debajo de las menores detectables con los instrumentos disponibles. Por otro lado, hasta ahora se ha medido al fitocromo contenido en la totalidad de los tejidos de un órgano y es muy posible que el que esté afectando una determinada respuesta se encuentre sólo en algunas células, o en alguno de los compartimentos subcelulares.

Recientemente Spruit y Raven han propuesto una idea que en cierto modo comprende lo ya expuesto. Los investigadores holandeses piensan que para que el Pfr pueda actuar debe estar ligado a un "sitio activo", que la mayor parte del fitocromo contenido en las células de un órgano ahilado se encuentra en un lugar de las células diferente de ese sitio activo, y que solamente el Pfr tiene acceso a él. Por otra parte, sugieren que el número de esos sitios activos es muy inferior al de las moléculas de fitocromo en una célula de una plántula ahilada, de manera que aunque se transforme una pequeña fracción del P total en Pfr sería suficiente para saturar los sitios activos disponibles y, por lo tanto, de saturar la respuesta fisiológica. Según este esquema, a continuación de la transformación de Pr en Pfr se tendría que producir la migración primero y la asociación del Pfr con el sitio activo después, antes de que comenzara la acción fisiológica. Si bien esta hipótesis es coherente con mucha de la información existente todavía no cuenta con apoyo experimental directo, especialmente en lo referente a la migración del fitocromo.

Se han visto antes varios ejemplos en los que la formación de Pfr en plantas ahiladas puede cambiar profundamente el alargamiento de los tallos o la expansión de las hojas; cabe preguntarse, por lo tanto, si el fitocromo puede tener importancia en el control del crecimiento de las plantas cuando crecen expuestas a regímenes normales, en los que se alteran varias horas de luz con períodos de oscuridad.

Una forma de recabar información al respecto es establecer distintos niveles de

Pfr al finalizar el período diario de luz. Por ejemplo, cultivando plantas de porotos en un régimen de 10 horas de luz fluorescente y 14 horas de oscuridad por día, al comienzo de cada período diario de oscuridad el nivel de Pfr es alto, cerca del 80 % del P total. Esto se debe al alto contenido de luz en la región de λ entre los 600 y 700 nm en la luz emitida por los tubos fluorescentes, que desplazada la reacción $Pr \rightleftharpoons Pfr$ hacia la derecha. De manera que podemos establecer distintos Pfr/Pt irradiando las plantas con distintas dosis de RL antes de colocarlas en oscuridad. Si se mide el alargamiento de los entrenudos se encuentra que los menos alargados son los que no recibieron RL y, por lo tanto, empezaron la noche con el nivel de Pfr más alto. El alargamiento es progresivamente mayor al aumentarse la dosis de RL, es decir, al reducir cada vez más el nivel de Pfr al comenzar la noche. Con experimentos similares se puede demostrar que niveles bajos de Pfr determinan cambios en la síntesis de clorofila y de antocianinas, en el crecimiento de las hojas y en la distribución de los productos de la fotosíntesis. Queda claro entonces, que el crecimiento y desarrollo de las plantas que crecen en condiciones normales de iluminación, se puede modificar profundamente por el nivel de Pfr.

Existe información indicando que también el nivel de Pfr constituye uno de los factores que puede influir el crecimiento en condiciones naturales. Si consideramos los cambios en la composición de la luz solar al pasar por las hojas, vemos que las longitudes de onda entre 600 y 700 nm son considerablemente más absorbidas que las longitudes de onda entre 700 y 800 nm. Es de esperar entonces, que el equilibrio entre Pr y Pfr en aquellos tejidos que reciben luz filtrada por una o más capas de hojas se encuentre en un porcentaje menor de Pfr, que si los mismos tejidos hubieran sido expuestos a la luz solar directamente.

En la figura 160 se puede observar un ejemplo de la capacidad de las hojas de actuar como un filtro de RL. La relación

Pfr/Pt en una solución de fitocromo después de ser iluminada con una dosis saturante de luz de una lámpara incandescente es 0,60; cuando entre la lámpara incandescente y la solución de fitocromo se interpone una sola hoja de tabaco, después de iluminar por suficiente tiempo como para saturar la fotoconversión, la relación Pfr/Pt es 0,24.

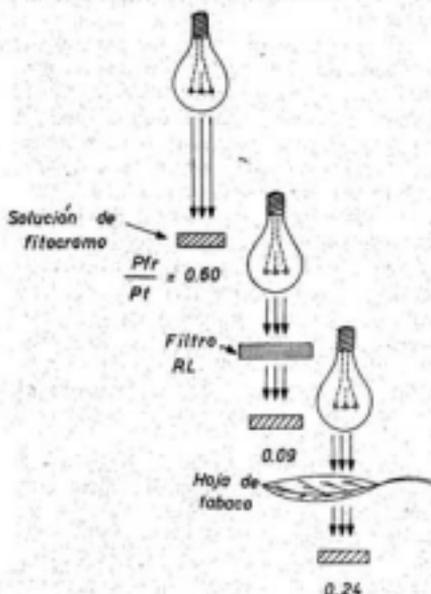


Figura 160. Relaciones Pfr/Pt observadas en una solución de fitocromo al alcanzarse el fotoequilibrio cuando se irradia con luz proveniente de una lámpara incandescente sin filtrar (a), filtrada por un filtro de RL (b), o por una hoja joven de tabaco (c).

Muchas de las características de las plantas creciendo en un sotobosque no son sólo las que se pueden esperar a bajas intensidades de luz, sino también características de relaciones Pfr/Pt pequeñas, como el largo de los entrenudos, la inclinación de la lámina foliar, la cantidad de antocianinas, etcétera.

El filtrado de la luz por las hojas, con el consiguiente enriquecimiento en RL, puede tener consecuencias en el crecimiento de las plantas de un cultivo, tanto en las de la especie cultivada como en las malezas. Kasperbauer ha observado que el aumento en la proporción de RL podría explicar las diferencias en el alargamiento de plantas de tabaco en distintos sitios de un cultivo. La proporción de RL en la luz que incide sobre las plantas también puede afectar el comportamiento posterior de las semillas. Las semillas de *Datura ferox* producidas en condiciones de alto Pfr/Pt presentan menor grado de dormición y un período más corto de posmaduración que las que han madurado en condiciones de bajo Pfr/Pt. De manera que es de esperar que el lugar del cultivo donde se encuentran las plantas de una maleza influya no sólo durante la época de crecimiento, sino también sobre el comportamiento posterior de las semillas.

A pesar de la importancia que tiene el conocimiento del mecanismo a través del cual el fitocromo puede participar en el control del crecimiento y desarrollo, todavía está lejos de ser comprendido completamente.

Al desarrollarse la idea de que las distintas fases de la diferenciación pueden estar controladas por la activación o represión de genes, se pensó en la posibilidad de que el Pfr pudiera regular de alguna manera la actividad de los mismos. Esta idea del control de la actividad génica por el nivel de Pfr está apoyada en algunos resultados experimentales. La inducción de la síntesis de antocianinas por el Pfr puede inhibirse por la actinomicina D (inhibidor de la síntesis del ARNm). Si se bloquea la síntesis del ARNm se impide la acción del Pfr, por lo que es plausible una conexión entre ambos procesos. También se ha demostrado que el Pfr puede inducir la síntesis de algunas enzimas como la fenilalanina-amoniolasa y puede reprimir la síntesis de lipoxidasas. Otras enzimas, por el contrario, no resultan afectadas por la presencia del Pfr, lo que sugiere que las que

cambian no lo hacen debido a una modificación general de metabolismo en las células, sino en respuesta a la actividad de un mecanismo específico de control. Todas estas observaciones experimentales son coherentes con la idea de que la fotomorfogénesis se debe a cambios inducidos por el Pfr en la actividad de algunos genes.

Sin embargo, este esquema encuentra uno de los mayores obstáculos en el comportamiento de las semillas de lechuga cv. Grand Rapids, uno de los materiales clásicos en el estudio de la fotomorfogénesis. La inducción de la germinación por R en esas semillas no es afectada por la actinomicina D, ni por la puromicina, a pesar de que ambos inhibidores son absorbidos por las semillas. Aparentemente, las enzimas necesarias para la germinación están presentes en las semillas dormidas de lechuga.

Algunos efectos muy rápidos causados por el Pfr han motivado que varios investigadores propusieran una hipótesis diferente del mecanismo de acción del fitocromo. En alguna de esas respuestas rápidas, el lapso entre el cambio de Pfr y la finalización de la respuesta no es mayor de 30 minutos. Por ejemplo, la orientación de los cloroplastos del alga *Mougeotia* puede ser controlada por irradiaciones con R o RL. Una irradiación breve con R determina que los cloroplastos se orienten en un plano perpendicular al haz de luz; irradiando con RL, los cloroplastos se mueven a un plano paralelo a la dirección de la luz. El cambio de posición en los cloroplastos es evidente 10 minutos después de comenzada la irradiación con R y alcanza su mayor magnitud en 30 minutos.

En otros casos, aunque entre la irradiación con R y la manifestación de la respuesta pasan varias horas y a veces días, se requiere la presencia de Pfr sólo durante uno o dos minutos. *Pharbitis nil* es una planta de días cortos, cuya floración puede ser inhibida por una irradiación con R cerca de la mitad de la noche. El efecto de R puede anularse por una irradiación con RL, siempre que

no transcurran más de dos minutos. Es decir que en esas plantas es suficiente que un nivel alto de Pfr esté presente durante dos minutos para que su acción sea completa, y transcurrido ese lapso aunque se lo elimine por la irradiación con RL, la floración resultará inhibida. Los movimientos nictinásticos de algunas leguminosas de los géneros *Mimosa* y *Albizia*, que pueden ser observados en un lapso de 10 minutos, también están afectados por el nivel de Pfr. Varios autores opinan que estos efectos se pueden explicar mejor mediante la participación del fitocromo en un proceso más rápido que la síntesis de nuevas proteínas. Esa corriente de opinión sostiene que el estado del fitocromo afecta la permeabilidad de las membranas y que los cambios morfogénicos son efectos derivados de las modificaciones en la permeabilidad. Esta hipótesis requiere que el fitocromo se encuentre ubicado en las membranas y efectivamente, se lo ha encontrado en las membranas de algunas células (aunque no existen pruebas de que esté exclusivamente en las membranas).

También se han medido cambios en la permeabilidad al agua, inducidos por R y RL (cuadro 6). La magnitud y dirección del efecto del Pfr sobre la permeabilidad al agua en algas depende de la composición de la solución nutritiva.

Otro efecto a nivel de membranas debido a cambios en el estado del fito-

cromo, es la aparición de potenciales eléctricos (figura 161). Además, el efecto del fitocromo sobre la germinación de semillas de lechuga puede ser modificado por campos electrostáticos de 75 V cm^{-1} ; una exposición de dos minutos puede inducir la germinación en oscuridad.

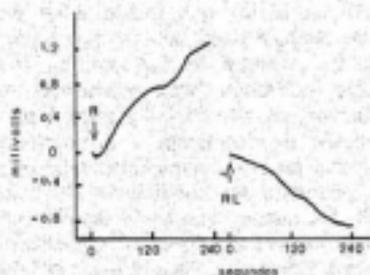


Figura 161. Potenciales eléctricos medidos en ápices de raíz a continuación de irradiaciones con R o RL. (Tomado de M. S. Jaffe, 1968, *Science*, 162: 1016-1017).

De manera que hay resultados experimentales que se adecuan a la hipótesis de la regulación de genes y otros que se explican mejor suponiendo que la acción inicial del fitocromo es un cambio al nivel de membranas. Las dos hipótesis son compatibles y no es difícil imaginar una combinación entre ambas.

Respuesta a irradiaciones prolongadas con altas intensidades de luz

En párrafos anteriores hemos visto que numerosas respuestas fotomorfogénicas se pueden inducir con pequeñas dosis de energía luminosa. Pocos minutos de iluminación con intensidades muy bajas son suficientes para saturar las respuestas a través del sistema del fitocromo, que por esa razón ha sido llamado también "sistema de baja energía".

Sin embargo, las plantas también presentan respuestas fotomorfogénicas a dosis de energía mucho mayores que las necesarias para saturar la conversión del fitocromo. Por ejemplo, en la figura 162

Cuadro 6. Efecto de irradiaciones con rojo y rojo lejano sobre la permeabilidad al agua de células epidérmicas de *Taraxacum officinale* (tomado de M. S. Carciller y R. A. Sánchez, *Experimentia* 28, 364 1972).

Tratamiento	Comienzo de la plasmólisis (seg)	Comienzo de la deplasmólisis (seg)	Constante de permeabilidad K_w (μseg^{-1})
Rojo	41,9	42,7	36,0
Rojo lejano	32,9	35,5	49,6

se ha representado el alargamiento de los hipocótilos de pepino expuestos a distintas intensidades de luz roja o azul. Vemos que a bajas intensidades la luz roja inhibe más que la azul, lo que puede explicarse por una mayor conversión de Pr a Pfr con luz roja. Pero a intensidades altas, la luz azul inhibe más que la roja, y evidentemente este resultado no se puede explicar solamente con la conversión de Pr en Pfr.

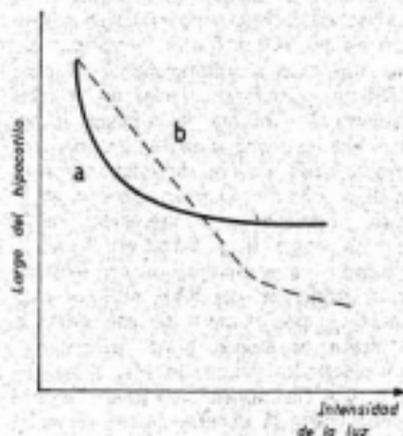


Figura 162. Efecto de distintas intensidades de luz roja (a) o azul (b) sobre el alargamiento. Tomado de G. Meijer y R. Van der Veen: *The effect of light on Plant growth and development*, Phillips, 1965.

Este tipo de respuesta, para la que es necesario exponer las plantas a irradiaciones prolongadas de alta intensidad, es una de las manifestaciones del llamado "sistema de alta energía" (SAE), o "reacción de alta energía" (RAE). El espectro de actividad del SAE tiene dos máximos, uno en la zona azul y otro en la del rojo lejano (figura 163). La actividad en el rojo varía según las respuestas y las especies, pero siempre es considerablemente menor que la del azul y el rojo lejano. En general las respuestas a través del SAE dependen de la intensidad de la irradiación, y no cumple la ley de Bunsen-Roscoe. El SAE en algunos casos tiene efectos en la misma dirección que el Pfr.

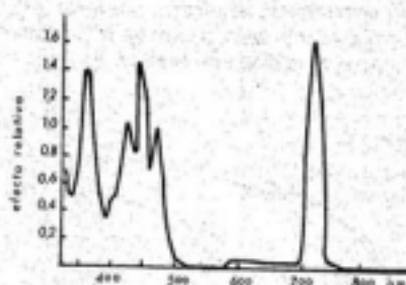


Figura 163. Espectro de actividad del sistema de alta energía para la inhibición del alargamiento del hipocótilo de lechuga. Se tomó como referencia la eficacia de λ 447 a la cual se le da el valor 1,0. (Tomado de Mohr, H., "Photomorphogenesis" en *The Physiology of Plant Growth and Development*, 1969, Mc Graw Hill, quien lo reproduce de K. Hartman, 1967, *Z. Naturforsch* 22b, 1172.)

En el alargamiento del hipocótilo, por ejemplo, el SAE y el Pfr tienen efecto sinérgico; 10' de R inhiben mucho más el alargamiento de hipocótilos de petunia cuando son precedidos por 4 horas de rojo lejano o azul. En el caso de la germinación, Pfr y SAE tienen efecto opuesto. La exposición al rojo lejano durante algunas horas puede inhibir completamente la germinación de semillas capaces de germinar en oscuridad, o reducir sustancialmente la respuesta a la luz roja en las semillas que requieren luz para germinar (figura 164). Esta interacción entre el Pfr y el SAE, se manifiesta en algunas especies como una respuesta dual a la luz. En oscuridad las semillas de *Amaranthus fimbriatus* germinan en un bajo porcentaje. Irradiaciones de corta duración de 1 a 3 horas con luz fluorescente inducen la germinación entre el 80 y 100 %, pero si la exposición diaria a la luz se prolonga más de 6 horas, los porcentajes de germinación decrecen hasta llegar a valores próximos a cero. El efecto promotor de las exposiciones breves se debe a la formación de Pfr y puede ser anulado por irradiaciones de baja energía con RL. Cuando las irradiaciones son muy prolongadas, el

SAE contrarresta el efecto promotor del Pfr y la germinación se inhibe más cuanto mayor es la dosis de energía.

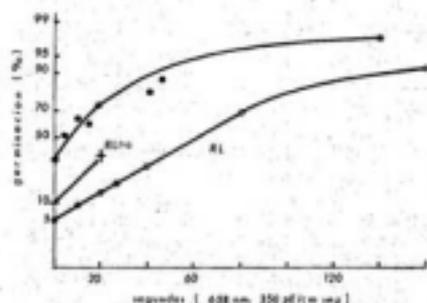


Figura 164. Sensibilidad de las semillas de lechuga cv. Grand Rapids a distintas dosis de luz roja según hayan sido expuestas previamente o no durante 4 h a RL. RL/10 significa que la intensidad fue 10 veces menor que RL. La pendiente de la curva es proporcional a la sensibilidad a la luz roja, la que resulta disminuida por el RL. (Tomado de K. Hartman, 1966, *Photochem. and Photobiol.*, 5, 349-366).

El SAE es un sistema mucho menos conocido que el del fitocromo. Un aspecto básico que todavía es objeto de discusión es la identidad del fotorreceptor.

Hasta ahora no se ha encontrado ningún pigmento con las características adecuadas de absorción de la luz en el azul y rojo lejano como para explicar los efectos del SAE.

En cuanto a la zona del espectro vecina a los 700 nm, la mayor parte de la información disponible indica que el fotorreceptor puede ser el fitocromo, tal como ha sido propuesto por K. Hartmann. En la proximidad de los 700 nm, tanto el Pr como el Pfr absorben la luz y la exposición prolongada a altas intensidades de luz puede, además de la transformación de una de las formas en la otra, causar otro tipo de reacciones. Se piensa que la presencia de la forma Pfr en un estado de excitación (Pfr*), puede ser la causa de los efectos del SAE entre los 600 y 800 nm. Un aumento en la intensidad de la luz podría determinar

un aumento en el nivel de Pfr* y así una mayor respuesta.

Tanto en el caso de la inhibición de la germinación como en el del alargamiento de los hipocótilos de lechuga se encontró que hay una relación Pfr/Pt óptima para un efecto máximo del SAE, que para la germinación resultó alrededor de un 0,10 y para la inhibición del hipocótilo cerca de 0,03. Un experimento de los que se han llevado a cabo para obtener esta información se resume en la figura 165. Semillas de lechuga que hubieran germinado en un 100 % fueron expuestas durante una hora simultáneamente a luz de λ 766 nm y 658 nm. Todas las semillas recibieron λ 766 nm de la misma intensidad mientras que distintos grupos eran irradiados además con distintas intensidades de λ 658 nm. Como se observa en la figura, al aumentar la intensidad de la luz roja entre 0 y 20 pE $\text{cm}^{-2} \text{seg}^{-1}$ disminuye la germinación, es decir el efecto inhibitorio del SAE se hace más intenso y por encima de ese valor la inhibición se atenúa hasta desaparecer. Esos resultados, aparentemente paradójales ya que (en oposición a lo que sucede cuando opera el sistema de baja energía) dentro de ciertos límites aumentando la composición en R de un haz de luz se disminuye la germinación, demuestran la necesidad de la presencia de Pfr para la acción del SAE.

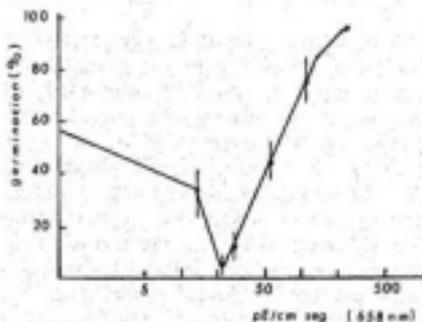


Figura 165. Germinación de las semillas de lechuga, expuestas simultáneamente a luz de dos longitudes de onda: 766 y 658 nm durante una hora. La intensidad de λ 766 fue de 1560 pE $\text{cm}^{-2} \text{seg}$. (Tomado de K. Hartman, 1966, *Photochem. and Photobiol.*, 5, 349-366).

En cuanto a la zona del azul, varios autores proponen la participación de otro pigmento. El espectro de actividad del SAE en esa región del espectro es similar a los de otras respuestas a la luz azul, como el fototropismo, la fototaxis, etcétera; sin embargo, la interpretación de estas respuestas está complicada por la existencia de varios pigmentos que absorben en esta zona.

Fototropismo

La exposición de los tallos a una fuente unilateral de luz tiene como consecuencia la curvatura de los mismos, debido a que la velocidad del crecimiento en el lado expuesto a la luz es diferente de la velocidad en el lado opuesto. Cuando el tallo se curva en dirección a la luz, el crecimiento en la zona iluminada es menor, y la curvatura se denomina positiva. Que se observe una curvatura positiva o negativa depende de la historia previa del tejido y de la intensidad de la luz (figura 166).

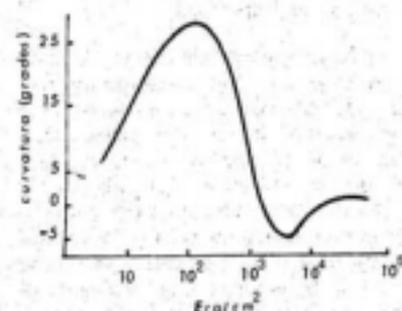


Figura 166. Curvatura inducida por distintas dosis de luz unilateral de $\lambda: 436 \text{ nm}$. (Tomado de G. M. Carry, 1969, "Phototropism" en *The Physiology of Plant Growth and Development*, comp. por M. B. Wilkins, Mc Graw-Hill.)

El espectro de actividad muestra que las longitudes de onda eficientes en inducir una curvatura se sitúan en la región

de 500 nm, y se observan cuatro picos en 480, 440, 420 y 370 nm. Todavía no se conoce con certeza cuál es el fotorreceptor. Dos compuestos probables son los carotenoides y las flavinas. También se ha especulado sobre la posibilidad de dos pigmentos actuando simultáneamente, pero no existen pruebas definitivas al respecto.

Como consecuencia de la iluminación unilateral se produce una distribución desigual de reguladores del crecimiento, causa de las distintas velocidades de crecimiento y la curvatura.

Síntesis de clorofila

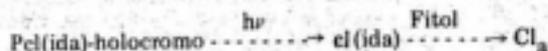
Uno de los cambios más ostensibles que suceden al exponer una plántula ahilada a la luz, es la formación de clorofila, cuya acumulación se hace visible en el término de pocas horas. En algunas especies, la síntesis de clorofila puede producirse en oscuridad, pero para la gran mayoría, la luz es un requisito indispensable.

El pigmento responsable de la captación de la luz es el precursor de la clorofila, una porfirina denominada protoclorofilida (pclida), cuya estructura química es similar a la de la protoclorofila. La diferencia entre ambas especies químicas reside en que en la última el carboxilo de una de las cadenas laterales de la porfirina está esterificado con un grupo fitol.

Al absorber la luz, la pclida se transforma rápidamente en clorofilida, es decir, una sustancia que difiere de la clorofila sólo por faltarle el grupo fitol. El pigmento pclida se encuentra asociado a una proteína formando el complejo pcl (ida)-holocromo. En las plantas superiores esta asociación del pigmento con la proteína es fundamental para la transformación en clida, la que no puede ocurrir si el pigmento está aislado en simple solución en un solvente orgánico. La transformabilidad puede modificarse sometiendo el complejo a tratamientos capaces de afectar la proteína: si los cambios en ésta son suficientemente pro-

fundos la fotoconversión *pc(ida)*-*cl(ida)* puede anularse totalmente. Esta asociación pigmento-proteína no es un caso único, ya que la misma situación se encuentra al estudiar otros pigmentos importantes como el fitocromo, la rodopsina, etcétera.

La transformación de la *pc(ida)* en *cl(ida)* consiste en una reducción. La excitación de la *pc(ida)* por la luz posibilita la incorporación de dos H en uno de los anillos pirrol (figura 164). El origen de esos dos hidrógenos aún no se conoce bien. Después de la reducción de la *pc(ida)* a *cl(ida)* se produce la incorporación de un grupo fitol y la formación de la clorofila a. Esquemáticamente la serie de transformaciones es la siguiente:



El complejo *pc(ida)*-holocromo, a su vez, se encuentra en los orgánulos precursores de los cloroplastos (proplástidos y etioplastos) en las plantas ahiladas o en los cloroplastos en las expuestas a la luz.

Las distintas situaciones en las que pueden encontrarse los pigmentos en los plástidos influyen sobre sus características físico-químicas, por lo que el espectro de absorción de los pigmentos *in vivo* difiere a veces sustancialmente del que se obtiene con los mismos pigmentos en solución. Por ejemplo, se han detectado *in vivo* tres formas de *pc(ida)*: *pc(ida)*628, *pc(ida)*637 y *pc(ida)*650. La cantidad relativa de cada una difiere según el estado de desarrollo de las plántulas. El comportamiento de la forma *pc(ida)*628 es muy diferente al de *pc(ida)*637 y *pc(ida)*650.

Las formas *pc(ida)*637 y *pc(ida)*650 se pueden transformar muy fácilmente en *cl(ida)*; una exposición de 3 minutos a luz de baja intensidad (ca. $250 \mu\text{Wcm}^{-2}$) es suficiente para transformar toda la *pc(ida)* en esas formas presentes en cotiledones ahilados de pepino. En cambio, para reducir el nivel de *pc(ida)*628 se requiere una exposición a luz continua por más de dos horas, o durante un lapso semejante exposiciones bre-

ves a la luz separadas por períodos de oscuridad. La *pc(ida)*650 es considerada como el precursor más importante de la clorofila a. Se piensa que la *pc(ida)* se encuentra formando agregados moleculares. El tamaño de estos agregados, es decir el número de moléculas de pigmento por agregado, está todavía en discusión, pero hay coincidencias en que la forma *pc(ida)*650 es la que presenta el mayor grado de agregación.

Al ser iluminados, esos agregados de *pc(ida)* se transforman en *cl(ida)* también en estado de agregación; estas moléculas de *cl(ida)* recientemente formadas sufren diversas modificaciones que se reflejan en su espectro de absorción *in vivo*. Aunque esas transformaciones pueden diferir se-

gún la edad y otras condiciones de las plantas, se considera que el paso final de esa serie de cambios es una pérdida del estado de agregación. Diversas observaciones sugieren que la desagregación de la *cl(ida)* debe llevarse a cabo antes de su transformación en *cl_a* mediante la esterificación con el grupo fitol.

Cuando una planta ahilada es expuesta a la luz, se produce la síntesis de clorofila y además comienzan a desarrollarse las estructuras de los cloroplastos. Las moléculas de pigmentos que se van produciendo, se ubican en los sistemas de membranas que constituyen un ambiente heterogéneo y cambiante. Esa diversidad de ambientes donde se van a encontrar las moléculas, determina la existencia de varias formas de clorofilas a que se pueden distinguir por sus espectros de absorción y fluorescencia. Al estudiar la fotosíntesis se ha visto que en el sistema I y II participan distintas formas de clorofila a: *cl_a*672, *cl_a*683, P700. Estas distintas formas, como las diferentes formas de *pc(ida)*, son observables sólo cuando los pigmentos se encuentran en las estructuras celulares. Una solución en un solvente orgánico de *cl_a* muestra una sola forma de cada especie química, y los

máximos de absorción o fluorescencia dependen del solvente que se emplee.

Las distintas formas de cl_a en los cloroplastos aparecen en diferentes momentos después de comenzada la iluminación, de modo que la maquinaria fotosintética se va articulando progresivamente. Aparentemente, los pigmentos del sistema I se forman antes que los del II.

La luz influye sobre otras etapas de la síntesis de la clorofila, además de la transformación de $pcl(ida)$ en $cl(ida)$, como ser en la regulación de la síntesis de $pcl(ida)$; en esta síntesis un punto clave lo constituye la formación del ácido δ -aminolevulínico (δ -ALA). Se ha visto que la luz activa la síntesis del δ -ALA y aunque el fotorreceptor de este efecto aún no se haya identificado ine-

quívocamente, existen datos que sugieren que la $pcl(ida)650$ podría cumplir esa función. La percepción de la luz por la $pcl(ida)650$, además de convertirla en $cl(ida)$, de alguna manera determinaría la activación del sistema enzimático responsable de la síntesis de δ -ALA.

En plántulas que han crecido en oscuridad por un lapso prolongado, por ejemplo 8 a 14 días, al ser expuestas a la luz se transforma la $pcl(ida)$ formada durante el lapso en oscuridad, pero la acumulación rápida y constante de clorofila no se produce hasta después de varias horas de haber comenzado la iluminación. Esta demora puede superarse si se expone brevemente a las plántulas a una luz de baja intensidad algunas horas antes del comienzo de la iluminación continua. Este efecto de la luz de evitar la demora en la acumulación rápida de la clorofila es mediado, por lo menos en parte, por el fitocromo (figura 167).

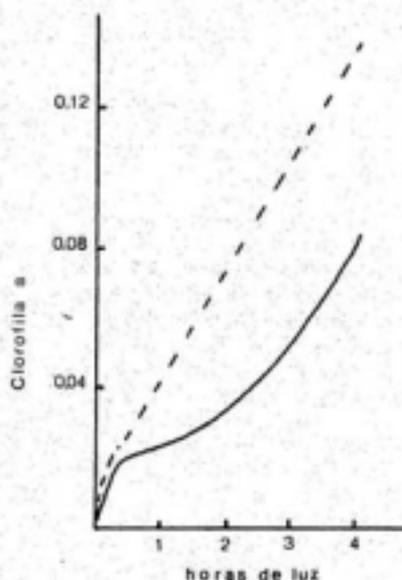


Figura 167. Acumulación de clorofila en hojas de trigo expuestas a luz continua: (---) recibieron 5 min. de R 6 h antes de comenzar la iluminación continua; (—) no fueron prettadas. (Tomado de H. I. Virgin, en *Photophysiology* Vol. I, 1964, comp. por C. Giese.)

LECTURAS COMPLEMENTARIAS

A) Morfogénesis

Bonner, J.: *The molecular biology of development*, Clarendon Press, Oxford, 1965.

Clowes, F. A. L.: *Apical meristems*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1961.

Esau, K.: *Vascular tissue differentiation*, Holt, Rinehart & Winston, Nueva York, 1965.

Laetsch, W. M. y R. E. Cleland: *Papers in plant growth and development*, Little, Brown & Co., Boston, 1967.

Sinnott, E. W.: *Plant morphogenesis*, Mc Graw-Hill Co., Nueva York, 1960.

Torrey, J. G.: "The initiation of development in plants", *Adv. in Morphol.*, 5, 1966.

Wareing, P. F. e I. D. Phillips: *The control of growth and differentiation in plants*, Pergamon Press, Oxford, 1970.

B) Fotomorfogénesis

Briggs, W. R. y H. V. Rice: *Annual review of plant physiology* 23, 293-314, 1972.

Clayton, R. C.: *Light and living matter*. McGraw-Hill Co., Nueva York, 1971.

Mohr, H.: "Photomorphogenesis", en:

The physiology of plant growth and development (M. B. Wilkins, comp.), McGraw-Hill, Londres, págs. 509-556, 1969.

Shropshire, W. (h.): "Phytochrome, a photochromic sensor", en: *Photophysiology* (A. C. Giese, comp.), Academic Press, vol. 7, págs. 34-67, 1972.

CAPITULO XV

**REGULADORES
DEL CRECIMIENTO**

R. M. TIZIO

INTRODUCCION

Las distintas manifestaciones que caracterizan el crecimiento y desarrollo de las plantas requieren la intervención de una serie de factores que pueden agruparse en tres categorías:

- a) Factores nutritivos
- b) Factores metabólicos
- c) Factores hormonales

Los *factores nutritivos* son aquellos que directa o indirectamente contribuyen a la síntesis de compuestos estructurales, de sustratos respiratorios, de compuestos ricos en energía, de reserva, etcétera y que intervienen en los cambios físicos, físicoquímicos y químicos (intercambio gaseoso, reajustes de pH en el nivel celular, síntesis orgánica, etcétera), característicos de cada proceso vital. Ellos son los macro y micronutrientes, el H₂O, el CO₂ y el O₂.

Los *factores metabólicos*, fundamentalmente del tipo de las enzimas, son aquellos que canalizan, regulan y ordenan, total o parcialmente, la intervención de los factores nutritivos para el cumplimiento de los diferentes procesos vitales (fotosíntesis, respiración, incorporación de nutrientes, metabolismo de compuestos orgánicos, etcétera) que la

planta debe llevar a cabo para crecer y desarrollarse.

Por último, los de *tipo hormonal* constituyen una serie de factores internos, de funciones variadas y especializadas, que ordenan, aceleran o regulan la intervención e integración de los procesos vitales en el tiempo y en el espacio, y contribuyen a la manifestación de los fenómenos fundamentales de la vida de las plantas: crecimiento, desarrollo y reproducción.

Un ejemplo aclarará los conceptos expuestos: la formación de raíces en la base de una estaca es una manifestación de crecimiento por morfogénesis (rizogénesis), regulada fundamentalmente por sustancias de tipo hormonal que, producidas en las yemas, se trasladan hacia la base fisiológica de aquéllas (figura 168). En dicha región, y en el nivel de los parénquimas xilemático o floemático, o bien el cámbium, determinan, en asociación con otros factores de crecimiento, procesos de desdiferenciación y rediferenciación celular que conducen a la formación de un meristema primario, precursor del primordio radical.

Para que ello ocurra es necesario el cumplimiento de una serie de procesos tales como absorción de agua, redistribución de nutrientes, disponibilidad de compuestos ricos en energía formados a través de la respiración, hidrólisis de sustancias de reserva (hidratos de carbono,

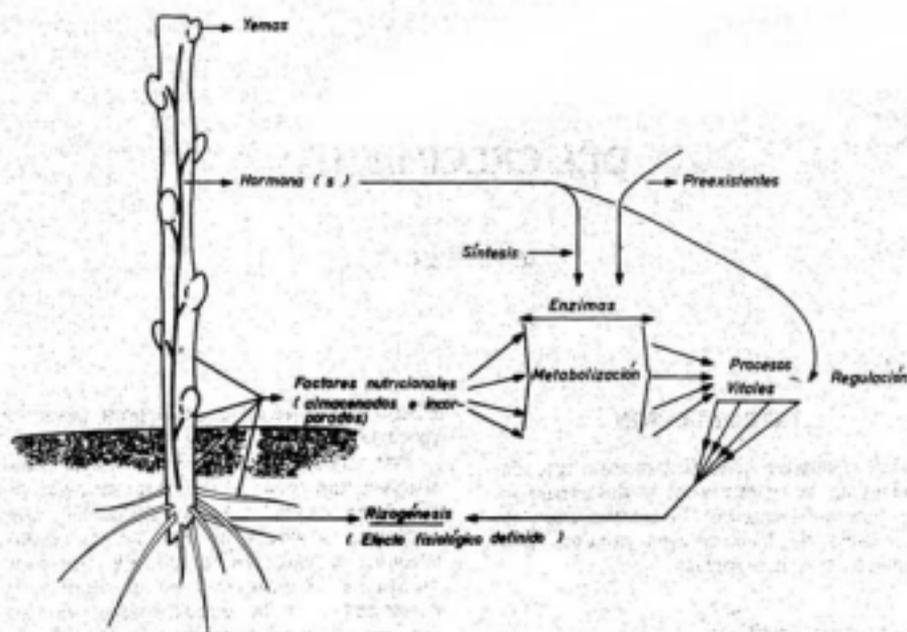


Figura 168. Esquema de la participación de los factores nutricionales, metabólicos y hormonales en el crecimiento (rizogénesis).

proteínas, grasas), síntesis de proteínas estructurales, etcétera. La mayoría de esos procesos vitales son regulados por sustancias de tipo hormonal, algunos de ellos a través de la síntesis de enzimas de tipo hidrolítico. La ausencia de dichas hormonas o la inhibición por otros factores endógenos puede determinar que no haya formación de raíces.

El ejemplo expuesto da idea de un cierto orden jerárquico de los distintos factores intervinientes: las enzimas controlan muchos de los procesos vitales a través de la redistribución de los factores nutritivos, y las hormonas lo hacen por medio de la regulación fisiológica del fenómeno.

Aclarados estos conceptos, se puede definir provisionalmente a las hormonas como aquellas sustancias orgánicas que,

producidas en una parte u órgano de la planta, se trasladan a otro y, en muy bajas concentraciones, inducen efectos fisiológicos definidos. En el ejemplo dado, la formación de raíces en la base de la estaca constituye el efecto fisiológico definido inducido por la o las hormonas provenientes de las yemas.

La definición anterior abarca la mayoría de los requisitos que una sustancia orgánica debe reunir para ser considerada como una hormona. Ellos son:

- a) que se origine en el organismo;
- b) que generalmente se traslade del sitio de síntesis o liberación al sitio de acción;
- c) que actúe en muy pequeñas dosis;
- d) que induzca o afecte procesos fisiológicos definidos.

En general, todas las partes de la planta en activo crecimiento son centros de producción hormonal, como por ejemplo los ápices meristemáticos radiculares y caulinares, los meristemas secundarios, las hojas, las flores y los frutos en crecimiento, las zonas de regeneración inducidas por heridas o lesiones, los tumores, etcétera.

Casi todos los factores de naturaleza hormonal ejercen su acción fisiológica en concentraciones extremadamente bajas, con frecuencia del orden de los microgramos por kilogramo de peso fresco. Así, por ejemplo, se ha calculado que para obtener un gramo de ácido indolacético —hormona responsable del alargamiento del coleóptilo del trigo— sería necesario extraer con solventes 20.000 toneladas de ápices de ese órgano.

Por otra parte, las plantas también sintetizan gran número de sustancias de acción inhibitoria sobre el crecimiento. Los inhibidores pueden definirse como sustancias que inhiben o retardan el crecimiento oponiéndose directa o indirectamente, y en forma total o parcial, a la acción de las hormonas.

Por último, también se puede definir a las *vitaminas* como factores de crecimiento y diferenciación, pero de producción externa al organismo que las requiere y utiliza. Esta diferencia conceptual con las hormonas tiene validez respecto de los animales, hongos y otras plantas heterótrofas, pero no cuanto atañe a las autótrofas. Por ejemplo, el crecimiento normal de las raíces de tomate requiere el complejo vitamínico B, cuya síntesis se opera en otras regiones de la misma planta.

Desde el punto de vista hormonal se puede definir al crecimiento y desarrollo como fenómenos fundamentales integrados por múltiples procesos vitales ordenados en cierta secuencia y regidos por un complejo hormonal.

Una de las principales características de las hormonas, la acción a distancia, trae como consecuencia la manifestación de fenómenos llamados de *correlación*. En el ejemplo dado al principio del

capítulo, la producción de raíces en las estacas es un fenómeno correlacionado con la producción de hormonas en las yemas. Asimismo, el crecimiento rápido de un fruto se correlaciona con la producción de hormonas en las semillas en crecimiento. La entrada en estado de reposo (dormición) de las yemas de ciertas especies arbóreas a fines del verano o principios del otoño, constituye también un fenómeno correlacionado con la desaparición gradual de ciertas hormonas y el aumento en el tenor de sustancias inhibitorias. Muchos otros fenómenos de correlación —que se analizarán posteriormente— tienen lugar, en la mayoría de los casos, como consecuencia de la participación de varios reguladores del crecimiento o de determinados balances de concentración entre éstos.

DEFINICIONES

Antes de comenzar la descripción de los fenómenos de correlación controlados por las sustancias hormonales, se considera necesario intentar definir las y enumerar, además, los fenómenos fisiológicos que afectan. Que usemos el término "definición" no implica que vayamos a dar una idea absoluta y definitiva de la acción hormonal, pues sólo lo empleamos en el sentido descriptivo y aun didáctico para señalar el fenómeno fisiológico que más particularmente, y en forma más o menos específica, resulta afectado por los reguladores del crecimiento. Esto es importante, pues la gran mayoría de dichos fenómenos son regulados, como se ha dicho, por más de un factor de crecimiento.

Por otra parte, se considera de utilidad dar una idea general acerca de la acción de cada uno de ellos antes de entrar, no sólo a su estudio detallado, sino también al análisis de cómo se integran respecto a la fisiología de la planta entera.

REGULADORES DEL CRECIMIENTO

Se denomina reguladores del crecimiento a todos aquellos compuestos, naturales y sintéticos que, en bajas concentraciones, promueven, inhiben o regulan, con modificaciones cualitativas o sin ellas, el crecimiento. (Véase "Clasificación y estructura química de los reguladores del crecimiento").

FITOHORMONAS U HORMONAS VEGETALES

Se denomina así a aquellas sustancias sintetizadas por la planta que, originadas en un lugar, por lo general se desplazan a otro y producen efectos fisiológicos definidos. Entre las fitohormonas más importantes se encuentran las auxinas, giberelinas y las citocininas.

Auxina

Son reguladores del crecimiento que, entre otros fenómenos fisiológicos en los que intervienen, poseen la propiedad particular de estimular la extensión de la pared celular acompañada de entrada de agua a la célula, y como consecuencia de ello inducen alargamiento celular.

Las auxinas pueden ser fitohormonas, como en el caso del ácido indolacético, o bien reguladores sintéticos, como en el caso de los ácidos indolpropiónico, indolbutírico, naftalenacético, 2,4-diclorofenoxiacético, etcétera.

Más adelante se verá que las auxinas pueden participar también en la multiplicación celular, en los fenómenos de dominancia apical, de morfogénesis, de "cuajado" de frutos, de partenocarpia, y en el de caída natural de hojas, flores y frutos conocido con el nombre de *abscisión*.

Giberelinas

Son fitohormonas que, entre otros fenómenos fisiológicos en que intervienen,

poseen la propiedad particular y específica de inducir alargamiento caulinar en plantas normalmente enanas y revertir el enanismo genético. Las giberelinas se caracterizan también por reemplazar, en condiciones no inductivas para la floración, la necesidad de fotoperíodos largos y de vernalización en algunas especies de día largo, y también por inhibir o retardar la tuberización en la papa, el topinambur y otras especies tuberosas, estimulando la emisión y crecimiento del sistema estolonífero. Además, en muchos casos inducen la ruptura del estado de dormición en las yemas y reemplazan, total o parcialmente, la necesidad de luz para la germinación de ciertas semillas.

Citocininas

Son reguladores del crecimiento, naturales (fitohormonas) o sintéticos, que estimulan fundamentalmente el fenómeno de citocinesis o formación del fragmoplasto en la división celular. También intervienen en la regulación de otros fenómenos bioquímicos y fisiológicos como, por ejemplo, el retardo de la destrucción de la clorofila y de la senescencia foliar, en la regulación del fenómeno de dominancia apical (juntamente con las auxinas) y en el control de varios fenómenos morfogénicos (rizogénesis, crecimiento de tejidos callosos, formación de yemas, etcétera) también con las auxinas.

PRECURSORES AUXINICOS, GIBERELINICOS Y DE CITOCININAS

Son sustancias que en la planta pueden ser convertidas en auxinas, giberelinas y citocininas, respectivamente, o ser liberadas como tales.

SUSTANCIAS TIPO AUXINAS, GIBERELINAS Y CITOCININAS

Se denominan así a aquellas sustancias de estructura química aún desconocida

que en las pruebas biológicas muestran una acción análoga a las causadas por las auxinas, giberelinas y citocininas, respectivamente.

ANTI-AUXINAS

Son reguladores del crecimiento, en su gran mayoría sintéticos y relacionados estructuralmente con las auxinas, que se oponen *competitivamente* a la acción de éstas sobre el crecimiento. La competencia se manifiesta en los sitios de acción auxínica y, por lo tanto, a nivel molecular.

Algunos autores denominan *antigiberelinas* a otros grupos de reguladores, en particular a los *retardantes*, sustancias que se caracterizan por su acción enanizante sobre muchas plantas. Más adelante se verá que dicha apreciación es errónea desde el punto de vista fisiológico. Las *sustancias sinérgicas*, inactivas por sí mismas, aumentan la acción de las auxinas cuando actúan en conjunto. Entre ellas podemos citar compuestos difenólicos, derivados del ácido cinámico, como el ácido cafeico y el ácido ferúlico y otros como los ácidos shiquímico y clorogénico (éster químico del ácido cafeico).

INHIBIDORES

En su gran mayoría naturales y de muy variada composición química, normalmente contribuyen a la regulación y periodicidad del crecimiento y se oponen, total o parcialmente y en forma *no competitiva*, a la acción de las auxinas y giberelinas. Dicha acción puede tener lugar en varios momentos o etapas de la actividad de estas fitohormonas, usualmente con carácter enzimático, pero raramente en los sitios de acción. En general se requieren concentraciones relativas altas para anular por completo la acción hormonal.

Entre las sustancias de este grupo se estudiarán las series de los ácidos benzoí-

co, salicílico y cinámico, y también las de los compuestos flavonoides como la naringenina y quercetina que, en algunos casos, parecen tener relación con los estados de dormición de las yemas de algunas especies.

Otro grupo importante lo constituyen las *abscisinas*, en las que se considerarán los ácidos abscísico, faseico y lunulárico, y además la xantoxina. Dichos reguladores, en especial el ácido abscísico, parecen ser responsables de la inducción de la entrada en dormición de las yemas, así como de estimular en algunos casos la abscisión de hojas y frutos. También se lo considera un factor importante en la regulación del mecanismo estomático, en la manifestación de la senescencia foliar y de los frutos, y en el control de la germinación de algunas semillas.

Asimismo se considerará el caso del *complejo inhibidor β* que, presente en muchas especies, está aparentemente constituido por una mezcla de ácido abscísico, salicílico y otros compuestos fenólicos. Dicho complejo inhibidor parece ser el responsable de la entrada en dormición de las yemas del tubérculo de la papa y de otras especies.

ETILENO

El gas etileno es un producto normal del metabolismo celular. Su inclusión dentro del presente capítulo obedece al hecho de que dicho gas reúne ciertas propiedades que permiten considerarlo como una hormona. Como se verá más adelante, el etileno actúa normalmente en procesos bioquímicos y fisiológicos tales como la maduración de frutos y la inducción de la abscisión, a través de la estimulación de la síntesis de enzimas de tipo hidrolítico como las pectinasas y celulasas, que actúan en la laminilla media y las paredes celulares.

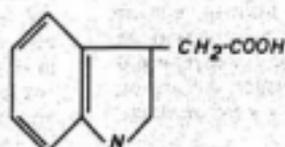
RETARDANTES

Reguladores sintéticos del crecimiento (derivados en su mayoría de los carbama-

REGULADORES

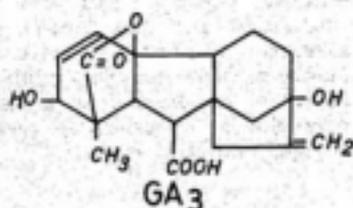
I. HORMONAS

1. AUXINAS

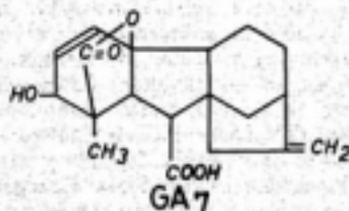


ácido indolacético (AIA)

2. GIBERELINAS

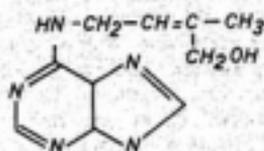


GA3

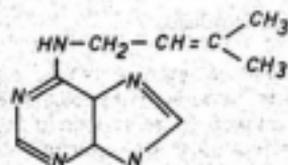


GA7

3. CITOCININAS



ZEATINA



ISOPENTENILADENINA

(6-(4 hidrox)-3-metilbut-trans-2-enil) aminopurina

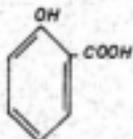
(6-(γ,γ -dimetilalil) aminopurina

4. ETILENO

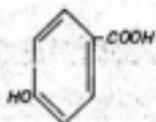


5. INHIBIDORES

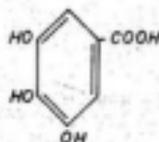
a) Serie de ácidos benzoicos



ácido salicílico

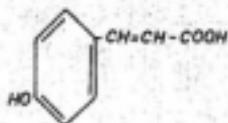


ácido p-hidroxibenzoico

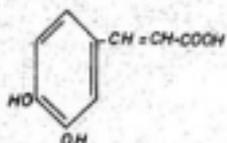


ácido gálico

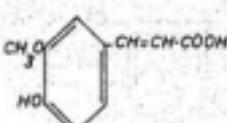
b) Serie de ácidos cinámicos



ácido p-cumárico

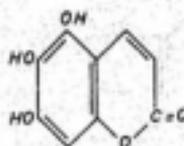


ácido cafeico

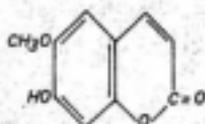


ácido ferúlico

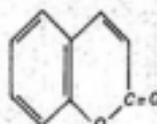
c) Lactonas no saturadas : serie de derivados de la eumarina



esculetina

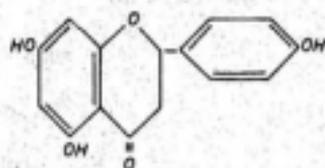


escopoletina

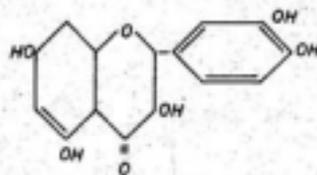


eumarina

d) Serie de derivados flavonoides

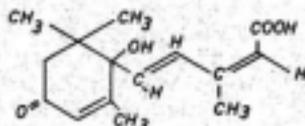


naringenina

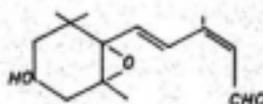


quercetina

e) Abscisinas



ácido abscísico (ABA)

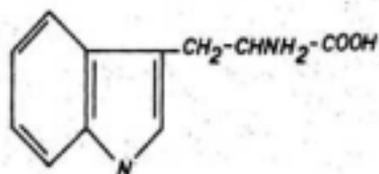


xantoxina

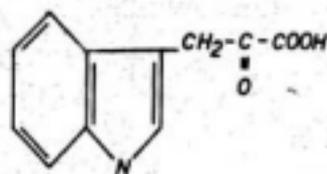
6 PRECURSORES

Auxínicos, giberélinicos y de citocininas

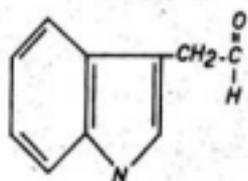
a) auxínicos



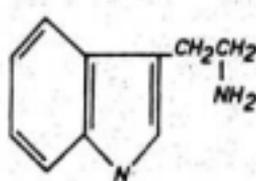
triptofano



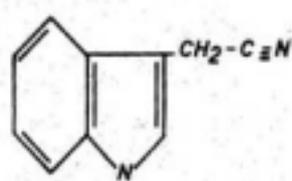
ácido indolpirúvico



Indolacetaldehído

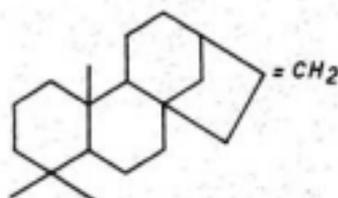


triptamina



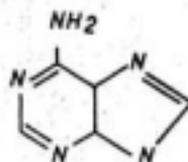
Indolacetonitrilo

b) giberélinicos



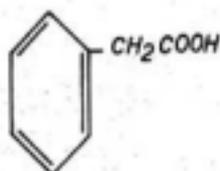
(-Kaureno)

c) de citocininas



adenina

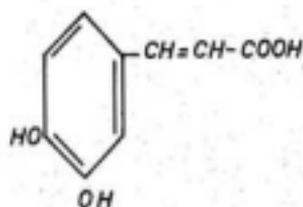
7 ANTIAUXINAS



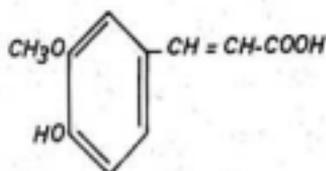
ácido fenilacético

8 SINERGISTAS AUXINICOS

a) Serie de difenoles derivados del ácido cinámico

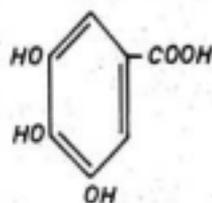


ácido cafeico

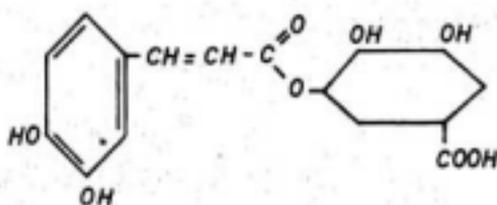


ácido ferúlico

b) Otras



ácido shikímico

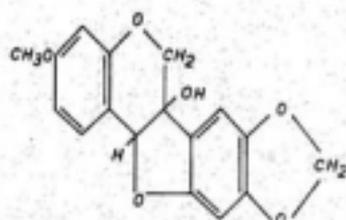


ácido clorogénico

tos de NH_4^+ , fosfonios y N cuaternarios), frenan la división y el alargamiento de las células de los meristemas subapicales e intercalares de los ejes caulinares, y regulan la altura de las plantas, pero sin causar efectos formativos sobre los restantes órganos.

La consecuencia más general de la acción de este tipo de reguladores es la de provocar la enanización de las plantas tratadas. Además pueden inducir otros fenómenos fisiológicos tales como el aumento del grado de rusticidad de ciertas plantas a los factores ambientales adver-

FITOALEXINAS

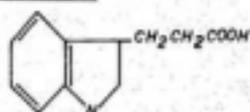


Pisatina

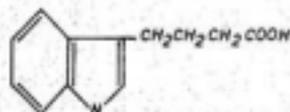
II REGULADORES SINTETICOS

1. AUXINAS

a) grupo indol

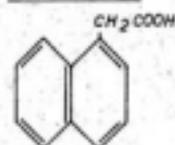


ácido indolpropiónico (IPA)

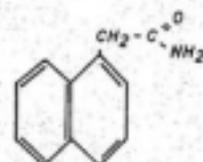


ácido indolbutírico (IBA)

b) grupo naftaleno

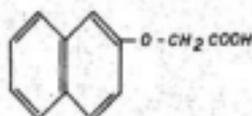


ácido naftalenacético (ANA)



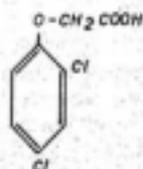
naftalenacetamida

c) grupo naftoxi

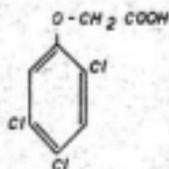


ácido naftoxiacético (NDA)

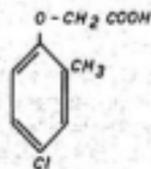
d) grupo fenoxi



ácido 2,4-dicloro-fenoxiacético (2,4-D)

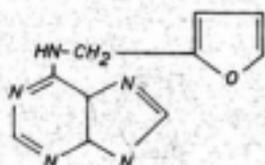


ácido 2,4,5-tricloro-fenoxiacético (2,4,5-T)

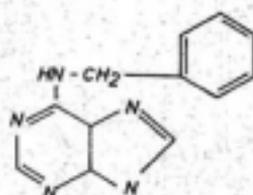


ácido 2,metil-4,cloro fenoxiacético (MCPA)

2. CITOCININAS

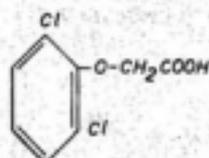


cinetina (CIN)

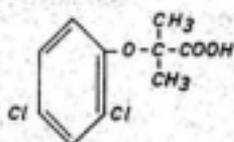


benziladenina (BA)

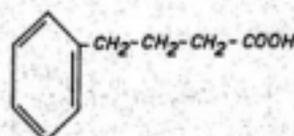
3. ANTIAUXINAS



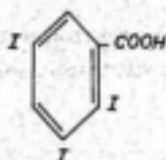
ácido 2,6-diclorofenoxi-
acético.



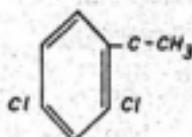
ácido 2,4-diclorofe-
noxisobutírico



ácido fenilbutírico

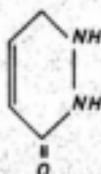


ácido 2,3,5-triodo-
benzoico. (TIBA)



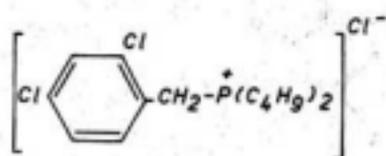
2,4-dicloroanisol

4. INHIBIDORES

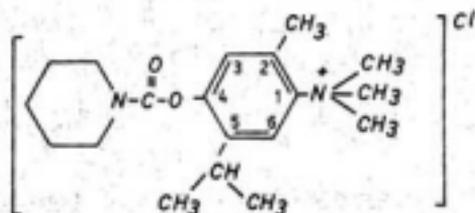


hidrazida maleica (HM)

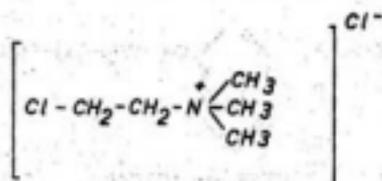
5. RETARDANTES



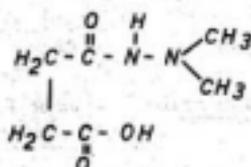
Fosfón D (cloruro de
2,4- diclorobenzil - tributil
fosfonia)



AMO 1618 (4- hidroxil - 5- isopropil - 2-
metilfenil - trimetil cloruro de amonio 1-
carboxilato de piperidina)

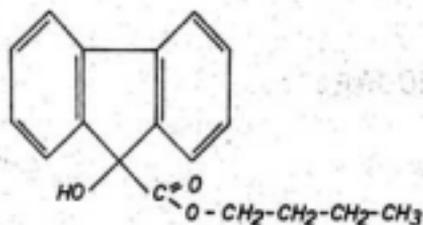


CCC ácyccocel (cloruro de
2 (cloroetil) trimetilamonia)

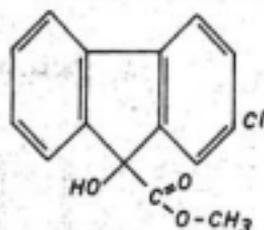


B9 ó B 995 (Alar) (ácido N- di-
metilaminosuccinámico)

6. MORFACTINAS



IT 3233



IT 3456

so (sequía, altas temperaturas, salinidad edáfica); el aumento, en la vid, del número de frutos "cuajados"; el aumento del número de flores; la inducción de la formación de yemas florales; la inhibición del crecimiento de los estolones y la estimulación de la tuberización en la papa, etcétera.

MORFACTINAS

Reguladores sintéticos, no tóxicos, que no sólo inhiben el crecimiento sino que modifican morfológicamente su expresión a través de la inducción de efectos formativos. En general son derivados de fluorenos carboxilados o clorinados. También inhiben la germinación y anulan la manifestación de ciertos tropismos.

FITOALEXINAS

Sustancias cuya síntesis es inducida por el ataque de agentes patógenos, tienen propiedades hormonales y tienden a inhibir o frenar localmente el avance ulterior de la enfermedad por inhibición del crecimiento del organismo que la provoca.

CLASIFICACION Y ESTRUCTURA QUIMICA DE LOS PRINCIPALES REGULADORES DEL CRECIMIENTO

I NATURALES

1 Fitohormonas

- auxinas*: ácido indolacético (AIA)
- giberelinas*: A1, A2, A3 (o ácido giberélico, AG), A4, A5, A6, A7, A8, A9... A34, etcétera.
- citocininas*: zeatina (ZEA); isopenteniladenina, triacantina.

2 Precusores de hormonas

- de auxinas*: triptófano; ácido indolpirúvico; indolacetaldehído; triptamina; indolacetonitrilo.
- de giberelinas*: a. mevalónico; (-)-kaureno.
- de citocininas*: adenina.

3 Antiauxinas. Acido fenilacético.

4 Sinergistas auxínicos.

- serie de difenoles derivados del ácido cinámico*: ácido cafeico y ácido ferúlico.
- otros*: ácido shiquímico; ácido clorogénico.

5 Inhibidores

- Serie de ácidos benzoicos*: ácido salicílico; ácido p-hidroxibenzoico; ácido gálico.
- serie de ácidos cinámicos*: ácido p-cumárico.
- lactonas no saturadas; serie de derivados de la cumarina*: aesculina; escopoletina.
- serie de derivados flavonoides*: naringenina; quercetina.
- abscisinas*: ácido abscísico (ABA); ácido faseico; ácido lunárico; xantoxina.
- complejo inhibidor β* .

6 Fitalexinas: pisatina; risitina.

II SINTETICOS

1 Auxinas

- grupo indol*: ácido indolpropiónico (IPA); ácido indolbutírico (IBA).
- grupo naftaleno*: ácido naftalenacético (ANA); naftalenacetamida.
- grupo naftoxi*: ácido naftoxiacético (NOA).
- grupo fenoxi*: ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D); ácido

2,4,5-triclorofenoxiacético (2,4,5-T); ácido metilclorofenoxiacético (MCPA); ácido 2,4,5-triclorofenoxipropiónico (2,4,5-TP); ácido paraclorofenoxiacético (pCPA); ácido ortoclorofenoxiacético (oCPA).
e) *picloram*.

2 *Citocininas*.

Cinetina (CIN); benziladenina (BA).

3 *Antiauxinas*.

Ácido 2,6-diclorofenoxiacético; ácido 2,4-diclorofenoxisobutírico; ácido fenilbutírico; ácido 2,3,5-triodobenzoico (TIBA); 2,4-dicloroanisol.

4 *Inhibidores*.

Hidrazida maleica (HM).

5 *Retardantes*.

Fosfón D; Amo 1618; CCC o Cicocel; B9 ó B995 (Alar).

6 *Morfactinas*.

IT 3233; IT 3456.

7 *Otros reguladores sintéticos, generalmente de acción fitocida*.

FENOMENOS DE CORRELACION

Una de las principales características de la mayoría de los reguladores naturales del crecimiento es la acción a distancia. Ello implica la inducción de efectos fisiológicos definidos en sitios más o menos distantes de la región donde aquéllos son sintetizados o liberados. Tales efectos se manifiestan, en consecuencia, como fenómenos de correlación.

Sachs fue el primer fisiólogo que propuso en 1880, que la influencia que una parte de la planta ejerce sobre otra se debe a sustancias químicas específicas que al trasladarse por el vegetal, en muy pequeñas cantidades, causan el crecimiento y diferenciación de los órganos.

Sin embargo, no todos los fenómenos de correlación son controlados por un mecanismo hormonal. Algunos se producen por acción de un órgano sobre el abastecimiento y distribución de sustancias plásticas y sustratos respiratorios en otros. Por ejemplo, la baja relación vástago/raíz, expresada en peso seco, que se observa en las plantas cultivadas en suelos con bajo contenido de nitrógeno. A medida que aumenta el contenido de este nutriente en el suelo, aumenta su disponibilidad hacia los vástagos. Allí producen, como fenómeno de correlación, el incremento gradual de aquella relación. Paralelamente, un mayor crecimiento del vástago provoca un aumento en la utilización de fotosintetizados, hecho que determina que la cantidad de esas sustancias que se dirigen a las raíces sea comparativamente menor. Otro ejemplo: a menor intensidad fotosintética, mayor es la relación vástago/raíz. Inversamente, el bajo contenido hídrico de los suelos bien aerados determina una baja relación del mismo índice que es causada por la utilización prioritaria del agua por parte del sistema radical.

En algunas variedades de papa, en especial en las tardías, los altos potenciales agua del suelo hasta la tuberización, así como un alto tenor de nitrógeno, determinan una muy alta relación follaje/tubérculos que se manifiesta por una considerable merma en los rendimientos.

No obstante, los fenómenos de correlación más importantes desde el punto de vista fisiológico son los que causan los factores de crecimiento o los balances entre dos o más de ellos.

Clasificación

La clasificación que damos a continuación no pretende abarcar a la totalidad de los fenómenos de correlación que ocurren en las plantas sino sólo los más conocidos y quizá los más evidentes. Se incluyen los fenómenos de sensibilidad de importancia en el estudio de las hormonas.

A) FENOMENOS DE CORRELACION PROPIAMENTE DICHS

- 1) Multiplicación celular.
- 2) Alargamiento celular.
- 3) Dominancia apical.
- 4) Actividad de yemas y actividad cambial.
- 5) Producción de primordios florales y actividad cambial.
- 6) Fecundación y crecimiento de frutos; partenocarpia; estenospermia.
- 7) Polaridad de crecimiento.
- 8) Crecimiento de primordios foliares y de primordios de yemas axilares.
- 9) Abcisión de hojas, flores y frutos.
- 10) Alteración del crecimiento normal: tumores, agallas, nódulos.
- 11) Inhibición o iniciación del crecimiento: dormición.

B) FENOMENOS DE SENSIBILIDAD. MOVIMIENTOS:

- 1) De traslado. *Taxis*mos. Euglena y gametos. Pueden responder o no a un estímulo.
- 2) Sin traslado.
 - a) No responden a un estímulo. *Natación*. Movimiento helicoidal de los ápices al crecer.
 - b) Responden a un estímulo.
 - i) Sin orientación; independientes de la dirección del estímulo. Generalmente se trata de fenómenos de turgencia. *Nastis*mos. Apertura y cierre de flores e inflorescencias; pliegos de los folíolos de hojas compuestas.
 - ii) Orientación por la dirección del estímulo. Generalmente se trata de crecimiento diferencial. *Tropis*mos. Puede ser positivo (hacia el estímulo) o negativo (contrario al estímulo). Foto, geo y tigmotropismos.

C) FENOMENOS DE FLORACION Y REPRODUCCION

Los fenómenos de correlación propiamente dichos son aquellos que se producen por

la acción de uno o varios estímulos de naturaleza hormonal que se generan en el mismo individuo; mientras que en los que tienen lugar por fenómenos de sensibilidad, el estímulo interno se origina a causa de la incidencia o modificación de factores externos (luz, temperatura, gravedad, efectos de contacto, etcétera).

A los fenómenos de floración y reproducción, aunque ocurren también como consecuencia de la acción de factores externos (temperatura, fotoperíodo), se los agrupa aparte, pues integran el capítulo de la Fisiología del desarrollo y, en consecuencia, se estudiarán dentro de ese tema.

Fenómenos de correlación propiamente dichos

1) MULTIPLICACION CELULAR

Las auxinas pueden causar multiplicación celular en algunos tejidos, especialmente en aquéllos poco diferenciados del tipo parenquimático. La acción auxínica sobre la multiplicación celular se puso de manifiesto mediante la utilización de la técnica del cultivo de tejidos vegetales en medios sólidos sintéticos provistos principalmente de azúcares y sales minerales (cultivo *in vitro* de tejidos).

Si se cultiva, por ejemplo, un fragmento de raíz de zanahoria o parénquima de reserva de tubérculos de topinambur en medios que contienen una auxina (AIA o ANA), se observa, al cabo de una o dos semanas, una activa proliferación que determina la formación de un callo¹. Al efectuar un corte histológico en el seno del tejido formado *de novo* (neoforado) podrá apreciarse que el aumento de volumen que experimenta se debe, fundamentalmente, a divisiones celulares operadas a partir del tejido cambial) en el caso de zanahoria y del parenquimático de reserva en el topinambur). Si la observación es más detallada podrá concluirse

¹ Callo: tejido constituido por células sensiblemente iguales, sin diferenciación histológica, o que presenta esbozos de formaciones vasculares irregulares.

que las células originales sufrieron, por la acción de la auxina, un proceso de dediferenciación que posteriormente condujo a la formación del nuevo tejido. Un fenómeno semejante ocurre cuando se aplica auxina sobre la superficie de una sección practicada en tallos de girasol o de haba: poco tiempo después aparecen formaciones de tipo calloso, más o menos prominentes, en el lugar de aplicación o en sus vecindades.

Otros tejidos no reaccionan de la misma manera. Si, por ejemplo, en un medio de cultivo se "siembran" fragmentos de parénquima amiláceo de tubérculos de papa, se podrá apreciar que la auxina agregada —aún las fuertes como el 2,4-D— no induce ningún tipo de proliferación.

Sólo se observa, en la zona de contacto con el medio, la aparición de células voluminosas, de gran contenido vacuolar y pobremente unidas entre sí, denominadas células hiperhídricas. En este caso, la auxina sólo produce agrandamiento celular. Muchos otros tejidos se comportan de la misma manera, lo cual demuestra que las auxinas no constituyen los únicos factores determinantes de la multiplicación celular (véase pág. 511).

En la casi totalidad de estos tejidos se comienzan a multiplicar activamente las células si juntamente con la auxina se agrega al medio una citocinina o líquidos endospermicos como la leche de coco, rica en este tipo de fitohormona. A partir de las células dediferenciadas in-

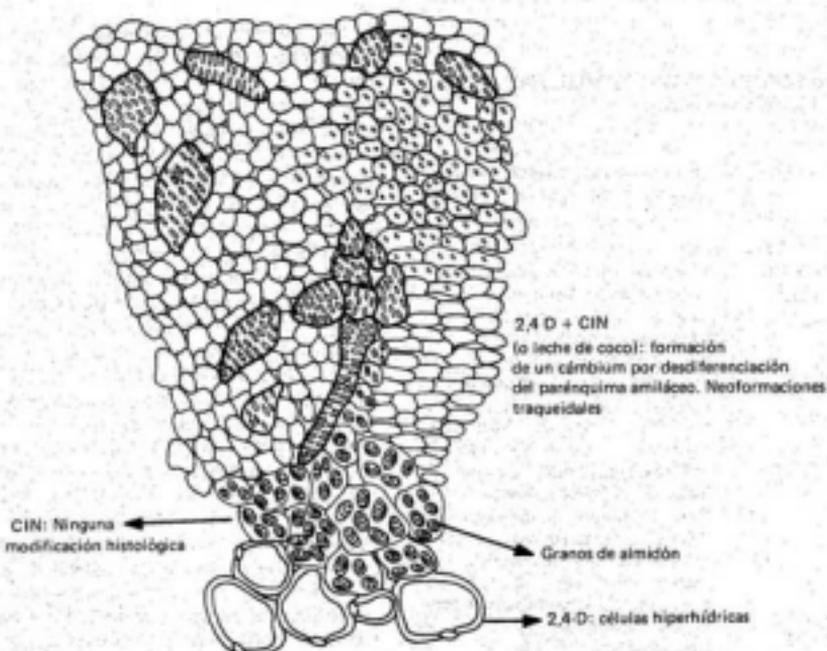


Figura 169. Dibujo semiesquemático de una sección transversal de parénquima amiláceo de tubérculo de papa cultivado *in vitro*. La neoformación de parénquima con formaciones traqueidales depende de la acción conjunta de una auxina (2,4-D) y de una citocinina (CIN). (Tizio, C.R.Acad. Sci., París, 1965. 261: 4825).

cialmente por la auxina, se instala una formación de tipo cambial que comienza a originar formaciones vasculares que a menudo se organizan en raicillas. Si el medio y el fragmento cultivado *in vitro* no contienen auxina, las divisiones celulares y sus derivaciones histológicas no tienen lugar (figura 169).

En los casos en que la auxina estimula divisiones celulares normales se demuestra que la mayoría de los tejidos que reaccionan contienen citocininas naturales.

En la multiplicación celular, las auxinas inducirían cariocinesis previa estimulación de la duplicación de ADN en los cromosomas; mientras que la citocinesis, previa formación del fragmoplasto en el plano ecuatorial de la célula durante la telofase, sería inducida por las citocininas para dar lugar a una multiplicación normal. En ausencia de citocininas no se forma el fragmoplasto. La auxina puede seguir induciendo cariocinesis sin división celular, y dar lugar a la formación de células de gran tamaño, de tipo cenocítico.

Las giberelinas, en ciertos casos, estimulan también la multiplicación celular, particularmente cuando la planta está entera y más raramente cuando se trata de tejidos cultivados *in vitro*.

El alargamiento caulinar que estimulan en las plantas en roseta y en las de tipo enano es causado por procesos activos de multiplicación celular que ocurren, según lo demostraron Sachs y sus colaboradores (1960), en el meristema subapical. El proceso es acompañado por un aumento considerable, a veces espectacular, de la síntesis de auxinas endógenas.

Es interesante destacar que la acción que en aquel sentido ejercen las giberelinas es muy particular, pues además de estimular la división celular, determinan la orientación de los planos de división que resultan sensiblemente perpendiculares al eje en alargamiento. Dicha condición, según algunos autores, podría ser la causa determinante de la alta capacidad de síntesis auxínica que muestran los

meristemas subapicales durante el proceso de entallamiento¹.

La estimulación del crecimiento de los estolones por acción de algunas giberelinas obedecería a un mecanismo semejante.

2) ALARGAMIENTO CELULAR

El crecimiento longitudinal de los ejes caulinares se produce como consecuencia del alargamiento celular que ocurre en la región de alargamiento situada entre el ápice caulinar y la región de diferenciación celular. El fenómeno es regulado por la acción de la auxina sintetizada en los ápices de la planta.

A fin de estudiar los aspectos de este mecanismo, se han utilizado con preferencia coleóptilos de trigo o avena por su constitución histológica relativamente simple (figura 170-1).

El crecimiento de aquel órgano se produce inicialmente por multiplicación y alargamiento celular hasta que alcanza una longitud de 1,2 a 1,4 cm (figura 170-2). Luego, la actividad del meristema apical cesa y el crecimiento longitudinal se opera sólo por alargamiento celular en la zona de alargamiento (fig. 170-3). Esta abarca aproximadamente de 4 a 5 mm por debajo del ápice (2 mm). La figura 171 a muestra la modalidad del crecimiento de un coleóptilo de trigo intacto, crecido en condiciones de oscuridad continua, a una temperatura de 18-19°C y durante un período de 96 horas.

La región de alargamiento, desprovista del ápice como fuente auxínica natural, es la que se ha utilizado en los estudios referentes a la acción de las fitohormonas sobre el fenómeno (figura 171 b). Los ensayos consisten en flotar un número determinado de secciones en soluciones tamponadas de auxina, en condiciones ambientales controladas (24-25°C; oscuridad continua) y durante un lapso

¹ Entallamiento: crecimiento del tallo florífero de las plantas con roseta.

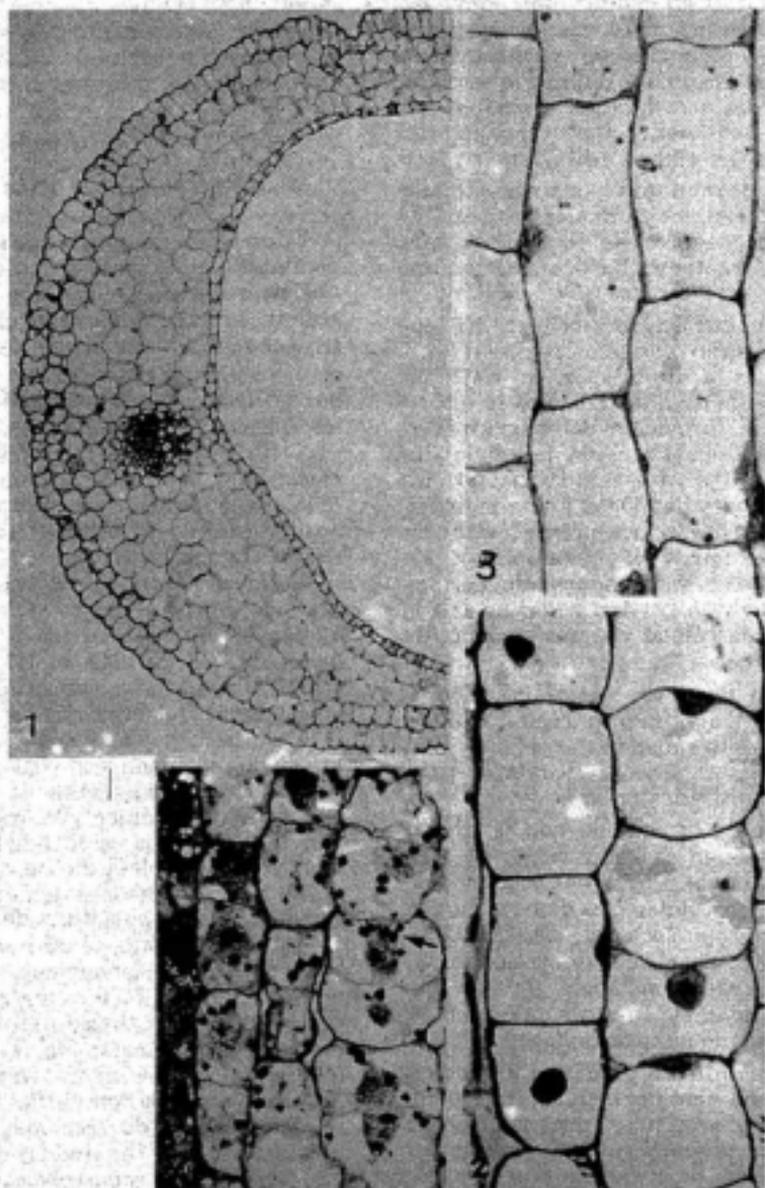


Figura 170. Células de coleóptilo de trigo en rápido alargamiento. 1) Sección transversal de un coleóptilo maduro (25 mm de largo), cortado a 5 mm del ápice (x 100). 2) Corte longitudinal de coleóptilos (2-3 mm de longitud, a la izquierda, y de 7 mm a la derecha; pv = tejido provascular). 3) Corte longitudinal de un coleóptilo de 25 mm de largo, cuyas células están alargándose. (Tomado de J. Vega, *Phyton*, 30: 31-41, 1972.)

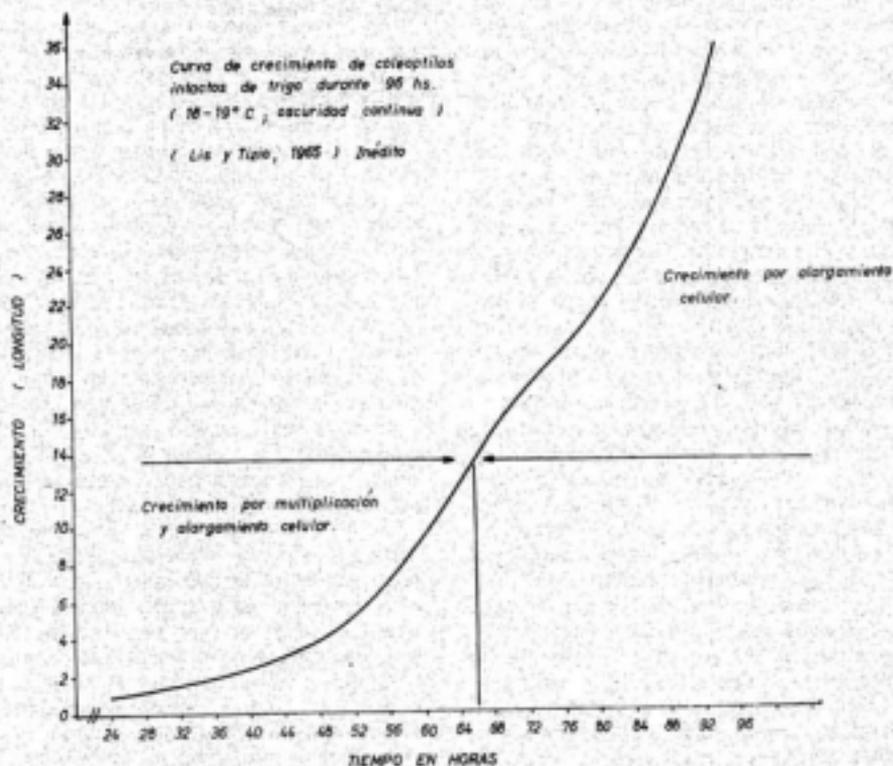


Figura 171 A. Curva de crecimiento de coleóptilos intactos de trigo durante 96 horas (18-19°C; oscuridad continua). (Lis y Tizio, 1965, inédito.)

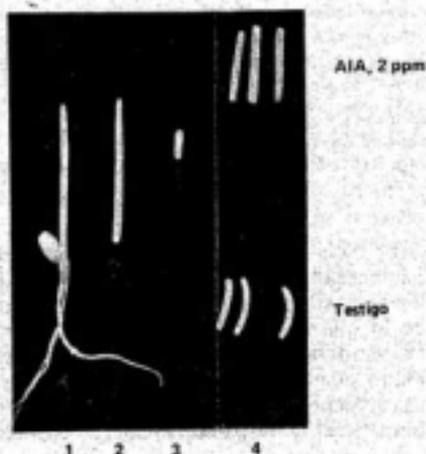


Figura 171 B. Metodología de la obtención de secciones de coleóptilos para el estudio del alargamiento celular y para la prueba de medición de la actividad auxínica: 1) plántula de trigo de 72 h crecida en oscuridad continua; 2) coleóptilo seccionado; 3) sección de coleóptilo de 5 mm de largo obtenida luego de eliminar los 2-3 mm del ápice; 4) secciones crecidas en soluciones con auxina (AIA, 2 ppm) y sin ella (testigo). (Fotografía gentileza de J. Vega.)

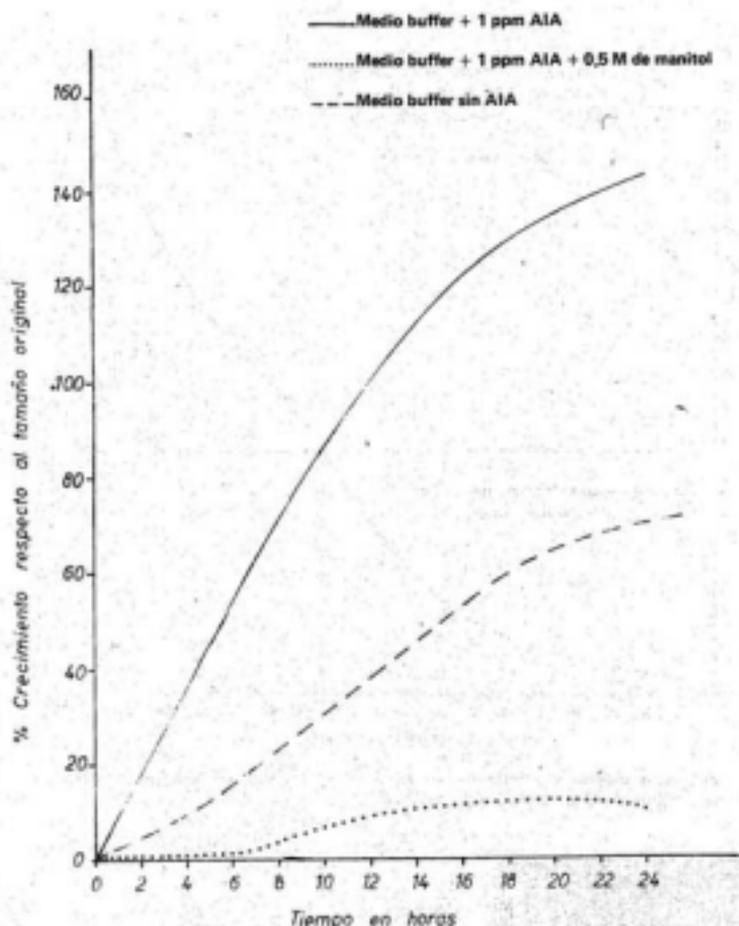


Figura 172. Curva de crecimiento de secciones de coleóptilo en medios tamponados con y sin auxina (AIA), y en presencia de manitol (medio isotónico). Crecimiento por alargamiento celular. (Lis y Tizio, 1965, inédito.)

de 18 a 20 horas, luego del cual las secciones del coleóptilo dejan de crecer. La figura 172 muestra el efecto estimulante causado por el AIA a la concentración de 1 mg/litro, sobre el crecimiento de secciones de coleóptilo de trigo en relación con el testigo crecido en la misma solución tampón sin auxina.

Si bien se ha trabajado mucho sobre los mecanismos que intervienen en el alargamiento celular, es relativamente poco lo que se conoce de ellos. No obstante, varios autores consideran que el fenómeno abarca, por lo menos, tres etapas: 1) aumento del grado de elasticidad y plasticidad de la pared celular; 2) entrada

osmótica de agua dentro de la célula; 3) síntesis de nuevo material para el crecimiento de la pared celular.

El primer efecto de la acción auxínica se aprecia en las paredes celulares paralelas al eje del coleóptilo. Primero se observa un aumento del módulo elástico seguido de un incremento de su módulo plástico, acompañados de entrada de agua a la célula. Este último fenómeno se produciría debido a una disminución de la turgencia de la célula por efecto del aumento del grado de plasticidad de la pared. En consecuencia, disminuiría el potencial agua de la célula. Es necesario destacar que el potencial osmótico no se modifica en forma apreciable al aumentar el volumen celular. Esto se debe a que la cantidad total de solutos aumenta por incorporación o liberación de azúcares y, en menor grado, por acumulación de iones.

El alargamiento de la célula se produciría como consecuencia de la absorción osmótica del agua y a favor del aumento del módulo plástico de la pared. Esto parece confirmarse porque en los medios isotónicos de manitol, por ejemplo, el alargamiento no se produce o es muy poco apreciable (figura 172), pero vuelve a manifestarse si la sección se coloca en una solución hipotónica de auxina.

El aumento del grado de plasticidad de la pared celular es proporcional al aumento de crecimiento estimulado por la auxina. Por otra parte, la deformación plástica no constituye un fenómeno puramente físico, sino que depende de la actividad metabólica de la célula. Por ello, en las paredes de las células muertas no se modifica el grado de plasticidad y tampoco se produce alargamiento.

El aumento del módulo plástico ocurre en muy pocos minutos, a menudo antes que el alargamiento se inicie y bastante antes que la célula, por la acción de la misma auxina, comience a sintetizar nuevas proteínas y enzimas.

Actualmente se considera que la auxina promueve la activación, en la pared celular y, quizá en la laminilla media, de enzimas preexistentes que provocarían la

ruptura de las uniones entre las microfibrillas de celulosa y las que existen entre las proteínas de la pared celular (extensina) y la celulosa, y entre ésta y los compuestos pécticos y hemicelulosas.

La auxina exalta también otros procesos vitales durante el alargamiento celular. La intensidad respiratoria y la síntesis de ATP aumentan, posiblemente en conexión con la síntesis de nuevo material de pared. La síntesis proteica también se incrementa, lo mismo que los movimientos citoplásmicos (ciclosis). Las relaciones de estos fenómenos con el alargamiento celular no han sido aún convenientemente dilucidadas.

Anteriormente se dijo que las giberelinas estimulan considerablemente el crecimiento caulinar. Muchos autores creen que la acción de éstas sobre el alargamiento celular en el meristema subapical es indirecta y lo producen las auxinas endógenas cuya síntesis es estimulada por la giberelina. Esta presunción se robustece por el hecho de que estos reguladores ejercen poco o ningún efecto sobre el alargamiento de las secciones de coleóptilos y de entrenudos, aunque en algunos casos (secciones internodales de tallos verdes de arveja) actúen exaltando la acción de la auxina por un fenómeno de sinergismo.

Teorías del mecanismo del alargamiento celular

Teoría de la quelación. Heath y Clark (1956-1960) postularon que las auxinas podrían promover alargamiento mediante remoción del Ca de la laminilla media a través del fenómeno de quelación. La idea la basaron en el hecho de que las sustancias quelantes de variada composición química, como el etilendiaminotetraacetato de Na (EDTA), la 8-hidroxiquinolina, el ácido uranildiacético, etcétera, promovían alargamiento celular en secciones de coleóptilos de trigo. La remoción del Ca provocaría aumentos en el grado de elasticidad y plasticidad de las paredes posibilitando el alargamiento de

las células. Esta teoría ha sido muy rebatida por varios autores que demostraron que la acción estimulante de esos agentes quelantes tiene lugar sin una concomitante remoción del Ca de la laminilla media. Actualmente se cree que los agentes quelantes actúan a nivel de sistemas enzimáticos que oxidan el ácido indolacético (indolacético-oxidasa), por quelación del catión Mn^{++} que actúa como cofactor de la enzima.

Teoría de la metilación. Ordín y sus colaboradores (1955) piensan que la auxina aumentaría la plasticidad de la pared celular por metilación de los ácidos pécticos que componen los pectatos de Ca de la laminilla media. No obstante, otros autores han podido impedir la metilación sin hacer cesar el crecimiento de las células.

Ninguna de las teorías expuestas ni tampoco las otras que han sido enunciadas explican satisfactoriamente el mecanismo que controla el alargamiento celu-

lar. Tampoco se conoce con exactitud en qué nivel la auxina ejerce su efecto primario, ni las relaciones de orden causal que existen entre los procesos vitales estimulados por ella (respiración, síntesis proteica, síntesis de materiales de la pared, etcétera) y el alargamiento celular. El mecanismo es aún hoy, poco conocido.

3) DOMINANCIA APICAL

Se denomina dominancia apical al fenómeno de inhibición o control del crecimiento de las yemas axilares o ramificaciones laterales que ejercen la yema apical o el eje caulinar principal.

El fenómeno es muy marcado en algunas especies. En el girasol, la actividad de las yemas laterales es totalmente inhibida por la yema apical en activo crecimiento. El efecto dominante del ápice se demuestra fácilmente si se procede a su remoción. Como fenómeno de correlación se

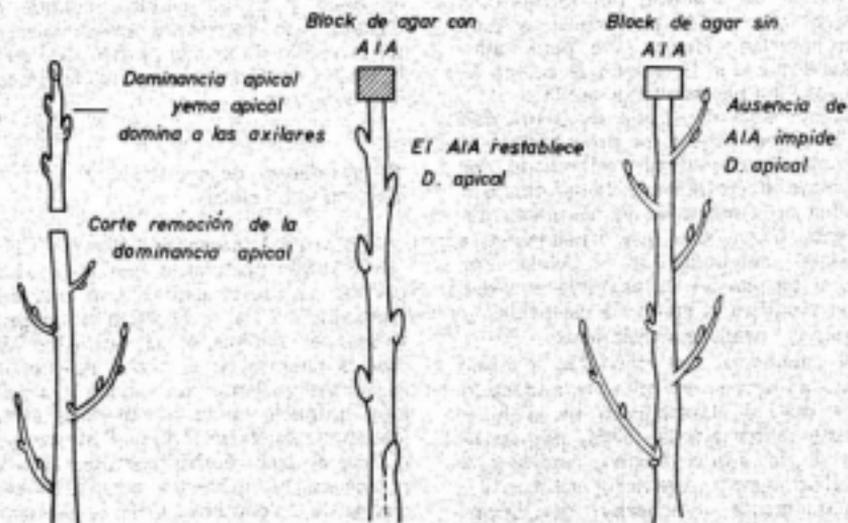


Figura 173. Efecto de la remoción de la yema apical sobre la dominancia apical de yemas axilares; reinstalación del fenómeno por aplicación de AIA en la sección apical.

observa que las yemas axilares, en particular las más cercanas a la sección de corte, comienzan a crecer activamente hasta dominar a veces el crecimiento de las ubicadas más abajo. Cuando decrece la actividad de crecimiento de las yemas apicales, las axilares, principalmente las de la parte inferior del tallo, pueden comenzar a crecer.

Existen grados diversos de dominancia apical, los que dependen de las especies, edad de la planta, modalidad de crecimiento, grado de desarrollo alcanzado, etcétera. La dominancia apical es generalmente muy marcada en las plantas bienales con el tallo florífero en activo crecimiento (entallamiento). Sin embargo, cuando la yema apical diferencia los pimpollos florales, la intensidad del fenómeno decrece considerablemente, hecho que permite el crecimiento de las yemas laterales que, a su vez también florecen. Este carácter es muy importante desde el punto de vista agronómico, pues contribuye a un buen rendimiento en semilla, especialmente en ciertas especies hortícolas como la lechuga, la zanahoria, el repollo, etcétera.

Existen tres tipos principales de dominancia apical:

- 1) inhibición del crecimiento de las yemas axilares;
- 2) regulación del crecimiento de las ramas laterales por la rama principal;
- 3) control del valor angular de las ramificaciones.

En el primer caso, Thimann y Skoog (1933, 1934) demostraron que la auxina sintetizada por la yema apical contribuye al control de la dominancia apical. Reemplazando el ápice por un bloque de agar que contenía auxina reprodujeron experimentalmente el fenómeno. El grado de inhibición es proporcional a la concentración de la auxina aplicada (figura 173).

El efecto de dominancia apical se debe a la propiedad que poseen las auxinas de

transportarse polarmente, es decir desde los ápices, donde se originan, hacia la base de la planta.

También la auxina participa del control que ejerce el eje principal sobre el crecimiento de las ramas laterales y del valor angular de las ramificaciones. Si se secciona la rama principal de un pino o un cedro, la situada por debajo comienza a crecer verticalmente reemplazando a la principal. Si luego del corte se aplica auxina, el fenómeno se anula reimplantando el control que sobre el crecimiento de las laterales ejerce la rama principal.

Sin embargo, muchas especies, a pesar de sintetizar relativamente grandes cantidades de auxinas en los ápices, no muestran, o lo hacen débilmente, el fenómeno de dominancia apical. Este hecho indica que la auxina no constituye el único factor que controla el fenómeno. En efecto, en varias especies se demostró que la aplicación de citocininas en la base de las yemas dominadas provoca la remoción del fenómeno y, por ende, el crecimiento normal de las axilares (figura 174). De la misma manera, las pulverizaciones cotidianas de cinetina permiten romper la dominancia apical en *Centaurea cyanus*, *Aster chinensis* y *Nicotiana glauca*.

La ruptura de la dominancia apical también se logra si se trata con citocininas las yemas de los tallos cuyo ápice se reemplazó con un bloque de agar con auxina. Todo ello demuestra que el fenómeno está controlado, por lo menos, por esos dos factores de crecimiento (figura 174).

El efecto de las citocininas sobre la ruptura del fenómeno parece tener lugar por estimulación de la conexión vascular, en particular la xilemática, entre las yemas axilar y el eje caulinar, hecho que permite el aporte del agua y los nutrientes necesarios para la reanudación del crecimiento.

Las auxinas sintetizadas en el ápice controlarían la dominancia apical canalizando hacia la yema apical no sólo nutrientes, sino también una gran parte de

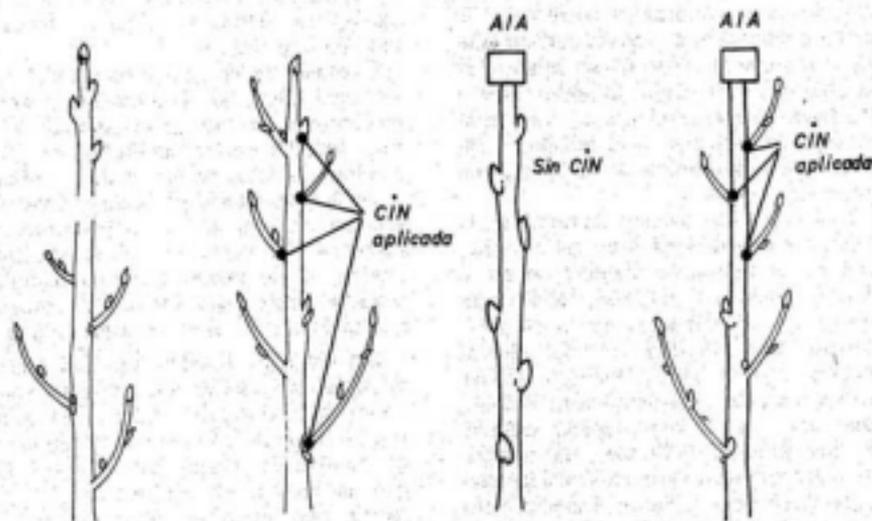


Figura 174. Efecto de la cinetina sobre la ruptura de la dominancia apical, acción antagonica de la CIN en relación con la acción de dominancia inducida por el AIA.

las citocininas sintetizadas por el sistema radical.

En ciertos casos, y especialmente en las plantas enanas, las giberelinas refuerzan o inducen la dominancia apical. Se cree que el efecto no es directo sino que tiene lugar a través de la estimulación de la síntesis de auxinas endógenas.

El fenómeno de dominancia apical constituye la base fisiológica del principio de la poda y del desbrote de tubérculos y rizomas (figura 175). Mediante estas prácticas culturales se puede eliminar a voluntad la acción dominante de las yemas apicales, permitiendo la brotación de las que se consideran más útiles en relación con el fin perseguido (poda de formación, regulación de la floración, número de ejes caulinares en la papa, etcétera).

El arqueado de ramas "fruteras" o en vías de serlo, y el de "cargadores" en vid se basa en el mismo principio. Dicha práctica permite la brotación de la mayoría de las yemas de la rama. En este

caso, la migración que experimentan las auxinas hacia la cara abaxial de la rama arqueada impide que las yemas apicales ejerzan su efecto dominante (figura 175).

4) ACTIVIDAD DE LAS YEMAS Y ACTIVIDAD CAMBIAL

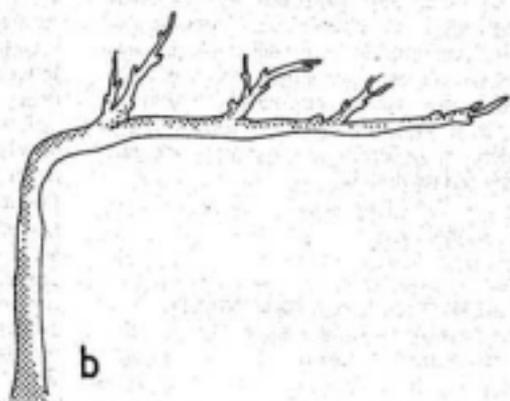
La reanudación de la actividad cambial en primavera es un fenómeno que se correlaciona con la iniciación de la actividad de crecimiento de las yemas apicales.

Se ha observado que si la yema apical en crecimiento se secciona en plantas jóvenes de girasol o de *Coleus*, la actividad cambial se detiene. Pero si sobre las secciones de corte se coloca un bloque de agar que contiene auxina, la actividad se reanuda. La actividad del cámbium aparentemente depende del suministro de auxinas desde el ápice y ocurriría debido a la propiedad del transporte polar que aquéllas exhiben.



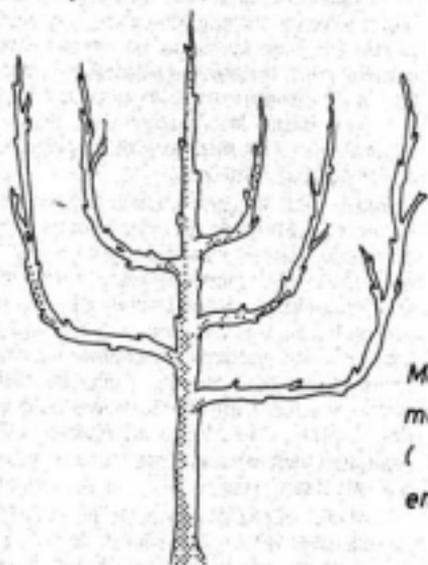
a

*Dominancia apical
por efecto de la yema
apical.*



b

*Ruptura de la Dominancia apical
por arqueado del tallo*



c

*Manejo de la Dominancia apical
mediante poda de formación
(Poda de manzano o peral
en " Candelabro ").*

Figura 175. La remoción de la dominancia apical constituye la base fisiológica de la poda y del arqueado de ramas.

