

EFFECTO DE LA FUENTE DE NITROGENO EN LA DISTRIBUCION DE ASIMILADOS Y
COMPOSICION DE SAVIA EN AJIPA
(*Pachyrhizus ahipa* (Wedd.) Parodi).

E.O. Leidi, R. Sarmiento, C. Mazuelos y D.N. Rodríguez-Navarro*

Dpto. Biología Vegetal, Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla, CSIC, Apto. 1052
EP, 41080-Sevilla

*CIFA-Las Torres y Tomejil, Apto. Oficial. 41200-Alcalá del Río (Sevilla).

RESUMEN

La ajipa (*Pachyrhizus ahipa* (Wedd.) Parodi), leguminosa de origen andino, se caracteriza por la acumulación de hidratos de carbono de interés industrial en sus raíces tuberosas y la presencia de rotenona en hojas y semillas. En este trabajo hemos estudiado el efecto de la nutrición nitrogenada (fijación simbiótica de N_2 ó N mineral) sobre el crecimiento, partición de asimilados y composición de savia de xilema. Los tratamientos consistieron en: (a) plantas inoculadas con una cepa específica de *Rhizobium* spp. (T- N_2) y (b) plantas no inoculadas (T- NO_3). Las plantas se cultivaron en perlita/vermiculita y se regaron con solución de Hewitt sin N (T- N_2) o 4 mM NO_3K (T- NO_3).

Se observaron importantes diferencias debidas a la fuente de N: las plantas T- N_2 presentaron una mayor precocidad en la floración y fructificación y un menor desarrollo de la raíz tuberosa en comparación con las plantas T- NO_3 . La acumulación de materia seca en hojas y tallos de las plantas también fue superior en las plantas T- NO_3 . La concentración de N en hojas, tallos y raíces fue superior en la plantas T- N_2 .

En estadios tempranos de crecimiento, los componentes principales de savia de xilema, en ambos tratamientos, eran aminoácidos y amidas. En floración, las plantas T- N_2 presentaban altas concentraciones de ureidos (alantoína+ácido alantoico) y el principal aminoácido transportado era L-canavanina.

Effect of N source on assimilate partitioning and sap composition in ahipa (*Pachyrhizus ahipa* (Wedd.) Parodi)

SUMMARY

Ahipa (*Pachyrhizus ahipa* (Wedd.) Parodi) is a legume root crop of Andean origin which accumulates carbohydrates of industrial interest in its tuberous roots and rotenone in leaves and seeds. The aim of this work was the study of the effect of N source (nitrate vs symbiotic N_2 fixation) on growth, assimilate partitioning and xylem sap composition. The treatments consisted in: (a) plants inoculated with an specific *Rhizobium* strain irrigated with a N free nutrient solution (T- N_2); and (b) non inoculated plants irrigated with a nutrient solution containing 4 mM NO_3K (T- NO_3).

Main differences in growth and assimilate allocation were observed between plants grown in different treatments: N_2 -fixing plants showed an increased earliness and reduced tuberous root growth in comparison with NO_3 -fed plants. Dry matter allocation into leaves and shoots was higher in NO_3 -fed plants than in N_2 -fixing plants. Nitrogen concentration in leaves, stems and roots was higher in N_2 -fixing plants than in NO_3 -fed plants.

At early growth stages, main xylem sap nitrogenous solutes were amino acids and amides. At flowering, N_2 -fixing plants showed high concentration of ureides (allantoin+allantoic acid) and the amino acid L-canavanine.

Introducción.

Entre las leguminosas tropicales con raíces tuberosas comestibles, como *Apios*, *Pachyrhizus*, *Pediomelum* y *Vigna*, la jícama (yam bean), que corresponde a *Pachyrhizus erosus* (L.) Urban, es la única especie cultivada, con difusión en América Central (México, Guatemala, El Salvador, Honduras) y en Asia (China, Tailandia, Sumatra, etc) (Lynd y Purcino, 1987; Sørensen, 1996). La ajipa (*Pachyrhizus ahipa* (Wedd.) Parodi) fue cultivada en el período precolombino por los Incas, y su importancia en la actualidad es muy reducida, permaneciendo en cultivos aislados en valles andinos entre 1.500 y 2.500 m de altura sobre el nivel del mar en Bolivia, Perú y N de Argentina (Sørensen, 1988).