Es interesante destacar que, en las brindillas de manzano y en los tallos de *Coleus*, la magnitud de formación de tejidos vasculares a partir del cámbium se correlaciona directamente con la cantidad de auxinas producidas por las yemas.

Se cree muy probable que también intervengan las citocininas. Como se vio anteriormente, la diferenciación de tejidos vasculares y parenquimáticos en secciones de órganos cultivados *in vitro* a partir de un cámbium neoformado, requiere la intervención conjunta de auxinas y citocininas.

5) DIFERENCIACION Y CRECIMIENTO PRIMORDIOS FLORALES Y ACTIVIDAD CAMBIAL

La diferenciación de primordios florales en los ápices caulinares se correlaciona no sólo con una disminución considerable del alargamiento caulinar y ruptura de la dominancia apical, sino también con la detención de la actividad cambial. Se ha determinado que, en general, la síntesis auxínica disminuye considerablemente luego de la diferenciación de órganos florales, fenómeno que se correlaciona con la detención de la histogénesis vascular.

6) FECUNDACION Y CRECIMIENTO DE FRUTOS. PARTENOCARPIA; ESTENOSPERMIA.

El crecimiento de los tegumentos del fruto, luego de la polinización, es un fenómeno correlacionado con los procesos de embriogénesis y diferenciación del endosperma de la semilla. El fenómeno es controlado por la acción, a menudo secuencial, de giberelinas, citocininas y auxinas. El crecimiento del fruto constituye, como se verá más adelante, un claro ejemplo de integración dinámica

hormonal en relación con el crecimiento de un órgano.

La flor en estado de plena madurez posee un período limitado de vida si no es fecundada. Ello es debido a que la detención del crecimiento de sus diferentes ciclos deja de aportar factores de crecimiento que determinen el mantenimiento de la conexión histológica con el tallo. Si la flor no es fecundada cae, es decir, abscisiona.

Desde el momento que la flor es polinizada, el crecimiento del tubo polínico dentro del estilo aporta factores de crecimiento, en particular del tipo de las giberelinas, que no sólo impiden la abscisión del estilo, sino que comienzan a inducir el crecimiento de las paredes del ovario. Fitting (1909) demostró que los extractos de granos de polen eran capaces de inducir el crecimiento de las paredes del ovario en las orquídeas, sin previa fecundación. En muchos otros casos, el crecimiento del tubo polínico es estimulado por auxinas provenientes del ovario.

A partir de la doble fecundación característica de las angiospermas, el endosperma joven y la cigota en crecimiento comienzan a sintetizar cantidades importantes de fitohormonas las que, al transportarse hacia las paredes del ovario, estimulan el crecimiento y diferenciación de los tejidos carpelares.

Existe abundante evidencia experimental en el sentido de que el crecimiento y diferenciación es presidido por citocininas. Con ellas puede inducirse experimentalmente la diferenciación de formas embricoidales en *Capsella bursa-pastoris*, así como en cultivos obtenidos a partir de explantos de raíz de zanahoria cultivados *in vitro*. Convenientemente cultivadas, pueden dar lugar a formas más evolucionadas capaces de crecer hasta formar plantas normales.

Trabajos realizados durante las décadas de los años 30 y 40 pusieron énfasis en señalar que las auxinas producidas por las semillas son las responsables del crecimiento del fruto en todas sus etapas. La idea se basó en el hecho de que el

crecimiento partenocárpico del fruto, en particular del tomate (Gustafson, 1936), podía lograrse con aplicaciones de auxinas (NOA) en el estilo de la flor.

Sin embargo, en otros casos, y en especial en el de ciertas rosáceas de fruto de carozo o pepita (duraznero, damasco, almendro, manzano y peral), no se logró inducir partenocarpia con auxinas, pero sí con giberelinas. Actualmente se logra el "cuajado" con formación de frutos partenocárpicos o estenospérmicos en muchas especies mediante aplicaciones de esta fitohormona. Ello induce a pensar, y hay mucha evidencia experimental al respecto, que las giberelinas producidas por los rudimentos seminales en crecimiento inician y presiden la primera etapa del crecimiento del fruto. La segunda etapa, o etapa de gran crecimiento, es presidida por las auxinas producidas en el endosperma en crecimiento y en el embrión.

En ese sentido debe destacarse que en muchos frutos, como en el damasco y los cítricos, las auxinas exógenas estimulan el crecimiento sólo después de algunas semanas de producida la fecundación. En el damasco, el momento más oportuno es el que corresponde a la iniciación de la lignificación del endocarpio; y, en los citrus, de 3 a 12 semanas después de la fecundación.

Existen también fenómenos de sinergismo entre giberelinas y auxinas en relación con el crecimiento del fruto. En el tomate, el "cuajado" del fruto se logra normalmente con aplicaciones de AG, pero los frutos resultan relativamente pequeños. Las aplicaciones simultáneas de giberelina con auxinas (AIA; pCPA) duplican el tamaño, fenómeno que se atribuye a un efecto sinérgico entre ambos reguladores.

En otros casos se han observado fenómenos de antagonismo. En el cerezo, las aplicaciones de IBA previenen el "cuaje" estimulado por AG. En el algodón, el AG induce un 100% de "cuaje", fenómeno que es antagonizado por el AIA, posiblemente a través de la síntesis de un inhibidor, el ABA. La relación de concentración entre ambos reguladores de-

termina el porcentaje de frutos jóvenes que se desprenden naturalmente. Según algunos autores, estos casos de antagonismo podrían causar la caída natural de frutitos y el efecto de raleo que se logra con aplicaciones de auxinas. Los cambios en los balances relativos de giberelinas y auxinas serían los responsables del fenómeno.

La producción de auxina en los frutos no es constante, sino que se manifiesta por "impulsos". En el manzano, la primera fuente auxínica la constituye el endosperma en crecimiento. La cantidad de auxina producida se relaciona con el ritmo de crecimiento de este tejido; es relativamente baja al final, pero aumenta considerablemente desde la 8ª a la 12ª semana, aproximadamente, período durante el cual comienza el crecimiento activo del embrión.

La acción de la auxina no se generaliza a todo el fruto, sino que abarca la región adyacente a cada semilla. Nitsch realizó experiencias interesantes con frutillas. La forma del receptáculo caroso puede variarse a voluntad, extrayendo los aqenios en crecimiento, pues cada uno influye sobre una región limitada del receptáculo. En el manzano, el aborto de algunas semillas determina un ritmo de crecimiento menor de los tejidos del pericarpio y en especial del receptáculo adyacentes a ellas, induciendo deformaciones (figura 176). En el tomate, el tamaño de la baya se correlaciona estrechamente con el número de semillas en crecimiento. Otros frutos pluriseminados muestran un comportamiento similar.

Los diferentes estados de crecimiento del fruto parecen ser controlados por distintas fitohormonas que actúan en forma secuencial o sobre la base de relaciones de concentración con otras. Así, en el tomate, las deformaciones producidas por auxinas (carpelos "hinchados") son eliminadas por aplicación de giberelinas.

El crecimiento de la baya de la vid constituye, según Van Overbeek (1962), un ejemplo muy ilustrativo de la acción secuencial hormonal (figura 177). Este autor piensa que las giberelinas son res-

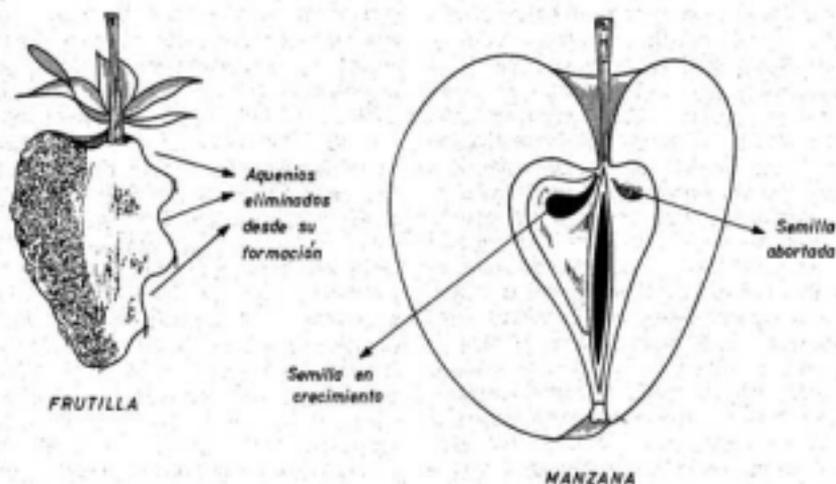


Figura 176. Efecto localizado de la acción de las auxinas endógenas sintetizadas por los aquenios (frutilla) y semillas de manzano sobre el crecimiento del receptáculo de ambos frutos.

ponsables del "cuaje" de la baya luego de la fecundación. Al mismo tiempo, las divisiones celulares en el pericarpio se producirían con predominio de acción de

las citocininas. El crecimiento ulterior del fruto (primera etapa) ocurriría por la acción de giberelinas y auxinas. Las primeras, preferentemente actuarían sobre el crecimiento de los frutos de variedades apirénicas (p. ej. cultivares "Sultanina" y "Corinto Negro"); las segundas, en las de cultivares con semilla. Paralelamente, ambos factores de crecimiento estimularían la disminución de la presión de la pared de las células del pericarpio.

La etapa de gran crecimiento (segunda etapa) estaría gobernada por un mecanismo esencialmente osmótico. La acumulación constante de ácidos orgánicos y azúcares causa considerables descensos del potencial osmótico y, por ende, una disminución del potencial agua. La entrada de ésta a las células provocaría el agrandamiento celular que se observa durante esa etapa, y conduciría al crecimiento del fruto hasta su tamaño definitivo.

La partenocarpia natural que se produce en el banano y el ananá es debida a la capacidad que poseen los tejidos maternos de sintetizar suficiente cantidad de fitohormonas. En general se observa una estrecha correlación entre el contenido

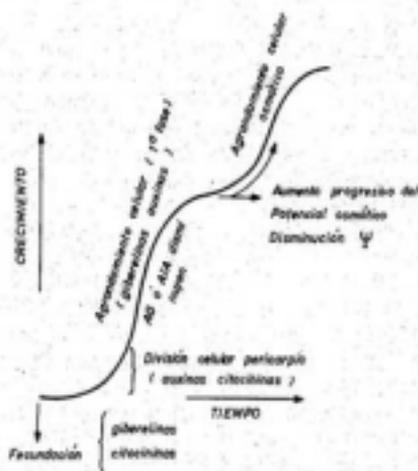


Figura 177. Representación esquemática del crecimiento de la baya de vid y los factores de crecimiento involucrados. (Adaptado de van Overbeek, J., 1962.)

de giberelinas, y la tasa de crecimiento de los frutos, análoga a la observada en los frutos provenientes de una fecundación normal.

En el caso de los frutos estenospérmicos en los que el embrión joven, aborta prematuramente, el crecimiento del fruto es en general subóptimo, debido a la producción de cantidades limitadas de giberelinas. En los cultivares de vid "Sultanina" y "Corinto Negro" puede lograrse un aumento sustancial del tamaño de la baya con aplicaciones de AG durante la floración.

7) POLARIDAD DE CRECIMIENTO

Se denomina polaridad de crecimiento a la propiedad que poseen las células, tejidos y órganos de orientar preferentemente la dirección del crecimiento en un momento dado experimentan.

Los fenómenos de polaridad del crecimiento pueden manifestarse:

- a) por una dirección preferencial de la división celular;
- b) por una dirección preferencial del alargamiento celular;
- c) por una dirección preferencial de la histogénesis;
- d) por una dirección preferencial de la diferenciación de órganos (organogénesis).

Los dos primeros casos ya han sido considerados. No obstante, debe recalcar-se que ambos comportamientos implican la condición previa para que se cumplan *a posteriori* fenómenos de histogénesis y organogénesis normales.

La ruptura del fenómeno de polaridad en la división celular conduce a menudo a la manifestación de fenómenos de proliferación anormales y aun aberrantes (desdiferenciación celular, formación de células hiperhídricas, formación de callos, tumores, etcétera). Asimismo, la transformación del alargamiento celular en agrandamiento isodiamétrico conduce a menudo a ciertas manifestaciones organogénicas como la formación de tubérculos, bulbos y raíces carnosas.

Uno de los casos más típicos de polaridad morfológica es el representado por las estacas que enraízan naturalmente. En el álamo y el sauce, la formación de raíces siempre tiene lugar en la base fisiológica de la estaca, cualquiera que sea la posición en que aquella se coloque. La capacidad rizógena se polariza, en consecuencia, en la base del eje caulinar (figura 178).

Las raíces de achicoria (*Cichorium intybus* L.). También muestran una marcada polarización de la capacidad morfológica que exhiben. Si se corta transversalmente una raíz dividiéndola en varios segmentos se observará, luego de plantarlos, que las secciones basales de todos ellos enraízan, cualquiera que sea la posición original en la raíz intacta, mientras que en las apicales se forman yemas caulinares (figura 179). Paralelamente, la capacidad rizógena natural puede aumentarse si sobre las secciones apicales se aplica auxina, con su presión concomitante de la formación de yemas.

La capacidad de las secciones de un órgano de polarizar cualitativamente el crecimiento (formación de raíces en las bases; de yemas en los ápices) se debe al transporte de factores de crecimiento, particularmente de auxinas, que aquéllos exhiben. En el caso de la rizogénesis de estacas, el fenómeno se debe a que las auxinas se transportan polarmente, desde el ápice, provenientes de las yemas, hacia las bases donde estimulan el fenómeno.

La formación de raíces en la base fisiológica de las estacas radicales de achicoria se correlaciona con una marcada acumulación de auxina, mientras que la génesis de yemas en las apicales coincide con una acumulación de sustancias del tipo de las citocininas, probablemente trasladadas en forma acrópeta.

Ciertos casos de diferenciación histológica exhiben orientación polar. Las secciones de raíz de zanahoria cultivadas *in vitro* muestran que la capacidad de proliferación se polariza hacia las bases fisiológicas de la sección. El xilema crece primero formando un parénquima homogéneo sobre la sección de corte. Luego se

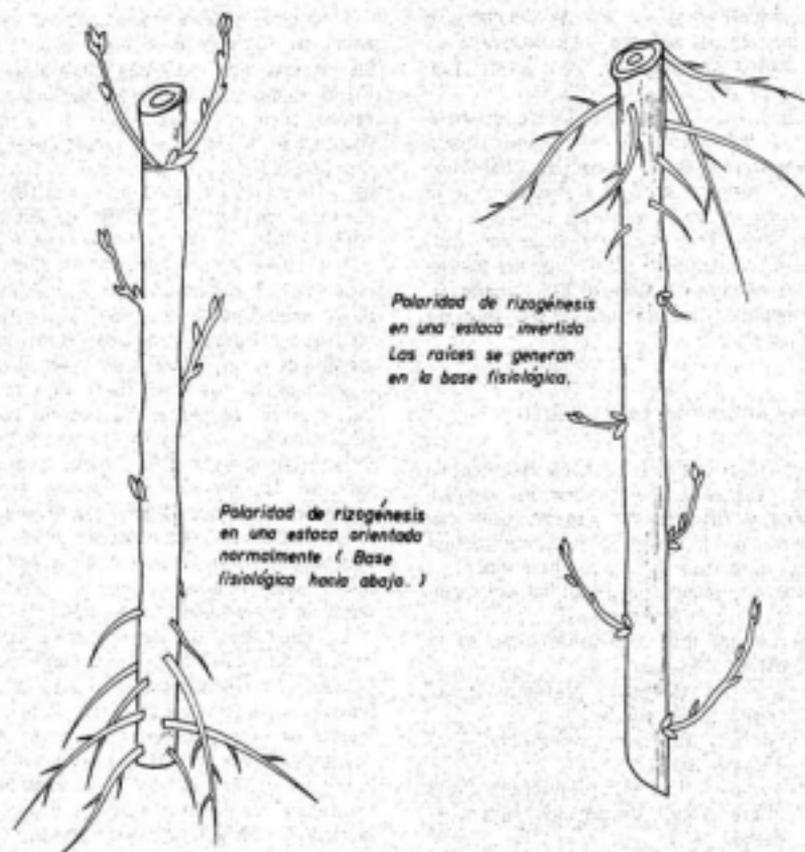


Figura 178. Manifestaciones de polaridad de crecimiento (rizogénesis).

forma un cámbium entre el tejido neoformado y el preexistente, capaz de generar formaciones cribotraqueales, pero sólo en las zonas basales de la sección y no en las apicales. El fenómeno se correlaciona con la acumulación de auxinas endógenas en esa región. La aplicación exógena del mismo regulador en los ápices fisiológicos estimula la proliferación de tejidos en la base, lo cual demuestra nuevamente que la diferenciación polarizada se debe al transporte polar de la auxina aplicada.

Las causas determinantes de la propiedad de transporte polar que exhiben las auxinas en el nivel celular se desconocen, aunque se piensa que en él está involucrado el sistema de membranas.

Los fenómenos descritos son semejantes a los de tipo morfogénico que tienen lugar por la acción simultánea de auxinas y citocininas, como ocurre en los discos foliares de *Begonia rex*. En ellos, el balance entre esos factores de crecimiento determinará el tipo de órgano que habrá de diferenciarse: las auxinas,

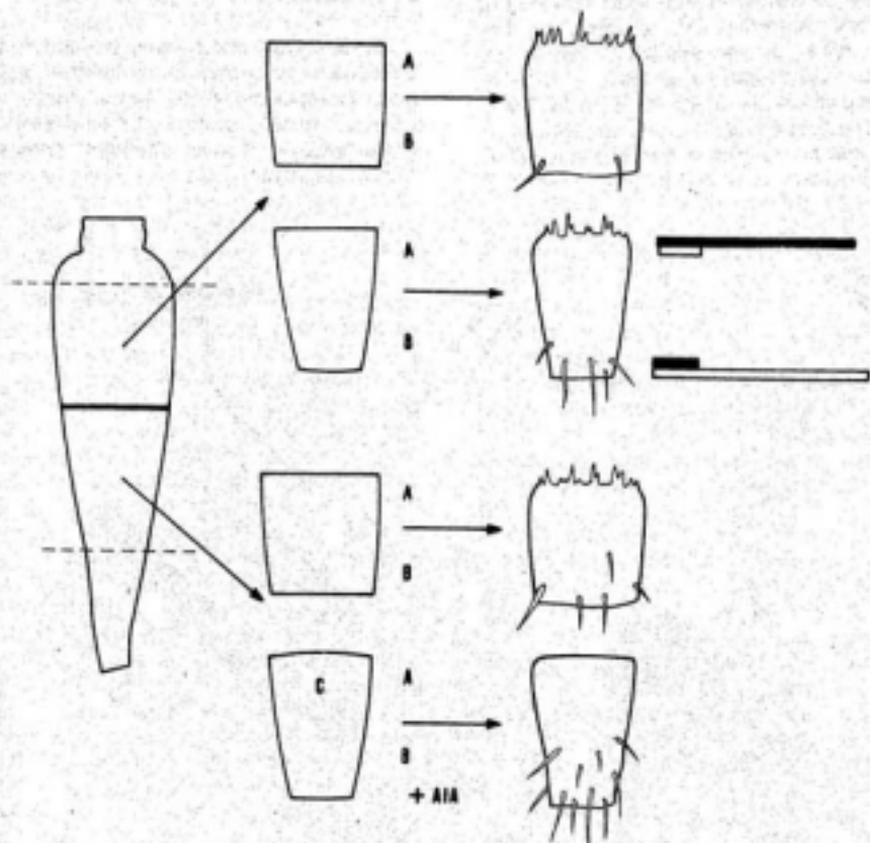


Figura 179. Esquema de la polaridad de morfogénesis en la raíz de achicoria (*Cichorium intybus* L.). Los ápices fisiológicos (A) diferencian yemas; las bases (B), raíces. Los tratamientos auxínicos sobre un ápice (C) inhiben la formación de yemas y estimulan la rizogénesis en la base. La polaridad morfogénica se relaciona con el contenido de factores de crecimiento (auxinas y citocininas). (Adaptado de Nitsch, 1965.)

al estimular la rizogénesis e inhibir la formación de yemas; y las citocininas al estimular los procesos inversos. Las relaciones intermedias permiten la expresión de ambos tipos de organogénesis, de gran importancia práctica en la multiplicación agámica.

8) CRECIMIENTO DE PRIMORDIOS FOLIARES Y DE PRIMORDIOS DE YEMAS AXILARES

La diferenciación de los primordios de yemas en el meristema apical es controlada por los primordios foliares en cuyas

axilas se forman aquéllas. La ablación de dichos primordios foliares impide la diferenciación y crecimiento de los de yemas. Evidentemente se trata de una acción a distancia. Se desconocen los factores determinantes de tal comportamiento, aunque se piensa que son de carácter hormonal.

9) ABSCISION

Se denomina abscisión al fenómeno de ablación o caída natural de ciertos órganos, en particular de hojas, brácteas, pérulas, frutos, semillas y de flores u otros órganos florales (pétalos, sépalos, estambres, estilos).

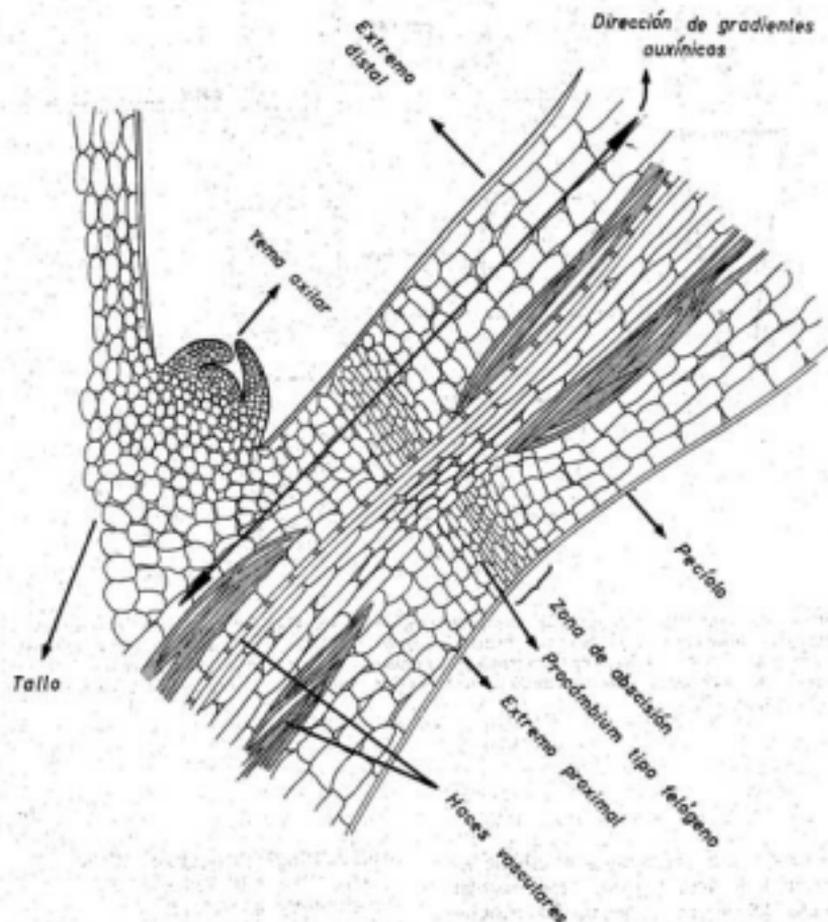


Figura 180. Zona de abscisión en un pecíolo (semiesquemático). Dirección de gradientes auxínicos en relación con los extremos distales y proximales del sistema.

En muchos casos, el fenómeno implica una adaptación a condiciones ecológicas desfavorables, como en el caso de la abscisión de hojas durante el otoño.

El fenómeno está regulado por factores hormonales, en particular por las auxinas y el etileno y, en algunos casos, por las abscisinas. Las giberelinas y citoquininas también parecen intervenir, pero el papel que desempeñan sería indirecto, a través de la influencia que ejercen sobre los niveles auxínicos.

La abscisión ocurre en el nivel de las llamadas zonas de abscisión. En las hojas, éstas se localizan preferentemente en la parte inferior de los pecíolos, próxima al nudo sobre el que se asienta la hoja. La zona se caracteriza por ser de diámetro menor que el resto del pecíolo. Posee, además, un menor grado de diferenciación histológica. Generalmente no se observan fibras y el grado de lignificación es prácticamente nulo. Además, las células y los meatos son de menor tamaño (figura 180).

La división celular en la zona de abscisión no constituye una condición indispensable para que el fenómeno ocurra. En general, sucede en el nivel de las laminillas medias y paredes celulares primarias por lisis de tipo hidrolítico orientadas en sentido transversal al eje del órgano.

Pueden distinguirse tres tipos de lisis:

- a) lisis de la laminilla media;
- b) lisis de la laminilla media y de las paredes primarias de las células adyacentes a ella;
- c) lisis de capas enteras de células dentro de la zona de abscisión.

Los dos primeros tipos ocurren preferentemente en hojas y frutos de plantas leñosas, mientras que el tercero es más frecuente en hojas de plantas herbáceas.

Eventualmente, y sobre la cara proximal de la zona de abscisión, se diferencia un meristema secundario, tipo felógeno, orientado transversalmente al eje del órgano. Este meristema origina un tejido cicatricial suberoso o lignificado que en algunos casos puede formar un periderma.

Desde el punto de vista bioquímico se observa, poco antes de la iniciación del fenómeno, un aumento considerable de la actividad de las pectinasas y celulasas, enzimas hidrolíticas de la laminilla media y de la pared primaria. El aumento se debe a la síntesis *de novo* aparentemente estimulada por el etileno, cuya producción por los tejidos adyacentes aumenta considerablemente. La acción de tipo hormonal del gas se ejercería a través de la estimulación de la respiración hasta alcanzar un climatérico, semejante al que se produce en los frutos en maduración por la acción del mismo etileno.

La disponibilidad de compuestos muy energéticos es indispensable para la síntesis de esas enzimas. Los inhibidores de la respiración, como el monóxido de carbono y los cianuros, inhiben también la abscisión.

En muchos casos se produce simultáneamente una disminución de la actividad de otra enzima: la pectina metilesterasa. Esta enzima remueve radicales $-CH_3$ de los residuos de ácidos galacturónicos que por polimerización forman los ácidos pécticos. La remoción de $-CH_3$ permite la existencia de $-COOH$ libres para la formación de los puentes de pectatos de Ca responsables de la acción cementante de la laminilla media. En ese sentido, se ha observado que las sustancias dadoras de radicales $-CH_3$, como la metionina, promueven la abscisión al reducir la actividad de la enzima. La incorporación de $-CH_3$ en lugar de Ca facilita el proceso hidrolítico estimulado por las pectinasas.

Desde el punto de vista fisiológico, el fenómeno de abscisión está controlado por la existencia de gradientes auxínicos que se establecen entre el órgano y el eje caulinar. Cuando el gradiente decrece desde el órgano hacia el tallo, la abscisión se inhibe, mientras que cuando el gradiente se invierte, el fenómeno se estimula. Este es el caso de las flores maduras, no polinizadas, o de las hojas maduras en trance de senescer y también el de los frutos maduros en los que la producción de auxina ha decaído sensiblemente.

La alteración experimental de los niveles auxínicos permite poner en evidencia el fenómeno. Las aplicaciones proximales (del lado del tallo) en la zona de abscisión altera el gradiente en favor de esa zona provocando la caída del órgano, mientras que las aplicaciones distales (del lado del órgano) la impiden o retardan. No obstante, las concentraciones auxínicas relativamente altas, aplicadas a cualquiera de los lados, retardan la abscisión. Este hecho constituye la base fisiológica del control de la caída de precosecha de los frutos del manzano y el peral.

El fenómeno de abscisión se cumple en dos etapas: 1) cesación de la inhibición impuesta mediante la inversión del gradiente auxínico originalmente decreciente hacia el tallo; 2) ocurrencia, en la zona de abscisión, de fenómenos bioquímicos de separación, estimulados por el etileno producido por el órgano que va a abscionar.

Mientras que el gradiente auxínico es tal que impide la abscisión, la producción de etileno es reducida; pero una vez que el gradiente se invierte, aquélla aumenta considerablemente por un efecto de autocatálisis del mismo gas, que coincide con el inicio de los fenómenos de senescencia del órgano.

En algunos casos, el fenómeno es acompañado por un aumento en la frecuencia de tilosis y de otros materiales taponantes en el xilema que se acompaña con la disolución de calosa en los tubos cribosos. Ambos fenómenos estimularían senescencia y abscisión. En el caso de las tilosis en el xilema, mediante inducción de déficits hídricos en la lámina de la hoja; y en el caso de floema, al posibilitar la movilización de nutrientes hacia el tallo.

La producción de auxinas, giberelinas y citocininas en las flores y las hojas jóvenes y en los frutos en crecimiento determina procesos activos de redistribución de nutrientes y fotosintetizados hacia esos órganos, impidiendo la senescencia y la abscisión. Cuando los estados nutricio o hídrico son deficientes, los órganos en crecimiento compiten entre sí (especial-

mente entre hojas y frutos jóvenes) por la disponibilidad de nutrientes o de agua, y determinan la retención de muchos de aquéllos en la planta a expensas de la abscisión de los restantes. El fenómeno decrece en intensidad en las plantas bien nutridas o de buen estado hídrico.

En otros casos, el fenómeno de abscisión implica una forma de adaptación a la sequía. En las plantas de *Larrea divaricata*, en condiciones de severo déficit hídrico se produce la caída de gran parte de las hojas y de esa manera se reduce la superficie de transpiración.

Las abscisinas estimulan, en algunos casos, la abscisión. El ABA, por ejemplo, estimula la caída de los frutitos jóvenes del algodón, acción que es total o parcialmente antagonizada por las auxinas, giberelinas o citocininas. La acción tendría lugar a través de la aceleración de la senescencia del órgano. También se considera probable que actúe, como el etileno, estimulando la síntesis de pectinasas y en especial de celulasas.

La acción retardante ejercida por las giberelinas y citocininas sobre la abscisión se produciría, en el primer caso, a través de la estimulación de la síntesis auxínica, y en el segundo, mediante la exaltación de la síntesis de enzimas involucradas en el crecimiento y por un efecto redistributivo de nutrientes y aminoácidos desde los tallos hacia las zonas de aplicación de la hormona.

Las condiciones ambientales e intrínsecas que retardan o estimulan la abscisión son las siguientes:

a) *de inhibición o retardo*: órgano sano en activo crecimiento; alto contenido de hidratos de carbono; estado hídrico adecuado; días largos; disponibilidad de nutrientes.

b) *de promoción*: órgano senescente o enfermo; ausencia de fecundación en flores maduras; bajo contenido de hidratos de carbono; condiciones de sequía edáfica; días cortos; deficiencia de nutrientes, en especial de N y Zn.

10) ALTERACION DEL CRECIMIENTO
NORMAL: TUMORES, AGALLAS,
NODULOS.

Los tumores son masas de tejidos desprovistas de organización, cuyas células proliferan activamente, pero de manera anárquica, debido a la acción de factores externos diversos: virus, bacterias, hongos, insectos, radiaciones, productos químicos y aun por factores genéticos, como en el caso de los híbridos de *Nicotiana glauca* x *N. langsdorffii*.

Los tumores vegetales, llamados a menudo "agallas", se pueden producir por fenómenos de hiperplasia o hipertrofia, o por combinaciones de ambos. Los fenómenos de hiperplasia se producen por multiplicación celular anormal, sin sentido polar, y los de hipertrofia se deben a alteraciones de la forma, tamaño y de la polaridad de crecimiento de las células afectadas.

Los casos más comunes de formación de tumores pueden agruparse en:

- a) formaciones tumorales por acción viral;
- b) formaciones tumorales por acción de ciertas bacterias;
- c) formación de tumores por acción de factores de crecimiento;
- d) formación tumoral por acción de ciertos insectos.

a) *Formaciones tumorales por acción viral*

La gran mayoría de los virus vegetales ejercen su acción patógena sin inducir proliferaciones de tipo tumoral. En cambio, el "Wound Tumor Virus" (WTV) es capaz, en condiciones de laboratorio, de inducir formación de tumores localizados en el periclio de las raíces laterales de *Melilotus alba* y *M. officinalis*. El crecimiento es estimulado sinérgicamente por aplicación de auxinas, las que además pueden inducir la formación de tumores adicionales.

b) *Formaciones tumorales por acción de ciertas bacterias*

Los tumores del tipo de "agalla de corona" son producidos por la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* en los tejidos de malvón, tabaco, olivo, crisantemo, girasol y escorzonera. Se origina por un principio tumoral que, producido por la bacteria, se introduce en las células y se multiplica al mismo tiempo que ellas e induce la formación de tumores que a menudo resultan desprovistos del agente patógeno. El principio, que parece ser de naturaleza desoxirribonucleica, provoca profundos desequilibrios en la síntesis normal de la auxina y, probablemente, de las citocininas. El principio altera definitivamente el patrón de crecimiento del tejido invadido. Debido a ello, los tumores son capaces de proliferar indefinidamente *in vitro*, pues han adquirido la capacidad de sintetizar su propia auxina. Paralelamente, los tumores producen un poderoso inhibidor del complejo oxidativo de AIA (AIA oxidasa), determinando los altos niveles auxínicos que ellos exhiben.

c) *Formación tumoral por acción de factores de crecimiento. Formación de tejidos "acostumbrados" a la auxina*

Ciertos tejidos cultivados *in vitro* (p. ej. callos de *Partenocissus*, de escorzonera, etcétera) sufren una modificación de tipo tumoral de rápida proliferación cuando se cultivan en medios ricos en auxina. Dicho fenómeno cesa al suspenderse el suministro hormonal, o bien aquéllos reanudan su crecimiento normal cuando la auxina se asocia a una citocinina. Sin embargo, en algunos casos pueden "acostumbrarse" a la auxina al adquirir la capacidad de sintetizar la propia, y de ese modo proliferar indefinidamente en medios sin auxinas y experimentar una especie de transformación tumoral.

d) Formación tumoral por la acción de insectos

El ataque de pulgones del género *Phylloxera* a las raicillas de la vid provoca la formación de una proliferación celular anárquica, de naturaleza tumoral, alrededor del lugar donde el insecto insertó su rostro. Posteriormente, el tumor sufre una invasión bacteriana que lo desorganiza y provoca el desprendimiento del ápice radical y de la zona de los pelos absorbentes. El crecimiento del tumor es muy particular. Se inhibe alrededor del rostro, pero crece con vigor en el costado opuesto de la raicilla. La estimulación tumoral parece ser debida a la acción del AIA que el insecto inyecta en la región liberiana. La auxina actuaría en forma dual, inhibiendo el crecimiento por exceso de concentración alrededor de la zona de ataque. Desde allí y hacia el lado opuesto se produciría un gradiente auxínico decreciente, y de ese modo se alcanza una concentración adecuada para la estimulación de la proliferación.

Nodulación. La formación y crecimiento de nódulos en las raíces de las leguminosas, provocado por una bacteria del género *Rhizobium*, es similar, en su morfología, a la formación de primordios de raíces laterales.

Las divisiones celulares que el simbionte estimula sólo en las células tetra y octaploides cercanas al periciclo de la planta huésped, parecen ser debidas a la acción de citocininas sintetizadas por la bacteria. En el crecimiento nodular, también parece participar el AIA sintetizado por el agente simbionte a partir de triptófano suministrado por las raíces. El ulterior agrandamiento celular que se produce dentro del nódulo sería, también, controlado por la auxina.

11) DORMICION

El estado de "dormición" o de "reposo" es aquel estado fisiológico durante el cual las yemas y semillas no brotan ni germinan debido a causas intrínsecas, aun cuando se las coloque bajo la gama

de condiciones ambientales que cada una de ellas requiere para hacerlo.

El estado de yema o de semilla "dormida" constituye una forma de adaptación ecológica a condiciones ambientales adversas respecto al crecimiento normal. En cierto modo es una forma de rusticación morfofisiológica, pues implica incrementar considerablemente la resistencia a los efectos perjudiciales del frío y de las heladas, o a la falta de agua, etcétera.

Varios autores distinguen, además, otros períodos relacionados con el descrito —denominados de "predormición" y de "posdormición", en las yemas o de "posmaduración" en las semillas—, en los que la ausencia de brotación o de germinación se atribuye a la falta o defecto de algún factor ambiental (temperatura, niveles térmicos, tensión de O₂, humedad, ausencia de termoperiodicidad, luz, etcétera) o a la ausencia circunstancial de algún factor de tipo hormonal (Vegis, 1963).

En la gran mayoría de las plantas caducifolias, la entrada en dormición es inducida por el acortamiento del día. El fenómeno, que se produce en forma gradual y a menudo lenta, ocurre antes del inicio de la senescencia y abscisión foliares. En general, está bien establecido a la caída otoñal de las hojas, aunque a veces coincide con el cambio de coloración de preabscisión. Las condiciones de déficit hídrico, comunes en los meses estivales, aceleran a veces la entrada en dormición, hecho que se correlaciona en ciertos casos con la síntesis de sustancias inhibidoras, del tipo de las abscisinas.

En los ápices caulinares, el fenómeno de dormición se caracteriza por una transformación de los primordios foliares en pérulas. El fenómeno es de naturaleza fotoperiódica (por acortamiento del día) y es captado por las hojas y trasladado hacia la yema, circunstancia que prueba su naturaleza hormonal. En muchos casos se ha determinado que el ABA es el factor determinante de tal comportamiento.

El estado de dormición o reposo se caracteriza, tanto en las semillas como en

las yemas, no sólo por una reducida actividad metabólica, sino también por la presencia de cantidades relativamente elevadas de inhibidores y por la ausencia de fitohormonas. En algunos casos, ello ocurre en el embrión o en la yema misma; pero en otros, el estado de dormición o reposo es controlado por las hojas, pérulas, brácteas y tegumentos seminales, y aun por el pericarpio del fruto.

En la papa, por ejemplo, la dormición de las yemas de los tubérculos es controlada por la presencia del complejo inhibidor β acumulado en la peridermis del órgano. En cambio, en el cerezo, el peral, el manzano, el duraznero, el almendro, otras rosáceas y la vid, el estado de dormición es de carácter embrional o reside en las mismas yemas.

En el caso de muchas gramíneas, el estado de cariopses "dormidos" es controlado por las glumelas, aparentemente a través de sustancias inhibitorias. Los lavados frecuentes de las espigas o panojas pueden causar fenómenos de "viviparidad", es decir, la germinación de los cariopses dentro de las espiguillas. En la remolacha, la dormición de la semilla es controlada por la presencia de inhibidores de naturaleza fenólica (probablemente ácidos ferúlico y abscísico) en los glomérulos del fruto.

En fin, la dormición de origen tegumentario puede deberse a la presencia de inhibidores de muy variada composición química, según las especies, tales como alcaloides, nicotina, ácidos aromáticos, cumarina —como en ciertas variedades de lechuga—, y a saponinas, como ocurre en *Atriplex*, *Melia*, etcétera.

En los casos de dormición embrional y de yemas, y en especial en aquellas especies que requieren un período de frío más o menos largo para romper la dormición, el fenómeno es controlado por inhibidores y giberelinas endógenas. La regulación del fenómeno, su inducción y remoción parecen depender de las interacciones de ambos tipos de reguladores, muy variables según las especies.

La entrada gradual en dormición se correlaciona con un aumento progresivo

del contenido de inhibidores en las yemas o embriones. En las plantas caducifolias, el acortamiento del día induce el fenómeno y provoca la formación de pérulas en las yemas apicales. El ABA parece estar involucrado en dicho mecanismo, pues las aplicaciones frecuentes en los ápices caulinares de *Betula*, *Acer*, *Ribes*, etcétera, provocan el mismo fenómeno en condiciones no inductivas, de día largo. En la papa, la acumulación de inhibidor β en la peridermis de los tubérculos parece ser la causa determinante de la entrada en dormición de las yemas. El complejo inhibidor, uno de cuyos componentes es el ABA, se sintetiza en el follaje bajo cualquier condición fotoperiódica y parece migrar hacia los tubérculos, donde se acumula. Fenómeno semejante ocurre en las yemas de *Acer*, *Abedul* y *Fraxinus*. El ABA, cuya síntesis se intensifica cuando los días se acortan, migra también en esas especies hacia las yemas, donde se acumula, o bien se aloja en las pérulas, desde donde parece controlar el fenómeno. Es interesante destacar que el fenómeno de acumulación del inhibidor y la ulterior entrada en dormición pueden prevenirse interrumpiendo con luz el período oscuro fotoperiódico o mediante aplicaciones de AG.

Análogamente, la entrada en dormición embrional se correlaciona, en muchas especies, con la acumulación de ABA en el embrión y los tegumentos, como ocurre en el manzano, el duraznero, en los agueros de *Rosa* sp. y en los frutos del nogal, etcétera. En todos los casos, y como fenómeno de correlación, se observa una marcada disminución y aun la desaparición total de la actividad de las giberelinas y, en algunos, de las auxinas.

La acción del frío sobre la ruptura del estado de dormición parece ejercerse a través de la regulación de la evolución de aquellos factores de crecimiento, provocando la disminución gradual del contenido de inhibidores y, concomitantemente, la aparición también gradual de actividad giberelínica. Actualmente es motivo de controversia determinar si las

giberelinas son responsables de la ruptura del estado de dormición o si son la consecuencia de ese fenómeno: No obstante, en ciertos casos se ha logrado interrumpir la dormición mediante la aplicación de esas fitohormonas. En el caso de duraznero, tanto la ruptura de yemas como de semillas se logra con AG. Las citocininas (zeatina, cinetina) también interrumpen la dormición, pero a condición de que las yemas hayan experimentado previamente períodos de frío parciales.

En el manzano, por el contrario, el AG no ejerce ningún efecto, aunque esta especie requiere aproximadamente 1.000 a 1.400 horas de bajas temperaturas para romper la dormición. No debe descartarse la posibilidad de que sean otras giberelinas distintas del AG, las que puedan romper la dormición. Debe tenerse en cuenta que las giberelinas muestran, en ciertos casos, distintos grados de especificidad en relación con otros fenómenos fisiológicos.

En las semillas de avellano (*Corylus avellana*, L.), el requerimiento de frío (12 semanas a 5-7 °C) puede reemplazarse también por aplicaciones de AG y CIN. La germinación de esta especie es inhibida por ABA, que parece ser el factor inhibitorio que interviene en la manifestación del fenómeno. La acción del ABA es antagonizada parcialmente por el AG, y en forma total por CIN. La síntesis de giberelinas endógenas por efectos del frío ocurre principalmente en el eje embrionario y es varias centenas de veces superior a la que se da en los cotiledones.

Es interesante destacar que el requerimiento de giberelinas en el duraznero y otras especies no es constante, sino que varía de acuerdo con el período previo de frío que las yemas han experimentado. A medida que aquél se prolonga, la dosis para lograr la ruptura total disminuye.

En el caso de las semillas que requieren luz para germinar, la dormición parece ser de origen tegumentario, de tipo mecánico. Las giberelinas y citocininas pueden reemplazar por completo el re-

querimiento de luz para la germinación, como en el caso de ciertas variedades de lechuga. No obstante, el AG estimula una germinación normal a través de la síntesis de α amilasa en las células de la radícula. Ello induciría la hidrólisis de almidón y, en consecuencia, descensos del potencial osmótico que provocarían, por entrada de agua, la ruptura de los tegumentos. En el caso de la CIN, el mecanismo parece ser diferente pues primero provoca la expansión de los cotiledones y ruptura de tegumentos seguida del crecimiento radical. Asimismo, la inhibición impuesta por cumarina, naringenina o ABA puede revertirse total o parcialmente con AG y citocininas. Los ejemplos proporcionados dan una idea aproximada de los mecanismos hormonales que suponen los fenómenos de dormición.

El acortamiento del día a mediados del verano y durante el otoño induce la síntesis de inhibidores, en especial del tipo de ABA y de ciertos flavonoides como la naringenina, ambos aparentemente responsables de la entrada en dormición de las yemas y semillas de duraznero. El ABA, presente en las pérulas de las yemas, controlaría la dormición a través del bloqueo de la síntesis de enzimas del crecimiento, en especial de las de tipo hidrolítico. Paralelamente mantendría bajos niveles de giberelinas endógenas por inhibición de la síntesis de éstas.

Se ha demostrado que la capacidad de síntesis de ARN mensajero por cromatina (desoxirribonucleoproteína cromosómica) de yemas es inhibida por el ABA. Ello determina, en consecuencia, la inhibición de la síntesis de proteínas estructurales y de enzimas necesarias para la reanudación del crecimiento. Debe destacarse que el ABA y la naringenina, aplicados con frecuencia sobre las pérulas de yemas de duraznero, pueden reinducir la dormición, fenómeno que a su vez puede revertirse con AG.

El efecto primario del frío parece residir en la remoción del bloqueo de la síntesis de sustancias tipo giberelinas, po-

siblemente previa metabolización de inhibidores como el ABA. En ese caso, los aumentos de la concentración de gibberelinas en las yemas o embriones serían el resultado, y no la causa, de la remoción de la dormición.

El fenómeno descrito constituye la base fisiológica de la práctica de la estratificación de las semillas, pepitas y carozos, y aun de las estacas destinadas a la propagación vegetativa. Las seis u ocho semanas que requieren las semillas y las yemas de ciertas rosáceas a temperaturas entre 0 y 10 °C (duraznero, ceceo, ciruelo, peral, manzano) constituyen el período durante el cual se produce la remoción gradual de los inhibidores y la aparición concomitante de la actividad giberelínica. Dicha actividad se refleja luego en la germinación y la brotación, cuando se superan ciertos umbrales térmicos, propios de cada especie.

La instalación, duración y remoción del estado de dormición dependería, en muchas especies, de las relaciones o balances de las sustancias inhibidoras como las abscisinas y otras (naringenina, cumarina, etcétera), y promovedoras del tipo de las gibberelinas y citocininas. Del valor alcanzado en un momento dado dependería la manifestación o no del fenómeno de dormición o su ulterior ruptura. Tales balances parecen depender de la incidencia de factores ambientales, en particular del fotoperíodo y de las temperaturas. En otros casos, la ruptura del período de dormición es relativamente insensible a la acción de esos factores ambientales, como ocurre en los tubérculos de papa. No obstante, la remoción de la dormición se correlaciona con la desaparición relativamente rápida del complejo inhibidor β y la aparición de la actividad auxínica y giberelínica.

FENOMENOS DE SENSIBILIDAD

Movimientos

Los taxismos, tropismos, nastismos y nutaciones implican la reubicación de

órganos y aun de individuos en el espacio, mediante movimientos inducidos por la acción de un estímulo percibido externamente.

TAXISMOS

Son fenómenos que implican movimientos de individuos en el espacio, o de reubicación de orgánulos libres dentro de la célula, bajo la acción de estímulos externos.

En el reino vegetal los taxismos están restringidos a plantas inferiores como bacterias, algas azul-verdes, diatomeas y muchos flagelados; ciertos órganos sexuales como zoósporos, esporas y anterozoides ciliados de las Pteridófitas.

Los taxismos más comunes son los que responden a la acción de la luz. Pueden ser positivos (en dirección a la luz) o negativos (topofototaxismos). También pueden obedecer a cambios en la intensidad lumínica, positivos o negativos (fobofototaxismos), que en ciertos casos pueden alterar la velocidad del movimiento (fotocinesis).

Las algas azul-verde como *Nostoc*, *Phormidium* y *Oscillatoria* son muy sensibles a fenómenos de fototaxis. Todas las células son capaces de percibir el estímulo, aunque hay cierta polaridad hacia los ápices frontales del filamento.

Las bacterias púrpuras son siempre fobotáxicas y positivas.

Las bacterias aerobias muestran un quimiotaxismo muy acentuado, orientado hacia las regiones de mayor tensión de O_2 .

En algunas algas, ciertos compuestos específicos parecen atraer el esperma móvil.

En el caso de los cloroplastos de las plantas superiores y de algunas inferiores, los movimientos táxicos dentro de las células dependen de la intensidad lumínica: cuando ésta es baja migran, preferentemente en grupos, hacia las paredes transversales de las células teniendo en cuenta su disposición en el clorénquima. Cuando la intensidad aumenta, se dis-

ponen a lo largo de las paredes longitudinales. En muchos casos existen conexiones estrechas entre la fotosíntesis y los movimientos fototáxicos. El estímulo lumínico parece percibirse a través del pigmento fitocromo.

El mecanismo regulador de los diferentes taxismos es aún muy poco conocido; no se tiene evidencia de la participación de reguladores del crecimiento, aunque se sospecha que aquéllos están relacionados con cambios rápidos en los niveles energéticos.

NO TAXISMOS.

TROPISMOS

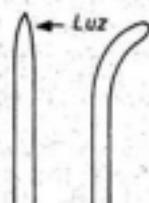
Son movimientos de crecimiento que experimentan ciertos órganos debido a la

acción unilateral de factores externos. Pueden ser positivos (si se realizan en la dirección de donde proviene el estímulo) o negativos (si se operan en la dirección contraria).

Entre los principales se puede distinguir los *fototropismos*, cuyo estímulo determinante es la dirección de procedencia de la luz; *geotropismos*, o movimientos determinados por la dirección de la gravedad; y los *tigmotropismos*, determinados por la acción de contacto físico.

En casi todos estos casos el estímulo externo origina, dentro del órgano o en alguna de sus partes, una respuesta interna generalmente de naturaleza hormonal.

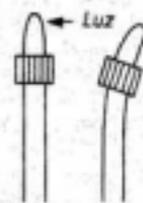
Fototropismo. Si se expone una planta caulescente a la acción unilateral de la luz se observa, al cabo de algunas horas,



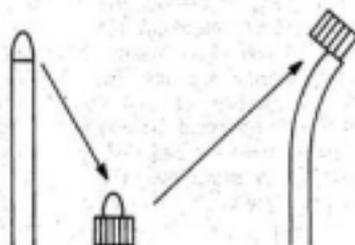
Darwin, 1880



Boysen Jensen, 1910



Paal, 1919



Went, 1928

Figura 181. Experiencias demostrativas del carácter hormonal del estímulo de crecimiento (auxina) redistribuido por la luz (Darwin, 1880; Boysen Jensen, 1910; Paal, 1919). La auxina producida por el ápice es capaz de difundir en un bloque de agar y causar curvatura en un coleóptilo sin ápice en oscuridad continua. (Went, 1928.)

que el tallo se curva en dirección de la fuente luminosa. De la misma manera reaccionan los pecíolos de las hojas, de modo tal que las láminas foliares se ubican en posición más o menos perpendicular a la dirección de los rayos lumínicos. Se trata, pues, de un caso de fototropismo positivo.

El movimiento ocurre debido a que las zonas no iluminadas de los tallos y pecíolos se alargan comparativamente más que las iluminadas y provocan la curvatura de los órganos. El alargamiento ocurre preferentemente en las zonas de alargamiento caulinar como consecuencia del alargamiento celular. El crecimiento diferencial se debe a la redistribución de auxina que se produce en el ápice por efecto del estímulo lumínico, y al traslado polar que luego aquella experimenta. La diferencia de concentración auxínica entre ambos lados es proporcional, dentro de ciertos límites, al grado de curvatura experimentado.

Charles Darwin (1880) fue el primero en analizar la naturaleza del fenómeno trópico. Para ello utilizó coleóptilos de plántulas de alpieste y comprobó que, si se cubría el ápice con tela opaca para impedir el acceso de la luz, la curvatura no se producía aunque el resto del órgano fuera unilateralmente iluminado. Inversamente, si se cubría el coleóptilo, a excepción del ápice, la curvatura se producía normalmente (figura 181).

Darwin dedujo que el ápice generaba, bajo la acción unilateral de la luz, un estímulo que al transportarse hacia abajo, determinaba la curvatura.

Es interesante destacar que la experiencia de Darwin fue la primera en demostrar que en las plantas podían inducirse fenómenos fisiológicos (en este caso curvatura) por acción a distancia de un determinado estímulo, como se había demostrado en animales. Boysen Jensen (1910) demostró que el estímulo inducido por la luz podía atravesar un bloquecito de agar interpuesto entre el ápice y el resto del coleóptilo, pues al iluminarlo unilateralmente se producía la cur-

vatura en forma análoga a la de un coleóptilo intacto.

Posteriormente, Paal (1919) demostró que si se seccionaba un ápice de coleóptilo y se lo volvía a colocar en forma unilateral sobre la sección del corte, la curvatura igualmente se producía aunque el coleóptilo así tratado permaneciese en oscuridad continua.

Por último, Went (1928) realizó una experiencia que es clásica. Seccionó ápices de coleóptilos y los colocó, por las secciones de corte, sobre bloques de agar. Luego de un tiempo tomó uno de los bloques y lo colocó unilateralmente sobre la sección de un coleóptilo previamente decapitado. De esa manera provocó la curvatura en condiciones de oscuridad continua (figura 181). Con ello demostró que el ápice del coleóptilo produce una sustancia que se traslada, que es fácilmente difusible y activa en muy pequeñas cantidades.

El método perfeccionado sirvió para elaborar la primera técnica de medición de actividad auxínica llamada "prueba de curvatura del coleóptilo de Went". Dentro de ciertos límites de concentración, el ángulo de curvatura es proporcional al logaritmo de la concentración de la auxina contenida en el bloque de agar.

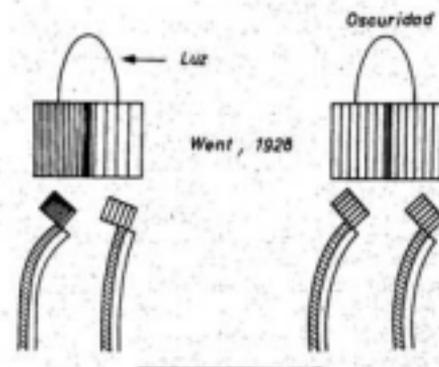


Figura 182. Efecto de la luz unilateral sobre la redistribución de auxina en el ápice del coleóptilo. La auxina se redistribuye preferentemente hacia el lado no iluminado. (Went, 1928.)

Posteriormente, Went demostró que la luz unilateral provocaba en el ápice una distribución desigual del estímulo, al que denominó auxina. Colocando un ápice de coleóptilo sobre un bloque de agar en cuyo centro interpuso una laminilla metálica, demostró que la luz unilateral provocaba una redistribución desigual de auxina en ambos lados de los bloques, sin alterar mayormente el total producido. La cantidad de auxina difundida fue sensiblemente mayor en la porción de agar en contacto con el lado no iluminado. Contrariamente, las cantidades fueron sensiblemente iguales en las dos mitades del bloque cuando el ápice se mantuvo en oscuridad continua durante toda la experiencia (figura 182).

Un fenómeno semejante ocurre cuando el coleóptilo intacto se coloca horizontalmente. El órgano se endereza al cabo de unas horas, pues, por efecto gravitacional, se produce una redistribución de auxina hacia el costado inferior del ápice. Las causas del movimiento lateral fueron al principio confusas, pues no se pudo determinar si se debían a:

- 1) movimiento lateral de la auxina;
- 2) síntesis preferencial en el lado no iluminado;
- 3) parcial destrucción auxínica en el lado iluminado;
- 4) inhibición parcial del traslado polar de la auxina en el mismo lado.

Boysen Jensen realizó una experiencia que aclaró considerablemente el mecanismo. Separó longitudinalmente el ápice del coleóptilo con una laminilla de metal, así como el bloque de agar. Pese a iluminar unilateralmente el ápice, las cantidades recogidas en las mitades del bloque de agar fueron sensiblemente iguales. De ello dedujo que el movimiento no se manifestó porque la laminilla de separación inserta en el coleóptilo había impedido el transporte lateral de la auxina.

La curvatura del coleóptilo se produce debido a una mayor concentración auxínica en el lado no iluminado, que estimula un crecimiento comparativa-

mente mayor en relación con el del lado iluminado. De esa manera, el coleóptilo se curva hacia la dirección de procedencia de la luz.

Se pudo determinar que el estímulo lumínico genera en el ápice un campo bioeléctrico con el polo positivo orientado hacia el lado no iluminado. Algunos autores suponen que el anión indolacetato se movería hacia el lado no iluminado, atraído por el ánodo, y que provocaría la redistribución de la auxina. No obstante, no hay evidencias experimentales suficientemente concluyentes como para sostener esa teoría.

Otros autores piensan que la luz, provoca la síntesis de etileno mediante la riboflavina mononucleótido, bloqueando el movimiento polar de la auxina en el lado iluminado del ápice. Ello induciría la migración transversal de la auxina hacia el lado no iluminado.

En síntesis, aunque se ha demostrado la participación de la auxina en la inducción fototrópica, no se ha aclarado aún el mecanismo íntimo por el cual se produce su redistribución, ni las causas que determinan, en la célula, el transporte polar que experimenta.

Geotropismo. El fenómeno de geotropismo negativo que muestran los ejes caulinares colocados horizontalmente obedecería al mismo mecanismo expuesto anteriormente. El enderezamiento del órgano en dirección contraria a la acción de la gravedad se produciría como consecuencia de la migración de auxina, por efecto gravitacional, hacia el costado inferior del órgano, y determinaría en ese lado una mayor concentración, responsable del crecimiento diferencial.

El fenómeno ha sido estudiado en secciones de hipocótilos de girasol, los que presentan la ventaja de agotar la auxina endógena mediante lavado.

Las experiencias realizadas permitieron establecer la existencia de tres etapas en la manifestación del fenómeno trópico:

— Percepción del estímulo gravitacional. No se conoce con certeza cuál es el sitio o sustancia que percibe el estímulo. Con respecto al estímulo lumínico (fototropismo positivo), se cree que son compuestos similares al caroteno o a la riboflavina.

— Inducción fisiológica a ambos lados de la sección del hipocótilo. Esta etapa no requiere auxina, pero depende de la actividad respiratoria de la sección. Las secciones de hipocótilos colocados en una atmósfera de N_2 no responden geotrópicamente, aunque luego se los trate con auxina.

— Respuesta de crecimiento. Es la etapa que requiere auxina. La acción se ejerce sobre la condición fisiológica creada previamente bajo condiciones de aerobiosis, induciendo la respuesta de crecimiento. Se desconoce cuál es la naturaleza de tal inducción fisiológica.

El geotropismo positivo que muestran las raíces colocadas en posición horizontal es la respuesta de crecimiento al estímulo unidireccional de la gravedad. El fenómeno se produce porque el lado superior de la raíz crece comparativamente más que el lado inferior.

En el proceso parecen intervenir, también, tres elementos: 1) sitio de percepción del estímulo gravitacional; 2) inducción de una condición fisiológica; 3) traducción del estímulo en crecimiento

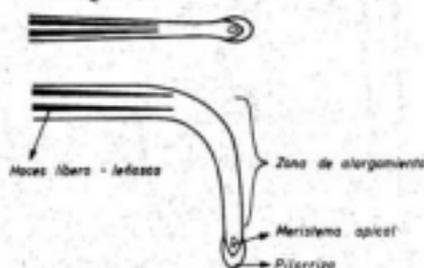


Figura 183. Geotropismo positivo de una raíz colocada horizontalmente. La pilorrizia es el centro de percepción del estímulo geotrópico.

diferencial a ambos lados del eje radical colocado horizontalmente (fig. 183).

Desde hace mucho tiempo se supone que ciertos gránulos o plástidos, de almidón, llamados estatolitos, situados en los tejidos de la pilorrizia, actúan como receptores del estímulo gravitacional. Tienen la propiedad de desplazarse dentro de las células que los contienen, siguiendo siempre la dirección de la gravedad. Si la pilorrizia se secciona, la raíz pierde la capacidad de responder geotrópicamente mientras no vuelva a regenerarla.

Se cree que, de alguna manera, el movimiento de los estatolitos determina la creación de la condición fisiológica sobre la cual actuaría la auxina, previa redistribución de ésta a ambos lados de la zona de alargamiento radical.

Durante el tiempo de inducción geotrópica también se ha observado la formación de campos bioeléctricos semejantes a los que se producen en el coleóptilo.

Debe destacarse que el tiempo de inducción geotrópica se relaciona estrechamente con el tiempo que tardan los estatolitos en migrar en dirección del estímulo gravitacional. Por otra parte, la migración lateral de la auxina ha sido suficientemente demostrada usando AIA marcado.

Un aspecto muy complicado de entender es por qué, en las raíces, la mayor concentración en los costados inferiores de las colocadas horizontalmente determina una inhibición de crecimiento y no una estimulación, como ocurre en los ejes caulinares. Al respecto se sostiene, en forma un tanto simplista, que tales diferencias se deben a que los tejidos radicales de la zona de alargamiento son mucho más sensibles a la auxina: las concentraciones que estimulan el crecimiento en el nivel caulinar resultan inhibidoras en el radical.

Otro hecho interesante de destacar es que la colocación unilateral de auxina sobre secciones de raíces desprovistas del ápice no produce curvatura como sucede en los coleóptilos. Este hecho induce a

descartar la participación de la auxina sintetizada en el ápice. La auxina que se redistribuye por efecto gravitacional procede de la base del eje radical.

Tigmotropismos. Se denomina tigmotropismos a los movimientos, a menudo rápidos, que manifiestan los zarcillos de origen caulinar (vid) o foliar (arveja) por efecto de un contacto físico (soportes, alambres, etcétera). La modalidad del movimiento de enrizamiento alrededor de un soporte es típico en cada especie. En la vid, el movimiento puede ser en un sentido (de izquierda a derecha) y luego en el otro (de derecha a izquierda). El movimiento está determinado por crecimiento diferencial a ambos lados del órgano.

El enrollado en zarcillos de la arveja se relaciona con una rápida caída de ATP y aumentos de $PO_4H_2^-$. La ATPasa está involucrada en la acción de contacto y es activada por ella. Se sugiere que está ligada a las membranas y que actúa como una bomba iónica, influyendo en la absorción de agua y en el alargamiento a través del control del movimiento de iones.

El estímulo puede reemplazarse con auxina. Se desconoce si ello conduce a una distribución asimétrica en los costados ventral y dorsal del zarcillo, o si el estímulo guarda relación, de alguna manera, con el desplazamiento lateral de auxina.

Quimiotropismos. La dirección y el alargamiento de los tubos polínicos están controlados por sustancias químicas sintetizadas por varias regiones del gineceo (ovario, óvulos y, aun, el estigma y el estilo).

Nastismos

Son movimientos de órganos, en particular de hojas, pétalos y escamas, en los que el factor externo afecta a todo el órgano, independientemente de la dirección de la cual proviene.

Los movimientos násticos más comunes son: a) hiponásticos; b) epinásticos; c) fotonásticos.

En el primer caso, el movimiento tiende a orientar verticalmente el órgano, como en las hojas de *Amaranthus* durante las horas de mayor insolación, o de las hojas de crisantemo colocadas en condiciones de oscuridad. En ambos casos, el movimiento es de carácter rítmico y ocurriría debido a que la cara abaxial de la hoja y el pecíolo crecen comparativamente más que la adaxial. Tampoco se descarta la posible intervención de un mecanismo osmótico.

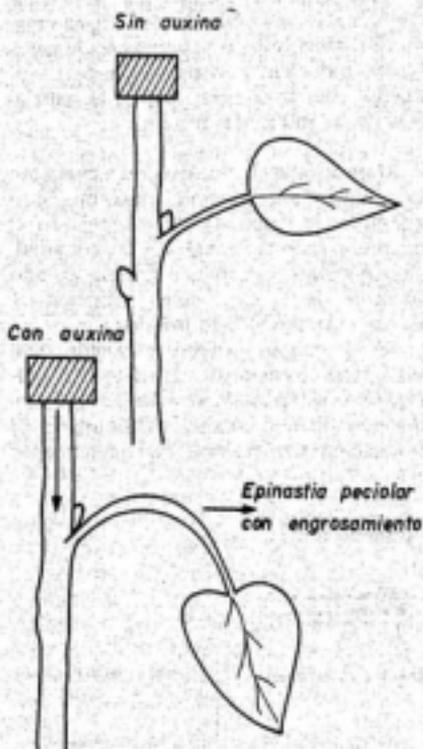


Figura 184. Movimiento epinástico del pecíolo de la hoja de girasol, causado por el gas etileno cuya síntesis es estimulada por la auxina aplicada en la sección de corte caulinar.

Un caso típico es el de las hojas de las plantas carnívoras, cuyas mitades laminares se pliegan a lo largo de la nervadura central y hacia arriba, por efecto del contacto de algún insecto.

Los movimientos epinásticos son típicos en los pétalos. La transformación de un pimpollo de rosa en flor adulta se debe a que la cara adaxial crece comparativamente más que la abaxial, provocando la apertura floral. El fenómeno parece ser controlado por la acción del etileno que se genera en la misma flor durante su crecimiento. Asimismo, los fenómenos de epinastia que muestran las hojas de girasol próximas a la sección del tallo donde se aplicó auxina, también se deben a la acción del etileno, cuya síntesis es estimulada por la hormona (figura 184).

Los movimientos fotonásticos son típicos de muchas flores e inflorescencias en capitulo. Se abren por lo general de día y se cierran por la noche, como ocurre con las flores de dondiego de día (*Mirabilis jalapa* L.). A veces el comportamiento es inverso, como en el caso de las flores de algunas convulvuláceas.

Ciertas hojas compuestas también muestran movimientos fotonásticos: los folíolos se despliegan durante el día y se pliegan hacia la noche (*Trifolium*, *Oxalis*). Las causas determinantes de tal comportamiento se desconocen, aunque demuestra ser rítmico, de carácter endógeno.

Nutaciones

Se denominan nutaciones a los movimientos rítmicos de rotación o de oscilación que experimentan los ápices caulinares en su crecimiento vertical. Ocurren debido a diferencias temporales en el crecimiento a ambos lados del tallo, probablemente debido a cambios en el grado de transporte polar de las auxinas.

Los ápices describen abanicos o elipses más o menos aplastadas, característicos de cada especie. El período de oscilación entre dos posiciones iguales es, en gene-

ral, de algunas horas. En los coleóptilos de trigo, la oscilación es de aproximadamente 8 mm de amplitud en un lapso de tres horas.

Los movimientos nutacionales ocurren sólo a la luz, pero independientemente de su dirección. Son más acentuados en los ejes caulinares jóvenes, aunque se manifiestan durante casi toda la vida del órgano.

Las nutaciones son particularmente notables en las plantas volubles y trepadoras, y constituyen una adaptación ecológica para la vida normal de la planta.

Los movimientos pueden ser de izquierda a derecha (tallos dextrorsos), como en el caso de la planta de lúpulo, o bien en el sentido contrario (tallos sinistrorsos), como en el caso del tallo del poroto.

Movimiento por fenómenos de turgencia y flaccidez celular

Se denomina así a los movimientos producidos por cambios reversibles del volumen celular, provocados por la acción de un estímulo externo, generalmente de contacto, calórico, etcétera.

El fenómeno ocurre en unos ensanchamientos ubicados en la base de los pecíolos y peciólulos de mimosa púdica, denominados pulvínulos. Estos se caracterizan por poseer un parénquima constituido por células voluminosas, grandemente vacuoladas, de paredes finas, que rodea a los haces vasculares. Dichas células poseen la propiedad de perder rápidamente agua. Al hacerlo se reduce el volumen de los pulvínulos y se produce el plegamiento de los foliólulos, folíolos y, en fin, de la hoja. El transporte del estímulo es rápido y la velocidad depende de la intensidad de aplicación del factor externo determinante del fenómeno.

La naturaleza del estímulo se desconoce, aunque algunos autores creen que se trata del ácido traumático. De cualquier manera, parece poseer propiedades hormonales, pues se transporta aun a través del agua o de la gelatina.

Se piensa que el mecanismo implica alteraciones profundas y rápidas de la permeabilidad de las membranas al agua, y quizá de los valores osmóticos en el seno de las células. En ese sentido es interesante destacar que las secciones de corte, practicadas transversalmente en los pulvínulos, pierden agua siempre que previamente se excite la hoja. En caso contrario, el fenómeno no se produce.

Movimientos por "stress" hídrico y por deshidratación

En ciertas gramíneas de los géneros *Poa* y *Stipa*, la cara adaxial de la lámina foliar posee grupos de células epidérmicas más voluminosas, de gran contenido vacuolar y paredes finas, ubicadas a los costados de la nervadura central.

Esas células, llamadas células bulbiformes, disminuyen considerablemente de volumen, por pérdida de agua, a partir de un determinado estado de "stress" hídrico foliar. Ello determina el enrollado longitudinal de la lámina y, en consecuencia, la reducción de la superficie de transpiración.

Los movimientos descritos dependen, evidentemente, de cambios en el estado hídrico de los tejidos, aunque en los fenómenos de apertura y cierre estomático de algunas especies parece tener intervención el ABA.

Movimientos por deshidratación. Son característicos de los frutos secos dehiscentes cuyos carpelos se separan debido a una pérdida diferencial de agua de los diferentes tejidos del pericarpio. Debe destacarse que la maduración y dehiscencia de estos frutos implican, también, fenómenos de senescencia controlados, al menos parcialmente, por ciertos inhibidores del tipo de las abscisinas.

AUXINAS

Introducción

Las auxinas fueron definidas como aquellos reguladores del crecimiento que, entre otros fenómenos fisiológicos en los que intervienen, influyen fundamentalmente en la extensión de la pared celular y en la entrada de agua en la célula. En consecuencia, inducen alargamiento celular, en las zonas de alargamiento de los órganos.

En el capítulo correspondiente a los fenómenos de correlación por acción hormonal se analizó en detalle la participación de las auxinas en los mecanismos de multiplicación y alargamiento celulares, dominancia apical, diferenciación morfológica, polaridad de crecimiento, crecimiento de frutos, control de la abscisión, tropismos, nastismos, mutaciones, etcétera, y en sus relaciones e interacciones con otros factores de crecimiento.

Más adelante se analizará también la participación de las auxinas en otros fenómenos fisiológicos: enraizamiento, crecimiento de raíces y floración.

Bioquímica de las auxinas

Las auxinas no son producidas en órganos vegetales especiales, sino que todo tejido en activo crecimiento es capaz de sintetizarlas. Ello ocurre particularmente en los meristemas primarios y secundarios en actividad, en embriones y endospermas de frutos en crecimientos, en hojas jóvenes, nódulos, tumores, etcétera.

La síntesis auxínica en el nivel celular parece localizarse en el retículo endoplásmico. Aquellas células que exhiben alta capacidad de síntesis muestran un retículo de tipo rugoso particularmente abundante.

Las auxinas endógenas pueden encontrarse en las plantas en forma libre, es decir inmediatamente disponibles para actuar

en lo fisiológico. También pueden estar unidas o formar parte de otros compuestos orgánicos ("auxinas ligadas"). Existe, además, una serie de sustancias denominadas *precursores auxínicos* que, al metabolizarse en los tejidos en crecimiento, pueden generar auxinas.

Actualmente se reconoce al ácido indolil-3-acético (AIA) como la auxina libre, de existencia generalizada en la gran mayoría de las plantas superiores y en muchas inferiores.

El AIA fue aislado por primera vez por Kōgl y Kosterman en 1934. Llamado originalmente "heteroauxina"; también fue aislado de medios de cultivo de levadura y del hongo *Rhizopus solinus*.

Se ha señalado la probable existencia de auxinas no indólicas, como la llamada "auxina cítrica" que se encuentra en el limonero, el naranjo, etcétera. En la mayoría de los casos, y en éstos últimos vegetales en particular, se demostró que se trataba de AIA, generalmente enmascarado por otras sustancias acompañantes. Por otra parte, aún no ha sido probada fehacientemente la existencia, ni señalada la estructura química, de ninguna auxina no indólica.

FORMAS DE "AUXINAS LIGADAS"

Las auxinas pueden formar parte de:

a) *Complejos auxina-proteína*, en los que la auxina se encuentra generalmente adsorbida sobre la superficie de macromoléculas proteicas.

b) *Fuentes proteicas de AIA*. Se trata de proteínas que por hidrólisis pueden liberar triptófano, aminoácido precursor de la auxina.

c) *Formas conjugadas de AIA*. El ácido indolacético, puede conjugarse con aminoácidos, como el aspártico y el glutámico, para constituir las respectivas formas peptídicas que biológicamente son inactivas. También puede conjugarse con azúcares, como el inositol, d-glucosa y arabinosa, y formar

glucósidos de AIA, los que tampoco muestran actividad auxínica. Por hidrólisis se puede liberar nuevamente AIA.

En condiciones naturales, estas formas conjugadas podrían representar mecanismos de regulación del contenido auxínico, independientemente de los sistemas oxidativos que controlan los niveles auxínicos normales en los tejidos vegetales.

PRECURSORES AUXINICOS

Son sustancias de estructura química muy semejante al AIA que, en forma mediata o inmediata, pueden transformarse en la auxina a través de diversas vías metabólicas. Ellas son:

a) *Triptófano*. Es el precursor más conocido y más extendido en las plantas. En las plántulas de trigo, el triptófano es liberado en el endosperma de la semilla por la acción de enzimas hidrolíticas (proteasas). Se transporta hacia el ápice del coleóptilo, donde es metabolizado a AIA.

b) *Ácido indolpirúvico*. El ácido indolpirúvico se forma a partir de la desaminación del triptófano. Su presencia ha sido puesta de manifiesto en cariopsis inmaduros de maíz.

c) *Indolacetaldehído*. Constituye el precursor inmediato del AIA.

Se forma por descarboxilación del ácido indolpirúvico y al oxidarse se transforma en la auxina. Es común encontrarlo en plantas ahiladas.

d) *Indolacetonitrilo*. Es un precursor común en las crucíferas, musáceas y algunas gramíneas. Por la acción de una enzima, la nitrilasa, puede generar AIA. Es un constituyente normal de un tioglucósido: la glucobrassicina.

e) *Triptamina*. Es un precursor que se forma a partir de la descarboxilación del triptófano. Se encuentra en el tomate, el maíz y la *Acacia*.

f) *Indol-3-etanol*. Es otro precursor, descubierta recientemente en el pepino. Por oxidación puede generar AIA.

g) *Indolacetato de etilo*. Durante mucho tiempo se lo consideró un producto artificial formado a partir del AIA y del alcohol etílico que se utiliza como solvente en las técnicas de extracción de la auxina. Se ha confirmado su presencia, como precursor natural, en tejidos de manzano, álamo, tabaco, y en extractos de cariopsis inmaduros de maíz.

EXTRACCION, SEPARACION Y EVALUACION DE LAS AUXINAS

Las auxinas pueden extraerse de los tejidos vegetales mediante solventes orgánicos como el éter etílico, el cloroformo, el etanol, etcétera. Luego de su purificación parcial por varios métodos físico-químicos (partición en interfases solvente-agua; carbón activado, etcétera), las auxinas se separan mediante la cromatografía sobre papel o en capa delgada.

Los cromatogramas se dividen transversalmente en varias bandas de Rf conocido, las que se eluyen en soluciones *buffer* levemente ácidas (fosfato-fosfato; citrato-fosfato, etcétera), de baja molaridad. La actividad auxínica de los eluidos se evalúa utilizando con preferencia pruebas biológicas (prueba de curvatura del coleóptilo, de crecimiento recto de secciones de coleóptilos de trigo o avena, de entrenudos de arveja, de mesocótilos de avena, etcétera), las que se basan en la estimulación del alargamiento celular que las auxinas causan en esas secciones de órganos.

Las pruebas biológicas son mucho más sensibles que las basadas en los métodos químicos (reacción de Salkowsky y de Ehrlich para compuestos indólicos). Este hecho permite poner en evidencia no sólo la presencia de pequeñas cantidades de auxinas en los extractos, sino también la de sustancias de acción inhibitoria. La prueba de crecimiento recto de las secciones de coleóptilos de trigo permite

medir la actividad de las concentraciones hasta 0,01 mg/l, en los extractos.

Con los valores medios obtenidos con los eluidos de cada Rf de los cromatogramas, se confeccionan los respectivos histogramas. Los valores se expresan en porcentaje de crecimiento con respecto a los valores que arrojan las secciones testigos que han crecido en soluciones tamponadas sin auxina (figura 185).

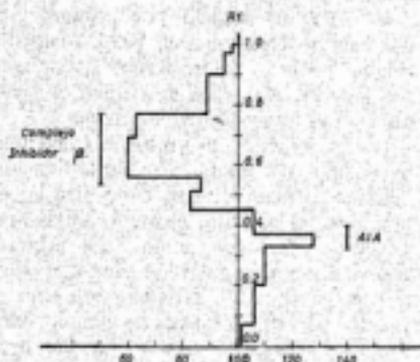


Figura 185. Histograma representativo de la actividad auxínica (AIA = Rf 0,3-0,4) y del complejo inhibidor β (Rf 0,45-0,70) de un extracto de peridermis de tubérculos de papa al comienzo de la brotación, medidas mediante la prueba de crecimiento recto de secciones de coleóptilos de trigo. (Tizio, 1973, inédito.)

El método espectrofluorométrico, basado en la medida de la fluorescencia emitida por la sustancia, constituye un método físico con sensibilidad aproximadamente igual al ensayo biológico.

ESTRUCTURA MOLECULAR Y ACTIVIDAD AUXINICA

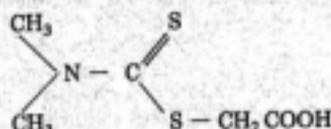
La actividad auxínica de los compuestos pertenecientes a los grupos indol, naftalen, fenoxi y otros, parece depender

de una serie de características comunes en la estructura molecular.

Las principales son:

- posesión de un anillo aromático o cadena fácilmente ciclable;
- existencia, por lo menos, de una doble ligadura en el anillo;
- existencia de una cadena lateral sobre el anillo, adyacente a una doble ligadura;
- presencia de un $-\text{COOH}$ terminal en la cadena lateral, separado del anillo por uno o dos carbonos;
- existencia de una determinada relación espacial entre el anillo y la cadena lateral.

Las reglas enumeradas no son absolutas. En efecto, existen compuestos que poseen actividad auxínica aun en ausencia de algunos de los requisitos enumerados. El carboximetil-dimetil-ditiocarbamato posee actividad auxínica, pero



carece del anillo no saturado en su estructura molecular. No obstante, la actividad no parece ser típicamente auxínica pues se manifiesta con dosis cercanas a las que producen fenómenos de toxicidad.

Es interesante destacar que la sustitución con halógenos en el anillo no saturado de algunos compuestos de los grupos fenoxi y benzoico, exalta, a veces considerablemente, a la actividad auxínica. El grado de actividad depende de la posición sustituida. Así por ejemplo, la sustitución por Cl en posición orto en el ácido fenoxiacético le confiere una débil actividad que aumenta considerablemente si se opera en las posiciones meta y para. Asimismo, la sustitución por radicales metilo también aumenta la actividad, pero en forma más moderada.

Una última proposición sugiere que la actividad auxínica está relacionada con la existencia de una carga parcialmente positiva (+) en el anillo, ubicada a una distancia de aproximadamente 0,55 nm de la carga negativa (-) del radical carboxilo. En esta forma podría explicarse la actividad demostrada por los ácidos benzoicos y por picloram (ácido 2,3,5-tricloro-4-amino picolínico), así como por la auxina alifática antes nombrada.

La vigencia de las reglas antedichas motivó la enunciación de varias teorías sobre la modalidad de la acción auxínica. Una de ellas (Skoog y col., 1942) propuso que para inducir crecimiento, la molécula de AIA debía unirse por dos puntos a un sustrato activado de presunta naturaleza proteica. La unión tendría lugar por el anillo y la cadena lateral (figura 186A).

Mediante esta teoría de los dos puntos de unión se trató de explicar también la

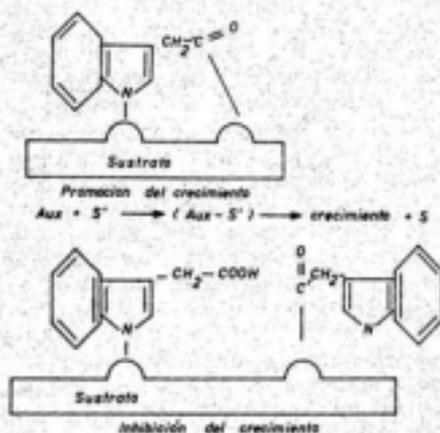


Figura 186 A. Esquema representativo del mecanismo de la acción dual de las auxinas sobre el crecimiento, según la teoría de los dos puntos de unión de Skoog y col., 1942. La promoción del crecimiento tendría lugar cuando la molécula de auxina se une al sustrato por dos puntos: el anillo y la cadena lateral.

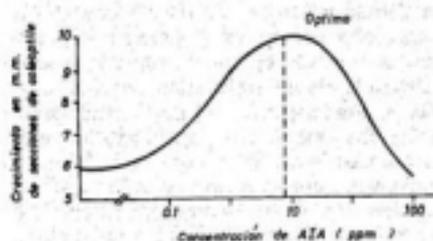


Figura 186 B. Curva de promoción e inhibición del crecimiento de secciones de coleótilo de trigo en relación con la concentración de AIA.

acción dual según la concentración utilizada, que las auxinas ejercen sobre el crecimiento. En efecto, el alargamiento de las secciones de coleótilos de trigo aumenta hasta un óptimo de concentración auxínica para luego disminuir y aun mostrar inhibición con concentraciones

más elevadas (figura 186B). Se supuso que, al aumentar la concentración por encima del óptimo en relación con la cantidad de sustrato disponible, las moléculas de auxina competían entre sí por los puntos de unión y podían unirse a uno de ellos y no al restante, ocupado a su vez por un punto de otra molécula auxínica. De tal modo, no se llenaría la condición indispensable de la unión por dos puntos y el crecimiento disminuiría.

Posteriormente se observó una estrecha correlación entre la presencia de un hidrógeno en posición alfa de la cadena lateral y la estimulación del crecimiento. Ello dio origen a la enunciación de otra teoría, llamada de los tres puntos de unión, similar en su bosquejo a la anterior (Smith and Wain, 1952).

Ninguna de ellas ha logrado hasta el presente suficiente apoyo experimental que permita explicar satisfactoriamente el mecanismo de la acción auxínica.

Sin embargo, existe amplia evidencia experimental de que los fenómenos de

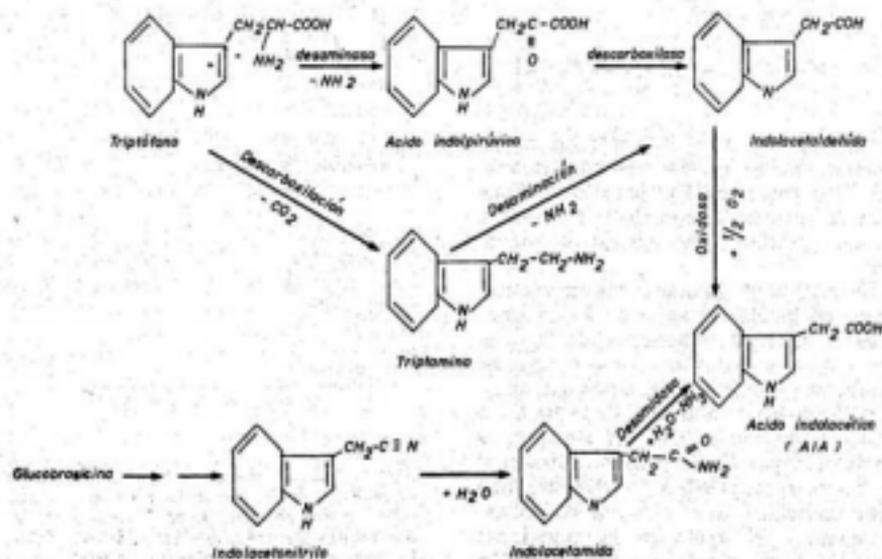


Figura 187. Vías metabólicas de la síntesis de AIA a partir de los precursores triptófano e indolacetónitrilo.

inhibición del crecimiento por exceso auxínico son mediados a través de la producción de etileno estimulada por la auxina. Este hecho hace aún más problemática la idea de la acción inhibitoria de la auxina debida a competencia por el sustrato.

Biosíntesis del AIA

Como se expresó anteriormente, la síntesis de AIA puede operarse en los ápices y tejidos en crecimiento a partir de varios precursores, en particular del triptófano y del indolacetonitrilo (figura 187).

El triptófano puede desaminarse por la acción de una desaminasa y dar lugar a la formación de ácido indolpirúvico. Mediante una descarboxilasa, este derivado indol se descarboxila y genera indolacetaldehído, el que se oxida fácilmente y produce AIA.

Alternativamente, el triptófano por descarboxilación puede formar triptamina, la que por desaminación oxidativa produce indolacetaldehído.

Debe destacarse que la aplicación de triptófano a tejidos vegetales en crecimiento determina la aparición de AIA, como ocurre en las raíces de lenteja y hojas de espinaca tratadas con el aminoácido.

Ciertos hongos, como *Taphrina deformans*, también sintetizan AIA a partir del mismo precursor. Este hecho sería la causa de las deformaciones que el hongo produce en el mesófilo de las hojas stacadas.

Ciertas plantas pertenecientes a las familias de la Crucíferas, musáceas y gramíneas poseen un tioglucósido, la glucobrassicina. La degradación de este compuesto genera indolacetonitrilo que, por la acción de una hidrasa —la nitrilasa—, puede convertirse en AIA, previa formación de indolacetamida.

DEGRADACION AUXINICA

La actividad auxínica en las plantas está sujeta a varios mecanismos de regu-

lación. Estos involucran no sólo la capacidad de síntesis inherente a los meristemas y órganos en crecimiento de cada especie, sino también a la propiedad de sustraer auxina adicional o en posible exceso mediante la formación de complejos inactivos de composición química variada, incluidos bajo el rubro de "formas de auxina ligada".

Sin embargo, el mecanismo regulador más importante lo constituye un complejo enzimático, de naturaleza química aún no bien definida, denominado "indolacético-oxidasa". Aunque durante mucho tiempo se puso en duda la significación biológica de ese complejo, pues sólo pudo ser estudiado *in vitro*, se ha acumulado suficiente evidencia experimental para considerarlo como un componente enzimático normal.

En condiciones *in vitro*, la indolacético-oxidasa oxida el AIA mediante una reacción estequiométrica con liberación del 1 mol de CO₂ y la incorporación de 1 mol de O₂ por cada mol de auxina oxidada. En general, la concentración del complejo enzimático está inversamente relacionada con la de la auxina en la planta. Es baja en los ápices ricos en auxina, pero muestra un gradiente cada vez mayor hacia las bases caulinares.

Su composición es motivo de controversias. Algunos autores sostienen que se trata de un complejo formado por riboflavina y una peroxidasa, mientras que otros lo consideran constituido por isoenzimas peroxidasas y polifenoloxidasas. No se descarta la posibilidad de que la composición del complejo varíe según las especies.

Asimismo, los productos de oxidación del AIA también parecen variar según las especies. Se ha señalado al 3-metiloxiindol y a la aminoacetofenona fenólica, así como al indolaldehído, cuando el complejo enzimático contiene citocromooxidasa o se halla en presencia de ella.

La actividad del complejo depende de la presencia de monofenoles como los ácidos p-cumárico, p-hidroxibenzoico y el 2,4-diclorofenol, y también de la presencia de Mn⁺⁺.

Su acción es inhibida por difenoles como los ácidos cafeico y clorogénico, y por flavonoides como la quercitina. Ello explicaría la acción estimulante que en algunos casos ejercen sobre el crecimiento, y los fenómenos de sinergismo que manifiestan en presencia de auxina.

La luz aumenta la actividad de la indolacético-oxidasa, posiblemente a través de la remoción de la acción de un inhibidor y por la posible estimulación de la síntesis de monofenoles.

El complejo es específico: no oxida a otros compuestos indólicos como los ácidos indolbutírico e indolpropiónico.

La indolacético-oxidasa parece ser de naturaleza adaptativa, pues su concentración aumenta a medida que es mayor la concentración de la auxina en los tejidos. Tal carácter, según algunos autores, tendría una significación histogénica muy importante. Se ha observado que la capacidad de síntesis de lignina en las zonas de diferenciación vascular se relaciona con la presencia de AIA, factor estimulante de la actividad cambial. Esto provocaría la inducción del complejo enzimático con un aumento concomitante de la actividad peroxidásica. Tal actividad es indispensable, pues está ligada a la síntesis de lignina a partir de precursores de hidroxifenilpropano como el eugenol.

Es interesante destacar que la prematura lignificación que se opera en las

raíces luego de la aplicación de AIA, se correlaciona con un considerable aumento de la actividad de la indolacético-oxidasa. El catión Mn^{+++} sería el oxidante directo de la molécula de AIA. Como consecuencia se producirían radicales libres, de existencia muy efímera, que en presencia de peroxidasa oxidarían los monofenoles a quinonas, pero no a los difenoles. Las quinonas volverían a oxidar el Mn^{++} a Mn^{+++} debido a su mayor potencial redox, cerrando de esa manera el ciclo de acción del complejo (figura 188).

Las sustancias quelantes como el EDTA y la 8-hidroxiquinolina estimularían el crecimiento de secciones de coleóptilos mediante quelación del Mn^{++} . Al sustraerlo de la reacción frenarían la actividad enzimática, permitiendo de esa manera un mayor nivel de auxina endógena en las células en alargamiento.

Traslado polar de las auxinas. Las auxinas se transportan, como se manifestó anteriormente, en forma polar, desde los ápices vegetativos hacia la base de los ejes caulinares. Un hecho semejante ocurre en las secciones de coleóptilos (figura 189). En las raíces, el movimiento es también polar, pero sobre todo en sentido base-ápice (acrópeto).

La naturaleza del fenómeno polar se desconoce, aunque se ha demostrado que

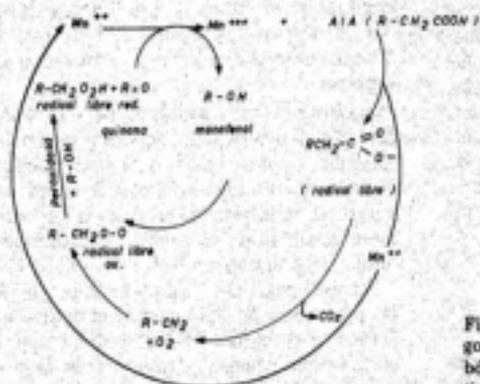


Figura 188. Esquema de MacLachlan y Waygood (1956) acerca de la posible vía metabólica de oxidación del AIA por la indolacético-oxidasa.

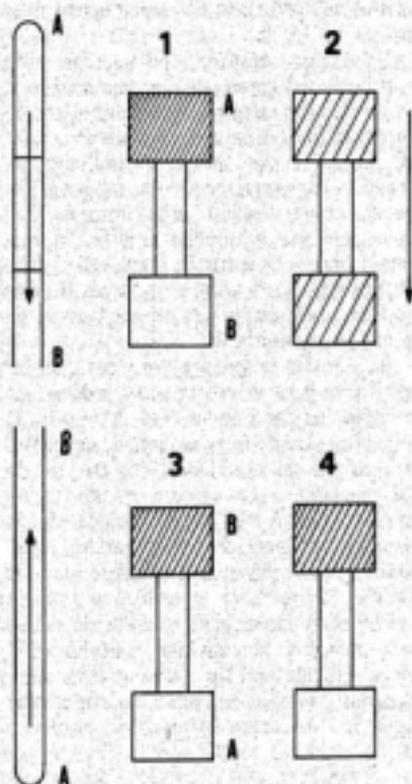


Figura 189. Transporte polar de la auxina contenida en un bloque de agar, a través de la sección de un coleóptilo de trigo orientado normalmente, es decir ápice-base fisiológicos. La auxina transportada difunde en el bloque colocado debajo de la base fisiológica. En 3 y 4 la auxina contenida en el bloque no se transporta en la dirección base-ápice. Las flechas indican la dirección del transporte polar auxínico.

depende de la actividad metabólica de las células, en particular de la disponibilidad de ATP proveniente de la respiración y de la integridad de las membranas citoplásmicas.

El movimiento ocurre principalmente a lo largo de las células del parénquima floemático, fuera de los hacesilios. En

general, la velocidad oscila entre los 0,5 y 2 cm por hora. El movimiento es mucho más veloz que el que tendría lugar por un simple fenómeno de difusión o flujo masal a través del citoplasma, hecho que también confirma su dependencia metabólica.

Por otra parte, se ha establecido una correlación directa entre la dirección del transporte auxínico y las diferencias de potencial electrostático que a menudo existen a lo largo de los ejes caulinares. El movimiento ocurre siempre hacia el polo positivo (basal) de dicho campo eléctrico, cuya instalación es provocada por la acción de la misma auxina. El ácido 2,3,5-triyodobenzoico, al inhibir el transporte polar de la auxina, inhibe también la instalación del campo bioeléctrico.

Fenómenos fisiológicos controlados por las auxinas

El traslado polar que manifiestan las auxinas constituye la base fisiológica de numerosos fenómenos de correlación, tales como el alargamiento celular, la dominancia apical, polaridad en el crecimiento, fenómeno de morfogénesis, etcétera. Por otra parte, las alteraciones en la modalidad de dicho traslado por la incidencia de factores externos (luz, gravedad, etcétera) determinan la manifestación de movimientos trópicos (fototropismo, geotropismo, etcétera).

ALARGAMIENTO CELULAR

Este fenómeno es regulado, específicamente, por estas fitohormonas. El primer efecto es un aumento del módulo elástico de las paredes celulares longitudinales, seguido por un incremento de la plasticidad. Esto produce una disminución en el potencial agua de las células, lo que provoca el ingreso de aquélla y el consiguiente aumento del volumen celular.

MULTIPLICACION CELULAR

Las auxinas pueden estimular la multiplicación celular, especialmente en los tejidos parenquimáticos. En este proceso inducirían la cariocinesis, previa estimulación de la duplicación del ADN. Si no se produce la citocinesis se forman células de gran tamaño, de tipo cenocítico.

RIZOGENESIS

Intervienen tanto en la iniciación de las raíces como en el control de su crecimiento. La formación de raíces adventicias es un fenómeno morfogénico que puede ser producido o estimulado por la acción de las auxinas aplicadas en la base de estacas de tallos herbáceos o leñosos.

La rizogénesis que naturalmente ocurre en las bases de las estacas de ciertos cultivares y variedades de vid, es provocada por la acción de factores hormonales transportados polarmente desde las yemas. La intensidad del fenómeno se correlaciona con el número de yemas que posee la estaca y no tiene lugar en su ausencia. Los trabajos realizados durante las décadas de los años 30 y 40 demostraron que si bien las auxinas estimulan la rizogénesis en numerosas especies, no son los únicos factores determinantes del fenómeno.

El mecanismo hormonal que regula el crecimiento radical ha sido motivo de muchas controversias y especulaciones. Anteriormente se creía que el crecimiento era regulado por concentraciones supraóptimas de las auxinas producidas por el ápice radical. Esta presunción parecía corroborada por el hecho de que, en algunas especies, la ablación del ápice producía una cierta estimulación del crecimiento en la zona de alargamiento.

Existen suficientes evidencias experimentales en el sentido de que el crecimiento radical ocurre por la acción de la auxina procedente de varias regiones de la misma raíz y no de su ápice. Sin embargo, ella no parece ser el único

agente determinante del crecimiento radical.

La acción auxínica parece ser muy particular y se ejercería fundamentalmente en dos etapas: en la primera, el efecto es de estimulación del crecimiento, pero la duración del efecto estimulante se acorta progresivamente con el aumento de la concentración. Ello termina por provocar una inhibición que es la que caracteriza a la segunda etapa. El agente responsable sería el etileno, cuya síntesis es estimulada cuando la concentración de la auxina aumenta.

Se considera que existen tres fuentes auxínicas para el crecimiento radical. La primera, ubicada en la base de la raíz; la segunda, que sería la principal, constituida por las células xilemáticas en vías de diferenciación. La tercera estaría representada por bacterias y hongos de la rizosfera, capaces de generar AIA y triptófano fácilmente disponibles para la planta.

Por otra parte, la formación de raíces secundarias y la actividad cambial en el nivel radical también parecen estar controladas por la actividad auxínica del órgano.

INDUCCION E INHIBICION DE LA FLORACION

Las auxinas (IBA, ANA) son capaces de inducir floración en ciertas plantas, especialmente en el ananá, cuando se las pulveriza sobre las hojas o se las aplica en los ápices vegetativos. Este hecho ha permitido regular a voluntad y en forma escalonada la producción de frutos.

Durante mucho tiempo se discutió si la inducción de la floración la causaba la misma auxina a través de un efecto primario específico. Sin embargo, se ha demostrado que la inducción de la floración en el ananá la produce el etileno, cuya síntesis es estimulada considerablemente por la auxina aplicada.

Se sabe, también, que las auxinas pueden inhibir la floración, en especial en las plantas de días cortos. En *Kalanchoë*,

la aplicación de auxina sobre hojas expuestas a días cortos inductivos inhibe la floración. La acción parece centralizarse sobre los procesos metabólicos que ocurren durante el período oscuro inductivo, probablemente sobre la síntesis de "florigen".

Análogamente, la aplicación de auxinas puede promover la floración, en condiciones no inductivas, en ciertas plantas de día largo expuestas a días cortos. *Hyoscyamus niger*, planta de día largo, puede florecer en días cortos si durante el período oscuro largo (que es el que inhibe su floración) sus hojas se pulverizan con auxina. El efecto es análogo al que producen los períodos cortos de luz suministrada en las mismas condiciones. En este caso también se supone que la acción tiene lugar sobre los procesos que conducen a la síntesis de "florigen".

En las plantas bienales la floración puede retardarse o estimularse según las especies y el estado de desarrollo alcanzado por ellas. Por ejemplo, la floración anticipada del apio trasplantado temprano se previene con aplicaciones de ácido o-clorofenoxiacético, siempre y cuando la planta no se haya vernalizado; mientras que tal operación la estimula en la misma especie y en los cultivares de lechuga del tipo "imperial", siempre que se haya cumplido esa etapa del desarrollo.

Por último, las auxinas son capaces de modificar la expresión sexual de las flores diclinas: los tratamientos auxínicos pueden causar la formación de flores femeninas, en lugar de masculinas, en algunas especies de la familia de las cucurbitáceas.

Las auxinas y las plantas inferiores

El crecimiento de algunas plantas inferiores parece estar controlado por las auxinas. En *Saccharomyces cerevisiae*, el número de células aumenta un 25% cuando se suministra AIA al medio. La auxina también estimula el crecimiento micelial de algunos hongos, como en

Lentinus trigrinus y *Amanita pantherina*. En este último caso, al efecto inhibitorio que ejerce la CIN sobre el crecimiento se opone el AIA.

En la mixomiceta *Clastoderma debaryanum*, el AIA en concentraciones de 1, 5 y 10 ppm induce la formación de una mayor cantidad de plasmodios individuales que fructifican en un esporangio simple. Con 1 ppm de la auxina, la producción de esporangios aumenta considerablemente. El crecimiento normal de esta especie parece estar controlado por auxinas y citocininas.

No todas las algas muestran estimulación del crecimiento por acción de las auxinas. Con dosis relativamente elevadas de AIA se inhibe el crecimiento de *Chlorella*, *Cytococcus*, *Oocystis* y *Scenedesmus*, mientras que con dosis más bajas no se produce ningún estímulo. Sólo *Chlorella* muestra estimulación de la multiplicación celular con dosis intermedias (10 y 50 ppm).

En ciertas algas cenocíticas como *Bryopsis*, el AIA controla la formación de rizoides. Asimismo, el crecimiento de ciertas algas rojas (*Botryocladia botryoides*, *Rissoella verruculosa* y *Laurencia obtusa*) lo controla también el AIA. El precursor de la síntesis auxínica en estas algas es el triptófano.

Ciertas bacterias del suelo secretan auxinas y otros factores de crecimiento de la rizosfera, contribuyendo, probablemente, al crecimiento radical de algunas plantas. *Actinomyces violaceus*, por ejemplo, secreta cantidades relativamente importantes de AIA.

Modo de acción de las auxinas

Uno de los aspectos más característicos de la acción auxínica es el de estimular la síntesis proteica en las células en alargamiento, la que generalmente se inicia con posterioridad a las modificaciones que la auxina provoca en la pared celular. Dicha estimulación no sólo aporta proteínas estructurales para la célula que

se alarga, sino también las enzimas necesarias para el crecimiento. La acción auxínica ocurre a través de la síntesis de ARNm, lo cual se demostró utilizando inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos y de proteínas. La actinomicina D, que se liga al ADN e impide la acción de la enzima ARN polimerasa sobre la síntesis de ARNm, inhibe totalmente la acción del AIA sobre el crecimiento de las secciones internodales de la arveja (figura 190).

También se determinó que la unión de AIA marcado a una pequeña parte de un tipo de ARNm (hecho que ocurre durante el crecimiento de las secciones), también es inhibida por la actinomicina D. Ello parece demostrar que uno de los

principales efectos de la acción del AIA sobre el crecimiento es el de impulsar o desencadenar la síntesis de un determinado tipo de ARNm.

Por otra parte, la puomicina y el cloranfenicol (cloromicetina), que son inhibidores de la síntesis proteica, también inhiben, aunque en menor grado, la acción estimulante de AIA. De la misma manera actúan los antagonistas de bases purínicas y pirimidínicas como la 8-azaguanina y el 5-bromouracilo. El efecto antagónico que ejercen sobre la acción del AIA, en relación con el alargamiento celular, ocurriría a través de la prevención de la síntesis de un ARNm apropiado.

Estos hechos demuestran que la síntesis de nuevas proteínas y enzimas es esencial para que la acción de la auxina sobre el crecimiento tenga lugar. Paralelamente, también se demuestra que las modificaciones que la auxina promueve sobre el grado de elasticidad y plasticidad de la pared celular, y que ocurren antes de la iniciación de la síntesis proteica, no son los únicos fenómenos determinantes del alargamiento celular.

Actualmente se considera que las auxinas provocan desrepresión génica en cuanto a la transcripción de la información genética del ADN al ARNm apropiado y posiblemente, también, en cuanto a la traslación del código de ARNm para la síntesis proteica. La desrepresión podría ocurrir a través de la neutralización de una molécula represora del gene operador que transcribe la información del operón para la síntesis de los ARNm apropiados.

También existe la posibilidad, y hay evidencia experimental en ese sentido, de que el ARNm sea estabilizado por combinación temporaria con la auxina, con lo cual evitaría su degradación por una ribonucleasa.

A pesar de los hechos experimentales aportados, es aún relativamente poco lo que se conoce acerca del mecanismo de la acción de las auxinas sobre el crecimiento, a través del metabolismo de ácidos nucleicos y de la síntesis proteica.

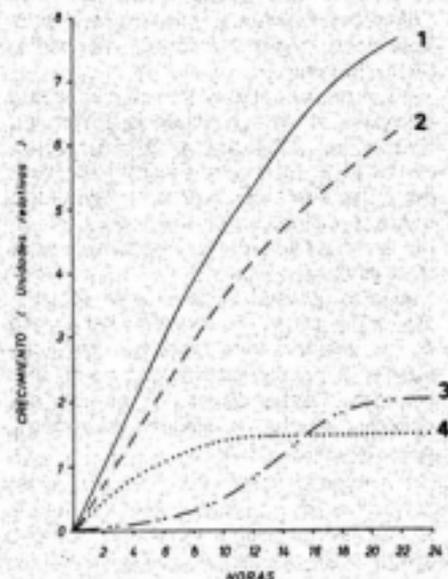


Figura 190. Crecimiento de secciones de coleóptilos en un medio que contiene: 1 = 2×10^{-4} M de AIA; 2 = AIA + 100 ribonucleasa; 3 = testigo (sin AIA); 4 = AIA + 10 ml de actinomicina D. La actinomicina D al complejar ADN impidió la síntesis de ARN mensajero. (Adaptado de V. Bendana y Galston, 1965.)

Antiauxinas

Las antiauxinas fueron definidas como aquellos reguladores del crecimiento, en su gran mayoría sintéticos, que inhiben competitivamente la acción de las auxinas sobre el crecimiento, probablemente debido a la similitud estructural que ambas poseen. Las primeras antiauxinas conocidas fueron los ácidos γ -fenilbutírico, ascórbico y transcinámico. Todos ellos suprimen el efecto estimulante de las auxinas sobre el crecimiento.

Según el concepto de Mc Rae y Bonner (1953), las antiauxinas son sustancias que interfieren la función molecular de las auxinas por un fenómeno de competencia, al faltarles algunos de los requisitos para funcionar como auxinas.

Existen, por lo menos, tres tipos de antiauxinas:

a) Las que carecen de un núcleo adecuado, como en el caso de 2,6-diclorofenoxiacético;

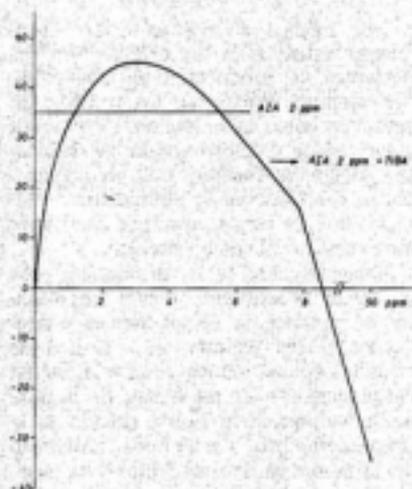


Figura 191. Curvas de crecimiento de secciones de coleóptilos de trigo crecidos en una solución de AIA en presencia de concentraciones diferentes de ATB. Entre 1 y 5 ppm de este regulador se observa el efecto sinérgico.

b) Las que carecen de una adecuada cadena lateral. Es el caso del 2,4-dicloroanisol, que carece del grupo $-\text{COOH}$ en la cadena lateral.

c) Las que no poseen una adecuada relación espacial entre el anillo y la cadena lateral, como en el caso del ácido 2,4-diclorofenoxiisobutírico.

Sinérgismo auxínico

Es producido por sustancias que, careciendo de actividad auxínica o siendo ésta muy débil, refuerzan la acción de la auxina por un fenómeno de sinérgismo. Poseen también una estructura molecular muy semejante a la de las auxinas. Es el caso del ácido fenilacético, del fenilbutírico y del 2,3,5-triyodobenzoico (figura 191).

La naturaleza de la acción sinérgica no se conoce, aunque se supone que los sinérgistas auxínicos se unirían a sustratos inadecuados evitando de esa manera la unión de la auxina con ellos. En consecuencia, habría una mayor disponibilidad de auxina para el crecimiento.

GIBERELINAS

Introducción

Las giberelinas fueron definidas como aquellas fitohormonas que, entre otros fenómenos fisiológicos, inducen específicamente alargamiento caulinar en plantas normalmente enanas. También inducen alargamiento caulinar en plantas en roseta, particularmente en las bienales.

Anteriormente se analizó la participación de las giberelinas en algunos fenómenos fisiológicos descritos como fenómenos de correlación: alargamiento caulinar y sus relaciones con la división y alargamiento celulares, fecundación, crecimiento de frutos y fenómenos de partenocarpia y estenospermia. Asimismo, se

describió y analizó la participación de las giberelinas en la inducción, duración y ruptura del período de dormición en relación con ciertos inhibidores del tipo de las abscisinas y otros, y se analizó, también, su participación en la germinación de ciertas semillas fotosensibles, etcétera.

Más adelante se considerarán las bases fisiológicas de la acción de las giberelinas sobre el crecimiento de mutantes y plantas enanas, su relación con los fenómenos de entallamiento y floración (especialmente en las plantas bienales), y también su incidencia en el fenómeno de tuberización, de enraizamiento y de algunos otros regulados por la luz, etcétera.

El conocimiento de la acción de las giberelinas no es reciente, sino que tiene tanta antigüedad como el de las auxinas. Hasta la finalización de la Segunda Guerra Mundial, el conocimiento de la acción giberelínica se limitó al Japón para luego extenderse a América y Europa.

Los estudios comenzaron a partir de 1926, cuando Kurosawa, en Japón, analizó una enfermedad común en los arrozales llamada "bakane" (gigantismo). La enfermedad es causada por *Gibberella fujikuroi* Saw, hongo ascomiceta denominado *Fusarium moniliforme* Sheld. en su forma asexual. Las plantas atacadas se caracterizan por el tamaño desmesurado que alcanzan sus cañas, las que raramente florecen y fructifican. Con filtrados de cultivos del hongo, libres de micelio o esporas, Kurosawa pudo reproducir la enfermedad y llegó a la conclusión de que el fenómeno era causado por una sustancia activa sintetizada por el parásito. Años más tarde, Yabuta y Hayashi (1939) lograron aislar el producto activo, al que denominaron "giberelina A".

Sólo en 1954 Curtis y Cross, en Inglaterra, determinaron la composición química del producto y lo llamaron ácido giberélico, conocido también como giberelina A3. Poco después, Radley (1956) y Phinney y sus colaboradores (1957) demostraron la presencia de principios de acción semejante en plantas superiores. Más tarde fueron halladas también en las

gimnospermas, pteridófitas, algas, hongos y bacterias.

Es interesante destacar que existen no una, sino muchas formas de giberelinas más o menos emparentadas químicamente con el AG. Hasta el año 1964 sólo se conocían nueve formas identificadas químicamente, las que se denominaron giberelinas A1, A2, A3(AG), A4 y así sucesivamente hasta la A9. Hoy día se conocen 34 giberelinas, las que se denominan con la misma nomenclatura anterior.

El hecho apuntado plantea el interrogante de la existencia de un número tan elevado de compuestos de naturaleza y acción semejantes, máxime si se tiene en cuenta que, en cuanto a las auxinas endógenas, se ha demostrado fehacientemente la existencia de sólo un compuesto (AIA) sobre una extensa serie taxonómica.

Bioquímica de las giberelinas

Los órganos jóvenes en activo crecimiento constituyen los centros más importantes de producción de giberelinas. Las semillas inmaduras, los frutitos, las yemas en curso de brotación, los nódulos y los tejidos de cicatrización constituyen las principales fuentes. Los órganos maduros, o en estado de dormición, o próximos a él, se caracterizan por manifestar muy escasa o ninguna actividad.

Recientemente se ha demostrado que las raíces constituyen fuentes importantes de producción de giberelinas y citoquininas. Estos factores, al trasladarse hacia los ápices, inducirían la reiniciación del crecimiento de las yemas. En la savia de la vid, que ésta exuda cuando se le practica un corte o se la poda tardíamente, la presencia de esos factores de crecimiento se observa mucho antes que se produzca la brotación y la producción de nuevas giberelinas por parte de las yemas.

La savia xilemática de otras especies (girasol, lupino, abedul, "acer", etcétera) también contiene sustancias del tipo de

las giberelinas, muy probablemente de origen radical. Por último, es interesante destacar que el nivel de giberelinas endógenas en las estacas de álamo enraizadas es muy superior al de las no enraizadas.

Las giberelinas se encuentran por lo general bajo formas libres, aunque parece frecuente hallarlas conjugadas con aminoácidos e hidratos de carbono.

Las giberelinas A_1 , A_2 , A_3 (AG), A_4 , A_7 y A_9 han sido identificadas en *Gibberella fujikuroi*, mientras que las giberelinas A_5 , A_6 y A_8 han sido encontradas sólo en plantas superiores, juntamente con las que sintetiza el hongo.

ESTRUCTURA MOLECULAR Y ACTIVIDAD GIBERELÍNICA

Las giberelinas son derivados diterpenoides que poseen, fundamentalmente, un esqueleto "gibano" y un grupo $-COOH$ (véase pag. 446). Ambos grupos son esenciales para la manifestación de actividad giberelínica.

Muchas de ellas (A_1 hasta A_{11}) poseen un anillo lactónico en el anillo A, orientado en un plano molecular diferente, que también es importante para la manifestación de muchos fenómenos fisiológicos.

Las giberelinas más conocidas pueden dividirse en tres grupos según sea el tipo

de sustitución que muestren en los C7 y 8. El primer grupo incluye a las giberelinas que, además de poseer el anillo lactónico, tienen un grupo $=CH_2$ en C8 (A_4 , A_7 , A_9 y A_{11}); el segundo, a las que además muestran sustitución por un $-OH$ en el C7 (A_1 , A_3 , A_5 , A_6 , A_8); y el tercero, a las giberelinas que poseen grupos $-CH_3$ y $-OH$ en el C8 y ausencia de sustitución en el 7 (A_2 , A_{10}). Otras giberelinas, como la A_{12} y A_{13} , carecen de anillo lactónico. Además, poseen un mayor grado de polaridad por la presencia de grupos $-COOH$ adicionales.

A pesar de dichas características estructurales, el grado de actividad de las giberelinas depende principalmente del fenómeno fisiológico afectado. Por ejemplo, la estimulación del crecimiento del sistema estolonífero que causan las giberelinas A_3 y A_5 en estacas foliosas de papa se relaciona con la existencia en ambas del anillo A no saturado, por la sustitución por un $-OH$ en el C7 y por la presencia del grupo lactónico.

BIOSÍNTESIS, INTERCONVERSION Y DEGRADACION DE LAS GIBERELINAS

Se ha supuesto que el ácido giberélico y quizá las restantes giberelinas deriven de un esqueleto diterpenico ([-]-kaure-

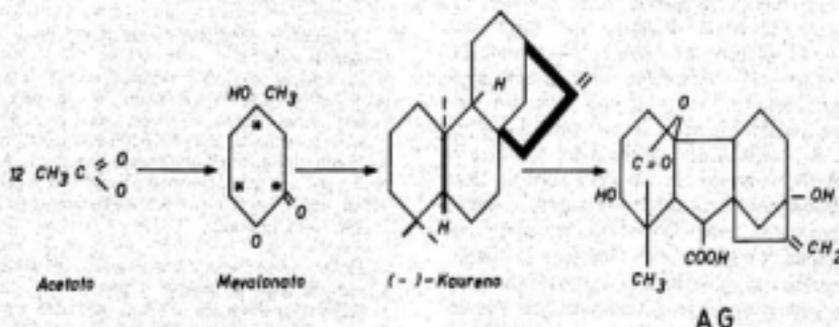


Figura 192. Vía metabólica simplificada de la síntesis de AG y probablemente de otras giberelinas. (Adaptado de Paleg, 1965.)

no). El ácido mevalónico radiactivo, que se forma a partir de unidades acetato, ha sido convertido a (-)-kaureno por la acción de un sistema enzimático obtenido del endosperma de semillas inmaduras de *Echinocystis macrocarpa*. Por reordenaciones del esqueleto carbonoso de aquel precursor se origina ácido giberélico. Todos los precursores mencionados fueron incubados en cultivos del hongo *Gibberella fujikuroi* y se obtuvo, también, AG (figura 192).

Poca información existe sobre la biosíntesis en las plantas superiores, pero se presume que sigue rutas metabólicas similares.

Es interesante destacar que un retardante, el AMO 1618, produce inhibición del crecimiento (enanización) al prevenir la ciclización de precursores diterpénicos del tipo geranil-geranil pirofosfato en terpenos ((-)-kaureno), con lo cual se impide la síntesis de giberelinas endógenas.

Existe evidencia experimental de que ciertas giberelinas pueden convertirse en otras. Así, por ejemplo, la giberelina A₅ podría generar A₁ y ésta A₃ (AG).

Muy poco se conoce de las vías y formas de degradación giberélica *in vivo*. En condiciones *in vitro* se ha demostrado que el AG puede convertirse en los ácidos giberélico y alogiberico, los que carecen de actividad.

Hay factores ambientales que estimulan considerablemente la síntesis de giberelinas endógenas. En ciertas especies, el nivel depende del largo del día. El efecto inductor sobre el entallamiento y la floración de algunas especies bienales se relaciona con un aumento significativo del nivel de giberelinas endógenas. Asimismo, el efecto del frío sobre la ruptura de la dormición en semillas y yemas parece tener lugar mediante la estimulación de la síntesis de giberelinas. En fin, la vernalización de cariopses germinantes de ciertas gramíneas y semillas de dicotiledóneas determina efectos semejantes. Es posible que ello constituya la base fisiológica de la vernalización como proceso integrante del desarrollo.

EXTRACCION, SEPARACION Y EVALUACION DE GIBERELINAS

Los métodos de extracción y purificación de giberelinas son muy semejantes a los que se emplean para las auxinas. La extracción puede hacerse utilizando los alcoholes etílico y metílico y el acetato de etilo. La purificación se hace usualmente por adsorción sobre carbón activado, previa eliminación del solvente. La elución se efectúa con acetato de etilo.

La ulterior separación de giberelinas y posibles inhibidores se efectúa, también, mediante cromatografía sobre papel y en capa fina.

Los pasos siguientes hasta la obtención de los eluidos correspondientes a los diferentes valores de R_f son idénticos a los descritos para las auxinas.

La evaluación de la presencia y la actividad de sustancias del tipo de las giberelinas se efectúa mediante pruebas biológicas, las que pueden agruparse en pruebas basadas: a) en la estimulación del crecimiento internodal de las plántulas; y b) en la exaltación de ciertos procesos bioquímicos.

En las pruebas que se fundan en la estimulación del crecimiento internodal de las plántulas se pueden utilizar:

1) Mutantes enanos de maíz (Prueba de Phinney).

La prueba consiste en depositar una microgota en la axila de la lámina de la primera hoja y medir luego el crecimiento del entrenudo siguiente. La sensibilidad oscila alrededor de 0,501 µg por planta tratada. Algunos mutantes reaccionan a ciertas giberelinas y no a otras, mientras que otros manifiestan el comportamiento opuesto.

2) Estimulación del crecimiento hipocotilar en las plántulas de lechuga y pepino.

Por lo general se utilizan plántulas de 2 días de edad. En la lechuga, la sensibilidad oscila alrededor de 0,1 µg/l de solución. La prueba con plántulas de pepino es sensible sólo a giberelinas no sustituidas en el C₇, como A₄, A₇, A₉ y A₁₁.

Cuadro 1. Actividad relativa (grados 0 a 4) de diferentes giberelinas sobre bioensayos basados en el crecimiento internodal (según Brian y col. 1964).

Giberelina	Mutantes de maíz			Arveja	Pepino	Lechuga	Poroto
	d1	d3	d5				
A1	3	3	3	2	2	3	1
A2	2	2	2	3	1	2	0
A3(AG)	3	3	3	3	2	4	4
A4	3	3	3	3	3	4	0
A5	2	4	4	2	1	3	—
A6	2	2	2	1	1	2	1
A7	3	4	4	3	4	4	3
A8	0	0	0	0	0	0	—
A9	1	4	3	0	3	4	1

3) Crecimiento internodal de las plántulas de arroz.

Se basa también en la estimulación del crecimiento del primer entrenudo, luego de la incorporación de las giberelinas por el sistema radical de la plántula. Tiene la ventaja de ser sensible a la mayoría de las giberelinas conocidas, excepto a A₁₃. La sensibilidad está dentro del orden de 0,01 µg/l de solución.

Entre las pruebas basadas en la exaltación de ciertos procesos bioquímicos existe la del endosperma de la cebada, de Paleg y de Jones y Varner.

Estas pruebas están basadas en la capacidad que poseen ciertas giberelinas de estimular la producción de azúcares reductores por la vía de la síntesis *de novo* de α amilasa en el endosperma de la cebada desprovista del embrión. Esta síntesis es insensible a las auxinas y las citoquininas; la sensibilidad del ensayo es 100 veces mayor que la de las pruebas biológicas antedichas, y es del orden de 10⁻⁵ µg/ml, equivalente a una concentración de 3 × 10⁻¹¹ M de AG. Dentro de ciertos límites, la cantidad de azúcares reductores liberada es proporcional al logaritmo de la concentración de giberelinas. Por otro lado, tienen la ventaja de su corta duración (24 horas). El grado de actividad depende de la giberelina probada. Las A₁, A₃, A₄ y A₇ muestran una actividad de máxima a moderada en ese orden, mientras que las A₅, A₆ y A₁₃ muestran una actividad muy escasa o nula (cuadro 1).

También se han descrito métodos químicos que se basan en la reacción de color y fluorescencia que las giberelinas muestran a la luz UV luego del tratamiento de las placas cromatográficas con mezclas de H₂O/SO₄H₂, etanol/SO₄H₂ y SO₄H₂ concentrado. Las reacciones de color aparecen según el tiempo de exposición a diferentes temperaturas.

TRASLADO DE LAS GIBERELINAS

El movimiento de las giberelinas no manifiesta el sentido estrictamente polar que poseen las auxinas. En general, parece ser apolar. Por ejemplo, el AG aplicado en los tubérculos de la papa aparece luego en todo el follaje de la planta. Sin embargo, cuando se lo aplica a una rama de una planta de papa previamente podada, no se traslada a la segunda rama. Además, sólo retarda la tuberización y estimula el crecimiento estolonífero en la mitad del

tallo basal correspondiente a la rama tratada. En este caso, el traslado parece ser polar.

El traslado de las giberelinas sintetizadas en la raíz ocurre por el xilema. Aplicadas en el follaje, migran preferentemente por el floema.

El mecanismo es de tipo activo, pues depende de la actividad metabólica de la planta. Además, parece ser independiente del movimiento de la corriente de los productos de la fotosíntesis.

La velocidad de transporte es de aproximadamente 5 cm/h. Puede, además, redistribuirse desde las hojas maduras a las jóvenes y hacia los frutos por la vía del floema.

ESPECIFICIDAD DE ACCION DE LAS GIBERELINAS

Muchos fenómenos fisiológicos los producen varias giberelinas. Por ejemplo, el retardo de la tuberización de los brotes de la papa cultivados *in vitro*, o el de la acción sobre la liberación de azúcares a partir del endosperma de la cebada. No obstante, en algunos casos se han observado grados en la especificidad de la acción, los que dependen del fenómeno fisiológico pertinente. Así por ejemplo, el AG(A₃) induce el alargamiento caulinar en *Silene armeria* sin que el tallo florezca. En cambio, la A₇ estimula los dos fenómenos en esa especie y en *Myosotis*. En la lechuga, las giberelinas A₁ y A₃ producen el 100% de floración, mientras que las A₄, A₅ y A₂ no ejercen ningún efecto.

En cuanto a la actividad en las diferentes pruebas biológicas, la A₇ es uniformemente efectiva, mientras que la A₅ es casi inefectiva en la prueba del hipocótilo de pepino. La A₉, a su vez, no ejerce ninguna acción en las pruebas similares de poroto y arveja (cuadro 1).

En otros casos, la efectividad de acción sobre un fenómeno fisiológico se relaciona con otros similares o emparen-

tados. En la papa, las A₃ y A₂ estimulan considerablemente el crecimiento estolonífero, lo que se relaciona inversamente con la fuerte acción inhibitoria que ambas muestran sobre la tuberización.

Fenómenos fisiológicos regulados por las giberelinas

CRECIMIENTOS DE MUTANTES Y PLANTAS ENANAS

El crecimiento de algunos mutantes enanos de maíz parece estar controlado, en cada caso, por un gene simple que regularía, por un fenómeno de represión, la formación de una enzima necesaria para desencadenar la síntesis de una o varias giberelinas. No obstante, no todos los enanos genéticos son deficientes en giberelinas. En *Pharbitis nil* y en la arveja, las formas enanas poseen aproximadamente la misma cantidad de giberelinas endógenas que las normales. En condiciones de luz, el enanismo se debería a que no responden a la acción de la A₃, mientras que crecen normalmente cuando se las trata con la A₃. La luz neutralizaría, en ese caso, la acción de la A₃. El enanismo en dichas plantas sería la resultante de una inhibición impuesta por la luz, lo cual llevaría al fenómeno antes descrito.

En todos los casos, el alargamiento caulinar es inducido a través de la acción estimulante de las giberelinas sobre la multiplicación celular en el meristema subapical, aunque también contribuye, en menor grado, el alargamiento celular experimentado por las nuevas células.

Las plántulas enanas de duraznero, que con frecuencia se observan en los viveros, son producidas por semillas que han sufrido parcialmente el efecto del frío en relación con la ruptura de la dormición. El fenómeno parece deberse a una producción parcial de giberelinas endógenas originadas en el embrión. Las plantas enanas son incapaces de metabo-

lizar el almidón acumulado en los ápices. Estos responden de inmediato hidrolizando el almidón luego de un tratamiento con AG. El fenómeno se relaciona con la continuación del crecimiento caulinar normal.

ENTALLAMIENTO Y FLORACION

El crecimiento caulinar de muchas plantas en roseta, así como la floración de algunas de ellas en condiciones inductivas de día largo, parecen estar controlados por sustancias del tipo de las giberelinas que aparentemente se sintetizan como consecuencia de aquella inducción. En la totalidad de los casos, la iniciación del crecimiento del tallo florífero es precedida por un aumento considerable de la síntesis de giberelinas endógenas. La acción se centra principalmente en el meristema subapical, que comienza a multiplicar activamente sus células y orienta los planos de citocinesis en sentido perpendicular al eje caulinar en crecimiento. Las células así producidas se alargan, contribuyendo también al crecimiento del eje caulinar.

Otras especies también muestran un aumento de la actividad giberelínica luego de la vernalización. El estudio de la acción de las giberelinas exógenas ha permitido aclarar en parte el papel biológico que cumplen respecto al entallamiento y floración en ese tipo de plantas.

Se ha demostrado que, en muchos casos, las giberelinas pueden reemplazar el efecto de los días largos bajo condiciones no inductivas (fotoperíodos cortos), y aun la necesidad de vernalización para la floración. Esto hizo pensar, en el primer momento, que las giberelinas podrían ser las hipotéticas hormonas de la floración (vernalina y florigen). Sin embargo, estudios detallados demostraron que las giberelinas constituyen sólo una parte del complejo hormonal de la floración, pues si bien afectan fundamentalmente el creci-

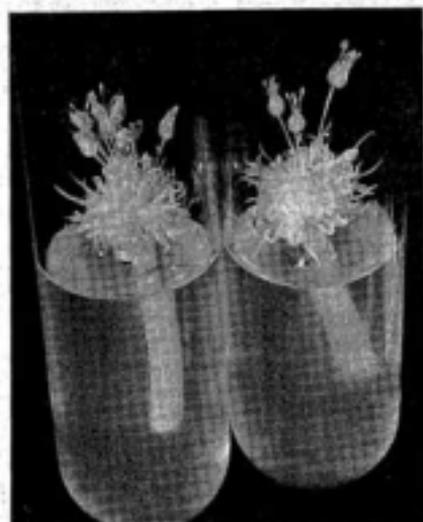
miento de los tallos floríferos, no parecen actuar sobre la diferenciación de los primordios florales. También parecen integrar sólo una parte del complejo hormonal de la vernalización. En muchas especies de *Brassica* y en la zanahoria, el apio, el perejil y la remolacha, es posible inducir el entallamiento y la floración bajo condiciones no inductivas de día corto. Con dosis bajas, sin embargo, en *Hyoscyamus niger* puede inducirse el entallamiento vegetativo sin formación de primordios florales y con concentraciones mayores, ambos fenómenos.

En el rabanito (*Raphanus sativus*) y en *Silene armeria*, el AG no induce floración en día corto, a menos que ambas especies hayan sido previamente vernalizadas. Las plantas, no obstante, entallan sin florecer. Si la vernalización ha tenido lugar, las giberelinas A₃ y A₁ inducen el 100% de floración en condiciones de días cortos no inductivos.

Por otra parte, las plantas caulescentes de *Nicotiana glauca* no florecen luego de la aplicación de giberelinas en días cortos.

Las experiencias demuestran que el entallamiento y la floración son dos fenómenos distintos gobernados, el primero, por las giberelinas y, el segundo, por una condición fisiológica creada por la vernalización. Sin embargo, un crecimiento caulinar mínimo parece constituir la condición indispensable para la expresión de la floración.

En la mayoría de las plantas que requieren vernalización para florecer (remolacha, repollo, rutabaga, nabo, apio), las giberelinas reemplazan la necesidad de frío siempre y cuando las temperaturas se mantengan levemente por encima de la temperatura crítica máxima de vernalización (10 a 13 °C), pero no ejercen ningún efecto a mayores temperaturas (15 a 18 °C). En la zanahoria, en cambio, la necesidad de vernalización puede reemplazarse con AG bajo cualquier régimen térmico. Asimismo, en el trigo invernal, el AG acelera la vernalización siempre y cuando



AG ADENINA

TESTIGO

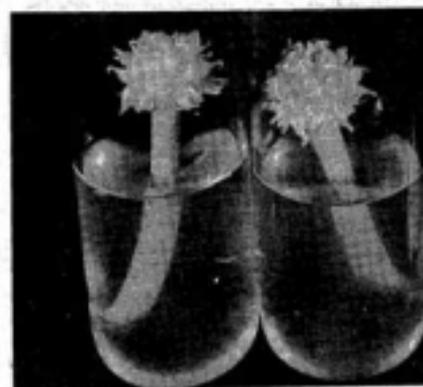


Figura 193. Efecto del AG_2 (1×10^{-4}) y de la adenina (1×10^{-6} M) sobre la inhibición de bulbillos aéreos en escapos florales de ajo, y la estimulación del crecimiento de flores a partir de ellos. El testigo muestra los bulbillos en crecimiento y pimpollos florales inhibidos.

ésta se haya iniciado, lo que no ocurre si la aplicación se efectúa al comienzo.

Las giberelinas no sólo inducen la floración en las plantas de día corto en condiciones de día largo, sino que pueden inhibirla, aun en condiciones inductivas como es el caso de *Kalanchoe* expuesta a días cortos.

En ciertas gimnospermas (cupresáceas y taxodiáceas), la aplicación periódica de AG adelanta considerablemente la floración e induce la formación de estróbilos en las plantas de dos años de edad.

El AG también promueve la floración de los escapos florales del ajo cultivados *in vitro*. En condiciones naturales, las plantas emiten los escapos, pero los primordios florales abortan precozmente. En lugar de ellos, y en la base de los pedúnculos florales, se forman bulbillos aéreos. El AG inhibe el crecimiento de los bulbillos, que son los que causan la inhibición del crecimiento de las flores. Cuando esto ocurre, los primordios florales crecen formando flores normales (figura 193). El perfeccionamiento de esta técnica podría permitir el mejoramiento genético de las variedades de ajo existentes, que sólo se multiplican en forma clonal.

Los hechos descritos demuestran que las giberelinas no pueden ser consideradas como las hormonas de floración, aunque parece importante su intervención en dicho proceso.

Por último es interesante destacar que, contrariamente a las auxinas, las giberelinas tienden a inducir masculinidad en las flores unisexuadas de lúpulo y de pepino.

PARTENOCARPIA

Como ya se expresó, el papel de las giberelinas en este proceso es evidente. Así, el tratamiento de flores no fecundadas de tomate y de algunas variedades de manzano y duraznero provoca la formación de frutos sin semillas. Además se ha demostrado que existe

correlación entre el contenido de giberelinas endógenas y la relación de crecimiento del fruto.

CRECIMIENTO DE LOS ESTOLONES Y TUBERIZACIÓN

El crecimiento de los estolones en las plantas tuberosas (papa, topinambur y Croñe del japon), así como en otras (frutilla), parece estar controlado por la acción de giberelinas endógenas.

Bajo condiciones no inductivas (día largo) para la tuberización, el crecimiento de estolones no sólo se exalta, sino que a veces puede continuar indefinidamente como en el caso de *Solanum andigenum*. El crecimiento del sistema estolonífero en las estacas foliosas de la papa depende de la dosis de AG utilizada. También depende del tipo de giberelina. En todos los casos se observa una estrecha correlación entre el estímulo del crecimiento del sistema estolonífero y los retardos de la tuberización que ellas provocan (cuadro 2).

Cuadro 2. Acción de las diferentes giberelinas ($3 \cdot 10^{-5}$ M) sobre el crecimiento de los estolones y el retardo de la tuberización de las estacas foliosas de papa crecidas bajo condiciones inductivas de día corto (8 h) para la tuberización. (Adaptado de Tizio, 1971.)

Giberelina	Estolones primarios		Estolones secundarios		Nu. de días hasta 50 % de tuberización
	Nº promedio	Largo (cm)	Nº promedio	Largo (cm)	
A1	1	1-2	0	—	20
A3(AG)	1-2	4-7	1-3	1-3	24,5
A4	0	—	0	—	12,5
A5	1-2	5-14	1-3	4-9	30
A7	1	1-2	0	—	17
A9	0-1	0-1	0	—	14
A13	0	—	0	—	13
Testigo	0	—	0	—	12

Cuadro 3. Efecto de las dosis crecientes de AG (A3) sobre la tuberización de brotes de tubérculos de papa cultivados *in vitro*. (Tizio, 1971.)

AG	0	$3 \cdot 10^{-6}$ M	$3 \cdot 10^{-5}$ M	$3 \cdot 10^{-4}$ M
Nº de días hasta 50 % tuberización	25	142	> 224	> 224
% de tuberización al final de la experiencia (224 días después).	100	68	0	0

Comportamiento análogo se observa sobre la tuberización de secciones de brotes de tubérculos cultivadas *in vitro*. Los retardos que el AG provoca se relacionan en forma directa con la dosis utilizada (cuadro 3).

En general se observa una relación entre la estructura molecular de las giberelinas estudiadas y los retardos que ellas provocan sobre la tuberización. La existencia de una doble ligadura en el anillo A de la molécula y la sustitución en el C7 por un -OH, parecen constituir dos condiciones importantes respecto a los retardos que sobre la tuberización provocan las giberelinas A_3 (AG) y A_4 . Cuando las dos características se separan, la acción es menos acentuada (giberelinas A_1 y A_2). La estructura lactónica parece igualmente importante. Cuando ella está ausente (al menos para la A_{13}), la acción es nula.

Debe destacarse que la influencia de las giberelinas sobre los dos fenómenos descritos (estolonización y tuberización) es un efecto específico de estas fitohormonas. Las auxinas y citoquininas no ejercen per se ningún tipo de acción.

En condiciones naturales de crecimiento se observa, en la planta de papa, una relación inversa entre el contenido de sustancias del tipo de las giberelinas y la iniciación de la tuberización. En condiciones no inductivas de día largo, el contenido es alto durante casi todo el ciclo y la tuberización se retarda o no se produce. En condiciones de día corto, la concentración decae sensiblemente y el fenómeno se adelanta. La tuberización tendría lugar cuando se alcanzan, en el nivel estolonífero, determinadas relaciones de concentración entre las giberelinas endógenas, sustancias de naturaleza fenólica, y un factor sintetizado a la luz de naturaleza aún desconocida, que se opone total o parcialmente a la acción de aquéllas.

ACCION MORFOGENICA DE LA LUZ EN RELACION CON LAS GIBERELINAS

Los efectos que ambos factores inducen pueden ser:

- a) coincidentes o paralelos;
- b) opuestos.

En cuanto a los primeros, ya se analizó con anterioridad los efectos semejantes que la luz y las giberelinas producen sobre la germinación de las semillas fotosensibles. También se citó el paralelismo existente entre los fotoperíodos largos y la acción de las giberelinas sobre el crecimiento de estolones y la tuberización.

Entre los efectos opuestos se ha determinado que la luz roja reduce considerablemente el crecimiento caulinar de las arvejas enanas. Las aplicaciones de AG revierten empero, el efecto inhibitorio de la luz, si bien el grado de reversión depende del tipo de giberelina que se emplee y de la especie en cuestión.

En las plántulas de arroz, el AG no sólo revierte el efecto inhibitorio de la luz roja, sino que la combinación de ambos factores produce un efecto parcialmente aditivo que resulta ser mayor que los de cada factor por separado.

Debe destacarse que la inhibición por la luz se relaciona con una disminución de la extensibilidad de la pared celular y una merma de su módulo plástico, efecto que es revertido por el AG. Ello parece indicar que las paredes celulares constituyen el centro de acción principal de ambos factores.

CRECIMIENTO DE LAS RAICES Y ENRAIZAMIENTO

El crecimiento radical no es afectado por las giberelinas. Puede serlo en forma indirecta, al estimular el crecimiento caulinar, hecho que alteraría la relación vástago/raíz desde el punto de vista de la nutrición.

La mayoría de los autores señalan que la giberelinas inhiben o frenan el enraizamiento, oponiéndose, en algunos casos, a la actividad rizógena del AIA. No obstante, a veces promueven la rizo-

génesis si se crean previamente determinadas condiciones fisiológicas.

En las secciones de parénquima de reserva de los tubérculos de topinambur, la acción directa de las giberelinas no produce rizogénesis; pero si se las aplica luego de la diferenciación de un cámbium inducido por una auxina (ANA), el AG estimula considerablemente la formación de raíces en la oscuridad.

OTROS FENOMENOS FISIOLÓGICOS ESTIMULADOS POR LAS GIBERELINAS

a) *Actividad cambial*

Las giberelinas, lo mismo que las auxinas, estimulan la actividad cambial en algunas especies. Ello ocurre en el damasco, la begonia, el haba, el álamo y la papa.

b) *Reversión de los efectos enanizantes producidos por los retardantes*

Las giberelinas, en bajas concentraciones, revierten los efectos enanizantes que producen los retardantes sobre el crecimiento de los tallos. La acción tiene lugar en los meristemas subapicales, donde las giberelinas anulan el efecto inhibidor de aquellos reguladores sobre la multiplicación y alargamiento celulares.

c) *Expansión foliar*

Las giberelinas estimulan la expansión foliar en secciones de hojas y discos foliares de ciertos cereales y otras gramináceas. También estimulan el crecimiento de vainas jóvenes en la avena y el arroz.

d) *Modificación de la heterofilia*

El AG retarda la aparición de hojas adultas pentalobadas en *Passiflora ca-*

erulea, manteniendo las formas entera y trilobada más jóvenes. No obstante, el efecto del AG es transitorio.

e) *Crecimiento de pasturas invernales*

El AG provoca un mayor crecimiento invernal en la alfalfa, *Poa*, *Cynodon*, *Agrostis*, *Festuca* y *Lolium*, y determina aumentos en los rendimientos de los cortes. El fenómeno se atenúa en la primavera y los rendimientos suelen ser menores en esa época.

f) *Regeneración de variedades de papa endémicamente virosas*

El cultivo *in vitro* de pequeñas secciones de ápices de tallos de papa virosa ha permitido obtener plántulas libres de virus, cuyos tubérculos permitieron recuperar la variedad para lanzarla de nuevo a la producción comercial. No obstante, la proporción de ápices que originan tallos es extremadamente pequeña, pues la mayoría de ellos generan callos de crecimiento indiferenciado. La adición de AG a los medios de cultivo aumentó considerablemente la proporción de ejes caulinares, hecho que permitió un mejoramiento sustancial de la técnica.

g) *Diferenciación de yemas florales*

El AG, aplicado sobre plantas de duraznero en la estación anterior, reduce el número de yemas florales, que son de menor tamaño, pero que exhiben una mayor resistencia a las heladas. En la primavera siguiente, el menor número de flores aumenta el porcentaje de frutos "cuajados", eliminando la necesidad de raleos adicionales en algunos cultivares.

h) *Retraso de la floración en los frutales y en la vid*

Las aplicaciones de AG sobre el follaje, antes de la senescencia foliar de los durazneros, los almendros y la vid,

a fines del verano y principios del otoño, no sólo demoran la manifestación de ese fenómeno, sino que producen atrasos en la brotación de las yemas florales en la estación siguiente. En las regiones límites, de heladas tardías, el fenómeno tiene gran importancia agronómica, pues impide frecuentemente la pérdida de un gran número de flores.

1) *Crecimiento del eje del racimo (escobajo) en la vid.*

Algunos cultivares de vid como el Pinot blanco, de muy buena calidad para la elaboración de vinos destinados a champaña, poseen el defecto de formar escobajos muy cortos. Este hecho determina que las bayas se compriman

unas a otras. La ruptura de los frutos por acción del granizo o por un potencial osmótico muy bajo facilita la penetración del hongo *Botrytis cinerea*, que a los pocos días produce una podredumbre húmeda que inutiliza el racimo. Las aplicaciones de AG antes de la plena floración estimulan el crecimiento del escobajo, permitiendo un mayor espacio entre las bayas. Frecuentemente, este fenómeno es suficiente como para prevenir ataques generalizados del parásito. No obstante, presenta el inconveniente de producir "corrimiento" (ausencia de fecundación), que disminuye el número de bayas por racimo. Con concentraciones apropiadas del orden de 7 a 12 mg/l de solución, el inconveniente se reduce considerablemente.

Comparación de los efectos fisiológicos causados por las auxinas y las giberelinas

Fenómeno fisiológico o bioquímico	Auxina	Giberelina
Traslado polar	Sí	No
Estimula la rizogénesis	Sí	No
Inhibe el alargamiento radical	Sí	No
Retarda la abscisión de hojas, flores y frutos	Sí	No
Inhibe el crecimiento de yemas axilares	Sí	No
Estimula la formación de callos	Sí	No
Estimula las respuestas epinásticas	Sí	No
Estimula las respuestas trópicas	Sí	No
Estimula el crecimiento en las plantas intactas, de tipo enano, y en las hojas de las monocotiledóneas	No	Sí
Estimula la germinación de semillas y la ruptura del período de dormición	No	Sí
Estimula el entallamiento y la floración de las plantas bienales	No	Sí
Acelera la vernalización	No	Sí
Estimula la división celular	Sí	Sí
Estimula el alargamiento celular	Sí	Sí
Estimula el "cuajado" de frutos	Sí	Sí
Estimula la partenocarpia	Sí	Sí
Estimula la diferenciación cambial	Sí	No

Fenómeno fisiológico o bioquímico	Auxina	Giberelina
Estimula la actividad cambial	Sí	Sí
Estimula el crecimiento de estolones	No	Sí
Retrasa la tuberización	No	Sí
Retrasa la floración de ciertos frutales y de la vid	No	Sí
Revierde los efectos enanizantes de los retardantes	No	Sí
Estimula la síntesis de enzimas hidrolíticas en la capa aleuronifera de los cariopses de la cebada	No	Sí

Giberelinas y plantas inferiores

Ciertas algas de los géneros *Hypnea*, *Gracilaria* y *Ecklonia* muestran la presencia de sustancias del tipo de las giberelinas. Su significación biológica se desconoce. No obstante, las giberelinas promueven el crecimiento de ciertas algas, como *Ulva lactuca*, y de los protonemas de los musgos, en los cuales estimulan la multiplicación y alargamiento celulares.

En la hepática *Pellia epiphylla*, la diferenciación del esporogonio ocurre en el invierno, pero las setas no se alargan hasta principios de la primavera, quizá como respuesta fotoperiódica, si bien crecen en invierno si se tratan con AG. En el helecho *Ceratopteris thalictroides*, el AG estimula la aparición de frondas fértiles. Asimismo, *Anemis phyllitides* responde a las giberelinas A₁, A₃, A₄, A₇, A₈ y A₉ formando anteridios fértiles.

Los hongos y bacterias no responden significativamente a la acción de las giberelinas, aunque algunos de ellos las producen.

Modo de acción de las giberelinas

Existe evidencia experimental en el sentido de que las giberelinas, al igual que las auxinas, inducen ciertos fenómenos fisiológicos y bioquímicos a través de la estimulación cualitativa y cuanti-

tativa de la síntesis de ácidos nucleicos y de proteínas.

La evidencia más clara se halló estudiando el mecanismo por el cual las giberelinas inducen la síntesis de novo de ciertas enzimas hidrolíticas, particularmente α -amilasa, en la capa aleuronifera que rodea al endosperma en los cariopses de la cebada. Ya en 1958 se determinó que el embrión de cebada producía un factor inductor de la actividad de α -amilasa. Por otra parte también se demostró que el ácido giberélico inducía actividad amilolítica en el endosperma aislado del embrión. Poco después, varios autores demostraron que la producción de la enzima ocurría en la capa aleuronifera como resultado de la acción de la giberelina. Se pensó, entonces, que el embrión sería el centro de origen de las giberelinas, las que transportadas a la capa aleuronifera estimularían en ella la síntesis de α -amilasa responsable de la hidrólisis del almidón en el endosperma, así como de otras enzimas hidrolíticas. La cantidad de azúcares reductores liberados por hidrólisis es proporcional al logaritmo de la concentración de la hormona.

Los inhibidores de la síntesis de ARNm, como la actinomicina D, y de proteínas (cloranfenicol, puromicina) inhiben la síntesis de α -amilasa. El bloqueo de la síntesis por actinomicina D es efectivo dentro de las primeras 7 u 8 horas de incubación de la capa aleuronifera en presencia de giberelina. Luego

de ese lapso no tiene lugar. Ello demuestra que el AG promueve la síntesis del ARNm necesario para transmitir la información genética de un ADN específico para la síntesis de α -amilasa.

También se ha demostrado que el AG estimula la síntesis de invertasa en el parénquima de reserva del topinambur.

La vida del ARNm necesario para la síntesis de α -amilasa parece ser relativamente fugaz, dado que se necesita un aporte permanente de AG para mantener un nivel uniforme en la síntesis de la enzima.

En síntesis, las giberelinas actuarían en forma similar a las auxinas, desreprimiendo un gene operador o bien activando las enzimas involucradas en la síntesis de α -amilasa y, probablemente, de otras enzimas hidrolíticas.

Por último, debe destacarse que no todas las giberelinas muestran la misma actividad con respecto a la síntesis enzimática. El orden de actividad sería el siguiente: $A_1 > A_3 > A_7 > A_4 > A_5 > A_{11}$. Estas dos últimas muestran muy escasa actividad.

Inhibidores de la acción de las giberelinas

Hasta el presente no se ha demostrado la existencia de sustancias antigiberelinas que antagonicen competitivamente la acción de las giberelinas. Sin embargo, numerosos autores atribuyen a los retardantes del tipo del AMO 1618, CCC y Fosfon D el carácter de antigiberelinas, debido a la propiedad que poseen de inhibir el crecimiento caulinar.

Es necesario aclarar que el concepto, a juicio del autor, es erróneo ya que en ningún caso se ha demostrado que los retardantes antagonicen competitivamente la acción de las giberelinas. El error surge, quizá, del hecho de no

tener en cuenta que la acción de los retardantes se ejerce sobre la inhibición de la síntesis de giberelinas endógenas y no sobre la acción de estas fitohormonas.

No obstante, existe una serie de sustancias y reguladores que pueden antagonizar total o parcialmente la acción de las giberelinas. El ácido abscísico (ABA), por ejemplo, inhibe la síntesis de α -amilasa en las capas aleuroníferas. Por otra parte, el ABA antagoniza no competitivamente la acción de varias giberelinas sobre el mismo fenómeno. También inhibe el crecimiento de las yemas de secciones de brotes de papa cultivadas *in vitro*. La inhibición es antagonizada por el AG. El grado de antagonismo depende de la concentración de la fitohormona.

Recientemente se ha comprobado que ciertos taninos hidrolizables actúan como antagonistas de las giberelinas, pues se caracterizan por inhibir el crecimiento de las arvejas enanas inducido por éstas. Cuando la relación concentración de taninos/giberelina es de 1.000:1, la inhibición es del orden del 80 al 95%; pero cuando es de 10:1 desciende a un 25% o menos. Es interesante destacar que dichos taninos no inhiben el crecimiento de las arvejas en ausencia de la giberelina.

Otros compuestos relacionados con los taninos, como la cumarina, ácido transcinámico y algunos compuestos fenólicos, también antagonizan, aunque parcialmente, el efecto estimulante de las giberelinas sobre el crecimiento internodal de la arveja. En todos los casos, la acción antagonista se manifiesta con relaciones de concentración compuestos/giberelinas muy alta.

Ciertos compuestos fenólicos como el ácido cafeico, p-cumárico, ferúlico y clorogénico antagonizan parcialmente la acción retardante que las giberelinas ejercen sobre la tuberización de estacas foliosas de papa. En estos casos, el efecto antagónico también se manifiesta en relaciones de concentración del orden de 1.000:1, aproximadamente.

CITOCININAS

Introducción

Las citocininas se definieron como aquellos reguladores del crecimiento, naturales o sintéticos, que estimulan fundamentalmente la citocinesis o formación del fragmoplasto en la división celular, previa cariocinesis. Además, actúan e interaccionan con otros factores de crecimiento sobre una serie de fenómenos de correlación, como es la dominancia apical, principalmente en relación con la diferenciación de tejidos vasculares entre los ejes caulinares y las yemas. Además, existen pruebas de la participación de las citocininas en ciertos casos de polaridad de crecimiento, particularmente en relación con la diferenciación de yemas adventicias en las raíces. Por otro lado se ha comprobado la relación de las propiedades morfogénicas de las citocininas en conexión con las auxinas, demostrándose que la capacidad de ciertos órganos (hojas de begonia, callos de médula de tabaco, raíces gemíferas, etcétera) para generar raíces y/o yemas depende de la relación de concentración entre ambos factores de crecimiento. Asimismo se ha determinado la participación de las citocininas en la ruptura de la dormición de ciertos órganos (semillas de lechuga, yemas de vid y tubérculos de papa).

Bioquímica de las citocininas

Las citocininas endógenas y sintéticas son derivados de adenina en la posición N⁶. Dicha sustitución confiere una mayor actividad biológica, que en la gran mayoría de los casos es superior a la que de por sí posee la base purínica. La presencia de ésta no sólo es indispensable en relación con la actividad hormonal, sino que es específica. Ni la guanina ni sus derivados muestran actividad semejante. Asimismo, no se conoce que las pirimidinas (citosina, ti-

mina, uracilo) o sus derivados muestren actividad como citocininas.

Una excepción la constituyen ciertas ureas sustituidas, cuyo representante más activo es la 1,3-difenilurea. Sin embargo, su actividad es muy reducida cuando se la compara con los derivados de adenina.

Van Oberbeek y colaboradores (1941, 1942) fueron los primeros en señalar las propiedades particulares de la leche de coco (endosperma inmaduro, líquido, de la semilla de *Cocos nucifera*) en relación con el crecimiento y diferenciación de embriones jóvenes de *Datura*. Posteriormente, Steward y colaboradores (1948) observaron que el mismo líquido endospermico producía una activa proliferación celular en el floema secundario de la raíz de zanahoria. La acción resultó ser específica y no era inducida por las auxinas.

Skoog y colaboradores señalaron un hecho muy interesante: la médula de tabaco sólo crecía activamente por división celular si se la colocaba en contacto con secciones de tejido vascular de la misma especie. Luego observaron que la leche de coco y el extracto de malta inducían la misma acción. Lo mismo ocurrió con un producto de degradación del ADN de esperma de arenque esterilizado en autoclave, al que denominaron cinetina, cuyo nombre deriva del hecho de activar la citocinesis. En 1955, Miller determinó la composición química de este regulador, que resultó ser un derivado de la adenina: la N⁶-furfurilaminopurina o N⁶-furfuriladenina.

Durante muchos años se intentó aislar citocininas naturales, en particular a partir de la leche de coco, en la cual se señaló la presencia de varios compuestos, entre ellos auxina, mioinositol y difenilurea. Ninguno de éstos mostró actividad en la proliferación de la médula de tabaco. Sólo la difenilurea ejerció alguna acción, muy inferior a la producida por la cinetina.

Otros extractos vegetales, particularmente los obtenidos de semillas inmaduras y pequeños frutos, mostraron

contener sustancias de acción similar a aquélla. Corría ya el año 1964 cuando Letham aisló e identificó la primera citocinina endógena de extractos de cariopsis inmaduros de maíz y, debido a su procedencia, le dio el nombre de zeatina, la que también resultó ser un derivado de la adenina por sustitución en la posición N⁶. Químicamente, la zeatina es N⁶ 4-hidroxi-3-metil-butenil-aminopurina. El rendimiento resultó ser extremadamente bajo: 0,7 mg de producto activo contenido en 60 kg de material. También se la halló en forma de ribosilzeatina.

Posteriormente se demostró que esta citocinina endógena no era específica del maíz, pues también se la aisló de frutos jóvenes de ciruelo, cerezo y cip-selas inmaduras de girasol. Asimismo, el principio activo de la leche de coco resultó ser un ribósido de zeatina. En las semillas inmaduras de lupino amarillo se ha aislado otra forma de la misma citocinina, la dehidroxizeatina. Existen, además, otras citocininas endógenas. La isopenteniladenina es el principio activo por el cual la bacteria *Corynebacterium fascians* produce fenómenos de fasciación y formación de yemas adventicias en algunos árboles. También forma parte de un tipo de ARN de transferencia de levadura. La metiladenina es otra citocinina producida por aquel agente patógeno, aunque posee poca actividad como tal. Es frecuente encontrarla formando parte de otros ARNs o relacionada con ellos.

Por último debe citarse a la triacantina (γ , γ dimetil-alil-aminopurina), isómero de la isopenteniladenina, que fue aislada de hojas jóvenes de *Gleditsia triacanthos*. De por sí es inactiva, pero muestra actividad luego de sometida a tratamiento en autoclave. Es posible que en la planta se active enzimáticamente.

Numerosos tejidos poseen sustancias del tipo de las citocininas, de fuerte actividad en las pruebas biológicas. La alta capacidad de crecimiento de los tejidos tumorales de la "agalla de co-

rona", que frecuentemente se producen en *Vinca rosea*, se debe a la presencia de dos citocininas aún no determinadas químicamente.

Paralelamente, otros líquidos endospermicos poseen fuerte actividad citocínica. Trione y sus colaboradores (1971) demostraron la presencia de sustancias de ese tipo en el jugo nuclear endospermico de semillas en crecimiento de almendro y duraznero, de actividad semejante o superior a la de la leche de coco sobre el crecimiento de explantos de floema secundario de raíz de zanahoria.

La única sustancia natural, no emparentada con la adenina, que ejerce una actividad semejante a las citocininas, es el ácido traumático (ácido 1-deceno-1,10 dicarboxílico: $\text{COOH}-(\text{CH}_2)_8-\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$). La síntesis de este ácido alifático parece ser estimulada por heridas o lesiones que se producen en los tallos secundarios y ramas de muchos árboles. El ácido traumático estimularía la actividad de crecimiento de los tejidos de cicatrización que terminan por cubrir la herida. No sería improbable que su acción fuese indirecta y se produjera mediante la estimulación de la síntesis de citocininas endógenas.

Es interesante destacar el caso curioso del ácido giberélico, que se comporta como una citocinina en el parénquima amiláceo del tubérculo de papa cultivado *in vitro*. En efecto, el AG y la CIN no ejercen ninguna acción sobre la proliferación celular de ese tejido. Sin embargo, en presencia de auxina (2,4-D) estimulan, por separado, la diferenciación de un cámbium y, a partir de éste, la formación de áreas cribo-traqueidales que a veces se organizan en raicillas. La modalidad y calidad histológicas provocadas por ambos reguladores son idénticas.

Actualmente se conocen numerosas citocininas sintéticas. Aparte de la cinetina, las más comunes son la benziladenina (6-benzilaminopurina); la NPG (N[*purin-6-il*] fenilglicina); la SD 8339 (6 benzilamino-9-tetrahidroxi-

piran-2il]-9H-purina). Ambas rompen la dominancia apical en el manzano. La BTP(6-[benzilamino]-9-[2 tetrahidrofuranil]-9H-purina) se utiliza para aumentar el "cuaje" de racimos de vid.

Centros de síntesis. Las citocininas endógenas se sintetizan principalmente en las raíces de muchas especies (rabanito, maíz, girasol, vid, etcétera) y migran hacia los ápices a través del xilema, posiblemente bajo la forma de nucleósidos y nucleótidos. También parecen sintetizarse en el cámbium en actividad y en hojas, semillas, frutos y tubérculos en activo crecimiento.

ESTRUCTURA MOLECULAR Y ACTIVIDAD CITOCINICA

Como se ha señalado precedentemente, las citocininas son derivados de adenina sustituidos en el N⁶ de la molécula. La actividad biológica parece depender de:

- presencia de un anillo purínico intacto de alta especificidad (adenina);
- existencia de una cadena lateral en aquella posición, de tamaño moderado y de carácter no polar.

La actividad de las citocininas aumenta con el incremento del largo de dicha cadena hasta un óptimo estimado de cinco carbonos.

BIOSINTESIS Y DEGRADACION DE LAS CITOCININAS

Contrariamente a lo que ocurre con las auxinas y giberelinas, se desconoce casi por completo cómo se sintetizan las citocininas. También se desconoce la existencia de sistemas de degradación endógenos. Sin embargo, se admite la posibilidad de que algunas de ellas se liberen como consecuencia de la degradación de ciertos ARNt a los que a veces parecen estar ligadas.

TRASLADO DE CITOCININAS

Muy poco se sabe acerca del mecanismo del transporte de las citocininas, aun cuando recientemente se ha demostrado que las sintetizadas en los ápices radicales o en sus proximidades migran vía xilema hacia los ejes caulinares.

En las estacas de la vid, los racimos jóvenes se atrofia si la brotación precede a la formación de raíces, pero ello no ocurre si los brotes son tratados con cinetina. De la misma forma crecen normalmente si las estacas enraizan antes de brotar. Se supone que en este último caso actúan citocininas endógenas que proceden de las raíces de la vid, según se ha demostrado recientemente.

Aplicadas a las hojas, las citocininas demuestran una acción local debido a que prácticamente no se trasladan. En ese sentido debe recordarse que, para romper la dominancia apical, las citocininas deben aplicarse en la misma base de las yemas.

EXTRACCION, SEPARACION Y EVALUACION DE LAS CITOCININAS

La extracción se efectúa con solventes, preferentemente alcohol, y aun con agua. La purificación de los extractos se realiza mediante adsorción en resinas de intercambio o en carbón activado, a partir de las soluciones acuosas. La elución se practica con metanol o con dietilamina.

Convenientemente concentrados, los extractos se cromatografían y posteriormente se procesan mediante técnicas similares a las descritas para las auxinas y giberelinas.

PRUEBAS BIOLÓGICAS

Ciertas pruebas biológicas de evaluación de la actividad de las citocininas se basan en la inducción de la multipli-

cación celular en médula de tabaco, cotiledones de soja y floema secundario de zanahoria. En este último caso, la sensibilidad oscila alrededor de 0,1 µg/l de extracto.

Las pruebas consisten en "sembrar" explantos calibrados en medios nutri-

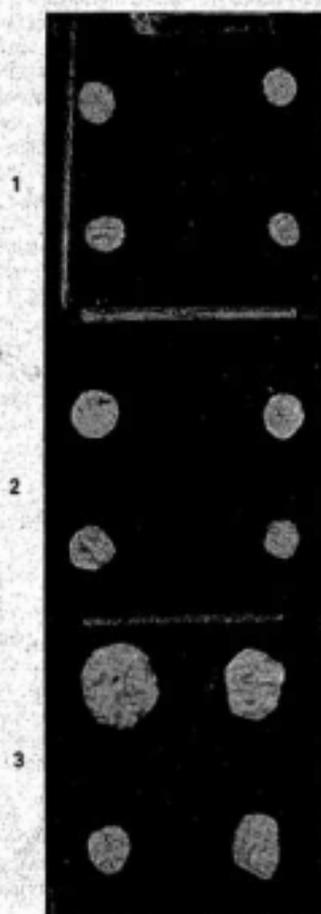


Figura 194. Efecto de la cinetina (2) y de las citocininas endógenas (3) extraídas de tubérculos de papa en crecimiento activo, sobre la proliferación de "explantos" de floema de zanahoria cultivados en medios líquidos. La fotografía 1 corresponde al testigo crecido en el mismo medio sin citocinina. (Tizío y Biais, 1973.)

tivos que contienen auxinas y alícuotas de extracto. El crecimiento de los explantos abarca aproximadamente un período de 21 días (figura 194)

Otras pruebas biológicas se basan en:

- a) El retardo de la senescencia de los discos foliares y láminas de plántulas de trigo o de avena;
- b) pruebas de germinación de ciertas semillas fotosensibles.

Otros fenómenos fisiológicos controlados por las citocininas

Nitsch (1968) agrupa en tres categorías los efectos fisiológicos que causan las citocininas:

a) los ligados a la división celular, en los que aparentemente está involucrada la participación de cierto tipo de ADN (mitosis y citocinesis);

b) los no ligados a la división celular, que implican la promoción de la síntesis proteica o que, en algunos casos, se fundan en ella (p. ej. el retardo de la senescencia foliar);

c) los ligados a la diferenciación de yemas, en los que las citocininas desempeñan un papel preponderante.

La participación de las citocininas en las categorías a) y c) de fenómenos fisiológicos ya ha sido analizada al estudiar los fenómenos de correlación pertinentes.

RETARDO DE LA SENESCENCIA FOLIAR

La aplicación de citocininas sobre hojas adultas o separadas de la planta retarda el envejecimiento impidiendo el amarillamiento (clorosis) de esos órganos. El fenómeno implica el mantenimiento de un ritmo fotosintético adecuado por prevención de la degradación de la clorofila. También se halla íntimamente conectado con la estimulación de

la síntesis proteica en las áreas tratadas, hecho que equilibra o previene los fenómenos de degradación de proteínas que caracterizan al período de la senescencia. De esa manera retardan, paralelamente, la abscisión del órgano.

Las citocininas actuarían como "centros de atracción" o "sumideros" metabólicos mediante la fuerza movilizante que ejercen sobre muchos metabolitos y nutrientes. Se ha demostrado que las citocininas estimulan la acumulación de P^{32} y de aminoácidos en las áreas de aplicación, y que ello determina un aumento en el ritmo de síntesis de ácidos nucleicos y de proteínas. El efecto se acentúa en presencia de auxinas y giberelinas.

De la misma manera, parecen controlar la acumulación de reservas hidrocarbonadas en órganos de reserva, como los tubérculos de la papa, cuyo contenido en citocininas se correlaciona con el ritmo de acumulación de almidón en sus tejidos.

La aceleración del envejecimiento foliar que a menudo se observa en las plantas durante el crecimiento de sus frutos y órganos de reserva tendría su base fisiológica en los hechos apuntados. Los altos contenidos de citocininas en las semillas en crecimiento actuarían como centros activos de acumulación de los nutrientes y compuestos orgánicos necesarios para el crecimiento de los frutos. Ello originaría un déficit en la nutrición por competencia en el nivel foliar, con lo cual se provoca la aceleración de la senescencia.

Ciertos factores ambientales acelerarían la senescencia de las plantas por medio de un mecanismo similar, al reducir la síntesis de citocininas o el aporte de éstas desde las raíces. Se ha comprobado que el exceso en contenido salino de ciertos suelos y el stress hídrico que en algunas circunstancias manifiestan, contribuyen a reducir el suministro de citocininas desde el sistema radical. Las hojas separadas de plantas en estado de déficit hídrico envejecen antes que las de plantas hidratadas nor-

malmente. La aplicación de citocininas revierte parcialmente el fenómeno. Asimismo, la senescencia prematura que manifiestan las plantas de girasol en suelos inundados, se relaciona con un menor abastecimiento de citocininas por parte de las raíces.

La propiedad que poseen las citocininas de retardar la senescencia ha sido utilizada desde el punto de vista agronómico. El tratamiento con benziladenina de plantas cortadas de lechuga y de "cabezas" de repollo, coliflor y brécol determina una moderada prolongación del valor comercial de esas especies hortícolas.

AGRANDAMIENTO CELULAR

Las citocininas también estimulan el agrandamiento celular en los discos foliares de numerosas especies (tabaco, maíz, girasol, topinambur, papa, arvejas, repollo y espinaca). El fenómeno ha sido utilizado para elaborar una técnica de medición de la actividad de las citocininas en extractos vegetales. Se desconoce cuál es el mecanismo que interviene en la manifestación del fenómeno.

DIFERENCIACION HISTOLOGICA

La ruptura de la dominancia apical de las yemas tratadas con citocininas se basa en el establecimiento de la conexión vascular que estas fitohormonas parecen estimular entre aquéllas y el eje caulinar. En forma similar, las citocininas, en conexión con las auxinas, inducen la diferenciación vascular en explantos del primer entrenudo de plántulas de poroto. Ello llevaría a pensar que los diferentes grados de diferenciación vascular que se observan a lo largo de los ejes caulinares de plantas intactas, podría ser la resultante de balances de concentración o gradientes entre las auxinas sintetizadas en los ápices caulinares y las citocininas procedentes de las raíces.

EFFECTOS SOBRE LA SELECTIVIDAD DE LAS MEMBRANAS CELULARES

Hay pruebas experimentales recientes que indican que las citocininas ejercen marcados efectos sobre la selectividad de las membranas en relación con la incorporación de ciertos cationes. Los discos foliares y los cotiledones de girasol muestran cambios en la incorporación relativa de K^+ en relación con el Na^+ , como consecuencia del suministro de cinetina. Efectos similares se ejercen sobre la incorporación de otros iones (Rb , Li , NH_4).

Citocininas y plantas inferiores

Las citocininas también estimulan la diferenciación de yemas en los protonemas de ciertos musgos (*Pohlia nutans*; *Tortella caespitosa*). Como en las plantas superiores, la acción es específica.

Clostridium thermocellum es una bacteria que crece en medios celulósicos si a éstos se les adiciona extracto de levadura. La acción de este complejo puede reemplazarse con cinetina en muy bajas concentraciones ($1 \mu g/l$).

En general, las citocininas estimulan el crecimiento de ciertas estreptomicas, hecho que redundará en mayores rendimientos en antibióticos. En otros hongos, como *Neurospora crassa*, las citocininas estimulan la formación de peritecios y ascosporos en razas normalmente estériles. En fin, ciertas algas de los géneros *Acetabularia* y *Porphyra*, muestran una promoción del crecimiento en presencia de estas fitohormonas.

Modo de acción de las citocininas

El conocimiento acerca del modo de acción de las citocininas es muy fragmentario. No obstante, al parecer se verifica de manera similar al de las auxinas y giberelinas, es decir a través de la

síntesis de ácidos nucleicos y proteínas. Por lo demás, el modo de acción parece tener relación con ciertos ARNt, de los cuales forma parte o con los cuales se une. Así por ejemplo, se observó que la isopenteniladenina se halla en una posición adyacente al triplete de bases que forman el anticodón del ARNt, cuya función implicaría posibilitar su unión al ARN ribosómico. Asimismo, se demostró la unión preferencial de la benciladenina a ciertos ARNt.

La zantina, bajo forma de ribósido, se aisló de ARNt para serina, isoleucina y tirosina, pero no en los que corresponden a arginina, glicina o valina. Provisionalmente se piensa que la relación de ciertas citocininas con determinados ARNt podría tener importancia biológica en la regulación de la secuencia y la calidad de los aminoácidos, en la cadena de polipéptidos, durante la síntesis proteica.

ETILENO

Introducción

El etileno producido por diversos tejidos vegetales es un metabolito normal que interviene en la regulación de numerosos procesos fisiológicos (abscisión, maduración de frutos, floración de algunas especies, ruptura de la dominancia apical, inhibición de la expansión foliar, etcétera). Este gas posee una serie de propiedades que permiten considerarlo, en la actualidad, como un regulador endógeno normal de crecimiento. No sólo influye en mayor o menor medida en los fenómenos fisiológicos antes citados, sino que ejerce su acción en cantidades relativamente pequeñas. Actúa por simple difusión, por lo que no requiere un transporte dirigido o activado a través de la célula o del sistema vascular. Además parece actuar a través de la regulación de la inducción de la síntesis de ciertas enzimas, de manera similar a las auxinas, giberelinas y citocininas.

Biosíntesis del etileno

En las plantas superiores, la metionina parece constituir el precursor principal de la síntesis de etileno. La incorporación del aminoácido marcado y su derivado cetónico (ácido ceto- α metil- γ -tiobutírico) a los tejidos de los frutos del manzano y el palto se relaciona, en condiciones de aerobiosis, con un aumento significativo de la producción de etileno radiactivo. Además, se ha demostrado que el esqueleto carbonoso del regulador proviene de los carbonos 3 y 4 de la metionina.

Relaciones entre la actividad auxínica y la acción del etileno

La incidencia de las auxinas sobre ciertos fenómenos fisiológicos (abscisión, inducción de floración en el ananás, enraizamiento, estimulación de la epinastia en hojas y pétalos, etcétera), se relaciona con aumentos en la producción de etileno. Este metabolito sería el causante directo, mientras que las auxinas actuarían indirectamente, mediante la inducción de la síntesis de las enzimas que intervienen en la producción del gas.

Es interesante destacar que, en ciertos casos, el etileno estimula el enraizamiento en forma similar a las auxinas, es decir, mediante la inducción de la multiplicación celular en la región cambial y la posterior diferenciación de primordios radicales.

Efectos fisiológicos inducidos por el etileno

El fenómeno de abscisión, en relación con la participación del etileno, ya ha sido analizado en la parte de "Fenómenos de correlación".

MADURACION Y SENESCENCIA DE FRUTOS

La maduración natural de muchos frutos y los procesos de senescencia que luego experimentan (posmaduración), se relacionan con un aumento considerable de la producción de etileno en esos mismos órganos.

Se ha demostrado que el regulador, mediante procesos de autocatálisis aún no bien dilucidados, estimula el aumento progresivo de la actividad respiratoria hasta alcanzar un nivel máximo (climaterico). La consiguiente disponibilidad de ATP es un requisito indispensable para que el etileno active o estimule la síntesis de las enzimas hidrolíticas (invertasa, α amilasa, proteasas, pectinasa, celulasa, etcétera) necesarias para la pectinización de las laminillas medias y el ablandamiento de las paredes celulares e hidrólisis del almidón, en el nivel de los parénquimas del fruto. El etileno parece actuar a través de la estimulación de la síntesis de ARNm, de manera similar a la que se expuso al analizar el mecanismo regulador del fenómeno de abscisión.

CRECIMIENTO CAULINAR

En bajas concentraciones, el etileno estimula el crecimiento del mesocótilo de las plántulas de avena y arroz colocadas en condiciones de oscuridad. Análogamente, ciertas manifestaciones del crecimiento caulinar en oscuridad ("ahilamiento") se relacionan con la producción del metabolito. Algunos autores sostienen que la estimulación del alargamiento de los tallos en la oscuridad se debe a la acción inhibitoria que el etileno ejercería sobre la actividad de la indolacético-oxidasa.

El mantenimiento del "gancho plumular" en el ápice de los tallos ahilados y en los que crecen en el suelo luego

de la germinación, se debe a la acción de este regulador, lo mismo que la inhibición concomitante de la expansión foliar en aquel órgano. La apertura, que implica el enderezamiento del eje caulinar acompañado de expansión foliar, se relaciona con una disminución importante de la producción de etileno. El fenómeno es controlado por la luz, probablemente a través de la acción del fitocromo.

EFFECTOS SOBRE TROPISMOS Y NASTISMOS

El etileno también parece intervenir en el control del hábito de crecimiento diageotrópico con inhibición de la expansión foliar que caracteriza a los estolones de ciertas especies (papa, frutilla, *Cynodon dactylon*, etcétera).

El regulador también inhibe los movimientos de mutación de los ejes caulinares, posiblemente a través de la detención de la migración lateral de auxina.

La pérdida de sensibilidad a la acción de la gravedad y a la de la luz unilateral (geo y fototropismos) que muestran ciertos tallos por acción del etileno, también se debe a las interferencias que el regulador produce sobre la migración lateral de la auxina.

En forma análoga, el fenómeno de epinastia foliar parece depender de la inhibición de la migración de la fitohormona desde el lado superior hacia el lado inferior de los pecíolos. La auxina acumulada provocaría el agrandamiento celular en la primera de las caras, determinando la manifestación del fenómeno.

El etileno también provoca la apertura prematura de muchas flores, las que de este modo resultan pequeñas y poco coloreadas. El fenómeno se produce, como en las flores normales, por estimulación de la epinastia en los pétalos, quizás a través de un mecanismo similar al descrito anteriormente.

Ciertas sustancias, como el Ethrel (ácido 2-cloroetano fosfónico) ($\text{Cl-CH}_2\text{-CH}_2\text{-P(OH)}_2$), son capaces de liberar etileno cuando el pH de la solución aumenta como consecuencia del contacto con tejidos vegetales. De esa manera, el compuesto es capaz de inducir abscisión, promover la floración en el ananá y otras bromeliáceas ornamentales, y remover la dominancia apical, con las consiguientes aplicaciones agronómicas que más adelante se analizarán.

INHIBIDORES

Introducción

Se ha definido a los inhibidores como aquellos reguladores naturales, de variada composición química, que normalmente contribuyen a la regulación y periodicidad del crecimiento, contrarrestando total o parcialmente, y en forma no competitiva, la acción de las auxinas, giberelinas y citocininas.

La acción de los inhibidores puede tener lugar en varios momentos o etapas de la acción de aquellas fitohormonas, usualmente en el nivel enzimático y más raramente en los sitios de acción. En la mayoría de los casos se requieren concentraciones relativamente altas para contrarrestar por completo la acción hormonal.

Algunos de ellos poseen caracteres de verdaderas hormonas, como el ácido abscísico, que parece actuar a distancia y ejercer su acción en dosis relativamente bajas.

Las sustancias de acción inhibidora comprenden los siguientes grupos:

- 1) *Compuestos de naturaleza fenólica:*
 - a) *Serie del ácido benzoico:* ácidos salicílico, benzoico, p-hidroxibenzoico y gálico.
 - b) *Serie del ácido cinámico:* ácidos ciscinámico y trans-

cinámico; p-cumárico, ferúlico y cafeico.

- c) *Derivados flavonoides*: naringenina, quercetina.
 - d) *Lactonas no saturadas*: cumarina, aesculina, escopoletina.
- 2) *Sustancias tipo abscisinas*: ácidos abscísico (ABA), faseico, lunulárico, xantoxina.
 - 3) *Complejos inhibidores*: complejo inhibidor β .

Hasta fines de la década del 40, los inhibidores eran considerados compuestos de naturaleza generalmente tóxica, sin ninguna significación fisiológica.

El concepto comenzó a cambiar gradualmente a partir de los trabajos realizados por Hemberg sobre la presencia y evolución de una sustancia o complejo inhibidor, de naturaleza ácida, en las yemas de tubérculos de papa. Dicho investigador encontró una estrecha correlación entre la presencia del inhibidor y el estado de dormición de las yemas. La desaparición relativamente rápida del complejo y la aparición de la actividad auxínica coincidían invariablemente con la ruptura de dicho estado y la brotación ulterior de los tubérculos. Hemberg insistió en señalar la importancia fisiológica de ese complejo respecto de la regulación de los fenómenos descritos.

Posteriormente se señaló la presencia del mismo complejo inhibidor en yemas y semillas de numerosas especies, y Bennet-Clark y Kefford (1953), lo denominaron complejo inhibidor β .

Con anterioridad, Bonner y Galston (1940) habían señalado las propiedades fuertemente inhibidoras de los derivados del ácido cinámico, en particular las de la forma *trans* de este compuesto.

Propiedades comunes de los inhibidores

Es necesario señalar que a pesar de la composición química diferente que

muestran la gran mayoría de los inhibidores poseen una serie de propiedades y actividades fisiológicas comunes. Las más notables son las siguientes:

- a) aumento gradual de los niveles de casi todos ellos durante los períodos de depresión o inhibición del crecimiento;
- b) inhibición del crecimiento en diferentes tejidos y órganos aislados (floema secundario de la raíz de la zanahoria cultivado *in vitro*, secciones de coleóptilos e internodales de arveja, etcétera);
- c) carencia de una acción antifito-hormónica específica; inducción de fenómenos de antagonismo, en relación con la acción de las auxinas, giberelinas, y aun de las citocininas;
- d) capacidad de muchos de ellos de acumularse en yemas y semillas durante el período de dormición, y en órganos durante el período de senescencia;
- e) desaparición más o menos rápida, inmediatamente antes de la brotación y germinación de yemas y semillas;
- f) incapacidad de inducir fenómenos de morfogénesis *per se* ni en relación con la acción de las auxinas y citocininas.

La carencia de especificidad de acción es una de las características más salientes de los inhibidores. Por ejemplo, los aislados de frutos de *Beta vulgaris* inhiben la germinación de 28 especies pertenecientes a 14 familias diferentes. Asimismo, el jugo placentario de las bayas de tomate inhibe la germinación de los cariopsis de trigo, avena, cebada y maíz, y de las semillas de *Sinapis alba*, zanahoria, lechuga, poroto y girasol. En este caso, el principio inhibidor parece estar constituido por una mezcla de ácido ferúlico y de ABA.

Por otra parte, la inhibición impuesta por muchos de ellos sobre el crecimiento de secciones de órganos (coleóptilos, entrenudos de arveja, hipocótilos de girasol) y sobre la germinación de muchas semillas, no es irreversible ni provoca fenómenos de toxicidad. Las secciones pueden volver a crecer normal-

mente en presencia de la auxina, y las semillas germinar, luego de la remoción de dichos factores. Además, la acción inhibidora puede ser total o parcialmente contrarrestada por las auxinas en el primer caso (crecimiento de secciones), y por las giberelinas y las citoquininas en el segundo (inhibición de la germinación).

Compuestos de naturaleza fenólica

Los compuestos monofenólicos —como los ácidos salicílico y p-hidroxibenzoico— parecen frenar el crecimiento por medio de la estimulación de la indolacético-oxidasa. Debe recordarse que los monofenoles son factores indispensables de la acción del complejo enzimático, por su capacidad de posibilitar la oxidación del AIA vía quinonas y catión Mn^{+++} .

Por otra parte, parecen capaces de deprimir la síntesis de compuestos indólicos e intermediarios de AIA a partir del triptófano, como lo hacen en segmentos caulinares ahilados de arveja, maíz y repollo.

Los ácidos monofenólicos son potentes inhibidores de la germinación de muchas semillas y del enraizamiento de las estacas. La acción parece ejercerse a través del bloqueo de la síntesis de ATP en la fosforilación oxidativa. También parecen interferir la división celular (mitosis).

Los compuestos difenólicos de la serie del ácido cinámico se encuentran en las plantas, generalmente en forma de ésteres glucosídicos o pepsídicos, como el éster químico del ácido cafeico (ácido clorogénico).

Se caracterizan por actuar como auxinas débiles en la forma *cis* (ácido *cis*-cinámico). Además, en ciertas concentraciones pueden estimular el crecimiento al frenar la degradación del AIA, probablemente por transformación en semiquinonas, las que inhibirían la acción de las peroxidases de la indolacético-oxidasa.

En ciertos casos parecen contribuir a la regulación de fenómenos fisiológicos, como en la tuberización de estacas foliosas y secciones de brotes de tubérculos de papa cultivadas *in vitro*. Los ácidos cafeico, ferúlico y p-cumárico refuerzan la acción retardante que ciertas giberelinas ejercen sobre el fenómeno. No obstante, cuando la concentración de la fitohormona disminuye por debajo de cierto límite, el efecto sinérgico se transforma en parcialmente antagónico, provocando adelantos de la tuberización en relación con la de las estacas tratadas sólo con las giberelinas.

El fenómeno parece tener significación biológica, pues en la planta entera la concentración de giberelinas endógenas disminuye y la de ácido cafeico y quercetina aumenta en el follaje, a medida que el ciclo vegetativo evoluciona hacia la tuberización.

Las lactonas no saturadas —como la cumarina, aesculina, escopoletina, anemonina, juglona y umbeliferona— son también potentes inhibidores de la germinación. Algunas de ellas, como la cumarina, inhiben el enraizamiento de las estacas y aparentemente son capaces de reinducir la dormición en los tubérculos de papa. Análogamente inhiben el alargamiento radical por inhibición de la división y alargamiento celulares. Son frecuentes en frutos carnosos maduros y posiblemente constituyan, junto con algunas abscisinas, los factores de inhibición de la germinación de las semillas contenidas en ellos.

Ciertos flavonoides, como la naringenina, parecen responsables del estado de dormición de las yemas de ciertas especies (duraznero). Parecen ejercer su acción inhibiendo la síntesis de ciertas enzimas hidrolíticas, como ocurre con la α amilasa en la capa aleuronifera del endosperma de los cariopsis de la cebada.

La quercetina, contenida naturalmente en el follaje de la papa, ejerce una acción muy curiosa sobre los tubérculos formados sobre brotes cultivados *in vitro*. En efecto, aunque no influye en la tuberización, impide que

los tubérculos entren en estado de dormición. Ello posibilita una brotación inmediata que, en la mayoría de los casos, se traduce en una segunda tuberización y así sucesivamente, hasta dar lugar a la formación de tubérculos "hijos", "nietos", etcétera, en cadena.

Abscisinas

1) ACIDO ABCISCICO (ABA)

Cornforth y sus colaboradores (1965) aislaron una sustancia de las yemas durmientes de *Acer pseudoplatanus*, aparentemente responsable de la entrada en dormición de dichos órganos, a la cual denominaron "dormina". Casi simultáneamente, Addicott y sus colaboradores (1965) extrajeron de cápsulas jóvenes de algodónero una sustancia que llamaron "abscisina II", debido a su propiedad de inducir la abscisión en los pedúnculos y frutos jóvenes de la misma planta. Investigaciones posteriores demostraron que ambas sustancias son idénticas al comparar sus respectivos pesos moleculares, espectro de infrarrojo y puntos de fusión, y se acordó denominarlas con el nombre común de ácido abscísico (ABA). Químicamente, el ABA es el ácido 3-metil-5-(1'-hidroxi-4'-oxo-2',6',6'-trimetil-2'-ciclohexeno-1'- β -il)cis, trans-2,4-pentadienoico.

También se demostró que la presencia de ABA no se limitaba sólo a esas dos especies, sino que también se halla en las hojas, tallos, yemas, tubérculos, rizomas, frutos, semillas y aun en el polen de numerosas especies (lupino, *Dioscorea*, arveja, papa, fresa, abedul, *Ribes*, *Rosa*, tomate, etcétera). En los tubérculos durmientes de *Dioscorea batatas*, el ABA se encuentra en cantidades próximas a los 5,5 mg por cada 340 kg de material.

Si bien se ha establecido una correlación directa entre los aumentos de la concentración de ABA y la entrada en dormición de las yemas y semillas, esa

concentración es también frecuentemente alta en órganos en activo crecimiento, como en flores y frutos jóvenes, infrutescencias de hinojo y frutilla, follaje joven de papa, escapos florales de *Taraxacum*, hojas de abedul, tallos y ápices jóvenes de álamo, etcétera.

La existencia de ABA en tales órganos es motivo de extrañeza para muchos autores, que consideran contradictorio el fenómeno. Sin embargo, el ABA en esas condiciones siempre aparece acompañado por cantidades relativamente elevadas de auxinas, giberelinas y citocininas, responsables de la actividad de crecimiento. Como se verá más adelante, la existencia y probable síntesis del inhibidor en el follaje parece tener un papel preparatorio de ciertos fenómenos de dormición que posteriormente ocurren en las yemas de los ejes caulinares y de los órganos de reserva. Por otra parte, el hecho de la presencia de ABA en órganos jóvenes y viejos descarta la posibilidad de que sea un producto de degradación.

Biosíntesis y degradación

La síntesis de ABA puede ocurrir por dos vías: a) vía isoprenoide; b) vía precursores, como la violaxantina, carotenoide de ocurrencia muy difundida en las plantas superiores.

Las pruebas experimentales recientes indican que el ABA y las giberelinas provienen de un precursor común: el ácido mevalónico. Al parecer es así porque, en general, la concentración de la abscisina aumenta cuando disminuye la de las giberelinas y viceversa.

El destino ulterior a partir del mevalonato dependería de factores ambientales, particularmente del largo del día y de las temperaturas. En efecto, el acortamiento del fotoperiodo como factor inductor de la entrada en dormición de las yemas de diversas especies caducifolias determina un aumento de la concentración de ABA en el follaje,

mientras que el alargamiento del día o el frío invernal estimulan la síntesis de giberelinas endógenas que luego coincide con la reiniciación del crecimiento (brotación, germinación de ciertas semillas). El control del mecanismo expuesto sería mediado a través del pigmento fitocromo según el siguiente esquema:



Los efectos pasajeros del ABA aplicado exógenamente, y la necesidad de un aporte continuo para que ejerza acción sobre la reinducción de la dormición de ciertas yemas, sugiere que los tejidos poseen capacidad para inactivarlo o metabolizarlo a sustancias menos activas, como por ejemplo el ácido 2-trans-abcísico, ácido faseico y un glucósido abcísil.

Traslado

La presencia en extractos de frutos y yemas y la desaparición concomitante del follaje, sugiere que el ABA es rápidamente transportado en algunas plantas (arce, abedul). Por otra parte, la aceleración de la abscisión de los peciolo, cuando se lo aplica en las porciones distales de éstos, evidencia acción a distancia por efecto del transporte. Además, ha sido encontrado en la corriente xilemática y floemática de algunas especies.

Efectos fisiológicos del ABA

Inhibición de la germinación y de la brotación de las yemas. En muchos casos, el ABA determina la inhibición de la germinación de las semillas y de

la brotación de las yemas de los ejes y secciones caulinares. En algunos casos no sólo inhibe aquellas manifestaciones, sino que puede provocar la reinducción del estado de dormición.

El ABA es particularmente activo para inhibir la germinación de las semillas de numerosas rosáceas (rosa, duraznero, manzano, peral) y gramíneas. En general, existe una estrecha correlación entre el contenido de ABA endógeno y la inhibición de la germinación.

En las plántulas tratadas de duraznero, el mismo inhibidor induce el hábito en roseta, con entrenudos muy cortos y gruesos. El fenómeno es similar al que naturalmente se produce en las plántulas provenientes de semillas inadecuadamente estratificadas. La remoción parcial de ABA endógeno por insuficiencia de frío o de un período de exposición adecuado sería la causa de tal comportamiento. El AG revierte por completo el fenómeno dando lugar a plántulas de hábito de crecimiento normal.

Abscisión de frutos. Si bien ya hemos proporcionado algunos datos acerca de la participación del ABA en la inducción de la abscisión de los frutos jóvenes del algodón, se considera útil dar referencias complementarias.

Se ha observado una estrecha correlación entre la presencia de ABA endógeno y la intensidad de este fenómeno. La concentración del inhibidor es relativamente alta desde la antesis hasta los 5 ó 10 días posteriores a la fecundación, y se correlaciona con porcentajes importantes de abscisión natural. Luego, la concentración disminuye entre los 20 y 30 días, para luego aumentar nuevamente a partir de los 40 ó 45 días de edad de los frutos. Este último aumento coincide con la iniciación del período de senescencia y de dehiscencia del fruto. Los órganos senescentes y en vías de desprenderse de la planta contienen una cantidad de ABA dos o cuatro veces mayor que la de los normales en crecimiento.

La acción del ABA parece centrarse en la estimulación de las divisiones celulares y las lisis de las laminillas medias y constituyentes de las paredes celulares, en el nivel de la zona de abscisión. Es probable que la acción del ABA se produzca por intermedio de la estimulación de la síntesis de etileno, como sucede en los frutos en avanzado estado de maduración. El etileno estimularía la síntesis *de novo* de las pectinasas y, probablemente, de las celulasas y proteasas.

Inhibición de la floración. El ABA parece intervenir también en el mecanismo de floración de algunas plantas. La aplicación del inhibidor al follaje de *Lolium temulentum* y de *Spinacia oleacea*, expuestas a días largos inductivos, inhibe la floración. La aplicación es más efectiva cuando se realiza a partir de la 11^a hasta la 24^a hora de comenzado el tratamiento fotoperiódico. Dicho período coincide con el tiempo que tarda el estímulo en alcanzar el ápice.

La acción del inhibidor parece relacionarse con su presencia en las hojas de las plantas de días largos, crecidas en condiciones inhibitorias de día corto para la floración. En ese sentido debe recordarse que las plantas de días largos no poseen un período verdaderamente inductivo para la floración, sino que pueden hacerlo cualesquiera que sean las condiciones, siempre que el largo del período oscuro no exceda un límite crítico máximo. La síntesis del inhibidor ocurriría durante el período oscuro ininterrumpido.

El ABA promueve la floración de algunas plantas de día corto (*Pharbitis nil*; *Ribes nigrum*; *Chenopodium rubrum*) bajo condiciones no inductivas de día largo. No obstante, no ejerce el mismo efecto en otras especies de la misma categoría fotoperiódica. En este caso, la acción promotora del ABA no parece ser específica, sino que sería una consecuencia de la restricción del crecimiento.

Senescencia y maduración de frutos. El contenido de ABA aumenta considerablemente en los frutos del manzano, el peral y la frutilla a medida que el proceso de maduración avanza. Se considera que el inhibidor se sintetiza en el follaje y luego se transporta hacia aquellos órganos. La acumulación de ABA se relaciona con la evolución de la senescencia, probablemente a través de la estimulación de la síntesis de etileno.

De la misma manera, el ABA acelera la senescencia de los discos foliares y hojas separadas de la planta. El efecto es contrarrestado por las citocininas, cuyo papel en el retardo del fenómeno ha sido ya analizado.

Regulación del mecanismo estomático. Influencia del "stress" hídrico. La probable participación de las abscisinas y las citocininas en la regulación del mecanismo estomático ha provocado un cambio significativo en el enfoque de ese fenómeno. En *Commelina communis* y en *Xanthium pennsylvanicum*, el ABA en bajas concentraciones estimula el cierre de los estomas. En la última de las especies mencionadas, la persistencia de la acción del ABA dura aproximadamente 9 días. El fenómeno no se debe al aumento de la concentración de CO₂ intracelular.

Aunque el aporte experimental es aún relativamente escaso, se piensa que el ABA podría intervenir en el control del fenómeno, probablemente a través de la inhibición de las reacciones que conducen al aumento de la turgencia determinante de la apertura estomática y a modificaciones en el ritmo del transporte activo de cationes. Las citocininas, en cambio, estimulan la apertura estomática y el ritmo de la transpiración. Es posible que ambos reguladores intervengan en el control del mecanismo.

Por otra parte, las condiciones de sequía y stress hídrico, que determinan el cierre de los estomas, se relacionan con la aparición de ABA en las hojas de ciertas especies como la caña de azúcar.

El postefecto más característico del stress hídrico en la planta se manifiesta en los estomas, cuya apertura es parcial durante un período relativamente prolongado (varios días), aun después que la planta ha recuperado su turgencia normal. Algunos autores piensan que el stress provoca la acumulación de un inhibidor en las hojas. En ese sentido debe destacarse que las láminas foliares de trigo muestran un aumento considerable del contenido del complejo inhibidor β , luego de un período de marchitamiento. Además se considera que la supresión o disminución de ciertos procesos bioquímicos en el nivel foliar, por efecto del stress hídrico, se debe a un aumento de la concentración de ese complejo inhibidor.

De resultados de los fenómenos expuestos se piensa en la posibilidad de utilizar el ABA como antitranspirante en lugar de emplear otras sustancias de acción similar, como el acetato de fenilmercurio, que tiene el inconveniente de provocar una considerable disminución de la fotosíntesis y otros efectos nocivos.

Inhibición de la nodulación en las leguminosas. El ABA inhibe la formación de nódulos en las raicillas de la arveja sin alterar el crecimiento de los pelos absorbentes ni la infección por el *Rhizobium*. El fenómeno parece deberse a la inhibición de la división celular y a la supresión de la poliploidización de las células corticales.

Efectos bioquímicos: inhibición de la síntesis de α amilasa. El ABA también inhibe la síntesis de α amilasa y probablemente de otras enzimas hidrolíticas en la capa aleuronifera del endosperma de los cariopsis de cebada. Asimismo, contrarresta en forma no competitiva la acción estimulante que ejercen ciertas giberelinas sobre el mismo fenómeno. Dentro de ciertos límites, la cantidad de azúcares reductores liberados al medio es inversamente proporcional al lo-

garitmo de la concentración del inhibidor.

Modo de acción del ABA. Se ha demostrado que el ABA inhibe la síntesis de ARN ribosómico, en forma preferencial al ARN soluble. También se piensa que es probable que bloquee la síntesis de ADN específico, correspondiente a enzimas de tipo hidrolítico. Por otra parte, el mismo inhibidor reduce los niveles de giberelinas endógenas en las plántulas de maíz y en la espinaca en proceso de entallamiento.

XANTOXINA

La *xantoxina* es un inhibidor natural, de estructura química semejante al ABA. Su presencia ha sido demostrada recientemente en plántulas de poroto enano y de trigo. Este compuesto inhibe el crecimiento del hipocótilo de la lechuga y la germinación de las semillas de berro. La xantoxina se sintetiza *in vitro* por oxidación de ciertas xantofilas como la violaxantina, que también es un precursor del ABA.

3) ACIDOS LUNULARICO, FASEICO Y TEASPIRONA

Existen, además, otros compuestos naturales de acción similar. El *ácido lunularico* ha sido encontrado como inhibidor endógeno en especies de los órdenes de las *Marcantiales*, *Metzgeriales* y *Jungermaniales* (Pryce, 1971).

El *ácido faseico* es otro inhibidor endógeno que existe en los frutos del algodón. Es también un acelerador de la abscisión, aunque su actividad es diez veces más reducida que la del ABA.

Por último cabe citar a la *teaspirona*, abscisina aislada de las hojas del té. Dicha sustancia contribuye el gusto característico que éstas confieren a las infusiones.

Complejo inhibidor β

El complejo inhibidor β , aislado de los tejidos y órganos de numerosas especies, ejerce una serie de acciones fisiológicas semejantes a las que producen las abscisinas.

La técnica de extracción del complejo es la misma que se utiliza con las auxinas. Muy soluble en éter, se lo obtiene de fracciones ácidas. Cromatografiado en isopropanol: $\text{NH}_3:\text{H}_2\text{O}$, abarca un R_f entre 0,5 y 0,75 aproximadamente. Aunque su composición química no ha sido completamente dilucidada, existe amplia evidencia experimental de que el ABA es uno de los componentes principales, probablemente junto con el ácido salicílico y otros compuestos fenólicos.

Como en el caso del ABA, también se ha establecido una correlación directa entre el contenido de inhibidor β y la entrada en dormición de las yemas y semillas de numerosas especies (yemas de arce, fresno y álamo, peridermis de tubérculos durmientes de papa, frutos carnosos, semillas de hinojo, manzano, duraznero, etcétera).

La ruptura del estado de dormición también se relaciona con una disminución relativamente rápida y significativa de la concentración del complejo inhibidor y con un aumento concomitante de la actividad de las auxinas y giberelinas.

El inhibidor β parece contrarrestar la acción de las citocininas en la división celular. La estimulación que sobre el crecimiento de fragmentos de floema secundario de raíz de zanahoria causa la leche de coco, puede ser totalmente anulada por dicho inhibidor. El grado de antagonismo depende del balance de la concentración entre ambos factores de crecimiento.

Anteriormente se manifestó que el inhibidor β también se halla presente en tejidos y órganos en activo crecimiento, hecho aparentemente contradictorio respecto de la acción inhibidora de dicho complejo. Su presencia ha sido puesta de manifiesto en ápices caulinares en

crecimiento de álamo, flores y jóvenes frutos de hinojo, etcétera.

No obstante, el fenómeno podría tener significación biológica, de carácter preparatorio, en relación con la inducción de la dormición en las yemas y semillas de especies que lo contienen.

Se ha demostrado que el inhibidor β se encuentra en cantidades relativamente importantes en el follaje de plantas de papa colocadas en condiciones inductivas (de día corto) o no inductivas (de día largo) para la tuberización. A medida que el ciclo vegetativo avanza, la concentración en el follaje disminuye, pero simultáneamente aumenta en la peridermis de los tubérculos en crecimiento. En estado de tuberización avanzado, el follaje no muestra casi presencia del complejo inhibidor, mientras que éste se halla en cantidades importantes en los tubérculos maduros (durmientes) (figura 195).

Se cree que el inhibidor se traslada desde el follaje a los tubérculos y que induce en ellos el fenómeno de dormición. Hecho similar ocurre en el follaje y yemas de arce. En ese sentido debe recordarse que el ABA, principal componente del complejo, se transporta en las plantas probablemente a través del sistema vascular.

Factores de inhibición

Algunos factores fisicoquímicos parecen contribuir a la inhibición del crecimiento causada por los inhibidores.

El principal agente inhibidor de la germinación de las semillas de la vid en las bayas maduras sería la alta presión osmótica de los frutos (35-40 atmósferas). Sin embargo se ha demostrado la existencia de otros factores de inhibición, probablemente ácidos málico o ascísico.

En *Citrus*, los pH bajos (2,2-2,4) que poseen los hesperidios maduros parecen contribuir a la inhibición de la germinación de las semillas dentro de ellos.

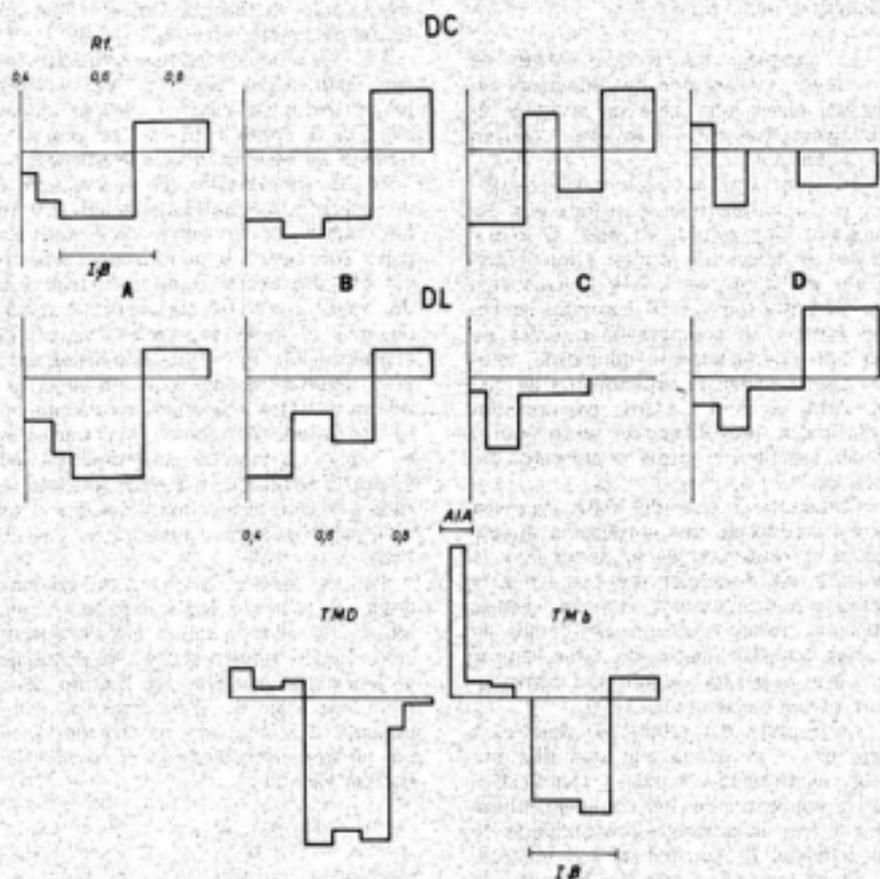


Figura 195. Evolución del $I\beta$ en el follaje de plantas de papa crecidas bajo fotoperíodos cortos (DC) y largos (DL), desde la aparición del follaje (A) hasta plena tuberización (D). Referencias: TMb = tubérculo madre brotado; TMD = tubérculo madre "dormido". (Tizío, 1972, inédito.)

Significación biológica de la presencia de inhibidores vegetales en los suelos

Las hojas de muchos géneros (*Artemisia*, *Mirtus*, *Juglans*, *Eucalyptus*, *Laurus*, *Pinus*, etcétera) poseen inhibidores que se incorporan al suelo cuando caen. Muchos de ellos, como el ácido trans-cinámico contenido en las hojas y raíces del guayule, poseen alto poder resis-

dual e inhiben la germinación de numerosas semillas y aun el crecimiento de ciertas plantas. Se cree que contribuirían a determinar la distribución de las especies en ciertas comunidades vegetales.

Inhibidores y vegetales inferiores

Existen pocos datos acerca de la significación biológica de los inhibidores

para el crecimiento de los vegetales inferiores.

El ABA contenido en los frutos del peral, el manzano y la frutilla, y la forma racémica obtenida por síntesis estimulan la germinación de esporos de los hongos patógenos *Gloeosporium album* y *Botrytis cinerea*.

El epicarpio de los frutos de limón infectado con el hongo *Penicillium italicum* contiene ABA en una proporción aproximada de 0,1 mg por kg de aquel tejido. Se cree probable que el inhibidor incorporado por el hongo aumente la viabilidad de sus esporos, conservando de esa manera su poder patógeno.

En general, el ABA no parece influir sobre el crecimiento de las bacterias y otros hongos.

RETARDANTES

Introducción

Los retardantes son reguladores sintéticos del crecimiento —no emparentados químicamente con las fitohormonas e inhibidores naturales— que frenan la división y alargamiento celulares en los meristemas subapicales e intercalares de los ejes caulinares. En esta forma regulan la altura de las plantas sin causar efectos formativos sobre los restantes órganos.

La acción fisiológica más características y común de estos reguladores es la de provocar la enanización de plantas caulescentes y de otras capaces de formar cañas o tallos floríferos (bienales y algunas gramíneas). Paralelamente intervienen en otros procesos fisiológicos, como el "cuajado" de frutos, estimulación de la formación de yemas florales y modificación del hábito de crecimiento, estimulación de la tuberización, etcétera. Además, en muchos casos inducen una mayor resistencia a factores adversos tales como la sequía, las heladas, las altas temperaturas y la salinidad.

La mayoría de los retardantes no se relacionan químicamente entre sí, aunque ejercen su acción reguladora de manera similar. Hasta el presente no se ha determinado la presencia de reguladores endógenos que posean la estructura química y el modo de acción de los retardantes.

Clasificación y propiedades de los retardantes

Los retardantes pueden clasificarse en cuatro grupos principales:

- 1) *Derivados del carbamato de amonio cuaternario*: Amo 1618 (4-hidroxi-5-isopropil-2-metilfenil-trimetil cloruro de amonio 1-carboxilato de piperidina).
- 2) *Derivados fosfónicos*: Fosfón D (cloruro de 2,4-diclorobenzil-tributil-fosfonio).
- 3) *Análogos de la colina*: CCC o Cycocel (cloruro de [2-cloroetil] trimetilamonio).
- 4) *Ácidos succinámicos y maleánicos sustituidos*: B9 o B995 o Alar (ácido N-dimetilaminosuccinámico).

La actividad de los carbamatos de amonio cuaternario y de los análogos a la colina depende de la presencia de un grupo amonio trimetilado. La remoción de este grupo anula la actividad de dichos compuestos. En los derivados de fosfonio (fosfón D), la acción retardante depende de la presencia de un núcleo fosfonio cuaternario tributílico. Los derivados de los ácidos succinámico y maleánico constituyen un grupo único, pues la actividad retardante que manifiestan no depende de la presencia de ninguno de los grupos químicos mencionados precedentemente.

La difusión del uso de los retardantes en la práctica agronómica depende del grado de toxicidad y del número de especies que reaccionan frente a ellos. Debido a esas razones, el AMO 1618 y

el Fosfón D no se utilizan en la práctica agrícola. Por otra parte, poseen un alto poder residual en los suelos que, por lo general, es mayor de un año. En cambio el Cycocel y, en especial, el B9 no sólo no provocan signos de toxicidad, sino que actúan sobre una amplia serie de especies cultivadas, con excepción de las gimnospermas y las pteridófitas.

En general muestran una persistencia relativamente prolongada en las plantas tratadas, hecho que significa que son lentamente metabolizados en los tejidos. Así por ejemplo, el AMO 1618 puede transmitirse a la generación siguiente a través de semillas o tubérculos. Análogamente, el CCC aplicado sobre el follaje de la vid frena el crecimiento de los pámpanos al año siguiente.

Las plantas más sensibles a los efectos de los retardantes son las caulescentes de crecimiento relativamente lento y uniforme. En general afectan mucho más a las dicotiledóneas que a las monocotiledóneas. El CCC, por ejemplo, es efectivo en frenar el crecimiento de las cañas de trigo, pero no ejerce la misma acción sobre otras gramíneas, como la avena.

El Fosfón D y el CCC penetran en la planta principalmente por vía radical, mientras que el B9 lo hace preferentemente por vía foliar.

Efectos fisiológicos provocados por los retardantes

1) CRECIMIENTO CAULINAR

Los retardantes frenan el alargamiento caulinar en numerosas especies sin afectar el crecimiento foliar y floral. La acción se ejerce principalmente a través de la inhibición de la división celular en el meristema subapical de los ejes caulinares y de los estolones, y en los intercalares de las cañas de ciertas gramíneas.

Desde el punto de vista bioquímico se ha demostrado que los retardantes afectan el crecimiento caulinar por inhibición de la síntesis de giberelinas endógenas, aunque no influyen en la acción de las aplicadas exógenamente, excepto en muy altas dosis. Debido a ello, el ácido giberélico puede contrarrestar, en bajas concentraciones, el efecto inhibitorio de los retardantes sobre el crecimiento caulinar. Los retardantes también inhiben (AMO 1618, CCC) la síntesis de giberelinas en el hongo *Gibberella fujikuroi*.

Los hechos apuntados demuestran que los retardantes no pueden ser considerados como antigiberelinas, desde el momento que no compiten por los centros de acción específicos de las giberelinas. En ese sentido es interesante destacar que estos reguladores no afectan ni contrarrestan la síntesis de α amilasa que muchas giberelinas estimulan en la capa aleuronífera del endosperma de los cariopsis de la cebada.

La inhibición del crecimiento caulinar es particularmente importante en ciertas plantas ornamentales (estrella federal, gomero) y frutales. En el manzano y el peral, la disminución del crecimiento caulinar facilita muchas prácticas agronómicas, como la poda y la cosecha de frutos, con la consiguiente disminución de los costos de producción.

Ciertos retardantes, como el CCC, inducen resistencia al vuelco de las cañas floríferas de trigo ("encamado") al frenar el alargamiento internodal. Esta circunstancia ha permitido, en Europa, intensificar la práctica de la fertilización nitrogenada con el objeto de aumentar el rendimiento sin causar un excesivo alargamiento de los entrenudos de la planta.

Los retardantes inhiben también el crecimiento de los estolones en la frutilla, hecho que se traduce en un mayor rendimiento en infrutescencias al año siguiente. Por otra parte, la enanización de plantas de girasol por acción del CCC facilita considerablemente la cosecha mecánica de los capítulos.

Los retardantes también pueden afectar la modalidad de crecimiento de algunas plantas. En ciertas cucurbitáceas, la aplicación de estos reguladores modifica el hábito trepador dando lugar a plantas en forma de mata, con supresión de la formación de zarcillos.

2) "CUAJADO" Y CRECIMIENTO DE FRUTOS

El CCC se utiliza para aumentar el "cuajado" de frutos, como ocurre con la vid cuando se lo aplica en dosis relativamente bajas (200 a 400 ppm), entre dos y tres semanas antes de la antesis. El efecto es análogo al que se produce cuando se eliminan los ápices de los pámpanos.

Algunos autores opinan que el CCC reduce considerablemente la competencia por los nutrientes y fotosintetizados entre las hojas y los frutos, al frenar el crecimiento de los ejes caulinares, y que posibilita un mayor porcentaje de frutos "cuajados". Es posible, también, que la acción del regulador se produzca a través de una mayor disponibilidad de las citocininas endógenas en las bayas en crecimiento, cuya síntesis es considerablemente estimulada en las raíces de la planta.

El B9, aplicado en época de precosecha sobre las plantas de ciertas variedades de manzano (Mc Intosh), determina la producción de frutos de textura más firme. Además, el regulador inhibe

el efecto excesivamente madurador de las auxinas cuando éstas se aplican para evitar la caída de precosecha.

3) DIFERENCIACION DE YEMAS FLORALES

El CCC y en especial el B9 promueven la diferenciación de yemas florales y aumentan el "cuaje" en el manzano, el peral, el cerezo y el limonero. El efecto es más acentuado en las plantas jóvenes.

4) ESTIMULACION DE LA TUBERIZACION

El CCC estimula la tuberización de fragmentos de brotes de tubérculos de papa cultivados *in vitro*. La precocidad del fenómeno depende de la concentración del regulador, pero cuando ésta es alta, la tuberización no sólo se adelanta, sino que los tubérculos se forman directamente sobre las yemas sin previa formación de los tallos estoloníferos (cuadro 4 y figura 196). En la planta, el CCC también adelanta, aunque moderadamente, la aparición de los tubérculos. Se cree que la acción estimulante del CCC sobre ese fenómeno se ejerce a través de la inhibición de la síntesis de giberelinas endógenas que estimulan el crecimiento estolonífero y retardan la tuberización.

Cuadro 4. Efecto de las diferentes concentraciones de CCC sobre la precocidad de la tuberización de los brotes de tubérculos de papa cultivados *in vitro*.

CCC (ppm)	0	50	100	500	1000	2000	3000
Número de días necesarios para obtener 50 % de tuberización	28	21	15	10	5	4	3

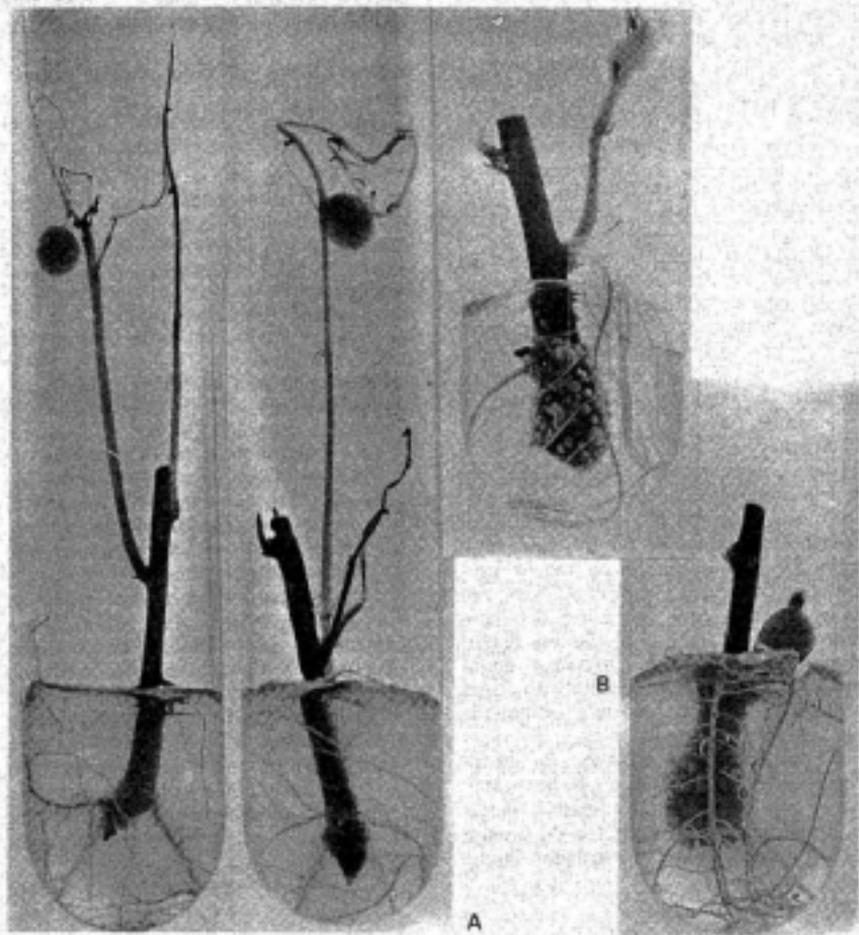


Figura 196. Acción del CCC (500 ppm, B) sobre la precocidad de brotación de tubérculos de papa cultivados in vitro. Nótese la inhibición de crecimiento caulinar, causado por el retardante en relación con la tuberización de secciones cultivadas en medio basal (A).

5) ADELANTO DE LA FLORACION

En algunas especies ornamentales, como las azaleas y *Rhododendron*, el CCC adelanta la floración y reduce el

tamaño de las plantas, a la vez que aumenta la calidad comercial de aquéllas. En el tomate, la floración también se adelanta manifestándose con un mayor número de flores en la primera inflorescencia.

No obstante, los retardantes no alteran la respuesta fotoperiódica de las plantas de día largo o corto, ni la exigencia y modalidad de la vernalización de las que la requieren para luego florecer.

6) INDUCCION DE LA RESISTENCIA A LOS FACTORES AMBIENTALES ADVERSOS

La aplicación de OCC aumenta la resistencia a los efectos de las heladas y a la salinidad en numerosas especies cultivadas (tomate, poroto, repollo, peral).

La resistencia a la acción de la helada se relaciona con un aumento significativo del contenido de vitamina C, similar al que caracteriza a muchas plantas naturalmente resistentes.

Las plántulas de tomate tratadas con CCC (2,5 mg por planta) resisten sin daño temperaturas de -2 a -5°C. La inducción de la resistencia se relaciona con una serie de modificaciones anatómicas y morfológicas. Las hojas que emergen luego del tratamiento con el regulador son de tamaño más reducido y de mayor grosor. Desde el punto de vista histológico, las células del mesófilo son más pequeñas y tienen un menor grado de vacuolización. Además, la cantidad de agua ligada a los coloides hidrofílicos del citoplasma es significativamente mayor. Por otra parte, parecen requerir una menor cantidad de agua durante el ciclo vegetativo, aunque el ritmo de la transpiración no es afectado.

Inversamente, el CCC provoca una considerable reducción de la transpiración y de la absorción y transporte de P^{32} en las plántulas de cebada.

MORFACTINAS

Las morfactinas han sido definidas como aquellos reguladores sintéticos, no tóxicos, que no sólo inhiben el creci-

miento, sino que modifican su expresión morfológica a través de la inducción de efectos formativos. Por otra parte, alteran otros fenómenos fisiológicos tales como el crecimiento caulinar, la dominancia apical, la germinación y la expresión y modalidad de ciertos fenómenos trópicos (geotropismo y fototropismo).

Las morfactinas son sustancias de acción sistémica que se transportan apolarmente por el sistema vascular (xilema y floema). Por otra parte, afectan tanto a las dicotiledóneas como a las monocotiledóneas y también a ciertas pteridófitas, musgos y algas.

La acción reguladora se ejerce sobre una amplia serie de concentraciones, sin causar efectos tóxicos. En general son rápidamente metabolizadas en los tejidos de las plantas tratadas.

Las morfactinas son derivados del ácido fluoreno-9-carboxílico. Los principales son: el fluorenol (carboxilato de n-butil-9-hidroxi fluoreno), conocida también bajo la denominación de IT 3233, y el clorofluorenol o IT 3456 (carboxilato de metil-2-cloro-9-hidroxi fluoreno).

Las morfactinas provocan enanismo en las plantas caulescentes por inhibición del crecimiento caulinar. La acción es semejante a la inducida por los retardantes, pero se diferencian de estos últimos por afectar simultáneamente la morfología de las plantas tratadas. Esto se debe a que no sólo inhiben o frenan la división celular en el meristema sub-apical, como lo hacen los retardantes, sino a que, además alteran el mismo fenómeno en el meristema apical. En este caso, el efecto formativo se basa en el hecho de que modifican o anulan la polaridad de la división celular. No obstante, estimulan la actividad de los meristemas secundarios (cámbium) y el crecimiento de callos sobre explantos de ciertas especies cultivados *in vitro*.

Debido a la acción que ejercen sobre el crecimiento caulinar, las morfactinas pueden inhibir, en concentraciones relativamente (bajas 1-50 ppm), la formación

anticipada de tallos floríferos (*bolting*) en ciertas plantas en roseta, como el apio y la lechuga. Asimismo contrarrestan la acción estimulante que ciertas giberelinas ejercen sobre el mismo fenómeno.

Los cambios en la morfología floral provocados por las morfactinas pueden ocurrir por fusión de primordios florales, de sépalos, por soldadura de brácteas, etcétera.

En ciertas monocotiledóneas es común observar la formación de láminas foliares tubulares alrededor del "cono". También pueden producir la disminución de la superficie foliar y del número de estomas, reduciendo de ese modo la intensidad de la transpiración.

Las morfactinas también inhiben o debilitan la dominancia apical y dan lugar a un tipo de crecimiento "arbusivo" que podría ser aprovechado, por ejemplo, para aumentar la cobertura vegetal sobre dunas y médanos en vías de fijación.

En las raíces, estos reguladores no afectan el crecimiento del eje principal pero sí el de los laterales. Además, estimulan la formación de pelos absorbentes con el consiguiente aumento de la superficie de absorción.

Otro efecto característico de las morfactinas es el que ejercen sobre los movimientos trópicos. Estos reguladores son capaces de anular totalmente el geotropismo y fototropismo en las raíces y tallos, tanto en las dicotiledóneas como en las monocotiledóneas. La pérdida de respuesta trópica parece deberse a que las morfactinas inhiben el transporte lateral de las auxinas. Sin embargo, las aplicaciones de AIA no revierten el fenómeno.

Las morfactinas también inhiben o retardan la germinación de numerosas semillas. El fenómeno puede revertirse parcialmente con giberelinas y, en forma total, por la acción de las citoquinas.

REGULADORES DEL CRECIMIENTO Y RESISTENCIA A LAS ENFERMEDADES. FITOALEXINAS

El ataque de los agentes patógenos de origen vegetal (bacterias, hongos) y las lesiones de tipo mecánico (heridas, etcétera) determinan, en muchos casos, la síntesis de ciertos compuestos como forma de reacción por parte de la planta huésped.

Por lo general se trata de sustancias de naturaleza fenólica, de enzimas y de otras de naturaleza hormonal (fitoalexinas), que se relacionan con el grado de resistencia que la planta ofrece al ataque del agente patógeno.

El ataque del hongo causante de la "pobredumbre negra" (*Ceratocystis fimbriata*) en las raíces de la batata induce la síntesis o liberación de compuestos fenólicos (ácidos clorogénico, isoclorogénico y cafeico). Por otra parte, el mismo hongo estimula la producción de etileno en las células invadidas. El gas difunde desde el área de infección a las células vecinas induciendo la formación de peroxidasa. Este hecho se relaciona con un aumento de la resistencia al ataque ulterior del hongo y aun de otros. La estimulación de la síntesis de peroxidasa es un hecho muy común luego de la infección por bacterias y hongos. El aumento se produce por exaltación de la síntesis de isoenzimas.

El grado de resistencia que poseen las diferentes variedades de trigo al ataque de *Puccinia graminis* se relaciona directamente con la magnitud de la síntesis de peroxidasa. En este caso, la enzima parece constituir el factor más importante de resistencia a la acción del hongo patógeno.

En el género *Pyrus*, el grado de resistencia a las enfermedades debidas al ataque de *Ervinia amylovora*, *Eriosoma pyricola* y *Agrobacterium tumefaciens* se relaciona directamente con la presencia de compuestos fenólicos.

En la papa, el aumento de la concentración de ácido clorogénico está ligado

con el grado de resistencia a *Streptomyces scabies*. El mismo regulador, y los ácidos cafeico y p-hidroxibenzoico, inhiben el crecimiento del hongo. El grado de inhibición está relacionado con la capacidad de esos compuestos de oxidarse más rápidamente a quinonas.

La oxidación del ácido clorogénico a la quinona correspondiente por la acción de la tirosinasa se relaciona, también, con el proceso de suberificación en los tejidos dañados de los tubérculos de papa. El tenor del mismo compuesto fenólico en el follaje parece ser responsable del grado de resistencia al ataque del hongo *Phytophthora infestans*.

Fitoalexinas

Las fitoalexinas son sustancias de defensa que sólo se forman cuando las células de la planta entran en contacto con ciertos agentes patógenos. Esas sustancias se caracterizan por poseer ciertas propiedades hormonales.

La acción fungitóxica de las fitoalexinas previene el crecimiento ulterior de ciertos hongos y proporciona resistencia a las células, no sólo contra el parásito, sino también respecto al ataque eventual de otros. No obstante, la reacción a la enfermedad se reduce al tejido invadido y a la vecindad inmediata, pero no se sistematiza a todo el huésped.

En ciertos casos las fitoalexinas pueden extraerse de plantas resistentes y aplicarse a otras sensibles para darles resistencia.

Ciertas razas de *Phytophthora infestans* no sólo provocan un aumento significativo en el tenor de compuestos fenólicos en algunos cultivares de tomate, sino que también estimulan la síntesis de una fitoalexina que inhibe el crecimiento de ciertas razas del parásito por medio de la inhibición de sus pectinasas.

La pisatina es una fitoalexina de naturaleza isoflavonoide que se produce en el endocarpo de legumbres de arveja infectadas por el hongo *Monilia fructicola*.

La ipomeamarona es un derivado

terpenoide aislado de raíces de batata parasitadas por el hongo *Ceratomyces fibribriata*.

La risitina es otra fitoalexina de la misma naturaleza química que la anterior. Ha sido aislada de tubérculos de papa atacados por una raza incompatible de *Phytophthora infestans*. Dos días después de la infección alcanza una concentración de 100 µg/g de peso fresco de tubérculo. Esta fitoalexina inhibe la germinación de esporos y el crecimiento de las hifas de varios hongos, así como el alargamiento de secciones de coleóptilos y el crecimiento de secciones de láminas foliares de trigo. La síntesis de risitina es casi nula en los tubérculos parasitados con razas compatibles del mismo hongo. La risitina se caracteriza, como las demás fitoalexinas, por acumularse en áreas muy limitadas adyacentes a la lesión.

Muy poco se conoce sobre el modo de acción de las fitoalexinas, pero algunos autores opinan que estas sustancias podrían ejercer su acción a través de la activación de un gene para resistencia en el huésped. Es interesante destacar que la síntesis de las fitoalexinas se asocia con un aumento de la síntesis proteica, la que depende, en el caso de la pisatina, de la síntesis *de novo* de ARN.

LECTURAS COMPLEMENTARIAS

- Abeles, F. B.: "Biosynthesis and mechanism of action of ethylene", *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 23: 259-292, 1972.
- Addicott, F. T. y J. L. Lyon: "Physiology of abscisic acid and related substances" *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 20: 139-164, 1969.
- Audus, L. J.: *Plant growth substances*, Leonard Hill, Londres, 1960.
- Bollard, E. G. y R. E. F. Matthews: "The physiology of parasitic disease", en *Plant physiology* (F. C. Steward comp.) Academic Press, Nueva York, págs. 417-550, 1966.
- Brian, P. W.: "Gibberellins and their biological significance", *Proceeding Tenth Intern. Bot. Congress*, Edimburgo, 1964.

- : "The gibberellins as hormones", *Intern. Rev. Cytol.*, 19: 229-226, 1966.
- Bruinsma, J.: "Plant growth regulators: toys and tools". *Meded. Rijksfac. Landbouw.*, 31: 343-369, 1966.
- Cathey, H. M.: "Physiology of growth retarding chemicals", *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 15: 271-302, 1964.
- Cleland, R. E. y H. Burström: "Theories of the auxin action on cellular elongation", *Encycl. Plant Physiol.*, (W. Ruhland com.) XIV, pág. 807, Springer-Verlag, Berlín, 1961.
- : "The gibberellins", en *Physiology of plant growth and development* (M. B. Wilkins comp.), McGraw-Hill, págs. 49-81, Londres, 1969.
- Champagnat, P.: "Dominance apicale. Tropismes, épinastie", *Encycl. Plant Physiol.*, (W. Ruhland comp.), XIV, págs. 872-908, Springer-Verlag, Berlín 1961.
- : "Physiologie de la croissance et l'inhibition des bourgeons: dominance apicale et phénomènes analogues", *Encycl. Plant Physiol.* (W. Ruhland, comp.), XV/I, págs. 1106-1164, Springer-Verlag, Berlín, 1965.
- Chon Ton Phan: *L'éthylène. Métabolisme et activité métabolique*, Masson et Cie., Paris, 1971.
- Fawcett, C. H.: "Indole auxins", *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 12: 345-368, 1961.
- Fox, J. E.: "The cytokinins", en *Physiology of plant growth and development* (M. B. Wilkins, comp.), McGraw-Hill, Londres, 1969.
- Hansen, E.: "Postharvest physiology of fruits", *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 17: 459-480, 1966.
- Hemberg, T.: "Biogenous inhibitors", *Encycl. Plant Physiol.* (W. Ruhland, comp.), XIV, págs. 1162-1184, Springer-Verlag, Berlín, 1961.
- Kaldewey, H. e Y. Vardar: *Hormonal regulation in plant and development*, Verlag Chemie, Weinheim, 1972.
- Kefeli, V. I. y Ch. Sh. Kadyrov: "Natural growth inhibitors, their chemical and physiological properties", *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 22: 185-196, 1971.
- Lang, A.: "Gibberellins: structure and metabolism", *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 21: 537-570, 1970.
- Leopold, A. C.: "Plant growth hormones" en *The hormones* (G. Pincus, K. V. Thimann y E. B. Astwood, comps.), Academic Press, págs. 1-66, Nueva York, 1964.
- : *Plant growth and development*, McGraw-Hill, Nueva York, 1964.
- Overbeek, J. Van: "Endogenous regulators of fruit growth", *Plant Sci. Symp.*, págs. 37-56, 1962.
- : "Gibberellins, cytokinins, and auxins may regulate plant growth via nucleic acid and enzyme synthesis", *Science*, 152: 721-731, 1966.
- Osborne, D. J.: "Ethylene as a plant hormone. Plant growth regulators". *S.C.I. Monograph*, 31: 236-250, 1968.
- Paleg, L. G.: "Physiological effects of gibberellins", *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 16: 291-322, 1965.
- Perry, Th. O.: "Dormancy of trees in winter", *Science*, 171: 29-36, 1971.
- Scott, T. K.: "Auxins and roots", *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 23: 235-258, 1972.
- Schneider, G.: "Morphactins: Physiology and performance", *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 21: 499-520, 1970.
- Skoog, F. y D. J. Armstrong: "Cytokinins", *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 21: 359-384, 1970.
- Srivastava, B. I. S.: "Cytokinins in plants" *Int. Rev. Cytol.*, 22: 349-387, 1967.
- Strobel, G. A. y D. E. Mathre: *Outlines of plant pathology*, Van Nostrand Reinhold Co., Nueva York, 1970.
- Thimann, K. V.: "The auxins", en *Physiology of plant growth and development* (M. B. Wilkins, comp.), McGraw-Hill, Londres, 1969.
- : "The natural plant hormones", en *Plant physiology* (F. C. Steward, comp.), Academic Press, vol. VI, Nueva York, 1972.
- Torrey, J. G.: *Development in flowering plants*, MacMillan Co., Nueva York, 1967.
- Wareing, P. F. y P. F. Saunders: "Hormones and dormancy", *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 22: 261-288, 1971.
- Xhaufflaire, A. y Th. Gaspar: "Les cytokinines", *Ann. Biol.*, 7: 39-87, 1968.

APLICACIONES AGRONOMICAS DE LOS REGULADORES DEL CRECIMIENTO

R. TIZIO

CONSIDERACIONES GENERALES

Los reguladores sintéticos del crecimiento son vastamente utilizados con el objeto de aumentar cualitativa y cuantitativamente la producción agropecuaria. Su uso es particularmente importante en ciertas áreas agronómicas, tales como la fruticultura, la horticultura y la floricultura. Además, constituyen el grupo más importante de los compuestos de acción herbicida que se utilizan para combatir las malezas.

En el presente capítulo se harán consideraciones generales acerca de la aplicación de los reguladores del crecimiento en relación con ciertos fenómenos fisiológicos (enraizamiento, "cuajado" de frutos, partenocarpia, maduración de frutos, floración, etcétera). Además, se darán como ejemplos datos sobre formulaciones, dosis, formas y épocas de tratamiento, etcétera, en casos considerados de particular interés. No obstante, debe destacarse que los resultados obtenidos con la aplicación de reguladores tienen un valor regional, pues pueden variar considerablemente según las especies, los cultivares, la época del año, las condiciones climáticas, edáficas, etcétera. Es muy importante que la aplicación de reguladores en las explotaciones comerciales se base en los resultados y conclusiones obtenidos me-

dante ensayos experimentales realizados en la misma localidad o en las regiones vecinas de condiciones ecológicas similares.

ENRAIZAMIENTO

Las bases fisiológicas del fenómeno fueron analizadas en el capítulo XIV. No obstante, es necesario destacar que el mecanismo de la rizogénesis en estacas leñosas y herbáceas, caulinares o foliares, depende aparentemente de la relación *auxinas/cofactores* (adenina, biotina, otras vitaminas, citocininas, ciertos aminoácidos, etcétera).

En general, la capacidad natural de enraizamiento que muestran las estacas de ciertas plantas (álamo, vid, camelia), se correlaciona con un aumento de factores endógenos promotores y con una disminución progresiva del contenido de inhibidores hacia la primavera.

La ausencia de la capacidad natural de enraizamiento puede deberse a múltiples condiciones fisiológicas. Las más comunes son:

- a) ausencia o deficiencia en el contenido de auxinas endógenas;
- b) ausencia o deficiencia de cofactores;
- c) falta de una relación de concen-

tración adecuada entre los factores de crecimiento;

- d) presencia o alta concentración de inhibidores;
- e) deficiencia en el contenido de nutrientes inorgánicos, sustancias de reserva orgánica, etcétera, y del estado hídrico de las estacas.

En muchos casos, la sola aplicación de una auxina puede exaltar considerablemente la emisión de raíces. Las auxinas más utilizadas son el AIB y el ANA. El primero posee una moderada actividad auxínica, hecho que permite utilizarlo en una gama de concentraciones relativamente amplia (10 a

5000 ppm) sin causar efectos fitotóxicos ni inhibir el crecimiento caulinar.

El ANA es una auxina más potente, por lo que su uso requiere ciertas precauciones. Por lo general se la emplea en dosis que pueden oscilar entre 5 y 50 mg/l. Las concentraciones más elevadas pueden causar efectos deformantes en el follaje en crecimiento. Por ejemplo; las estacas foliosas de ciertos pies de ciruelo y peral, generalmente difíciles de enraizar, lo hacen luego de un tratamiento con ANA de 30-40 mg/l durante 12 horas. Las dosis más altas causan deformaciones e inhiben el crecimiento de los brotes.

Los compuestos *fenoxi* (2,4-D; 2,4,5-T) se utilizan más raramente. Aun-

Cuadro 1. Acción del AIB y del extracto de levadura autolizado sobre la capacidad de enraizamiento de la variedad vinífera Malbeck, de *Rupestris du Lot* y del híbrido americano Kobber 5 BB. (Adaptado de Tizio y col., 1961.)

	IBA (ppm)					
	0		25		50	
	Extr. lev. (%)		Extr. lev. (%)		Extr. lev. (%)	
	0	1	0	1	0	1
<i>Malbeck</i>						
Enraizamiento (%)	52	86	20	79	80	100
Nº de raíces por estaca	3	9	4	10	14	39
<i>Rupestris du Lot</i>						
Enraizamiento (%)	27	60	33	27	73	100
Nº de raíces por estaca	6	7	3	13	17	25
<i>Kobber 5 BB</i>						
Enraizamiento (%)	74	93	100	89	100	100
Nº de raíces por estaca	7	8	7	14	23	25

que estimulan el enraizamiento, a menudo inhiben, aun en dosis bajas, el crecimiento de los brotes del material tratado, y pueden causar efectos fitotóxicos en el follaje. Una excepción a la regla la constituyen los ácidos 2,4-diclorofenoxipropiónico (2,4-DP) y 2,4,5-triclorofenoxipropiónico (2,4,5-TP). Ambos estimulan la formación de raíces sin causar los efectos señalados.

En las estacas de vides relativamente difíciles de enraizar (híbridos americanos [cv. Kobber 5 BB], el AIB (50 mg/l) aumenta el porcentaje de enraizamiento y el número de raíces por estaca. La acción de la auxina es considerablemente estimulada por adición de extracto de levadura autolizado (0,1 a 10%) (cuadro 1 y figura 197).

En otros casos, la estimulación de la rizogénesis inhibe la diferenciación y crecimiento de las yemas y, por ende, la formación de nuevas plantas. No obstante, una relación adecuada *auxina/cofactor* puede determinar la manifestación simultánea y aun exaltada de ambos fenómenos. En las estacas de hojas de *Begonia*, por ejemplo, el ANA (1 mg/l) estimula la rizogénesis, pero inhibe la neoformación de yemas. La CIN (1 mg/l) ejerce el efecto contrario, inhibiendo la formación de raíces y estimulando la diferenciación de las yemas. Un balance adecuado (0,01 mg/l ANA/0,1 mg/l CIN) permite la obtención de un alto porcentaje de "explantos" (85 %) enraizados, con un número importante de yemas diferenciadas que luego crecen normalmente. Un fenómeno semejante ocurre en las estacas foliares de *Saintpaulia* sp. y *Peperomis* sp.

La capacidad rizógena también se estimula mediante lavado por inmersión en agua de las estacas, por períodos de 24 a 72 horas. El lavado permite la lixiviación de inhibidores y, posiblemente, aumentos en el contenido de auxina libre o reajustes internos de la relación *auxina/cofactor*, o bien, la combinación de dos o más de esas posibilidades.

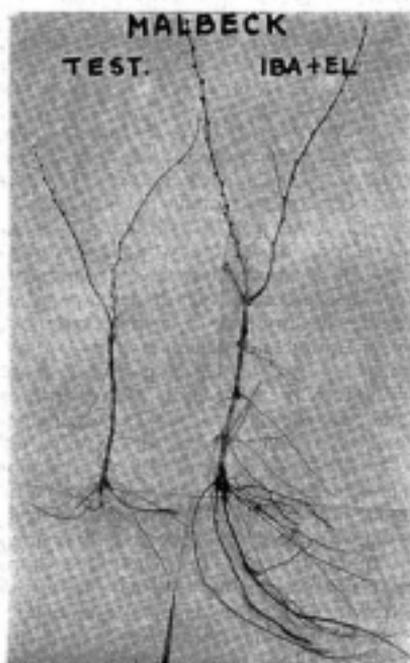


Figura 197. Efecto del AIB (50 ppm) más extracto de levadura autolizado (1 o/oo), sobre el enraizamiento de estacas del cultivar Malbeck (*Vitis vinifera*). Los barbechos de un año de edad son aptos para el trasplante definitivo. (Tizío y col., 1961).

Respecto de la vid, se aconseja lavar las estacas en agua corriente durante 48 horas, si se trata de variedades viníferas, y durante 72 horas en el caso de híbridos americanos. Luego, el material es tratado 24 horas con auxina (AIB, 50 mg/l) y cofactores (extracto de levadura autolizado (1 %) o biotina (1-10 μ g/l). Los lavados durante períodos más extensos reducen la capacidad de enraizamiento, posiblemente debido a la lixiviación de las auxinas y/o cofactores.

MÉTODOS DE TRATAMIENTO

Los métodos de tratamiento pueden ser:

a) *Tratamiento lento.* Se efectúa mediante la inmersión de la base de las estacas en soluciones acuosas. En este caso, las concentraciones oscilan, por lo general, entre los 5 y 500 mg/l, según sea el tipo de auxina y la especie utilizada. Se aconseja efectuar los tratamientos en la oscuridad y a una temperatura ligeramente superior a la que corresponde al óptimo de crecimiento de la planta.

b) *Tratamiento rápido.* Se realiza por inmersión de la base de las estacas en soluciones concentradas de auxinas (1 a 50 g/l), en alcohol (50%), durante lapsos breves (desde algunos segundos hasta 10 minutos). Es un método delicado, que requiere mucha experiencia, ya que un exceso de dosis o de duración del tratamiento pueden inhibir la emisión de raíces o dañar el material.

c) *Método del talco.* Consiste en impregnar la base humedecida de la estaca con talco con características dadas por la farmacopea, mezclado con auxina, en una proporción que puede variar de 1 a 50 mg/g de talco. Es un método bastante difundido para el tratamiento de estacas herbáceas, especialmente de clavel. A continuación del tratamiento se plantan las estacas en el medio de enraizamiento.

CONSIDERACIONES SOBRE LOS TRATAMIENTOS

Sobre la base de las consideraciones teóricas expuestas oportunamente, no debe descartarse la posibilidad de tratamientos secuenciales que impliquen un primer tratamiento con auxinas y luego otro con los cofactores que se consideren oportunos. No debe olvidarse que la auxina provoca la desdiferenciación por multiplicación celular, principalmente

de los tejidos del líber y del cámbium, la que puede derivar en un primordio radical por acción conjunta de la misma auxina y los cofactores agregados con posterioridad.

En *Begonia*, por ejemplo, se logra un buen enraizamiento y una adecuada formación de yemas cuando las estacas foliares se tratan primero con ANA y luego con CIN.

Los tratamientos hormonales también son útiles en el caso de las estacas que naturalmente muestran capacidad de enraizamiento, pues aumentan considerablemente el número de raíces por estaca. Ello se traduce en un crecimiento más vigoroso de los ejes-caulinales y del follaje, debido a que en las raíces se sintetizan varias fitohormonas, en particular giberelinas y citocininas.

SUSTRATO DE ENRAIZAMIENTO

El medio de enraizamiento debe ser suelto y bien aireado. Además, es conveniente regarlo con soluciones nutritivas (p. ej. solución de Knop, diluida a la mitad, con una mezcla adecuada de micronutrientes). En general se aplican una vez cada 3 ó 4 riegos con agua corriente.

Un medio muy apropiado para las estacas herbáceas y semileñosas consiste en una mezcla de tierra fértil de cultivo, arena mediana y vermiculita (1:1:1 v/v).

La plantación debe hacerse de manera que, por lo menos, la mitad basal de la estaca quede enterrada. Si la plantación se hace en forma directa, se aconseja dejar una o dos yemas sobre la superficie. Ello contribuye a hacer más efectivos los tratamientos hormonales.

En el caso de estacas con hojas (limonero, naranjo, malvón, etcétera) se debe eliminar las hojas inferiores y cortar la mitad de las superiores que han alcanzado el tamaño definitivo. Con ello se evita la pérdida excesiva de agua por transpiración y se permite que las sus-

tancias sintetizadas en las hojas jóvenes remanentes favorezcan el enraizamiento.

En el caso de estacas foliares o de porciones de hojas de *Saintpaulia* sp., *Peperomia* sp. y *Begonia* sp., deben colocarse con la cara abaxial en contacto con el medio de enraizamiento. Las estacas deben cubrirse con vidrio a fin de mantener un alto porcentaje de humedad relativa.

COMBINACION DE TRATAMIENTOS HORMONALES CON EL METODO DE NEBULIZACION

En ciertos casos, como en el tratamiento de estacas de hojas de gomeró, nogal, olivo, *Vitis berlandieri*, etcétera, los tratamientos hormonales deben combinarse con este método a fin de lograr una respuesta adecuada. Por ejemplo, las estacas foliosas basales de olivo enraizan en alto porcentaje si luego del tratamiento con AIB (2.000-7.000 mg/l) se las planta en un medio poroso compuesto de perlita fina y vermiculita (1:1 v/v) bajo nebulización.

El sistema de nebulización consiste en la instalación de picos pulverizadores dentro del invernáculo, los que automáticamente mantienen una niebla permanente de agua sobre el material plantado. De esa manera, las estacas, en un ambiente bien aireado, conservan una turgencia óptima, que en esas especies parece constituir la condición fisiológica más importante de la cual depende el efecto de las auxinas.

Estratificación. En el caso de estacas de especies leñosas, la disposición del material enterrado a cierta profundidad (50-70 cm) no sólo permite su adecuada conservación luego de la poda, sino que posibilita la reducción del contenido de inhibidores, en particular en aquellas especies que requieren frío para romper la dormición. Ello mejora considerable-

mente la eficiencia de los tratamientos hormonales.

La estratificación debe efectuarse en una sola capa de estacas, a fin de conservar la mayor uniformidad en el estado fisiológico del material en relación con la acción de diversos factores ambientales (tensión de oxígeno, probable acción de los inhibidores volátiles, temperatura, humedad, etcétera).

Uso de bolsas de polietileno. Consiste en colocar las estacas tratadas dentro de bolsas de polietileno negro, con el objeto de crear un ambiente de alta humedad relativa, lo cual posibilita la formación de raíces sin necesidad de plantar las estacas.

Normas para el tratamiento de estacas de especies útiles. Los requerimientos hormonales para el enraizamiento de estacas de plantas frutales, ornamentales, florales y silvícolas, pueden consultarse en obras especializadas (Pearse, 1939; Mitchell y Marth, 1947; Avery y Johnson, 1947; Audus, 1953; Stoutemyer, 1954; Doran, 1957). Además, existen catálogos donde se indica la auxina más adecuada que se debe emplear, el tipo de tratamiento y los resultados obtenidos (Thimann y Benneke-Rogers, 1950).

"PRENDIMIENTO" DE INJERTOS

Los tratamientos hormonales también se aconsejan para aumentar el número de injertos "prendidos". En la vid, el tratamiento de estacas portainjertos —y de las que se extraen las yemas— con AIB 50 ppm y biotina 10 µg/l (método de injertos de mesa o taller) provoca un aumento considerable del porcentaje de estacas enraizadas y del número de raíces en el portainjertos, lo cual se relaciona con el porcentaje de injertos "prendidos".

"CUAJADO" DE FRUTOS Y PARTENOCARPIA INDUCIDA. CRECIMIENTO DE FRUTOS

Luego de la fecundación, el crecimiento y diferenciación de los tegumentos del ovario son controlados por el aporte de citocininas, giberelinas y auxinas sintetizadas en el joven endosperma y en el embrión durante el proceso de diferenciación hacia la madurez.

No obstante, los tejidos maternos de las flores de ciertas especies (banano, ananá) poseen tal capacidad de síntesis hormonal que pueden causar el crecimiento del ovario, sin fecundación previa y dar lugar a la formación de frutos partenocárpicos.

En otros casos, el embrión y el endosperma abortan durante los primeros estadios del crecimiento del fruto. No obstante, llegan a aportar cantidades suficientes de fitohormonas como para que el crecimiento del órgano alcance a ser normal, aunque el tamaño final sea a menudo inferior, comparado con los que poseen semillas. Es el caso de los frutos llamados *estenospérmicos*, que algunos autores denominan, erróneamente, *partenocárpicos*.

La aplicación de reguladores del crecimiento ha permitido aumentar el número de flores que llegan a diferenciarse en frutos. En la práctica agrícola este proceso se conoce con el nombre de "cuajado".

Muchas son las causas por las cuales las plantas pueden llegar a desprender un elevado número de flores. La más importante es la falta de fecundación, que puede producirse por acción de factores ambientales (bajas temperaturas, baja intensidad lumínica, deficiente contenido de nutrientes en el suelo, heladas, etcétera) que afectan la germinación de los granos de polen o la abscisión de los estilos. Otra causa es la inhibición del crecimiento inicial del endosperma y del embrión provocado, también, por factores adversos del medio.

En otros casos, la falta de "cuaje" ocurre por fenómenos de protandria o de protoginia, o de incompatibilidad en relación con el crecimiento del tubo polínico dentro del gineceo, etcétera.

Los reguladores del grupo de las auxinas, giberelinas y citocininas pueden inducir la formación de frutos con semillas viables, aunque en algunos casos estimulan, simultáneamente, el crecimiento de frutos sin semilla (*partenocárpicos*) y *estenospérmicos*. En el caso de frutos que naturalmente muestran *estenospermia* (p. ej. cultivares de vid "Sultanina" y "Corinto Negro"), algunos reguladores estimulan el crecimiento del fruto que luego se traduce en mayores rendimientos. No obstante, no modifican aquel carácter al no impedir, por lo general, que los rudimentos seminales aborten.

Es necesario tener en cuenta que el éxito de la aplicación de los reguladores se basa fundamentalmente en el estado fisiológico de las plantas tratadas. La acción de los reguladores depende de la edad, vigor, sanidad y, en especial, del estado nutricional de ellas, por lo cual se recomienda que su aplicación se acompañe, en caso de intentar obtener mayores rendimientos, con pulverizaciones de nutrientes por vía foliar, a fin de asegurar el crecimiento normal de los frutos "cuajados".

Frutales de pepita

En ciertos cultivares de peral (Beurré Hardy) y de manzano (Golden Delicious), la aplicación conjunta de CIN (25 ppm) y de giberelinas A₃ (AG) o A₄ + A₇ (25 ppm), durante la floración, estimula el "cuaje", aunque la mayoría de los frutos se desprenden durante el período de "caída de noviembre" (*June drop* del hemisferio norte). No obstante, los rendimientos finales son más elevados. La abscisión de pequeños frutos, durante ese período, se atenúa con una pulverización simultánea de ALAR (B 9) y de CCC (1500-2500 ppm).

La mayoría de los cultivares de peral florecen a los 3 ó 4 años, luego de injertados, pero por lo general no "cuajan" adecuadamente hasta los 10 años. Con pulverizaciones de AG (50 mg/l) en plena floración se puede adelantar un "cuaje" normal. Esto se traduce en un aumento del período de vida económico de la planta. El tratamiento no reduce el tamaño de los frutos, que a menudo resultan partenocárpico o estenospérmico.

El AG y las giberelinas $A_4 + A_7$ (400 ppm) aumentan el "cuaje" de los frutos del manzano (cv. Red Delicious) los que en gran proporción (alrededor del 40%) resultan partenocárpico. No obstante, la aplicación es antieconómica debido al costo de los reguladores y a la concentración que se requiere.

En la mayoría de los casos, los reguladores de tipo auxínico no estimulan el "cuajado" en los frutales de pepita, especialmente en los climas templado-fríos. En zonas más cálidas, el 2,4,5-TP (100 mg/l), pulverizado antes de la apertura floral, produce aumentos de los rendimientos (20-25%) debido al incremento del número de frutos.

Frutales de carozo

En los frutales de carozo, las auxinas no estimulan el cuajado ni la formación de frutos partenocárpico. Por el contrario, las giberelinas pueden inducir el fenómeno. En el cerezo, los tratamientos combinados de AG (250 mg/l) y 2,4,5-T (30 mg/l), efectuados al final de la floración y hasta 2 semanas después de finalizada, aumentan en forma considerable el "cuaje", el cual puede superar el 500% en relación con las plantas no tratadas. Los frutos resultantes son bien formados y maduran normalmente. El tratamiento indicado es económico, indudablemente, si se tiene en cuenta el valor de las cerezas en el mercado y en la industria de frutas azucaradas.

El AG también estimula el "cuaje" de los frutos del ciruelo con un alto porcentaje de estenospermia. En el cultivar *Prune d'Éte* se pueden lograr frutos estenospérmico luego de 4 aplicaciones de AG en concentraciones de 1.000 mg/l. No obstante, la giberelina ejerce efectos deletéreos que se traducen en un crecimiento desmesurado de los brotes acompañado por inhibición de la formación de yemas floríferas al año siguiente. La técnica descrita es antieconómica, desde el punto de vista comercial, por el alto costo del regulador y los defectos señalados.

Vid

Ciertos cultivares (*Criolla Grande*, *Sanjuanina*) muestran un porcentaje elevado de "corrimiento" (pérdida de flores y frutos jóvenes por abscisión) en los racimos. Las pulverizaciones con CCC (100 a 800 mg/l), de 1 a 3 semanas antes de la floración, determinan una disminución considerable del fenómeno, con aumentos en los rendimientos que pueden ser del orden del 50%. Como fenómeno de correlación, el retardante puede disminuir el crecimiento de las ramas floríferas. Se piensa que el CCC ejerce su acción al reducir el crecimiento caulinar y estimular la síntesis de citocininas en el nivel radical, hecho que disminuiría la competencia por nutrientes entre las hojas y los ovarios en crecimiento. Esta presunción puede ser cierta por el hecho de que la eliminación de los ápices caulinares ejerce los mismos efectos que la aplicación del retardante.

A pesar de que el tratamiento es altamente rentable en cultivares que se "corren" mucho, es necesario tener en cuenta posibles postefectos durante el siguiente ciclo vegetativo por exceso de dosis, lo que a menudo se traduce en una reducción del crecimiento de las ramas floríferas luego de la brotación. En ese sentido, es necesario destacar que el CCC se metaboliza lentamente en los tejidos vegetales.

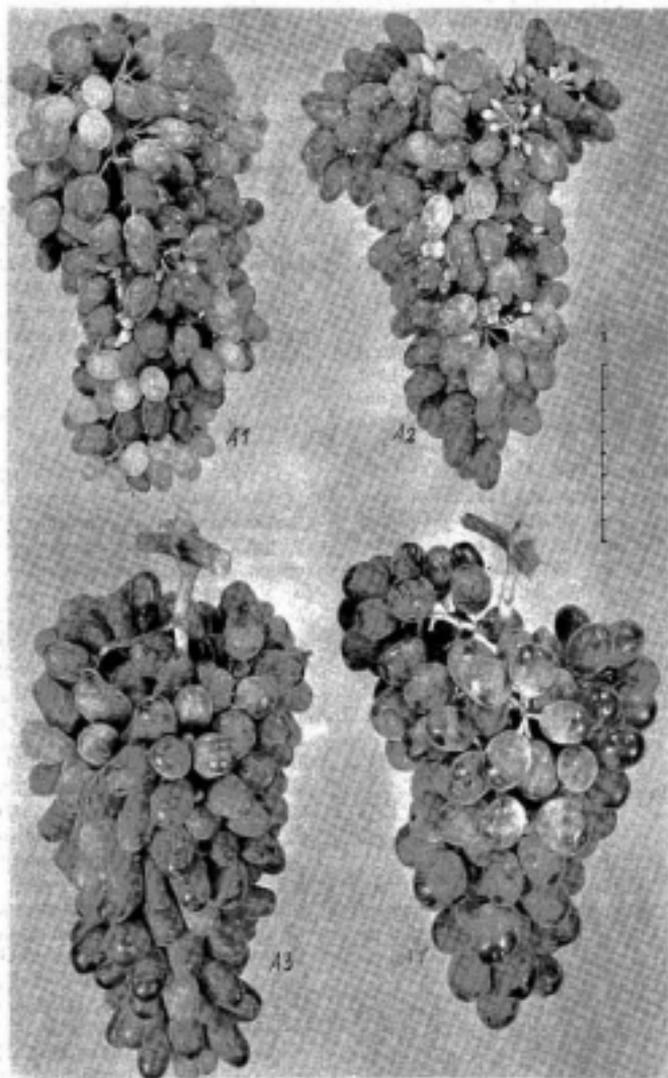


Figura 198. Efecto del tratamiento de pCPA; de sal potásica de AG y combinaciones de los mismos sobre el crecimiento de los racimos del cultivar Flame Tokay. Referencias: A 1 = racimo tratado (bayas partenocárpicas) en prefloración con pCPA (30 mg/l); A 2 = con sal potásica de AG (30 mg/l); A 3 = racimo tratado con una mezcla de AG 12 (30 mg/l) y de pCPA (30 mg/l); AT = racimo con semillas. Nótese el efecto del AG sobre el alargamiento de las bayas. (Zuloaga y col., 1968.)

Ciertos cultivares de vid (*Flame Tokay*), *Rose Muscat*) diferencian frutos partenocárpicos cuando las plantas o los racimos se tratan con pCPA (30 mg/l) combinado con AG (30 mg/l) (figuras 198 y 199). El fenómeno se relaciona con la demora en la abscisión de la caliptra. Los mejores resultados se logran con tratamientos de posfloración (7 días después de finalizada) a base de BA (1.500 mg/l) y sal potásica de AG (80 mg/l) o pCPA (30 mg/l).

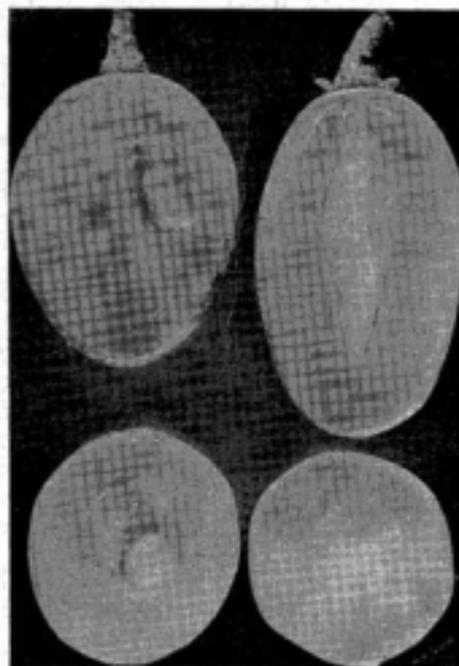


Figura 199. Efecto de tratamientos de prefloración (3 días antes de la floración) a base de AG K (30 mg/l) más pCPA (30 mg/l) sobre la producción y crecimiento de bayas de una partenocárpica maduras en el cultivar *Flame Tokay*. Izquierda: testigo (baya con semilla); derecha: baya de racimos tratados 3 días antes de floración con AG K (30 mg/l) más pCPA (30 mg/l). Nótese en la baya madura la caliptra adherida y la expansión de los tejidos de la placenta (baya partenocárpica). (Zuloga y col., 1962).

En el cultivar *Rose Muscat* se logra un 95 % de frutos partenocárpicos con tratamientos combinados de la citocinina (800 mg/l) y la sal potásica del AG, acompañado de un aumento en el número de bayas y del peso de los racimos.

Ciertos reguladores del crecimiento también estimulan el aumento de tamaño y a veces modifican la forma de algunos frutos estenospermicos, pero no tienen influencia sobre los que poseen semilla. Ello se debe a que, en los primeros, el aborto precoz del embrión y del endosperma reduce el aporte ulterior de auxinas y giberelinas, responsables del crecimiento de las paredes carpelares.

Los cultivares de vid estenospermicos (*Sultanina*, *Corinto Negro*) muestran aumentos considerables en los rendimientos cuando se los trata con ciertas auxinas o con AG. Las pulverizaciones de AG (20 mg/l), o de pCPA (5-10 mg/l), luego del "cuaje", acompañadas de incisión anular, aumentan de manera acentuada los rendimientos.

También se aconsejan dos aplicaciones de 40 mg/l cada una: la primera a la caída del 25-50 % de las caliptras, y la segunda durante el período de abscisión floral, luego de la fecundación. Con este método se logran aumentos del 60 %, con racimos más largos y frutos con un contenido mayor de azúcares. Además, las bayas son más grandes y alargadas, hecho que permite obtener una *pass* de excelente calidad.

La aplicación de AG no produce daños sobre los cultivares estenospermicos. En cambio, los cultivares con semilla son dañados con concentraciones de 25 mg/l, pues retardan la foliación en la primavera siguiente y disminuyen el rendimiento. Las citocininas también estimulan el crecimiento de las bayas de cultivares estenospermicos. Con aplicaciones de BTP (6-[benzilamino]-9-[2-tetrahidropirranil]-9H-purina) de 1.000 mg/l, o de BA, se obtienen bayas 3 a 4 veces mayores en el cultivar *Corinto Negro*.

Otras plantas productoras de frutos comestibles

Ciertas auxinas (AIB, ANA, 2,4,5-T y pCPA) inducen la formación de infrutescencias maduras en la higuera, sin formación de achenios. El pCPA, pulverizado en concentraciones de 40 a 60 mg/l durante el período de polinización, induce los mejores resultados. El 2,4,5-T también es eficaz, pues provoca una maduración precoz que permite adelantar aproximadamente dos meses la cosecha. Aunque el uso de estos reguladores ha alcanzado un nivel comercial, algunos consumidores no aceptan el producto debido a la falta de achenios que modifican la palatabilidad. Un hecho semejante ocurre en la frutilla pulverizada con NOA (25-50 mg/l) 15 a 18 días después de la floración.

Plantas hortícolas

La aplicación de reguladores se circunscribe, por lo general, a aquellas especies hortícolas de frutos carnosos pluriseminados que en algunas circunstancias muestran una tendencia natural hacia la partenocarpia.

La producción de tomates de "primicia", o cultivados en invernáculos, suele tropezar con el inconveniente de un exceso de abscisión de las flores de los dos primeros racimos que, desde el punto de vista económico, son los más importantes. Ello se debe a que las bajas temperaturas nocturnas (debajo de 13 °C) dificultan la producción de polen, así como su germinación y el ulterior crecimiento del tubo polínico. Por otra parte, las condiciones de baja intensidad lumínica o de días cortos también contribuyen a aumentar la abscisión floral.

El pCPA (25-50 mg/l) pulverizado durante la apertura floral del primer racimo induce el "cuajado" de los frutos que, a menudo, resultan partenocárpicas. Si las temperaturas nocturnas continúan siendo bajas, se aconseja repetir el tratamiento cada 5 ó 10 días.

El NOA (50 mg/l) y el pCPA (40 a 100 mg/l) demuestran ser igualmente eficaces. Este último presenta la ventaja de no producir efectos deformantes en el follaje.

El aumento de la concentración de NOA (hasta 300 mg/l) estimula la formación de frutos sin semilla, los que, además, maduran antes. En algunos cultivares, los reguladores producen frutos deformes o "hinchados", o con lóculos vacíos y paredes carpelares frágiles.

El AG (10-100 mg/l), pulverizado en los racimos, promueve el "cuajado" de los frutos, aunque éstos resultan, por lo general, pequeños. El inconveniente se subsana con la aplicación conjunta de alguna de las auxinas mencionadas anteriormente.

Las pulverizaciones de AG (10-30 mg/l), de NOA (30-100 mg/l), o de 2,4,5-TP (30-100 mg/l), durante la antesis, también promueven el "cuajado" de frutos en la berenjena (*Solanum melongena*) con un alto grado de partenocarpia. El AG estimula, además, el crecimiento y tamaño final de los frutos.

En algunos cultivares de pimiento, el 2,4-D (30 mg/l), pulverizado durante la floración, aumenta el rendimiento y el tamaño de los frutos.

Algunas cucurbitáceas cultivadas también reaccionan a los tratamientos hormonales. Las plantas de zapallo tratadas con ANA (100 mg/l) o con NOA (50 mg/l) durante la polinización producen frutos que, aunque por lo general son de menor tamaño, presentan en cambio un mesocarpio más voluminoso.

El cultivar de melón *Doubion* produce un alto porcentaje de frutos partenocárpicas cuando las flores son pulverizadas con NOA (30-50 mg/l). El AIA (50-100 mg/l), aplicado durante la polinización, aumenta el "cuaje" en esa especie, pero sin inducir partenocarpia. El mayor número de frutos "cuajados" se debe a que la auxina impide la abscisión y aumenta la persistencia del estilo durante el crecimiento del tubo polínico.

Los cultivares de poroto (*Phaseolus vulgaris*) presentan el inconveniente de que se desprende un alto porcentaje de flores y legumbres jóvenes cuando el tiempo es cálido y seco. Las pulverizaciones de ANA y NOA (5 a 25 mg/l), de pCPA o de oCPA (1-5 mg/l), en los pimpollos reducen la abscisión floral. Además, los frutos presentan un menor número de semillas y son más tiernos y de mejor calidad.

CONTROL DE LA ABCISION DE FLORES Y FRUTOS

El control de la abscisión de flores y frutos constituye, junto al enraizamiento de estacas, uno de los ejemplos más típicos de la aplicación económica de reguladores en la agricultura.

Su utilización es de suma importancia en las plantas frutales, en especial para evitar la caída de precosecha, que suele provocar pérdidas considerables en la producción. En el manzano, la inhibición de la abscisión de flores y de frutos jóvenes parece ser controlada por auxinas endógenas que se producen en mayor cantidad en tres momentos del ciclo vegetativo: a) luego de la fecundación; b) a partir de la 4ª semana, cuando el endosperma comienza a crecer activamente; c) de la 8ª a la 12ª semana, durante el crecimiento y diferenciación del embrión.

La caída de frutitos durante el mes de noviembre (*June drop* del hemisferio norte), está relacionada con una considerable disminución del contenido auxínico en las zonas de abscisión. El fenómeno coincide con el momento en que el endosperma termina su diferenciación y el embrión aún no ha comenzado a crecer. Este hecho parece determinar la disminución de la actividad auxínica y la concomitante estimulación de la abscisión.

El segundo período de caída ocurre antes de la cosecha, cuando los frutos

han alcanzado su tamaño definitivo y han comenzado a madurar. El fenómeno también coincide con una acentuada disminución del contenido auxínico y con un aumento en la producción de etileno por parte del fruto. Ambos factores parecen inducir y acelerar la caída de los frutos, que ocurre por fractura o lisis de las laminillas medias en la zona de abscisión.

Las auxinas sintéticas de mayor uso en la prevención de la caída de precosecha son el ANA, el 2,4,5-T y el 2,4,5-TP. El ANA posee la ventaja de inhibir rápidamente la caída, pero su efectividad en la planta sólo dura de 1 a 2 semanas. Por otra parte, muchos cultivares no responden a la acción de este regulador. El 2,4,5-TP ofrece más ventajas, pues actúa sobre un número mayor de cultivares y ejerce una acción más eficaz debido a su persistencia en la planta, que varía entre 5 y 6 semanas. Por otra parte, no induce efectos sobre el follaje, como a veces ocurre con el ANA. Además, el 2,4,5-TP acelera y acentúa la coloración de los frutos y su maduración. No obstante, posee la desventaja de comenzar a actuar de 7 a 10 días después de haber sido aplicado.

El ANA se pulveriza en el manzano en concentraciones de 10 a 20 ppm cuando se observan los primeros síntomas de abscisión. Una sola pulverización es, generalmente, suficiente.

El 2,4,5-TP (10 mg/l) es efectivo en los cultivares *Delicioso* y *Winesap Golden Delicious* y *Rome Beauty* requieren concentraciones mayores (15 a 20 mg/l). Los mejores resultados se obtienen cuando la aspersión se efectúa 30 a 35 días antes de la cosecha, y puede reducir del 60 al 80% las pérdidas causadas por la caída de precosecha.

El éxito de la aplicación depende del vigor y del estado sanitario y nutritivo de las plantas. También es un factor importante el estado hídrico de los árboles, pues dicha condición mejora la penetración de los reguladores a través de la cutícula de las hojas. Las solu-

ciones deben contener sustancias mojan-tes o surfactantes del tipo de "Tween 20", "Tween 80", Tritón o Carboxoux, a fin de mojar convenientemente la superficie foliar.

En el peral, la acción del ANA (5 mg/l) es más eficaz que en el manzano, pues controla la abscisión durante un lapso más prolongado (5 a 6 semanas).

Los reguladores también son eficaces en el damasco y el almendro, pero no ejercen acción sobre el duraznero, el ciruelo y el olivo. En el damasco, el ANA (10 mg/l) y el 2,4,5-T (5-10 mg/l) impiden la caída de frutos durante un período de 50 a 60 días.

Los tratamientos a base de compuestos naftalen- y fenoxi- poseen el defecto de provocar una rápida maduración y el ablandamiento de los frutos en el almacenaje. El inconveniente a menudo se obvia con tratamientos simultáneos de hidrazida maleica (HM) (1.500-2.000 mg/l) que demoran el proceso de maduración y aumentan la firmeza de los frutos.

Los naranjos y limoneros también presentan el grave problema de la caída de precosecha. El 2,4-D y el 2,4,5-T (5 a 10 mg/l) son sumamente eficaces cuando se aplican antes de la caída de las flores y hasta 2 semanas después de comenzada la abscisión. Además, aumentan el tamaño y mejoran la coloración de los frutos.

RALEO DE FLORES Y FRUTOS

Los reguladores de tipo auxínico provocan raleo cuando se los aplica temprano, durante la floración y los primeros estadios del crecimiento de los frutos, mientras que inducen el efecto opuesto (inhibición de la abscisión) en estadios posteriores.

Esta aparente contradicción se explica si se tiene en cuenta que los embriones jóvenes permanecen inmaduros hasta la cuarta semana aproximadamente de la

plena floración. En ese estado son susceptibles de abortar como consecuencia de la aplicación de reguladores. Ello no ocurre en las etapas posteriores de la diferenciación embrional. Por el contrario, se ha visto que la aplicación de esos compuestos impide la caída de los frutos y no interfiere el normal crecimiento de éstos.

El raleo inducido por los reguladores se debe a varios fenómenos fisiológicos. Estos pueden ser:

- Prevenición de la polinización;
- Aborto del endosperma en crecimiento y de los embriones jóvenes;
- Alteración de los gradientes auxínicos a través de la zona de abscisión.

La casi totalidad de los frutos caídos muestran el endosperma y el embrión abortados. No obstante, la aplicación de AIA en el manzano (10 a 100 mg/l) induce el raleo por la inhibición de la germinación de los granos de polen.

Los reguladores se aplican en cultivares que muestran una alta capacidad natural de "cuajado" de frutos. Dicha modalidad determina una disminución en el tamaño y calidad de éstos. Por otra parte, esa parece ser la causa del carácter "añero" ("vecero") de algunos cultivares, que se caracteriza por una alternancia anual de la producción.

En ciertos cultivares de manzano, la posibilidad del raleo se extiende hasta la 48 ó 68 semana después de la fecundación. El ANA, en forma amídica (5 a 20 mg/l), se utiliza para estimular el fenómeno. No sólo mejora la producción de frutos en cuanto a tamaño y calidad, sino que el tratamiento provoca un aumento del número de yemas florales al año siguiente.

En el peral, el ANA en forma de sal sódica induce raleo. Las aplicaciones se efectúan entre los 35 y 45 días después de la floración. Muchos cultivares de duraznero presentan el inconveniente de "cuajar" un excesivo número de frutos, lo cual redundará en detrimento del ta-

maño, calidad y sabor de éstos. La aplicación de ANA (40-60 mg/l) y en forma amídica (10-20 mg/l), 3 a 5 semanas después de la floración, provoca un raleo adecuado luego de la desaparición del peligro de heladas tardías y del período de caída natural. Por otra parte, el follaje es más adulto en el momento de la aplicación, hecho que reduce el peligro de daño que puede ocasionar el regulador.

La cosecha de aceitunas debe efectuarse a mano, por el hecho de que los frutos no se desprenden al llegar a la madurez ni caen cuando se sacude la planta. La pulverización de Ethephon (2.000 mg/l) provoca un alto porcentaje de abscisión (alrededor del 75%) en algunos cultivares de olivo, a la semana de aplicación del regulador, cuando se sacuden los árboles ligeramente. Ello reduce en una considerable disminución de los costos de recolección. El Ethephon ejerce su acción por liberación de etileno, hecho que ocurre por elevación del pH de la solución cuando aquél entra en contacto con la superficie foliar. El mismo compuesto se utiliza para provocar la abscisión de las nueces en el nogal.

MODIFICACION DE LA EXPRESION FLORAL

Los reguladores ejercen los siguientes efectos fisiológicos respecto de la expresión de la floración:

- a) inducción floral por pulverización del follaje;
- b) modificación cuantitativa del comportamiento floral;
- c) modificación de los requerimientos fotoperiódicos para la inducción de la floración.

El único caso de inducción de la floración producida por reguladores lo constituye la planta de ananás. Las apli-

caciones de ANA (10-50 mg/l en el follaje y ápices producen la diferenciación de primordios florales que luego originan frutos cuyo tamaño y calidad dependen del número de hojas. Ello permite la plantación escalonada y, en consecuencia, la producción periódica de frutos con el consiguiente abaratamiento del producto.

La auxina actúa por medio de la síntesis de etileno en el ápice y el follaje de las plantas.

La producción económica de semillas hortícolas depende de la expresión cuantitativa de la floración y de la precocidad con que ésta se efectúa. Ciertas especies tienen el inconveniente de presentar anomalías en la floración debidas a ciertos caracteres morfológicos. Los cultivares de lechuga tipo "Imperial" no entallan ni florecen normalmente a causa de la compacidad de sus hojas. Las aplicaciones de 2,4-D o pCPA (10 a 25 mg/l), antes que aquélla se forme, estimulan su floración y fructificación normales. El tratamiento no afecta la viabilidad de las semillas. Resultados semejantes se logran con aplicaciones de AG (50 a 200 mg/l). Las plantas tratadas entallan y florecen aproximadamente un mes antes.

Ciertos cultivares de repollo presentan el mismo inconveniente. No obstante, la pulverización con AG sobre plantas previamente vernalizadas determina una floración y fructificación normales. Los tratamientos de las plantas no vernalizadas no son efectivos, pues la gibberelina no reemplaza, en este caso, la exigencia de la vernalización.

El oCPA (100 mg/l) también acelera el crecimiento de tallos floríferos en el repollo, una vez que el primordio del racimo se ha diferenciado.

De la misma manera, en las plantas de zanahoria, remolacha, nabo, apio y rutabaga se adelanta la floración cuando el AG (100 a 1.000 mg/l) se aplica durante la fase de vernalización.

La producción de apio de "primicia" tropieza con el inconveniente del crecimiento prematuro de los tallos florí-

feros (entallamiento) luego del trasplante. En este caso, la pulverización con oCPA antes del período de vernalización impide la manifestación del fenómeno. El efecto contrario (aceleración de la floración) se logra con aplicaciones de HM (50-100 mg/l). El efecto es positivo aun cuando las plantas han diferenciado los primordios florales.

En ciertas plantas (alelí, petunia, espuela de caballero, Aster, etcétera) cultivadas en invernáculo, la pulverización con AG (10-100 mg/l) acelera la floración 10 días y hasta un mes, sin provocar un excesivo alargamiento de los tallos y sin afectar la calidad comercial de las flores. Las plantas de alelí resultan superiores a las no tratadas, pues diferencian espigas más uniformes. La solución hormonal se aplica semanalmente, a partir de la emisión de la 10ª ó 12ª hoja.

Las plantas de azalea florecen uniformemente, sin necesidad de frío, si se pulverizan cada 4 ó 5 días con AG (500 mg/l). En este caso, el botón floral tiene que estar bien conformado para que el regulador actúe.

En el geranio, el AG (1-10 mg/l) también es eficaz en relación con el aumento del tamaño de la inflorescencia. El fenómeno se produce debido a un mayor crecimiento de los pétalos y de los pedicelos florales. La aplicación también debe efectuarse al principio de la apertura floral.

RETARDO DE LA BROTAACION Y DE LA FLORACION

El retardo de la brotación y de la floración es de suma importancia en los cultivares de plantas frutales implantadas en regiones de alta frecuencia de heladas tardías.

En el duraznero y el almendro se logran atrasos en la floración, del orden de los 10 a 12 días, cuando el follaje se trata con ANA (100-125 mg/l) o con

AG (100-200 mg/l) al final del ciclo vegetativo anterior. Los tratamientos similares en cerezos, manzanos y perales no tienen acción sobre el mismo fenómeno.

En las vides pulverizadas con AG (10-100 mg/l) durante el mes de marzo, antes de la senectud foliar, se retarda la brotación por lapsos que oscilan entre los 10 y 15 días. Las pulverizaciones foliares con la sal sódica de ANA (200-400 mg/l), realizadas a mediados de abril, también determinan un atraso de aproximadamente 5 días en la brotación del cultivar *Sauvignon*.

El retardo de la brotación de la vid es particularmente importante en regiones donde las heladas tardías son frecuentes; en la provincia de Mendoza constituye el principal factor de la merma de los rendimientos en los viñedos.

La aplicación de ciertos reguladores es eficaz para impedir la brotación de tubérculos y bulbos. El grado de volatilidad del éster metílico del ANA (MENA) permite inhibir por lapsos prolongados la brotación de los tubérculos de papa en almacenaje. La aplicación se realiza espolvoreando sobre los tubérculos talco mezclado con el regulador, a razón de 1 g por cada 35 kg de material almacenado.

La pulverización de HM (1.750-2.500 mg/l) sobre el follaje de plantas de cebolla, antes de la cosecha (2 a 6 semanas), retarda por varios meses la brotación de los bulbos. Esto permite remitirlos al mercado en época de escasez del producto, con los consiguientes beneficios económicos.

Resultados semejantes se logran cuando se pulveriza HM en el follaje de la papa (2.500 ppm) antes de la "entrega", es decir la muerte de la parte aérea. En lugar de las yemas de los tubérculos se forman callos de crecimiento limitado. Si bien el material puede utilizarse para el consumo, pierde su valor como "semilla".

Otros reguladores, en lugar de retardar la brotación, la estimulan. Las citoquinas son muy eficaces para romper la

dormición de los tubérculos de papa cuando se los sumerge en soluciones de estas sustancias. Se utiliza la BA en concentraciones de 10 a 20 ppm. El tratamiento es muy conveniente cuando se desea plantar "semilla" de papa importada que se halla en estado de dormición. Ello da lugar a una brotación rápida y uniforme que permite el desarrollo normal del ciclo vegetativo y cosechar antes de las primeras heladas.

MODIFICACION DE LA MODALIDAD DE CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS CULTIVADAS. RETARDO DEL ENVEJECIMIENTO.

La aplicación de retardantes puede modificar la modalidad de crecimiento de las plantas frutales. Las pulverizaciones de B 9 (2.000-2.500 mg/l) sobre manzanos del cultivar *Deliciosa* de 3 años de edad producen el crecimiento de los ejes caulinares en un 40%. Los entrenudos resultan más cortos y las hojas son normales, pero de mayor tamaño, más gruesas y de color verde más intenso. El tratamiento promueve, además, la formación de un mayor número de yemas florales al año siguiente.

Los perales y cerezos también muestran un alto grado de enanización cuando se tratan con B 9. El número de hojas por unidad lineal de rama aumenta entre el 80 y el 100%, debido al acortamiento internodal. Por lo general, el B 9 se aplica en concentraciones de 2.000 mg/l, 3 a 4 veces, dos semanas después de la plena floración y con intervalos de 10 días.

Las morfactinas (IT 3456) también producen enanización en las plantas frutales. Aplicadas sobre plantas jóvenes de cerezo provocan la ruptura de la dominancia apical y el crecimiento de las yemas laterales. Actúan como "podadores químicos".

La enanización de las plantas frutales tiene indudable valor económico, pues

no sólo se facilitan las labores culturales por el menor tamaño de las plantas, sino que el costo de producción de la poda y la cosecha de frutos es más reducido.

El CCC se utiliza también para enanizar plantas ornamentales de alto valor económico. Por medio de riegos periódicos con el retardante (1.500-2.000 ppm) se reduce el crecimiento caulinar de las plantas de *Euphorbia pulcherrima*, crisantemo y hortensia, sin afectar las flores. Por el contrario, la intensificación del color verde de las hojas contrasta más con el de las flores y mejora de ese modo la calidad comercial de las plantas. *Ficus elastica* reduce también los entrenudos cuando se le aplica este retardante.

El AG promueve el crecimiento de algunas especies hortícolas y pasturas. Las plantas de apio pulverizadas con AG (20-100 mg/l), 2 a 4 semanas antes de la cosecha, muestran aumentos del rendimiento entre el 30 y el 50%. Los pecíolos resultan más grandes y pesados y son más fáciles de "blanquear". El exceso de la dosis o los tratamientos anticipados producen una "maduración" precoz de las plantas que se traduce en un crecimiento excesivo de la médula de los pecíolos y el entallecimiento prematuro.

El AG (100-500 mg/l) estimula, además, el crecimiento de las pasturas en las regiones templadas y templado-frías, cuando se tratan a fines del invierno y principios de la primavera con el objeto de adelantar la disponibilidad de forraje verde. Si bien el rendimiento aumenta en los primeros cortes, luego disminuye en relación con las plantas no tratadas.

El AG también se utiliza en dosis de 7 a 10 mg/l, 2 a 3 semanas antes de plena floración, para estimular el crecimiento del "escobajo" (raquis y alas del racimo) en ciertos cultivares de vid (Pinot gris) que presentan racimos compactos con bayas muy apretadas en la madurez. En esas condiciones, si graniza se dañan los frutos que pueden ser invadidos rápidamente por el hongo *Bo-*

trytis cinerea, causante de la enfermedad llamada "podredumbre húmeda".

El tratamiento elimina el peligro de ataque al inducir mayor separación entre los frutos y facilitar la penetración de fungicidas. Las concentraciones mayores (15-20 mg/l) pueden causar daño, pues estimulan el "corrimiento" de los racimos.

La comercialización de plantas hortícolas tropieza a veces con el inconveniente del limitado período de vida comercial de algunas de ellas. La aplicación de BA a la lechuga, la col, la coliflor, el brócoli y el apio alarga aquel período al retardar considerablemente el envejecimiento del follaje o de las jóvenes inflorescencias. El tratamiento consiste en sumergir las plantas (de 1 a 2 minutos), luego de la cosecha, en soluciones de la citocinina (10-15 ppm). El tratamiento es particularmente valioso en las verduras de "primicia" que deben ser transportadas para su comercialización a regiones alejadas de los centros de producción.

Los tratamientos por inmersión de la base de los tallos de claveles en una solución de BA (200-300 mg/l) mejora la calidad y alarga de 3 a 5 días el período de vida de las flores. El tratamiento debe durar 2 minutos con la concentración señalada, pero debe alargarse a 1 y 12 horas si se usan concentraciones menores (20-30 y 2-3 mg/l, respectivamente).

RESISTENCIA A FACTORES ADVERSOS

Los retardantes se aplican también en ciertas plantas cultivadas para inducir resistencia a ciertos factores ambientales adversos.

Muchas variedades de trigo muestran tendencia al "vuelco" de las cañas ("en-camado") por efectos del viento, elevado potencial agua del suelo, etcétera.

El fenómeno se exalta si los cultivos se fertilizan con compuestos nitrogenados. La pulverización de CCC (1,5-3 kg/ha) sobre plantas de trigo en estado de 5ª a 7ª hoja reduce el crecimiento caulinar, pero estimula el engrosamiento de las cañas. Ello no sólo impide el "vuelco", sino que permite la fertilización nitrogenada sin los riesgos indicados. Resultados semejantes se obtienen en la cebada con la aplicación del mismo retardante (4-8 kg/ha).

Los tratamientos con CCC (100-200 ppm) en solución nutritiva de Knop sobre semillas germinantes de tomate, confieren luego a la planta una mayor resistencia a las heladas tardías. Las plantas tratadas pueden soportar temperaturas de -2 a -5° C, durante 30 a 60 minutos, sin dañarse. El tratamiento es útil en la producción de tomates de "primicia".

Las pulverizaciones del mismo retardante en el peral, durante el mes de noviembre, no sólo inhiben el crecimiento caulinar, sino que también confieren resistencia a las heladas a las flores del ciclo vegetativo siguiente.

MADURACION DE FRUTOS

La maduración de ciertos frutos puede regularse mediante tratamientos con auxinas. Con anterioridad se mencionó el hecho de que ciertos frutos (manzanas, peras) maduran y colorean más rápidamente cuando las plantas se tratan con reguladores a fin de impedir la caída de precosecha. El tratamiento no se aconseja cuando los frutos se almacenan para su comercialización ulterior. En el manzano, la sobremaduración en condiciones de almacenaje inapropiadas (falta de refrigeración, de ventilación, etcétera) da lugar a frutos "arenosos", insípidos, con pérdida de su valor comercial.

Ciertos compuestos se utilizan comercialmente cuando se desea acelerar la maduración de frutos cosechados. La

aplicación es exitosa en frutos (bananas, manzanas, peras, ananás) cuya maduración implica la hidrólisis del almidón y su conversión en azúcares. El etileno se utiliza para acelerar la maduración de frutos en locales cerrados. También se usan reguladores como el 2,4-D y el 2,4,5-T. La práctica consiste en sumergir los frutos en soluciones acuosas (10, 100 y 1000 mg/l) que contienen un surfactante, durante 10 ó 30 minutos. De esa manera pueden tratarse en forma escalonada los frutos provenientes de almacenaje, según los requerimientos del mercado.

Las bananas tratadas muestran un mayor contenido en azúcares reductores si se las expone a la luz luego del tratamiento con 2,4-D. El uso de dosis excesivas producen una rápida sobremaduración, con pérdida de coloración, lo cual dificulta su comercialización. La acción se ejerce por medio de la síntesis de etileno.

En las naranjas y tomates, si bien los reguladores no aceleran la maduración, confieren una mejor y más uniforme coloración. El agregado de 2,4-D o 2,4,5-T al agua de lavado de los limones, antes del almacenaje, determina el alargamiento de la vida comercial de estos frutos. Además, durante su conservación se reduce la pérdida de agua y se retarda el amarillamiento. El tratamiento descrito constituye una práctica corriente en algunos países.

HERBICIDAS*

Los herbicidas representan en la agricultura contemporánea una herramienta de suma importancia para el aumento de la producción. En el desarrollo actual de este campo se han unido los conocimientos fisiológicos con el trabajo de los químicos orgánicos.**

* Este tema fue desarrollado por Osvaldo H. Caso.

** Solamente se tratarán los herbicidas orgánicos. Si bien el uso de los inorgánicos (com-

Con el descubrimiento de las propiedades fitotóxicas del ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) hace treinta años se inició una búsqueda vertiginosa de productos sintéticos nuevos que hicieran posible un número menor de labores culturales para erradicar las malezas y que permitieran su control en las tierras no árables.

La mayor parte de los herbicidas actualmente en uso han aparecido durante los últimos quince años. Generalmente han sido el resultado de innumerables pruebas empíricas hechas por grupos vinculados a empresas comerciales que se dedican a la síntesis de nuevos compuestos, o de otros análogos a los herbicidas existentes con el objeto de aumentar su efectividad o el espectro de actividad. Esto es necesario, por un lado, porque se encuentran ecotipos o razas resistentes en especies que son susceptibles a un determinado herbicida. Por otro lado, el uso de estos productos ocasiona un cambio en la población de malezas, ya que comienzan a predominar aquellas más resistentes a la acción del herbicida. Así el uso generalizado del 2,4-D ha ocasionado un aumento de las malezas del tipo gramínea y de dicotiledóneas capaces de regenerar yemas adventicias.

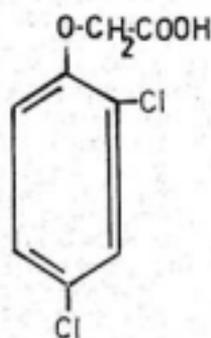
Categorías de herbicidas

Pueden ser clasificados en dos categorías principales: a) *de contacto*, es decir, aquellos que matan los tejidos en la zona de aplicación o en sus proximidades. Para obtener buenos resultados deben ser distribuidos perfectamente sobre toda la planta para que puedan ocasionar la muerte de las áreas meristemáticas. Pueden ser selectivos o no, lo

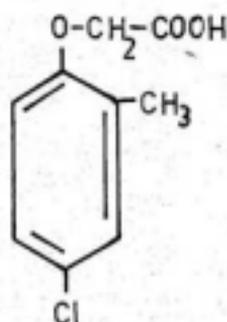
puestos arsenicales y bóricos, ácido sulfúrico, cloratos, etc.) es todavía bastante amplio, aquéllos constituyen la mayor proporción dentro del mercado actual. Tampoco serán tratados los aceites herbicidas derivados del petróleo.

cual depende principalmente de la posibilidad de que el tipo de superficie de las hojas contribuya a disminuir el área de mojado (presencia de pelos, espesor de la cutícula, etcétera) y de la disposición de las hojas y las yemas. b) *Sistémicos o trasladables*, los cuales una vez ingresados al cuerpo del vegetal son trasladados por el sistema vascular a otras partes. En estos casos, para obtener un buen control es necesario que la dosis aplicada sea regulada en forma tal que no ocasione la muerte inmediata de las partes tratadas. Con respecto a la selectividad, además de las características anteriores deben unirse diferencias bioquímicas, como son las diferencias en los sistemas enzimáticos. Un ejemplo de este tipo lo constituye el maíz que puede metabolizar al herbicida simazina

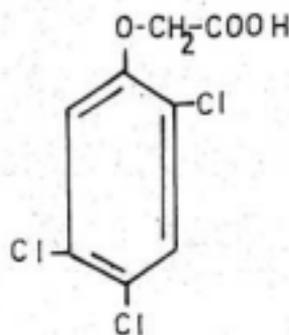
ner un buen control es necesario que la dosis aplicada sea regulada en forma tal que no ocasione la muerte inmediata de las partes tratadas. Con respecto a la selectividad, además de las características anteriores deben unirse diferencias bioquímicas, como son las diferencias en los sistemas enzimáticos. Un ejemplo de este tipo lo constituye el maíz que puede metabolizar al herbicida simazina



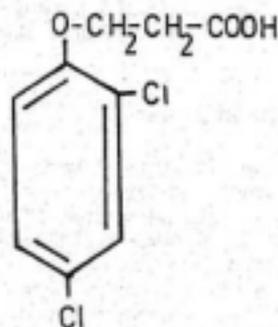
2,4-D



MCPA



2,4,5-T



2,4-DB

antes que éste alcance niveles tóxicos en los tejidos, cosa que no ocurre en la gran mayoría de las plantas.

Principales herbicidas orgánicos

Los distintos herbicidas orgánicos pueden ser ubicados en grupos característicos y propiedades comunes. Entre los más importantes, dentro de la categoría de los herbicidas sistémicos, pueden considerarse:

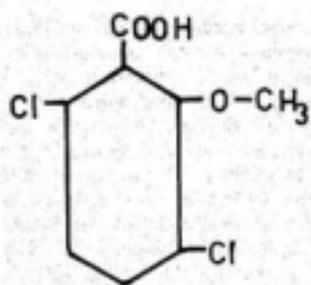
1) HERBICIDAS DE TIPO AUXINICO

- a) *Derivados clorofenoxi*: El modelo de este grupo es el 2,4-D que fue el primer herbicida orgánico selectivo usado y que todavía sigue siendo el más utilizado. Por su mayor efectividad sobre las dicotiledóneas se usa, preferentemente, en cultivos de cereales y otras gramíneas. Los efectos que producen estos herbicidas son múltiples: iniciación de numerosos primordios radicales en los tallos, proliferación celular (formación de callos), aumento rápido de la síntesis de ADN, ARN, proteínas y ATP, aumento inicial del ritmo respiratorio, aunque luego se observa una neta disminución, epinastias de las hojas y tallos, etcétera. El modo de acción no es bien conocido, pero por sus efectos sobre el sistema ADN-ARN-proteínas, parecería actuar como un activador indiscriminado de genes, lo cual estimularía en forma tal el metabolismo que el individuo susceptible no podría sostenerlo y ello le acarrearía la muerte. Son transportados por el floema junto con los azúcares, por lo cual llegan rápidamente a las áreas con crecimiento activo

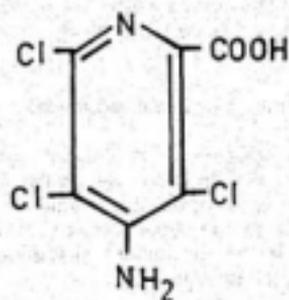
(ápices caulinares, hojas jóvenes, inflorescencias en formación, etcétera). También pueden ser llevados por la corriente transpiratoria desde las raíces. La efectividad de su acción varía con la edad y el estado de desarrollo de la planta. Por lo general la sensibilidad del herbicida es mayor en el estado de plántula y durante la formación de las flores.

En los diferentes herbicidas de este grupo, las diferencias en la estructura molecular afectan la absorción, traslado y degradación. Los más utilizados son: MCPA (ácido 2-metil-4-clorofenoxiacético), 2,4,5-T (ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético) más efectivo que el 2,4-D en las especies leñosas y con mayor persistencia en el suelo. S-sone (2,4-diclorofenoxietil-sulfato), que sólo es activo cuando es convertido a 2,4-diclorofenoxietanol u oxidado a 2,4-diclorofenoxipropiónico y el 2,4,5-triclorofenoxipropiónico (2,4,5-TP o *Silvex*) que se caracteriza por su mayor persistencia en el suelo. Entre los derivados butíricos es interesante la situación del ácido 2,4-diclorofenoxibutírico (2,4-DB). Su efectividad depende de la conversión a la forma activa 2,4-D en los tejidos de las plantas susceptibles. Ello ocurre por degradación de la cadena lateral, por medio de β -oxidación. Como el sistema enzimático necesario parece no existir en las leguminosas, o en ellas la conversión del 2,4-DB es muy lenta, este herbicida es muy aplicado a los cultivos de alfalfa, arveja, trébol, etcétera.

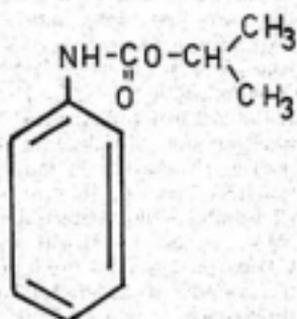
Se utilizan diversos compuestos de este grupo. En todos los casos el ácido es poco soluble, por lo cual son más empleados los ésteres y las



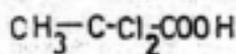
DICAMBA



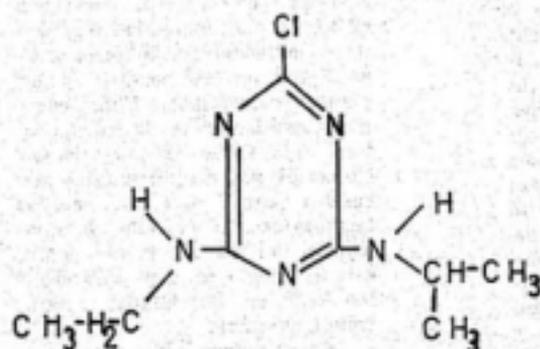
PICLORAM



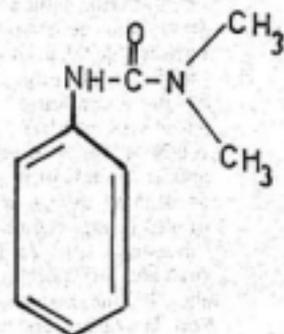
IPC



DALAPON



ATRAZINA



FENURON

sales. Dentro de las sales, la forma aminada es la más común y de mayor penetración por ser la más soluble; entre los ésteres se prefiere aquéllos de baja volatilidad, formados con alcoholes con un número relativamente alto de C, como el éster iso-octílico.

b) *Derivados del ácido benzoico:*

Estos herbicidas, formulados en la misma forma que el 2,4-D, producen efectos similares a éste. Son muy persistentes en la planta y en el suelo y por ello resultan eficaces para el control de especies perennes con raíces profundas. Debido a su persistencia en el suelo, se suelen usar como herbicidas de preemergencia (tratamiento que se hace después de la siembra, pero antes que emerjan las malezas). Estimulan la respiración y parecen afectar el transporte del AIA.

Entre los derivados más usados se pueden nombrar: *Dicamba* (ácido-2-metoxi-3,6-diclorobenzoico), *Amiben* (ácido 3-amino-2,5-diclorobenzoico) y *TBA* (ácido 2,3,6-triclorobenzoico).

c) *Derivados del ácido picolínico:*

El herbicida *Picloram* (ácido 4-amino-2,3,5-tricloropicolínico) es una auxina tan potente como el 2,4-D, con una larga vida residual que lo hace más efectivo en el tratamiento de especies leñosas y con raíces gemíferas. Sin embargo, ello lo hace peligroso cuando se lo usa en cultivos de cereales. Si bien no se conoce su modo de acción, como los efectos son similares a los producidos por 2,4-D, es posible que aquél sea semejante.

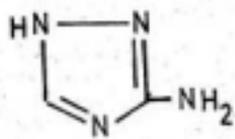
2) ACIDOS ALIFATICOS CLORADOS

Son ácidos fuertes, especialmente inhibitorios para gramíneas. Producen efectos formativos acentuados y afectan más a los meristemas caulinares que a la raíz: en ambos casos son efectivos sobre meristemas activos. Son transportados tanto por el floema como por el xilema y son muy persistentes en la planta. Su modo de acción parece vincularse con el hecho de que son agentes desnaturizantes de proteínas. Parecería que al acumularse en los meristemas en actividad provocan la precipitación de proteínas estructurales de los orgánulos celulares y aún la degradación de los sistemas enzimáticos. Sin embargo, este modo de acción no explica la razón de su selectividad. También se ha sugerido que pueden bloquear la síntesis del ácido pantoténico. Los más usados son: *TCA* (ácido tricloroacético) y *Dalapon* (sal sódica del ácido 2,2-dicloropropiónico).

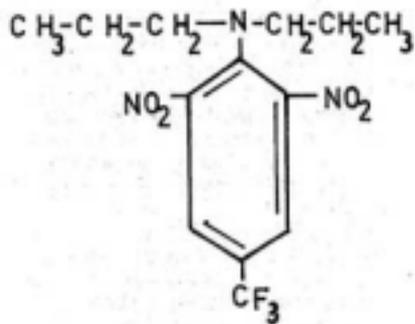
3) CARBAMATOS Y TIOCARBAMATOS

Son derivados del ácido carbámico (NH_2COOH) y se los considera venenos mitóticos que ejercen su efecto, sobre todo, en los meristemas. Su modo de acción no ha sido aclarado. Algunos autores consideran que afectan la fosforilación de los azúcares, tanto durante la glucólisis como durante la etapa sintética de la fotosíntesis.¹ Se utilizan *IPC* (isopropil-N-fenil-carbamato); *CIPC* (isopropil-N-clorofenil carbamato) que también se usa para retardar la brotación de tubérculos de papa; *EPTC* (etil-N,N-di-n-propiltiocarbamato) con uso similar al anterior; *Barban* (4-cloro-2-butil m-clorocarbanilato).

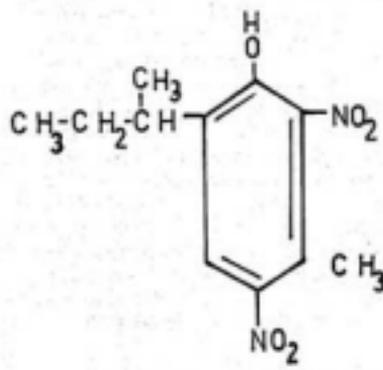
¹ También ha sido descrito su efecto como inhibidores de la reacción de Hill.



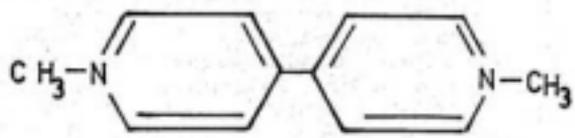
AMITROL



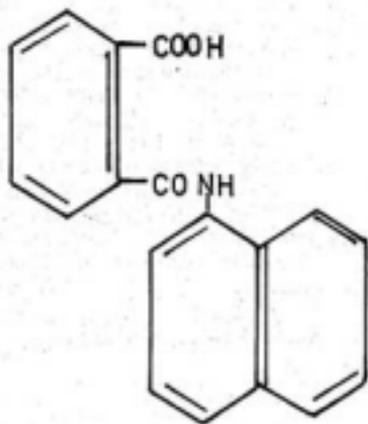
TRIFLURALINA



DINOSEB



PARAQUAT



NAPTALAN

4) TRIAZINAS

En esta familia de herbicidas, *símazina* [2-cloro-4,6-bis (etilamino)-s-triazina] es el miembro más conocido. Todas las triazinas presentan, cuando son aplicadas al suelo, una gran toxicidad tanto sobre mono como dicotiledóneas. Sin embargo, el maíz exhibe una moderada resistencia habiéndose comprobado que algunos cultivares de este cereal pueden inactivar, por ejemplo, *atrazina* (2-cloro-4-etilamino-6-isopropilamino-s-triazina) por la remoción de un átomo de Cl. Esta transformación no enzimática impide que el herbicida se acumule en las plantas hasta alcanzar niveles tóxicos.

Estos compuestos son poderosos inhibidores de la reacción de Hill de la fotosíntesis, por lo cual para ser efectivos requieren luz. También provocan perturbaciones en las mitosis de las áreas meristemáticas.

5) UREAS SUSTITUIDAS

Al igual que las triazinas, estos compuestos inhiben la actividad fotoquímica de los cloroplastos, bloqueando el transporte de electrones entre los fotosistemas II y I. Son fácilmente absorbidos por las raíces, por lo cual se los suele usar en tratamientos de preemergencia. Los compuestos más comunes son: *Fenuron* (3-fenil-1,1-dimetil urea); *Momuron* [3-(p-clorofenil)-1,1-dimetilurea]; *Diuron* [3-(3,4-diclorofenil) 1,1-dimetil-urea]. Como existen diferencias en su solubilidad en agua, la cual disminuye de Fenurón a Diuron, pueden ser empleados en áreas con regímenes distintos de precipitaciones pluviales.

6) AMETROL (3-amino-1,2,4-triazol)

Este es un herbicida muy útil contra malezas perennes siendo, también,

usado como defoliante en algodón. Es un compuesto muy móvil en las plantas, puede persistir durante varios meses; sin embargo, en el suelo, se descompone muy rápidamente. No es selectivo y se acumula en los meristemas. Como inhibe la síntesis de nuevos cloroplastos, esas áreas aparecen cloróticas, sin que se afecte el tejido ya maduro. Su acción herbicida se vería reforzada por el hecho de que afecta, asimismo, el metabolismo de las purinas y ácidos nucleicos.

7) TOLUIDINAS

La más usada es *Trifluralina* (2,6-dinitro-N,N-di-N-propil trifluoro-P-toluidina) que se usa incorporada al suelo como herbicida de preemergencia en cultivos de algodón, maíz, soja, etcétera. Es fácilmente absorbido por las raíces y no se conoce su modo de acción.

8) HERBICIDAS DE CONTACTO

Entre los herbicidas de contacto más importantes pueden mencionarse los siguientes:

- 1) *Fenoles sustituidos*. Entre éstos el *DNBP* o *Dinoseb* (4,6-dinitro-2-S-butilfenol), *Simox* (2-metil-4,6-dinitrofenol), etcétera. Estos compuestos actúan como desacoplantes de la fosforización oxidativa. Como al mismo tiempo activan la respiración, provocan la muerte por la eliminación de las reservas. Estos productos pueden hacerse selectivos cuando se los formula como soluciones acuosas; en estos casos las plantas que, como la arveja, tienen ceras en las hojas, son resistentes por el hecho de que el herbicida no se adhiere a ellas.

2) *Sales cuaternarias de dipiridilo*. Estos herbicidas no selectivos no son activos por sí mismos, sino luego de ser reducidos a sus radicales libres. Este proceso está conectado con la fotosíntesis, por lo cual se requiere que haya buena luz para obtener máxima efectividad. Sin embargo, un período de oscuridad posterior a la aplicación favorece su acción; ello puede ser debido a que el herbicida se traslada al resto de la planta y amplía las zonas afectadas. Un hecho interesante es la comprobación de que Monuron puede retardar la muerte de plantas tratadas por estos herbicidas. Los compuestos usados son: *Diquat* (dibromuro de 1,1'-etileno-2, 2'-dipiridilo) y *Paraquat* (dimetil sulfato de 1,1-dimetil-4,4'-dipiridilo). Se usan como defoliantes y contra malezas acuáticas.

3) *Amidas*. Estos herbicidas se caracterizan por inhibir la respiración y la división celular. Asimismo, en las plantas tratadas aparecen malformaciones. En el caso de *hidrazida maleica* (MH) se le ha atribuido a ésta una actividad antiauxínica. Por otro lado, el *Naptalam* (ácido N-1-naftiltalámico) perturba el transporte polar de las auxinas y altera las respuestas trópicas de la planta. También a estos herbicidas se los ha descrito como bloqueadores del metabolismo de los carbohidratos e inhibidores de algunas enzimas de la cadena respiratoria.

LECTURAS COMPLEMENTARIAS

Addicott, F. T.: "Abcission and plant regulators", en *Plant regulators in agriculture* (H. B. Tuckey comp.) J. Wiley,

Nueva York, págs. 99-116, 1954.

Audus, L. J.: *Plant growth substances*, Leonard Hill, Londres, 1953.

— (comp.): *The physiology and biochemistry of herbicides*, Academic Press, Londres, 1964.

Avery, G. S. y E. B. Johnson: *Hormones and horticulture*, McGraw-Hill, Nueva York, 1947.

Bajter, L. P.: "Plant regulators to prevent preharvest fruit growth, delay foliation and blossoming, and thin blossoms and young fruits", en *Plant regulators in agriculture* (H. B. Tuckey comp.) John Wiley, Nueva York, págs. 117-131, 1954.

Brian, P. W.: "Possible uses of gibberellins in horticulture", *Sci. Hort.*, 15: 27-36, 1960-61.

Crafts, A. S.: *The chemistry and mode of action of herbicides*, Intersciences Publishers, Nueva York, 1961.

Doran, W. L.: "Propagation of woody plants by cuttings", *Univ. Mass. Coll. Exp. Sta. Bull.*, 491, 1957.

Halevy, A. H.: "Recent advances in chemical growth regulation of ornamental plants", *Acta Hort. Sym. Plant Prod. in Containers*, Copenhagen, agosto de 1969.

Harper, J. L. (comp.): *The biology of weeds*, Blackwell Scientific Publications Ltd., Oxford, 1959.

Hartman, H. T. y D. E. Kester: *Propagación de plantas* CECSA, Méjico, 1967.

Leopold, A. C.: "Auxin uses in the control of flowering and fruiting", *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 9: 281-310, 1958.

Luckwill, L. C.: "Parthenocarpy and fruit development in relation to plant regulators", en *Plant regulators in agriculture*, (H. B. Tuckey comp.) John Wiley, Nueva York, págs. 81-98, 1954.

Luckwill, L. C.: "Hormonal aspects of fruit development in higher plants", *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 11: 63-85, 1957.

Marth, P. C.: "Advances in the use of growth-regulating substances on deciduous fruits", *Rep. Thirteenth Intern. Hort. Congress*: 1-8, 1952.

Mithell, J. W. y P. C. Marth: *Growth regulators for garden field and orchard*.

- Univ. Chicago Press, Chicago, 1947.
- : "Growth regulating substances in horticulture", *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 1: 125-140, 1950.
- Moreland, D. E.: "Mechanisms of action of herbicides", *Ann. Rev. Plant Physiol.* 18: 365-386, 1967.
- Muzik, T. J.: *Weed biology and control*. McGraw-Hill, Nueva York, 1970.
- Wittwer, S. H.: "Control of flowering and fruit setting by plant regulators" en *Plant regulators in agriculture*, (H. B. Tackey, comp.) John Wiley, Nueva York, págs. 62-80, 1954.
- y Bukovac: "An appraisal of gibberelins for crop production", *The Hormonolog.*, 2(1): abril de 1958.

CAPITULO XVII

DESARROLLO
REPRODUCTIVO

E. M. SIVORI

CICLOS VITALES

La vida de los diversos organismos transcurre a través de ciclos, tanto en los unicelulares como en los pluricelulares más evolucionados. Los ciclos comienzan normalmente con una célula y si se trata de pluricelulares, el aumento de tamaño se realiza por medio de divisiones y agrandamiento de los diversos elementos, lo que constituye el crecimiento.

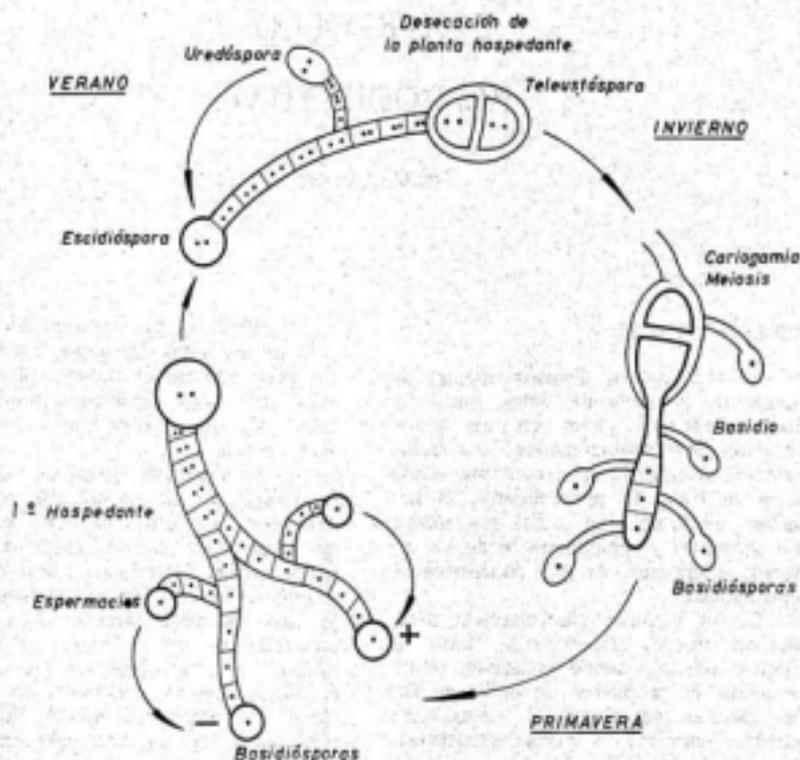
En los organismos inferiores el crecimiento puede extenderse a todo el cuerpo vegetal, donde cualquier célula adquiere la propiedad de dividirse. En las plantas superiores el crecimiento queda circunscrito a ciertas estructuras, los meristemas, cuyas células cuando se encuentran en actividad, van siendo reemplazadas continuamente por sus hijas. Sus elementos no son diferenciados tisularmente y la estructura posee ciertas características embrionales.

El crecimiento de las plantas se considera abierto y en principio *indefinido*. Esto significa que los meristemas pueden ir incorporando nuevos elementos celulares que dan lugar a los tejidos que constituyen los órganos. Normalmente, el proceso no es detenido en forma regulada por un mecanismo interno, sino por condiciones del medio y, en el caso de los ápices, por su transformación en flor.

A diferencia del crecimiento indefinido de los tallos, las hojas, flores y frutos presentan un crecimiento bien definido por una regulación interna. Se dice, así, que poseen un crecimiento *determinado*.

En la superficie lateral de los meristemas apicales de los tallos se van diferenciando primordios de hojas y yemas que dan lugar eventualmente a hojas, flores, ramas laterales u otros órganos análogos. En esta forma encontramos, a lo largo de cada tallo o rama anual, una serie de hojas y, según las circunstancias, de ramas laterales provenientes en forma directa o indirecta de la actividad del meristema apical. Por todo ello puede considerarse que cualquier cambio que se produzca en el ápice puede reflejarse en las características morfológicas y fisiológicas de los tejidos y órganos a que da lugar.

En los vegetales inferiores los ciclos vitales son bien manifiestos y se suelen producir a través de fases fisiológicas y morfológicas diferentes, las que habitualmente se desarrollan en forma separadas unas de otras. Si tomamos como ejemplo una Uredinia, *Puccinia graminis* (figura 200), podemos considerar el comienzo del ciclo a partir de las basidiosporas, haploides, fisiológicamente sexuales. Germinan sobre un primer hospedante y emiten micelios que crecen a través de la laminilla media y espacios

Figura 200. Ciclo biológico de *Puccinia graminis*.

intercelulares de las hojas. Sobre la epidermis dan lugar a numerosos espermogonios que producen espermacias. Las espermacias, que se forman en gran cantidad, transmiten el hongo a otras plantas del mismo hospedante. Posteriormente, y previa plasmogamia (fusión de los micelios), se forman escidias, que dan lugar a escidiósporos binucleados, los cuales, llevados por el viento, conta-

minan un segundo hospedante, generalmente una gramínea.

Las escidiósporas germinan y emiten los micelios que se extienden a través de los tejidos y dan lugar, sobre la epidermis, a uredósporos binucleados que nuevamente difunden el hongo entre otras plantas hospedantes de la misma especie. Al morir y secarse la planta se producen esporos de resistencia, los te-

leutósporos, estado en que pasan el invierno. Luego de la fusión nuclear y meiosis germinan emitiendo un probasidio sobre el que se forman los basidiósporos, haploides, reiniciándose así el ciclo al año siguiente.

Como puede observarse, los cambios sufridos durante este ciclo son numerosos y bien diferenciables por su morfología, como por los estados haploide, dicariótico y diploide; por la morfología de los micelios y de las espermazias, escidiosporos, uredosporos, teleutósporos y basidiósporos. Los requerimientos ecológicos también varían a través del año y así tenemos, por una parte, las condiciones que rigen en primavera y la nutrición en uno de los hospedantes; luego, las condiciones de verano y del otro hospedante; y, por último, un estado de reposo y condiciones de invierno.

A partir de la briofitas, la evolución toma una línea definida. Tanto en los musgos como en los helechos, éstos últimos ya vasculares, pueden observarse también ciclos bien diferenciados y aun fases separadas físicamente. En *Adiantum cuneatum* encontramos esporos, los cuales dan lugar a prótalos haploides y éstos producen arquegonios y anteridios con ovocélula y anterozooides, respectivamente. La fusión de estos gametos de lugar a la cigota diploide, cuyo crecimiento y diferenciación forman la planta (fronde). Nuevamente encontramos fases bien delimitadas, cada una con su morfología, su fisiología y sus requerimientos ecológicos. Los esporos pasan un período de vida latente; el protalo es generalmente autótrofo; la cigota depende para su nutrición del protalo y posteriormente la planta lleva una vida autótrofa. En ciertos helechos más evolucionados (*Selaginella*) se acorta la fase del protalo, el que pierde sus características de autótrofo y pasa a depender tróficamente de las reservas suministradas por la planta madre y acumuladas en los esporos.

En las plantas más evolucionadas las fases se van uniendo físicamente: en las

coníferas (gimnospermas), el esporófilo, la nucela, el prótalo, el arquegonio y la ovocélula —que son homólogos a la hoja esporífera, esporangio, prótalo, arquegonio y ovocélula, respectivamente, de los helechos— se encuentran reunidos en un cuerpo, dependientes y relacionados entre sí. En las fanerógamas, el conjunto ha quedado reducido al carpelo, óvulo, nucela, saco embrionario y células sinérgidas, antípodas (media polares) y ovocélula. Los órganos masculinos de los musgos, helechos, gimnospermas y angiospermas han sufrido una evolución semejante.

Las diferencias fundamentales de las plantas superiores consisten en que las dos fases principales —separadas en los musgos y helechos— el esporofito y gametofito, están unidas y constituyen un "individuo". Es evidente que esta unificación tiene un sentido de adaptación donde tiende a suprimirse la fase gametofita que pasa a ser parásita de la esporofita.

Todo el ciclo de una planta superior está esquematizado en la figura 201.

El crecimiento de las plantas superiores no es homogéneo, pues a medida que aumenta la masa viva se desarrollan distintos procesos de carácter bioquímico, fisiológico y morfológico, y también cambios en los requerimientos ecológicos. Dichos procesos y cambios pueden abarcar sólo un período de la vida de la planta, pueden ocurrir en forma paralela entre ellos, sucederse unos a otros, ser indiferentes o estar ligados directa o indirectamente entre sí.

DESARROLLO

La terminología utilizada para describir los cambios que ocurren durante el crecimiento es poco precisa. Suele emplearse el término "desarrollo" para diferenciarlos del "crecimiento", entendiéndose por este último el aumento cuantitativo de masa viva, cuyos parámetros de medición pueden ser la altura, el volumen, el peso seco, etcétera,

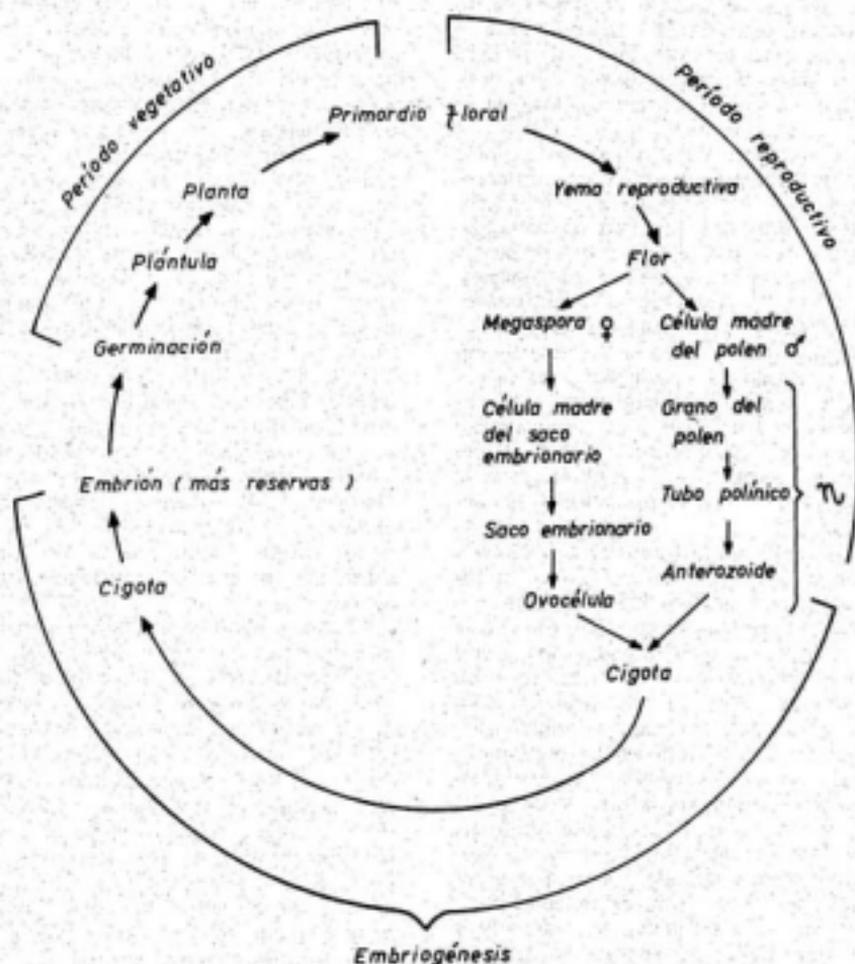


Figura 201. Ciclo de fanerógamas.

sin tener en cuenta las transformaciones que el vegetal va sufriendo.

El desarrollo puede circunscribirse a un tejido, un órgano o alcanzar a todo un individuo. En el caso de una hoja, por ejemplo, incluye todos los procesos y cambios que ocurren desde la formación del primordio hasta la madurez, cuando desempeña sus funciones dentro

del contexto del individuo. Cuando se utiliza con referencia a un individuo —una planta, por ejemplo—, comprende los cambios que sufre a partir de la primera célula (cigota) hasta llegar a la floración y fructificación.

Como sinónimo de desarrollo es común emplear el término *ontogénesis*, que de igual manera se suele utilizar en

forma restringida para describir la formación de un órgano, por ejemplo la flor, o bien de todo el individuo hasta su madurez.

Cuando el desarrollo se refiere sólo al aspecto morfológico; interno o externo, a partir de su origen, es habitual el término *morfogénesis*. Si en ésta interviene la luz como factor determinante, es más común utilizar la expresión *fotomorfogénesis*, y si está determinado por la temperatura podría utilizarse la voz *termomorfogénesis*. La morfogénesis describe, en general, sólo un aspecto del desarrollo, palabra ésta que tiene un sentido mucho más amplio.

Con una acepción semejante a la de morfogénesis, es habitual el empleo del término *diferenciación*. Así, a partir del meristema apical se diferencian los diversos tejidos y estructuras del tallo. En algunos casos se aplica para expresar la morfogénesis externa, como la correspondiente a la forma de una hoja. En otros casos, a la interna, como lo es la estructura de la hoja.

Es común también dividir el ciclo de vida de una planta en dos períodos: al primero se lo denomina *crecimiento vegetativo* y al segundo *crecimiento reproductivo*, según den lugar a órganos vegetativos o reproductivos, respectivamente. El primero suele referirse al estado vegetativo, el segundo, al estado reproductivo. Esta terminología es bastante vaga y podemos entender por crecimiento vegetativo al que da lugar a órganos vegetativos, como ramas y hojas, y por crecimiento reproductivo al que da lugar a flores. Así, es posible encontrar crecimiento exclusivamente vegetativo o exclusivamente reproductivo en una planta, pero también pueden encontrarse ambas formas entremezcladas, ya que numerosas especies tienen yemas vegetativas y reproductivas en actividad al mismo tiempo, como ocurre con la mayoría de los frutales. Por otra parte se suele considerar período vegetativo al lapso transcurrido a partir de la germinación hasta la aparición del primer primordio floral, y pe-

riodo reproductivo al que se extiende desde éste hasta la muerte. En forma similar, el *estado vegetativo* comprende todo el período sin órganos reproductores y *estado reproductivo* el que presenta la planta cuando se encuentra en floración y fructificación.

Lo común es que el período reproductivo dure hasta el final de la vida de la planta. Cuando florece una sola vez, como ocurre con el trigo, la evolución posterior es uniforme, ya que el crecimiento de las espigas, la antesis, el crecimiento de los granos y su maduración se produce en corto tiempo. Por otra parte existen especies en las que, durante el período reproductivo, se observa una continua emisión de primordios reproductivos al mismo tiempo que se encuentran yemas florales, flores abiertas, frutos en crecimiento y además maduros en dispersión, todo lo cual dura un largo lapso de su vida, como ocurre en *Chenopodium hircinum* y *Amaranthus albus*.

Es común que los árboles se comporten en forma semejante, pero las floraciones se van sucediendo de acuerdo con las estaciones. Lo habitual es una floración por año al comenzar la primavera, a mediados de ésta o en verano, o bien en otoño. Existen casos, como *Mimosa pudica* donde se producen varias floraciones en una estación.

En numerosas especies, las yemas apicales de los extremos de las ramas permanecen vegetativas y van emitiendo primordios de hojas laterales con yemas vegetativas y reproductivas. Las yemas permanecen dormidas durante el verano, otoño e invierno, y se abren al comenzar la primavera siguiente. En algunos casos abren primero las florales (ciruelo, duraznero) y luego las vegetativas que dan lugar a hojas y nuevas ramificaciones. Así, la floración se anticipa a la foliación.

En otras especies, como *Cassia curanaul*, durante la primavera despiertan las yemas laterales, que son todas vegetativas, a mediados del verano se desarrollan en los extremos de esta rama

racimos de flores que no abren hasta el otoño, y los frutos maduran durante el invierno. Cuando los frutos terminan de madurar se secan los extremos de las ramas que los sostienen y las nuevas ramificaciones de la primavera siguiente se producen a partir de yemas vegetativas situadas más atrás. En *Sophora japonica* se observa un comportamiento semejante. En otras especies arbóreas las yemas reproductivas y las vegetativas abren aproximadamente al mismo tiempo, por lo cual se observan las flores en conjunto con el follaje al comienzo de la primavera.

En las plantas anuales, después de la floración o durante ésta, o luego de un largo tiempo en plantas arbóreas, se observan ciertos procesos que determinan en forma lenta o acelerada la muerte del individuo. Este proceso recibe el nombre de envejecimiento y presenta ciertas características que lo particularizan. Puede observarse en una célula, en una hoja o en todo el individuo, como ocurre en el trigo luego de la maduración de sus espigas, y la planta termina por morir. En otros casos sólo abarca parte de la planta, tal como ocurre en la papa, donde quedan vivos los tubérculos. En numerosas especies sólo envejecen y mueren los frutos, excepto los embriones, como sucede en casi todos los árboles, en cuyo interior también envejece y muere el tejido leñoso, al que se agrega paulatinamente nuevo tejido leñoso vivo, la albura, proveniente del meristema secundario que lo rodea. El liber también muere y es desplazado hacia la corteza por la actividad meristemática de su interior. La corteza suele permanecer adherida, como en *Quercus suber*, duraznero y *Hebea*, o se desprende periódicamente, como en el eucalipto.

Toda esta actividad determina que las células de una planta que posee meristemas secundarios sean reemplazadas continuamente durante los períodos de crecimiento. En otras formas biológicas la renovación se produce a partir de órganos subterráneos (geófitas), o de

"hijuelos" y macollos que enraizan antes de la muerte de la planta madre, como ocurre con las especies tuberosas (papa), bulbosas (cebolla), rizomatosas (sorgo de alepo), cardo de castilla (*Cynara cardunculus*) y numerosas matas gramíneas (*Stipa*).

Las que no tienen actividad meristemática secundaria u órgano de renovación mueren después de la primera floración, cuando los meristemas apicales se transforman en reproductivos.

Las plantas pueden dividirse, así, en dos grandes grupos, según su modalidad de floración y su facultad de renovación. Aquéllas que florecen una sola vez y luego mueren, denominadas *monocárpicas* (trigo, maíz, *Hyoscyamus niger*, *Puya raimondii*), y aquéllas cuyos tejidos se renuevan y florecen un número indefinido de veces, que se denominan *poliárpicas*. En la generalidad de los casos se comportan y son conocidas como *perennes* (duraznero, higuera, cañeto, palmera, manzano).

Período vegetativo

Hemos visto que el tiempo transcurrido desde la germinación hasta la primera floración se denomina período vegetativo. Si consideramos vegetales unicelulares, dicho período puede considerarse desde la formación de una célula hija hasta que ésta madura y se divide, lo que toma un lapso del orden de horas o días. En las plantas superiores varía desde unos pocos días—como ocurre en *Chenopodium rubrum*, que puede florecer luego de desplegados los cotiledones— hasta años en ciertas especies.

Por su período vegetativo, con relación a las estaciones de crecimiento, las especies de plantas superiores han sido agrupadas en *anuales*, *bienales* y *pluri-anuales*. Las anuales son las que desarrollan el ciclo y florecen en una estación de crecimiento. Cuando esto ocurre en primavera-verano suelen llamarse *primaverales* (trigo o centeno primave-

rales), o bien estivales cuando requieren mayores temperaturas para crecer (maíz, tomatera, planta de poroto o frijol). Si germinan en otoño o comienzos de invierno y no florecen hasta la primavera siguiente se denominan invernales o invernales (trigo o centeno invernales). Las bienales germinan en primavera, vegetan hasta después del invierno y sólo florecen durante la estación de crecimiento siguiente (*Hyoscyamus niger*, col, remolacha). Las plurianuales tardan un número variable de años hasta su primera floración, a partir de la cual florecen todas las estaciones.

Estas denominaciones pueden combinarse para una mejor determinación según los siguientes grupos: 1) monocárpicas anuales (trigo, frijol); 2) monocárpicas bienales (*Hyoscyamus niger*, col); 3) monocárpicas plurianuales (*Agave americana*, *Puya raimondii*, *Chusquea culeou*); 4) policárpicas plurianuales, es decir perennes (café, manzano). Es habitual que algunas especies se comporten de modo diferente según las condiciones del medio. Por ejemplo, la tomatera posee un largo período reproductivo y termina por morir en aquellas regiones de inviernos rigurosos, o puede durar más de una estación en climas benignos.

El período vegetativo de las monocárpicas plurianuales es muy variable. Así, el *Agave americana* suele vegetar 10-12 años antes de florecer; *Chusquea culeou*, de los bosques del sur de Chile y la Argentina, vive aproximadamente 20 años para luego florecer y morir, y *Puya raimondii*, cuyo hábitat se halla en el altiplano de Bolivia y Perú, alcanza a vivir más de 40 años.

Los cambios que se manifiestan en las plantas se pueden dividir en tres grupos, según su naturaleza: 1) los de la constitución de tejidos y estructuras, que se van produciendo a través del proceso de diferenciación. Se originan en el meristema y lo normal, en una estructura primaria antes de cualquier actividad secundaria, es la formación de epidermis, parénquimas, tejido vascular,

etcétera. 2) Simultáneamente con esta diferenciación se van produciendo hojas en forma periódica. Al lapso entre la emisión de dos hojas sucesivas, o entre pares de hojas en caso de que sean opuestas, se lo ha denominado *plastrocronic*, de modo que los cambios pueden llamarse *plastrocronicos*. Se van repitiendo así, en forma indefinida, en un tallo de estructura primaria, un internodio y un nudo con una o más hojas. En caso de que se trate de una especie u órgano con estructura secundaria, la conformación cambia al entrar en actividad los meristemas que hacen que aumente de grosor. 3) Por último se desarrollan cambios fisiológicos, morfológicos y ecológicos que se superponen a los mencionados, los cuales se manifiestan en la sucesión de órganos (hojas, espinas, ramificaciones) que se van constituyendo a lo largo de los tallos y ramas, los cuales presentan distinta estructura interna y externa.

Algunos aspectos de los cambios en el desarrollo se conocen desde hace tiempo. Goebel (1898) los denominó *ciclofisis* y Molish (1918) *topofisis*. En principio, para que puedan producirse tiene que haber crecimiento, ya que lo común es que éste se manifieste en el nuevo tejido o los nuevos órganos. En ciertas circunstancias se puede limitar o detener el desarrollo mientras el crecimiento continúa. Por ejemplo, en los cultivos de tejidos que se obtienen a partir de un trozo de la parte interna de un tallo o de otro órgano, se logra un "callo" que puede crecer y "repicarse" indefinidamente. Según los medios nutritivos que se empleen, este crecimiento puede ocurrir con sólo una diferenciación parcial, donde se observan elementos leñosos y otras formas rudimentarias de tejidos, pero no una estructura morfológica interna y externa normal. En estas circunstancias ocurre el proceso de crecimiento, pero no el de un desarrollo estructural —diferenciación—. Por otra parte, algunas plantas mantenidas en condiciones especiales de temperatura o longitud del día pueden

crecer indefinidamente sin llegar al estado reproductivo. Se ha detenido así otra de las formas del desarrollo mencionada anteriormente.

El meristema de una planta se constituye durante la formación del embrión, donde ya se lo encuentra en uno de sus extremos. A partir de la germinación, y a medida que transcurre el tiempo, podemos ir asignándole una *edad cronológica*. Durante este lapso, los procesos fisiológicos del desarrollo pueden ser rápidos o lentos, pasando por todos los grados intermedios, y encontrarse detenidos, muy alejados o muy cercanos al estado reproductivo. En consecuencia, corresponde asignarle al mismo tiempo una *edad fisiológica*. De igual forma, los tejidos y órganos producidos por ese meristema pueden ser de reciente formación o estar constituidos desde hace tiempo, es decir que pueden ser cronológicamente nuevos o viejos y su estado de desarrollo puede corresponder al estado de desarrollo del ápice. Los tejidos producidos por los meristemas secundarios corresponden normalmente al estado fisiológico del meristema apical que les dio origen. Ambos procesos, el de desarrollo y el de crecimiento, están influidos, y en algunos casos determinados, por las condiciones del medio. Lo común es que, a medida que la planta cambia, también cambien sus requerimientos ambientales, por ejemplo una necesidad creciente de altas temperaturas, un aumento de los requerimientos de fósforo, etcétera. Es común que los requerimientos del proceso de desarrollo no coincidan con los del crecimiento y, más aún, que sean opuestos, es decir que las condiciones que favorecen el desarrollo tiendan a detener el crecimiento o viceversa. Estas necesidades diferentes hacen cambiar, entre otras características, el número de hojas de la planta cuando alcanza el estado reproductivo. Así, si las condiciones favorecen los procesos reproductivos de un cultivar de trigo se obtienen plantas bajas con menor número de hojas; por otra parte, si favorecen el

crecimiento y retardan los procesos que tienden a la reproducción, dan lugar a plantas altas con mayor número de hojas. Entre estos extremos pueden encontrarse todas las formas intermedias.

Las condiciones del medio pueden variar por diversas causas, como el área geográfica, la época de siembra o el suministro artificial de determinados factores. Todo ello puede hacer variar la condición de "precoz" o de "tardío" de una especie o cultivar. Algunas especies florecen recién entrado el otoño, sin relación con la época de siembra; de manera que con siembras invernales o primaverales tempranas se comportan como tardías y, por otra parte, con siembras tardías de primavera o comienzos de verano, como precoces.

Período juvenil

El desarrollo reproductivo está determinado por dos causas fundamentales: 1) un mecanismo interno génico, enzimático y hormonal; 2) factores del medio que interaccionan con el mecanismo interno.

En la presente sección se tratará este problema comenzando con su regulación por medio de las condiciones ambientales. Estas condiciones son prácticamente poco variables en el ecuador, donde la longitud del día es constante a través del año, las temperaturas, la humedad, la intensidad de luz, etcétera, sufren oscilaciones diarias o circunstanciales, y no existen estaciones claramente definidas. A medida que la latitud aumenta se van caracterizando las estaciones en forma muy irregular, debido a diferencias geográficas, hasta quedar bien definidas la primavera, el verano, el otoño y el invierno. La adaptación de las especies a estas condiciones ha determinado una regulación externa de su desarrollo de manera que los diversos estados, por ejemplo la reproducción o la germinación coinciden con factores favorables; en caso con-

trario podrían interrumpir o interferir el ciclo vital del vegetal.

Gran parte de los estudios se han realizado con pocas especies, en general adaptadas a esta regulación, y sobre la base de los resultados obtenidos se ha delineado una relación entre los procesos internos y las condiciones externas o, considerado desde otro punto de vista, un control de los procesos internos por las condiciones externas. Algunos estudios, a su vez, han relacionado los procesos que ocurren en estas especies con los que se verifican en especies indiferentes a los factores externos.

Dentro de los cambios que hemos mencionado y que caracterizan al desarrollo, se destacan tres procesos bien definidos, uno de ellos conocido desde hace tiempo por presentar modificaciones morfológicas fácilmente reconocibles: el *período juvenil*. Los otros dos, la *vernalización* y el *fotoperiodismo*, fueron determinados por medio de estudios realizados para resolver problemas prácticos o para explicar el comportamiento de ciertas especies y cultivares en relación con factores externos.

Sobre la base de los estudios sobre fotoperiodismo se señaló luego la existencia de factores internos de la floración (hormonas). Posteriormente, el proceso se relacionó con el metabolismo y el control de éste por medio de la actividad de los ácidos nucleicos.

Cuando en una especie se encuentran los tres procesos, el orden con que se manifiestan es invariablemente el siguiente: período juvenil y vernalización y luego fotoperiodismo. Este orden no puede ser alterado y, salvo el caso de situaciones muy especiales, es necesario que un proceso se haya cumplido para que pueda iniciarse el siguiente.

El período juvenil corresponde al crecimiento inicial de una plántula a partir de la germinación y comprende el despliegue de los cotiledones así como el crecimiento y desarrollo de los primordios foliares ya constituidos en el embrión. A estas hojas se suman aquéllas

que van siendo emitidas con posterioridad hasta alcanzar el estado adulto. El período se manifiesta con caracteres morfológicos, procesos bioquímicos y fisiológicos y requerimientos ecológicos. Una de las manifestaciones más habituales y visibles es la forma variable de la hoja (*heteroblastia*), a la que se agregan otros caracteres como espinas, forma del tallo, filotaxia y color. Entre los caracteres fisiológicos más importantes se destaca la mayor facilidad de las estacas para enraizar, la diferente resistencia a las temperaturas externas y la persistencia de las hojas durante el otoño e invierno. Normalmente las plantas no florecen en el período juvenil, salvo excepciones. Por ejemplo, suele ocurrir que ciertas plántulas de cítricos florezcan en el almácigo en la primera estación de crecimiento, pero luego entran en estado vegetativo y siguen su proceso normal para alcanzar el estado reproductivo varios años después.

El período juvenil comprende un lapso sumamente variable. En algunas especies sólo se manifiesta en la primera hoja, en otras suele abarcar años. En la alfalfa, la primera hoja está constituida por un solo folíolo y a continuación se desarrollan las hojas trifoliadas, típicas del estado adulto. En *Passiflora coerulea* (figura 202), las primeras hojas son enteras, pero luego suelen aparecer hojas bilobadas, lo cual es una expresión inestable, para pasar luego a trilobadas. Estas se presentan en número variable (4-6) y luego emiten hojas pentalobadas, específicas del estado adulto. Posteriormente puede cambiar al estado reproductivo con emisión de flores.

Otro ejemplo característico es el de algunas especies de eucalipto que, al germinar, y durante un período relativamente largo, producen hojas opuestas, ovadas, glaucas y grandes. Posteriormente, y en forma gradual, se producen hojas lanceoladas, alternas, más pequeñas y de un color verde oscuro.

En el naranjo y otros cítricos, el período juvenil no sólo tiene importancia teórica, sino también práctica,

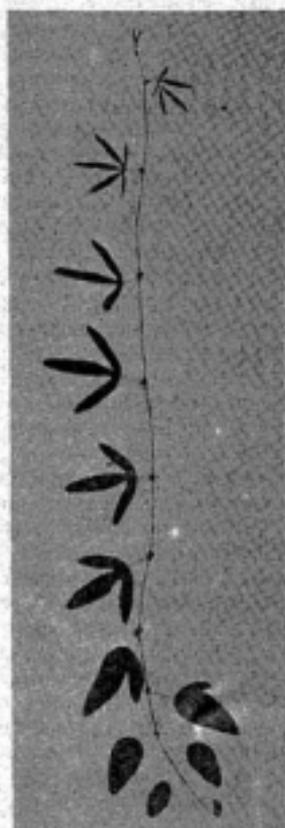


Figura 202. El período juvenil en *Passiflora coarctata* se manifiesta con un proceso heteroblastico muy evidente. Comienza con hojas enteras y termina con la emisión de hojas pentalobuladas.

por estar relacionado con la producción. Se manifiesta por la presencia de espinas, mayor tamaño de hojas y ausencia de floración. El cambio hacia el estado adulto ocurre paulatinamente y abarca varios años. Cuando se obtienen plántulas provenientes de embriones nucelares, adventicios, presentan todos

los caracteres de "juventud", igual que una planta proveniente de un embrión normal. Si sobre plantas similares se injertan, por una parte, yemas provenientes de un individuo en estado juvenil de origen nucelar y, por otra, yemas provenientes del mismo clon en estado adulto, estas últimas producen plantas con carácter de adulto que florecen precozmente. Las anteriores siguen todo el proceso de cambio de juvenil a adulto, en forma semejante a un individuo proveniente de un embrión normal. Este comportamiento indica que es un carácter estable, determinado fundamentalmente por el ápice y no por el portainjerto. En algunas especies, el pie suele tener cierta influencia en la manifestación del estado juvenil o adulto (*Vitis* sp.).

El carácter juvenil es una de las manifestaciones del desarrollo bien localizada y que más persiste *in situ* durante la vida de una planta, la cual constituye la característica de topofisis ya descrita. Por ejemplo, en el caso citado de ciertas especies de eucalipto, el estado juvenil se mantiene a través de los años en la parte inferior del tronco, a pesar de que las nuevas yemas que se forman en su periferia, y que dan lugar a las nuevas ramas con carácter de juvenil, están alejadas en el espacio y en el tiempo de aquéllas originalmente juveniles del estado de plántula. Ello indica que el carácter se ha mantenido a través de los años y de las divisiones celulares que dieron lugar al crecimiento en ancho. Lo mismo ocurre con otras manifestaciones, como la persistencia de las hojas, la presencia de espinas, etcétera.

Suele ser incierto el momento del cambio de juvenil a adulto. Si bien el tiempo que abarca puede tener influencia en el comienzo de la floración, es evidente que esto no ocurre en todos los casos, ya que algunas especies requieren, a continuación del estado juvenil, procesos de vernalización, de fotoperiodismo o de otra naturaleza. De igual manera, en otras plantas en las

que la vernalización y el fotoperiodismo no son evidentes, es de esperar que se desarrollen otros procesos que induzcan el estado reproductivo luego de cumplido el período juvenil. También es posible confundir los cambios de adulto a prefloral, como los de juvenil a adulto, cuando éstos no están bien estudiados.

Por otra parte, también hay que distinguir la heteroblastia, característica del período juvenil, de los casos de heterofilia determinados por el medio. Por ejemplo, en *Bidens beckii* se forman tres clases de hojas: las sumergidas —que son flabeladas— las ubicadas arriba del agua —que son enteras—, y aquellas situadas en la superficie —que suelen presentar una forma intermedia (figura 203).

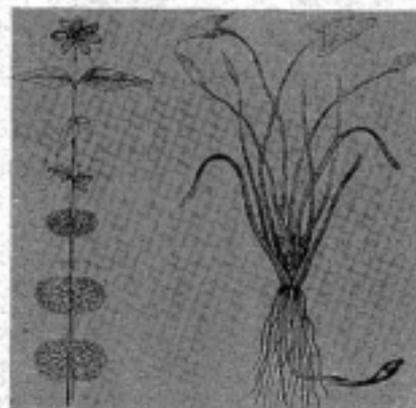


Figura 203. Planta de *Bidens beckii* con tres clases de hojas: sumergidas, en la superficie y en el aire (Goebel, 1926).

Los caracteres de juvenilidad —y, como veremos más adelante, ocurre lo mismo con otros procesos que comprenden el desarrollo— son una expresión del estado de meristema apical, cuya actividad mitótica da lugar a los diversos órganos y estructuras. En ciertos casos, estas características han sido “fijadas” y

se mantienen a través de “generaciones” vegetativas obtenidas por medio de injertos, como ocurre en una forma de *Chamaecyparis (Retinospora)*, considerada como una especie o cultivar ornamental.

El período juvenil normalmente no está determinado por el medio, si bien en ciertas circunstancias se puede influir sobre él acelerándolo o retrasándolo. Todo indica que se trata de un proceso que fundamentalmente es consecuencia de una regulación interna. Como posibilidad, se ha señalado una hormona específica de “juvenilidad” que se diluiría al germinar la semilla y crecer la plántula. Este criterio no podría explicar lo que ocurre en numerosos casos, como en el ya mencionado del eucalipto en el cual, después de muchos años y con un aumento de volumen que supera varias veces al de la planta inicial, aún se manifiestan los caracteres de juvenilidad con toda su intensidad.

Resumiendo, puede considerarse que el período juvenil está determinado por una regulación interna que se ejerce a través de la actividad meristemática del ápice, pero que dicha actividad puede ser afectada en cierta medida por factores del medio o por influencias del resto de la planta.

PARAMETROS DEL DESARROLLO REPRODUCTIVO

A diferencia del período juvenil, la vernalización y el fotoperiodismo están relacionadas fundamentalmente con la floración. Para el estudio de estos procesos es necesario establecer un parámetro que mida el estado del “desarrollo reproductivo”.

Existen varios parámetros y su elección depende de la morfología de la planta y de la modalidad de estos procesos. De acuerdo con sus características, las plantas pueden dividirse en dos grandes grupos: aquéllas que florecen con plenitud cualquiera que sea el carácter cuantitativo del estímulo y aquéllas que presentan una gradación en el número o

en el estado de desarrollo de las flores, según el grado de estímulo aplicado.

El aspecto morfológico de los diversos estados de desarrollo de la floración es característico de cada especie y en algunas plantas ha sido estudiado con detalle, como en el trigo, *Xanthium*, soja y *Pharbitis*. En caso contrario, es necesario establecer previamente dichos estados si se quiere realizar un estudio minucioso de los procesos de reproducción.

Una de las formas más simples consiste en medir el tiempo transcurrido entre la germinación y el comienzo de la floración. Como entre la aparición de la primera manifestación de reproducción y la antesis suele transcurrir un tiempo variable, según las condiciones del medio, la mejor medida es la de determinar la aparición del primordio floral. Otro método se basa en la relación entre el desarrollo reproductivo y el número de nudos. A menor número de nudos, más corto es el período vegetativo. En estos casos es interesante tener en cuenta los primordios foliares ya existentes en el embrión, que normalmente son vegetativos y que, en el caso del trigo, llegan a tres. El número de hojas en el centeno puede variar entre 7 y 24, y en la arveja entre 14 y 18.

En la soja, *Pharbitis* y *Kalanchoe*, la cantidad de flores es variable y depende del tratamiento inductivo. En general, después de 7 días inductivos la floración es plena. *Xanthium* presenta un comportamiento muy particular, pues a partir del primordio inicial se desarrolla el capítulo en forma progresiva hasta constituirse los primordios de las flores. Si bien es ésta una transformación continua, ha sido dividida en cinco estados que permiten clasificar el grado de "inducción" a que ha sido sometida la planta (figura 204).

En el trigo y el centeno, el paso del estado vegetativo al reproductivo es rápido y normalmente no se observa una gradación del número de primordios florales con relación al estímulo. En el ápice vegetativo existen numerosos primordios de hojas (lomos), a ambos lados

del eje central, cuyo crecimiento da lugar al tallo. La primera manifestación reproductiva es un alargamiento del ápice y la formación del estado llamado de "doble lomo", en el que alternan los primordios de las espiguillas con los primordios de las hojas que detienen su crecimiento y terminan por desaparecer (figura 205).

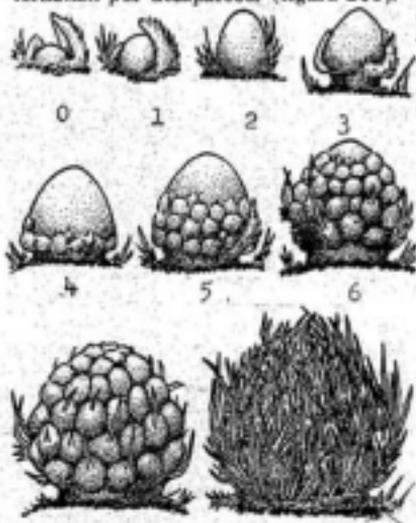


Figura 204. Distintos grados del desarrollo del capítulo, que depende del número de fotoperíodos cortos inductivos. Referencias: 0, estado vegetativo; 1-8: estados reproductivos (Salisbury, F., 1955).

Vernalización

La vernalización es un proceso que se fue conociendo lentamente al intentar cultivar forma invernales en siembras primaverales, con objeto de resolver problemas de rendimiento y resistencia a factores adversos. Se han citado antecedentes que se remontan a mediados del siglo XIX (Klippart, 1858) y comienzos de este siglo (Gassner, 1918). Estos antecedentes se refieren a ensayos realizados con cereales finos e indicaban que el frío suministrado a las semillas durante la germinación estimulaba la floración de las plantas aunque fueran sembradas en primavera. Un concepto muy extendido

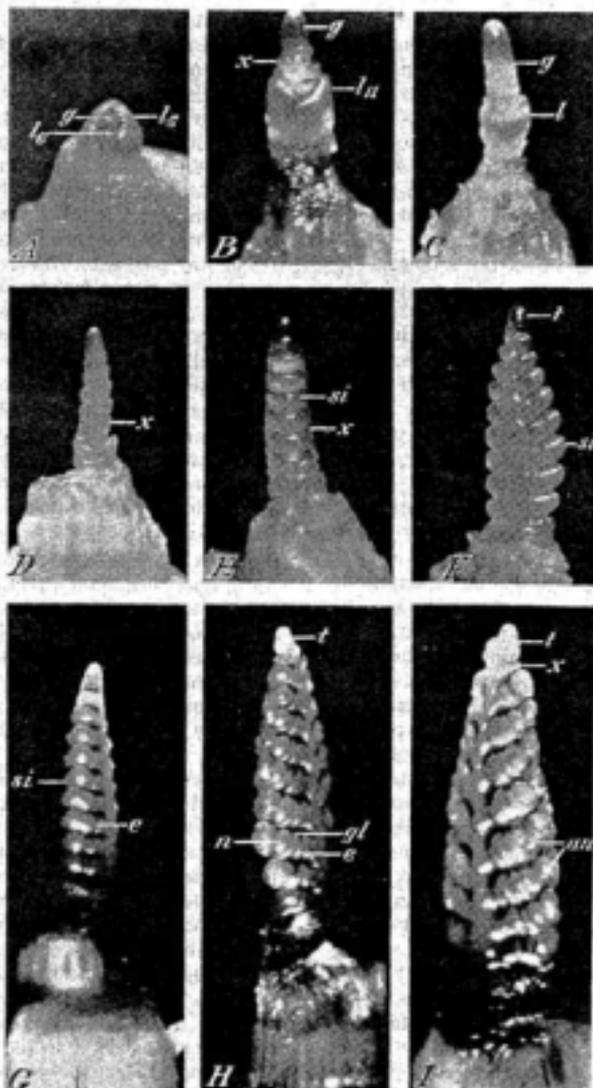


Figura 205. Diversos estados en la formación de una espiga de trigo. En todos los casos, *l*, significa primordios de hojas, *g*, punto de crecimiento, *x*, primer estado de la iniciación foliar, *c*, punto de crecimiento alargado, *St*, primordio de espiguilla "lomo superior", *x*, "lomo inferior", *t*, primordio de espiguilla terminal, *e*, primordio de gluma y *gl*, primordio de lemma. La primer manifestación es el alargamiento del ápice (C), seguida por el estado de "lomos dobles" donde alternan los primordios de hojas con la emisión de los primordios de espiguillas (D y E). Mientras los primordios de espiguillas crecen activamente, aparecen primordios de glumas, seguidos por los de las glumelas y aquellos que darán lugar a las anteras y pistilo (Bonnert, 1936).

en aquel entonces era que la floración de las plantas dependía de un alto contenido de azúcar, de manera que se atribuía a las bajas temperaturas el efecto de aumentar el contenido de dicho compuesto. Los estudios que condujeron a la interpretación actual del proceso fueron realizados principalmente en la U.R.S.S. (Lyshenko) e Inglaterra (F. Gregory y O. Purvis).

El término vernalización proviene de la voz latín, *ver*, que significa primavera. En consecuencia es equivalente a "primaveralización", es decir que se induce al vegetal a comportarse como primaveral. Es corriente ahora utilizar el término *termoinducción*, pero éste tiene el inconveniente de ser menos específico ya que las temperaturas actúan sobre otros procesos además del de vernalización.

Hemos visto que las formas primaverales se siembran en primavera y florecen, según la región y condiciones del medio, a fines de esa misma estación, en verano o en otoño. Las formas invernales se siembran en otoño o al comienzo del invierno y florecen en la estación de crecimiento siguiente. Si un cultivar invernal se siembra en primavera, transcurre toda esa estación vegetando, pasa el invierno y florece en la primavera o el verano siguiente. Como en el estado anterior a la vernalización las formas invernales son muy susceptibles a la alta temperatura y falta de agua, suelen morir durante el verano si éste es muy caluroso. Cuando un invernal vernalizado se siembra en primavera, florece durante esa misma estación.

Si bien los estudios iniciales se realizaron con cereales finos, posteriormente se extendieron a especies de otras familias botánicas y se obtuvieron resultados similares que pueden resumirse del siguiente modo: uno de los factores fundamentales que diferencia las formas invernales de las primaverales es que las primeras requieren los fríos del invierno para florecer (o son inhibidas por las altas temperaturas) durante el período siguiente a la germinación. Es decir que las formas invernales requieren un período de bajas

temperaturas denominado de vernalización. Este requerimiento fue estudiado en forma experimental con suministro de frío artificial.

Los requerimientos de bajas temperaturas pueden tener dos modalidades distintas. En una de ellas, luego de haber cumplido dicho proceso, las plantas no requieren más frío sino, por lo contrario, altas temperaturas para poder cumplir su evolución posterior hasta florecer. La otra es la necesidad de frío continuo hasta la aparición del primordio floral, lo que ha sido considerado un efecto directo (repollito de Bruselas).

También han sido divididas las plantas como de reacción cualitativa y de reacción cuantitativa. En las primeras es indispensable satisfacer las necesidades de frío, porque en caso contrario no florecen. A este grupo pertenecen especies de *Brassica*, *Hyoscyamus niger* y *Digitalis purpurea*. Las correspondientes al segundo grupo terminan por florecer aunque no se les suministre el frío requerido, si bien eso sucede tiempo después, como ocurre con las plantas de arveja, centeno, trigo y alelí. Parece haber una gradación entre ambos tipos, lo que sugiere que sólo hay una diferencia cuantitativa entre ellos.

En varias especies, las plantas son sensibles al frío desde el comienzo de la germinación, por lo cual es común colocar las semillas previamente remojadas a bajas temperaturas desde el momento en que aparecen los primeros síntomas de germinación. El frío, además de inducir la vernalización reduce el crecimiento. A este grupo pertenecen varias especies de carácter invernal, como el trigo y el centeno. En las bienales, las plántulas no son receptivas del frío hasta transcurrido un tiempo a partir de la germinación, como ocurre con la remolacha bienal. El crecimiento previo a la vernalización que necesitan estas especies corresponde al crecimiento que ocurre en la naturaleza durante la primavera y el verano, anteriores al invierno requerido para cumplir su ciclo.

Bajo ninguna circunstancia las semillas

se vernalizan en estado de reposo, cuando no se registran divisiones celulares en su embrión, pero ello puede ocurrir antes —durante la embriogénesis—, transcurrido cierto tiempo a partir de la fecundación, de 6 a 14 días después de la polinización y antes que el embrión entre en estado de reposo. A este proceso se lo ha denominado "vernalización en planta madre" y explica el comportamiento diferente de simientes de un mismo cultivar, provenientes de regiones geográficas distintas. Así, las semillas de regiones frías pueden estar parcial o totalmente vernalizadas, según sus requerimientos y las temperaturas registradas durante la maduración del grano. En consecuencia, las plantas producidas por estas semillas se comportan de modo diferente a las que provienen de aquéllas formadas bajo temperaturas más altas. Tal comportamiento es común en cereales finos, habas y algunas crucíferas.

La longitud del período de vernalización es muy variable, pues depende de la especie o cultivar y se mide en "días de frío" a los cuales tiene que estar sometida la semilla o la planta para que se cumpla el proceso. Existen temperaturas óptimas según las cuales éste se cumple en menor tiempo. Este óptimo puede presentar cierta amplitud, a partir aproximadamente de un grado centígrado hasta 6-7 °C en los cereales. Por debajo de él, el proceso es más lento y se detiene a -6 °C. Por arriba también se torna más lento, hasta aproximadamente 15-18 °C, según las especies y cultivares.

Si se tienen en cuenta los requerimientos de baja temperatura de los diversos cultivares, por ejemplo del trigo y del centeno, o bien si se comparan diversas especies, se puede observar una continuidad a partir de las que no los poseen hasta las muy exigentes. Este cambio gradual de sus necesidades ocurre tanto en lo que respecta a las temperaturas óptimas como el número de días necesarios para que se cumpla la vernalización. Así se pasa aproximadamente de 45 días a temperaturas óptimas cercanas a 1-5 °C (bienales e invernales) a

pocos días con óptimas de 8-17 °C, como ocurre con la cebolla, el ajeí y *Lupinus angustifolius*. Por otra parte se ha observado que los tratamientos con temperaturas superiores a los 20 ° aceleran la floración del tomate, la soja y el algodón. Este comportamiento ha sugerido una variante al concepto de que existen dos grupos de plantas, las que requieren y las que no requieren ser vernalizadas, considerando que todas ellas desarrollan el proceso de vernalización y se diferencian sólo por las temperaturas óptimas y el número necesario de días para que aquél se cumpla. Así, se las ha designado como de vernalización a baja y a alta temperatura.

Una característica de la vernalización que ha dado lugar a diversos estudios es la facultad de ser revertida. El proceso se denomina *desvernalización* y sólo ocurre bajo ciertas condiciones. Se debe a altas temperaturas y ha sido estudiado en el centeno, el beleño y otras especies. Sólo se observa cuando la vernalización no ha sido completada en su totalidad. Si ésta se ha cumplido, el proceso tiende a estabilizarse y luego de un tiempo pierde la facultad de revertirse, quedando la planta vernalizada en forma estable. En *Hyoscyamus niger*, después de terminado el proceso de vernalización a 3-5 °C, las temperaturas de 38-39 °C son incapaces de provocar la desvernalización. Centeno *Petkus* comienza a desvernalizarse a 18 °C y la remolacha a 23-24 °C.

La estabilidad de la condición de vernalizada ha sido demostrada en varios ensayos realizados con semillas y con plantas. Por ejemplo, *Sinapis* se ha mantenido seis años en esa condición; y las plantas de *Hyoscyamus niger* durante 180 días, luego de los cuales fueron inducidas a florecer sin necesidad de aplicar nuevamente frío. Por otra parte se ha demostrado la continuidad del estado de vernalización en nuevos tejidos de centeno cuando se elimina el tallo principal —vernalizado—, lo cual induce nuevas ramificaciones a partir de la base, las que se mantienen en el mismo estado. Si se eliminan éstas, las que se producen pos-

teriormente también poseen las mismas características. En estos casos, la condición de vernalizada se ha expresado normalmente sin signos de disminución, lo que indica que la "cantidad" de tejido vernalizado ha aumentado y que tal propiedad ha sido transmitida por las células madres y las células hijas.

Los casos de conservación del estado vernalizado sugieren que esta condición se mantiene y se transmite de célula a célula, a través de la citocinesis, a los nuevos tejidos y órganos. Todo indica que ha variado el sistema regulador interno por efecto del frío, posiblemente por cambios en la actividad de los ácidos nucleicos.

Algunos autores consideran que el proceso de vernalización consiste en la síntesis de una sustancia difusible sin que ello implique un cambio permanente de su estructura bioquímica, lo que ha llevado a suponer la existencia de una hormona especial: la *vernalina*. Es necesario puntualizar que un cambio de la estructura bioquímica no es incompatible con la síntesis de una sustancia difusible, siempre que ello ocurra con posterioridad al proceso de vernalización y como consecuencia del cambio que tal proceso importa. Al respecto se han realizado algunos estudios que consisten, fundamentalmente, en efectuar injertos de ápices de plantas bienales —que requieren ser vernalizadas para florecer— en pies de plantas anuales —que no requieren ser vernalizadas— o en plantas bienales ya vernalizadas. Se ensayaron cultivares de remolacha, tabaco, beleño, *Brassica*, *Raphanus* y otras. En general, los ensayos no arrojan diferencias entre una sustancia difusible, sintetizada como consecuencia directa de la vernalización, y otra que pudiera sintetizarse en procesos posteriores. Lo que sí demuestran es que los ápices no vernalizados pueden florecer cuando están bajo la influencia de un compuesto procedente de un pie inductor capaz de producirlo, sin estar sujetos a bajas temperaturas o haber sido sometidos a ellas en caso de que lo requieran.

Varios trabajos realizados con remolacha, cereales finos, crisantemo y otras especies han demostrado que la parte receptiva al frío, donde se desarrolla el proceso de vernalización, está localizada en los meristemas apicales. Si se trata de semillas, se pueden vernalizar los embriones, o bien parte de ellos, cuando llevan dicho meristema. Para que el proceso se desarrolle, las estructuras meristemáticas deben estar en actividad. También se ha demostrado que parte de un órgano —por ejemplo, una hoja— es capaz de vernalizarse siempre que sus células se estén dividiendo. Así, las hojas de *Lunaria biennis* se vernalizan y el proceso se circunscribe a aquellas partes donde ocurre la división celular. Incluso se ha determinado una relación entre velocidad de vernalización y actividad mitótica.

Indudablemente, la vernalización implica un proceso bioquímico bien localizado que requiere condiciones muy definidas para su desarrollo. Una de ellas es la *mitosis*, ya mencionada, lo que la relaciona con ciertos aspectos del metabolismo de los ácidos nucleicos. Otra es la necesidad de oxígeno, lo que indica que se trata de reacciones oxidativas o que el proceso está estrechamente relacionado con la respiración. Esto parece confirmarse con la aplicación de inhibidores de las oxidases terminales que reducen los efectos de las bajas temperaturas. También es necesaria la presencia de azúcares, si bien no todos ellos son eficaces en la misma medida. Cuando es el grano entero el que se somete al frío, el proceso comienza con la germinación; si el tratamiento se realiza en el embrión, en un medio artificial con azúcar, el proceso comienza dos semanas después.

Otro factor que interfiere en la vernalización es la longitud del día. Al respecto se ha señalado que, en el centeno *Petkus*, las noches largas —o los días cortos— reemplazan al frío. Es posible que sólo cambien los límites de las temperaturas mínimas y máximas sin suprimir enteramente la necesidad de frío.

Algunos compuestos influyen sobre el

proceso acelerándolo o retrasándolo. Se ha observado que el AIA acelera la floración en ciertas especies, lo cual se ha relacionado con el efecto del frío. Las giberelinas ejercen una acción bien clara en varios casos: así, en plantas que necesitan vernalización—como la remolacha, *Mathiola incana*, el *Lolium perenne* y *Miosotis alpestris* no vernalizadas—, la GA₃ induce tanto el entallecimiento como la floración. En *Lolium multiflorum* sólo induce el entallecimiento. En el olivo, el AIA, la GA₃, la combinación de AIA y GA₃ y de GA₃ y GA₇ y el ABA son incapaces de satisfacer los requerimientos de frío. Las GA₇ y A₅ inducen la floración en *Miosotis alpestris*.

Como puede observarse, la reacción depende de la especie y del tipo de giberelinas, lo cual indica que éstas poseen una actividad específica. Podemos decir que, en algunas especies invernales o bienales, ciertas giberelinas inducen el entallecimiento, la floración o ambos procesos, sin necesidad de que la planta reciba frío. Como veremos más adelante, también actúan sobre la inducción del estado floral, lo que hace más incierto atribuirles un papel único en el proceso reproductivo.

También se ha considerado que los ácidos nucleicos desempeñan un papel fundamental en la vernalización, dada la persistencia del proceso así como su facultad general de mantenerse en los nuevos tejidos formados a partir de los ya vernalizados. Los ensayos se han llevado a cabo sobre la base de la aplicación de compuestos análogos a las "bases" que constituyen dichos ácidos y compiten con ellos, inhibiendo su síntesis.

Fotoperiodismo

Si bien existían trabajos que indicaban que los períodos diarios de luz actúan como inductores de la floración (Tournois, 1912; Klebs, 1918), los estudios que iniciaron las investigaciones sobre fotoperiodismo en su concepción actual,

parten de Garner y Allard (1920). Klebs atribuía la inducción floral a la alta relación de hidratos de carbono-nitrógeno en la planta, y consideraba que esta relación se logra a través de numerosas horas diarias de fotosíntesis. Como veremos el fotoperiodismo no es un proceso básicamente fotosintético.

Los trabajos de Garner y Allard abrieron un amplio campo a las investigaciones sobre este tema. La relación directa entre la longitud del día y la floración asoció esos dos procesos en forma estrecha e indicó un camino para el esclarecimiento del mecanismo que determina el cambio de crecimiento vegetativo en crecimiento reproductivo.

Estos autores comenzaron sus estudios con una variedad de tabaco—el Maryland Mammoth— y con soja Biloxi. La soja florece en otoño, cualquiera que sea la época de siembra, en tanto que en el tabaco Maryland Mammoth eso sucede en invierno, con días cortos, cuando se cultiva en invernáculo. Buscando las causas de este comportamiento, y luego de desechar otros factores, los investigadores sometieron a las plantas a días cortos—noches largas—, cubriéndolas cuando era necesario, y a días largos—noches cortas— prolongando el día natural con luz artificial. Ambas florecieron con días cortos. Posteriormente sometieron otras especies al mismo tratamiento y las dividieron en varios tipos, según su floración, como veremos luego.

A medida que los trabajos se realizaban se fue delineando una terminología que en la actualidad se encuentra en uso: *fotoperiodismo* es la reacción de la planta a la longitud del día o de la noche; *fotoperíodo* es la longitud del período luminoso; *escotoperíodo* es la longitud del período de oscuridad; *ciclo* es el lapso que normalmente consta de un fotoperíodo y un escotoperíodo. Cuando no hay especificación, el ciclo es de 24 horas; pero es común utilizar ciclos menores o mayores, por ejemplo de 8 horas, con fotoperíodos de 6 y escotoperíodos de 2 horas. *Fotoperiodicidad* es la composición de los ciclos

(longitud del fotoperíodo y del escotoperíodo). Ciclo *fotoinductivo* es aquél que determina la floración de un vegetal. *Fotoinducción* es la inducción del proceso de floración por medio de ciclos fotoinductivos.

Si bien el proceso fundamental a que se refiere el fotoperiodismo es la floración, según los trabajos iniciales, se han encontrado posteriormente otros caracteres que son afectados o fotoinducidos por los fotoperíodos, como la tuberculización, el crecimiento, la emisión de estolones, la longitud de los internodios, etcétera.

Según su fotoperiodismo las plantas han sido ahora divididas en los siguientes grupos: *longidiurnas*, *brevidiurnas*, *intermedias*, *longibrevidiurnas*, *brevilongidiurnas*, *indiferentes* y *anfifotoperiódicas*.

Se entiende por plantas longidiurnas aquéllas que florecen cuando la longitud del período oscuro es inferior a cierto límite (o la longitud del fotoperíodo es superior a cierto límite). A este grupo pertenecen *Hyoscyamus niger*, *Lactuca sativa*, *Chicorium endivia*, *Papaver somniferum*, *Raphanus sativus*, *Rubecchia bicolor*, *Spinacea oleracea*, *Beta vulgaris*, los cereales finos y otras.

Brevidiurnas son aquéllas que florecen cuando la longitud del período oscuro supera cierto límite (o la longitud del fotoperíodo es inferior a cierto límite). A este grupo pertenecen el tabaco *Maryland Mammoth*, *Glycine max* (Biloxi), *Xanthium pennsylvanicum*, *Pharbitis nil*, *Chenopodium rubrum*, *Chenopodium quinoa*, *Euphorbia pulcherrima*, cultivares de maíz y cultivares de arroz.

Se entiende por intermedias aquellas plantas que florecen cuando los días no son muy largos, por arriba de cierto límite, ni muy cortos, por debajo de cierto límite (o las noches muy largas por arriba de cierto límite o muy cortas por abajo de cierto límite). A este grupo pertenecen los cultivares de caña de azúcar, *Phaseolus polystachyus*, *Eupatorium torreyanum*, *Mikania scandens* y otras.

Longibrevidiurnas son aquéllas que requieren dos períodos con ciclos fotoin-

ductivos de fotoperiodicidad diferente, el primero con característica de longidiurna, el segundo con característica de brevidiurna. A este grupo pertenecen *Bryophyllum crenatum*, *Bryophyllum verticillatum*, *Cestrum nocturnum*.

Las brevilongidiurnas requieren también períodos con dos ciclos inductivos de fotoperiodicidad diferente. En este caso el orden es, primero, ciclos de días cortos y luego ciclos de días largos, como ocurre con *Dactylis glomerata*, *Trifolium repens* y *Campanula medium*.

Las denominadas anfifotoperiódicas florecen cuando los días son muy largos o muy cortos. Así, *Nadia elegans* florece con 8 o más de 18 horas de luz, pero no con días de 12 a 14 horas. *Setaria verticillata* responde de una manera semejante.

Las plantas indiferentes son aquéllas que florecen con cualquier longitud del día, como ocurre con el girasol y la tomatera.

Los diversos grupos de plantas pueden comportarse de dos maneras: con una reacción absoluta o cualitativa y con una reacción cuantitativa. De reacción cualitativa son aquéllas que no florecen si no se las somete a la fotoperiodicidad y número de ciclos inductivos necesarios, y permanecen vegetativas por tiempo indefinido. Cuantitativas son aquéllas que terminan finalmente por florecer, aunque eso ocurra muy tardíamente, si se las mantiene con períodos adversos. Dentro de las cualitativas encontramos *Hyoscyamus niger*, *Trifolium pratense* y otras, la primera de las cuales se ha mantenido hasta 9 años bajo condiciones fotoperiódicas no inductivas sin que llegue a reproducirse.

Los diversos grupos de reacciones fotoperiódicas pueden esquematizarse según el cuadro 1.

Los períodos poseen límites relativamente ajustados: una variación de 20 minutos puede determinar que una planta florezca o no pues esos 20 minutos representan aproximadamente el 1,5 % del ciclo total de 24 horas.

Los ciclos de inducción fotoperiódica

Cuadro 1. Tipos de plantas por su reacción fotoperiódica.

CICLO HORAS		Brevi-díurno	Longi-díurno	Inter-medio	Aerifo-toperiódica	Longi-brevi-díurno		Brevi-longi-díurno		Indife-rente
Luz	Oscuridad					Primeros ciclos	Segundos ciclos	Primeros ciclos	Segundos ciclos	
24	0									
		-		-	+			-	+	
18	6					+				
			+				-	-		
12	12			+	-					+
		+					+			
6	18							+	-	
			-	-	+					
0	24									

Referencias. Las 2 columnas de la izquierda indican el período de luz y el de oscuridad correspondientes a un ciclo (24 horas); puede variar desde luz continua hasta oscuridad continua. Tanto las brevidíurnas como las longidíurnas suelen requerir un breve período inicial de alta intensidad de luz. El sector de cada columna que incluye el signo (+) indica la longitud del fotoperíodo (o bien del período de oscuridad) bajo el cual la planta florece; el signo (-) bajo el cual no florece. Las líneas horizontales que separan los sectores (+) y (-) indican el límite entre el período de luz y oscuridad donde la planta florece y no florece respectivamente. Así una longidíurna sometida a fotoperíodos inferiores a 8 horas o cuyo período de oscuridad sea superior de 16 horas, no florecerá. Este límite es variable y depende de la especie o cultivar.

no son requeridos durante toda la fase vegetativa de la planta sino durante un lapso que depende de la especie, forma botánica o cultivar. Este período inductivo puede suministrarse en cualquier

momento, después de transcurrida la fase juvenil o después del período de vernalización, siempre que la planta lo requiera. Existen casos especiales, por ejemplo *Chenopodium rubrum*, una bre-

vidiurna que puede florecer en estado cotiledonal, cuando aún no se desarrollaron las hojas normales.

Si luego de cumplido el período de inducción fotoperiódica la planta es transferida a períodos adversos, el proceso se desarrolla normalmente siempre que se le suministre las condiciones del medio necesarias para su crecimiento.

El número de ciclos fotoperiódicos inductivos es muy variable. Algunas especies necesitan sólo un ciclo, por ejemplo *Xanthium pennsylvanicum*, *Pharbitis nil* y otras del grupo de las brevidiurnas, y *Lolium temulentum* del de las longidiurnas, mientras que otras necesitan más de uno. En algunas, la respuesta está relacionada con el número de ciclos inductivos. Así, en la soja Biloxi la cantidad de flores depende de los ciclos hasta que éstos llegan a 7, en que la floración comienza a ser plena. En *Xanthium pennsylvanicum*, a medida que aumentan los ciclos el desarrollo que alcanzan las inflorescencias es mayor, hasta que logra una estructura y tamaño más completos.

Brevidiurnas. Algunas de ellas pueden florecer en oscuridad continua cuando contienen reservas suficientes, pero lo común es que un período de alta intensidad de luz en presencia de CO₂ favorezca el proceso. Como el efecto de la luz puede reemplazarse con azúcares, se ha considerado que se trata de un lapso fotosintético. Un período luminoso largo no es inhibitorio siempre que no supere ciertos límites. Lo importante es el período de oscuridad, que no debe ser inferior a un lapso crítico y tampoco debe ser interrumpido, lo que indica que en esas condiciones se desarrollan los procesos determinantes de la floración, es decir que en la oscuridad se produce la inducción. Antes del período oscuro es conveniente la luz de alta intensidad; su prolongación posterior es inhibitoria. La facultad inhibitoria del período de luz se pone de manifiesto aun en hojas no inducidas por la oscuridad.

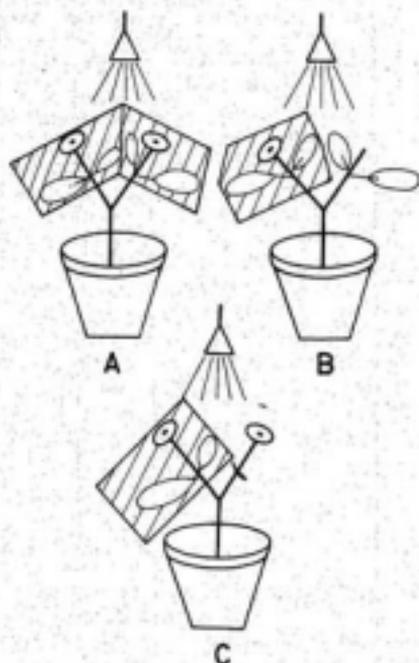


Figura 206. Plantas de perilla con tallo biforcado; A) las dos ramas sometidas a días cortos, ambas florecen; B) la rama de la izquierda fue sometida a días cortos y la de la derecha a días largos, esta última no florece; C) la rama de la izquierda fue sometida a días cortos, la de la derecha a días largos y defoliada; ambas florecen. Se deduce que los fotoperíodos largos inhiben la floración, actuando sobre las hojas que no recibieron la fotoperiodicidad inductiva.

Por ejemplo, si una rama de perilla es inducida con ciclos de día corto, el estímulo puede trasladarse a una rama lateral. La floración en ésta se inhibe si sus hojas son sometidas a fotoperíodos largos, pero florece normalmente si la rama es defoliada (fig. 206).

Longidiurnas. Pueden florecer normalmente con luz continua de baja intensidad. Como ocurre con las brevidiurnas,

un lapso de alta intensidad favorece la floración, transcurrido el cual, el período de luz puede ser de muy baja intensidad. Algunas florecen con ciclos cortos de luz, por ejemplo de 6 horas, seguidos por 6 de oscuridad, lo que sugiere que lo importante es el efecto negativo de la oscuridad, o sea que el período oscuro es inhibitorio. Algunas florecen en la oscuridad cuando se las defolia, y si posteriormente se les injertan hojas, la inducción se anula.

Como ya hemos visto, cuando la oscuridad supera cierto límite —variable según la especie— la planta no florece. El número mínimo de ciclos inductivos depende de la longitud del fotoperíodo, pues mientras más corto es éste —o cuanto más largo es el período oscuro— mayor es el número necesario para que la planta florezca.

En otros casos, como ocurre con los cereales finos invernales, los ciclos luminosos largos no determinan la formación de los primordios florales, los cuales aparecen después de cumplido el proceso de vernalización, sino que ocasionan el entallecimiento activo de la planta y el crecimiento de dichos primordios y su diferenciación en flor. El número de días entre la aparición del estado reproductivo (doble lomo) y la antesis depende de la longitud del fotoperíodo. En el trigo Lin Calel, que no necesita bajas temperaturas, el período más corto entre la germinación y la antesis se produce con luz continua y disminuye exponencialmente hasta los fotoperíodos de 6 horas, con los cuales no entallece.

RECEPCION DEL ESTIMULO FOTOPERIODICO

A diferencia de lo que ocurre en la vernalización, donde el lugar de percepción del estímulo es el ápice de los tallos, numerosos ensayos han demostrado que, en el proceso fotoperiódico, la percepción del estímulo (ciclo fotoperiódico) se realiza en las hojas. Estos estudios se dividen en dos tipos funda-

mentales: uno de ellos, sometiendo a las hojas y los ápices a distinta fotoperiodicidad; el otro, por medio de injertos de hojas previamente inducidas, sobre plantas no inducidas.

A poco tiempo de descubierto el fotoperiodismo varios autores realizaron experimentos en diversos países, como el que se señala en la figura 207.

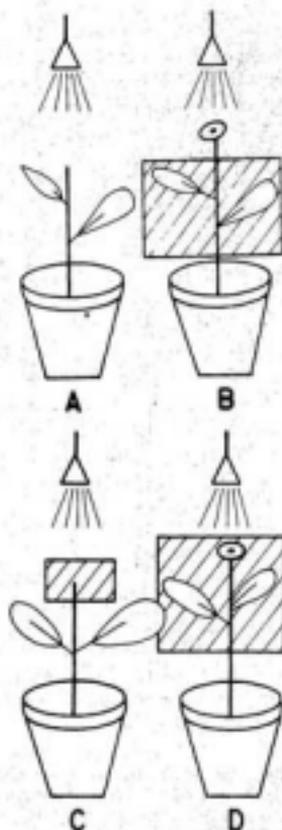


Figura 207. Plantas brevidiurnas, sometidas a días largos, excepto la parte recuadrada que indica días cortos: A) totalmente expuesta a días largos; B) hojas expuestas a días cortos, y ápices a días largos; C) ápice a días cortos y hojas a días largos; D) ápice y hojas sometidos a días cortos. Florecen las plantas de los tratamientos B) y D). Si se trata de una longidiurna florecerán las de los tratamientos A) y C).

Otros experimentos, realizados sobre la base de injertos de hojas inducidas fotoperiódicamente en plantas no inducidas y mantenidas bajo ciclos adversos, también demostraron que el estímulo fotoperiódico se recibe en las hojas (figura 208).

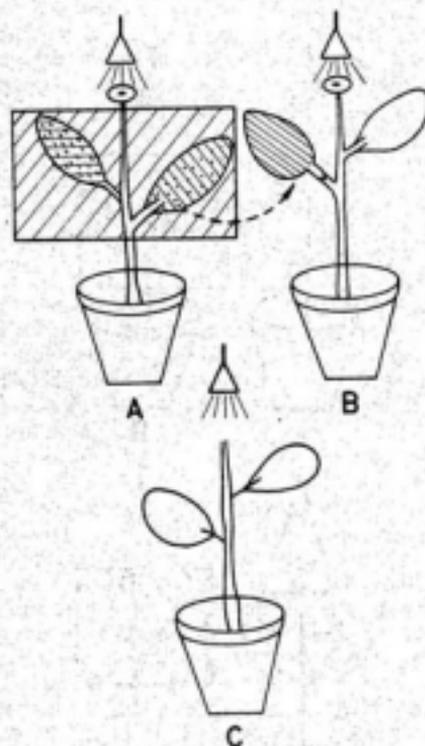


Figura 208. A) Planta patrón mantenida a día corto; florece. B) Planta brevidiurna sometida a días largos a la cual se ha injertado una hoja fotoinducida bajo días cortos; florece. C) Planta patrón sometida a días largos; no florece.

Este comportamiento indujo a suponer la intervención de un compuesto denominado "florigen", de carácter hormonal (Chailakhyan, 1936). El estímulo se traslada por tallos y pecíolos a los ápices en

actividad donde ejerce su acción, en cualquier dirección, hacia arriba o hacia abajo. En *Beta vulgaris* se ha trasladado de una rama a otra, estimulada por el traslado de productos de la fotosíntesis. En *Agave americana*, cuando florece y se corta el escape floral, el estímulo se traslada hacia algunos hijuelos conectados subterráneamente. No existe un tejido especial por el cual se desplace, e inclusive se ha trasladado a través del tejido constituido al unirse dos tallos en un injerto de aproximación, donde no existían vasos leñosos ni tubos cribosos. No obstante, parece hacerlo más activamente por el líber, en dirección de los productos de la fotosíntesis, a una velocidad de milímetros por hora, muy inferior a la de aquéllos.

La mayor o menor capacidad inductora de las hojas depende de varios factores y condiciones. La edad es importante; de modo que, en este aspecto, debemos distinguir entre edad de la hoja y edad de la planta, según lo expresado con anterioridad. Por edad de la hoja se entiende el tiempo transcurrido entre la aparición del primordio foliar y el momento que se considera. Por edad de la planta, el transcurrido desde el momento de la germinación hasta la constitución de la hoja que se considera. Así, las hojas superiores tienen mayor madurez, en lo que respecta al estado reproductivo, porque están más alejadas de la germinación, pero son órganos jóvenes según el tiempo de crecimiento transcurrido a partir de sus primordios. En algunas especies, las hojas no son receptivas al fotoperíodo hasta que aparece cierto número de ellas, es decir hasta que la planta alcanza una determinada edad. Este lapso puede corresponder a un período juvenil morfológico bien manifiesto o a un período juvenil que sólo se traduce por esta incapacidad. En otros casos, la inducción se logra desde el estado cotiledonal, como ocurre con el rabanito, *Pharbitis nil* y *Chenopodium rubrum*.

En lo que respecta a la edad de la hoja, normalmente ésta es receptiva al

fotoperíodo cuando alcanza su tamaño mayor, como se observara en el crisantemo y la soja. En *Xanthium*, esto sucede antes que las hojas alcancen dicho tamaño.

La superficie foliar mínima expuesta a los ciclos fotoinductivos y capaz de inducir la floración es también un carácter específico. En general, es suficiente la presencia de una fracción de hoja o, en ciertos casos, la fracción de un cotiledón (soja, *Lolium*, *Perilla*, *Pharbitis*). Dentro de cierta amplitud se suele producir un aumento de la floración, a medida que aumenta la superficie, hasta un valor en que el estímulo se manifiesta plenamente.

En lo que respecta a la persistencia de los procesos que comprenden fotoperiodismo, se debe diferenciar entre: 1) la estabilidad de la capacidad de una hoja fotoinducida para producir el estímulo floral, 2) la estabilidad o permanencia de dicho estímulo, y 3) la estabilidad del estado reproductivo determinado por el fotoperíodo.

Como hemos visto, se requiere cierto número de ciclos inductivos, transcurridos los cuales la planta puede florecer en condiciones fotoperiódicas adversas.

Concluidos estos ciclos, la persistencia del carácter de planta fotoperiódicamente inducida, que queda impreso en las hojas, es muy variable y depende de la especie. En algunas de ellas se revierte con el tiempo (*Anagallis*, soja); en otras, el estado de inducción persiste en las hojas mientras ésta vive, como ocurre en *Perilla* y *Potentilla*. En *Perilla*, una hoja fotoinducida, injertada sucesivamente en siete plantas distintas, provocó la floración de todas ellas, lo que indica la estabilidad del proceso. Se ha tratado de revertir el carácter de hoja fotoinducida por medio de la luz, de altas temperaturas y con compuestos como el 2,4-dinitrofenol y auxinas, con resultados negativos, lo cual indica que es muy persistente y posiblemente se trate de un estado estructural que implica una actividad enzimática específica.

En general, la capacidad fotoinductora de la hoja permanece localizada en este órgano, pero existe otro tipo de comportamiento en *Xanthium*, en la cual no queda restringida a la hoja que ha recibido el estímulo fotoperiódico, sino que se transmite también a aquéllas no expuestas a los ciclos inductivos. Esta modalidad a la que podemos llamar "inducción secundaria", se caracteriza porque las hojas que reciben directamente el estímulo fotoperiódico presentan un carácter irreversible, mientras que las hojas que fueron inducidas en forma secundaria pierden con lentitud tal propiedad. Es interesante señalar que *Xanthium*, como ya se ha dicho, puede ser inducido parcialmente, lo que implica que las inflorescencias alcanzan un desarrollo limitado según el número de ciclos inductores. Las hojas fotoinducidas secundariamente se comportan igual y también son activadas en un determinado grado, según el número de ciclos inductores recibidos por la hoja fotoinducida directamente.

De acuerdo con lo dicho, es evidente que el estímulo fotoperiódico se recibe en las hojas, donde se sintetiza el compuesto (o compuestos) que se traslada al lugar de acción, que son normalmente los ápices de los tallos. Es indispensable que la planta posea ápices o yemas en actividad para que el compuesto inductor (florigen) actúe sobre ellos y transforme su crecimiento vegetativo en reproductivo. Este requerimiento, así como la inducción fraccionada, ha permitido estudiar el tiempo que el florigen permanece con actividad inductora; en general, si no actúa porque faltan yemas en actividad, desaparece aproximadamente a los tres días.

Como el estado reproductivo subsiste durante un lapso indefinido, debe considerarse que se trata también de una estructura bioquímica de los tejidos que se mantiene a través de su crecimiento y que podría ser de carácter enzimático, posiblemente bajo el control de los ácidos nucleicos, dado que la hormona floral no es estable.

Si, como hemos visto, un "pie" con hojas de cualquier tipo fotoperiódico (longidiurna, indiferente, etcétera) puede inducir la floración en un injerto correspondiente a cualquier otro tipo (intermedia, brevidiurna, etcétera), es legítimo considerar que el estímulo floral (florigen) es, en todos los casos, de la misma naturaleza química, o sea que se trata de un compuesto (o compuestos) de estructura química igual o similar. Si ello es así, las diferencias entre las plantas de distinto fotoperiodismo (por ejemplo entre longidiurnas y brevidiurnas) residen en el "mecanismo" que sintetiza la hormona, ubicado en la hoja. En otras palabras, se trataría de la síntesis de un compuesto a través de diferentes "rutas metabólicas" controladas por diferentes condiciones del medio.

MECANISMO DE LA INDUCCION FOTOPERIODICA

En general, los ciclos cortos (6 horas) con períodos cortos (3 horas de luz y 3 horas de oscuridad) no inducen la floración en las brevidiurnas, pero los mismos ciclos son inductores en las longidiurnas. Este comportamiento sugiere un efecto inhibitor del período de luz e inductor de la oscuridad.

De importancia decisiva resulta la información obtenida con experimentos en los que se interrumpe el período de oscuridad. Si a los ciclos de días cortos (noche largas) se les interrumpe el período de oscuridad durante lapsos breves de luz intensa, las brevidiurnas —que florecerían normalmente— son inhibidas, mientras que las longidiurnas florecen, lo que no sucedería sin dicha interrupción (fig. 209).

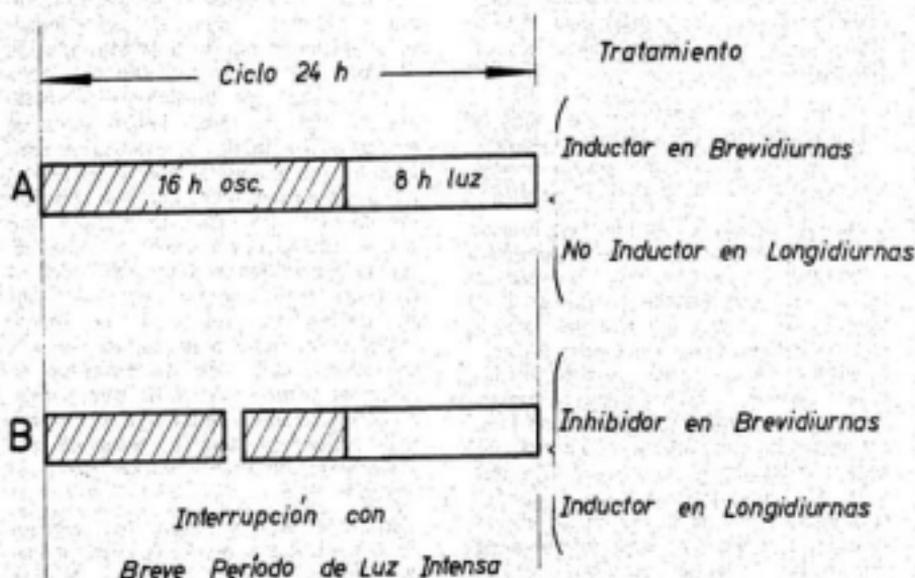


Figura 209. Interrupción del período oscuro largo (16 h). Acción sobre brevidiurnas y longidiurnas.

El efecto de esta interrupción con luz es mayor a las 8 horas, a partir del comienzo de la oscuridad, y disminuye hacia ambos lados, hasta desaparecer, al acercarse al período luminoso anterior o posterior al lapso oscuro (fig. 210).

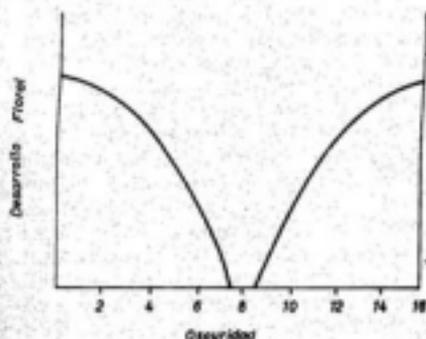


Figura 210. El efecto inhibitor de la interrupción con luz a nivel de energía constante sobre el desarrollo floral de una brevidiurna (*Xanthium*). La interrupción a las 8 h de comenzado el período oscuro manifiesta mayor actividad. A medida que se desplaza hacia el comienzo y hacia el final de dicho período, disminuye su eficacia. (Salisbury, E. y J. Bonner, 1956).

Este comportamiento indica que la oscuridad es de importancia fundamental en todo tipo de planta. Por otra parte, también es importante un breve período de luz de alta intensidad antes del período oscuro, posiblemente como proceso fotosintético cuyos productos alimentan las reacciones posteriores.

El estudio de las radiaciones de distinta longitud de onda en la interrupción del período oscuro indicó que dos radiaciones son fundamentales, no sólo en la respuesta reproductiva a la fotoperiodicidad, sino también en otros procesos fotomorfogénicos. La interrupción más eficaz se produce con la λ 660 nm (rojo cercano) y, a la vez, el efecto de la λ 660 nm es anulado por irradiación con la λ 730 nm. La última radiación recibida es la que prevalece; si es la λ 660 nm, inhibe en las brevidiurnas e induce en los

longidiurnas; si es la λ 730 nm, induce en brevidiurnas e inhibe en las longidiurnas. Es decir que la λ 730 nm se comporta como oscuridad, pero en forma más intensa.

La acción de la luz y el comportamiento de las plantas se debe a la presencia de un compuesto fotorreceptor estudiado inicialmente por Borthwick y Hendricks, cuyo espectro no coincide con ninguno de los pigmentos conocidos hasta entonces. Posteriormente se determinó que el compuesto (*fitocromo*) tiene la propiedad de cambiar entre dos formas, una de ellas la denominada fitocromo 660 (Pr), que es capaz de absorber energía radiante de esa longitud de onda y transformarse en la forma fitocromo 730 (Pfr). El Pfr, a su vez, puede absorber energía de λ 730 y desaparecer o transformarse en Pr. Este último proceso también se produce en la oscuridad, al parecer en forma más lenta.

La actividad de la radiación de la λ 730 nm depende del tiempo que transcurre desde la aplicación de la λ 660 nm. Si la λ 730 nm se aplica inmediatamente, el efecto de la λ 660 nm se anula en su totalidad; a medida que transcurre el tiempo, la λ 730 nm va perdiendo eficacia, de manera que a los 60 minutos o más, el Pfr se comporta como irreversible. La luz necesaria para la conversión es de baja intensidad. El Pfr se considera la forma fisiológicamente activa, pero los diferentes tipos de planta responden en forma distinta. Tanto la presencia de Pfr, por encima de un umbral mínimo, como la ausencia, puede inhibir o inducir la floración, sea en las brevidiurnas o en las longidiurnas. Las condiciones de actividad son variables y dependen de la concentración de Pfr, del tipo de planta, de la especie, del momento en que se encuentra la concentración crítica, etcétera. Así, en algunas brevidiurnas, un alto nivel aproximadamente en la mitad de la noche produce un efecto inhibitor, mientras que en otras es inductor. Los bajos niveles inhiben. En ciertas longidiurnas, el Pfr presente a medianoche o cerca

de ella induce la floración, mientras que, en otras especies, los altos niveles al comienzo de la noche la inhiben. Se ha demostrado, también la intervención de un sistema de alta energía (SAE) similar al que actúa en otros procesos como es el de la inhibición de la germinación.

El Pfr debe ejercer su actividad antes de ser convertido a la forma inactiva (Pr) o ser destruido. Si al período de interrupción con la λ 660 nm no le sigue un período de λ 730 nm, la desaparición de Pfr es lenta y permanece el tiempo suficiente como para poder actuar (fig. 211).

Cuando el período oscuro largo —fotoinductor en las brevidiurnas e inhibidor en las longidiurnas— se interrumpe con luz, la energía lumínica aplicada para la reversión es constante desde las tres horas y media, lo que indica que en este lapso ya se ha completado la formación de Pfr. En consecuencia, el período oscuro restante, hasta ocho horas, cumple otra función que no es la de conversión del pigmento. Esto indica la presencia de otro proceso que transcurre en un lapso

exacto de tiempo. Por otra parte, si no fuera así, una fuerte iluminación roja (λ 660 nm) al comienzo del período oscuro debería acortar las horas necesarias de este lapso, lo cual no ocurre en todos los casos. El período completo de inducción (ciclo) ha sido dividido en varias partes: 1) proceso a alta intensidad de luz (fotosintético); 2) conversión del pigmento (hasta tres horas y media); 3) proceso desconocido (que ocupa un lapso fijo), hasta ocho horas; y 4) síntesis del estímulo floral. A estos pasos deben agregarse: 5) estabilización del estímulo; 6) traslado, que es favorecido por la luz, posiblemente por la corriente de los productos de la fotosíntesis; y 7) diferenciación del primordio floral (figura 212).

Todo este mecanismo ha sido delineado sobre la base de estudios realizados principalmente en plantas brevidiurnas (*Xanthium*, *Pharbitis* y otras), y es probable que sea general entre ellas. Pero debemos recordar que existen numerosas especies de éste y otros tipos de reacción fotoperiódica (longidiurnas, in-

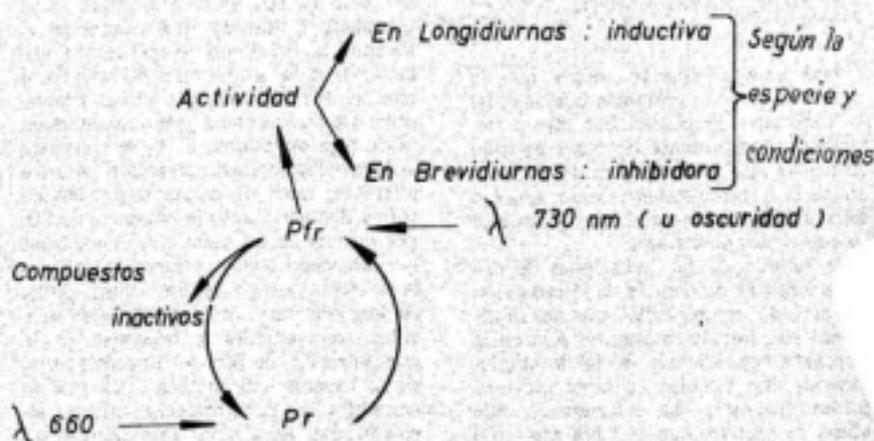


Figura 211. Cambios de fitocromo Pr por radiaciones con λ 660 nm y fitocromo Pfr por radiaciones con λ 730 nm. La forma activa es Pfr, que inhibe en brevidiurnas e induce en longidiurnas, según la especie, momento en que se encuentra una alta concentración y otras condiciones.

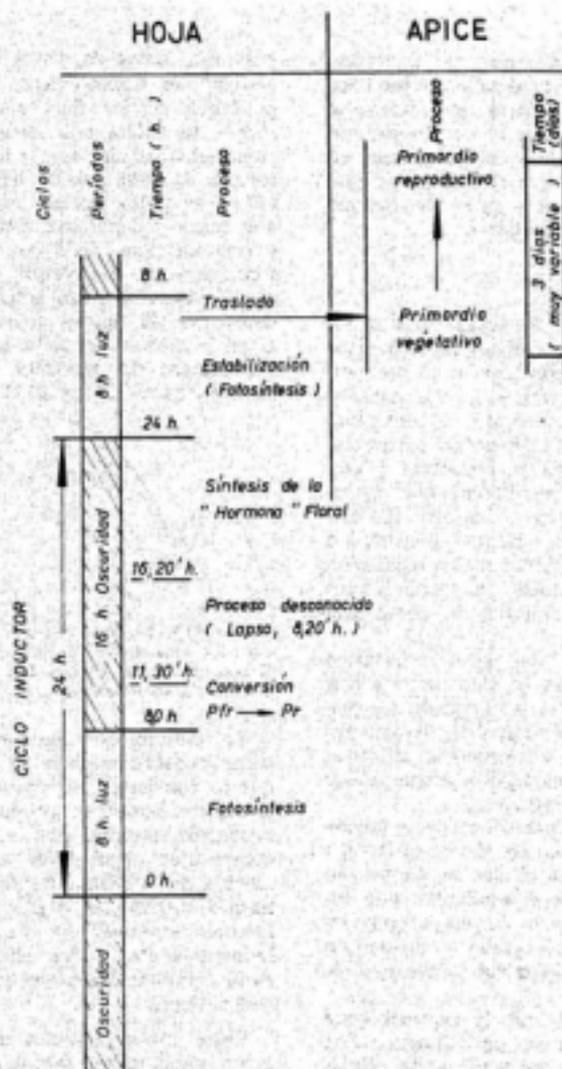


Figura 212. Procesos que ocurren durante un período inductivo de una brevidiurna. Las horas de luz son estimulantes al parecer a través del proceso fotosintético. Antes de las 3,5 h de oscuridad se ha completado la conversión del fitocromo. Le sigue un lapso bien medido hasta 8h 20 minutos que posiblemente corresponda a la estructuración del mecanismo sintetizador del estímulo floral. Favorecido por la luz (fotosíntesis) el estímulo se estabiliza y traslada hacia los ápices. El primordio vegetativo se transforma en reproductivo por estímulo hormonal y comienza su desarrollo bajo temperaturas y fotosíntesis adecuadas. Es de suponer que en las plantas que necesitan más de un ciclo inductor el estímulo se acumule hasta superar el nivel crítico, cuando comienza la transformación del ápice. En otros casos el grado de desarrollo floral depende del número de ciclos inductivos.

diferentes, etcétera) que no han sido estudiadas con tanto detalle, lo que hace posible que posean otros mecanismos de control. No obstante, como el estímulo en todas ellas es de la misma naturaleza, debemos suponer que el mecanismo que lo dirige es básicamente uniforme, aunque con diferencias cuantitativas.

Cambios en el ápice

El proceso de floración implica un cambio de los fenómenos morfogénicos del ápice que transforman su crecimiento vegetativo, indeterminado, con emisión de hojas, en crecimiento reproductivo, determinado, con emisión de piezas florales (sépalos, pétalos, estambres y carpelos), con sus correspondientes gametófitos. Tal vuelco implica la culminación, sea de un cambio continuo o bien de pasos previos, por una regulación interna y de factores del medio. Estos cambios se han considerado como una ontogenia apical.

La estructura del ápice vegetativo de un angiosperma ha sido descrita con arreglo a dos criterios: a) según los planos de división celular, y b) de acuerdo con la actividad y frecuencia mitótica, así como según los tejidos, estructuras y órganos a que da lugar.

En el primer caso, el ápice se divide en *túnica* y *corpus*. La *túnica* es la capa externa donde las células se dividen en forma anticlinal (perpendicular a la superficie apical), y el *corpus* o zona interna, es donde las células se dividen en forma periclinal (paralela a la superficie apical).

En el segundo caso, y especialmente en las dicotiledóneas, se distinguen tres regiones: 1) una zona apical de células grandes y vacuolizadas, cuyos citoplasmas se tiñen débilmente con pironina, lo cual indica menor concentración de ARN. Tienen, además, una lenta incorporación de timidina H_3 , que es un compuesto precursor del ADN, lo cual indica también una síntesis menor de este compuesto. Esta zona, relativamente inactiva de los meristemas vegetativos, ha sido de-

nominada *meristem d'attente* por los investigadores franco-belgas. 2) Una zona periférica en los flancos del ápice, en forma de anillo, con frecuentes mitosis, cuya actividad da lugar a los primordios foliares. Corresponde al llamado *anneau initial*, o anillo inicial. Sus células son más chicas y tienen una activa síntesis de ácidos nucleicos. Da lugar, también, a la formación de la corteza, epidermis y procámbium. 3) Una zona central, por debajo de la apical, cuyas células originan la médula del tallo, la cual ha sido denominada *rib meristem*, o meristema central (figuras 213 y 214).



Figura 213. Esquema de un ápice. Referencias: 1) zona apical; 2) zona periférica o del flanco, y 3) zona central. Las expansiones 4) y 5) son primordios de hojas.

En determinado momento, el ápice sufre transformaciones en su estructura que lo convierten en reproductivo. Estas transformaciones se producen por una regulación interna, por la influencia de compuestos reguladores activos provenientes de la planta o producidos en el mismo meristema, o por influencia de factores externos que actúan *in situ*. Evidentemente, todos ellos operan directa o indirectamente sobre los sistemas enzimáticos.

Entre los compuestos activos producidos por el mismo meristema se encuentran las auxinas, y, entre los provenientes de la planta, el estímulo fotoperiódico. Como factores externos que actúan *in situ* se encuentran las temperaturas, que requieren además otros factores no específicos, como O_2 y azúcares, de acuerdo con lo ya estudiado. Debemos agregar que la planta le provee nutrientes, como aminoácidos, amidas y

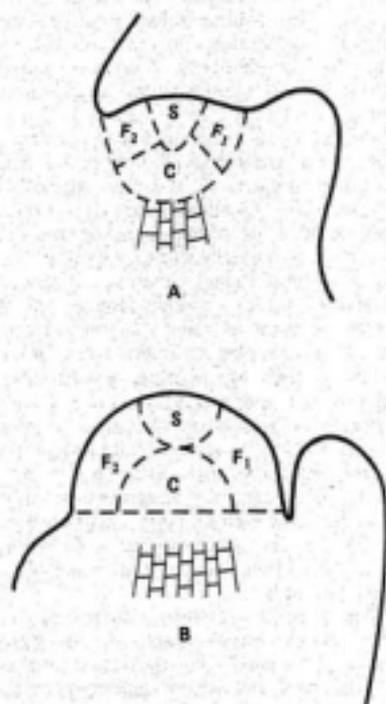


Figura 214. Apice de *Datura stramonium*, según G.E. Corson (1969). Referencias: S = zona apical; F = zona de los flancos (periférica); C = zona central; A = en estado vegetativo, B = en estado reproductivo.

otros, que alimentan la síntesis de proteínas, en particular la de los sistemas enzimáticos, que se va produciendo en el ápice.

Los primeros síntomas de la inducción se revelan en el estado "prefloral", en el cual se observan cambios estructurales y funcionales que dan lugar a la formación del ápice reproductivo. Se ha observado en varias especies, tanto en squillas que poseen flores solitarias como en las que tienen inflorescencias —como en *Myosorus* y *Lupinus*, respectivamente— y en todos los casos son similares, lo cual

sugiere que las transformaciones tienen un carácter muy general.

El estado "prefloral" se caracteriza por una mayor afinidad de las células de la zona apical por los colorantes de los ácidos nucleicos, y porque tienden a desaparecer las regiones típicas del estado vegetativo. También se incrementa el número de células que duplican el ADN, y debido a las mitosis subsiguientes aumenta el tamaño del ápice. Se manifiesta una activación general del metabolismo, la cual inclusive se refleja en el aumento del diámetro de los nucléolos de todas las zonas.

Las zonas del flanco, o *anueu initial*, dan lugar a las piezas del perianto que conservan el orden filotáxico de las hojas para luego cesar su actividad y desaparecer. Todo indica que los órganos florales fértiles (carpelos y estambres) provienen, en última instancia, de la zona axial (central).

Exteriormente, el ápice floral se diferencia del vegetativo por su mayor tamaño y su forma de cúpula. Cuando se trata de un capítulo, toma una conformación aplanada y en su parte superior se constituyen los primordios que dan lugar a las flores.

Se ha descrito una "fase intermedia" ubicada entre el estado vegetativo y el "prefloral". Se observa en las plantas que reaccionan a la longitud del día, sometidas a fotoperíodos adversos durante un tiempo prolongado. Los meristemas adquieren una estructura citológica que no es la vegetativa típica, los tejidos toman características más acentuadas de "meristemas" en el eje central, las células adquieren un tamaño mayor al situarse en forma periclinal y, en conjunto, presentan una mayor sensibilidad a la longitud del día. Así, *Flaveria bidentis* es una brevidiurna que requiere más de veinte ciclos inductivos para florecer; pero luego de un tiempo prolongado bajo períodos adversos, florece con rapidez en menos de quince días. La fase intermedia también ha sido observada en especies invernales que necesitan ser vernalizadas.

Considerando todos los procesos que hemos estudiado anteriormente, el ápice de una planta que requiere vernalización y fotoinducción pasaría, durante su ciclo completo, por las siguientes fases: de embriogénesis; juvenil; de vernalización; de fotoinducción; prefloral y reproductiva.

Metabolismo del estímulo floral. Hemos visto que el estímulo floral, cualquiera que sea la naturaleza química y el tipo de planta del cual proviene, no presenta ninguna característica específica ni distinción fisiológica entre los diferentes tipos de planta (brevidiurnas, longidiurnas, etcétera), lo cual induce a pensar que se trata del mismo compuesto o complejo de compuestos. Este no ha podido ser extraído aún, lo que puede atribuirse a varias causas, como su inestabilidad química o su misma complejidad, en el sentido de que estaría constituido por varios compuestos.

La floración, en ciertas especies, ha sido relacionada con compuestos como las giberelinas, las auxinas, las cininas y otros. Antes de estudiar este aspecto debe entenderse que existe una distinción bien neta entre el proceso de entallecimiento, o sea el alargamiento del tallo en cuyo extremo se forma la flor, y la floración en sí. Es posible, en ciertos casos, provocar el alargamiento del tallo florífero de una especie arrosada sin que ésta florezca y, por otra parte, obtener flores "sentadas" sin el entallecimiento de la rama florífera, tal como se ha hecho con *Rudbeckia bicolor*.

La giberelina A_3 ha inducido la floración en varias especies longidiurnas mantenidas bajo ciclos fotoperiódicos adversos, como *Hyoscyamus niger*, *Chicorium endivia*, *Lactuca sativa*, *Rudbeckia bicolor* y *Spinacea oleracea*.

En algunas especies, ese efecto lo producen otras giberelinas (giberelinas A_4 y A_7). La giberelina A_3 también indujo la floración en plantas que requieren vernalización, como la remolacha, las coles y la zanahoria, con temperaturas adversas para dicho proceso. Generalizando, po-

demostramos decir que las giberelinas reemplazan a los fotoperíodos inductivos en ciertas longidiurnas, lo cual no ocurre con las brevidiurnas. También reemplazan a la vernalización en algunos casos.

No obstante esta actividad positiva, por varias causas las giberelinas no han sido consideradas el "estímulo floral" o florigen. Una de ellas es que el estímulo fotoperiódico se diferencia netamente del proceso de vernalización, mientras que las giberelinas suelen reemplazar a ambos procesos en forma similar. Otra es que el estímulo floral es único, cualquiera que sea el tipo de planta (longidiurnas, brevidiurnas, etcétera), mientras que las giberelinas sólo inducen la floración en algunas longidiurnas. Además, ciertas giberelinas (A_3) actúan sobre unas especies en tanto que otras (A_4 y A_7) obran sobre especies diferentes. A todo ello debemos agregar que existen casos en que las giberelinas inhiben la floración o la dificultan, como ocurre en *Eragrostis curvula*.

Este comportamiento diferencial separa claramente el efecto de las giberelinas de aquél del estímulo fotoperiódico, que es único y constante en su acción. De cualquier forma, es evidente que las giberelinas tienen un papel importante en el metabolismo de los procesos de la reproducción.

Chailakhyan ha supuesto la presencia de dos factores que actúan en el proceso de floración, uno de ellos serían las giberelinas, que provocarían el entallecimiento, y, el otro, la *antesina*, que induciría la formación floral. Las longidiurnas, en días cortos, contendrían antesina, pero no giberelina, y las brevidiurnas, por lo contrario, en condiciones de días largos, contendrían giberelina, pero no antesina. Algunos experimentos indican un comportamiento que no coincide con esta hipótesis. Así, una longidiurna, a días cortos —a los cuales se les aplica giberelina—, debería florecer según dicha hipótesis, lo cual no ocurre siempre.

Por otra parte, ciertos inhibidores—algunos de ellos de la acción de las giberelinas— aplicados a plantas en condiciones adversas, han inducido la floración. De esta manera se comportan el ácido abscísico, la hidrazida maleica, el CCC y otros. Las auxinas también han sido asociadas con la floración, porque, por ejemplo, aplicadas en *Xanthium*, mantenido bajo días cortos inductores, reducen la floración, por lo cual se considera que actúan como inhibidores. Por lo contrario, en el caso de la planta de ananás (piña), se utilizan en escala comercial para inducirla.

Es evidente que el metabolismo que se desarrolla en los ápices es sumamente complejo, lo mismo que la morfología interna y externa de los procesos reproductivos que se desarrollan en él y que cualquier deficiencia o exceso de los factores múltiples que intervienen (florigen, auxinas, giberelinas, temperaturas, etcétera) determinan una inhibición o bien un estímulo.

Hay trabajos que relacionan la inducción reproductiva con el metabolismo de los ácidos nucleicos. De manera semejante a lo que ocurre en el estudio de otros fenómenos, consisten en la aplicación de precursores radiactivos o bien de compuestos análogos a los precursores de la síntesis de los ácidos ribonucleico o desoxirribonucleico. Estos últimos actúan como antimetabolitos e inhiben el proceso por competencia. La inhibición es revertida por la aplicación del precursor correspondiente.

Los inhibidores pueden aplicarse en las hojas, donde se sintetiza el compuesto hormonal, o bien en el ápice, donde actúa. En *Xanthium*, el 5-fluorodesoxiuracilo—inhibidor del ADN— es activo cuando se aplica al comienzo del período oscuro, y la inhibición es revertida cuando se trata con timidina, precursor específico del ADN, siempre que esta aplicación se realice antes de las 24 horas. El 5-fluorouracilo, que inhibe tanto la síntesis del ARN como del ADN, también inhibe la floración. La inhibición es anu-

lada por el ácido orótico, precursor de ambos ácidos nucleicos, pero no por la timidina, específica del ADN. Esto se ha interpretado considerando que la síntesis del ARN en la yema es también indispensable para la fotoinducción.

En general, la iniciación del proceso floral se ha asociado con la llegada del estímulo al ápice, donde se producirían cambios en el metabolismo de los ácidos nucleicos, de modo que se la concibe como una "reprogramación de la actividad génica". Cuando se trabaja con precursores marcados (radiactivos), los resultados indican que se incorporan al ARN.

Este comportamiento concuerda con el hecho mencionado de que el estímulo floral sólo es activo en las yemas en crecimiento, de que no actúa sobre las yemas en reposo y que, en caso de que a la planta se le extraigan todas las yemas activas, termina por perderse. Puede observarse, aquí, una similitud con el proceso de vernalización que sólo ocurre cuando las células de las yemas están en división.

MECANISMOS GENERALES DEL DESARROLLO REPRODUCTIVO

Hemos visto que la vida de un organismo comienza a partir de la cigota. Ello implica, por una parte, el desarrollo de procesos que se mantienen con las mismas características y que sólo sufren cambios cuantitativos, razón por la cual debemos considerar que las estructuras que los producen poseen caracteres similares, por ejemplo la respiración. Por otra parte, en forma simultánea y estrechamente relacionados con ellos se desarrollan procesos de diferenciación. En primer lugar, y a partir de células provenientes de los meristemas, se van formando nuevos tipos de elementos celulares, bioquímica y morfológicamente distintos, que pasan a constituir los tejidos (vascular, parenquimatoso, clorofiliano, etcétera). Al mismo tiempo y a

partir de células iniciales que se forman en los flancos del meristema, se producen los primordios que dan lugar a las hojas así como los que originan las ramificaciones.

Ambos procesos —la diferenciación de células y tejidos y la constitución de órganos— van sufriendo los cambios ontogénicos que se observan a lo largo de un tallo y que en numerosos casos culminan con la reproducción. Esta ontogenia implica nuevamente cambios bioquímicos, morfológicos, internos y externos, fisiológicos y de requerimientos ecológicos. En algunos casos la expresión de la ontogenia es sólo fisiológica (por ejemplo el período juvenil puede expresarse sólo como una cualidad fisiológica, pero lo común es que se caracterice también por una forma especial de las hojas que ya hemos visto). Algunos cambios ocurren normalmente en todas las plantas superiores, como la constitución del perianto, y suelen representar una transformación de fenómenos preexistentes en las formas botánicas primitivas, como la alternancia de esporofito y gametofito, que han sufrido modificaciones profundas durante la filogénesis y constituyen la planta y el prótalo o la planta y el saco embrionario en las gimnospermas y angiospermas, respectivamente.

Como es evidente, estos tres procesos —diferenciación de tejidos, diferenciación de órganos y desarrollo reproductivo— se superponen. Así, la formación del tejido vascular se observa en los cotiledones, en las hojas durante el período juvenil, en las hojas de la planta adulta, en el perianto, etcétera.

El desarrollo implica también la aparición o desaparición de estructuras o su transformación. Por ejemplo, las yemas axilares pueden dar lugar a espinas, característica que desaparece a medida que la planta evoluciona, como ocurre en algunas especies de cítricos.

Otros cambios pueden observarse en las estructuras citológicas, como en el caso de la formación de los tubos cribosos en los que desaparecen los núcleos, o

en el parénquima primario de los tallos, en los cuales se desarrollan cloroplastos.

El desarrollo general implica, entonces, una estructuración básica que consiste en la formación de células, su agrupamiento en tejidos y conformación en órganos como las raíces, las hojas o el gametofito. A esta estructuración básica se suman, en forma concurrente, transformaciones que van cambiando los tejidos y órganos; así ocurre la conversión de ramas en espinas y el cambio de tamaño y forma de la hoja o su transformación en perianto.

Tales procesos implican un cambio en la bioquímica. Como casos concretos tenemos que la fisiología de un cotiledón es distinta de la de una hoja, la de una hoja vernalizada distinta de la de una hoja sin vernalizar y así en forma sucesiva. Evidentemente, tales diferencias bioquímicas se manifiestan sobre todo en cambios de la actividad enzimática.

Este proceso de desarrollo está controlado por un mecanismo interno y por el medio. El medio, por una parte, suministra las condiciones básicas (aparte de energía y nutrientes) y, por otra, condiciones determinantes de los cambios (temperaturas, intensidad de luz y longitud del día adecuadas).

Ambos factores (internos y externos) se van relacionando estrechamente. El ambiente determina diferencias (vernalización) que inducen transformaciones que hacen reaccionar al tejido frente a otras condiciones del medio (fotoperíodo). Si alguno de los dos grupos de factores (internos y externos) se comporta en forma irregular, se producen desarreglos que pueden llevar a la muerte de la planta. Por ejemplo, si una semilla anómala que no posee el estado de latencia normal de la especie recibe días cálidos en invierno, germina emitiendo una plántula fuera de época destinada, probablemente, a la muerte por bajas temperaturas.

Es evidente que se encuentran "mecanismos" que regulan estos cambios, los cuales se repiten ciclo tras ciclo, desconocidos en su mayor parte. Sólo se han

estudiado procesos aislados, pero falta una hipótesis *in extenso* que haya sido plenamente confirmada. Existen algunas premisas, dadas por hechos conocidos, que toda hipótesis debe tener en cuenta. Entre ellas podemos citar los cambios no determinados por el medio o en los que éste interviene en menor medida, por ejemplo durante el período juvenil, o bien una gradación fisiológica hacia el estado reproductivo que se mantiene en los tallos y hojas, fenómeno que se conoce desde hace tiempo. Tal cosa ocurre en *Achimenes haageana* (Goebel, 1898) cuyas hojas pueden enraizar (figura 215). Si provienen de una rama que está por florecer, la brotación se produce con emisión de flores. También puede citarse el comportamiento del tabaco: las plantas procedentes de segmentos de tallos extraídos cerca del ápice florecen rápidamente, mientras que la floración es lenta en aquéllas procedentes de la base. En general, mientras más alejado está el tejido del ápice, más tardan en florecer las plantas que produce. Ello implica un gradiente de desarrollo reproductivo en una especie que no requiere procesos de vernalización y fotoperiodismo y podemos suponer que no han influido factores externos "determinantes", excepto la energía y los nutrientes normales para la vida.

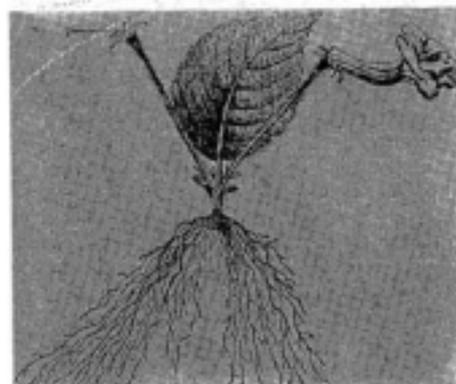


Figura 215. Estaca de hoja de *Achimenes haageana* en la que se observa la formación de un brote floral (Goebel, 1898).

Debemos tener en cuenta que las transformaciones que se observan en la planta provienen de cambios que han tenido lugar en el ápice, cambios éstos que se producen directamente *in situ* sin intervención del resto de la planta (por ejemplo, cuando requieren vernalización), o con intervención del resto de la planta (por ejemplo, cuando requieren fotoperíodos inductivos).

Se considera que el desarrollo está condicionado por un programa impreso, como "información genética". Esta información genética está contenida principalmente en los cromosomas, y en cierta medida se transmite como "herencia citoplásmica" en mitocondrias y cloroplastos. Como los procesos y caracteres aparecen en momentos y lugares determinados de la planta, también se considera que los factores que los determinan entran en "actividad" en ciertos momentos y en ciertos lugares de ella. La actividad puede consistir en la iniciación o en la supresión de un proceso, y es evidente que de acuerdo con lo que hemos expuesto, en numerosos casos el medio interviene en este mecanismo.

En principio, la información se encuentra codificada en el ADN, el que la transcribe a un ARN mensajero (ARN-m), en una secuencia específica de bases, desde donde se traslada al citoplasma para su traducción en proteínas. Los aminoácidos, con gasto de energía y por medio de sistemas enzimáticos específicos, son unidos al ARN de transferencia (ARN-t), específico para cada uno de ellos. Ambos ácidos nucleicos —mensajero y de transferencia— se unen en los ribosomas donde los aminoácidos constituyen las cadenas péptidas en un orden determinado.

Se considera que todas las células de un organismo vegetal poseen las mismas potencialidades para producir los caracteres correspondientes a un individuo, por lo cual se dice que son totipotentes. Tales potencialidades se manifestarían selectivamente durante el transcurso del desarrollo y constituirían dicho proceso.

El mantenimiento de estas potencialidades sería una de las características del ADN, concepto que se ha deducido de varios hechos, entre ellos el de la capacidad que tiene cada elemento celular aislado, cualquiera que sea la parte de la planta de donde provenga, de dar lugar a un embrión que posteriormente puede continuar su crecimiento y expresar, en el transcurso de su desarrollo, los caracteres correspondientes a la especie a la cual pertenece.

Para que ello ocurra es necesario cultivar la célula *in vitro* y suministrarle los nutrientes necesarios además de los factores de crecimiento.

Si no se aísla esa célula y se la cultiva en conjunto con las que constituyen un trozo de tejido, su crecimiento da lugar a un callo sin una estructura bien diferenciada. Por esta razón se ha considerado que numerosas potencialidades están reprimidas por influencia de los elementos celulares que la rodean y que su aislamiento significa liberarla de tal represión.

Si por una parte se considera totipotentes a toda las células, por otra parte es evidente que células, tejidos y órganos distintos poseen sistemas enzimáticos también distintos. Así, la raíz se comporta en forma diferente de un parénquima clorofiliano, un meristema vernalizado de uno no vernalizado y una hoja no inducida fotoperiódicamente de una inducida.

En consecuencia, si los sistemas enzimáticos se constituyen sobre la base de la actividad del ADN mediante la síntesis del ARN, la ordenada iniciación de la actividad de dichos sistemas enzimáticos indica en gran medida una anulación ordenada de la represión del ADN (desrepresión).

Así, la germinación, las características de plántula, la vernalización, la síntesis del estímulo floral, la transformación del ápice vegetativo en reproductivo y su crecimiento en flor, serían consecuencia de la anulación progresiva de la represión de caracteres del ADN. El ADN deja de estar reprimido y entra en actividad para dar lugar a ARN, el cual a su vez determina la

síntesis de los sistemas enzimáticos que controlarían los cambios y los caracteres que los acompañan.

El primer problema es concebir un sistema de represión del ADN y luego un sistema que anule dicha represión. A partir de los núcleos puede obtenerse cromatina la cual está compuesta de ADN, histonas, ARN y proteínas no históricas. Las histonas son proteínas fuertemente básicas que pueden separarse del ADN por tratamientos enérgicos. El ADN libre de histonas se comporta de manera diferente y puede, por ejemplo, inducir la síntesis de globulina, típica de los cotiledones de la arveja. Sobre la base de estos hechos, J. Bonner (1965) ha señalado que las histonas actúan como represoras de la actividad del ADN. Ello implicaría que sus "genes" estarían inhibidos por su combinación con las histonas y que, en consecuencia, debe haber un mecanismo de separación, regulado, el cual considera que está representado por las hormonas.

Se conocen varios procesos de actividad reprimida que se libera por medio de hormonas. Por ejemplo, la capa aleuronifera de los cariopsis de la cebada, a los cuales se les ha extraído el embrión, carecen de actividad de α -amilasa, que hidroliza el almidón a glucosa. Si se agrega giberelina A₁ se desarrolla dicha actividad por medio de la síntesis de ARN. Por esta razón se considera que la giberelina anula la represión del ADN y permite la síntesis del ARN que da lugar a la α -amilasa. También se ha citado el despertar de las yemas en dormición y la síntesis del compuesto AIA-aspartato, por medio del AIA que anula la inhibición de la síntesis que la cataliza. En este caso se trata de un sistema inducible, en que la presencia del mismo producto provoca la actividad del sistema. El mecanismo puede concebirse más elaborado, ya que las hormonas a su vez pueden ser inhibidas o descompuestas, e impedir que la supuesta represión de la histona sea anulada. Por ejemplo, para los casos citados de GA₁ y AIA, el ácido abscísico

inhibe la síntesis de la GA₃ y las AIA-oxididas descomponen el AIA.

Existen varios hechos que dificultan la interpretación de la represión del ADN por medio de las histonas. Entre ellos se ha citado el limitado número de histonas en comparación con la elevada cantidad de caracteres que hay que reprimir, suponiendo que el proceso sea específico. Por otra parte, las bacterias no contienen histonas y la represión aparentemente ocurre con normalidad.

A todo ello debemos agregar que el desarrollo no es exclusivamente una des-represión ordenada sino, además, la represión de procesos activos.

Otro mecanismo por medio del cual la información potencial del ADN sería regulada a través del desarrollo —es decir la forma en que se pone de manifiesto o desaparece— es el sugerido por F. Jacob y J. Monod (1963) respecto de las bacterias, aun cuando los autores consideran que también puede ser válido para las plantas. Los sistemas serían en principio "negativos" y evitarían la expresión de una característica potencial. Actuarían por medio de la "retroinhibición" y

de la represión genética a través de la actividad de ciertas enzimas. En tales sistemas la inducción se realizaría por medio de un compuesto (P) controlado por una enzima (E). Así, un sistema "apagado", inactivo, entra en contacto con un inductor que lo "abre" indefinidamente y sintetiza también en forma indefinida a dicho inductor. P podría tratarse de una hormona, como en la hipótesis mencionada anteriormente (fig. 216).

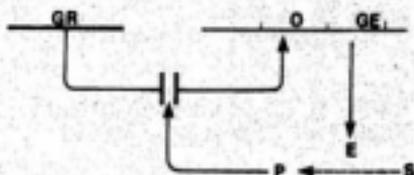


Figura 216. Circuito operador de carácter genético. La síntesis de la enzima E, determinada por el gen estructural GE por medio del operador O, es anulada por el represor sintetizado por el gen GR, que actúa sobre O. El producto P de la reacción catalizada por la enzima E actúa como un inductor del sistema al inactivar al represor. S es el sustrato de la reacción enzimática.

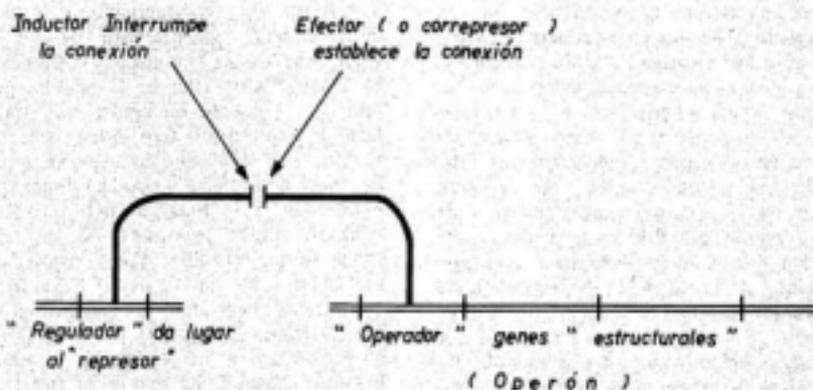


Figura 217. Relaciones entre los genes "regulador", "operador" y "estructurales". El regulador da lugar a un "represor" que en interacción con el "operador" reprime a los genes "estructurales". La actividad del represor puede anularse en presencia de determinadas moléculas pequeñas (sistema inducible) o es activo sólo en presencia de determinadas moléculas pequeñas (sistema de represión). El sector correspondiente a un "operador" y a los genes "estructurales" que activa, constituye un "operón".

Los autores señalan otros circuitos más complejos, dotados de diferente grado de estabilidad, que conectan los mismos elementos reguladores con otros tipos de sistemas.

A pesar de que se interpreta la regulación del desarrollo como un proceso de "desrepresión", es evidente que no en todos los casos ocurre tal comportamiento. J. Bonner esquematiza un "mecanismo" (figura 217) donde intervienen sistemas de represión y sistemas inducibles en relación con los genes "repressor", "operador" y "estructurales".

REGULACION DEL DESARROLLO REPRODUCTIVO POR EL MEDIO

La información obtenida sobre el proceso de desarrollo general es bastante contradictoria y hace difícil deducir de ella un posible esquema básico que explique un comportamiento tan variable. En algunas circunstancias hay un desplazamiento del estímulo inductor de la reproducción de una rama a otra, y en otras ello no ocurre. Existen formas botánicas que requieren vernalización y no fotoinducción o viceversa. En algunas especies, el estado reproductivo es permanente mientras se mantiene el crecimiento. Por ejemplo, en ciertos cultivares de higuera las yemas axilares producen ramas e higos mientras no entran en reposo por las bajas temperaturas; en otras especies parece necesaria una fotoinducción todos los años, y aun en otras, como en el caso del ananás (pifa), todo hace pensar que el llamado período vegetativo responde simplemente a una incapacidad de la expresión del estado reproductivo debida a los bajos niveles auxínicos.

Para deducir un comportamiento general es necesario tener en cuenta numerosos hechos y postulados, algunos de los cuales se han explicado en el transcurso de este capítulo, los cuales pueden resumirse de la siguiente manera: 1) los ápices o yemas pueden florecer aunque no hayan sido vernalizados; 2) para que

un ápice se vernalice es necesario que las células se encuentren en división; 3) la vernalización es un proceso que se transmite a través de la división celular y todo indica que no existe una "vernulina"; de esta manera, una hoja proveniente de un meristema vernalizado se comportaría de modo diferente que una que proviene de un meristema no vernalizado; 4) una hoja vernalizada reaccionaría al fotoperíodo produciendo la "hormona" floral —florigen—, pero se presume que eso no ocurre con una hoja no vernalizada; 5) la hormona floral se desplaza hacia arriba o hacia abajo, en cierta medida transportada por la corriente de productos de la fotosíntesis; 6) el estímulo floral es único para todos los tipos de plantas; 7) para que un ápice sea receptivo al estímulo fotoperiódico proveniente de la hoja, es necesario que sus células se encuentren en división, y 8) un meristema cuyo estado reproductivo ha sido "inducido" puede tener su expresión floral inhibida, como ocurre en los casos en que se encuentran entremezcladas yemas vegetativas y reproductivas.

Sobre la base de estas conclusiones se puede trazar la figura 218 que se explica a continuación, correspondiente al caso de una planta que presenta período juvenil, requiere ser vernalizada y reacciona al fotoperíodo: cuando la semilla germina, el ápice se encuentra en estado juvenil; transcurrido éste se hace sensible al frío; si se satisfacen sus requerimientos de frío, se vernaliza y produce hojas que reaccionan a la longitud del día. Esta reacción implica la síntesis de una hormona floral, hormona que se traslada a los primordios en actividad donde el crecimiento vegetativo se transforma en reproductivo. El traslado de la hormona es específico y no existe un comportamiento general. La expresión floral de los primordios puede ser inhibida por deficiencia o exceso de reguladores. Este "mecanismo", a su vez, puede ser interferido en diversos momentos de su desarrollo por cininas, giberelinas o auxinas que producen inhibiciones o establecen

EL DESARROLLO REPRODUCTIVO EN LOS ARBOLES



Figura 218. Desarrollo reproductivo de una planta que requiere vernalización y fotoperiodismo. El estímulo floral (→) se desplaza hacia el ápice cuya expresión floral puede inhibirse (yemas vegetativas en conjunto con reproductivas). En ciertos casos se traslada también hacia la base o, en casos de injerto, hacia otra planta.

“atajos” que permiten continuar el proceso salvando ciertos pasos.

Existen variaciones sobre este esquema básico. Por ejemplo, en el trigo o el centeno de invierno, la transformación del ápice vegetativo en reproductivo —doble lomo— no requiere fotoinducción y se produce al terminar la vernalización. El crecimiento del ápice reproductivo y su transformación en espiga no ocurre con fotoperíodos cortos (6 horas) sino largos, y a medida que éstos se prolongan, el desarrollo se realiza con más rapidez. La formación de la espiga va acompañada por entallecimiento (encañamiento); no se observa transferencia de estímulo floral de una rama a otra y los macollos que se han constituido por debajo de los tejidos vernalizados permanecen vegetativos durante cierto tiempo mientras espigan aquéllos cuyos ápices recibieron frío.

Tanto los resultados experimentales como las hipótesis basadas en ellos se han circunscrito, en la generalidad de los casos, a especies monocárpicas. En lo que se refiere a plantas plurianuales policárpicas, como son los árboles forestales y frutales, es poco lo realizado sobre el tema por el tiempo y las dificultades que implica experimentar con ellos. Debemos entender que existe un gradiente de desarrollo a partir de la germinación que, como hemos dicho, se expresa a lo largo del tallo. Los técnicos en arboricultura saben bien que las especies injertadas con púas provenientes de plantas en floración, florecen más rápidamente que las provenientes de semillas. En lo que respecta al requerimiento de vernalización en este tipo de plantas, no existe información como para generalizar determinados comportamientos, pero es posible que las temperaturas sean activas con relación a la rapidez del período vegetativo cumplido hasta la primera floración. Las yemas de varias especies (manzano, duraznero, peral) necesitan un lapso de frío para despertar de su período de reposo, lapso éste que es distinto al de vernalización. Debemos recordar que la vernalización requiere que las células estén en división, mientras que la latencia transcurre precisamente en células en reposo.

Algunos árboles reaccionan a los fotoperíodos. Se han citado como brevidiurnas a *Coffea arabica*, *Euphorbia pulcherrima*, *Hibiscus* y otras. Como longidiurnas, a *Betula* y *Erica*. Además existe otro grupo que se comporta como indiferente (pinos, manzanos y ciruelos). Debe tenerse en cuenta que, en numerosos casos, la apertura de las yemas florales no coincide con la inducción; lo habitual es que la fotoinducción se haya realizado la estación anterior y que las yemas permanezcan en estado de latencia. La apertura de la flor puede realizarse al comienzo de la primavera o con posterioridad, según requieran para

este proceso temperaturas bajas o altas respectivamente; en otros casos la inducción se realiza en pleno verano, con días largos (*Sophora japonica*, *Cassia carauai*) y las flores abren en otoño sin haber pasado por un período de reposo.

DESARROLLO FENOLOGICO

Todos estos estados (juvenil, de vernalización, de sensibilidad al fotoperíodo) que requieren condiciones ecológicas distintas y de las cuales uno o más factores son determinantes, regulan el desarrollo en concordancia con el transcurrir de las estaciones. Así, cuando la col se siembra en primavera, durante esa estación se alarga su tallo y produce nada más que hojas, por lo cual alcanza alturas considerables. Sólo en la estación siguiente, después de recibir los fríos del invierno, florece y fructifica. Si se siembra en el otoño crece poco y desarrolla con rapi-

dez para florecer durante la primavera siguiente, pero alcanza baja altura.

Un comportamiento interesante es el de los cereales finos invernales, en particular el del trigo. Si se cultiva en regiones con inviernos rigurosos, las siembras se realizan antes o después del período de frío; cuando se cultivan en regiones con inviernos benignos, el período de siembra es continuo desde el otoño hasta la primavera. Si en estas condiciones se siembra un cultivar en forma periódica en una misma región, las fechas de espigazón de las primeras siembras son las mismas, con un correspondiente acortamiento del período vegetativo; pasado un lapso mínimo, el período vegetativo comienza a alargarse hasta que, en siembras muy tardías, las plantas no florecen y generalmente mueren durante el verano. En caso contrario vegetan hasta la estación de crecimiento siguiente (fig. 219).

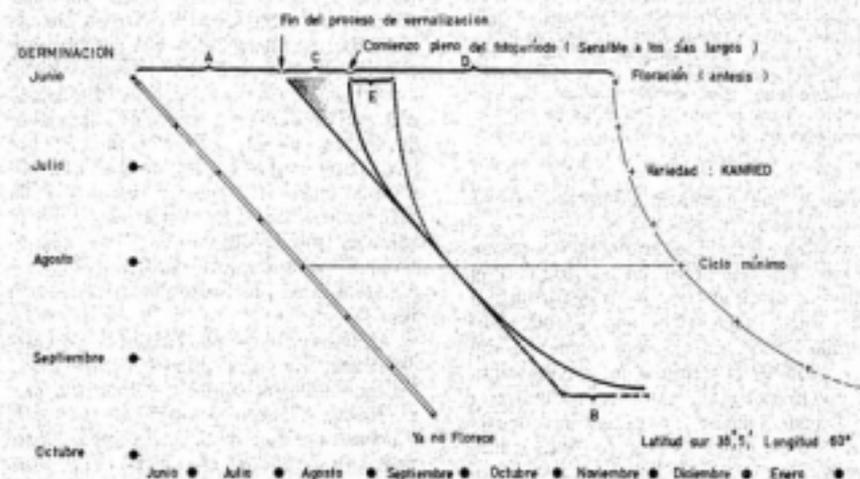


Figura 219. Regulación del período vegetativo por las temperaturas y los fotoperíodos en trigo. Referencias: A = período de vernalización; B = prolongación del período de vernalización por elevación de las temperaturas al transcurrir la primavera; C = período de "espera" entre la terminación de la vernalización e iniciación activa del fotoperiodismo; éste comienza lentamente con el alargamiento progresivo de los días; D = período que comprende la recepción del estímulo fotoperiódico y el tiempo transcurrido hasta la espigazón; E = alargamiento del lapso fotoperiódico debido a los días aún relativamente cortos y bajas temperaturas. Cuando el período de vernalización aún no se ha alargado por elevación de las temperaturas y su terminación coincide con el comienzo de la reacción fotoperiódica, se cumple el lapso más breve de germinación a espigazón (antes); posteriormente este lapso se prolonga debido al alargamiento del proceso de vernalización por las altas temperaturas.

LECTURAS COMPLEMENTARIAS

- Bonner, J.: "The reactions of the photoinductive dark period". *Plant Physiol.* 31, Nro. 1, 141-147, 1956.
- : *The molecular biology of development*, Oxford University Press, 1965.
- Bonnett, O.: "The development of the wheat spike". *J. Agr. Research* vol. 53, N° 6, setiembre 15, 1936.
- Corson, G. E. (h): "Cell division studies on the shoot apex of *Datura stramonium* during transition to flowering". *Amer. J. Bot.* 56 (10): 1127-1134, 1969.
- Giese, A. C. (comp.): *Photophysiology*, Academic Press, Nueva York, 1964.
- Kofler, L.: *Croissance et développement des plantes*, Gauthier Villar Editeurs, París, 1963.
- Leopold, A. C.: *Plant growth and development*, McGraw-Hill, Nueva York, 1964.
- Livingston, B.: *Palladin's plant physiology* (Goebel), Blakinston's Son, 1926.
- Lohr, H.: "Photomorphogenesis", en *The physiology on plant growth and development* (M. B. Wilkings, comp.), McGraw-Hill, Londres, 1969.
- O'Brien, T. P. y M. McCally: *Plant structure and development*, The McMillan Co., Londres, 1969.
- Ruhland, W. H. (comp.): "Growth and growth substances", en *Encyclopedia of plant physiology*, vol. XIV, Springer-Verlag, Berlín, 1961.
- : "Differentiation and development", parte I y II, en *Encyclopedia of plant physiology*, vols. XV/I y II, Springer-Verlag, Berlín, 1965.
- : "External factors affecting growth and development", en *Encyclopedia of plant physiology*, vol. XVI, Springer-Verlag, Berlín, 1971.
- Salisbury, F. B.: "The dual role of auxin in flowering", en *Plant Physiology*, 30: 327-334, 1955.
- Steward, F.: "Physiology of development: plant and their reproduction", *Plant Physiology*, vol. VI, Academic Press, 1971.
- Wilkings, M.: *Physiology of plant growth and development*, McGraw-Hill, 1961.

EL ENVEJECIMIENTO EN LOS VEGETALES

V. TRIPPI

INTRODUCCION

El envejecimiento puede definirse como "aquellos cambios que configuran el progresivo deterioro de un sistema". En los vegetales superiores, éste se manifiesta de diversas maneras y puede afectar órganos, cuando el crecimiento es de tipo indefinido, y todo el organismo cuando es definido. La morfogénesis ontogénica misma puede considerarse una fase del envejecimiento en las plantas que florecen una vez en la vida y mueren.

Llamamos gradiente descendente de envejecimiento al que afecta a las hojas a lo largo del tallo, estrictamente en función del tiempo. Las hojas ubicadas en la base son cronológicamente las más viejas; de modo que, a contar desde el ápice, podemos decir que existe un gradiente descendente y progresivo de envejecimiento. Asimismo llamamos gradiente ascendente de envejecimiento al que deriva de la evolución del meristema apical cuyos cambios fisiológicos y bioquímicos se evidencian muchas veces en cambios de forma de tallos y hojas, presencia de espinas, etcétera, que culminan con la floración y, en las plantas monocárpicas, con la muerte. Este gradiente se establece pues desde la base hacia el ápice en donde se observan las estructuras más evolucionadas.

GRADIENTE DESCENDENTE

Este gradiente se pone en evidencia según la secuencia cronológica de formación de órganos y tejidos. Es especialmente visible en las hojas y parece independiente de las condiciones exteriores, por lo cual su existencia derivaría de la propia organización de los tallos en relación con la posición del meristema apical. A través del desarrollo y senescencia de las hojas, los cambios se suceden de manera continua sin que sea posible delimitar etapas.

a) Cambios ultraestructurales

Cuando ha terminado el desarrollo de las hojas y se inicia la senescencia aparecen diversos síntomas. Entre los primeros cabe señalar una disminución del retículo endoplásmico y el deterioro de los ribosomas y cloroplastos. En los estados más avanzados, las mitocondrias, el tonoplasto y el núcleo muestran sensibles alteraciones, una de cuyas últimas manifestaciones es la ruptura del plasmalemma. La ruptura del tonoplasto determina que el contenido vacuolar se mezcle con el citoplasma y cuando en la etapa final se rompe el plasmalemma, el protoplasto difunde a través de la pared celular hacia los espacios intercelulares.

b) Cambios fisiológicos y bioquímicos

Se han señalado diversos cambios, entre ellos el contenido hídrico, que disminuye con la edad de las hojas. La cantidad de clorofilas y la actividad fotosintética y respiratoria, luego del máximo durante el curso de crecimiento del órgano disminuyen con el envejecimiento. Dicha disminución va seguida del deterioro de los sistemas enzimáticos y de una reducción de la síntesis de proteínas y de ácidos nucleicos.

Desde el punto de vista enzimático, el envejecimiento se caracteriza por un incremento de la actividad de las enzimas hidrolíticas (por ejemplo las proteinasas, ribonucleasas, amilasas, enterasas y celulasas), al par que una disminución de las enzimas relacionadas con la fotosíntesis, la respiración y los procesos de síntesis en general (por ejemplo la de ribulosa-5-fosfato-carboxilasa, NADP-gliceraldehído fosfato oxidoreductasa, glucosa-6-P-deshidrogenasa, enolasa, 6-fosfogluconico deshidrogenasa, etcétera).

La heterogeneidad molecular de las diversas enzimas también cambia con el envejecimiento. Así, p. ej., las peroxidasas, que aumentan sus formas moleculares (isoenzimas) durante el crecimiento de las hojas en general, permanecen estables o con tendencia a disminuir de número en la senescencia.

La composición isoenzimática de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, malato deshidrogenasa y esterasas, se altera con disminución en el número de isoenzimas en la etapa senil. También se ha verificado, con el envejecimiento foliar, una disminución en la capacidad de enraizamiento y en la capacidad de captar el estímulo fotoperiódico.

GRADIENTE ASCENDENTE

El gradiente ascendente es especialmente visible en las plantas de desarrollo heteroblástico y se manifiesta por diversos cambios de formas. Estos se re-

fieren a los cambios cualitativos que se efectúan en los meristemas que evolucionan hacia la producción de estructuras reproductivas. El fenómeno se conoce también como envejecimiento de los meristemas.

El meristema que evoluciona hacia la floración, en general, aumenta de tamaño, al mismo tiempo que su fisiología cambia para producir modificaciones en la morfología de los órganos que de él derivan. Así, p. ej. el hábito de crecimiento en *Hedera helix* se altera, pasa de plagiotrópico típico de la forma juvenil, a ortotrópico en la etapa adulta, y en esta forma aparecen las flores.

Los cambios morfológicos asociados con este gradiente ascendente de envejecimiento son todos los que acompañan a la morfogénesis ontogénica. Se han observado cambios en la forma de las hojas de diversas especies (p. ej. *Ilex aquifolium*, *Passiflora* sp., *Lycopersicum esculentum*, etcétera), la alteración en la filotaxis (p. ej. en *Eucalyptus*, donde se pasa de hojas opuestas a alternas), la desaparición de espinas en *Citrus*, etcétera. Entre los cambios fisiológicos se han señalado la pérdida de la capacidad de enraizamiento y la de retención de hojas en las plantas caducifolias.

ENVEJECIMIENTO DE LA PLANTA ENTERA

Independiente de la existencia de los gradientes ascendentes y descendentes de envejecimiento existen evidencias de que las plantas también envejecen como un sistema unitario. Así, p. ej., en *Robinia pseudoacacia* se ha visto que, tanto las ramas de la zona juvenil como las de la adulta, pierden su capacidad de proliferar *in vitro* cuando provienen de plantas senescentes. Asimismo, la actividad de la amilasa, que aumenta con la edad de las plantas, es similar en la zona juvenil y en la adulta. En *Vitis vulpina* y *V. vinifera*, el retículo de las nervaduras aumenta con la edad de las plantas, también en forma independiente de la zona de que

se trate. Entre los caracteres fisiológicos se ha visto que la actividad respiratoria y fotosintética y el contenido en hormonas disminuye con la edad de las plantas.

Los hechos parecen demostrar que el envejecimiento, incluida la morfogénesis ontogénica, interesa progresivamente a la planta en su totalidad, aunque es evidente que pueden coexistir caracteres seniles, como la falta de capacidad de proliferación celular y alta actividad de amilasa con caracteres juveniles como la presencia de espinas y capacidad de retención otoñal del follaje como pudo observarse en *Robinia pseudoacacia*.

REGULACION DEL ENVEJECIMIENTO DE LOS ORGANOS

Los diversos cambios señalados sirvieron para estudiar la regulación del envejecimiento. Así, por ejemplo en las hojas se han usado como índices de vejez la disminución de la síntesis de clorofilas, proteínas, ácidos nucleicos, enzimas, etcétera (fig. 220).

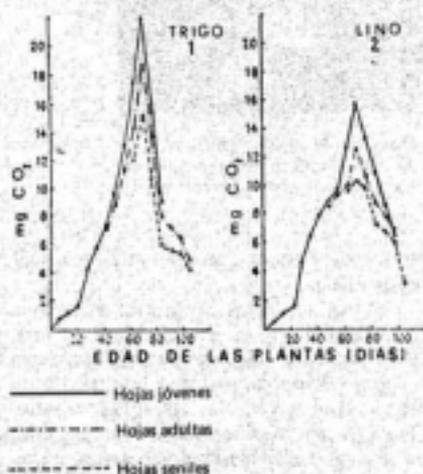


Figura 220. Cambios en la actividad fotosintética en función de la edad de las hojas y de las plantas, en trigo (1) y lino (2). (Singh y Lal, 1935).

Para estudiar en envejecimiento de meristemas se han usado los cambios en la forma de las hojas, y, cuando se trata de organismo entero, se ha tomado como índice especialmente el aumento o disminución de la longevidad (figs. 221 y 222).

Los factores capaces de regular el envejecimiento pueden ser clasificados, por su naturaleza, en físicos (balance hídrico, luz en sus manifestaciones de intensidad, calidad y duración, temperatura, etcétera); químicos, (hormonales y nutrientes), y biológicos (alteración de correlaciones).

El déficit hídrico ejerce una importante acción sobre el envejecimiento foliar y acelera el proceso. Se ha señalado una aceleración de los cambios ultraestructurales, así como un incremento en la actividad de la ribonucleasa de indolacético oxidasa en condiciones deficitarias de agua.

En las hojas de las gramíneas, la baja intensidad lumínica atenúa la pérdida de la actividad fotosintética en función de la edad. Por otra parte las hojas envejecidas, bajo condiciones de luz, muestran mayor actividad de la ribonucleasa que aquellas envejecidas en oscuridad.

El fotoperíodo es otro importante regulador del envejecimiento foliar. En las plantas leñosas, el amarillamiento otoñal y la abscisión son inducidos por fotoperíodos cortos.

La *Kleinsia articulata*, planta que entra en reposo bajo condiciones de día largo, muestra senescencia en las hojas en dichas condiciones.

La temperatura es también un poderoso regulador de los procesos de envejecimiento. Se ha verificado que, a mayor temperatura, existe una aceleración en el deterioro del proceso respiratorio en las arvejas, y de la capacidad de síntesis proteica en otras especies.

Entre los factores químicos, las hormonas han sido las más estudiadas. Entre ellas, la citocinina 6-furfurilaminopurina reviste la mayor importancia, ya que su aplicación impide la degradación de proteínas y clorofilas y estimula la síntesis de ácidos nucleicos en todas las frac-

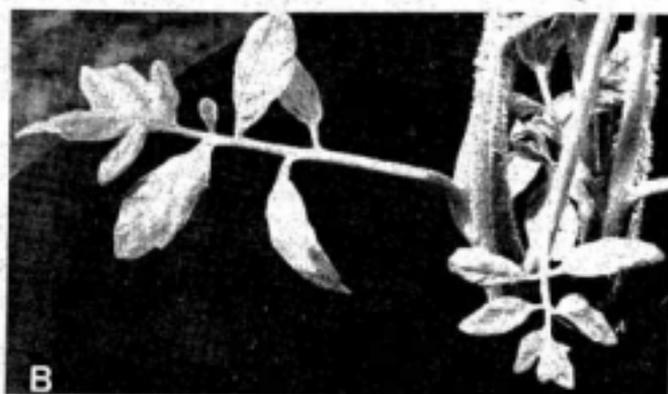


Figura 221. En tomate las ramificaciones basales de plantas juveniles emiten hojas del tipo juvenil —enteras— (A); las ramificaciones basales de plantas fructificadas emiten hojas del tipo adulto —pinnatisectas— (B). (Trippi, V.S., 1964).

ciones celulares estudiadas. Su acción determina la movilización, hacia la zona de aplicación, de aminoácidos, fosfatos, azúcares y ácido indolacético.

Otras hormonas también ejercen una acción reguladora de la senescencia. Las auxinas, giberelinas y etileno tienen efectos similares a las citocininas, en lo que concierne a la acción sobre la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas, aunque frecuentemente dicha acción aparece ligada a caracteres específicos. Por el contrario el ácido abscísico ejerce una acción depresiva sobre la síntesis de di-

chos compuestos y su acción parece más inespecífica.

La acción de las hormonas se vincula estrechamente con la actividad enzimática. Así, por ejemplo, se ha visto en hojas de *Phaseolus vulgaris* que las citocininas disminuyen la actividad ribonucleasa y desoxirribonucleasa; en cambio, estimulan la actividad indolacéticooxidasa. La acción antisenescente de las citocininas se opone a los efectos de L-serina y su acción parece conectarse especialmente con la inhibición de la proteólisis, ya que pudo demostrarse que inhíbe la

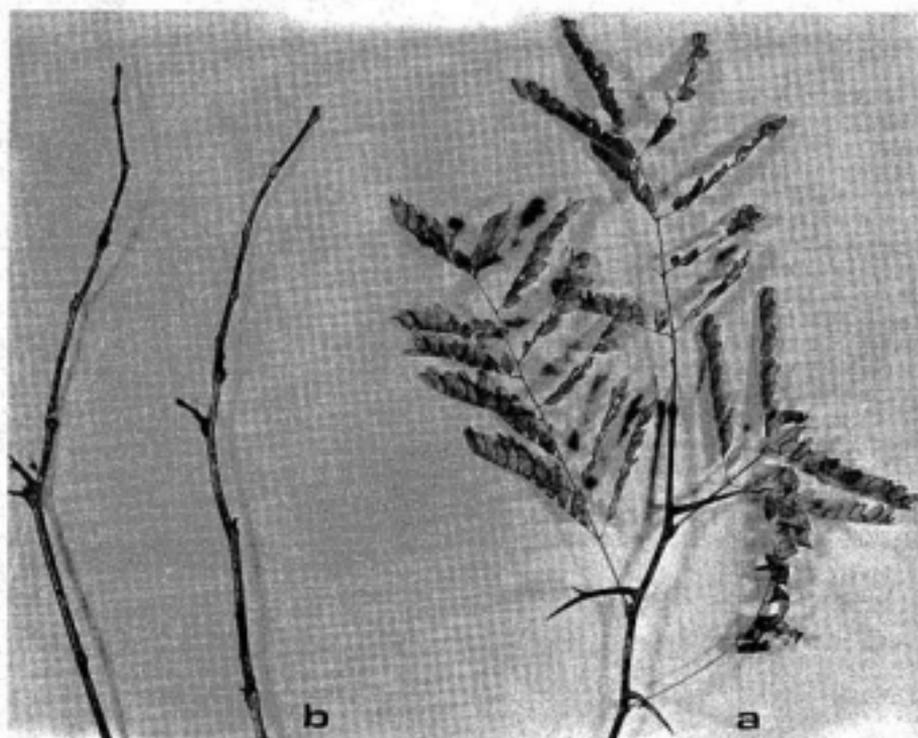


Figura 222. Ramas juveniles (a) y adultas (b) de una planta senil de *Robinia pseudo-Acacia*. La presencia de caracteres morfológicos juveniles, como presencia de espinas y retención de hojas, pueden coexistir con la pérdida de capacidad de proliferación celular *in vitro* en plantas de *Robinia pseudo-Acacia* senescentes. (Trippi, V.S., 1963).

formación de una proteasa que poseería L-serina en su centro activo. Las gibberelinas y las auxinas ejercen importante acción reguladora sobre la formación de diversas enzimas, entre ellas las amilasas, fosfatasa, celulasas, etcétera.

Diversos factores biológicos regulan el envejecimiento foliar. Se sabe, por ejemplo, que las hojas enraizadas viven mucho más tiempo que las que permanecen unidas a la planta. Una hoja enraizada de tabaco aumenta de peso fresco, peso seco y contenido en proteínas, 10 veces al término de 100 días. El aumento de la longevidad de las hojas enraizadas parece demostrar que la muerte de un órgano

unido a la planta madre se origina por efectos correlativos que determinan la movilización de su sustancia hacia los centros de mayor actividad.

La actividad de las hojas también puede ser alargada por la supresión del ápice (apicectomía). La operación no sólo detiene el amarillamiento, sino que induce el reverdecimiento y la restauración de cloroplastos en vías de deterioro.

El efecto de la decapitación puede interpretarse como una acción que evita el envejecimiento por la eliminación de centros de alta actividad metabólica (ápice y hojas jóvenes), que determinan la migración de nutrientes.

REGULACION DE LA SENESCENCIA EN ORGANISMOS

Entre los factores físicos cabe destacar que la baja intensidad lumínica, hasta ciertos límites, en general tiende a aumentar la longevidad de las plantas. Es bien sabido que la floración sólo se produce cuando la intensidad sobrepasa ciertos valores críticos.

En las plantas que reaccionan al fotoperíodo, el simple mantenimiento bajo condiciones no inductoras puede determinar un aumento de la longevidad.

En *Ipomoea coerulea*, la heterofilia puede modificarse por acción del fotoperíodo, exaltarla con días largos y suprimirla con días cortos. En otros casos, también, pueden inducirse reversiones, por ejemplo, de formas adultas a juveniles, como cuando *Anagallis arvensis* se traslada de condiciones de día largo a

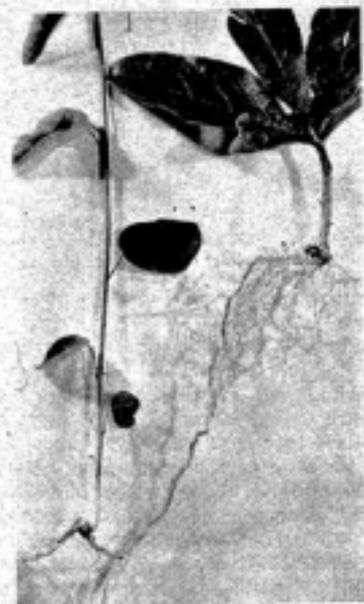


Figura 223. Reversiones morfológicas en *Psistifora* que se pueden observar cuando las raíces emitidas por hojas de tipo adulto (lanceoladas) forman yemas que crecen dando el tipo de hojas juveniles (enteras).



Figura 224. Los brotes adventicios originados en callos de la zona adulta de tomate muestran caracteres morfológicos juveniles, es decir hojas enteras. Estas yemas posteriormente emiten hojas trí, penta y heptalobuladas, o sea una progresión a formas adultas.

condiciones de día corto. Casos similares a este último han sido descritos en *Sinapis* sp., *Impatiens balsamina*, etcétera.

La temperatura también ejerce una acción reguladora sobre la morfogénesis ontogénica. La vernalización, como parte de la fisiología del desarrollo, concierne a la acción del frío sobre la morfogénesis de la floración.

Entre los factores químicos las hormonas se vinculan estrechamente con la morfogénesis ontogénica. Entre aquéllas, el ácido giberélico parece el más efectivo, pues es bien conocida su acción fuertemente estimulante de la floración en las plantas de día largo. Por otra parte, su acción parece depender de la especie que se trate, por cuanto es capaz de acelerar la heterofilia en *Gaillardia pulchella*, y capaz de revertir la forma adulta (de hábito de crecimiento ortotrópico y hoja lanceolada) a juvenil (de hábito

decumbente y hoja lobada) en *Hedera helix*.

Los aspectos referentes a la nutrición también afectan la heterofilia y la longevidad. Las deficiencias minerales retardan la evolución heterofílica en *Pasiflora coerulea* y en *Ipomoea coerulea*; se comprobó que un alto contenido en nitrógeno tiene un efecto también retardador. En *Lemna minor*, el bajo nivel de nitrógeno aumenta la longevidad de las frondas.

Entre los factores biológicos se incluyen los que se originan por modificación de las relaciones naturales entre los órganos de las plantas.

Así por ejemplo, se sabe que la eliminación de flores y frutos alarga la vida de éstas, lo mismo que la eliminación de tubérculos en papa determina un aumento de la longevidad de la planta. Se sabe bien que las podas "severas de rejuvenecimiento" determinan una vigorización en las plantas y un aumento de la longevidad. En la hiedra se puede revertir de la forma adulta a la juvenil por la acción de podas repetidas.

El envejecimiento de clones

Cuando una planta se multiplica vegetativamente por estacas, injertos, etcétera, la población formada de esta manera recibe el nombre de clon. Ello constituye una importante práctica agrícola, por cuanto permite multiplicar plantas con caracteres excepcionales de calidad en diversos cultivos.

En la naturaleza, las plantas que se reproducen asexualmente forman clones naturales, entre ellos el bananero (que se reproduce por emisión de hijuelos basales) y diversas plantas ornamentales (como *Chlorophytum elatum*, *Kalanchoe blossfeldiana*) que emiten propágulos. En los cultivos, numerosas especies se multiplican vegetativamente, por ejemplo *Citrus*, vid, peral, manzano, etcétera, aunque en este caso mediante el uso de estacas o injertos, y constituyen, por lo tanto, clones artificiales.

Entre los clones cultivados, se ha mencionado en diversas oportunidades los casos de decaimiento en los rendimientos de las variedades en cultivo. Así, por ejemplo se señaló el fenómeno en *Citrus*, rosal, peral, caña de azúcar, papa, etcétera. En todos estos casos, la solución consistió en cambiar las viejas variedades cultivadas por otras nuevas, o bien (como en papa) en la permanente renovación del material usado como semilla, el que debía importarse de zonas en que el cultivo no mostrase disminución en sus rendimientos.

Diversos estudios han demostrado que dicha declinación en los rendimientos está en relación con las condiciones ambientales en las que se realiza el cultivo, por lo que la declinación puede ser interpretada como un caso de envejecimiento desencadenado por las condiciones del ambiente que determinan el avance ontogénico que conduce a la senescencia y muerte de las plantas.

En la papa pudo demostrarse que las altas temperaturas tienen una acción "degenerativa" que determina importantes reducciones en los rendimientos en diversas variedades. Asimismo, pudo demostrarse que la acción de las altas temperaturas era independiente de las infecciones víricas que a veces afectan a los cultivos, de modo que se ha logrado separar los efectos de uno y otro factor. En *Anagallis arvensis* pudo constatarse que, si el clon se mantiene bajo condiciones de día largo, prevalece el crecimiento reproductivo, y que al cabo de pocas multiplicaciones vegetativas se pierde la capacidad de enraizamiento y el clon termina por envejecer y morir. En cambio, bajo condiciones de día corto, el mismo clon puede ser mantenido sin cambios, aparentemente, en forma indefinida.

Los hechos que acabamos de enunciar hacen suponer que los clones que no muestran fenómenos de declinación, como el bananero, *Chlorophytum elatum*, *Vitis*, *Saintpaulia*, *Begonia*, etcétera, están influidos por el ambiente, de manera que éste les hace guardar siempre su carácter vegetativo o, por lo menos, obtener un

balance entre crecimiento vegetativo y reproductivo que no llega a ocasionar el envejecimiento del clon.

Rejuvenecimiento y conservación de la juventud

Los problemas de declinación de los clones han sido frecuentemente solucionados con la sustitución de las variedades decadentes por otras nuevas. Sin embargo, en muchos casos puede recurrirse a otros métodos. Así, por ejemplo en *Citrus* existen embriones adventicios (poliembriónia que, por provenir de tejido materno, se desarrollan en plantas que guardan estrictamente los caracteres varietales). Las plantas originadas por estos embriones adventicios que se originan en la nucela del óvulo permitieron renovar los viejos clones en cultivo que mostraban signos de decadencia por "jóvenes líneas nucelares", como fueron llamadas.

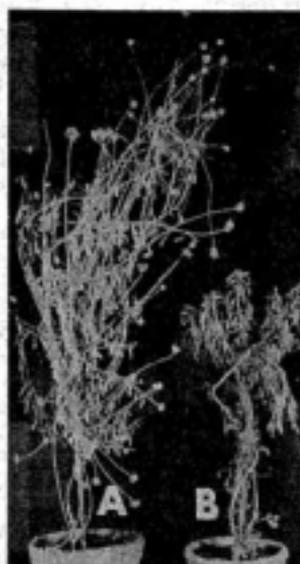


Figura 225. El fotoperíodo regula la longitud en plantas. La fotografía muestra en *Gallardia pulchella* que plantas bajo condiciones de día corto (B) permanecen vegetativas; en cambio bajo día largo (A) envejecen y mueren. (Trippi, V.S., 1965).

En diversas plantas, como en el tomate y el manzano, puede inducirse experimentalmente la formación de yemas adventicias que evidencian caracteres juveniles, aunque se originen de tejidos adultos y configuren casos de reversión o rejuvenecimiento. Otro método para inducir o conservar la juventud puede ser el cultivo de tejidos *in vitro*, por cuanto se ha logrado inducir la formación de embriones que evolucionan en plantas normales en diversas especies.

Tratándose de clones en los que el ambiente puede ser el determinante del envejecimiento, el mantenimiento de aquéllos en condiciones que preserven el estado vegetativo (por ejemplo, día corto en el caso de *Anagallis arvensis*) puede ser un medio eficaz para evitar el envejecimiento de las variedades.

ABSCISION

La separación de diversos órganos del cuerpo vegetativo de la planta se conoce con el nombre de abscisión. El fenómeno es común en plantas caducifolias, en las que la caída otoñal de las hojas constituye un fenómeno característico. La abscisión puede interesar también tallos, flores y frutos. El conocimiento del fenómeno reviste gran interés económico, ya que la defoliación (abscisión inducida) es el paso previo a la cosecha mecánica en algunos cultivos.

La separación del órgano se verifica por una región conocida como zona de abscisión, la que aparentemente no es diferente en hojas, flores y frutos; en muchos casos se ha señalado la presencia de más de una zona de abscisión.

Esa zona se halla generalmente en la base del órgano y está constituida por células parenquimatosas, más pequeñas, que forman un tejido con pocos espacios intercelulares, escasos tejidos conductores y pocas fibras.

La zona de abscisión se inicia generalmente cuando finaliza el crecimiento exponencial del órgano y éste pasa a una etapa de crecimiento más restringido,

aunque también puede ser inducida por causas diversas.

Si bien la abscisión se realiza en la zona estructuralmente frágil, es evidente que es un proceso activo por cuanto la falta de oxígeno y de hidratos de carbono tiende a suprimirlo. La activación de enzimas que hidrolizan la laminilla media y de la pared celular es el paso previo a la separación del órgano.

Regulación de la abscisión

Entre los factores físicos, se sabe que el agua ejerce una acción reguladora y que es capaz de inducir la abscisión cuando por su provisión se altera el déficit de saturación hídrica logrado por las plantas en condiciones de sequía. Las hojas y los frutos pueden "abscisionar", por ejemplo cuando se riega plantas que vienen soportando carencia de agua. La alteración del régimen térmico y lumínico también puede provocar la abscisión.

Entre los factores químicos se destacan los compuestos hormonales. Las auxinas aplicadas a la porción distal retardan la abscisión, pero la promueven si su aplicación se realiza en la porción proximal. Las citocininas promueven la abscisión si se las aplica en la porción proximal o distal, pero la retardan cuando la aplicación se realiza en la misma zona de abscisión.

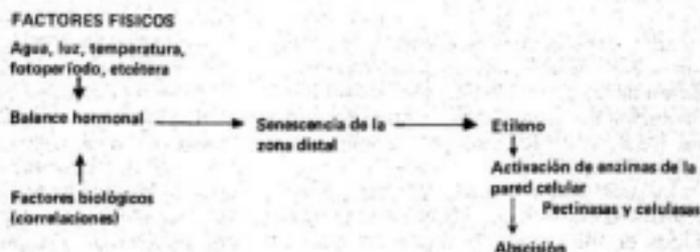
El ácido giberélico también es capaz de regular la abscisión: las altas concentraciones la aceleran y las bajas la retardan. Otro poderoso regulador que se presenta en forma corriente es el ácido abscísico; su presencia parece estar relacionada con la detención otoñal del crecimiento y con la abscisión foliar.

El etileno ha sido señalado como el principal regulador endógeno de la abscisión. Su contenido aumenta en los tejidos senescentes, y su formación puede ser inducida por auxinas, ácido abscísico y cualquier sustancia que produzca la abscisión. Su acción se ejercerá gracias a su naturaleza volátil, pues llega por difusión hasta la zona de abscisión donde desencadena finalmente los procesos degradativos que culminan con la separación.

La regulación biológica se cumple a través de acciones correlativas. La supresión del ápice caulinar, por ejemplo, retarda la caída natural de las hojas, y la polinización y fertilización de las flores retarda o impide la abscisión de éstas.

Cualquier factor que regule la abscisión lo hace aparentemente a través del balance hormonal en los tejidos, como puede observarse en el esquema que figura a continuación.

Si dicho balance determina la senescencia de la zona distal, hay producción de etileno y activación de las enzimas hidrolíticas de la pared celular lo que provoca la abscisión del órgano.



MADURACION DE LOS FRUTOS

Obtenido el estado de máximo crecimiento en los frutos, se inicia el período de maduración o envejecimiento, que culmina con su final deterioro y muerte. Los bien conocidos cambios de sabor, aroma, textura y color que acompañan a la maduración, constituyen, en esencia, cambios fisiológicos y bioquímicos.

Muchas veces, la maduración va acompañada de un sensible aumento en la actividad respiratoria. Estos frutos son conocidos como "climatericos". Entre ellos podemos citar las manzanas, papas, bananas, papayas, tomates, etcétera (fig. 226).

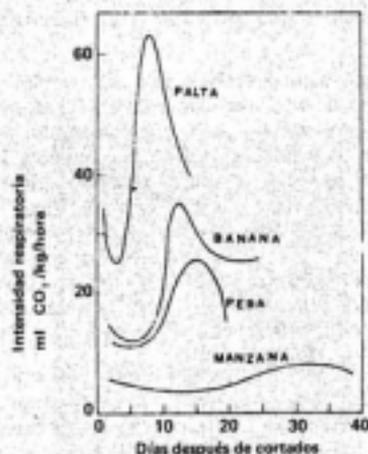


Figura 226. Variación de la intensidad respiratoria en diversos frutos luego de separados de la planta.

En contraposición, los frutos "no climatericos" sólo muestran una progresiva disminución de la respiración durante la maduración. Entre éstos se pueden citar los higos, naranjas, melones, frutillas, etcétera.

La maduración puede producirse en frutos adheridos a la planta o bien separados de ella, según la especie y puede ocurrir que, como en el caso de la palta, sea indispensable su separación.

Existen dos etapas en el curso de la maduración: la etapa preclimaterica en la que los frutos se "resisten" a entrar en la fase climaterica debido, posiblemente, a la baja producción del etileno indispensable para el cumplimiento del proceso; y la etapa de maduración durante la cual el nivel de etileno en los tejidos llega a concentraciones óptimas para inducir el aumento climaterico de la respiración y los cambios en textura y sabor característicos.

CAMBIOS FISIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS

Como hemos señalado, el aumento en la respiración es uno de los cambios más importantes. El fenómeno ha sido interpretado como consecuencia de un aumento en el nivel de los sustratos respirables y también debido a una mayor disponibilidad de ADP (difosfato de adenosina), indispensable para la fosforilación oxidativa. Experimentalmente pudo demostrarse que los inhibidores de la fosforilación, como el dinitrofenol, impiden la maduración si se aplican antes del climaterio, y que son ineficaces si se los aplica cuando se ha llegado al pico de máxima actividad respiratoria.

En general, la maduración es acompañada por un aumento del cociente respiratorio; en cambio, en el posclimaterio, sus valores vuelven a ser de alrededor de la unidad.

Las proteínas aumentan o disminuyen según la especie de que se trate. En las bananas, por ejemplo, la lisina-C¹⁴ se incorpora a la proteína en presencia de un nivel adecuado de etileno.

En el posclimaterio, la síntesis de proteínas disminuye siempre y configura un fenómeno aparentemente irreversible.

Las enzimas hidrolíticas aumentan su actividad en el curso de la maduración, entre ellas la poligalacturonasa, la celulasa, la ribonucleasa, las fosfatasa, etcétera. Las enzimas respiratorias permanecen constantes o disminuyen su actividad en los frutos no climatericos. En los climatericos hay variación según la enzima

de que se trate. La síntesis de ácidos nucleicos aumenta en la primera parte del climatario para disminuir en la etapa final.

Los hidratos de carbono muestran marcados cambios. El almidón, que aumenta hasta el máximo desarrollo de los frutos, tiende a desaparecer en el climatario. En las peras, manzanas y frutos tropicales, la fructosa es el azúcar predominante, y les siguen, en orden de importancia, la glucosa y la sacarosa.

Los ácidos orgánicos, con algunas excepciones, tienden a disminuir con la maduración. En los duraznos, por ejemplo, el ácido cítrico aumenta al final de la maduración, y, en los frutos maduros, sólo el ácido galacturónico está presente.

En las manzanas y peras hay disminución de sustancias pécticas con la maduración, así como de la capacidad de esterificación metilica de la pectina.

Los pigmentos sufren variaciones, las que se evidencian en los cambios de coloración. En el tomate, el contenido de licopeno aumenta unas diez veces con la maduración, y, en las naranjas, aumenta el contenido de carotenoides. En general hay disminución de clorofilas.

La aparición de sustancias aromáticas es característica. Los alcoholes, las cetonas, los ésteres y los terpenos constituyen los grupos de sustancias más importantes. En los *Citrus*, el aroma lo producen los aceites esenciales.

REGULACION DE LA MADURACION

Entre los factores físicos, la luz ejerce acciones importantes. El pigmento rojo de la piel de las manzanas se forma especialmente bajo la acción de una longitud de onda de 600 a 650 nm. Por ello, en la práctica, es usual iluminar los frutos con luz difusa, rica en dichas radiaciones.

La temperatura es también de gran importancia, ya que la maduración tiene lugar dentro de ciertos límites. Su acción es fácil de comprender por cuanto la

maduración se sustenta básicamente en cambios químicos inducidos por la actividad de enzimas. La producción de etileno cesa por encima de los 35 °C y disminuye sensiblemente por debajo de los 4 °C. Para diversas especies, por ejemplo, peras, bananas, paltas, etcétera, la temperatura óptima es de alrededor de los 20 °C y, la máxima, de unos 30 °C. Por encima de ésta la maduración es defectuosa.

Entre los factores químicos, el etileno constituye el factor de mayor importancia. Su participación queda demostrada en el hecho de que, sin etileno, no hay maduración. Las dosis pequeñas, como por ejemplo, de 1 ppm, son capaces de inducir el aumento climatérico de la respiración y la maduración. En los tomates y las bananas, el etileno no sólo es necesario para la inducción del proceso, sino también durante la maduración, por cuanto ésta puede ser retardada si en esa etapa se elimina el etileno de la atmósfera.

El etileno en dosis entre 4-200 ppm, induce la destrucción de clorofilas en los frutos y determina los cambios organolépticos característicos.

Las auxinas, en dosis bajas, pueden acelerar la maduración de las bananas, las manzanas y los tomates, probablemente por su capacidad inductora de síntesis de etileno. En otros casos, las auxinas retardan la maduración.

Las citocininas no sólo retardan la maduración organoléptica, sino también el suavizamiento de la piel al par que determinan la pérdida del color verde en las naranjas, posiblemente porque impiden el aumento de ácido abscísico. Las gibberelinas tienen efectos similares y en general su acción es opuesta a la del etileno.

El ácido abscísico guarda una íntima relación con la maduración. Su contenido aumenta con la senescencia de los frutos climatéricos y no climatéricos. Su acción parece tener relación con la formación del etileno, sobre la que ejerce una acción inductora.

LECTURAS COMPLEMENTARIAS

- Bijhower, A. P. C.: "Old and new stand points on senile degeneration", *J. Hort. Sci.*, 9: 122, 1931.
- Butler, R. D. y E. W. Simon: "Ultrastructural aspects of senescence in plants. IV. Reversal or delay of senescence", *Adv. Geront. Res.*, 3: 73, 1971.
- Chouard, P.: "Réversion végétative de la fleur et méoténie provoquées expérimentalement, comme moyens physiologiques d'investigation sur la phylogénie et l'ontogénie des plantes à fleurs", *C. R. Acad. Sci. (París)*, 233: 86, 1951.
- Molisch, H.: *The longevity of plants*, E. H. Fulling, Nueva York, 1938.
- Schaffalitzky de Muckadel, M.: "Investigations on aging of apical meristems in woody plants and its importance in Silviculture", *Det Forstlige Førgsvoesen i Danmark*, 25: 309, 1959.
- Sívori, E. M.: "La degeneración de la papa", *Ciencia e Investigación*, 8: 289, 1951.
- Tizio, R.: "La dégénérescence de la pomme de terre: effet de l'haute température et du virus X sur la variété Bintje", *Phyton*, 18: 137, 1962.
- Trippi, V. S.: "Studies on ontogeny and senility in plants. V. Leaf-fall in plants of different age of *Robinia pseudoacacia* and the effect of gibberellic acid on *Robinia pseudoacacia* and *Morus nigra*", *Phyton*, 20: 167, 1963.
- Wangermann, E.: "Longevity and ageing in plants and plant organs" en *Encyclopedia of plant physiology* (W. H. Ruhland, comp.), Springer-Verlag, Berlin, Vol. XV, pág. 1026, 1965.
- Woolhouse, H. W.: "The nature of senescence in plants", *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 21: 179, 1967.

CAPITULO XIX

FISIOLOGIA

DE LA GERMINACION

H. D. GINZO

INTRODUCCION

La semilla es a la vez principio y fin del ciclo ontogénico del vegetal superior. Esencialmente, la semilla consta de tres partes: a) un embrión a partir del que se desarrolla una plántula; b) tejidos de reserva que nutren al embrión durante su crecimiento inicial hasta que la plántula, al desarrollar hojas y un sistema radical, se independiza nutricionalmente, y c) una cubierta o tegumento que no sólo encierra y protege a los tejidos anteriores, sino que además cumple otras funciones que son, fisiológicamente, más importantes que las primeras. Tanto en las angiospermas como en las gimnospermas, el embrión proviene de la fusión de uno de los núcleos generativos del grano de polen con la ovocélula. El tejido de reserva de las angiospermas (endosperma), que se halla presente en las semillas "albuminadas" o que ha sido absorbido por el embrión en las semillas "exalbuminadas", es el resultado de la fusión del otro núcleo generativo del grano de polen con los dos núcleos polares contenidos en el saco embrionario. Generalmente, los lípidos y carbohidratos predominan en la composición de los tejidos de reserva, a los cuales les siguen en abundancia, las proteínas, excepto en la soja, cuyo contenido proteico es muy elevado. Los tegumentos ovulares se diferencian en tegumentos semi-

nales. La morfología, textura, espesor, rugosidad, color y permeabilidad al agua y a los gases son caracteres variables según las especies y aún las variedades de una misma especie.

Durante el desarrollo y la maduración de la semilla se producen cambios profundos de peso, contenido de humedad y ritmo respiratorio. En el poroto (*Phaseolus vulgaris*), por ejemplo, durante las 6-7 semanas que transcurren entre la floración y la maduración, el aumento del peso seco y del contenido de N de las semillas sigue curvas sigmoides similares, lo que indica claramente que dicho aumento de peso se debe al crecimiento de los tejidos embrionarios, mientras que el peso fresco alcanza un máximo a partir del cual disminuye hasta el valor correspondiente a la semilla madura. Un comportamiento similar al del peso fresco muestra el ritmo respiratorio. Tanto la pérdida de agua como la atenuación del metabolismo respiratorio son concurrentes, con un pronunciado retardo del ritmo de división y alargamiento de los tejidos embrionarios (figura 227).

La definición botánica de semilla—óvulo fecundado y maduro— tiene carácter restrictivo en el sentido de que los disemínulos de muchos grupos taxonómicos son frutos secos indehiscentes, como los aguénicos (compuestas) y cariopses (gramíneas). Como los tejidos seminales constituyen la mayor parte de esos fru-

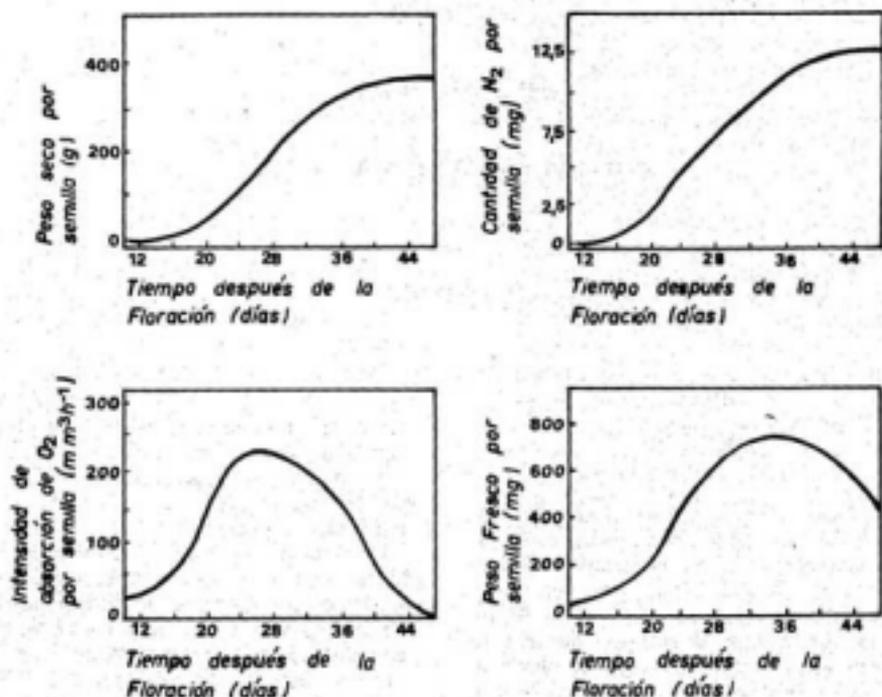


Figura 227. Variación de peso fresco y seco, contenido de nitrógeno y absorción de oxígeno durante el desarrollo de la semilla de *Phaseolus vulgaris*

tos, éstos serán considerados "semillas" a lo largo de este capítulo.

A veces resulta imposible precisar morfológica o histológicamente el estado de madurez del embrión, es decir su capacidad de producir una plántula. Los granos de centeno pueden germinar a partir del quinto día de la fecundación, aun cuando el embrión no haya alcanzado todavía el grado de desarrollo correspondiente al grano seco (9 a 11 % de humedad) recién cosechado. Contrariamente, algunas especies de *Fraxinus*, y *Viburnum* poseen embriones diferenciados en el momento de la diseminación, pero que sólo germinarán en tanto y en cuanto los embriones aumenten de tamaño por inhibición.

Suele definirse como *germinación* el proceso por el que la radícula emerge a través de los tegumentos seminales.

Este es el fenómeno que con más frecuencia se observa en una semilla que germina, aunque no es general, pues en algunas familias es la plúmula la primera en irrumpir a través de los tegumentos. Esta definición es estrictamente botánica y, aunque será la empleada en el presente capítulo, no es la única. Así, los técnicos definen la germinación como la aparición y desarrollo, a partir del embrión, de aquellas estructuras esenciales que, para un cierto tipo de semilla, indican la capacidad de producir plantas normales en condiciones ambientales favorables.

Independientemente de cuál sea la primera parte de la plántula que atraviese los tegumentos, se considera que el proceso de germinación comienza mucho antes de la aparición de los órganos embrionarios. En realidad, Torrey (1967) ha dividido el proceso de germinación en cuatro etapas: 1) imbibición; 2) hidratación de enzimas hidrolíticas y sintéticas; 3) división y alargamiento celulares, y 4) presión de la radícula (o de la plúmula) sobre el tegumento y emergencia a través de éste.

La división celular puede preceder, ser simultánea o suceder al alargamiento de las células. En otras palabras, no es posible afirmar que uno de esos procesos sea el que caracterice inequívocamente el comienzo de la germinación. Si bien es factible producir en el laboratorio una plántula mediante el solo alargamiento de las células del embrión —con lo cual se demuestra que aquél y la división celular son procesos separables—, en la realidad éstos son simultáneos y están íntimamente relacionados durante el desarrollo del embrión normal.

ASPECTOS METABOLICOS DE LA GERMINACION

El metabolismo de una semilla germinante es, a la vez, catabólico y anabólico. Los productos de la hidrólisis de las sustancias almacenadas son utilizados como fuente de energía y como elementos constitutivos de enzimas y proteínas estructurales necesarios para el desarrollo del embrión. La naturaleza de las rutas catabólicas varía según sean lípidos, carbohidratos o proteínas las sustancias presentes en los tejidos de reserva.

En las semillas germinantes se han encontrado varias enzimas proteolíticas, pero el momento de iniciación de la proteólisis varía según las especies. Así, en el sorgo, una proteasa ácida es activada tardíamente en la germinación; mientras que, en *Sinapis alba*, la proteólisis comienza tempranamente. En algunos casos, el comienzo de la proteólisis está

controlado por una hormona, tal como las citocininas de origen embrionario en *Cucurbita maxima* y las giberelinas de la capa de aleurona en la cebada. No se ha observado tal control hormonal en la arveja, en la que la proteólisis en los cotiledones no depende del eje embrionario. Las enzimas proteolíticas podrían cumplir diversos cometidos durante la germinación. El más común sería la degradación de las proteínas de reserva, que no sería una función reguladora del proceso. Pero sí tendría tal función la activación de enzimas amilolíticas, tal como se ha observado en el grano de cebada.

La degradación de lípidos en el transcurso de la germinación es un hecho metabólico que ocurre tardíamente y que involucra una gran variedad de lipasas. La regulación del metabolismo de lípidos parece ser bastante compleja. En el trigo, el metabolismo del triglicérido está regulado desde el embrión y parcialmente por las citocininas, las que actúan sobre la actividad de las lipasas.

En los granos de los cereales, la degradación de los carbohidratos almacenados en el endosperma depende principalmente de enzimas secretadas por las células que componen la capa de aleurona. La síntesis de esas enzimas es estimulada por las giberelinas. Se ha determinado una relación cuantitativa entre la cantidad de giberelinas sintetizadas en el embrión y la cantidad de alfa-amilasa producida por el tejido aleuronífero de los granos de la cebada cervicera. Las giberelinas activarían, además, otras enzimas ya presentes en los granos, como, entre otras, la ATP-asa, la fitasa y varias hidrolasas diferentes de la alfa-amilasa.

Cabe destacar que, en especies diferentes a los cereales, el metabolismo de los carbohidratos no es necesariamente iniciado por la síntesis de giberelinas en el eje. En *Phaseolus vulgaris*, por ejemplo, las citocininas originadas en el eje controlarían la actividad de las amilasas en los cotiledones.

Aparentemente, los polisacáridos de reserva no serían los primeros en ser utilizados para la germinación, sino que

su degradación tendría lugar durante la fase tardía del proceso. Los azúcares utilizados inicialmente serían diosas o triosas presentes en la semilla. Por ejemplo, las enzimas responsables del metabolismo de la galactosa serían las primeras en ser activadas durante la germinación.

No hablaremos aquí de estas vías metabólicas puesto que, para su cabal comprensión, sería necesario presentarlas desde un punto de vista bioquímico que está fuera de contexto. Por otra parte, el despertar metabólico de la semilla posee características en general independientes de la naturaleza de esas rutas catabólicas.

Invariablemente, la semilla seca debe absorber agua para germinar (fig. 228).

Esta cantidad de agua absorbida y el ritmo de absorción dependen de la tem-

peratura, permeabilidad de los tegumentos, tamaño de la semilla y composición química de las reservas. Inicialmente, la absorción de agua es un proceso físico independiente de la temperatura. Posteriormente, y como resultado de la hidratación de los tejidos embrionarios en crecimiento, la entrada de agua adquiere características de proceso fisicoquímico y, por lo tanto, está regulada por la temperatura. La penetración del agua se lleva a cabo desde el exterior hacia el interior de la semilla, y el volumen de ésta aumenta considerablemente. En términos generales, la imbibición cesa cuando el contenido de humedad es del 40 al 60 % de su peso fresco inicial. Aquél puede permanecer invariable en esos niveles hasta tanto emerja la radícula, después de lo cual el contenido de humedad de la plántula y de los tejidos de reserva aumenta rápidamente hasta valores del 70 al 90 % del peso inicial de la semilla.

Presumiblemente, los primeros compartimientos celulares que se hidratan son el citoplasma, los orgánulos responsables del metabolismo energético (mitocondrias) y proteico (polisomas), y las membranas exteriores de aquéllos otros que almacenan proteínas y lípidos, puesto que estas sustancias, juntamente con el almidón, son insolubles en agua.

Cada vez se insiste más en el papel que quizá tengan las membranas en el proceso de germinación. Además de ciertos cambios fisicoquímicos relacionados con la permeabilidad se han observado cambios estructurales, tales como el desarrollo acelerado del retículo endoplasmático, aumento en el número de vesículas de Golgi y la multiplicación y agrandamiento de las mitocondrias, que ocurren tempranamente en el proceso de germinación. Si bien no se ha podido demostrar si la formación o transformación de las membranas están asociadas causalmente con ciertas vías metabólicas, es importante destacar que las modificaciones físico-químico-estructurales de las membranas son hechos que tienen lugar mucho antes que otros involucrados en

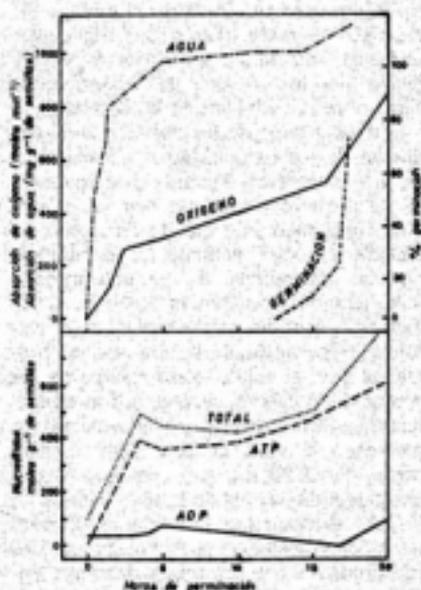


Figura 228. Variación de la absorción de agua, consumo de oxígeno, nucleótidos adenilicos totales, difosfato de adenosina y ATP en las semillas de lechuga.

la germinación.

La hidratación localizada de ciertas áreas del tejido seminal puede desembocar en la iniciación de algunos procesos metabólicos aun cuando el contenido de agua es reducido respecto a la capacidad total de la semilla. En los granos de los cereales se ha observado, por ejemplo, que la descarboxilasa del ácido glutámico es activada cuando el contenido de humedad de la semilla es relativamente bajo (18 %).

También se ha observado que el fitocromo está totalmente hidratado en la semilla de lechuga cuando el contenido de humedad de ésta es cercano al 18 por ciento.

La germinación es un proceso que requiere energía. La maquinaria metabólica preexistente en la semilla es activada gradualmente y en forma ordenada desde el momento en que comienza la imbibición. Los productos de las primeras reacciones enzimáticas actúan como activadores de otras enzimas y cofactores o como metabolitos intermedios de diversas rutas metabólicas (glucólisis, ciclo de Krebs, etcétera) y así sucesivamente hasta que el metabolismo de la semilla germinante adquiere su plenitud funcional. Por ejemplo, la descarboxilasa del ácido glutámico tiene la propiedad de determinar la naturaleza de posteriores procesos metabólicos, ya que su actividad aumenta concomitantemente con la hidratación del grano y, a su vez, está relacionada con la viabilidad y posterior crecimiento del embrión.

En la semilla seca se encuentran mitocondrias que son inmediatamente activadas al comienzo de la imbibición. Asimismo se han detectado enzimas hidrolíticas así como un tipo de ARN mensajero —a veces llamado "ARN enmascarado" o "ARN longevo" cuya síntesis se produce en el transcurso del desarrollo de la semilla— que es activado durante la imbibición y que interviene en la síntesis *de novo* de diversas hidrolasas.

La presencia del ARN longevo no es un hecho general para todas las semillas. En los cotiledones del poroto se ha obser-

vado que la formación de polisomas está asociada con la síntesis de nuevos ribosomas y no con los preexistentes.

Al paso que crece la complejidad estructural del embrión y un mayor número de rutas metabólicas son activadas, este ARN mensajero es paulatinamente sustituido por otros ARN mensajeros cuyos contenidos de información (secuencia de sus bases) son distintos a los del primero, así como las proteínas derivadas de éstos son diferentes a las provenientes de aquél. Esta sustitución es relativamente rápida y es posible afirmar que está terminada al tercer día del comienzo de la germinación.

Estas observaciones explican la rápida absorción de oxígeno y la acelerada producción de ATP, concurrentes con el comienzo de la absorción de agua.

El dióxido de carbono de origen respiratorio puede tener diversos destinos: a) escapar como gas; b) disolverse en el medio líquido de los tejidos seminales modificando el pH e influyendo sobre la actividad enzimática; c) ser incorporado en metabolitos intermedios del Ciclo de Krebs, y d) formar parte del esqueleto purínico del AMP, precursor del ADP y éste, a su vez, del ATP.

Tanto el ritmo de absorción de oxígeno como la magnitud del cociente respiratorio (CR) se comportan de una

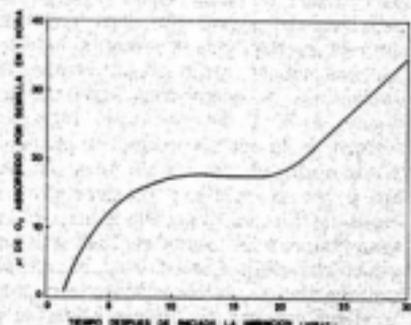


Figura 229. Aumento de la intensidad respiratoria en función del tiempo luego de iniciada la imbibición.

manera muy particular en el transcurso de la germinación. El ritmo respiratorio tiene 3 fases bien definidas (fig. 229). La primera se caracteriza por la acentuada absorción de oxígeno durante el período inicial de la germinación. Los principales hechos metabólicos que ocurren son: a) la activación de enzimas hidrolíticas; b) la fosforilación del ADP con fósforo inorgánico hidrolizado de sales de la fitina; c) la síntesis de AMP a partir de precursores preexistentes; y d) la utilización de aminoácidos y ARN *longevo* en la síntesis de proteínas, si estuvieran presentes. La segunda fase de la respiración se distingue por la constancia del ritmo de absorción de oxígeno. Los sistemas metabólicos puestos en funcionamiento durante la fase previa operan plenamente generando nuevos ribosomas, ácidos nucleicos, enzimas, mitocondrias, plástidos, glioxisomas, núcleos y membranas. En el transcurso de la tercera fase, que corresponde al alargamiento y división celulares, la demanda de oxígeno crece sostenida y concurrentemente con el desarrollo de la plántula. El cociente respiratorio indica la naturaleza del sustrato respirado o, si la composición de éste fuera conocida, el predominio de procesos oxidativos anaerobios (fermentación) o aerobios (respiración).

La magnitud de la reserva de fósforo de la semilla es de suma importancia para iniciar y mantener el proceso de germinación, puesto que ese elemento químico es requerido en diversas reacciones enzimáticas como constituyente de nucleótidos y coenzimas. Aproximadamente el 80 % del contenido total de fósforo de la semilla madura se encuentra inmovilizado, como las sales de Ca, Mg y Mn de la fitina (hexafosfato de inositol). Sin embargo, la fitina no es aparentemente la fuente de fósforo inorgánico durante los estadios iniciales de la germinación. La fitina es hidrolizada por la enzima fitasa; el sistema fitina-fitasa suministraría fósforo casi al final del proceso germinativo, cuanto la provisión de ese elemento pudiera ser limitativo y la plántula no obtuviera fósforo de otras

fuentes. Durante la fase inicial de la germinación, las necesidades de fósforo estarían satisfechas por el rápido recambio de los fosfatos presentes en la semilla, los que serían hidrolizados por una gran variedad de fosfatasa. Estas enzimas están presentes en la semilla madura y sus actividades aumentan rápidamente en el transcurso de la germinación.

El 20 % restante está representado por compuestos órgano-fosfóricos tales como nucleótidos, ácidos nucleicos, fosfolípidos, azúcares fosforilados y fosfoproteínas. El tenor de fósforo inorgánico es, por lo general, ínfimo; pero, por lo expresado anteriormente, es muy importante para el comienzo del proceso de germinación.

Parte de la energía liberada por el catabolismo de las sustancias de reserva es almacenada en moléculas de ATP. Por ello, este nucleótido cumple el papel de regulador de la germinación y del crecimiento inicial de la plántula. En el transcurso de la germinación, la relación entre las cantidades de ATP y ADP—generalmente expresada como "carga de energía"—varía entre los límites 4 y 12. Esta escala de valores indica que la provisión de ATP no es limitante durante el proceso de germinación, en condiciones de temperatura y nivel de oxígeno apropiados. Sólo cuando estos últimos factores son limitativos, la germinación se detiene por insuficiencia de ATP.

El fraccionamiento de esqueletos carbonados es llevado a cabo por una cadena de reacciones enzimáticas destinadas a extraer la energía contenida en uniones químicas. Las enzimas que intervienen en las reacciones de óxido-reducción poseen NADH y NADPH como cofactores. Estos nucleótidos están presentes en la semilla madura en sus formas reducida y oxidada. Aparentemente, NAD y NADH participan en reacciones catabólicas localizadas en el tejido de reserva, mientras que NADP tanto en su forma reducida como oxidada interviene en reacciones anabólicas que acontecen en el embrión. La concentración de estas coenzimas es muy sensi-

ble tanto a los diversos factores internos como a los estímulos externos. Entre ellos la concentración de oxígeno, las condiciones de iluminación, las temperaturas bajas, el nivel hormonal y los estados de nutrición y desarrollo del embrión.

La capacidad sintética de las proteínas se pone en actividad tempranamente durante la germinación. En los embriones de trigo aislados, la síntesis de proteínas comienza a los 30 minutos de iniciada la imbibición. En las semillas de pino se observó que las distintas fracciones de ARN (mensajero, de transferencia y soluble), así como la concentración de ADN en el embrión, aumentan concurrentemente con el peso seco de éste como consecuencia de una intensa división y multiplicación celular. Por el contrario, el contenido de esos ácidos nucleicos en el tejido de reserva puede permanecer estacionario —debido a un rápido ritmo de recambio—, o disminuir, por hidrólisis.

DORMICION

A una semilla viable y embebida se le presentan sólo dos posibilidades: germinar o no germinar. Hay semillas, como los granos de algunos cereales, para las cuales el dilema se inclina sensiblemente hacia su germinación en una amplia serie de condiciones ambientales. Y hay otras, tales como los propágulos de la mayoría de las especies no cultivadas y asimismo de especies de interés hortícola o forestal, que requieren un número cualitativo y cuantitativamente definido de estímulos ambientales para inducir el desarrollo del embrión, el cual se halla en un estado de quietud o mínima actividad metabólica. Cuando se trata de una semilla en esta última condición se dice que está *dormida* o que se encuentra en un estado de *dormición*.

Se han definido distintas clases de dormición: la dormición *primaria* o *constitutiva*, que se caracteriza por la detención del desarrollo del embrión provo-

cada por propiedades intrínsecas de la semilla —tales como las barreras a la penetración de sustancias, la existencia de bloques metabólicos o la presencia de inhibidores—; y la dormición *secundaria* o *exógena*, que es aquella impuesta a la semilla por condiciones ambientales desfavorables para la germinación. El que una semilla posea uno u otro de estos tipos de dormición depende únicamente de las condiciones ambientales que predominan durante su crecimiento y, a la vez, de su constitución genética.

REGULACION DE LA GERMINACION

La germinación o, al contrario, su ausencia, no es un hecho fortuito sujeto a las leyes del azar. Es nuestro propósito enumerar aquí todos aquellos factores, tanto intrínsecos de la semilla como propios del medio exterior, que regulan la germinación, además de sus mecanismos de acción, si son conocidos.

TEMPERATURA

En 1860 J. Sachs publicó un extenso estudio sobre la influencia de la temperatura en la germinación. En él señaló la existencia de tres temperaturas, a las que llamó "cardinales", con el objeto de caracterizar los requerimientos térmicos de la germinación. Las temperaturas "máxima" y "mínima" determinan los límites dentro de los cuales es posible la germinación; en tanto que la temperatura "óptima" corresponde a aquella en la cual se observa el máximo porcentaje de germinación. Estas temperaturas cardinales no caracterizan rigurosamente, sin embargo, el proceso germinativo, ya que sus valores dependen del tiempo de incubación. Cuanto mayor es éste, tanto mayor es el desplazamiento de la temperatura óptima hacia valores más bajos, como mayor es la escala térmica de germinación. Para *Pinus rígida*, por ejemplo, la temperatura óptima es de 47 °C y la escala de germinación de 38-55 °C

a un día de iniciada la incubación. Con el correr del tiempo (y el avance de la germinación) la temperatura óptima puede descender a 23 °C y la escala térmica ampliarse a 17-57 °C.

En la naturaleza es más frecuente que una semilla esté sujeta a temperaturas fluctuantes antes que constantes. La variación térmica puede ser diaria o estacional. Muchos tipos de semilla sólo germinan si son sometidas a ciclos de 24 horas e independientemente de los valores extremos que caracterizan la fluctuación. Sólo requieren que las temperaturas extremas estén separadas varios grados centígrados y que cada una de aquéllas tenga una duración mínima, como se ha observado en *Cynodon dactylon*. La necesidad de alternancia térmica no es absoluta, pero sí puede ser estimulante del proceso germinativo. El porcentaje de germinación del sorgo de Alepo (*Sorghum halepense*) aumenta progresivamente con temperaturas constantes y crecientes dentro de la escala de 20-40 °C (figura 230). Sin embargo, los mayores porcentajes de germinación se obtuvieron alternando temperaturas de

30, 35 y 40 °C con temperaturas de 10-15 °C menores. En otras especies, un único cambio de temperatura promueve significativamente la germinación.

Así, *Lepidium virginicum* germina tan bien con temperaturas alternantes diarias como con un único cambio de 15 °C a 25 °C. El cambio recíproco (25 °C a 15 °C) no tiene efecto sobre la germinación.

Se han enunciado diversas hipótesis para explicar el efecto estimulante de las fluctuaciones diarias de temperatura. Una de las más recientes y comprensivas se basa en la existencia, en los seres vivos, de ritmos metabólicos cuya periodicidad es de 24 horas. Suponiendo que la semilla poseyera estos ritmos, las diferencias de fase entre aquéllos no se modificarían en condiciones de temperaturas constantes. Con la imposición de una fluctuación térmica de duración definida, alguno o varios de esos ritmos metabólicos se sincronizarían con la temperatura periódica y desencadenarían el proceso germinativo.

Las especies que responden a la variación estacional de la temperatura requieren, en general, un período de bajas temperaturas (alrededor de 5 °C) para germinar. Dentro de este grupo se encuentran muchas especies de importancia hortícola (manzano, peral, duraznero, etcétera) y forestal (fresno, abedul). Para que el efecto del frío sea eficaz, la semilla debe estar embebida. Por esta razón es muy común entre los viveristas la técnica llamada "estratificación", por la cual se colocan semillas entre capas de arena y musgo, las que son regadas frecuentemente y mantenidas en un lugar frío. A los procesos bioquímicos que tienen lugar en el transcurso de la estratificación se les designa comúnmente como de posmaduración. Es importante puntualizar que la posmaduración no se refiere a los procesos por los que se completa la madurez del embrión, sino, en realidad, al estado en que la dormición de éste ha terminado. Como excepción a esta regla de carácter general se puede citar el caso de los embriones de

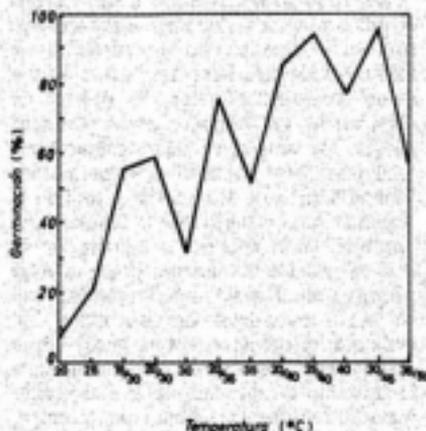


Figura 230. Germinación de las semillas de *Sorghum halepense* bajo diferentes condiciones de temperaturas constantes y fluctuantes.

Heracleum sphondylium, cuya maduración y requerimiento de frío son satisfechos simultáneamente a bajas temperaturas (2 °C).

La necesidad de bajas temperaturas para romper el estado de dormición de las semillas posee muchos aspectos comunes con el proceso característico de las yemas. Por ello se ha propuesto que el estado de dormición en ambos tipos de órganos está determinado por el balance entre sustancias promotoras y sustancias inhibitoras —ambas de carácter hormonal— del desarrollo. (Véase la parte correspondiente a los factores químicos endógenos, más adelante.)

LUZ

La influencia de la luz sobre la germinación se manifiesta por medio de su contenido energético. Este es el resultado de la combinación de tres variables: intensidad, composición espectral y tiempo de exposición. El requerimiento de luz para germinar no es general. Las semillas de los cereales germinan bien con iluminación o sin ella, por lo cual han sido clasificadas como "no fotoblásticas". En los casos en que la luz regula la respuesta germinativa, su acción puede ser promotora (fotoblastismo positivo) o inhibitoria (fotoblastismo negativo). El signo de la respuesta fotoblástica es relativo. Por ejemplo, los granos de *Phleum pratense* son fotoblásticos positivos en el transcurso de las primeras 30 horas de incubación; durante las 30 - 48 horas siguientes se tornan fotoblásticos negativos y, finalmente, después de 5 días de incubación, pierden su fotosensibilidad.

El endosperma parece ser, en la lechuga al menos, el tejido receptor del estímulo luminoso. Para que éste tenga efecto, la semilla debe estar embebida.

La fotodependencia de la germinación es, aparentemente, el resultado de un estado de stress, es decir de cualquier impedimento al crecimiento del embrión de la semilla. Los aquenios de lechuga

(*Lactuca sativa*) var. "Grand Rapids", son sensibles a la luz si la temperatura de incubación es superior a la óptima (20 °C); a temperaturas iguales o menores que ésta, la germinación tiene lugar tanto a la luz como en la oscuridad. Este mismo material, incubado a 14 °C, es insensible al estímulo luminoso; sin embargo, el agregado de la concentración relativamente elevada de cumarina (80 mg/l) a esa temperatura fotosensibiliza los aquenios. Por otro lado, el efecto promotor de la luz puede ser eliminado por bajas concentraciones de cumarina (15 mg/l) a 26 °C. En el primer caso (baja temperatura), la respuesta a la luz depende de un stress químico (alta concentración de cumarina), mientras que, en el segundo caso, un stress térmico (26 °C) sensibiliza los aquenios a menores concentraciones del inhibidor. Otra observación interesante, dentro de este contexto, es la que se refiere al efecto de la luz sobre la germinación de estas mismas semillas sometidas a un stress hídrico. El porcentaje de germinación en la oscuridad y a 21 °C es reducido prácticamente a cero al decrecer el potencial osmótico del sustrato de -4 a -7 atmósferas. La inhibición osmótica es contrarrestada con luz, la que normalmente no es requerida a aquella temperatura. Hasta el momento no se ha propuesto una hipótesis unificadora que permita explicar claramente la interacción de la luz y otros estímulos ambientales, particularmente la temperatura, como moduladora de la respuesta germinativa.

El sistema del fitocromo y el de alta energía están involucrados en la fotorespuesta de las semillas. De las características físico-químicas fundamentales de estos sistemas se trata detalladamente en los capítulos XIV y XVII.

Similarmente a lo que se ha visto respecto del control fotoperiódico de la floración, la germinación de algunas semillas responde a la longitud del período de oscuridad. Estas semillas han sido clasificadas en semillas de día corto y semillas de día largo. Los propágulos de

una especie de abedul (*Betula pubescens*) se comportan como semillas de día largo si, en ausencia de estratificación, son puestos a germinar en una escala de 10-20 °C. A esta última temperatura germinan tanto en condiciones de día largo como corto, después de una única exposición a la luz. A 15 °C, sin embargo, tienen respuesta de día largo después de 8 ciclos inductores. Entre 20 y 25 °C germinan tanto en día largo como en día corto. La respuesta fotoperiódica de las semillas de día corto es también termodependiente.

La duración del estímulo luminoso necesario para desencadenar la germinación difiere en diversas especies. Por ejemplo, las semillas de *Plantago* requieren sólo 1 hora de luz para germinar; las de *Epilobium* necesitan 24 horas de iluminación; las de *Paulownia* deben ser iluminadas durante 48 horas, sea continua o intermitentemente. Como caso límite de estas respuestas, que son esencialmente fotoperiódicas, la germinación de algunas semillas responde a la longitud del período de oscuridad.

De lo que actualmente se sabe acerca del control fotoperiódico de la germinación, surge que toda similitud entre este proceso y el de la floración es sólo superficial. Si bien el sistema del fitocromo está involucrado en ambos casos, su forma activa (P_{730}) promueve la floración en plantas de día largo y la inhibe en las de día corto, mientras que el P_{730} es necesario para la germinación de semillas de día corto y de día largo. Otra diferencia de interés es la dependencia térmica de la respuesta fotoperiódica de la germinación. Por ejemplo en *Hyoscyamus desertorum*, ésta es promovida tanto por irradiación continua como alternada a 25-35 °C. Ambos regímenes de irradiación son ineficaces a 10 °C, y sólo la irradiación alternada es promotora entre 10 °C y 25 °C.

Se ha sugerido que la fotoestimulación de la germinación tiene como consecuencias: a) la activación del metabolismo de lípidos, b) el control de la respiración, c) la activación génica y la consiguiente

síntesis de enzimas, d) la síntesis de giberelinas, y e) los cambios en la permeabilidad de las membranas. De todos estos efectos, el de la síntesis de giberelinas es el que mejor se conoce y respecto del cual se posee una evidencia experimental más sólida.

La aplicación de ácido giberélico (GA_3) sustituye, en algunas semillas fotoblásticas, el requerimiento de luz para la germinación. Por ejemplo, esta giberelina contrarresta la dormición de las semillas de lechuga tratadas con cumarina. Más aún, el momento de máxima sensibilidad al ácido giberélico coincide con aquél de máxima sensibilidad a la luz, y el efecto de la aplicación de esa hormona sólo puede ser contrarrestado con altas dosis de irradiación con rojo lejano. Por otro lado, el empleo de inhibidores de la biosíntesis de giberelinas impide la respuesta a la luz en semillas fotoblásticas positivas.

Se han presentado otras evidencias que indican que las giberelinas y el P_{730} son necesarios para que se manifieste la respuesta a la luz. En *Lythrum salicaria*, el agregado de GA_3 sensibiliza la germinación a la luz. Las semillas de varias especies de *Pinus* no responden al estímulo actínico a menos que hayan sido estratificadas a 5 °C durante varias semanas. Estas observaciones indicarían que la síntesis de giberelinas está involucrada, de alguna manera, en el fotocontrol de la germinación, aún cuando aquélla no sea el efecto directo del estímulo luminoso.

El requerimiento de luz de las semillas de lechuga puede ser sustituido parcialmente por el agregado de cinetina y otras purinas sustituidas. Uno de los efectos de la cinetina sería el de sensibilizar la semilla a la radiación roja. Otro efecto de la hormona es que retarda la disminución de la fotosensibilidad que tiene lugar en agua en función del período de incubación. La acción de esta hormona depende de la temperatura. A 15-16 °C inhibe la germinación tanto a la luz como en la oscuridad, y a 26 °C la estimula en presencia de luz. Si bien no es posible formular una teoría sobre

el mecanismo de la acción de la cinetina, los hechos experimentales disponibles indican que esa hormona interferiría el sistema del fitocromo.

La respuesta a la luz no es siempre positiva. En algunas especies, tales como *Nemophila* y *Phacelia*, la luz blanca inhibe la germinación cuando es aplicada en forma ininterrumpida o de acuerdo a fotoperíodos prolongados. Aparentemente, la inhibición es debida a los componentes azul y rojo-lejano de la luz blanca, siendo la radiación rojo-lejana la más inhibitoria.

En otras semillas, la inhibición de la germinación se obtiene cuando la luz posee una elevada proporción de radiación rojo-lejana. Así, las semillas de algunas variedades de tomate y lechuga son inhibidas por varias horas de irradiación con radiación rojo-lejana. Después de un tratamiento de esta naturaleza, la germinación vuelve a ser controlada por el clásico sistema reversible rojo-rojo lejano.

RELACIONES HIDRICAS

Si bien la hidratación de la semilla es un requisito previo e indispensable para que se inicie la germinación, la cantidad de agua absorbida así como su abundancia en el ambiente que la circunda pueden tener una profunda influencia sobre el comportamiento germinativo de aquélla.

En general, cuando la energía libre del agua en contacto con la semilla es baja, disminuye el porcentaje de germinación. Sin embargo, hay semillas cuyos porcentajes de germinación son máximos en condiciones de deficiencia hídrica en tanto que otras germinan cuando se hallan totalmente sumergidas (por ejemplo, la hidrófita *Typha latifolia*), y aun hay otras que han desarrollado mecanismos para evitar la germinación en un medio con exceso de agua. Un ejemplo interesante de este último tipo de adaptación es el de *Hirschfeldia incana*. El

tegumento exterior de las semillas está recubierto por un mucílago impermeable al agua, cuyo espesor es progresivamente menor al disminuir el potencial mátrico del sustrato, con el resultado de que el porcentaje de germinación aumenta concurrentemente.

Las semillas de muchas especies oriundas de regiones áridas contienen inhibidores de la germinación. Soriano (1953) observó que la germinación de los diseminulos de varias de esas especies estaba relacionada con la precipitación pluvial de una manera muy particular. Sus resultados pasieron en evidencia que: a) la lluvia era necesaria para remover inhibidores, posiblemente localizados en los tegumentos, y b) la lluvia fue efectiva cuando los inhibidores eran arrastrados lejos de la vecindad de las semillas.

La periodicidad del suministro de agua a las semillas tiene, en algunas especies, un acentuado efecto sobre el comportamiento germinativo. Las semillas intactas de *Citrullus colocynthis* germinan muy pobremente dentro de una escala bastante amplia de condiciones ambientales, excepto cuando se las somete a ciclos diarios de imbibición y desecación en que la primera se produce a temperaturas algo menores que la segunda.

CARACTERISTICAS DE LOS TEGUMENTOS

Los tegumentos representan algo más que una cubierta protectora de los tejidos seminales. En muchos taxones, la condición de dormición de la semilla está impuesta por la "dureza" de los tegumentos como consecuencia de que éstos o algunas de sus capas son impermeables al agua y a los gases o contienen inhibidores de la germinación.

Los tegumentos impermeables al agua son característicos de ciertas especies y aun de algunas familias, entre las cuales se destacan las leguminosas. Las semillas "duras" por esta causa, están presentes además en las malváceas, los liliáceas, las quenopodiáceas y las solanáceas. La otra manifestación de la impermeabilidad de

los tegumentos es la restricción del intercambio gaseoso de los tejidos embrionarios con el exterior. El ejemplo mejor conocido de una semilla cuyo tegumento es permeable al agua pero impermeable al intercambio gaseoso es el de *Xanthium pennsylvanicum*. Sus frutos contienen dos semillas de las cuales sólo la superior está dormida. Se ha comprobado que su dormición se debe a la impermeabilidad de los tegumentos al oxígeno. Sin embargo, este tipo de dormición sólo se presenta en las semillas maduras, ya que las recientemente cosechadas están dormidas debido a la presencia de un inhibidor de la germinación.

En otros casos, los tegumentos son diferencialmente permeables a los gases. Así, el tegumento interno de las semillas de *Cucurbita pepo* es menos impermeable al oxígeno y al dióxido de carbono que el externo; sin embargo, el papel del primero como regulador de la germinación es más importante, ya que el tegumento externo está perforado por la micropila. La restricción tegumentaria al intercambio gaseoso puede depender de la temperatura. En la lechuga y el manzano, por ejemplo, la dureza de la cubierta seminal se manifiesta sólo a temperaturas relativamente elevadas.

El carácter de "dureza" es hereditario y su manifestación depende, en gran medida, de las condiciones ambientales durante la maduración de la semilla. Por ejemplo, las semillas de *Robinia pseudo-acacia* resultaron 100% duras cuando provenían de climas áridos, mientras que aquellas que maduraron en regiones más húmedas presentaron un moderado porcentaje de dureza. En *Phaseolus vulgaris*, la desecación de las semillas a 6% de humedad aumentó el porcentaje de semillas duras en comparación con aquellas cuyo contenido de humedad era del 15%.

La importancia de la luz como factor promotor de tegumentos impermeables ha sido observada en *Chenopodium amaranticolor*, entre otras especies. Las plantas que maduraron en condiciones de día corto no produjeron semillas duras, en

tanto que otras, inducidas a florecer en día corto, pero transferidas a día largo durante la maduración de las semillas, produjeron semillas con tegumentos impermeables. El momento de la cosecha, el tamaño de las semillas y la nutrición de la planta madre son algunos de los diversos factores que determinan la condición de "dureza" de la semilla.

Se han propuesto diversos métodos para "ablandar" los tegumentos, de modo que la elección de uno de ellos en particular depende del tipo de semilla que se pretenda tratar. Los métodos más comunes son: a) escarificación mecánica, b) calentamiento, c) congelación, d) alta presión, y e) tratamientos químicos, como por ejemplo: el empleo de solventes de grasas o de ácido sulfúrico concentrado.

En muchas especies, las cubiertas seminales contienen inhibidores de la germinación. Estos inhibidores son compuestos orgánicos que ejercen acción por sí mismos o por derivados de su hidrólisis (liberación de amoníaco, por ejemplo). En la mayoría de los casos conocidos, el lavado con agua arrastra los inhibidores y permite la germinación; en otros, como en *Lythrum salicaria*, el inhibidor es inactivado por la luz.

COMPOSICION DE LA FASE GASEOSA

Aparte del papel que cumplen los tegumentos como reguladores absolutos del intercambio gaseoso, es decir su propiedad de ser o no permeables a los gases, la composición de la fase gaseosa (particularmente los contenidos de CO_2 y O_2), tiene suma influencia en el resultado del proceso germinativo. En la mayoría de las mesófitas y xerófitas, la germinación es favorecida por el oxígeno puesto que éste es necesario para el metabolismo respiratorio. En las plantas acuáticas (por ejemplo *Typha latifolia*) y en el arroz, por otra parte, la germinación ocurre en ausencia total de oxígeno o con presiones parciales muy reducidas de éste. En ciertos casos, el requerimien-

to de oxígeno está relacionado con las condiciones de iluminación. La fotoinhibición de la germinación es contrarrestada por un aumento de la concentración de oxígeno, mientras que en otros casos, la estimulación de la germinación en la oscuridad disminuye proporcionalmente con el aumento de la concentración de aquél. También se han citado casos en los que el nivel de oxígeno no influye en absoluto sobre la germinación.

El CO_2 tiene efecto estimulador en concentraciones desusadamente elevadas, próximas al 40 por ciento, en las semillas de lechuga incubadas a 35°C . Por otro lado, algunas leguminosas pertenecientes a los géneros *Medicago*, *Trifolium* y *Trigonella* pueden ser inducidas a germinar en atmósferas con 0,5 a 5 % de CO_2 . En *Trifolium subterraneum*, el efecto promotor no se debe tanto a la concentración absoluta de CO_2 como a su concentración relativa respecto de la de oxígeno, ya que la misma respuesta anterior se obtuvo reduciendo la presión parcial de este último gas a valores de 0 a 5 %.

FACTORES QUIMICOS EXOGENOS

La heterogeneidad química de la fase líquida del suelo tiene una profunda influencia sobre el destino último de una población de semillas. Los compuestos químicos presentes son de naturaleza tanto orgánica como inorgánica. Los orgánicos tienen su origen en diversas fuentes, tales como la descomposición de materiales vegetales, exudados radicales y sustancias lavadas de la parte aérea de las plantas. Estos son fitotóxicos, tanto en general como selectivamente, para individuos de la misma o de diferente especie. La evidencia que existe sobre el papel de estas sustancias como reguladoras de la germinación es escasa y controvertible, excepto por lo tocante al etileno. Algunos estudios recientes han indicado que el etileno puede estar involucrado en la regulación de la dormición de algunos vegetales. Sin embargo no se

sabe con certeza si este compuesto químico actúa directamente en el control de la dormición o si la capacidad para producir etileno es la causa o la consecuencia de la ruptura de la dormición. Por otro lado se ha comprobado que algunos productos de origen vegetal son promotores de la germinación. Por ejemplo, la presencia de exudados radicales es decisiva para la germinación de propágulos de *Striga* y *Orobanche*, dos géneros parásitos de plantas superiores.

De los iones presentes en la solución del suelo, el anión nitrato es frecuentemente citado como regulador de la germinación, particularmente de aquellas especies que requieren estratificación así como de otras que son fotoblasticas positivas. Ese anión actúa sinérgicamente con el ácido giberético y la cinetina en la activación del proceso germinativo de las semillas de tabaco. En otras especies, sin embargo, el nitrato actúa inhibiendo la germinación.

Recientemente se ha observado que las azidas, hidroxilaminas, nitritos y sales de amonio también estimulan la germinación de diversas especies. Se ha señalado que la promoción de la germinación por esos compuestos y por los nitratos dependería del acoplamiento de la actividad de las peroxidases a la oxidación de NADPH, acoplamiento que podría regular la utilización de la glucosa-6-fosfato por la ruta del ciclo de las pentosas.

FACTORES QUIMICOS ENDOGENOS

La presencia de inhibidores tanto en los tegumentos como en los tejidos seminales es causal del mantenimiento de la semilla en un estado de dormición. En algunas especies, la germinación es consecuencia inmediata de la remoción o de la inactivación de uno o más inhibidores. Ya se ha citado el ejemplo de los propágulos de las especies desérticas, en los cuales el inhibidor es removido por simple arrastre con agua. En *Phacelia tanacetifolia* se ha detectado un inhibidor cuya síntesis y actividad dependen

de la luz, de modo que, los propágulos sólo germinan en la oscuridad. Análogamente, los frutos de *Betula pubescens* tienen un requerimiento fotoperiódico para germinar como consecuencia de un inhibidor, presente en el pericarpio, que es inactivado sólo bajo un régimen fluctuante de iluminación. Se conoce sólo un caso de inhibición de la germinación debida a un factor presente en el endosperma. El embrión maduro de *Iris* spp. germina rápidamente si se lo separa del tejido de reserva, pero el solo contacto con una porción de endosperma inhibe su desarrollo.

La existencia de un balance entre los compuestos hormonales promotores e inhibidores del desarrollo es la hipótesis actualmente más aceptada para explicar tanto la imposición como la ruptura de la dormición. Los inhibidores guardan estrecha semejanza, en cuanto a su acción, con el ácido abscísico, en tanto que los compuestos promotores son giberelinas o al menos su papel es similar a la forma de actuar de éstas. De la evidencia experimental existente, si bien incompleta y restringida a semillas que requieren un período de bajas temperaturas para germinar, es posible esquematizar la interacción de los inhibidores y promotores de la siguiente manera. Durante la maduración de la semilla, el nivel de los promotores disminuye paulatinamente y el de los inhibidores crece hasta un punto en el cual el balance entre ellos impone el estado de dormición. Este punto suele coincidir con la total madurez de la semilla. En el nivel molecular, el estado de dormición estaría caracterizado por la represión génica y, por ende, por la detención de la síntesis de ácidos nucleicos. Como resultado de un definido estímulo exterior, se promueve la inactivación o hidrólisis de los compuestos inhibidores y aumenta el contenido de giberelinas, las que desbloquearían operones, activando así la síntesis de ADN y ARN.

Almacenamiento y posmaduración en seco

La dormición de muchos tipos de semillas queda frecuentemente anulada

después de un período de almacenamiento en un ambiente con baja humedad relativa, proceso llamado "posmaduración" en seco para distinguirlo de aquellos otros procesos que tienen lugar durante la estratificación.

Muchas semillas que responden a la posmaduración en seco son capaces de germinar cuando son de cosecha reciente, pero sólo dentro de un margen reducido de temperatura. Así, las semillas frescas de cebada germinan a 10 °C, pero no a 15 °C. Después de un período de almacenamiento en seco o tratamientos térmicos apropiados, el margen de germinación se amplía a 5 - 36 °C, aproximadamente. Otras semillas son fotoblásticas inmediatamente después de maduras, pero pierden tal condición en el transcurso de la posmaduración en seco.

El contenido de humedad de las semillas condiciona tanto la temperatura como la rapidez con que el estado de dormición finaliza. En *Ambrosia trifida*, la posmaduración no se cumple por debajo de cierto contenido de humedad del grano. Estos, si se hallan secos (8-14 % humedad), posmaduran lentamente cuando son almacenados a 15 - 20 °C; sin embargo, permanecen dormidos durante años, perdiendo eventualmente su viabilidad, si son almacenados en una atmósfera húmeda cuya temperatura es superior a 10 °C. Las temperaturas menores que ésta aceleran la posmaduración. En algunos cereales, el proceso de posmaduración se acorta al someter a los granos a 35 - 40 °C durante 2 - 4 días.

La naturaleza de los cambios fisiológicos y bioquímicos que tienen lugar durante el almacenamiento en seco es todavía desconocida. Como el proceso de posmaduración no es uniforme, pueden darse diversas explicaciones sobre lo que probablemente ocurre en distintos tipos de semillas. Se ha sugerido que en las que contienen inhibidores éstos son destruidos o volatilizados; respecto de otras se ha señalado que, en el transcurso del almacenamiento en seco, se produce la movilización y activación de sustancias de reserva. Cualquiera que sean las causas subyacentes de la posmaduración,

Cuadro 1. Algunas de las especies que requieren un período de almacenamiento en seco. Tratamiento recomendado para romper la dormición*

Especies	Período de almacenamiento en seco	Tratamiento para romper la dormición
<i>Ambrosia trifida</i>	1 - 2 años	Frío, 3 meses
<i>Cyperus rotundus</i>	7 años	SO ₂ H ₂ , 15 minutos
<i>Festuca rubra</i>	1 - 2 meses	Frío, 7 días
<i>Gossypium hirsutum</i>	1 mes	Secado total
<i>Hordeum</i> spp.	1 1/2 - 9 meses	Remoción de glumas
<i>Lactuca sativa</i> var. Gran Rapids	3 - 9 meses	Exposición a la luz
<i>Lepidium virginicum</i>	2 semanas	Luz o NO ₂ K
<i>Straptanthus arizonicus</i>	1 - 2 años	Temperaturas alternadas
<i>Triticum</i> spp.	1 - 2 meses	Pinchado de los tegumentos

* Extractado de Barton (1965).

tanto del período de ésta como los tratamientos con que puede ser obviada son extremadamente variables según las distintas especies (cuadro 1).

VIABILIDAD

La ausencia de germinación puede deberse a dos causas: que la semilla esté dormida —estado reversible en el que el embrión puede ser inducido a reiniciar su desarrollo con arreglo a cierto número de condiciones— o que el embrión haya perdido su viabilidad, es decir que esté muerto.

Son tres los factores que determinan la longevidad de una semilla: la temperatura ambiente, el contenido de humedad de la semilla y la presión parcial de oxígeno. Cuanto menores son la temperatura y el contenido de humedad, mayor es la longevidad del embrión. Existen algunas excepciones a esta regla. Las semillas de roble, castaño,

algunos cítricos y café, por ejemplo, requieren un óptimo contenido de humedad, relativamente elevado, para conservar su viabilidad. En cuanto al tenor de oxígeno, las bajas concentraciones, del orden de 2 - 5 %, favorecen la longevidad del embrión.

Varias relaciones empíricas han sido propuestas para predecir el porcentaje de viabilidad en función de las tres variables anteriores, pero aquí no nos detendremos en esas formulaciones estadísticas. Tanto la forma de esas relaciones (lineales o exponenciales, por ejemplo) como los valores numéricos de los coeficientes que las componen son: a) propios de cada cultivar y de cada especie; b) modificados por la historia de la semilla, tanto en lo que concierne a los factores ambientales y fisiológicos que actúan durante su maduración como el grado de daño (de origen mecánico) sufrido durante su recolección; c) modificados por condiciones extremas de almacenamiento, tales como la humedad ambiental elevada, las temperaturas muy

bajas que hacen que la semilla se hiele, o la desecación extrema de ésta, y d) afectados por la presión parcial de oxígeno, puesto que los niveles cercanos a valores normales reducen el período de longevidad.

De los diversos métodos propuestos para estimar la viabilidad del embrión, el llamado "prueba de tetrazolio" es el más empleado, tanto por su simplicidad técnica como por la posibilidad de repetirlo experimentalmente. El principio de esta prueba es la estimación bioquímica de la actividad metabólica de una semilla en estado de latencia. Las sales de tetrazolio indican la actividad de las enzimas del grupo de las deshidrogenasas. El compuesto incoloro es absorbido por la semilla y reducido por las deshidrogenasas a un compuesto rojo, estable y no difusible, caracterizado como formazán. En ausencia de enzimas activas, los tejidos embrionarios no se tiñen.

LECTURAS COMPLEMENTARIAS

- Amen, R. D.: "A model of seed dormancy", *Botanical Reviews*, 34: 1-31, 1968.
- Kozlowski, T. T. (comp.): *Seed biology*, Academic Press, Nueva York, 1972.
- Mayer, A. M. y A. Poljakoff-Mayber: *The germination of seeds*, The MacMillan Co., Nueva York, 1963.
- Mayer, A. M. e Y. Shain: "The control of seed germination", *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 25: 167-193, 1974.
- Roberts, E. H. (comp.): *Viability of seeds*, Chapman & Hall, Londres, 1974.
- Ruhland, W. (compl): "Differentiation and development", *Encyclopedia of Plant physiology*, vol. XV/II, Springer-Verlag, Berlín, 1965.
- Soriano, A: "La germinación como fenómeno ecológico", *Ciencia e Investigación*, 13: 100-108, 1967.

CAPITULO XX

REPRODUCCION

DE LOS VEGETALES

E. M. SIVORI

INTRODUCCION

La reproducción puede definirse como la función por medio de la cual se engendran nuevos organismos a partir de aquél o aquéllos que han alcanzado cierto grado de desarrollo. Esta función permite a los seres vivos perpetuar la especie.

La reproducción fue dividida en dos clases fundamentales: la *sexual* y la *asexual*. La primera es aquella que se realiza por medio de la conjugación de dos células, en numerosos casos bien diferenciadas del resto de las células del individuo, que reciben el nombre de *gametos*. La asexual es la que se realiza a partir de una célula o de un grupo de células, sin que se produzca ninguna conjugación; cuando intervienen órganos vegetativos como raíces, tubérculos, tallos, etc., se la suele denominar *multiplicación*.

En organismos con núcleo diferenciado, el ciclo vital transcurre a través de una alternancia de fases o generaciones. Una, con células con dos series de cromosomas ($2n$) denominada *diplofase* o *esporófito*, que da lugar a los esporos considerados desde un punto de vista citológico, con una serie de cromosomas. Esta reducción se produce por medio de la división celular conocida como *meiosis*. La otra, la fase haploide (n) o *gametofase*, da lugar a los gametos.

Es de interés puntualizar que si bien lo común es que en los ciclos se produzca este reemplazo consecutivo de generaciones, gametófito n y esporófito $2n$, existen casos circunstanciales o "normales", donde la alternancia cromosómica no se produce, pero la alternancia de generaciones en lo referente a gametófito y esporófito continúa produciéndose regularmente. Es decir, que se encuentran gametófitos $2n$ sin que pierdan las características de tales o bien esporófitos n sin que tampoco pierdan las características de tales.

El gametófito comienza con la división de la espora (megaspora o célula madre) lo que ocurre por mitosis y mantiene su cualidad de n cromosomas; el esporófito comienza con la división, también mitótica, de la célula denominada *cigota*, producida por la conjugación de dos células del gametófito, denominados gametos.

Es habitual considerar que la cigota da lugar al organismo *hijo*, lo cual es una generalización convencional, porque el sistema que denominamos *individuo* comienza habitualmente con esta célula, pero como veremos, en algunos organismos se inicia directamente de una espora. A través de los distintos grupos sistemáticos se puede observar una evolución en el proceso reproductivo, en particular en las estructuras u órganos donde se desarrolla. En ciertas especies infe-

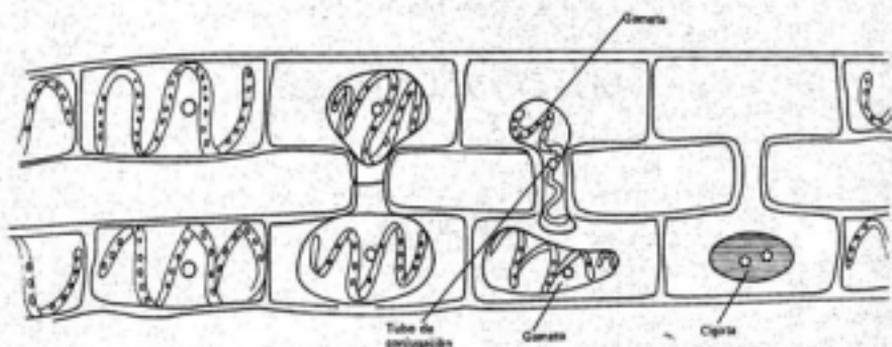


Figura 231. Reproducción sexual de *Spirogyra*. Tres estados de dicho proceso.

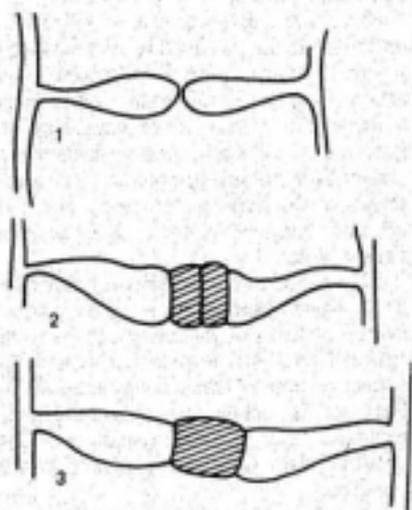


Figura 232. Distintos estados en la reproducción sexual de *Rhizopus nigricans*: 1) progametangio; 2) formación de gametangio; 3) cigota ya constituida.

riores (*Rizopus*, *Spirogyra*) no existen gametos diferenciados ni estructuras destinadas a producirlos. El micelio o cualquier célula posee la propiedad de conjugarse y dar lugar a la cigota, ya sea dentro de una de las dos células que se fusionan (*Spirogyra*, fig. 231) o consti-

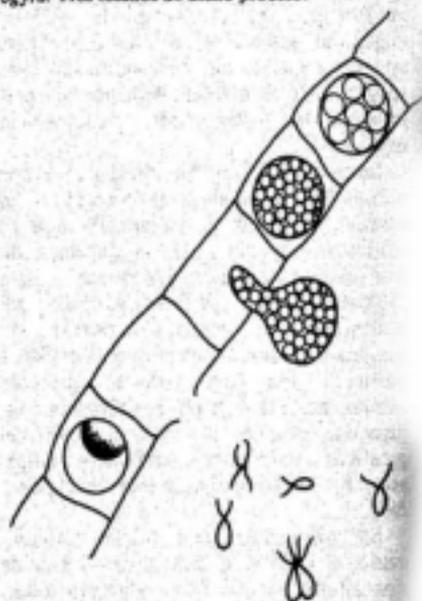


Figura 233. Reproducción isogámica en *Ulva*. El contenido celular se divide en gametos iguales, móviles, que salen al exterior. Estos se unen dando lugar a las cigotas.

tuyendo un elemento celular nuevo (*Rizopus*, fig. 232). Existen otros organismos en que las células sexuales o gametos se diferencian de aquellas que consti-

tuyen el conjunto, denominadas vegetativas. Estos gametos pueden ser iguales entre sí, sin diferenciación morfológica de sexo (*Ulothrix*), característica que se denomina isogamia (fig. 233) o bien pueden distinguirse fisiológica y morfológicamente (*heterogamia*). Lo común es que también se diferencien los órganos o estructuras que las producen, como el oogonio que da lugar al gameto femenino, la célula huevo u ovocélula, y el anteridio que a su vez da lugar a los gametos masculinos, los anterozooides (*Vaucheria*, fig. 234). En general, el anterozoide es móvil y está constituido por escaso citoplasma, mientras que la ovocélula es de mayor tamaño, inmóvil y con abundante citoplasma. De acuerdo a lo mencionado, los gametos son normalmente haploides mientras que las cigotas son diploides con las dos series de cromosomas, una proveniente del anterozoide y otra de la ovocélula.

A partir de las briófitas, las estructuras reproductivas toman una línea evolutiva definida. Se observa una disminución constante del gametófito denominado *protonema* y "plantita" en las briófitas, *protalo* en las pteridófitas, *endosperma primario* en las gimnospermas y *saco embrionario* en las angiospermas; por

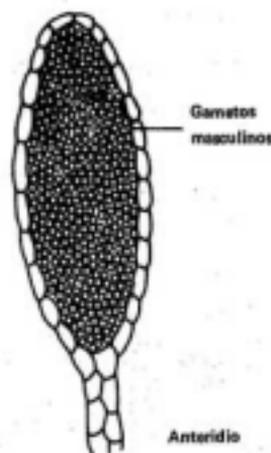


Figura 235. Anteridio de un helecho isosporado.

otra parte se observa una evolución contraria en el esporófito que aumenta paulatinamente su tamaño relativo. En los musgos, la plantita (haploide) da lugar a la estructura reproductiva masculina, el *anteridio* (fig. 235) que producirá los anterozooides y la femenina, el *arqueogonio*, que dará lugar a la ovocélula (fig. 236), ambas con n cromosomas. Luego de la fecundación se constituye la cigota, cuyo crecimiento conforma el *esporogonio* (esporofito), en cuya parte superior se produce un *esporangio* donde por meiosis se constituyen las esporas de n cromosomas. Estas esporas, que se encuentran en gran cantidad, son las que se encargan de reproducir numéricamente la especie. Tenemos, en consecuencia, un desarrollo que lleva intercalada una fecundación; pero el proceso de multiplicación de la especie se produce por la dispersión de las esporas asexuales.

En las pteridófitas, el proceso de desarrollo es semejante. La planta (esporofito) produce esporofilos que a su vez dan lugar a esporangios, los cuales pueden ser femeninos, masculinos o isosporicos. Los esporangios dan lugar a las esporas que pueden ser morfológicamente iguales (isosporia) o masculinas (mi-

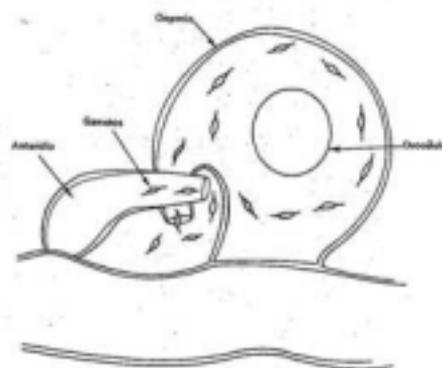
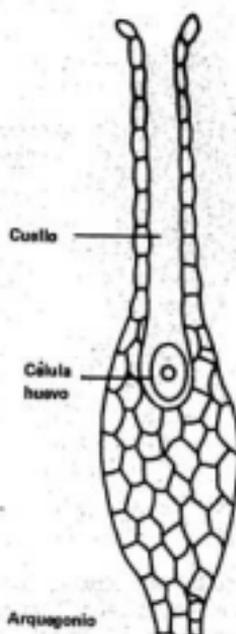


Figura 234. Reproducción sexual en *Vaucheria*. El anteridio, separado del filamento cenocítico, libera los gametos. Estos se trasladan hacia el interior del oogonio fecundando a la célula huevo.



crosporas) y femeninas (macrosporas); esta última característica se denomina *heterosporia*. La germinación de las esporas produce un prótalo haploide, generalmente con clorofila, de vida autótrofa, que puede ser hermafrodita o unisexuado. Sobre el prótalo se constituyen los anteridios o arquegonios que dan lugar respectivamente a los anterozooides y ovocélulas; la ovocélula fecundada (cigota) se desarrolla para dar origen a la planta de helecho (esporofito), sin que se constituya un embrión.

Al igual que en las briófitas, si bien la fecundación da directamente una nueva planta, la multiplicación se realiza por dispersión de las esporas. Dentro de las pteridófitas se encuentra una gran variación en el tipo de desarrollo reproductivo. Así en algunas especies —*Adiantum*— existe isosporia (fig. 237 a y b) los prótalos que son hermafroditas y dan lugar cada uno a anteridios y arquegonios (figs. 238 y 239). Por otra parte, en una *Selaginella* (fig. 240) se produce heterosporia, los prótalos son femeninos y masculinos con producción de arquegonios y anteridios, respectivamente y sus correspondientes gametos. Lo común es que las esporas germinen y el prótalo

Figura 236. Organos reproductores de un musgo. Las células del canal del cuello del arqueogonio ya se han disuelto dejándolo libre, y la ovocélula fue fecundada dando lugar a la cigota.

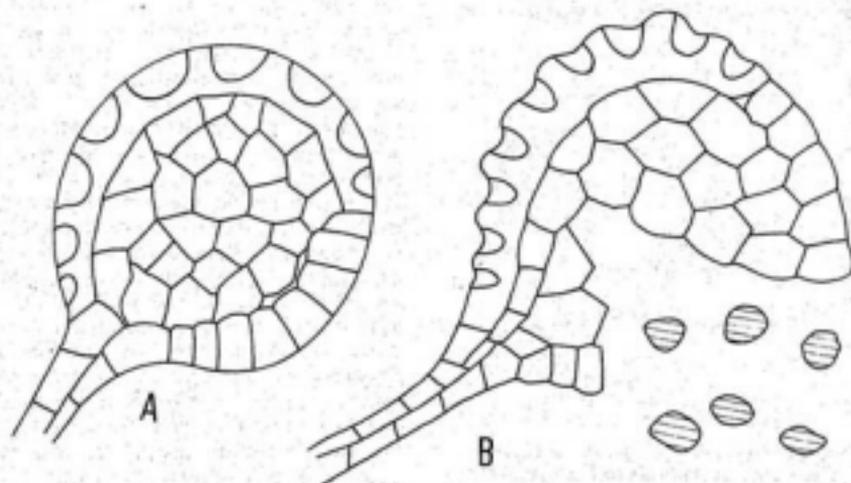


Figura 237. A) Esporangio de helecho que lleva en su interior esporangiosporas. B) Esporangio maduro que libera sus esporas al ser roto por la fuerza del anillo al disecarse.

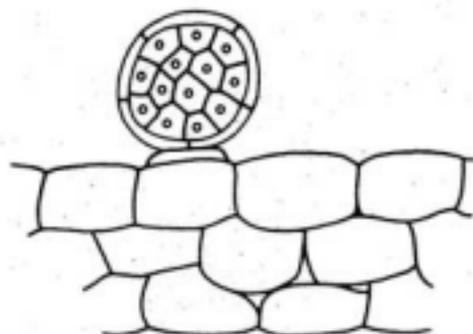


Figura 238. Corte transversal de un prótalo de helecho mostrando el interior de un anteridio con gametos en maduración.

al embrión; mientras que las angiospermas desarrollan una doble fecundación: una que da lugar al embrión y la otra al endosperma (*xenofito*) que constituye la reserva de la semilla y alimenta el embrión durante su desarrollo y a la nueva plántula luego de la germinación.

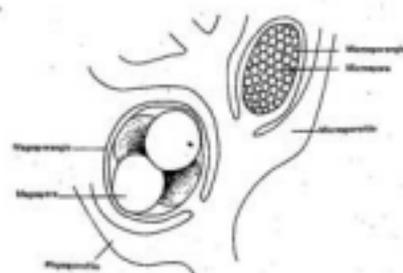


Figura 240. Cono de *Selaginella* de un helecho heterosporado donde se observa un megasporangio con cuatro megasporas y un microsporangio con numerosas microsporas.

quede en su interior, pero con los arquegonios y los anteridios expuestos (fig. 241), lo que permite la conjugación de los gametos. En algunas especies, las esporas no se desprenden y germinan sobre la planta madre, semejando en cierta forma una semilla de gimnosperma.

Las gimnospermas y angiospermas fueron denominadas espermatófitas por poseer semillas. Las gimnospermas presentan solo una fecundación que da lugar

En las primeras (gimnospermas) el gametófito femenino (prótalo) subsiste y forma el endosperma primario seminal. La nucela recubierta por los tegumentos constituye el óvulo; cuando madura, una célula de su seno (*arquespora*) se divide dos veces para dar lugar a cuatro megasporas haploides, tres de las cuales se reabsorben en tanto que la cuarta, por divisiones sucesivas, produce el endosperma primario con sus correspondientes arquegonios y ovocélulas (gametófito femenino). Por otra parte, en el tejido del seno de las tecas de las anteras (correspondientes a los microsporófilos), se constituyen las células madres de los granos de polen, que por meiosis producen el polen que es haploide (microsporas).

La polinización es generalmente anémofila y el polen pasa directamente a través de la micrópila del óvulo. Los granos germinan y el tubo polínico, que contiene un número variable de células protálicas, que regulan el crecimiento, da lugar a una célula generativa. La célula generativa produce dos anterozoides, uno de los cuales fecunda la ovocélula (singa-

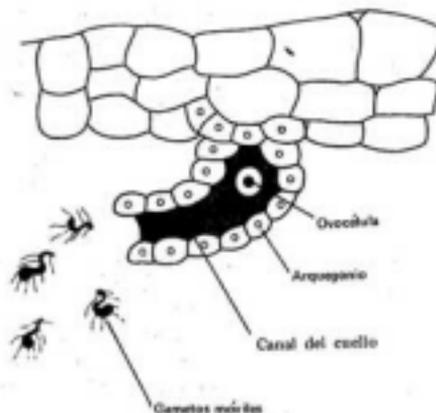


Figura 239. Corte transversal de un prótalo de helecho con un arquegonio y en su interior la ovocélula. Se observan los gametos móviles que se trasladan hacia la boca del cuello del arquegonio.

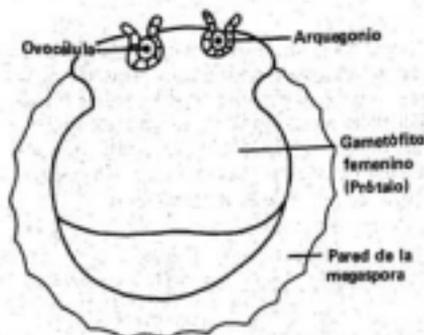


Figura 241. Gametofito femenino de una *Selaginella* en estado de madurez y con los arqueogonios expuestos.

mía) que pasa a constituir la cigota. Las reservas de la semilla están conformadas por el endosperma primario (gametofito) en el interior y restos de la nucela en el exterior, ambos de origen exclusivamente materno, pero el primero haploide y el segundo diploide (fig. 242). El embrión, diploide, posee una serie de cromosomas provenientes de la ovocélula y otra serie proveniente del anterozoide.

En las angiospermas, el proceso de reproducción es más elaborado y posiblemente se realiza con mayor seguridad y economía de energía. El carpelo (homólogo del macrosporófilo) contiene el o los óvulos; éste (homólogo del macrosporangio) está constituido por la nucela

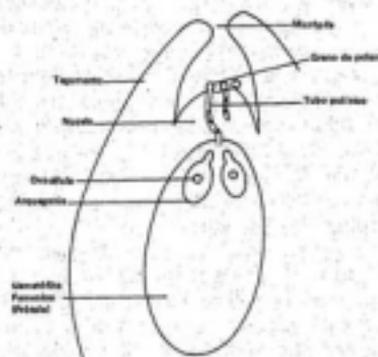


Figura 242. Óvulo de *Pinus* maduro en el momento de su fecundación. Los granos de polen han pasado a través de la micropila, depositándose sobre la nucela donde germinan.

y los tegumentos. Al madurar, una célula del seno de la nucela (la arqueospora) se divide por meiosis y da lugar a cuatro células (megasporas) haploides, tres de las cuales se reabsorben, y la cuarta, la célula madre del saco embrionario, produce esta estructura por divisiones sucesivas. El saco embrionario está constituido por ocho células sin pared que las separe o bien con una vacuola que ocupa parte de su interior; las células son: cinco vegetativas, una gamética y una conocida como célula media o central que, por división, da lugar a las dos polares o bien a una sola con dos núcleos polares.

El conjunto es homólogo al prótalo y constituye el gametofito femenino. Las células vegetativas son dos sinérgidas (ubicadas en el extremo que da hacia la micropila del óvulo) y tres antípodas (situadas del lado de la chalaza). La célula gamética, llamada célula huevo u ovocélula, se sitúa hacia el centro, cercana a la media.

La doble fecundación se produce por la conjugación de un anterozoide con la ovocélula que origina la cigota, y por la conjugación del otro anterozoide con las dos polares provenientes de la división de la media, lo cual da lugar al endosperma que alimentará el crecimiento del embrión y posteriormente a la plántula que se constituye durante la germinación, terminando por resumirse. En esta forma el embrión es diploide con una serie de cromosomas provenientes de la planta madre y otra de la planta padre. El endosperma es generalmente triploide, con dos series provenientes de las dos polares (planta madre) y una serie del anterozoide de la planta padre.

No obstante, existen casos donde el anterozoide se conjuga solo con una polar o bien con dos polares poliploides, pudiendo el endosperma llegar a estar constituido por un tejido 9n.

Por otra parte existen especies que no forman endosperma, como en las orquídeas, o bien éste se consume durante el desarrollo del embrión y las reservas que alimentarán la plántula durante la

germinación se acumulan en los cotiledones, como ocurre en arveja, poroto, etcétera.

El endosperma no solo alimenta al embrión en crecimiento, sino, que también regula su desarrollo. Cuando aquél aborta antes de que el embrión esté constituido, determina su muerte; pero si éste se extrae y cultiva *in vitro*, continúa su crecimiento hasta dar lugar a una plántula sin pasar por el estado de latencia.

Los estambres (homólogos de los microsporófilos) poseen las tecas (homólogas de los microsporangios) en cuyo seno las células madres se dividen y dan lugar por meiosis a los granos de polen (microsporas). Estos llevan en su interior dos células, una de ellas vegetativa (llamada *sifonogénica* porque regula el crecimiento del tubo polínico) y la otra generativa que, por división, da lugar a los gametos. Los gametos pueden formar-

se antes de la germinación del grano de polen o con posterioridad a él, según el tipo de planta. Cuando el tubo polínico crece, su actividad es controlada por la célula vegetativa y todo el protoplasma se desplaza en su extremo, llevando incluso los gametos; el tubo, que va sintetizando la pared del ápice que crece, inicia su desarrollo a partir de la intina y emerge por uno de los poros de la exina. La parte posterior del tubo se va obturando con calosa y otros compuestos a medida que crece.

La polinización se realiza de manera muy distinta, según la especie y el medio a que ella esté adaptada. El grano de polen es depositado sobre el estigma donde germina y el tubo se dirige a través del estilo hacia el óvulo, en el cual penetra a través de la chalaza, por su parte media o bien directamente por la micrópila, que es la entrada general hacia la nucela en los tres casos, y al ponerse en contacto con una de las dos sinérgidas detiene su crecimiento. Los anterozooides penetran al saco embrionario a través del aparato filar o filiforme, situado en el extremo de la sinérgida, se desplazan luego hasta fecundar la ovocélula y las dos células polares. La figura 243 esquematiza la constitución del óvulo en el momento de la fecundación.

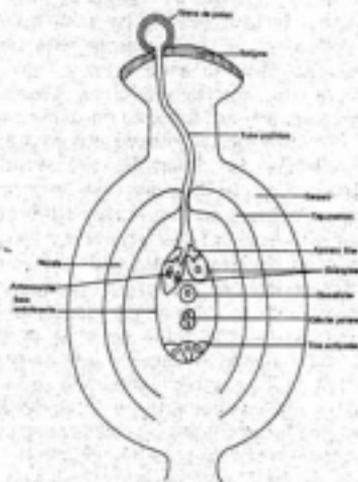


Figura 243. Fecundación de una angiosperma. El grano de polen depositado sobre el estigma germina emitiendo el tubo polínico. Este llega al saco embrionario donde vuelca los dos anterozooides. Uno se conjuga con la ovocélula y dará lugar al embrión; el otro lo hace con las dos polares y dará lugar al endosperma (adaptado de A. Cocucci, 1969).

Reproducción anormal

Los procesos hasta ahora descritos, que ocurren en la generalidad de las especies, pueden considerarse normales. Pero existen algunos de ellos que en forma permanente o bien bajo circunstancias especiales, manifiestan cambios que escapan al esquema mencionado. Se denominan sistemas de reproducción aberrantes o anormales.

Se llama *apomixis* al proceso por medio del cual se produce un nuevo organismo, sin fecundación previa, a partir de estructuras reproductivas que normalmente o en la generalidad de los

casos desarrollan la función sexual con fusión de gametos. El embrión producido en este proceso, que se denomina apomítico, puede originarse en células del saco embrionario que no son gametos, en cuyo caso el proceso recibe el nombre de *agamosperma* o *apogamia*. Cuando se origina en un gameto (ovocélula), siempre en forma apomítica, se denomina *partenogénesis*. Puede provenir también de células de la nucela.

La agamosperma puede ser haploide o diploide. Es diploide si la célula que da lugar al nuevo individuo es de $2n$ cromosomas, correspondiente al gametofito femenino, como ocurre en el protonema o prótalo de las briófitas y pteridófitas, respectivamente, o en los sacos embrionarios provenientes de células madres $2n$. Es haploide si el organismo hijo se origina en una célula de n cromosomas, que tampoco es un gameto y corresponde como en el caso anterior al gametofito femenino, sea el protonema o prótalo en las briófitas y pteridófitas, respectivamente, o bien en las sinérgidas y antípodas del saco embrionario en las angiospermas.

La partenogénesis también puede ser haploide o diploide. En el primer caso el nuevo individuo se origina en una ovocélula normal de n cromosomas que de alguna manera ha adquirido la facultad de crecer y desarrollarse sin necesidad del proceso de fecundación. Existen diversas condiciones en que una ovocélula haploide puede dar lugar a un embrión y posteriormente a una planta. Una de ellas es la polinización sin que ocurra singamia, lo cual estimula su actividad. Por ejemplo el cruzamiento de maíces diploides (con una ovocélula haploide), con maíces poliploides; el proceso se conoce como *pseudogamia*. En estos casos el endosperma se puede desarrollar durante un corto período y termina por abortar, lo que origina la muerte del embrión en formación. Si éste se extrae y se cultiva *in vitro* sobre un medio adecuado, puede obtenerse una planta haploide.

Tanto la partenogénesis como la

apogamia diploides producen individuos donde la doble serie de cromosomas son maternos; por lo tanto poseen las mismas características hereditarias que la planta madre y, en consecuencia, se comportan como un clon; pero, a diferencia de éstos, pasan por un período juvenil y sufren todos los cambios del desarrollo que ocurren en aquellas plantas provenientes de semillas normales.

Cuando el embrión proviene de una ovocélula $2n$ porque no se produjo la meiosis que dio origen a la célula madre del saco embrionario, el proceso recibe el nombre de *diplospora*.

Si una célula de la nucela, que no es la célula madre (espora) del saco embrionario, da lugar a éste con constitución diploide, la célula huevo se desarrolla por *partenogénesis* y el proceso recibe el nombre de *aposporia*. Puede ocurrir que se origine más de un saco embrionario, persistiendo uno de ellos y los otros degeneran; también la producción de la ovocélula $2n$ suele volverse "normal" en una especie y el organismo adquiere la característica de apomítico, sin que se realice la singamia, como ocurre en *Taraxacum officinale*.

Por otra parte, existen especies donde, además del desarrollo del embrión normal, por fertilización de la ovocélula, se forman uno o varios embriones apomíticos, diploides, que, como hemos visto, son de origen materno y se comportan como un clon, lo cual indica que no ocurre la segregación genética. El proceso se denomina *poliembriónia* y se observa frecuentemente en cítricos, siendo indispensable para ello que se realice la fertilización; en consecuencia siempre encontramos los embriones apomíticos acompañados del embrión normal. Es fácil separar las plántulas provenientes del embrión normal, de aquellas provenientes de los apomíticos, si la fertilización se realizó con polen originado en una forma morfológicamente bien distinta, como ocurre con el "trifoliata".

Las plantas de origen apomítico son de suma utilidad en la fruticultura por

que, si bien la producción comienza con retraso si se la compara con aquellas provenientes de injerto, la curva de rendimiento alcanza luego niveles superiores y son más longevas. Por otra parte las enfermedades virósicas no se transmiten a través de los embriones, lo cual no ocurre con las plantas provenientes de estacas, injertos y otras formas de multiplicación vegetativa.

También en los órganos reproductivos de algunas especies sexualmente estériles o que bajo determinadas condiciones se comportan como tales, se constituyen propágulos que dan origen a nuevos individuos; el proceso se denomina *viviparidad* y no debe confundirse con la germinación de semillas en el ovario de la planta madre, conocida también con la misma denominación. Tal proceso es común en algunas gramíneas como *Poa*, *Deschampsia* y otras; es posible que la presencia de esta última y la reciente aparición de aquella en la Antártida esté relacionada con esta característica.

REPRODUCCION ASEXUAL

La reproducción asexual se encuentra en todos los niveles taxonómicos, a partir de las especies consideradas más inferiores hasta las plantas superiores. Ciertos organismos monocelulares la poseen exclusivamente. Otros desarrollan ambos procesos, sexual y asexual.

Este tipo de reproducción tiene gran importancia técnica aun en aquellos vegetales que presentan ambas formas, porque la descendencia por vía vegetativa mantiene normalmente las mismas características hereditarias del organismo que le dio origen. De esta manera, cuando se constituye un individuo que puede ser utilizado en la bioproducción, la reproducción asexual permite multiplicarlo sin que se observe segregación y sin que pierda el vigor, en el caso de que se trate de un híbrido, que esta condición podría impartirle.

Un clon puede definirse como la descendencia por vía vegetativa de un individuo. En agricultura son clones las "variedades" o cultivares de numerosos árboles frutales y ciertas plantas hortícolas u ornamentales. En microbiología son clones las "cepas". En condiciones naturales, suelen ser clones los "bosquecillos" de numerosas especies, como el chañar (*Geoffroea decorticans*) y otras que forman comunidades constituidas en grupos. En los clones artificiales se reúnen caracteres favorables de calidad y capacidad de producción, cualidades que se segregarian si se reprodujeran por semilla.

Los esquizófitos se multiplican por *sisiparidad*, la que implica una división del organismo en dos organismos hijos, de igual tamaño, que luego crecen hasta dividirse nuevamente. En formas con estructura más desarrollada, como en el caso de los flagelados, la *sisiparidad* puede ser longitudinal a lo largo del eje principal. En otros organismos (como las levaduras, figura 244) se produce primero la mitosis y posteriormente la formación de una protuberancia sobre uno de los lados de la célula, y se constituye una yémula hacia donde se desplaza uno de los nuevos núcleos recién formados. La yémula se separa de la célula madre para dar lugar a un nuevo organismo.

Otra de las formas habituales de reproducción asexual es por *esporulación*. El término espóra ha sido definido varias veces, por lo cual su significado ha quedado ambiguo. Así, se ha-

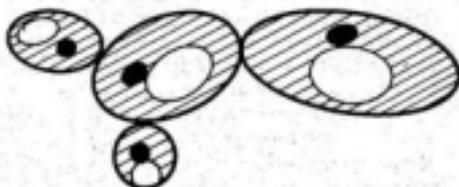


Figura 244. Multiplicación de levaduras. Células hijas de levadura (*Saccharomyces*) constituidas por gemación.

bla de espora desde el punto de vista citológico, como en los casos de la arqueospora y de la célula madre del saco embrionario de la nucela, sin que estén involucradas directamente en la reproducción, sino a través de su desarrollo ontogénico. En ciertas especies los equivalentes a dichas esporas son producidos en gran cantidad, como ocurre con ciertos helechos, y dan lugar directamente a nuevos organismos. Por otra parte existen casos de células que adquieren una estructura de resistencia a los factores externos como la sequía y las bajas temperaturas, y que quedan libres al destruirse el organismo que les dio origen; producen un nuevo individuo cuando las condiciones del medio les son favorables. Estas pueden ser haploides o diploides, según el tipo de tejido del cual derivan, y también reciben el nombre de esporas.

Si se circunscribe el término de espora a las células que desarrollan una función reproductiva —es decir que sirven para dar origen *directamente* a un nuevo organismo— y si se considera las numerosas formas que en la actualidad toma esta denominación, se la puede definir como un germen unicelular capaz de dar lugar a un nuevo organismo sin necesidad de ser fertilizado por conjugación con otra célula.

Existen esporas flageladas, móviles, las zoosporas, como ocurre en *Ulothrix*, un alga verde que presenta también reproducción sexual con producción de gametos. Cualquier célula de su organismo sufre divisiones del núcleo y, posteriormente, una separación del citoplasma que rodea a dichos núcleos. Estas nuevas células se liberan luego a través de una abertura lateral, como zoosporas nadantes que germinarán para dar lugar a nuevos organismos.

Entre las esporas inmóviles encontramos las *clamidiosporas* (que se forman a partir de una célula y de la cual llevan parte de su pared, como ocurre con el carbón de los cereales), pertenecientes a las ustilagineales; las *basidiosporas*, características de las basidiomicetas; las

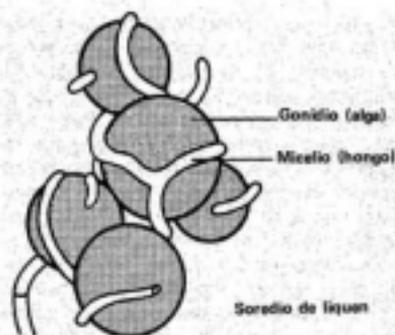


Figura 245. Multiplicación de líquenes.

ascidiosporas y *picnidiosporas*, de las uredinias; las *esporangiosporas*, que es cualquier espora producida dentro de un esporangio, en particular de los hongos; y los *acinetos* de las algas, formados por engrosamiento de las membranas de una célula vegetativa. En algunas especies, como ocurre en el helecho "licopodio" las esporas se producen en grandes cantidades que pueden recorrer distancias considerables llevadas por el viento.

Los líquenes, no obstante ser un sistema simbiote formado por dos organismos, se multiplican como tales por medio de la reproducción vegetativa: se constituyen *soredios* (fig. 245), es decir pequeños cuerpos formados por gonidios (el alga) e hifas del hongo, a partir de fragmentaciones del talo. Las hepáticas se reproducen por propágulos¹ que comprenden un grupo de células desprendido de la plantita madre capaz de dar origen a un nuevo individuo.

Se reserva el nombre de multiplicación a la reproducción vegetativa que se realiza por partes de la planta, principalmente en helechos, gimnospermas y angiospermas. Puede ocurrir naturalmente o realizarse en forma artificial. En el

¹ Propágulo es también toda forma vegetativa de reproducción, aun en plantas superiores.

primer caso es común que el mismo individuo desarrolle también la reproducción sexual. Esta permite la difusión a grandes distancias, como ocurre con las semillas, mientras que la multiplicación vegetativa implica una difusión progresiva, a corta distancia y muy segura, por medio de la cual la planta gana terreno a costa de las especies vecinas, como ocurre con los rizomas de sorgo de Alepo. Esta representa un sistema que imparte agresividad a la especie.

Las formas habituales de multiplicación en las plantas superiores son las siguientes: *rizomas*, que se define como un tallo subterráneo de crecimiento plagiótropo, con relación al erecto, del cual derivan. Generalmente han sufrido numerosas adaptaciones al medio, como la transformación de las hojas en escamas (catáfilas), y conservan las yemas axilares, la facultad de sintetizar clorofila en presencia de luz, de emitir raíces en sus nudos y, asimismo, su estructura interna.

Estolón es un tallo que crece sobre la superficie del suelo, o en el suelo cercano a ella, y que normalmente emite nudos, raíces y tallos. La destrucción de sus internodios da lugar a nuevos individuos.

Raíces gemíferas son aquellas capaces de emitir yemas que eventualmente dan lugar a vástagos aéreos y nuevas plantas; las poseen el álamo blanco (*Populus alba*), el chañar y otras especies. Los *bulbos* son tallos subterráneos sumamente cortos, que prácticamente carecen de internodios y tienen amplias hojas escamiformes, en las yemas axilares de las cuales se constituyen bulbillos que dan lugar a la nueva planta. Los bulbos sólidos, con pocas catáfilas, suelen llamarse *cormo*¹. Los *tubérculos* se constituyen normalmente en el extremo

¹ Se entiende también por cormo el eje principal de una planta, en particular de un árbol, que comprende la raíz y el tallo.



Figura 246. Hojas de *Bryophyllum* que han producido plántulas a partir de embriodos constituidos en sus bordes.

de rizomas que detienen la actividad del meristema apical y aumentan de grosor. Llevan yemas en las axilas de las hojas rudimentarias, escamiformes, y conservan la facultad de sintetizar clorofila cuando están expuestos a la luz.

Las hojas "gemíferas" son aquellas que emiten embrioides, lo cual ocurre generalmente en sus bordes. Estos embrioides se desarrollan en la planta madre y constituyen una plántula que, luego de caer, da lugar a un nuevo organismo. Las especies que se caracterizan por poseer hojas "gemíferas" corresponden al género *Bryophyllum* (fig. 246). Se denomina *hijuelos* a las ramificaciones inferiores que se producen a partir de la parte subterránea del tallo, las que poseen la facultad de enraizar, y pueden extraerse y ser plantadas para obtener nuevos individuos. Son numerosas las especies que las producen, entre ellas los tilos.

Las formas de multiplicación vegetativa artificial realizadas por el hombre, y que pocas veces ocurren en la naturaleza, son la estaca o esqueje, el injerto y el acodo o mugrón. La estaca es un segmento de un individuo capaz de emitir raíces y ramas para dar lugar a un nuevo individuo. La estaca puede ser "de hoja", "de raíz" o, lo que ocurre habitualmente, "de tallo".

No todas las especies poseen la facultad de enraizar. Algunas lo hacen con dificultad, mientras que otras emiten raíces en forma abundante y con facilidad. Las nuevas raíces pueden formarse "de nuevo", después de cortada la estaca, o bien provenir de grupos de células iniciales ya preformadas en los tallos. En todos los casos, la emisión de raíces de estacas de tallo se realiza en la parte proximal, mientras desarrollan las yemas de la parte distal.

Las estacas pueden estar constituidas por tejido de estructura primaria o de estructura secundaria, con todos los grados de lignificación. Las raíces se forman a partir de ciertos grupos de células, las iniciales, cuyo desarrollo da lugar a primordios radicales que posterior-

mente crecen y las constituye. Cuando la estructura es primaria, las iniciales se forman sobre los lados de los haces liberofloos, y durante el desarrollo de los primordios se constituye en su interior el sistema vascular que se conecta posteriormente con el de la estaca. El ápice de la nueva raíz adventicia atraviesa el parénquima cortical y la epidermis, o bien se dirige hacia la parte basal y sale al exterior.

En los casos de estacas de estructura secundaria, el cámbium es de forma cilíndrica y está rodeado, hacia el exterior, por el líber, el felógeno y la corteza. Las iniciales se constituyen normalmente en el cámbium, y cuando existe un felógeno bien desarrollado, como en las leñosas, aquellas se producen por lo común a partir de éste. No obstante, puede ocurrir que se origine en otras zonas, como la médula.

En general, el origen de las raíces adventicias no es preciso, sino que varía según la especie y las circunstancias. En algunas especies, como en las correspondientes a los géneros *Salix* y *Populus*, las iniciales se encuentran preformadas en estado de latencia, debajo de la corteza, lo que da lugar a un rápido y seguro enraizamiento.

Es común que, antes de la formación de los primordios radicales, se constituyan callos sobre el corte del tejido. En realidad, las iniciales no se forman sobre los callos sino en la base de éstos, al parecer a partir del tejido original de la estaca, lo que indica que son procesos simultáneos y no dependientes uno de otro.

Las hojas de numerosas especies de los géneros *Sansevieria*, *Crassula*, *Begonia*, *Bryophyllum* y otros, pueden constituir o poseer tejido meristemático que dé lugar a primordios radicales, bien sobre el borde de la hoja, en su base o aun en los pecíolos.

Tanto las estacas de raíz como de hojas necesitan, para poder evolucionar a planta, no sólo constituir o poseer primordios radicales, sino también yemas vegetativas que den lugar a un

tallo. En el caso de las estacas de raíz, ocurre el proceso contrario a lo que ocurre en las estacas de tallos, ya que la emisión de raíces es distal mientras que la emisión de yemas vegetativas es proximal, o sea la parte de la estaca que se encuentra más cercana al cuello de la planta.

Cuando la emisión de raíces adventicias es lenta, en lugar de estacas se utiliza el acodo o mugrón que consiste en utilizar un largo tallo (por ejemplo un sarmiento de vid) que se dobla hacia abajo y se entierra parcialmente dejando el extremo hacia el exterior. Esta permanece en esas condiciones durante un tiempo prolongado (generalmente más de una estación de crecimiento) y cuando en la parte enterrada se han formado raíces, se corta y luego se trasplanta. En esta forma, la rama recibe nutrientes y agua de la planta madre, todo el tiempo que sea necesario, hasta que esté en condiciones de ser separada.

Otra de las formas de multiplicación artificial son los injertos, si bien pueden darse casos de injertos naturales. El injerto implica poner en contacto los tejidos expuestos de dos plantas de manera que la proliferación dé lugar a una masa celular que resulte de la concrescencia de ambos. Esta concrescencia, que tiene carácter de tejido de cicatrización, termina por diferenciarse en cámbium, floema, leño, etc., lo cual une fisiológicamente ambas partes.

Los injertos se realizan entre plantas que poseen cámbium, lo cual permite la rápida proliferación celular. Es decir, que pueden realizarse con facilidad en los gimnospermas y dicotiledóneas, salvo los casos de incompatibilidad. Normalmente no se realizan en las monocotiledóneas, pero en algunas gramíneas de entrenudos muy macizos—como la caña de azúcar, cuyas células poseen la facultad de dividirse— es posible realizarlos, aunque con mucha dificultad.

Existen injertos de numerosas clases, pero los más habituales son los de aproximación, de púa y de yema. El injerto de aproximación es aquél en el

que se ponen en contacto ramas o tallos descortezados; en el de púa se efectúa la inserción del extremo de una rama —la púa o injerto— sobre una ranura realizada en el extremo de un tallo o rama cortada (pie); y el injerto de yema es aquél en que se realiza la inserción de una yema sobre una rama, a través de una ranura hecha en su corteza.

En agricultura, lo habitual es que el injerto o púa sea un clon de una forma doméstica con características de producción o calidad que es necesario reproducir vegetativamente. Es común que el "pie" se reproduzca por semilla y presente aspectos de "silvestre", lo que implica rusticidad y resistencia a los factores adversos.

En las plantas no se presenta el fenómeno de rechazo de tejidos, como ocurre en los animales, lo que permite realizar injertos en escala comercial, pero sí existen casos de *incompatibilidad* dada por las diferencias fisiológicas y morfológicas entre el injerto y el pie. La incompatibilidad puede manifestarse, desde el comienzo, por imposibilidad directa de la unión, o con posterioridad (que puede demorar años) cuando el injerto termina por secarse. Puede estar determinada por diferencias fisiológicas, anatómicas o por ambas causas, entre el injerto y el pie, y es posible que se deba al pH, la naturaleza de los compuestos que se trasladan entre ellos, como son los aminoácidos, la glucosa, la fructosa, etc., por la época en que entran en actividad los tejidos y órganos, como por la brotación de la parte aérea, de la parte radical, etc., o bien por las diferencias anatómicas que impiden un contacto directo entre los diversos tejidos que constituyen el pie y los que constituyen el injerto.

Existen especies que no pueden injertarse. Por otra parte, pueden realizarse injertos entre individuos de un mismo cultivar, entre cultivares distintos, entre géneros distintos, e incluso se conocen casos de injertos entre familias distintas.

Al ponerse en contacto las superficies de los cortes del injerto y el pie, con la mayor exclusión posible de aire, se produce la proliferación de un tejido calloso a partir del cámbium de ambas partes. Posteriormente se constituyen, dentro del callo, nuevas células cambiales que dan lugar a tejido vascular nuevo hacia sus lados, lo que pone en contacto el tejido vascular de ambas partes, el pie y el injerto.

LECTURA COMPLEMENTARIA

Ruhland, W.: "Sexuality. Reproductions. Alternation of generations". En *Encyclopedia of plant physiology*, Vol. XVIII, Springer-Verlag, Berlín, 1956.

BASES FISIOECOLOGICAS DE LA BIOPRODUCCION

E. M. SIVORI

INTRODUCCION

La vida transforma la superficie de la tierra. En este proceso actúan desde los microorganismos hasta el hombre, con su actividad organizada. Los resultados de esta transformación se valoran según nuestros puntos de vista y objetivos materiales y psicológicos. Cuando se reconstituye un bosque en un campo de pastoreo o de cultivo, suele considerarse un proceso perjudicial, aunque desde un punto de vista biológico represente un progreso hacia condiciones de equilibrio y un aumento de la masa viva. En numerosos casos coinciden el progreso biológico y los requerimientos del hombre, tendencia más útil y adecuada por la cual es conveniente dirigir la bioproducción.

Si se considera el problema desde el punto de vista general, la disminución de la masa viva (destrucción de bosques, eliminación de fauna, "desertización" de praderas y estepas, eliminación del plancton por contaminación de las aguas) es, en última instancia, un proceso regresivo aunque circunstancialmente pueda favorecer a un sector determinado de la población.

Podemos considerar a la producción biológica como toda una síntesis de masa

viva y materia orgánica, cualquiera que sea su destino. Se observa que ella está regida por dos procesos fundamentales, uno de integración y otro de desintegración, los cuales actúan en tal forma que tienden hacia un equilibrio dinámico o "estado cuasi estable". Estos procesos de síntesis y destrucción se producen tanto dentro de cada organismo como en las comunidades representadas por especies autótrofas y heterótrofas.

El desarrollo cada vez más intenso de la actividad humana, en particular los medios de influir sobre dicho equilibrio, tiende a alterarlo. Ello se produce a través de numerosos factores que actúan sobre los procesos de síntesis y de destrucción y que intervienen directa o indirectamente en su estructura o en su funcionamiento.

La naturaleza produce espontáneamente, y el hombre primitivo recogía de esta producción lo que le convenía y lo que podía, pues estaba completamente a merced de las condiciones naturales, favorables o desfavorables, del ambiente. Con la adquisición y profundización del conocimiento comenzó a comprender los fenómenos que lo rodeaban, lo cual le permitió controlar paulatinamente el mecanismo de la producción natural.

Luego de descubrir que los vegetales podían cultivarse, el hombre seleccionó las formas más adecuadas a sus propó-

sitos y domesticó las especies que le eran más favorables. Una especie de cultivo (doméstica) no se diferencia fundamentalmente de una silvestre: las funciones básicas —como la división celular, la respiración, la fotosíntesis, la regulación— son las mismas. A través del proceso de domesticación, las plantas fueron adquiriendo ciertas características convenientes para su cultivo y perdiendo otras que eran convenientes para ellas en sus condiciones naturales, pero estos cambios no afectan su forma fundamental de vida. De tal manera, aspectos importantes, como las defensas contra los factores ambientales adversos, poseen la misma naturaleza que en las plantas silvestres. Por estas razones, el estudio de las estructuras y procesos que ocurren en los vegetales, se puede realizar indistintamente en especies silvestres o domésticas que sean adecuadas para la experimentación, y los resultados son válidos para ambos tipos de vegetales.

ECOSISTEMA

Como ya se sabe, el proceso biológico no ocurre separado del medio. Más aún, constituye un todo con el ambiente, dentro del cual es difícil fijar los límites exactos que los separan. La masa viva y orgánica que forma parte de la superficie de la tierra y las aguas constituye, en conjunto con el ambiente que la influye y al que ella influye, un sistema (biosfera) cuyos límites tampoco se pueden trazar con exactitud. Este conjunto se subdivide en ecosistemas, los cuales están ligados entre sí e interaccionan mutuamente. Debe puntualizarse que una especie forma parte del "ambiente" en su relación con otra especie. El ecosistema ha sido definido como una comunidad considerada en conjunto con el medio. Puede llamarse también sistema ecológico.

El concepto o definición de ecosistema es en gran medida subjetivo y sus límites son en general convencionales. Sucede algo semejante a lo que ocurre con

el concepto de especie; así, es legítimo considerar como ecosistema a toda una región o a una parte de esa región, como un bosque, un maizal, el mar, un golfo, con todos sus componentes correspondientes a la micro y macroflora y fauna, más los factores edáficos y climáticos, los cuales actúan e influyen entre sí y con ecosistemas vecinos.

Los ecosistemas pueden ser clasificados como naturales o artificiales, según la menor o mayor intervención del hombre. No obstante, esta separación va siendo cada vez menos neta ya que la actividad humana se extiende actualmente a todos los ámbitos de la tierra. Un típico ecosistema artificial podría ser un cultivo de trigo, donde el hombre proporciona energía en cantidades importantes con relación a la producida por el sistema, a diferencia de los ecosistemas naturales donde el hombre no proporciona energía o sólo lo hace en pequeña proporción.

Se suele sustituir un ecosistema natural por uno artificial. Ello no implica de por sí la degradación de los recursos biológicos ni la de los factores que la determinan, sino que todo depende del manejo y de la técnica que se aplique. Así, la sustitución de la bioproducción natural de una parte de la estepa gramínea de la pampa, basada fundamentalmente en gramíneas xerófitas, por la implantación de alfalfares, no determina la degradación de la capacidad productiva de dicha región, sino que, por lo contrario, todo indica que se utilizan, conservan e incrementan los factores correspondientes a dicha capacidad. A ello pueden concurrir la mayor fijación de nitrógeno, la utilización de agua más profunda, el mayor aporte de compuestos orgánicos al suelo (en particular ricos en nitrógeno), la utilización y el aporte de nutrientes provenientes de capas más profundas, la disgregación de éstas, etcétera. En igual forma, la modificación de ecosistemas por la introducción de especies silvestres o "silvestradas" —como ha ocurrido en la pampa con leguminosas y cardos— puede incorporar

mayor dinamismo al sistema debido a causas semejantes a las mencionadas respecto de los alfalfares. Por todo ello, la explotación agropecuaria no implica en principio que se desarrollen procesos de degradación, lo cual sólo ocurre cuando no se toman los recaudos necesarios de acuerdo con una técnica eficiente y adecuada para ese medio.

El estudio de los seres vivos, de sus comunidades y del medio que los rodea, se realiza desde dos puntos de vista: en forma integral o bien aislando las estructuras y procesos que los componen. La eficacia de estas formas de encarar el problema ha sido y hoy es aún motivo de apreciaciones o de opiniones dispares. El estudio integral inicial no permite profundizar en las estructuras y funciones que constituyen un sistema (célula, organismo, comunidad, ecosistema); por otra parte, circunscribirse al estudio aislado de sus estructuras o funciones no permite comprender el funcionamiento del complejo, sus interrelaciones y alcances en un sistema complicado como son un organismo, una comunidad o un ecosistema. No obstante, el estudio aislado de las estructuras y funciones ha permitido profundizar el conocimiento que de ellas se posee hasta un grado al cual no se esperaba llegar décadas atrás.

Conocidas las diversas estructuras y funciones, es necesario integrarlas en sistemas según los diversos niveles: células, órganos, comunidades y ecosistemas. Es indudable que integrar estructuras y funciones implica haber realizado su estudio previo. Así como para conocer una asociación vegetal debemos conocer las especies que la componen, para conocer la capacidad productiva de un ecosistema —sea el caso de un cultivo de trigo, una pradera natural o bien de un lago— debemos conocer sus características fisiológicas, estructuras y comportamientos aislados y cómo se integran e influyen mutuamente esas partes. De este comportamiento puede deducirse la intervención más adecuada del hombre para utilizarlos en su provecho.

Todo ecosistema es dinámico y en él se registra un constante flujo de energía a partir de la radiación solar, de la cual depende en última instancia. Tanto es así, que su estudio causal implica un estudio termodinámico. El primer paso para su comprensión es el conocimiento de la incidencia y distribución general de la radiación solar (figura 247).

Cuando la radiación solar incide perpendicularmente en la tierra, aproximadamente la mitad es retenida y dispersada por la atmósfera, en particular por las partículas en suspensión, el O_2 , el ozono, el CO_2 y el H_2O . A la superficie llega aproximadamente una $cal \cdot cm^{-2} \cdot min^{-1}$. Este valor sufre grandes variaciones, según la diafanidad de la atmósfera y otras condiciones. Así para Europa se han determinado valores del orden de las $1.000 \text{ cal} \cdot cm^{-2} \cdot día^{-1}$ en verano, que bajan a $200 \text{ cal} \cdot cm^{-2} \cdot día^{-1}$ en invierno. Las radiaciones que la atraviesan inciden sobre la superficie de la tierra, los "espejos" de agua, nieve y estratos vegetales. Durante el día, los componentes de la superficie terrestre ganan calorías y, durante la noche, las pierden.

Se entiende por radiación neta a la diferencia entre la que incide sobre la superficie terrestre y la que se elimina en diversas formas. Tiene valores aproximados a $200 \text{ cal} \cdot cm^{-2} \cdot día^{-1}$ (Loomis y col. 1971), lo que arroja un promedio del orden de $0,14 \text{ calorías} \cdot cm^{-2} \cdot min^{-1}$, o sea que la radiación neta, calculando un período de 24 horas, es aproximadamente del 14 por ciento de la incidente. La utilizada por la humanidad en todas sus actividades, se ha calculado en 0,2-0,5 % de la total.

La radiación que incide sobre la vegetación, sea directamente extraterrestre o bien reflejada e irradiada por la atmósfera, el suelo y las aguas, es a la vez parcialmente reflejada (*albedo*) y parcialmente penetra en los tejidos. Esta última se pierde en parte por "transmitancia", y

RADIACION SOLAR

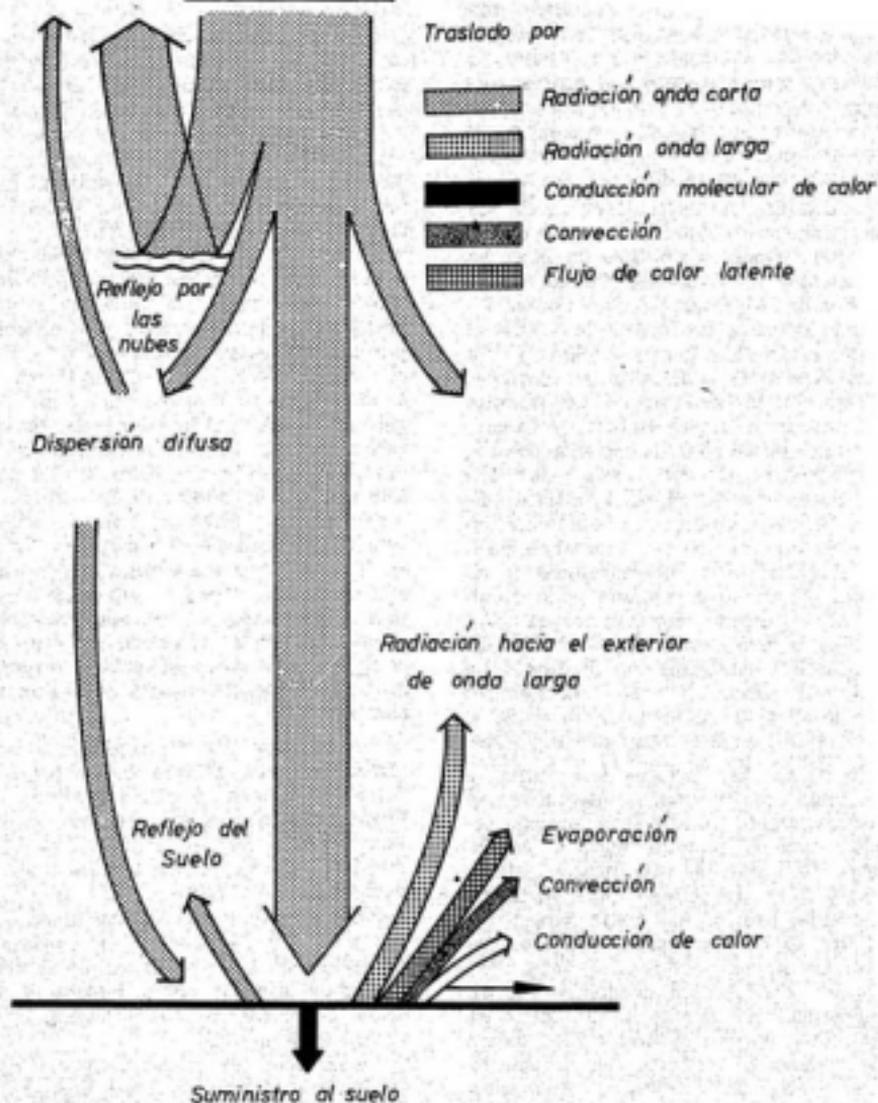


Figura 247. Diagrama de la distribución de la radiación solar que incide sobre la tierra. Parte de dicha radiación es reflejada hacia el exterior desde la atmósfera y parte llega a la superficie incidiendo sobre las plantas, el suelo y las aguas. Una fracción se incorpora a los vegetales mediante la fotosíntesis, transformándose en energía química, que es el origen de prácticamente todo el flujo energético de los seres vivos que pueblan la tierra. El ancho de las "flechas" indica la cantidad relativa del flujo energético (R. Geiger, 1967).

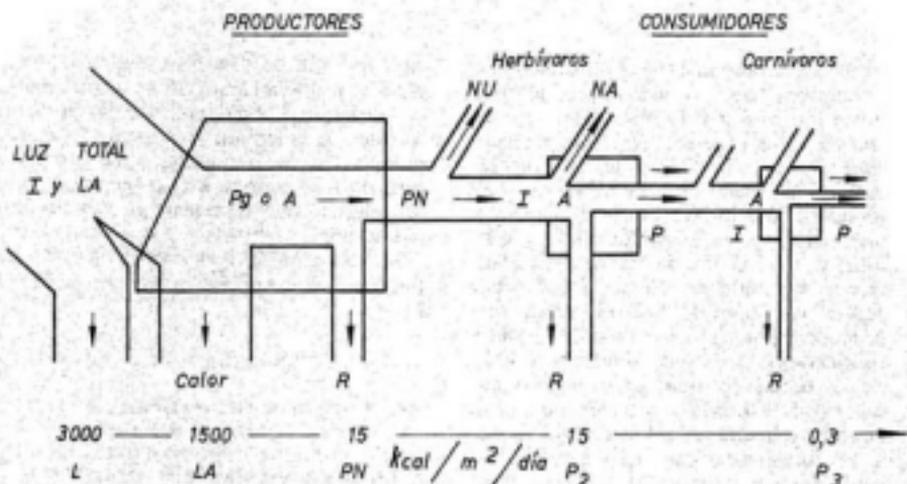


Figura 248. Niveles tróficos (cuadros 1, 2 y 3) en una "cadena" alimenticia: I, energía total incorporada; L_A, luz incorporada por la cobertura de plantas; P_g o A, producción primaria bruta; A, asimilación total; P_N, producción primaria neta; P, producción secundaria (consumidor); N_U, energía no usada (almacenada o expelida); N_A, energía no asimilada por los consumidores (expelida); R, respiración. La línea inferior indica la magnitud de la pérdida de energía en los puntos de transferencia mayores, comenzando con la incorporación de luz solar de 3.000 kcal/m²/día (E. Odum, 1971).

el resto se incorpora a la planta como energía química o bien como calor sensible.

La temperatura de la masa vegetal depende, en consecuencia, del calor sensible proveniente del medio y de las radiaciones, en particular las rojas e infrarrojas, directamente extraterrestres o reflejadas por el ambiente. El calor sensible es a la vez disipado como calor sensible, como irradiación de onda larga y como calor latente, lo que mantiene a los tejidos dentro de un margen de temperaturas compatible con la vida, lo cual permite y en algunos casos regula y selecciona la intensidad de los procesos bioquímicos que presentan diferentes temperaturas mínimas, óptimas y máximas. Las mismas variaciones diarias y estacionales regulan, en numerosos casos, los procesos biológicos como el reposo de las yemas, la latencia de las semillas, el crecimiento y la floración, que representan un conjunto de cambios que podemos denominar "termomorfogénicos".

La energía luminosa incorporada al biota sigue un flujo que va disminuyendo por consecutivas pérdidas a partir de la fotosíntesis y a través de los diversos consumidores (saprófitos, herbívoros y carnívoros).

Odum (1971) esquematiza el proceso según la figura 248.

CRECIMIENTO Y PRODUCCION

Se entiende por *productividad*¹ el almacenaje de sustancias orgánicas a partir de la energía radiante, que puede utilizarse como alimento o con fines industriales. Estas sustancias se pueden sintetizar directa o indirectamente a partir de la fotosíntesis, y forman parte de las diversas estructuras celulares o bien se acumulan como reserva biológica dentro de los tejidos. Se entiende por *producción pri-*

¹ Generalmente se atribuye el término *productividad* a la capacidad productiva por unidad de superficie.

maria a los productos más directos de la fotosíntesis. Por lo tanto, *productores primarios* son los vegetales capaces de realizar estos procesos. Hay una *producción primaria bruta*, en la que no se toman en cuenta las pérdidas que se producen por otros procesos, como la respiración, y se considera sólo la síntesis; y una *producción primaria neta*, en la que se considera sólo la síntesis que supera las pérdidas. Así, un productor primario —por ejemplo la alfalfa— puede considerarse con una producción primaria bruta, lo que significa sólo su capacidad fotosintética, o con una producción primaria neta, lo cual indica que a la fotosíntesis hay que restarle las pérdidas por respiración y otros procesos. Como es evidente, el dato más valioso es el "neto" ya que es una expresión de la "ganancia líquida".

El proceso de producción se inicia con la fotosíntesis que implica la reducción del CO_2 por medio de electrones provenientes del H_2O , para lo cual utiliza la energía luminosa que se incorpora en forma de ATP y el poder reductor en forma de NADPH, que da como resultado compuesto orgánicos (CH_2O), con energía libre, que constituyen los esqueletos carbónicos necesarios para los procesos vitales. A partir de los productos de la fotosíntesis se derivan numerosas reacciones que incorporan nuevos elementos y dan lugar al metabolismo general.

La conversión de los productos de la fotosíntesis en materia viva es una característica particular de cada especie o forma botánica y de las condiciones bajo las cuales éstas se desarrollan. De las 114 kilocalorías que se desprenden y transfieren de cada mol de (CH_2O) en forma de hidratos de carbono respirados, una parte se pierde como calor (H), otra se utiliza en trabajos de absorción, traslado y transporte de nutrientes (Ca), otra como trabajo mecánico (Cm), y el resto se emplea en la síntesis (S) de los diversos compuestos que constituyen la materia viva, lo cual comprende un complicado proceso endergónico. En esta síntesis, la

incorporación de calorías corresponde en parte al mantenimiento de las estructuras existentes (Sr) como proceso de reposición de los compuestos estructurales que se degradan, y, en parte, a la síntesis neta (Sn) de materia seca o acumulación de calorías, que representa la verdadera producción.

Si llamamos E_{CO_2} a las calorías transferidas y desprendidas de la respiración:

$$E_{\text{CO}_2} = \text{Ca} + \text{Cm} + \text{Sr} + \text{Sn} + \text{H}$$

$$\text{Sn} = E_{\text{CO}_2} - (\text{Ca} + \text{Cm} + \text{Sr} + \text{H})$$

La ganancia neta S_n es generalmente un valor muy bajo con desprendimiento de gran parte de la energía como H. En algunos organismos la eficiencia es mayor, con un rendimiento de materia seca que puede superar el 30 % del azúcar que consumen (levaduras).

En un productor primario, a la materia viva hay que sumar, en ciertos casos, la acumulación de compuestos llegados por simple traslado. Por ejemplo, en los granos de trigo se almacenan hidratos de carbono de reserva provenientes directamente de la fotosíntesis y del metabolismo de la planta madre. Una transferencia similar puede producirse entre organismos distintos.

La síntesis de materia orgánica se traduce en un crecimiento que puede expresarse como aumento de peso seco, volumen, calorías, etcétera. En forma directa o indirecta, la producción es una expresión del crecimiento, la cual puede ser considerada, en general, como correspondiente a todo un individuo o, sólo en forma parcial, correspondiente a las hojas, los frutos, etcétera.

El análisis del crecimiento de organismos celulares y multicelulares ha permitido expresarlo en forma matemática, pues presentan un comportamiento similar. Cuando en un parámetro se distribuyen los valores de crecimiento, por ejemplo peso seco (C) obtenido en función del tiempo (t), la representación es una curva de tipo sigmoide. Los valores aumentan en

forma progresiva hasta alcanzar la fase de "gran crecimiento", para luego sufrir una inflexión que termina por estabilizarse.

Antes de la inflexión, la curva presenta un incremento geométrico de tipo exponencial. Sin tener en cuenta los valores obtenidos hasta un determinado momento (C_0), el crecimiento absoluto (dC) que se produce en un lapso (dt), dentro de la fase exponencial, está dado por dC/dt . Cuando dicho incremento se expresa con relación a los valores ya logrados (C_0), el crecimiento relativo (Cr) se expresa por:

$$Cr = \frac{dC}{C_0} \cdot \frac{1}{dt}$$

El crecimiento absoluto aumenta progresivamente durante la fase exponencial, mientras que el relativo permanece constante durante ese período. Ambos disminuyen cuando comienza la deflexión de la curva.

El crecimiento de una planta, un fruto u otro órgano, durante la fase exponencial, está dado por:

$$C = C_0 e^{rt}$$

donde C es el valor final, C_0 es el valor inicial, e es la base de los logaritmos naturales (2,718), r la relación porcentual de aumento y t el tiempo transcurrido hasta el momento que se considera. Es evidente que C (supongamos peso seco) depende de C_0 , r y t .

El valor de la relación porcentual de aumento (r) es de suma importancia, característico de cada especie y cultivar, y de él depende en gran parte el rendimiento. Es consecuencia de la actividad meristemática, del crecimiento celular posterior (fase de agrandamiento) y de la acumulación de productos. Ambos procesos están controlados por reguladores y por el suministro de energía y de compuestos plásticos, dependientes del metabolismo, todo lo cual, a su vez, depende en forma interrelacionada, y en última instancia, de la actividad fotosintética. El valor de r ha sido considerado como índice de la eficiencia productiva (Blackman) de una especie o cultivar, y puede calcularse según

$$r = \frac{\log C - \log C_0}{t \cdot \log e}$$

Se han obtenido valores de r para el trigo, la remolacha y la papa, de 0,32, 0,67 y 0,40, respectivamente.

La fase exponencial del crecimiento ha sido explicada sobre la base de su relación con el aumento de la superficie foliar y, en consecuencia, con el aumento de la fotosíntesis.

El coeficiente de asimilación neta (E) expresa la velocidad de aumento de peso —o cualquier otra medida— con relación a la superficie foliar. Por ejemplo gramos \cdot $dm^{-2} \cdot$ semana $^{-1}$, según:

$$E = \frac{1}{H} \cdot \frac{dP}{dt}$$

donde H es la superficie fotosintetizante, dP el aumento de peso y dt el lapso o tiempo transcurrido entre dos determinaciones.

Diferenciando dP con respecto a dt e integrando,

$$E = \frac{(P_2 - P_1) (\ln H_2 - \ln H_1)}{(t_2 - t_1) (H_2 - H_1)}$$

donde P_2 y P_1 son los pesos obtenidos en los tiempos t_2 y t_1 respectivamente y H_2 y H_1 las superficies fotosintetizantes obtenidas en los mismos tiempos.

Lo que es más difícil de explicar, en términos energéticos, es la decadencia luego de alcanzados los valores máximos de crecimiento absoluto. Es evidente que la detención del incremento del peso seco o del volumen, por ejemplo, está controlada por reguladores internos dependientes o independientes de las condiciones del medio. Así, el crecimiento de una hoja que alcanza una forma y tamaño bien definidos está controlado por una regulación interna. Las plantas de trigo crecen con lentitud durante un período variable que suele llegar aproximadamente a 4 meses, para iniciar luego la fase exponencial activa a partir de la terminación de los procesos de vernalización y fotoperiodismo en cuyo caso intervienen factores del medio. Otro proceso don-

de se pone de manifiesto el control por factores externos es el de la detención del crecimiento y la transformación de los ápices de las yemas invernales, bajo los efectos de los días cortos del otoño.

SISTEMAS PRODUCTIVOS

A partir de los productos de la fotosíntesis se desarrollan series de transferencia de energía, dentro de un organismo y entre organismos. En este último caso, los que consumen y transmiten la energía se denominan consumidores primarios, secundarios, etcétera. Así, en el mar, el plancton, que es un productor primario, es consumido por una serie de organismos inferiores que a su vez alimentan a los peces, los cuales aun se comen entre sí. El hombre suele utilizar un consumidor para obtener su fuente fundamental de proteínas, en particular mamíferos y peces. En consecuencia, el flujo de energía se realiza a través de especies que ocupan posiciones en esa concatenación de transferencias. Estas posiciones son de fundamental importancia y su eliminación puede desbaratar toda una estructura productiva. De igual manera, la introducción de una especie que compite con algún organismo natural que ocupa una posición dentro del ecosistema, pero en este caso incapaz de servir como transmisor, puede también interrumpir la secuencia trófica; ocurre algo semejante a la actividad de un inhibidor competitivo que actúa en una serie de reacciones químicas.

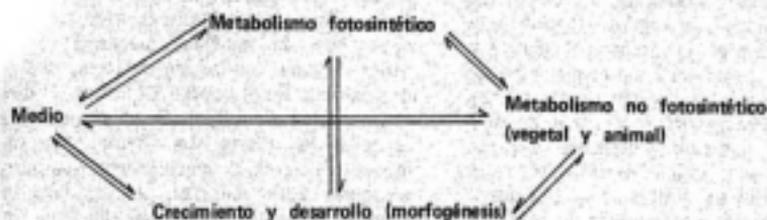
Las plantas superiores, que en la serie mencionada representan habitualmente productores primarios, se constituyen autotróficamente a partir de la germinación. Al comienzo, por una parte exclusivamente consumidora (raíces y órganos no verdes), y luego, también, por otra elaboradora-consumidora (tejido clorofiliano). Formado el vegetal, éste

sintetiza el exceso de productos que pasan a reservas, las cuales se distribuyen en toda la planta o bien se acumulan en órganos de reserva, en frutos o en semillas.

Las sustancias sintetizadas tienen 4 destinos fundamentales: material que se consume principalmente por respiración, material fijo no metabolizable (celulosa, lignina, etcétera), material asimilable de reserva y, por último, material vivo. De acuerdo con lo que la planta misma utiliza para vivir, así como con lo que se busca de ella, la relación "rendimiento útil-energía incorporada" tendrá mayores o menores posibilidades de constituir un producto aprovechable. Es evidente que si se utiliza directamente la parte vegetativa, donde se evita el traslado y un segundo proceso de elaboración del producto y su acumulación por el sistema ya constituido (caña de azúcar), las calorías utilizables son relativamente mayores que en otro tipo de sistemas (trigo), donde el producto utilizable se obtiene a través de una transferencia más complicada de materia y energía. El resultado final depende también de las características funcionales de la planta y de las condiciones del medio. Es evidente que, como principio general, podemos considerar que mientras más alejado esté de la fotosíntesis el producto útil, el rendimiento será menor y la diferencia entre ambos dependerá de la mayor o menor actividad fotosintética y la mayor o menor pérdida sufrida en cada transferencia, que siempre implica un gasto de energía.

Los diversos procesos que componen un ecosistema no actúan en forma aislada sino estrechamente relacionados entre sí, influyéndose mutuamente. Estas relaciones entre procesos integrados que pueden abarcar desde aquéllos que se desarrollan en un orgánulo (cloroplasto) hasta un ecosistema completo, es factible sintetizarlas a grandes rasgos según el esquema siguiente:

ACTIVIDAD DE UN ECOSISTEMA:



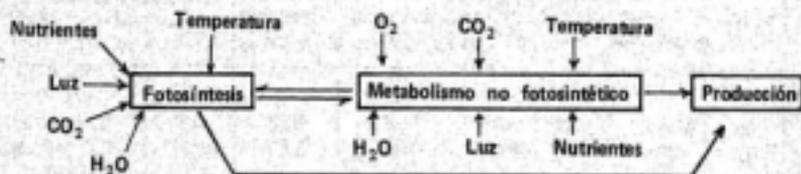
Cada ítem comprende una estructura compleja y numerosos procesos. La fotosíntesis incluye aquella de todas las especies vegetales superiores e inferiores. No es posible establecer límites entre ellos, aun cuando desde un punto de vista muy general pueden considerarse grupos bien definidos de procesos.

Es factible calcular la capacidad potencial energética de un ecosistema y la capacidad real o actual, e individualizar las causas limitantes que determinan su productividad. En algunas circunstancias sólo se utiliza la producción de una de las especies que lo constituyen, por ejemplo el maíz; en otras, la de un conjunto de especies (una pradera na-

tores pueden ser intrínsecos de las especies que constituyen la comunidad productora, o del ambiente en lo que se refiere a clima, suelo y parásitos o predadores, sean éstos virus, bacterias, hongos, insectos o plantas y animales superiores.

Descartando por el momento los parásitos y predadores, lo habitual es que en todo ecosistema natural o agrícola los factores limitativos del productor primario sean la luz, el agua, el CO_2 , la temperatura y los nutrientes.

Estos factores pueden actuar sobre el metabolismo fotosintético o en los procesos posteriores según el esquema siguiente:



tural, un cultivo consociado) en tanto que el resto lo representan factores favorables o desfavorables desde un punto de vista utilitario que es conveniente controlar.

FACTORES DE PRODUCCION

En principio es posible determinar cuáles son los factores que limitan la producción de un ecosistema. Estos fac-

Las deficiencias debidas a la escasez de luz o de nutrientes son difíciles de percibir, salvo casos especiales, y deben determinarse por experimentación. Las limitaciones por agua pueden observarse en regiones extensas como las estepas, desiertos, chaparrales o, circunstancialmente, durante las épocas de sequía, donde la radiación no es aprovechada eficazmente porque una alta proporción

de la superficie del suelo está libre de vegetación o las plantas se encuentran en un estado de marchitez bien manifiesta. En la República Argentina ello ocurre en la pampa "seca", la región del monte, el chaco occidental, la meseta patagónica y la puna de Atacama. Lo mismo puede observarse en los cultivos de ciertas regiones "límitrofes" a su área de cultivo, como podríamos clasificar a parte de la zona semiárida del sudoeste de la Prov. de Buenos Aires y La Pampa, donde con relativa frecuencia disminuyen los rendimientos o se pierden las cosechas por causa de las sequías.

Aún en regiones donde no es evidente una deficiencia de agua, por medio de ensayos puede determinarse que los rendimientos están limitados por una escasa precipitación. En la zona de Pergamino (latitud sur 34°; long. 60,5°), Argentina, correspondiente a la "pampa húmeda", Bermann, Ginzo y Soriano obtienen con riego un aumento del rendimiento del maíz superior al 50 % (1969).

Las diversas especies varían en cuanto a su necesidad de agua para crecer y

desarrollar, así como en lo que respecta a su capacidad de utilizarla con relación a la producción. Existe un requerimiento de agua por superficie para un determinado cultivo y un índice hídrico relacionado con la cantidad necesaria para producir una unidad de materia seca o por caloría. En el cuadro 1 (Young, 1969) se han estimado estos valores para varias especies de cultivo. La última columna indica los litros de agua necesarios para acumular 2500 calorías, por ser ésta la energía promedio utilizada diariamente por las personas en su alimentación.

Como puede observarse, algunas especies sólo requieren aproximadamente 300 litros de agua para producir las 2500 cal de alimento que una persona consume diariamente, por ejemplo la papa; mientras que otras, como el poroto (frijol), necesitan cinco veces más, o en el caso del naranjo, ocho veces. Debe puntualizarse que esta eficiencia no está relacionada con la tolerancia de la planta a la deficiencia de agua. Así, en el cultivo de papa, de alta eficiencia hídrica, su rendimiento está estrechamente ligado a un

Cuadro 1. Relación entre rendimiento y agua.

Especie	Tipo de producción	Uso del agua		Rendimiento kg x 10 ³ /ha	Valor alimenticio cal x 10 ³ /kg	Eficiencia del uso del agua		
		mm	l x 10 ³ /ha			kg/10 ⁴ l	cal/l	l/2500 cal
Trigo	grano	500	5078	6,7	32,6	13	4,3	575,4
Sorgo	grano	690	7005	8,9	33,3	12	4,3	582,9
Maní	grano (legumbre)	862	8784	4,4	41,2	5	2,1	1184,8
Poroto (frijol)	grano seco (legumbre)	515	5228	3,3	33,9	6	2,0	1143,2
Cártamo	aceite	835	8483	4,4	31,3	5	1,6	1529,3
Soja	aceite	835	8483	4,0	42,5	4	1,9	1298,4
Papa	tubérculo	400	4059	53,7	6,1	133	8,2	306,6
Tomate	fruto carnoso	475	4826	67,2	2,1	139	2,9	859,3
Naranja	fruto carnoso	1328	13487	49,3	2,9	36	1,0	2377,2

Adaptado de Young, 1969

abundante suministro de agua que generalmente actúa como limitativo.

Las limitaciones por bajas temperaturas son fáciles de observar en las alturas y en latitudes elevadas, donde las comunidades son pobres en lo que respecta a masa viva. En el sur de la Patagonia, hay cultivos que no pueden realizarse por carencia de un período libre de heladas suficientemente prolongado y falta de niveles adecuados de temperaturas.

Las limitaciones por nutrientes son muy generales y se agudizan a medida que se intensifica la explotación de los sistemas. En algunas circunstancias se ponen en evidencia al compararse los rendimientos de los cultivos a través de los años o al observar el volumen de la vegetación en una determinada región geográfica, donde la abundancia de agua, luz y temperatura no determinan la exuberancia que es de esperar. Tal parece ocurrir en los "Cerrados" de Brasil. Alvin y Araujo han determinado que los suelos de estas formaciones fitogeográficas poseen un pH bajo y un deficiente contenido de calcio. Arens, Ferri, Coutinho y Goodland atribuyen el xeromorfismo alif manifiesto, a deficiencias nutritivas determinadas en parte por el exceso de aluminio (Labouriau, 1963; Ferri, 1972).

Los nutrientes minerales representan el factor fundamental que regula el desarrollo del plancton marino, donde el agua es ilimitada y la luz, abundante en la superficie, suele llegar hasta 100 m de profundidad en espejos de agua limpia, al mismo tiempo que se registra una amplia gama de temperaturas.

Un factor limitativo no implica que la producción biológica esté determinada en relación directa y rígida con dicho factor. En realidad, los factores limitativos pueden actuar tanto por deficiencia como por exceso, y se manifiestan cuando el sistema se encuentra en un estado cuasi estable. Cuando un factor limitativo por deficiencia se da con rapidez y en exceso, se produce un aumento en la velocidad del metabolismo hasta que el sistema entra nuevamente en estado

"cuasi estable", en el cual puede actuar otro factor como limitativo, sea del medio o de las estructuras mismas del sistema. Por otra parte, la mayor o menor abundancia de otro factor puede hacer variar las necesidades mínimas del factor limitativo. Por ejemplo, los niveles de las temperaturas de vernalización son diferentes, según sea que la planta se encuentre sometida a días cortos o a días largos y las necesidades de K son inferiores en presencia de Na. Por estas razones, la producción suele reaccionar positivamente al suministro de más de un factor, según las circunstancias. Así es factible aumentar el rendimiento de un cultivo o de una pradera con el suministro de agua, o bien con el suministro de nutrientes.

Sin considerar el concepto de rendimiento máximo, lo indicado es determinar el factor limitativo para poder aumentar el rendimiento económico de un ecosistema. Satisfecho dicho factor, generalmente aparece otro como limitativo; ello puede depender del mismo vegetal y del medio. Así, por ejemplo, suele ocurrir que la deficiencia de agua limite la producción triguera en ciertas regiones de la República Argentina. Satisfecho este requerimiento la producción se limita a mayor nivel, como ser por la incapacidad de la planta de incorporar fósforo. Introducido un nuevo cultivar con dicha capacidad, no necesariamente se notaría un aumento apreciable en la producción, debido en este caso a la deficiencia del P en el suelo, el que puede ser suministrado artificialmente. La solución de estos problemas suele ser compleja. En primer lugar, es necesario determinar las causas limitativas y luego obtener un nuevo cultivar, según el ejemplo dado, lo cual requiere tiempo y valioso trabajo técnico.

FOTOSINTESIS

Hemos dicho que consideramos "producción primaria" al proceso fotosintético. Cuando hablamos de fotosíntesis

podemos referirnos a la *fotosíntesis real* y a la *fotosíntesis neta*. La primera implica el CO₂ incorporado sin tener en cuenta las pérdidas. Lo habitual es medir el CO₂ incorporado menos el desprendido por respiración, en particular por la fotorrespiración. Debe observarse que ambos casos se refieren a la respiración del órgano fotosintetizador si se trata de plantas vasculares, pero la fotosíntesis también debe mantener la respiración general del resto de la planta ¹.

¹ Se estima que, en las selvas tropicales la vegetación pierde durante la noche aproximadamente el 50 % de las calorías acumuladas durante las horas de sol.

En el caso de las algas celulares y cianofíceas, la fotosíntesis neta excluye todo gasto y desprendimiento de CO₂ de los tejidos y órganos no fotosintetizantes, como ocurre en una especie superior, y por lo tanto su valor representa una ganancia energética líquida.

Del mismo proceso fotosintético, y considerando los casos donde el agua, los nutrientes y los demás factores se encuentran en un nivel adecuado, se deduce que la acción del CO₂ y de la luz tiene que establecerse con *interdependencia*, sea en una especie o en un ecosistema. El límite inferior está deter-

Cuadro 2. Productividad primaria neta y fijación de energía mundial (1950).

	Superficie (10 ⁶ km ²)	Productividad neta primaria total (10 ⁶ t)	Fijación de energía anual total	
			(10 ⁶ cal.m ⁻² .a ⁻¹) ^f	(10 ⁶ cal/a) ^g
Total de los continentes.	149,0	100,2	—	426,1
Selvas y bosques húmedos ^a	50,0	64,5	5,0	177,0
Bosques	7,0	4,2	2,8	9,6
Estepas arbustivas ^b	26,0	2,4	0,45	16,7
Estepas gramíneas, de clima cálido y templado	24,0	15,0	2,4	60,0
Desiertos ^c	24,0	—	—	0,1
Cultivos	14,0	9,1	2,7	37,8
Agua dulce ^d	4,0	5,0	5,3	21,4
Total oceánico ^e	361,0	55,0	3,4	260,8
Total de la tierra	510,0	155,2	—	686,9

Adaptado de H. Lieth: I Congreso Latinoamericano. V Mexicano de Botánica. Sociedad Botánica de México, 1972.

^a Comprende selvas tropicales, bosques lluviosos, de follaje persistente, boreales, chaparrales y mixtos de clima cálido y templado.

^b Comprende bosques bajos, abiertos, tundras y "desiertos" con arbustos.

^c Comprende desiertos secos y de hielo.

^d Comprende pantanos, lagos y corrientes.

^e Comprende arrecifes, plataformas continentales y marismas.

^f Los valores de fijación de energía por m² son el promedio de los distintos tipos de vegetación descritos en a, b, etcétera.

^g Área primera columna

minado por la intensidad de luz que permite incorporar tanto anhídrido carbónico como se libera a través de los procesos de respiración y fotorrespiración (punto de compensación lumínico).

La actividad fotosintética se evalúa por el CO_2 incorporado en una superficie durante un tiempo determinado, y es corriente expresarla en $\text{mg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$. Tratándose de una comunidad o un ecosistema, puede expresarse sobre la base de la superficie de suelo o de H_2O que ocupa (por ejemplo, $\text{g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$ o por día). Ello permite comparar valores en sistemas totalmente diferentes, como son la superficie de un lago y un cultivo de maíz. Desde el punto de vista de la producción, los autores suelen referirse a valores de peso seco, azúcar, carbono o calorías.

Una estimación de la producción primaria neta fue presentada al I Congreso Sudamericano de Botánica (cuadro 2), donde los valores se distribuyen por tipo de vegetación. Una distribución, según su uso agrícola, ha sido calculada por Young (cuadro 3).

Las tierras utilizadas en la agricultura se distribuyen según los valores del cuadro 3.

Cuadro 3 Uso de tierras en agricultura

Uso de tierras en agricultura.	Há (10 ⁶)
Granos	674,5
Otras cosechas mayores	283,3
Cosechas menores	445,2
Praderas y pasturas permanentes	2470,1
Zonas irrigadas	121,4
Zonas áridas	4896,9

Adaptado de Gale Young: *Dry Land in Hungry World*, 1989

Se conocen tres sistemas de fijación de CO_2 : uno de ellos es el conocido como ciclo de Calvin (C_3); otro, el del ciclo de

los ácidos dicarboxílicos de 4 carbonos (C_4), y el tercero, el del metabolismo de las plantas crasas con fijación en la oscuridad. En ellos, por medio de estructuras especiales (fotosistema II y I), la luz se convierte en poder reductor como NADPH y como energía química en el ATP.

El ciclo de Calvin ya fue suficientemente tratado de manera que sólo diremos que el CO_2 se incorpora al difosfato de ribulosa y da un compuesto que se reduce por medio del NADPH y ATP hasta constituir aldehídos glicéricos. A partir del aldehído se producen series metabólicas que dan lugar a glicéridos, azúcares, ácidos orgánicos, aminoácidos, etcétera, y nuevamente ribulosa, que permite incorporar más CO_2 en forma continua mientras se mantienen las condiciones adecuadas.

El ciclo de C_4 tiene particular interés desde el punto de vista de la productividad por su alta capacidad de asimilación y por estar relacionado con especies de alto rendimiento, generalmente tropicales o subtropicales, mono y dicotiledóneas, como el maíz, la caña de azúcar, los sorgos y especies correspondientes a los géneros *Pennisetum*, *Amaranthus* y *Atriplex*. Se desarrolla en dos secciones interconectadas: en la primera, que ocurre en el mesófilo de la hoja, el dióxido de carbono se une al ácido fosfoenolpirúvico constituyendo ácido oxalacético, de cuatro carbonos, que se transforma en malato y aspartato. Parte de ellos se incorporan al metabolismo general o se mantienen en reserva. El resto del malato cede un carbono al difosfato de ribulosa y libera ácido pirúvico que, convertido en fosfoenolpirúvico, reinicia al ciclo incorporando una molécula de CO_2 . El difosfato de ribulosa continúa el proceso fotosintético como ocurre en el ciclo de Calvin.

El metabolismo de las plantas crasas está constituido por procesos similares. La incorporación de CO_2 es nocturna, cuando los estomas de este tipo de plantas está abierto, y da lugar a la formación de malato. Parte de éste pasa

a la vacuola desde donde se traslada nuevamente al protoplasma durante el día y libera CO_2 que se fija según el metabolismo de las plantas de C_3 .

Aparte de las diferencias entre los sistemas citados, la capacidad fotosintética varía según las distintas especies y dentro de cada una de ellas, como consecuencia de las condiciones bajo las cuales creció y se desarrolló el tejido, en particular en la referente a la luz solar directa o sombra y según su plasticidad (capacidad de acomodación).

La respiración y la fotorrespiración contribuyen a determinar la fotosíntesis neta. Se entiende por fotorrespiración el desprendimiento de CO_2 bajo los efectos de la luz, como función ajena a la respiración mitocondrial. El proceso se ubica parcialmente en los peroxisomas y ha sido asociado al metabolismo del glicolato. En forma ligada a la fotosíntesis, se produce glicolato que se oxida a glioxilato, para luego aminarse y dar lugar a glicina. Dos moléculas de ésta se convierten en serina con desprendimiento de CO_2 .

La fotorrespiración presenta cierta característica y un comportamiento que la distinguen netamente de la respiración "oscura" o mitocondrial. Requiere O_2 y se intensifica a medida que éste aumenta su tensión hasta un 100%. Con el aumento de la temperatura parece requerir la actividad del fotosistema II, y disminuye cuando aumenta el CO_2 . Se encuentra en plantas superiores e inferiores (algas). En general, los autores consideran que a medida que la fotorrespiración se hace más activa disminuye la respiración "oscura", la cual tiende a desaparecer.

Si se confina un vegetal iluminado, el CO_2 del compartimiento disminuye hasta alcanzar cierto nivel a partir del cual permanece estable: es el punto de compensación del CO_2 (PC CO_2). Este valor puede variar desde menos de 5 hasta aproximadamente 50 ppm, lo cual depende en gran medida del proceso fotorrespiratorio del que se considera un

índice adecuado. Según estos valores, los vegetales han sido divididos en 2 grupos: los que tienen un alto PC CO_2 , que fijan CO_2 por el ciclo de Calvin y poseen una activa fotorrespiración, y los que manifiestan un bajo PC CO_2 (aproximadamente 5 ppm), que fijan CO_2 por el ciclo de C_4 y desarrollan una baja fotorrespiración. Este último grupo mantiene la concentración interna de CO_2 en un bajo nivel —posiblemente por una rápida asimilación y una lenta liberación—, manifiesta una alta actividad fotosintética aparente a alta intensidad de luz, y posee la característica particular ya mencionada de una vaina clorofílica que divide y comparte la función fotosintética (sistema C_4). Todo ello (el sistema de C_4 y la baja fotorrespiración) determinaría una alta asimilación de CO_2 que se resuelve en un rápido crecimiento y, en consecuencia, en una mayor productividad en las especies que la poseen.

Pero la superiodad de las plantas con ciclo de C_4 sólo ha sido demostrada en algunas circunstancias, especialmente si se toma como índice la actividad fotosintética de hojas aisladas, expresada por unidad de superficie bajo incidencia directa de la luz. Por otra parte existen plantas con ciclo de C_3 de alta productividad, como la papa y la remolacha. Tampoco se ha demostrado una correlación constante entre la fotosíntesis intensa, cualquiera que sea su sistema de fijación de CO_2 , y los altos rendimientos.

La productividad es el resultado de numerosos factores que interactúan o interfieren de la fotosíntesis. Así, el ciclo de C_4 es limitado por la resistencia al flujo de CO_2 y otras condiciones, y parece que es favorable sólo con altas temperaturas y fuerte insolación. La fotosíntesis, en general, depende de la superficie foliar, de las temperaturas, de la concentración de CO_2 , de la intensidad de luz, del potencial de agua, de la posición y estructura de las hojas, de la edad de éstas y del traslado, partición y almacenamiento de sus productos.

RENDIMIENTO ENERGETICO

Los procedimientos para estudiar la actividad fotosintética, determinación básica para evaluar la capacidad productora de un ecosistema, se eligen según los objetivos que se persiguen. Puede medirse en condiciones controladas de laboratorio o a campo, pero es importante que la experimentación no introduzca modificaciones en la actividad de los numerosos factores que influyen sobre el proceso, en particular el desplazamiento del CO_2 o bien la temperatura y la luz.

La energía electromagnética se considera bajo dos aspectos: uno de ellos de carácter ondulatorio, el otro como flujo de unidades o "partículas" denominadas fotones. Cada fotón posee un contenido de energía, el quantum^a que varía en relación inversa a la longitud de onda, cuando la longitud de onda es menor aumenta su contenido energético.

La energía de un quantum se puede expresar en ergios y es igual a $h \cdot f$, donde h es la constante de Planck^b, y f la frecuencia, expresada en ondas por segundo, que es igual a c/λ (c es la velocidad de la luz^c y λ la longitud de onda en cm). La energía de cada quantum es así, igual a $h \cdot c/\lambda$ ergios, y la energía de un "mol" de quanta llamada Einstein (E) es igual a:

$$E = N \cdot \frac{hc}{\lambda} \text{ ergios } [^1]$$

donde N es el número de Avogadro.^d

Considerando que 1 cm es igual a 10^7 nm^e y que 1 caloría es igual a $4,18 \cdot 10^7$ ergios, la energía del Einstein está dada por

$$E = \frac{N h c}{\lambda} \cdot \frac{10^7}{4,18 \cdot 10^7} \text{ cal/mol } [^2]$$

Como todos los valores son constantes, excepto λ , un Einstein es igual a:

$$E = \frac{2,859}{\lambda} \cdot 10^7 \text{ cal/mol } [^3]$$

Expresado en kcal:

$$E = \frac{2,859}{\lambda} \cdot 10^4 \text{ kcal/mol } [^4]$$

Las longitudes de onda activas en la fotosíntesis abarcan una escala aproximada entre 400 y 700 nm, y la energía incidente dentro de esta amplitud posee un Einstein que varía entre 40,8 y 71,5 kcal para 700^a y 400^b nm, respectivamente.

Si bien en ciertas fotorreacciones se necesita teóricamente un Einstein para hacer reaccionar un mol de sustrato, en la práctica no suele presentarse esta relación, que habitualmente es mayor, es decir, que se necesita más de un E por mol. Se llama *eficiencia* o *rendimiento cuántico* (ϕ) al número de moles que reacciona por cada Einstein incorporado. Por otra parte, *requerimiento cuántico* es el número de E necesarios para hacer reaccionar 1 mol de sustrato.

Para el caso concreto de la fotosíntesis, *rendimiento cuántico* es el número de moles de CO_2 incorporados por cada Einstein utilizado, y *requerimiento cuántico* es el número de Einstein necesarios para incorporar un mol de CO_2 .

La determinación de estos valores en los sistemas vegetales, sea una suspensión de algas, una planta, un cultivo o un ecosistema natural, implica realizar dos mediciones básicas: la del CO_2 incor-

^a Quantum en singular; quanta en plural.

^b h = Constante de Planck = $6,62 \cdot 10^{-27}$ erg/seg

^c c = velocidad de la luz = $3 \cdot 10^{10}$ cm/seg

^d N = número de Avogadro = $6,022 \cdot 10^{23}$ mol.

^e nm. 10^9 = 1 metro

^a $E = \frac{2,859}{700} \cdot 10^4 = 40,8 \text{ kcal.}$

^b $E = \frac{2,859}{400} \cdot 10^4 = 71,5 \text{ kcal.}$

porado y la de la energía lumínica utilizada.

La luz que incide sobre un biosistema tiene tres destinos: una parte es reflejada (albedo), otra lo atraviesa y una tercera es incorporada (Ei). Sólo es activa esta última. La energía incorporada por el sistema se deduce de la incidente, la reflejada y la que lo atraviesa, que se miden por medio de radiómetros o espectrorradiómetros, cuyos valores se expresan en ergios. Para convertir los ergios en Einstein se dividen los ergios incorporados por aquellos correspondientes a un E según la λ .

Cuando se trata de luz blanca pueden realizarse mediciones cada 10 nm dentro del espectro activo (400-700 nm), que luego se integran, y de ese modo se obtiene la energía total retenida por el sistema y el número de Einstein.

En forma simultánea deben realizarse las determinaciones del CO₂ incorporado por medio del método más adecuado entre los descritos en el capítulo sobre fotosíntesis. En general, las determinaciones en un ecosistema resultan de las diferencias entre el CO₂ que fluye hacia su interior y el emitido. En esta forma, por ejemplo, en determinados momentos del día o a distinta altura de un cultivo, pueden obtenerse cifras negativas, donde la emisión supera a la incorporación.

La energía incorporada para sintetizar un mol de glucosa es de aproximadamente 810 kcal, si bien se acumulan en su molécula sólo 684 kcal. Ello se debe a que no toda la energía se transfiere a este compuesto; en consecuencia, se necesitan 135 kcal por cada mol de CO₂ fijado. Para que la energía de un E sea igual a la de un mol de CO₂ incorporado, lo que implica un requerimiento cuántico de uno, tendríamos, según [4]:

$$135 = \frac{2,859}{\lambda} \cdot 10^4$$

y

$$\lambda = \frac{2,859}{135} \cdot 10^4 = 211 \text{ nm}$$

Esto indica que para que un quantum suministre la energía necesaria para incorporar una molécula de CO₂ tiene que corresponder a una radiación de longitud de onda de 211 nm, la cual está fuera del espectro activo, es letal para el citoplasma y hace imposible obtener el rendimiento máximo de 1 mol por Einstein.

La acción del espectro indica que los quanta de energía correspondientes a la luz roja de 700 nm (40,8 kcal) representan el nivel inferior con capacidad de activar la clorofila. Si se ilumina un sistema con radiaciones de menor longitud de onda que las de 700 nm, dentro del espectro activo (400 y 700 nm) no se utiliza el exceso de energía superior a la correspondiente a dicho nivel. En consecuencia, para obtener el requerimiento cuántico menor posible (o el rendimiento cuántico mayor) se utiliza luz monocromática de esta longitud de onda.

Si cada E contiene 40,8 kcal y se necesitan 114 por cada mol de CO₂ incorporado, se requieren como mínimo 2,8, o sea 3 E de energía lumínica de 700 nm por cada mol de CO₂ incorporado, y la eficiencia es de 0,33 moles por E. En el caso de las algas, los resultados obtenidos en condiciones de laboratorio no bajan del requerimiento de 7 E por mol, y puede tomarse como valor común 10 E.

Sobre el rendimiento lumínico se ha realizado un interesante estudio para evaluar la eficiencia de un cultivo de maíz, que los autores exponen como ejemplo (Lemon y col., 1968). Se determinó, por una parte, el comportamiento de la comunidad con respecto a la luz, eliminando de la energía incidente total la que se pierde por "transmitancia" y reflexión. Del resto, sólo se tomó en cuenta la actividad que abarca el margen entre 0,4-0,7 μ .

Se calculó directamente el rendimiento de la luz estableciendo la relación entre la energía incorporada (en forma química) según los moles de CO₂ asimilados (CH₂O) y las calorías por mol, en una determinada superficie y tiempo (cm²·

min⁻¹), por una parte, y las calorías de energía lumínica incorporadas, por otra, evaluadas según la fracción retenida por las plantas. Los autores obtuvieron, para el estudio citado, un valor de 0,14, o sea 14 %, lo que implica que una reducida fracción de la energía incorporada por los tejidos es almacenada como energía química en los compuestos orgánicos^a.

Los estudios también se realizaron calculando el rendimiento cuántico sobre la base de moles de CO₂/Einstein incorporados. Se calculó el número de Einstein incorporados a los tejidos a partir de la radiación incidente (I λ), expresado en cal . cm⁻² . min⁻¹ dentro de la fracción activa, eliminadas la pérdida y la reflejada.

La radiación incidente y el espectro de absorción del cultivo se obtuvieron de mediciones a campo. Los autores integraron los valores entre 0,4 - 0,7 μ, calculando, para ese cultivo y condiciones del medio, 16 × 10⁸ Einstein incorporados por caloría incidente.

La intensidad de la fotosíntesis (CO₂ asimilado / superficie / tiempo) a campo, se obtuvo por medio de un método aerodinámico muy elaborado con mediciones de la concentración de CO₂ y velocidad del viento. El intercambio neto fue de 0,345 × 10⁸ g . cm⁻² . seg⁻¹, que expresados en moles corresponden a 0,08 × 10⁷, fijados en un cm² . seg⁻¹ (4,8 × 10⁷ min).

El número de moles por Einstein incorporados (rendimiento cuántico) resultó de 0,064 o sea que, expresado como requerimiento cuántico (quanta necesarios para fijar un mol de CO₂), el valor es de 16.

Army y Greer (1966) exponen una estimación de la producción neta en gramos de otro cultivo de maíz, según el cuadro 4.

Los 353 μ moles . cm⁻² se deducen de 3.528 μ Einstein . cm⁻², calculando un

Cuadro 4. Estimación de la producción diaria potencial para una superficie de cultivo que recibe 500 cal/cm² diarias

Radiación total por día	500 cal/cm ²
Radiación visible 400-700 nm	222 cal/cm ²
Quanta totales 400-700 nm	4.320 μ Einstein/cm ²
Pérdida por albedo	-360
Absorción inactiva	-432
Disponible para fotosíntesis total	3.528 μ Einstein/cm ²
(CH ₂ O) producido	353 μ moles/cm ²
Pérdida por respiración	-116
Producción neta de (CH ₂ O)	237
Producción neta en gramos	71 g/m ² /día.

requerimiento cuántico de 10 Einstein, y los 71 g . m⁻² se obtienen considerando que cada mol de (CH₂O) corresponde a 30 gramos.

A los 71 g teóricamente posibles, los autores agregan 6 g de nutrientes del suelo, de lo que resulta un total de 77 g de materia seca por m² cada día de sol.

Si el cálculo se realiza sobre la base de un requerimiento cuántico de 16, según las determinaciones anteriores (Lemon y col., 1967), el CH₂O neto producido baja a 148 μ moles . cm⁻² y la producción se reduce aproximadamente a 44 g . m⁻² diarios. Agregando 3 g de nutrientes del suelo se logran 47 g de materia seca m² . día⁻¹. Si estos compuestos se acumulan en el grano durante 35 días, se traducen en un rendimiento de 164 quintales por ha por cosecha.

Una producción buena de maíz es de 60 quintales, lo que indica las posibilidades de aumento del rendimiento a base de una tecnología eficiente. A estas posibilidades puede agregarse la de disminuir el requerimiento cuántico de 16, utilizado en este cálculo, a 10, que es un valor habitual en las determinaciones de laboratorio, lo que aproxima la producción teórica a 262 quintales/ha.

De estos trabajos, los autores han extraído conclusiones muy interesantes. Aproximadamente, los 2/3 superiores del estrato foliáceo del cultivo de maíz con que trabajaron dejó un saldo positivo durante el día. El tercio inferior fue

^a Si se calcula la energía almacenada con relación a la incidente, la proporción es mucho menor.

negativo, o sea que en esa parte del estrato foliáceo (canopeo) es más lo que se pierde principalmente por los procesos respiratorios, que lo que se gana por fotosíntesis, lo cual constituye lo que se considera hojas parásitas. Para la latitud y fecha en que trabajaron, a las 5,40 horas el saldo es negativo a cualquier altura; aumenta el rendimiento a partir de las 6,40 horas y se encuentra ya disminuyendo a las 17,45, para ser nuevamente negativo a las 19,45 en su totalidad.

Como era de esperar, la eficiencia fotosintética fue menor durante las horas de sol intenso (7,3%) y aumentó hacia el atardecer con la disminución de la luminosidad. Pero, al mismo tiempo que mermó y desapareció la fotosíntesis, disminuyó la respiración. Por lo tanto, las pérdidas nocturnas no correspondían a lo esperado en caso de que la respiración se mantuviera constante.

FACTORES ECOLOGICOS EN LA PRODUCCION PRIMARIA

Hemos visto que el sustrato de la fotosíntesis está constituido por H_2O y CO_2 , a los cuales podemos agregar además la luz, ya que ésta se incorpora como energía química. Los factores restantes actúan como reguladores, acelerando, retrasando o deteniendo los procesos.

Es improbable que el agua actúe como sustrato limitativo de la reacción, porque sólo una reducida fracción (1-3%) de la absorbida por la planta interviene en dicha función; antes de llegar a esa limitación, el proceso ya ha sido detenido por la alta concentración de solutos y desarreglos del medio interno. En calidad de sustratos de la fotosíntesis, es habitual que actúen como limitativos la luz y el CO_2 . Este último puede encontrarse en exceso, según la incorporación de energía luminosa, o bien ésta puede estar en exceso según el CO_2 disponible. Debemos tener en cuenta que no es igual considerar la actividad del CO_2 en las plantas superiores que en las algas; en éstas no existe ningún mecanismo que

regule su difusión, el que proviene del medio acuoso. El mayor o menor suministro depende de los factores que determinan su solubilidad, como la temperatura, la salinidad, el pH y la profundidad de sus fuentes de producción, sea ésta la atmósfera exterior, las sales que

lo liberan ($2 CO_3 H^- \rightleftharpoons CO_3^{2-} + CO_2$), la respiración y la descomposición del detritus por medio de la micro y de la macrofauna, hongos, bacterias, etcétera. En las plantas, el camino que sigue el CO_2 hacia los cloroplastos está regulado principalmente por la apertura y cierre de los estomas que depende parcialmente de la misma concentración de CO_2 en sus células de cierre.

En los ecosistemas terrestres las fuentes de CO_2 se encuentran en la atmósfera exterior al canopeo o en el suelo a partir de la actividad de los organismos contenidos en él (respiración del suelo). Esta última se considera de suma importancia. La dirección del desplazamiento del CO_2 depende de varios factores, como el consumo por el estrato foliáceo, contenido de la atmósfera exterior, e intensidad de la producción del suelo. Cuando la producción terrestre es alta y el consumo es bajo, por una débil fotosíntesis, el gas atraviesa el estrato foliáceo y se difunde a la atmósfera exterior. Si la fotosíntesis es intensa incorpora CO_2 proveniente del suelo y de la atmósfera exterior; entre estos dos extremos pueden producirse numerosas situaciones intermedias. En algunos casos se establece un ciclo en que la vegetación suministra suficiente materia orgánica como para que su descomposición llegue a equilibrar el consumo fotosintético; dicho equilibrio sólo es posible cuando otros factores se encuentran en niveles adecuados, en particular el agua y la temperatura. En general, un suelo aumenta la emisión de CO_2 con el aumento de las temperaturas y el agua.

También es de importancia el CO_2 suministrado por la respiración de las raíces, que se desplaza hacia los tejidos fotosintéticos, así como el obtenido del suelo por medio de las raíces mismas, lo

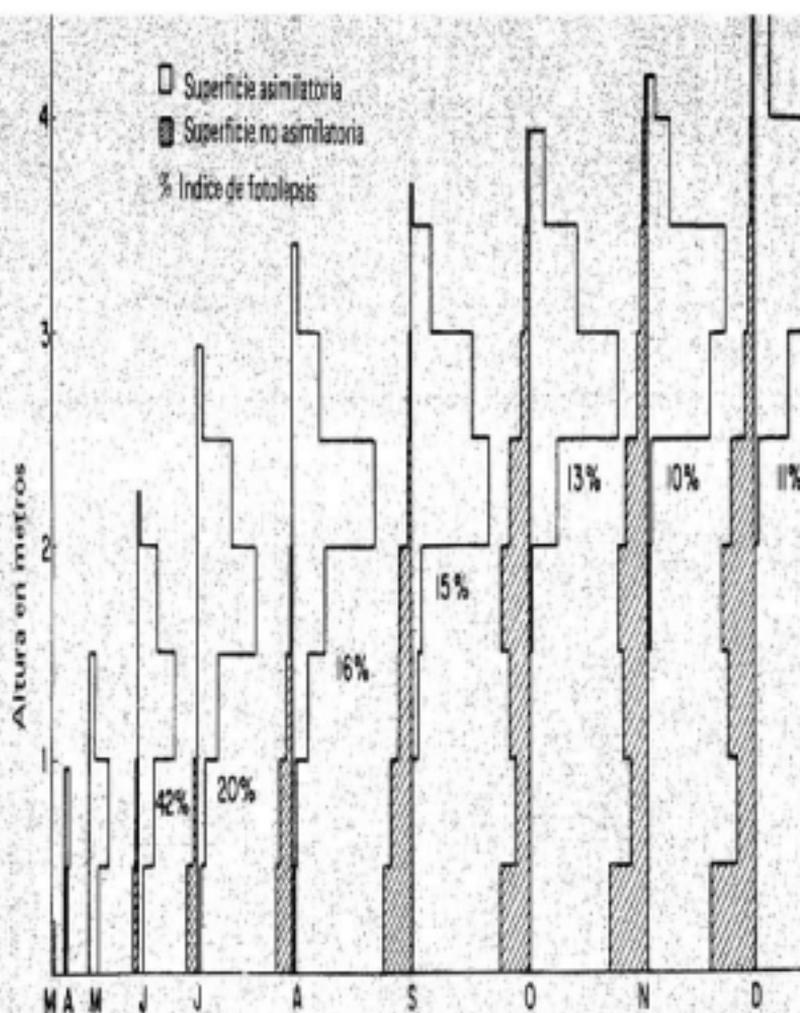


Figura 249. Distribución vertical de la superficie foliar asimilatoria y no asimilatoria en el cultivo de caña PR 990 (1967). En las abscisas se indica el mes en el cual se hizo la cosecha correspondiente. Los números indican el porcentaje de la fotolepsis medida a la altura en donde se colocan. Fotolepsis es la luz que se mide dentro de la plantación, expresada en porcentaje de la incidente (E. Medina y J. San José, 1970).

cual ha sido demostrado con el uso de C^{14} .

La fotosíntesis se compone de los dos grupos principales de procesos ya mencionados. Uno de ellos es el de los procesos fotoquímicos por medio de las que se sintetiza ATP (fotofosforilación) y NADPH. Los segundos son procesos típicamente enzimáticos, en los que se incorpora y reduce el CO_2 . Es muy importante la relación entre ambos grupos. Hace tiempo se comparó la intensidad de la fotosíntesis realizada con luz continua y la que se produce alternando breves períodos de luz y oscuridad. Por ejemplo, si se alternan *flashes* de 3 milésimas de segundo con períodos de oscuridad de 20 milésimas, se incorporan, en ambos casos, volúmenes de CO_2 aproximadamente iguales; de ello se deduce que cuando la luz solar incide directamente sobre una hoja, es incorporada en exceso a las necesidades de la fijación del CO_2 disponible y el proceso está limitado por este último. Sugiere también que la intensidad de la luz puede disminuirse en un margen bastante amplio sin que se vea afectada la producción fotosintética.

La luz incide, directamente, sólo en parte de una planta o de una comunidad, lo cual depende de la dirección de la incidencia, el índice foliar¹, la posición foliar y otras circunstancias, en tal forma que es frecuente que se encuentren bajo sombra numerosas hojas que sólo reciben las radiaciones que atraviesan el estrato superior o las reflejadas por el medio y por el resto de la vegetación. Es evidente que al aumentar el índice foliar se producen cambios fundamentales: puede aumentar la luz total incorporada por unidad de superficie de suelo, pero disminuir por unidad de superficie foliar, y aumentar la cantidad total de CO_2 incorporado como también la pérdida por los procesos de respiración. Pasado cierto

límite, todo aumento del índice foliar disminuirá la fotosíntesis neta, ya que el consumo determinado por la respiración y la fotorrespiración total aumentan y pueden llegar a superarla, lo cual obra en detrimento de la producción. El índice foliar óptimo depende tanto de las características climáticas como de la conformación y posición foliar. Así, las hojas con tendencia a erectas requieren un índice foliar mayor en las regiones donde la incidencia de la luz solar tiende a ser perpendicular a mediodía.

Algunas especies, como la caña de azúcar, mantienen cierta constancia de la superficie de asimilación durante el crecimiento, aumentando la superficie no asimilatoria constituida por las hojas necrosadas o cloróticas (figura 249, Medina E. y J. San José, 1970). Este comportamiento puede mantener la eficiencia del sistema, ya que las hojas inferiores muertas, o en vías de morir, si bien no realizan fotosíntesis tampoco respiran activamente dejando de comportarse como "parásitas", lo que probablemente hubiera ocurrido en las partes inferiores del estrato foliáceo debido a la disminución de la intensidad de la luz.

Es evidente que en el plancton oceánico situado en las capas superiores de los espejos de agua, la situación suele ser diferente; aparte de los nutrientes que en promedio actúan como limitativos bajo condiciones naturales, es la luz la que parece estar normalmente en exceso con relación al CO_2 , ya que llega a profundidades de 100 m. En laboratorio, trabajando con el alga celular *Scenedesmus obliquus* y con burbujeo de la solución con aire normal, se han obtenido valores del orden de las 110.000 algas por mm^3 , concentración que implica la formación de una masa opaca, lo que sugiere que la luz se encontraba en exceso durante la mayor parte de su período de crecimiento. Bajo condiciones de aguas arcillosas o limosas y turbulentas, como los cauces de algunos ríos (Paraná y de La Plata), la situación es distinta porque las algas están en constante movimiento hacia y desde las profundidades, lo que

¹ Índice foliar es la relación entre la suma de la superficie de todas las hojas de una planta o conjunto de plantas y la superficie del suelo que abarcan.

determina largos períodos de luz muy difusa o de oscuridad.

En muchas circunstancias, como cuando la incidencia de la luz solar es directa y el CO_2 sólo proviene de la atmósfera, éste actúa con frecuencia como limitativo. La limitación puede depender también de la estructura interna de la hoja, donde un parénquima lagunoso que ocupa una parte importante del mesófilo, con meatos extendidos y bien conectados entre sí, facilitan el flujo gaseoso, lo cual implica una condición adecuada para su mejor aprovechamiento a igual incidencia de luz.

El flujo de CO_2 desde la atmósfera hasta el cloroplasto depende de varios factores: del coeficiente de difusión en la misma atmósfera, del gradiente entre la concentración en la atmósfera y la del cloroplasto —ésta última depende de la rapidez de su fijación—, del coeficiente de difusión dentro de la célula, de las distancias que debe recorrer y de las resistencias que se opongan desde la atmósfera, a través del ostiolo y de los meatos, hasta la superficie, donde se disuelve sobre la pared celular del mesófilo, y de su difusión posterior hasta los cloroplastos, donde se fija.

La superficie de la interfase líquido-gas es muy importante. Es posible que la relación "superficie de los meatos-superficie foliar", sea un índice adecuado y útil. Este "índice de superficie interna" podría relacionarse con el índice foliar para dar una idea más aproximada de la capacidad de utilización del gas carbónico de una comunidad, considerando que la superficie foliar es suficiente y está estructurada en una forma que puede incorporar la mayor parte posible de la radiación incidente y que los estomas funcionan y permiten un flujo de CO_2 adecuado para alimentar las paredes celulares donde se disuelve.

El flujo y la disolución de CO_2 en el mesófilo es concomitante con la evaporación y flujo del agua que sigue el mismo camino pero con dirección opuesta. Bajo condiciones de agua abundante, y cuando su pérdida por transpi-

ración no implica una limitación, la incorporación de CO_2 también puede ser abundante.

Los diversos grados de adaptación al exceso y deficiencia de agua parecen indicar un equilibrio entre estos dos procesos —pérdida de agua y ganancia de CO_2 —, ya que todo aumento de la capacidad de incorporar éste implica un aumento de la capacidad de perder aquélla. Lo corriente es que, en las regiones donde el agua es abundante, también lo es el CO_2 proveniente de la "respiración" del suelo. En numerosas circunstancias, la planta podría ser fotosintéticamente más eficaz con una película que cubriera las paredes expuestas del mesófilo y que fuera permeable al O_2 y al CO_2 , pero que presentara cierta resistencia al pasaje de agua. Existe una "cutícula interna" que cubre parte de las células del parénquima del mesófilo que rodea los estomas, cuyas propiedades no son bien conocidas, pero su extensión es limitada. Por otra parte, el hombre ha desarrollado membranas con esta propiedad u obtiene una reducción de la pérdida de agua con emulsiones de sílica. La pérdida de agua por transpiración no puede suprimirse totalmente porque desempeña un papel importante en el traslado de sustancias nutrientes a través del tejido vascular leñoso.

RELACION LUZ- CO_2 -MORFOLOGIA

El nivel de la intensidad de luz en que una hoja comienza a tener un saldo energético negativo depende de su punto de compensación lumínico el cual está determinado por la capacidad fotosintética de su equipo cloroplástico y de los sistemas de respiración. Ambos son, en parte, inherentes a la especie o cultivar y, en parte, dependientes de la historia de la hoja y de su plasticidad. Las hojas de una misma planta, situadas en distinta posición, pueden presentar un mayor o menor punto de compensación, de modo que es de suponer que las hojas infe-

riores del estrato foliáceo tengan un punto de compensación bajo y que alcancen a desarrollar una fotosíntesis neta positiva con baja intensidad de luz. Del mismo modo, se supone que las especies del sotobosque tienen también un punto de compensación bajo.

El problema de las hojas inferiores del canopeo —consideradas con frecuencia como parásitas— depende de la especie, de la profundidad de dicho estrato foliáceo, de la densidad, posición y conformación de las hojas que lo componen, de la densidad de la siembra y del tipo de cultivo, todo lo cual puede permitir una penetración adecuada de la luz sin que se produzca un desperdicio de la radiación. Según la comunidad, los fitotécnicos deben buscar el mejor equilibrio entre el CO_2 , la luz y el H_2O , y la solución debe ser experimental respecto de cada especie, ecosistema y explotación.

Como ejemplo adecuado podemos citar el caso del girasol. Cuando éste comenzó a cultivarse en la República Argentina, se introdujeron plantas de alto porte, superiores a los 2 metros y de hojas amplias y horizontales. Era tan cerrado el canopeo que al cultivo se lo consideró "limpiador" de maleza por su profundo estrato foliáceo, el evidente alto índice foliar y, en consecuencia, su oscuro sombreado. Estas plantas han sido reemplazadas por cultivares más bajos y hojas más chicas que, además del mayor rendimiento por superficie, determinado evidentemente por el mejor aprovechamiento de la luz, el CO_2 y el agua, permiten la mecanización de la explotación.

Interesa la respiración referente a todo el vegetal, incluidos los órganos no fotosintéticos como las ramas, los rizomas y las raíces. En las plantas herbáceas, la relación "parte aérea-parte subterránea" podría ser un índice aproximado de la relación "fotosíntesis total-respiración total", por lo cual se ha calculado en forma muy general que la respiración de éstas representa aproximadamente el 0,33 de la fotosíntesis neta. Esta relación depende, entre otras causas, de la morfo-

logía, la bioquímica y la fisiología de la planta, y de factores como la luz, el CO_2 y el agua. Así, en una región semiárida, de suelo arenoso, debemos considerar que la luz se encuentra en exceso con respecto al CO_2 y el agua; el CO_2 proviene fundamentalmente de la atmósfera, ya que la respiración del suelo es reducida y la vegetación abierta. Todo ello determina una disminución de la parte aérea y baja su relación con la subterránea, que es importante como órgano proveedor de agua, normalmente en deficiencia. Toda esta situación implica que una parte fotosintética, relativamente pequeña, debe mantener una extensa masa vegetativa que sólo respira, lo cual da lugar a un lento crecimiento. En plantas higrófilas de clima cálido, con abundante suministro de agua, la relación tiende a cambiar en sentido inverso y se encuentra una mayor masa fotosintética con relación a la parte subterránea.

Al formar una planta de cultivo se debe tender a aprovechar al máximo la luz, manteniendo también en lo posible un tamaño reducido de la parte aérea. La estructura tiene que permitir la penetración de las radiaciones dentro del estrato foliáceo, de manera que se distribuyan uniformemente en su interior sin perderse sobre el suelo y sin ser rechazadas como albedo hacia el exterior. Tiene que evitarse, también, que en ciertas partes incidan perpendicularmente sobre la superficie de la hoja en las horas de mayor intensidad, mientras que en otros momentos, lo hagan muy débilmente en su interior, de modo que la luz descienda a valores inferiores al punto de compensación.

Es evidente que para cada región y cada especie existe una superficie foliar óptima que depende de la conformación foliar básica (gramíneas, leguminosas) y de los factores del medio (alta o baja insolación, abundancia o escasez de agua, viento, etcétera).

Estas condiciones se consiguen, por una parte, con un aumento del índice foliar dentro de ciertos límites y, por otra, evitando que la luz incida perpendi-

cularmente sobre el limbo en las horas de mayor intensidad y haciendo que lo haga en forma inclinada, lo cual se obtiene con hojas que tiendan a una posición erecta en la zona superior del es-



Figura 250. A) Rama de cítricos con hojas con tendencia a la posición horizontal. A mediodía, cuando el flujo lumínico es más intenso, tiende a incidir perpendicularmente sobre la superficie foliar, desde donde se refleja en parte hacia el exterior (albedo); otra parte penetra a la hoja, con valores de flujo que exceden los niveles de CO_2 que pueden fijarse. Al transcurrir el día, el flujo menos intenso, incide en forma inclinada sobre la superficie foliar, con valores por unidad de área, deficientes en relación a la concentración de CO_2 disponible. B) Rama de cítricos con hojas con tendencia a posición erecta. A las horas de mediodía, cuando el flujo lumínico es excesivo respecto a las concentraciones de CO_2 , los rayos solares inciden inclinados sobre la superficie foliar, disminuyendo la intensidad por área. El exceso de luz se refleja hacia el interior del follaje, donde se incorpora. Hacia la tarde, cuando los rayos ya más débiles inciden en forma inclinada sobre la superficie del suelo, tienden a hacerlo en forma perpendicular hacia la superficie de la hoja. En ambas situaciones se aprovecha la energía lumínica con mayor eficiencia.

trato foliáceo. Las hojas semierectas de la zona superior permiten desviar gran parte de la luz intensa hacia su interior, especialmente a mediodía, al mismo tiempo que disminuye la intensidad por unidad de superficie del limbo foliar, ya que los rayos se distribuyen en mayor superficie; en esta forma es menor la luz que se pierde por albedo a la vez que también disminuye su exceso con respecto a la asimilación del CO_2 que se registra cuando la incidencia es directa y normal.

Es conveniente que, a medida que la luz directa o reflejada profundice en el conjunto de las hojas, éstas tomen una posición horizontal, evitando en lo posible que los rayos lleguen al suelo donde se pierden en su mayor parte para la actividad fotosintética. Se mantiene así un equilibrio entre la mayor captación de luz, la mayor asimilación de CO_2 y la menor pérdida de agua. Debemos puntualizar que por cada cm^2 de hoja, existe una "cantidad" de luz por unidad de tiempo que permite incorporar sin desperdicio el CO_2 disponible para dicha superficie.

Estos principios parecen haber influido en el desarrollo de floras naturales, donde los distintos ecosistemas manifiestan una mayor o menor capacidad de captación de la energía radiante, según la disponibilidad de los tres factores mencionados. Donde hay agua suficiente y temperatura adecuada durante todo el año y, en consecuencia, una alta producción de CO_2 debido a la "respiración" del suelo, la radiación es en su mayor parte interceptada, como ocurre en ciertos sectores de la selva amazónica, donde se desarrolla una profunda capa foliácea única, de varios metros, situada a cierta altura del suelo cubierto por un manto de materia en descomposición. En otros casos, la estructura está constituida por varias capas, como una superior de árboles, otra intermedia de arbustos y otra herbácea donde, de acuerdo con las diversas características de las especies que la componen (como punto de compensación lumínico, apertura y cierre de

los estomas, superficie foliar, etcétera), se distribuyen y utilizan los factores del medio según sus necesidades.

Un comportamiento ambiental, que determina en gran medida las características de la vegetación, es su variación estacional. Las épocas de sequía que se repiten anualmente en forma regular dan un tipo de vegetación xerófila perenne que utiliza sólo una parte mínima de la radiación disponible; durante la época lluviosa, esa vegetación se complementa con un estrato herbáceo de breve duración que incorpora la radiación que se filtra a través del estrato superior, en el primer caso con una baja relación parte aérea-subterránea y, en el caso de las plantas herbáceas, con una relación mayor.

Estos comportamientos deben ser tenidos en cuenta en la creación de nuevos cultivares como en la estructura y manejo de comunidades artificiales o de ecosistemas naturales. En cada caso hay que considerar la latitud, la luminosidad, el punto de compensación de las especies de la comunidad, la disponibilidad de agua, la densidad de la siembra, el corte y la poda de la vegetación, los cultivos consociados, el pastoreo, etcétera, según el ecosistema de que se trate. Como ejemplo, digamos que deben ser diferentes la estructura foliar y la relación "parte aérea-subterránea" de un cultivar de trigo, destinado a una región semiárida (suroeste de la Prov. de Buenos Aires), que las de otro cultivar destinado a una región más lluviosa (norte de la Prov. de Santa Fe), donde las temperaturas son más elevadas. No obstante estas diferencias, ciertas características son comunes a numerosos ecosistemas artificiales de producción, como las plantas bajas, etcétera. La adaptación a las condiciones regionales son fundamentales y muy distintas. Así, en un alfalfar, hay que tener en cuenta las capas duras e impermeables de tosca que cubren parte del subsuelo (Prov. de Buenos Aires), o bien las diferencias que podrían ser necesarias en un método de poda de un manzano cultivado en el

Delta (alta humedad relativa) y otro cultivado en el Valle del Río Negro (baja humedad relativa).

FOTOSÍNTESIS Y DESARROLLO

Aparte del rendimiento neto de la fotosíntesis por unidad de espacio y de tiempo, interesa el período en que este proceso se encuentra activo durante el ciclo vital de una planta. No obstante que la relación entre el rendimiento y el período vegetativo de fotosíntesis activa suele ser positivo en algunas especies, esta relación depende del tipo de producto final y de otros factores concurrentes. Según lo ya expresado, si el producto final es la acumulación directa de los compuestos de la fotosíntesis, como ocurre en los casos en que se consume la masa foliar, dicha relación puede establecerse más o menos directamente durante cierto lapso, salvo casos de interferencias especiales. Pero si el producto final se origina por un proceso de desarrollo más complicado, dicha relación puede ser alterada. Así, en el trigo, a partir de la germinación se forma una plántula que da varios macollos de tallos muy breves y la mayor parte del sistema radical. Luego de un período regulado por la temperatura y la longitud del día (vernalización y fotoperiodismo) los tallos crecen rápidamente y se forman las "cañas" (entallecimiento) en cuyos extremos van creciendo las espigas. Cada caña suele llevar varias hojas, la fotosíntesis de la última de las cuales (hoja bandera) es de suma importancia en el rendimiento, al cual contribuye también la fotosíntesis de la misma espiga. Es evidente que, transcurrido un lapso mínimo (durante el cual se forma la raíz y la parte vegetativa inicial), la longitud del período fotosintético durante la primera fase de crecimiento no está directamente relacionada con la producción final, y tanto es así que en ciertas regiones los cultivos de trigo se utilizan como forraje verde hasta la época del encañamiento. Al comenzar este proceso, y en especial

luego de la antesis, el período fotosintético influye evidentemente en forma directa sobre la producción; al comienzo porque la mayor actividad fotosintética da lugar a una "hoja bandera" mayor, y luego de la antesis porque el conjunto alimenta directamente las reservas de los granos en formación que constituyen el producto requerido. Por todo ello, es evidente que la relación no se establece con el período fotosintético total, sino con un período más estrechamente vinculado con la formación del producto. Es posible que, por su similitud con el trigo, la cebada y el centeno se comporten en forma semejante.

En la planta de papa, la relación entre la fotosíntesis y la acumulación de las reservas en los tubérculos también depende del proceso de desarrollo. A partir de la plantación, el tubérculo madre brota y da lugar a la planta alimentada por las reservas propias de aquél y por la fotosíntesis. Transcurrido cierto tiempo (que depende de la variedad, la historia previa del clon y las condiciones del medio) comienzan a formarse los tubérculos hijos que constituyen la producción. El tiempo transcurrido entre ambos procesos (brotación y comienzo de la tuberización) se denomina período de incubación; la tuberización comienza cuando la fisiología de la planta sufre un cambio fundamental y la mayor parte de los productos de la fotosíntesis se traslada a los tubérculos hijos, proceso que se acentúa a medida que transcurre el tiempo, de manera que si se siembran tubérculos ya incubados durante el almacenaje, prácticamente no se producen plantas. Todo ello indica que, una vez establecido un cultivo con adecuado sistema radical y suficiente actividad fotosintética, toda demora en comenzar la tuberización (prolongación del período de incubación) es inútil; en cambio, el período de tuberización debe ser lo más prolongado posible para permitir la acumulación máxima de los productos de la fotosíntesis. El proceso termina cuando cierto número de tubérculos llega a la madurez, posiblemente debido a la

acumulación de inhibidores, todo lo cual parece inducir la muerte de la planta aunque ésta no haya florecido. En consecuencia, un largo período de tuberización con una activa fotosíntesis determina un alto rendimiento, sin perjuicio del efecto de otras condiciones como la sanidad, la nutrición, el agua y, también, la influencia depresiva de las altas temperaturas sufridas durante la formación de los tubérculos madre, durante la brotación o en cultivos anteriores.

En el maíz, el período de formación de los granos es de aproximadamente 35 días (se calcula un aumento del 3% diario). Esto implica que, si se prolonga dicho período a 60 días, sea como un carácter genético o por medio de biorreguladores, un rendimiento de 2000 kg/ha podría elevarse a 3.400 bajo las mismas condiciones.

Todo ello indica que la relación "fotosíntesis-producción" no es simple y directa, sino que depende de la modalidad de desarrollo de la planta como del producto buscado. En ciertas fases puede prolongarse *inútilmente* una fotosíntesis que, pasado cierto límite, no se manifiesta en el rendimiento al mismo tiempo que la comunidad se mantiene en el campo, con todos los riesgos inherentes a esa situación como ocurre en girasol. En consecuencia debe buscarse un adecuado acortamiento de ciertos procesos o estados con una prolongación consecuente de aquéllos conectados directamente con la productividad, lo que indica la necesidad de conocer los cambios morfofisiológicos que se van produciendo durante el desarrollo de un vegetal. El rendimiento del arroz se ha aumentado y podrá aumentarse aun más a medida que se conozca mejor el papel que desempeñan el número y las diversas hojas, la actividad fotosintética de cada una de ellas y su relación con la nutrición de los granos, así como la reacción fotoperiódica que puede anticipar la inducción floral para disminuir el período hasta la antesis y tratar de prolongar el período "antes-maduración".

En algunas especies —algodonero, gira-

sol, arroz—, la maduración de los frutos se suele anticipar a la muerte de la planta por lo cual es conveniente utilizar desecantes o defoliantes que permiten una cosecha oportuna, sin esperar la desecación natural del follaje y los tallos. En otros casos, los granos mantienen por un tiempo un alto contenido de agua lo que dificulta su almacenaje, no obstante la cosecha puede adelantarse, ya que la acumulación de los productos de la fotosíntesis ha terminado, y la humedad elevada del cereal se reduce a niveles adecuados por medios mecánicos.

PROCESOS NO FOTOSINTÉTICOS

A partir de la producción primaria, el vegetal debe constituir su "máquina" productora, que puede ser una sola célula (algas celulares), una planta y, según la complejidad del ecosistema, hasta los últimos consumidores de la cadena biológica, como los herbívoros, omnívoros o carnívoros, correspondientes a animales superiores o peces.

La producción primaria representa generalmente sólo un valor potencial que debe convertirse —por medio del crecimiento, la diferenciación interna y externa, y la acumulación de reservas o su transformación en proteínas y grasas animales— en los productos utilizables por el hombre.

Estos procesos son complejos y muy diferentes, según las circunstancias y especies que constituyen el ecosistema. La elaboración de los productos finales a partir de la fotosíntesis está determinada por mecanismos regulados por enzimas, hormonas e inhibidores, que se constituyen en parte por el mismo metabolismo, independientemente de las condiciones del ambiente, o bien con arreglo a las condiciones del medio, como la temperatura, el crecimiento, la vernalización, la intensidad de luz, la longitud continua del período oscuro (fotoperiodicidad), las horas diarias de luz, etcétera.

Los procesos son tan particulares que un mismo factor puede ejercer efectos

totalmente contrarios en especies distintas y aun anular totalmente las condiciones que, en general, determinan una alta producción primaria. Por ejemplo, en *Tropaeolum majus*, la luz solar directa e intensa —que es de suponer que podría favorecer una activa fotosíntesis— provoca una disminución del crecimiento. Si bien se desconoce el mecanismo de esta acción, todo sugiere que se sintetizan compuestos inhibidores (figura 251). Por otra parte, en *Flaveria bidentis*, los días cortos determinan un crecimiento muy reducido, mientras que los días largos ejercen un efecto totalmente contrario, en forma desproporcionada al aumento de la fotosíntesis. Así, para una duplicación de

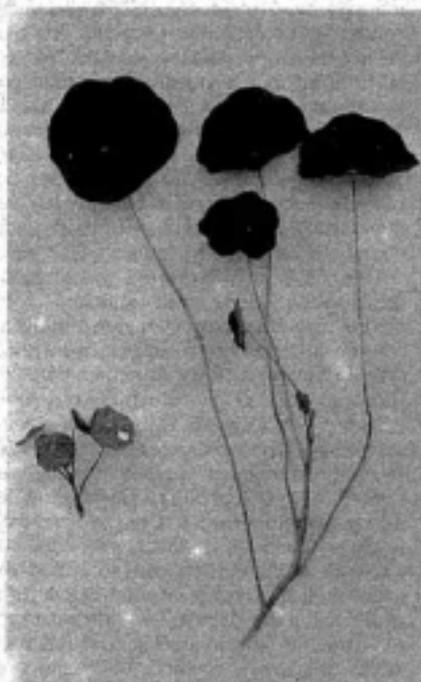


Figura 251. Ramas de *Tropaeolum majus* crecidas bajo luz solar directa (izquierda) y bajo "media sombra" (derecha). Esta especie sufre desarreglos fisiológicos y morfológicos bajo luz solar directa de alta intensidad.

la fotosíntesis (de 8 a 16 horas diarias de luz de igual intensidad y constitución), se obtuvo un aumento de 163 veces el peso seco; con iguales horas diarias de luz, la aplicación en un solo período duplica el

crecimiento con relación a su aplicación en dos períodos (16 horas continuas y 8 horas de oscuridad y 16 horas interrumpidas, con dos períodos de 4 horas de oscuridad), respectivamente (figura 252).

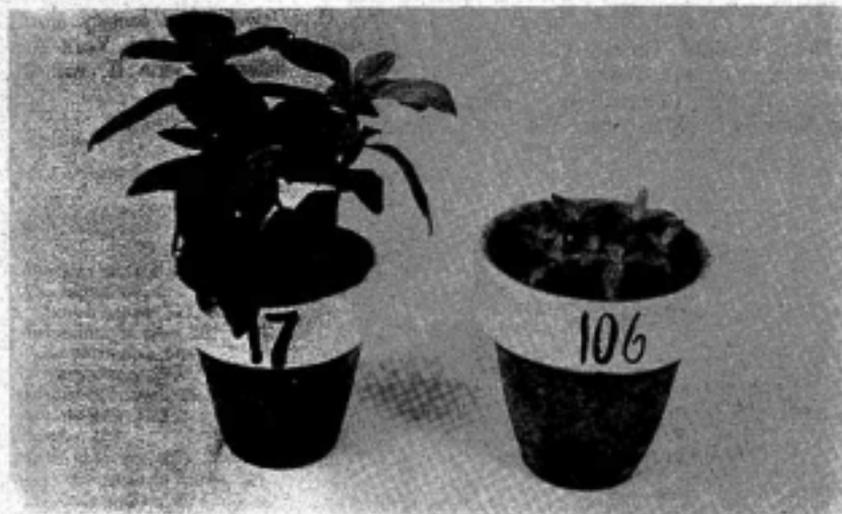


Figura 252. Plantas de *Floueria bidentis*. Las de la izquierda crecieron bajo fotoperíodos de 16 horas (8 horas diarias de luz solar y 8 de artificial). Las de la derecha crecieron bajo 8 horas diarias de luz solar, con una interrupción del período oscuro de 10 minutos de luz, para evitar que florescan. Con un fotoperíodo de 16 horas también se obtiene mayor crecimiento que con dos períodos de luz diaria de 8 horas cada uno. (Instituto de Fisiología Vegetal. Univ. Nac. de La Plata, Argentina).

LECTURAS COMPLEMENTARIAS

- Eastin, J. D. y F. A. Haskins: *Physiological aspects of crop yield*, 1969.
- Geiger, R.: *The climate near the ground*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 1957.
- Gibbs, M., E. Latako, G. Everson y W. Cockburn: "Carbon movilization by the green plant", en *Harvesting the sun*, págs. 11-130, (A. San Pietro, F. A. Greer y T. J. Army), 1967.
- Hatch, M. D. y C. R. Slack: "Photosynthetic CO₂ fixation pathways". *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 21: 141-384, 1970.
- Lemon, E.: "Aerodynamic studies of CO₂ exanche between the atmosphere and the plant" Págs. 263-290 en *Harvesting the sun*, 1967.
- Lieth, H. "A computer model of the world vegetation. Part of the UNC. Biosphera mode". I° Congreso Latinoamericano V° Mejicano de Botánica, Sociedad de Botánica de Méjico, 1972.
- Loomis, R. S., W. A. Williams y W. G. Duncan: Community architecture and the productivity of terrestrial plant communities", págs. 291-308, en *Harvesting the sun*, 1967.
- — y A. E. Hall: "Agricultural productivity", *Ann. Rev. Plant Physiol.* 22: 431-468, 1971.

- Odum, E. P.: *Fundamentals of ecology*. W. B. Saunders, 3^o ed., 1971, Londres.
- Rosenzweig, M. L.: "Net primary productivity of terrestrial communities: prediction from climatological data", *The Am. Nat.*, 102 (923): 67-75, 1968.
- Slatyer, R. O.: *Plant-water relationships*, 1967.
- San Pietro, A., F. A. Greer y T. J. Army: *Harvesting the sun*, 1967.
- Westlake, D. F.: "Comparisons of plant productivity", *Biol. Rev.* 38 (3): 385-425, 1963.
- Wit, C. T.: "Photosynthesis: its relationship to overpopulation", págs. 315-320, en *Harvesting the sun*, 1967.
- Yoshida Shovichi: "Physiological aspects of grain Yield", *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 23.
- Young, G.: *Dry land in hungry world*. Transactions of The New York Academy of Sciences, serie II, vol. 31, N^o 2, 1969.

INDICE

ALFABETICO

A

- Abertura estomática, 358
- Abscisión, 363, 472
 - flores, frutos, 541, 608, 609
- Absorción, de agua, 337, 340, 341
 - de nutrientes, 364
 - mecanismo, 257
- Aceptores (sítios), 269
- Acetabularia, 139
- Acetilo, 129
- Acido abscísico, 232, 236, 474, 476, 477, 478
 - abscisión de frutos, 522
 - alfa-amilasa, 524
 - biosíntesis, 521
 - efecto fisiológico, 522
 - floración, 523
 - mecanismo estomático, 523
 - modulación, 524
 - traslado, 522
- antranílico, 230
- cíclico, 205
- clorogénico, 439
- chaulmúgrico, 213
- esteárico, 207
- faseico, 524
- galacturónico, 197
- hidrocárpico, 213
- hidroxil, 204
- indolacético, 229, 230, 232, 335, 443,
446, 476, 491
- indolprúvico, 230
- lúrico, 207
- lunulárico, 524
- mirístico, 207
- oleico, 210, 213
- palmítico, 207
- péctico, 24
- ricinoleico, 213
- shiquímico, 230
- Acidos grasos, 203, 204
 - activación, 205
 - beta-oxidación, 215
 - biosíntesis, 206
 - sistemas oxidativos, 213
- Acidos no saturados, 204
- Acidos nucleicos, 118-123
 - metabolismo, 133
- Acidos orgánicos, 271
- Acidos saturados, 204
- Acinetos, 638
- Acodo (mugrón), 640
- Actividad enzimática, 363
- Adaptación a las condiciones hídricas, 369
- Adenina, 119, 120, 121, 124, 126, 130
- Adenosina trifosfato (ATP), 50, 60
- ADN, 9, 117, 118, 120, 121, 122-124, 125, 126,
127, 128, 129, 130, 131, 133, 134, 135,
136, 138, 139, 140, 254, 593
 - cloroplastos, 130
 - contenido en plantas superiores, 129
 - cromosómico, 130
 - estructura secundaria, 127
 - mitocondrial, 130
 - nuclear, 128
 - polimerasa, 137
 - replicación, 133
 - transcripción, 139
- Aerobios, 9
- Afidos, 385
- Agalla, 475
- Agamosperma, 636
- Agar, 26
- Agua, 10
 - función, 321
 - movimiento en el xilema, 342
 - potencial, 269
 - propiedades, 319
 - relación con el rendimiento, 652
- Alar, 368
- Alargamiento celular, 457
- Albedo, 645, 658
- Aldehído, 8
- Alfa-oxidación de los ácidos grasos, 215
- Alga, 1, 13
- Almidón, 189, 377
- Ambiente, 644
- Amida, 296
- Amilopectina, 190
- Amiloplastos, 35, 190

Amilosa, 190
Aminoácidos, 9, 117, 148, 296, 301, 302
Aminocil-ARNt, 150
Amonificación, 286
Amonio (intercambio), 289
AMP, 140
 cíclico, 130
Anabolismo, 7, 9
Anfifotoperiódicas, 578-579
Angiospermas, 633, 635
Angstrom, 126
Anteridio, 631, 632
Anterozoide, 633
Antiauxinas, 445, 451
Antigiberelinas, 445
Antípodas, 634
Aparato de Golgi, 18, 31
Apareamientos, 123
Apice, cambios, 588-589
 caulinar, 398
Apogamia, 636
Apomítico, 636
Apomixis, 635
Apoplasma, 339
Aposporia, 636
Arabínosa, 197
Area foliar, 376
ARN, 9, 117, 118, 120, 121, 127, 129, 130,
 131, 132, 135, 137, 138, 139, 140, 142,
 593
 clases en eucariontes, 132
 mensajero, 131, 139, 157
 nucleolar, 142
 ribosómico, 130, 131, 139
 síntesis, 138, 139, 141, 142, 144, 145
 transferencia, 131, 139, 161
Arquegonio, 631, 632, 633
Arquespora, 633
Arroz, 190, 192
Ascomiceta, 13
Asexual, 10
 reproducción, 629
Asimilación, 3
ATP, 9, 60, 140, 264-265, 266, 461, 655
Autótrofos, 8
Autofotótrofos, 8, 11, 12
Autoquimiótrofos, 8
Auxinas, 10, 229, 230, 400, 450, 453, 474, 477,
 483, 486
 degradación, 491
 estructura y actividad, 488
 extracción y evaluación, 488
 fenómeno fisiológico, 493
 floración, 494
 ligadas, 487
 modo de acción, 495
 precursores, 444, 487
 rizogénesis, 494
 traslado, 492
Avena, 191
Avogadro, número, 657
Azotobácter, 14
Azufre, 9, 250

B

B 9, 529
Bacterias, 12, 118, 131, 136, 137
 del azufre, 89
 del hidrógeno, 89
 del hierro, 90
 nitrificadoras, 89
Bacterioclorofila, 82
Bacteriófago, 130, 137
Bacterioviridina, 82
Bacterium denitrificans, 111
Bases, complementarias, 123
 composición de ADN en diversos organismos,
 125
 nitrogenadas, 118, 119, 120, 122, 123, 124
 secuencia, 154
Basidiomicetas, 13
Basidiosporas, 638
Beadie, 118
Beta-oxidación de los ácidos grasos, 215
Bioenergética, 645
Biología molecular, 117
Biomasa, 7
Bioproducción, 1, 643
Biosfera, 6, 7
Biota, 647
Biótrofos, 12
Blackman, curvas, 77
Boltzman, constante, 258
Boro, 252
Brevidiurna, 578, 579, 580, 584
Brevilongidiurna, 578, 579
Bromus inermis, 189
Bulbos, 639

C

C 3 (fijación de CO₂), 655
C 4 (fijación de CO₂), 655
Calcio, 9, 249, 270, 271
Calosa, 26, 27, 198, 199
Calvin (fijación de CO₂), 655
Callo, 455
Callosa, 474
Canopeo, 423, 660, 664
Carotenoides, 226
Carpelo, 634
Caspari, bandas de, 338, 340
Catabolismo, 6, 7, 9
Catalizadores, 41
Cebada, 190
Celobiosa, 196
Célula, 1, 2, 4, 17
 crecimiento, 24
 generativa, 633
 media, 634
 procarriótica, 38
 vegetal, 394
 cicloplastos, 395
 núcleo, 395
 orgánulos, 395
 vacuola, 394, 395, 400

- Celulosa, 199
 Centr6mero, 33
 Ceras, 26, 221
 Cerrados (de Brasil), 653
 Cestosa, 188
 sintetasa, 188, 189
 Cibern6tica, 3, 10
 CIC, 257
 Ciclo, 14
 de Calvin, 34, 66, 67, 92, 194
 de C 4, 34
 de Hatch y Slack, 34, 68
 de Krebs, 92, 93, 94, 95, 96, 98
 de las faner6gamas, 564
 de las pentosas, 103, 104
 Cielosis, 268
 Cigota, 629, 630, 632
 Cine, 252
 Cinetina, 237
 Circulaci6n, elementos, 280
 Citocinesis, 399
 Citosina, 119, 120, 121, 124, 130
 metil, 119, 124
 Citocinas, 229, 232, 237, 444, 446, 451, 474, 478
 bioqu6mica, 511
 biosintesis, 513
 estructura, 513
 evaluaci6n, 513
 extracci6n, 513
 fen6menos fisiol6gicos, 514
 modo de acci6n, 516
 traslado, 513
 Citoplasma, 9, 118, 130
 Clamidosporas, 638
 Clones, envejecimiento, 607, 636, 637
 Cloro, 253
 Clorobiumclorofila, 82
 Clorofila, 8, 12, 34, 35, 240, 241, 701
 sintesis, 437
 Cloroflida, 437
 Cloroplastos, 9, 34, 130, 131, 438
 Clostridium, 14
 CMP, 140
 CO₂, 9, 10, 11, 12, 13
 Cobee, 252
 Cociente respiratorio, 101
 C6digo, diccionario, 155
 gen6tico, 117, 153
 Cod6n, 153
 Codones, 124
 Coeficiente, de conductibilidad hidr6ulica, 332
 de marchitamiento permanente, 355
 de permeabilidad, 333
 de reflexi6n de la membrana, 334
 de sedimentaci6n, 131
 estequiometrico, 136
 transpiratorio, 366
 Coenzimas, 47
 Cole6ptidos, 457
 Compartimentalizaci6n, 28, 253
 Compartimiento, 1
 Complejo Beta, 445
 Conductividad al agua, 336
 Constante de Boltzman, 258
 Constante de los gases, 6
 Constante de Planck, 657
 Contenido relativo de agua, 358
 Conversi6n, en producci6n, 648
 Cormo, 639
 Correlaci6n, fen6menos de, 454
 Corriente citoplasmica, 387
 Crasas (fijaci6n de CO₂), 655
 Crecimiento, 10, 269, 361, 549
 an6lisis del crecimiento, 403
 6rea foliar especifca, 404
 aspectos cuantitativos, 400
 bases celulares, 399
 cadena peptida, 149
 defini6n, 391
 definido, 394
 diferenciaci6n celular, 393
 y crecimiento animal, 393
 divisi6n celular, 391, 399
 indefinido, 394
 6ndice de 6rea foliar, 405
 inhibici6n, 425
 relaci6n absoluta y relativa, 402
 relaci6n de 6rea foliar, 404
 tasa de unidad foliar, 405
 y producci6n, 647
 Cristales, 18
 Cromoplastos, 35
 Cromoproteinas, 427
 Cromosomas, 18, 32, 133, 629
 Crossing-over, 137
 CTP, 120, 140
 Cuaje, 468
 Curva sigmoidea, 400
 Curvas de Blackman, 77
 Cuscuta, 12
 Cutinas, 26
 Cycocel, 368, 529

CH
 Chalaza, 634

D
 D6ficit de saturaci6n h6drica, 358
 Degradaci6n de los az6cares, 92
 Densidad boyante, 128
 Desarrollo, 10
 6rboles, 597
 defini6n, 391, 393
 regulaci6n, 595, 596
 reproductivo, 561, 591
 Desasimilaci6n, 3
 Desaturasa, 210
 Desnaturalizaci6n (ADN), 127
 Desoxinucle6sido, 135
 Desoxinucle6sido trifosfatos, 136
 Desoxirribonucleico (6cido), 9, 117, 124

Desoxirribonucleósido, 119
Desoxirribosa, 119
Dictiosoma, 31
Diferenciación, 565
Difusión, 387
 del CO₂, 71
Diplospora, 636
Diterpenos, 225
Dogma, central, 117, 118, 138
Donnan, sistema de, 256
Dominancia apical, 462
Dormición, 476, 622
 balance hormonal, 621, 626
 definición, 619
 primaria, 619
 secundaria, 619
D-ribosa, 130

E

Ecosistema, 6, 644
Ectodesmos, 30
Ectotróficas, 14
Ecuación de Michaelis y Menten, 44
EDHA, 273
EDTA, 273
Efecto Pasteur, 103
Efecto Warburg, 81
Eficiencia, 657
 del uso del agua, 366
 transpiratoria, 366
Einstein, 657
E.L.A., 256
Elaioplastidos, 36
Electrones, 7
Electroósmosis, 335, 386
Electroquímica, actividad, 265
Elementos, absorción no iónica, 272
 nutrición, 245
Embrión, 632-633
Encañamiento, 666
Energético, 2, 4, 6, 9
Endonucleasas, 137
Endosperma, 631, 633
Endotróficas, 14
Energía, 3, 9
 de activación, 42
 libre, 5, 6, 7, 8, 259
 luminosa, 9, 10
Enquilema, 30
Enraizamiento, 535
Entalpía, 5, 6, 7, 9
Entallamiento, 457
Entropía, 5, 6, 7, 9
Envejecimiento, 601, 602, 603
Enzima D, 193
Enzimas, 1, 2, 10, 15, 41, 117-118, 136-137
 ramificantes, 193
 regulación, 52
 reguladoras, 53
 T, 193
Escidiosporas, 638

Escherichia coli, 118, 137
Esferosomas, 37
Espacio, libre aparente, 255
Espermatofitas, 633
Espiga, 377
Espinaca, 193
E esporangio, 631
E esporangiosporas, 638
E esporas, 638
E esporofilos, 631
E esporofitos, 629
E esporogonio, 631
E esporos, 629
E esporopoleminas, 27
E esporulación, 637
E sruqueje, 640
E staca, 640
E estado, hídrico, 357
 vegetativo, 565
E estaquiosa, 389
E stenospermia, 464
E estequiométrico, coeficiente, 136
E esteroides, 225
E estímulo, fotoperiódico, 581
E estolón, 639
E estomas, 9, 359
E estroma, 34
E estructura Kranz, 70
 secundaria (ácidos nucleicos), 123
E etano, 118
E etileno, 229, 230, 445, 446, 516
 biosíntesis, 517
 crecimiento caulinar, 517
 efectos fisiológicos, 517
 nastismos, 518
 senescencia de frutos, 517
 tropismos, 518
E etioplastidos, 36
E eucariotes, 135, 137, 139
 síntesis de ARN, 142
E exergónico, 2, 4, 6, 9
E expresión fenotípica, 117
 genética, 117, 138, 147, 168

F

Factores adversos, 550
 de producción, 651
 ecológicos de producción primaria, 660
Fases de síntesis S, 133, 135
Fecundación, 464
 doble, 634
Fenológico, desarrollo, 598
Fenotípica, expresión, 138
Fermentación, 77, 102
Ferrodoxina, 63, 64, 82, 210
Fick, ley de, 257
Ficobilinas, 241
Fitoalexinas, 450, 453, 532
Fitocromo, 241, 425, 518, 522, 585
Fitoglucógeno, 192, 193
Flaveria bidentis, 668
Flavonoides, 118, 242

- Floema**, 373, 397
 anatomía, 380
- Floración**, 363, 376, 455
- Floral**, expresión, 547, 548
 metabolismo, 590
- Florigen**, 582, 596
- Flujo**, activado, 386
 difusional, 339
 masal, 382
 masal de agua, 339
 osmótico, 339
 por presión, 382
- Fosfato**, 119, 122, 129, 135
- Fosfolípido**, 3'-P-5', 134, 136
- Fosfolípidos**, 203, 211
- Fosforilasa**, 191
- Fósforo**, 248, 270, 271
- Fotoasimilado**, 373
- Fotofosforilación**, 65
- Fotólisis del agua**, 65
- Fotomorfogénesis**, 420, 565
- Fotooxidación**, 10
- Fotoperiodismo**, 577, 584, 666
- Fotoperíodo**, 422
- Fotorreactivación**, 440
- Fotorreceptor**, 424
- Fotorrespiración**, 10, 112, 656
 bioquímica de la, 112
 influencia de la luz, 115
 de la temperatura, 115
 del CO₂, 115
 del O₂, 115
 métodos para medirla, 113
- Fotosíntesis**, 1, 2, 4, 6, 10, 11, 13, 57, 61, 361, 653
 contenido de la clorofila, 81
 efecto de la temperatura, 80
 eficiencia energética, 87
 en bacterias, 82
 en plantas crasas, 70
 intensidad, 69
 métodos para medir intensidad, 83
 neta, 654
 real, 654
 rendimiento cuántico, 86
 y desarrollo, 665
- Fotosistema I y II**, 63
- Fototropismo**, 480
- Fragnoplastos**, 22
- Fructificación**, 540
- Fructosanos**, 187
- Fructosil transferasas**, 188
- Frutos**, 376
 maduración, 550, 610
- Fucosa**, 198
- Funciones**, elementos minerales, 347
- G**
- Galactolípido**, 211
- Galactoligucananos**, 198
- Galactosa**, 197, 389
- Galacturonanos**, 199
- Gametangio**, 630
- Gametofase**, 629
- Gametofito**, 633
- Gametos**, 629
- Gemación**, 637
- Gemíferas**, hojas, 640
 raíces, 639
- Gene**, 139
- Genética**, clave, 153-154
 expresión, 138
- Genoma**, 117, 131
 cloroplasto, 130
- Geotropismo**, 482
- Germinalción**, 10, 613, 628
 ácidos nucleicos, 617
 carga de energía, 618
 citocininas, 615, 622, 625
 cociente respiratorio, 617, 618
 composición de la fase gaseosa, 624
 definición botánica, 614
 tecnológica, 614
 efecto de la luz, 619, 621, 626
 efecto de la tensión de CO₂, 625
 efecto de la tensión de O₂, 618, 619, 624-625, 627
 efecto de la temperatura, 616, 618, 619, 627
 efectos del estado hídrico, 623, 626, 627
 del fotoperíodo sobre la dureza de los tegumentos, 624
 de los tegumentos seminales, 623, 624
 enzimas, 615
 factores químicos endógenos, 625
 factores químicos exógenos, 625
 etileno, 625
 iones orgánicos, 625
 fitocromo, 617
 fósforo, cambios en el contenido, 618
 fotoblastismo, 621, 626
 fotoperiodismo, 621
 giberelinas, 615, 622, 625, 626
 hormonas, 619
 imbibición, 615, 616
 inhibición de la, 425
 inhibidores, 621, 623, 624, 625
 metabolismo, 615, 619
 periodicidad, 626
 posmaduración, 620
 prueba del tetrazolio, 627
 respiración, 617, 618
 sistema de alta energía, 621
 viabilidad, 627-628
- Giberelinas**, 229, 232, 234, 235, 446, 477, 478
 bioquímica, 498
 biosíntesis, 499
 especificidad, 502
 estructura, 499
 evaluación, 500
 extracción, 500
 funciones, 502, 507
 modo de acción, 509
 partenocarpia, 504
 traslado, 501

tuberización, 505
Gimnospermas, 633
Gimnosporangium juniperibirgínicas, 12
Glicerol fosfato, 219
Glicólisis, 91, 93, 94, 97
Glicoxisomas, 38
Glucólisis de Embden-Mayerhof, 97
Glucomananos, 198, 199
Glucosidos, 389
GMP, 140
Gonidio, 13, 638
Gráfico de Lineweaver-Burk, 46
Grana, 34
Granos de aleurona, 33
Gránulos de almidón, 190
Griffith, 122
Grupos prostéticos, 48
GTP, 120, 140
Guanina, 119, 120, 121, 124, 126, 130

H

Hábitat, 13, 14
Haploide, 629, 631
Haustorios, 12
Hélice, 130
Hemicelulosa, 24, 197, 198
Hemiparásitos, 12
Herbicidas, 551
Heterogamia, 631
Heterosporia, 632
Hialoplasma, 18, 27
Hibridación, 127
Hidatodos, 9
Hidratos de carbono, 9, 181
Hidrófitas, 369
Hidrógeno, uniones, 127
Hidrolasa, 188
Hierro, 250
Hiperplasia, 475
Hipertrofia, 475
Hipocótilo, 421
Hipótesis de la cohesión, 344
Histonas, 122, 129, 135
Hoagland, 260, 265
H₂O, 6, 8
Hoja bandera, 376
Homología, 127
Hongos, 12, 13
Hormonas, 9, 10, 229, 441, 442
 regulación, 239
 vegetales, 340
Horquilla, 135-136
Hortícolas, plantas, 544

I

Imbibición, 615, 616
Índice foliar, 662
 hídrico, 652
Indiferentes, fotoperiodismo, 578, 579

Individuo, 629
Indol, 230
Indol acetaldehído, 230
Inducción enzimática, 55
Información lineal, 123
Inhibidor Beta, 525
Inhibidores, 9, 445, 447, 451, 476, 518
 clasificación, 518
 competitivos, 47, 262
 de enzimas, 47
 fenólicos, 520
 no competitivos, 47
 propiedades, 519
 síntesis de ARN, 143
Iniciales, células, 640
Injertos, 539, 640-641
Insectívoras, 14
Intermediario, organismo, 12
Intermedio, fotoperiodismo, 578-579
Intercambio catiónico, 257
Inulina, 188
"In vitro", cultivos, 455
Iones, absorción, 266
 absorción metabólica, 259
 hidrógeno, 67
Isogamia, 630
Isopentenil-adenina, 162
Isoprenoides, 222, 232, 234, 236
Isospora, 631
Isótopo, 135

J

Jacob, 118
Jugo floemático, 387
Juvenil, período, 568

L

Laminilla media, 22, 195
Latente, vida, 14
Lecitina, 211, 264
Lectura, de la información, 124
Leche de coco, 456
Levans, 189
Ley, de Bunsen-Roscoe, 424, 435
 de Fick, 72, 257
 de Stefan y Jeffreys, 71
Liga, muérdago, 12
Ligasas, 137
Lignificación, 201
Lignina, 26, 196, 198, 199
Liotrópica, 257
Lípidos, 9, 203
 degradación, 221
 distribución, 216
 función, 216
 no polares, 216
 polares, 216
Lipoproteínas, 203
Lipoxidación, 215

Líquenes, 13
Lisocomas, 18, 37
L-Histina^{-H}C, incorporación, 151
Lomasomas, 18, 37
Longibrevísculas, 578-579
Longitudinas, 578, 579, 580, 584
Longitud de ondas, 657
Lundegrenia, 260
Luz, 10, 268
absorción por las plantas, 75
otros efectos fisiológicos, 439
reflexión por las plantas, 76
transmisión por las plantas, 77

M

Macronutrientes, 247
Macroplasmodesmos, 30
Macrospora, 632
Macrosporangio, 634
Magnesio, 123, 250
Malonil-enzima, 207
Maltopentosa, 193
Maltosa, 191
Maltotetraosa, 191
Maltotriosa, 191, 193
Manganeso, 251
Marchitamiento permanente, 355
temporario, 355
Maíz, 190, 192
Meiosis, 137
Membrana, 20, 28, 135
unidad de, 28
Mensajero, ARN, 130
Meristemas, cambium vascular, 394, 397
características citológicas, 394, 395
centro quiescente, 396
determinado o indefinido, 398
división anticlinal, 395
división periclinal, 395
dominancia apical, 395
embriones, 395
felógeno o corcho, 394, 395, 397
fundamental, 396
intercalar, 398
marginal, 395
procámbium, 396
protoderma, 396
protomeristemas, 396
secundarios, 397
tipos, 395
apicales, 396, 398, 399
laterales, 394, 395, 396
Merosporas, 633
Mesofitas, 396
Metabolismo, 1, 2, 4
energético, 57
floral, 590
Metilación, teoría de la, 462
Metil, citosina, 125
Metil-citosina (5), 130
Metilo, 129

Metionina, 230
Método crioscópico, 330
de Chardakov, 332
Micorrizas, 14
Microcuerpos, 18, 38
Microfibrillas, 196
Micronutrientes, 250
Micropila, 633
Microplasmodesmos, 30
Miorrespirómetro de Warburg, 84, 85
Microspora, 632, 633
Microsporofilo, 633
Microtúbulos, 18, 31
Mimosa púdica, 485
Minerales, funciones, 247
Mitocondria, 4, 9, 18, 36, 131
Molibdeno, 253
Monoterpenos, 225
Morfactinas, 452, 453, 531
Morfogénesis, 1, 2, 407, 565
control intercelular, 407
control intracelular o genético, 407
diferenciación celular, 409
diferenciación y crecimiento del vástago y la raíces, 412
heterofilia, 415
histogénesis, 411
organogénesis, 412
regeneración, 418
xeromorfismo, 415
Movimiento, 455, 479
activo del agua, 335
nictinásticos, 434
Mucflagos, 26
Muérdago, liga, 12
Multiplicación, 10, 629
celular, 455
Münch, mecanismo de, 383
Mutaciones, 137
puntuales, 137
agentes, 138
Mutagénicos, agentes, 137
Mutualista, 12

N

N₂, 266, 292, 293
fijación, 292, 295
NAD, 47, 48, 97
NADH, 208
NADP, 47, 48, 64, 65
NADPH, 9, 208, 655
Nastismos, 484
Necrotrofos, 12
Neurospora crassa, 118
Nitratación, 289
Nitrato, 286
asimilación, 290
reducción, 289, 291, 292
Nitratorreductasa, 290
Nitrificación, 286
Nitritación, 289
Nitrogenada, nutrición, 306

Nitrogenasa, 294
Nitrógeno, 9, 14, 247, 271, 285, 286, 389
 agronomía, 311, 312, 313, 314, 315, 316
 ciclo, 287
 dinámica, 286
 fijación, 292
 metabolismo, 285
 mineralización, 288
 reducción, 289
 transformaciones, 288

Nitrosomonas, 289
Nodulación, 476
Nódulos, 475
Nostoc, 13
NTA, 273
Nucela, 633
Núcleo, 4, 5, 18, 31, 130, 136
Núcleohistona, 129
Nucleico, 130
Nucleolo, 18, 130
Nucleoproteína, 131
Nucleósido, 120
Nucleótidos, 120, 130, 135, 136, 137
Nucleótido, azúcares, 51
Número de Avogadro, 657
Nutaciones, 485
Nutrición, foliar, 274
 mineral, 245, 281
Nutrientes, distribución, 279
 transporte, corteza-xilema, 276

O

Ondas, longitud, 657
Oogonio, 631
Operones, 140
Organismo, 117
Organizador nucleolar, 130
Orgánulos, 18, 31
Osmómetro, 324, 328
Osmosis, 324
Oocélula (huevo), 631, 633
Overton, teoría de, 258
Ovulo, 633
Oxidación biológica, 59
Oxígeno, 9, 10, 11, 266

P

Panosa, 193
Parásito, 12
 facultativo, 12
Pared, 18, 21
 celular, 195
 primaria, 18, 23, 195
 secundaria, 25, 195
 terciaria, 27
Parénquima esponjoso, 398
Partenocarpia, 464
Partenogénesis, 636
Pectinas, 24

Pentosas, 119, 122
Peltier, efecto de, 331
Péptida, 166
Peptídica, 139, 163
Peptidos, 298
Peridermis, 397
Períodos críticos, 364
 vegetativos, 566
Permeabilidad de membrana, 258
Pfr, 585
pH, 6
Phaseolus aureus, 199
Phicum pratense, 189
Picnidiospora, 638
Pigmentos, biosíntesis, 339
Pilorina, 396
Pirenoidea, 35
Pirimidina, 118, 119, 121, 124, 130
Pirofosfato inorgánico, 136
Piogiotropo, 396
Planck, constante de, 657
Plantas suculentas, 26
Plasmalemma, 18, 20, 28
Plasmodesmos, 19, 22, 29
Plasmólisis, 328
 incipiente, 331
Plasticidad, 655
Plástidos, 18, 34
Polares, 634
Polaridad, 408, 467
Polidesoxirribosa, fosfato, 122
Poliembrionía, 636
 adventicia, 420
Polimerasa, 136, 140
 ADN, 136
 ARN, 140
Polinucleótido, 123, 127
Polipeptido, 118
Polirribonucleósido, 140
Polirribonucleótido, 130, 140
Polisomas, 132
Porcentaje de marchitamiento permanente, 356
Porfirinas, 240, 241
Porómetro, 360
Potasio, 249, 262, 266, 270, 271
Potencial agua, 357
 concepto, 322
 del aire, 367
 medición, 330
Potencial, de presión, 329
 gravitatorio, 329
 mátrico, 329, 336
 osmótico, 324
 medición, 320
 químico, 266, 322, 326
 redox, 59
PR, 585
Presión, de turgencia, 328
 osmótica, 324
Primordios, 640
 florales, 396
 foliares, 398, 422
Procesos no fotosintéticos en producción, 667

Procutina, 27
 Producción, primaria, 647, 668
 primaria bruta, 648
 primaria neta, 648
 Productor, primario, 648
 Progamatangio, 630
 Propasul, 637, 638
 Prosopanche, 12
 Protalo, 631, 632, 633
 Proteínas, 1, 9, 117, 118, 130, 138, 298, 299
 básicas, 123
 metabolismo, 147
 síntesis, 148, 152, 162-164, 268
 Proteinoplastidos, 36
 Proteolítica, enzima, 15
 Protoclorofílida, 437
 Protonema, 631
 Protopectina, 24
 Protoplasto, 18
 Punto de compensación, 11, 375
 de CO₂, 112, 656
 de luz, 79, 655-662
 Punto de marchitamiento, 355
 Púricas, 119
 Purina, 118, 121, 124, 130

Q

Quantum, 657
 Q 10, 258, 263
 Quelación, teoría de la, 461
 Quelato, 272
 Quasmas, 137
 Quimiosíntesis, 88
 eficiencia energética, 90
 Quimiotrofos, 8, 11
 Quimiotropismos, 484
 Quinasas, 181

R

Radiación, neta, 645
 solar, 645
 Radiactivo, isótopo, 135
 Rafinosa, 389
 Rafflesia, 12
 Raleo, flores y frutos, 546
 Reacción de alta energía, 435
 Reacción de Hill, 66
 Recambio de ARN, 146
 Recambio metabólico, 133
 Recombinación, 137
 Reconocimiento, 123
 Regulación genética, 169-179
 Regaladores, 10, 118, 441
 aplicaciones, 535
 Relación luz-CO₂-morfología, 663
 Relaciones hídricas, 319
 Renaturalización, 127
 Rendimiento, cuántico, 657
 energético, 657

Replicación, 117, 123
 ADN, 133-136
 ARN, 146
 unitaria, 139
 Replicón, 135
 Represión, 65
 Reproducción, 10, 455, 629
 anormal, 635
 asexual, 629, 637
 Reproductivo, estado, 565
 parámetro, 571
 Requerimiento, cuántico, 657
 hídrico, 366
 Reservorio (pool), 254
 Resistencia, a la sequía, 366
 al flujo de agua, 336, 348
 al flujo de CO₂, 72
 cuticular, 349
 de la raíz, 352
 del aire, 351
 del mesófilo, 349
 estomática, 349
 Resonancia, 61, 76
 Respiración, 1, 2, 4, 9, 362
 aerobia, 57, 91
 anaerobia, 111
 eficiencia, 100
 influencia de la edad, 108
 de la luz, 109
 de la temperatura, 108
 del CO₂, 110
 del O₂, 110
 inhibidores, 100
 magnitud, 107
 Respirómetro de Thoday, 106
 Retardantes, 445, 452, 527
 clasificación, 527
 cuajado de frutos, 529
 efectos fisiológicos, 528
 tuberización, 529
 Retículo endoplásmico, 18, 30
 liso, 30
 rugoso, 30
 Retroactivación, 53
 Retroinhibición, 53
 Rhizobium, 14
 Ribonucleico, 117, 130
 Ribonucleoproteína, 139
 Ribonucleósido, 119
 Ribosa, 119, 121
 Ribosa D, 130
 Ribosomas, 18, 27, 131
 de eucariotes, 133
 Rizogénesis, 441, 494
 Rizomas, 639
 Row, 122
 Rusticación, 367

S

Sacarosa, 187, 188, 387
 síntesis, 188, 189

Saco embrionario, 631
Saprófito, 12, 14
Saredios, 638
Secuencia, antiparalela, 124
 complementaria, 124
Selajneña, 634
Semilla albuminada, 613
 exalbuminada, 613
Senescencia, 402, 606
 foliar, 514
Sensibilidad, 479
 fenómenos de, 455
Sesquiterpenos, 225
Seudogamia, 636
Seudocrustificación, 368
Sexual, reproducción, 10, 629
Sifonogénica, 635
Simbiosis, 12, 14
 mutualista, 12
Simplasma, 339
Sinérgidas, 634
Singamia, 633
Sisiparidad, 637
Sistema, de la alta energía, 435
 de Donnan, 266
 productivos, 650
Sitios alostéricos, 52
Suberina, 26
Suculentas, plantas, 26
Sulfopéptidos, 211
Sustancias adcrustantes, 18, 26
Sustancias ergásticas, 18, 38
 incrustantes, 18, 26
 pécticas, 24, 197
Svedberg, unidades de, 131

T

Tabaco, 193
Tamaño del ADN molecular, 128
Tamiz molecular, 258
Tatum, 118
Taxismos, 479
Taxones, 2, 13
Teaspirona, 524
Tecas, 635
Técnica, de la infiltración, 359
 de las impresiones, 359
Temperaturas, 1, 10
 cardinales, 619
Teoría, de la metilación, 462
 de la quelación, 461
 de Overton, 258
Termodinámica, 3, 6, 7
Termomorfogénesis, 565, 647
Terpenoides, 223
 catabolismo, 227
 regulación, 227
Tetraterpenos, 226
Tigmotropismo, 484
Tilacoídes, 34
Tilosis, 474

Timina, 119, 120, 124, 125
 marcada, 135
Tm, 127
Tonoplastos, 33
Traducción, 117, 148
 ARN, 138
 reglas, 153, 179
Transcripción, 117, 138, 139, 146, 169
 ADN, 138, 139
 asimétrica, 139
 unidades, 139
Transferasa, 188
Transglucosidasa, 192
Transmitancia, 645
Transpiración, 344, 363, 365
 magnitud, 354
Transpiración, métodos de medición, 352
Transportadores, naturaleza, 264
Transporte, activo, 265
 pasivo, 265
Traslado, acrópeto, 374
 basipeto, 375
 de sustancias orgánicas, 373
 mecanismos, 382
 métodos de medición, 378
Traube M., 258
Trigo, 1, 573
Tripletas, 124
Triptófano, 229
Triterpenos, 225
Tropaeolum majus, 668
Tropismos, 480
Tubo criboso, 375
Tumores, 475
 inducidos por insectos, 476

U

UMP, 140
Unidades Svedberg, 131
Uniones hidrógeno, 123
Uracilo, 119, 120
Uromicis aritriphylli, 12
UTP, 120, 140

V

Vacuola, 4, 18, 33
Vegetativo, estado, 565
 período, 566
Verbasco, 389
Vernalización, 572, 666
Vesícula, 18
Vesículas de Golgi, 23
Vid, 541
Vida, 1
 latente, 12, 14
Virus, 2, 8, 130, 132
 oncogénicos, 137
Vitalismo, 3
Vitaminas, 443

Viviparidad, 637

W

Wuarburg, microrrespirómetro de, 84, 85

X

Xenofito, 633

Xilema, 397

Z

Zeatina, 237

Zoosporas, 638

Esta edición de 2500 ejemplares
se terminó de imprimir en los Talleres
EDIGRAF, Delgado 834, Buenos Aires,
en el mes de octubre de 1980.

- PROCESOS FUNDAMENTALES EN LA VIDA

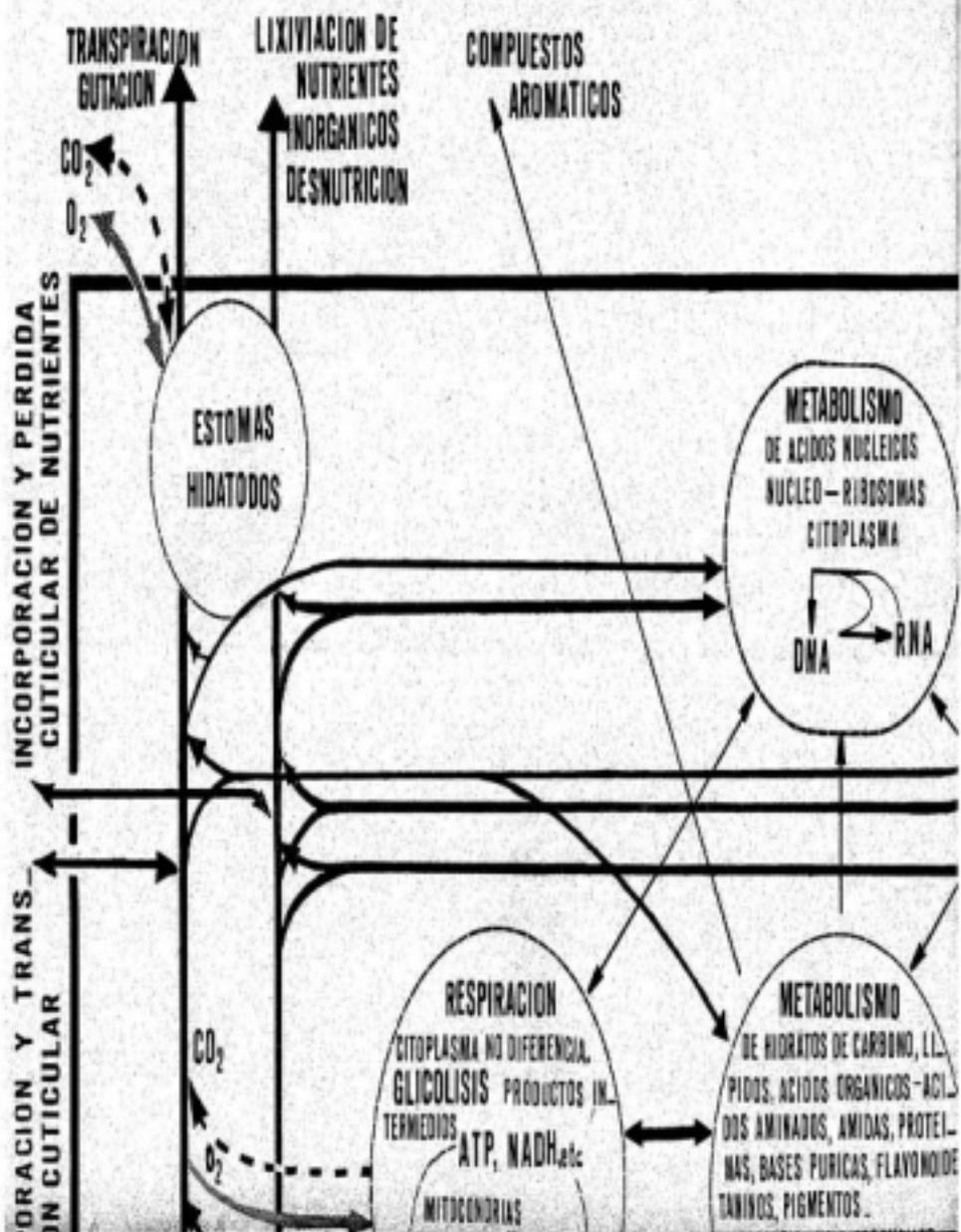
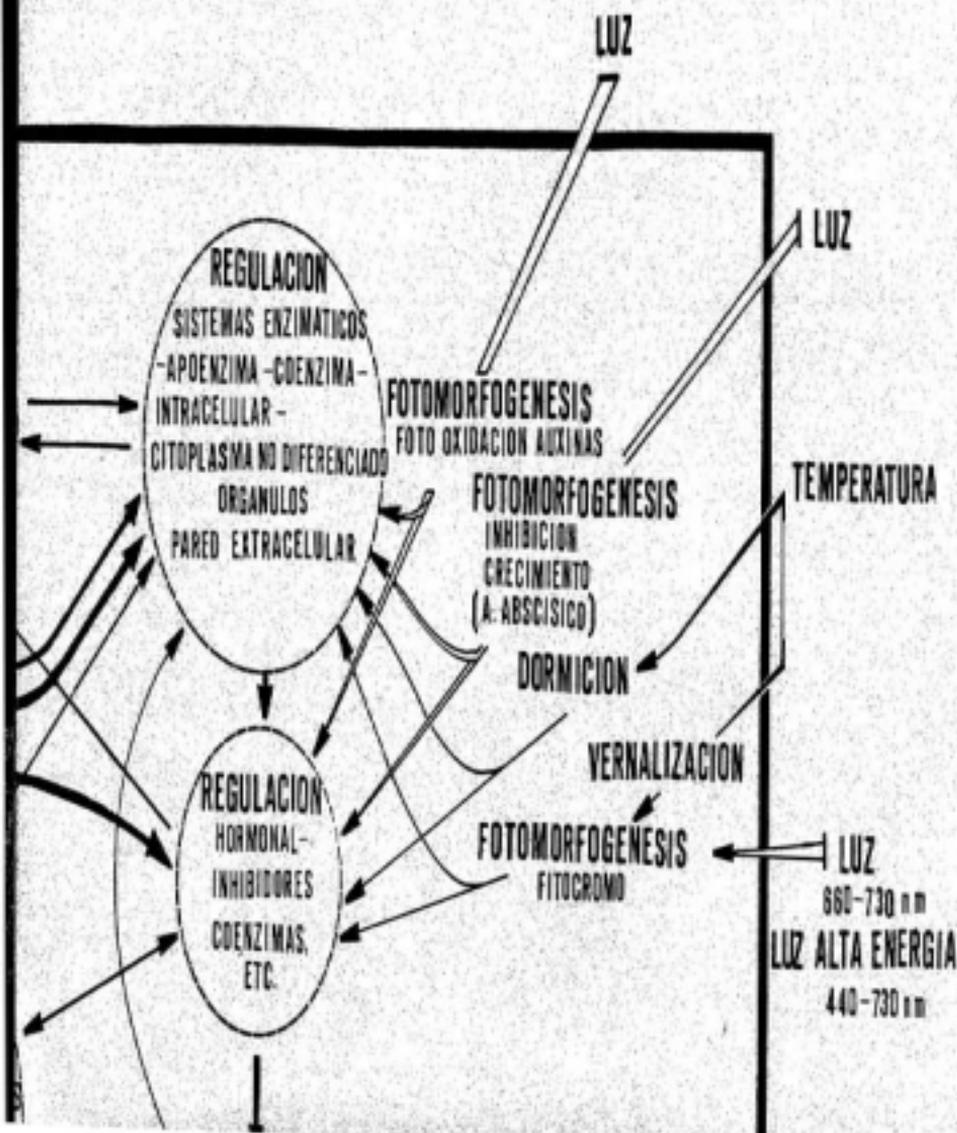


Figura 2 de Fisiología vegetal. Ver página 9 del texto.



DE UN VEGETAL -

Figura 2 de Fisiología vegetal. Ver página 9 del texto.