Por la alta capacidad de producción, su tolerancia al ataque de insectos por el contenido en rotenona de las hojas y los bajos requerimientos nutritivos, la ajipa puede considerarse un cultivo sostenible. La producción de raíces tuberosas en *P. ahipa* puede variar de forma considerable, entre 3 y 50 Tm/ha, dependiendo si se realiza la retirada de flores y de la densidad de plantación (Sørensen, 1996). El principal problema del cultivo es la necesidad de realizar la eliminación de flores (reproductive pruning) para obtener producciones económicas de raíces (Kjaer y Sørensen, 1994). Algunas razas locales de *P. ahipa* pueden llegar a producir hasta 800 flores/planta mientras otras sólo llegan a 50 flores/planta (Sørensen, 1996).

Los primeros estudios realizados sobre Fijación Biológica de N₂ (FBN) en el género *Pachyrhizus*, se efectuaron en la jícama (*P. erosus*), que es la especie más cultivada (Lynd y Purcino, 1987; Vaillant et al., 1990). Los trabajos previos sobre FBN realizados en ajipa (*P. ahipa*) sólo han determinado la redistribución del N en plantas creciendo a expensas sólo de FBN (Kjaer, 1992) o la eficiencia de la FBN comparando *P. ahipa* y *P. erosus* en condiciones de campo (Castellanos et al., 1996). Nuestros estudios, encaminados a determinar la eficiencia de la nutrición nitrogenada por fijación simbiótica de N₂ con distintas estirpes de *Rhizobium* frente al N mineral (NO₃) en *Pachyrhizus ahipa*, nos permitió observar importantes diferencias en el crecimiento y desarrollo en la especie como consecuencia de la fuente de N empleada. En este resumen se presentan los resultados preliminares de un trabajo de investigación cuyo objetivo final será dilucidar los factores determinantes de los cambios en la distribución de asimilados por efecto de la fuente de N.

Material y Métodos

Semillas pregerminadas de *Pachyrhizus ahipa* AC521 se transplantaron a botellas de plástico con perlita/vermiculita (50/50) en un conjunto diseñado para mantener un reservorio de solución nutritiva en la parte inferior. Un grupo de semillas pregerminadas se inoculó con *Rhizobium* (*Pachyrhizus* Spec-1, LiphaTech)(tratamiento T-N₂) y se regó con solución nutritiva Long Ashton (Hewitt, 1966) libre de N. Otro grupo de semillas se transplantó sin inoculación y se regó con una solución nutritiva conteniendo 4 mM NO₃ (en forma de Ca(NO₃)₂)(tratamiento T-NO₃). Las plantas se cultivaron en invernadero durante 91 días a lo largo de los meses de Agosto a Noviembre.

Se realizaron cosechas periódicas de plantas de ambos tratamientos para determinar: 1º) acumulación de biomasa en los distintos órganos; 2º) concentración de N en las distintas fracciones; y 3º) niveles de ureidos, aminoácidos y nitrato en savia, para el cálculo de CRU (Concentración Relativa de Ureidos) como medida de la eficiencia de la FBN. El análisis de compuestos nitrogenados se hizo según el método de Vogels y van der Drift (1970) (ureidos), Yemm y Cocking (1955) (aminoácidos) y Cataldo et al. (1975) (nitrato). Para la identificación de aminoácidos en savia se empleó el método de Henrikson y Meredith (1984) que consiste en una derivatización previa con fenilisotiocianato y separación en columna en fase reversa.

A distintas fechas durante el ciclo del cultivo (18, 34, 45, 53 y 91 días), se cosecharon 3 plantas de cada tratamiento, separándose hojas, tallos más peciolas, raíces y frutos (a partir de su aparición) para su secado (48h, 70°C) y posterior pesada. Se realizaron recuentos de flores a partir de los 45 días de cultivo. La savia de xilema se extrajo aplicando una pequeña presión (0,5 bares) en una cámara de

Scholander, recogién dose con pipeta y congelándose inmediatamente a -20°C hasta su análisis.

El análisis estadístico de los datos se realizó empleando un programa de PC (Statistix) según un diseño completamente aleatorizado.

Resultados y Discusión.

Crecimiento y distribución de asimilados.

Como se observa en la Fig. 1a, casi no existieron diferencias entre los tratamientos T- NO_3 y T- N_2 en la acumulación

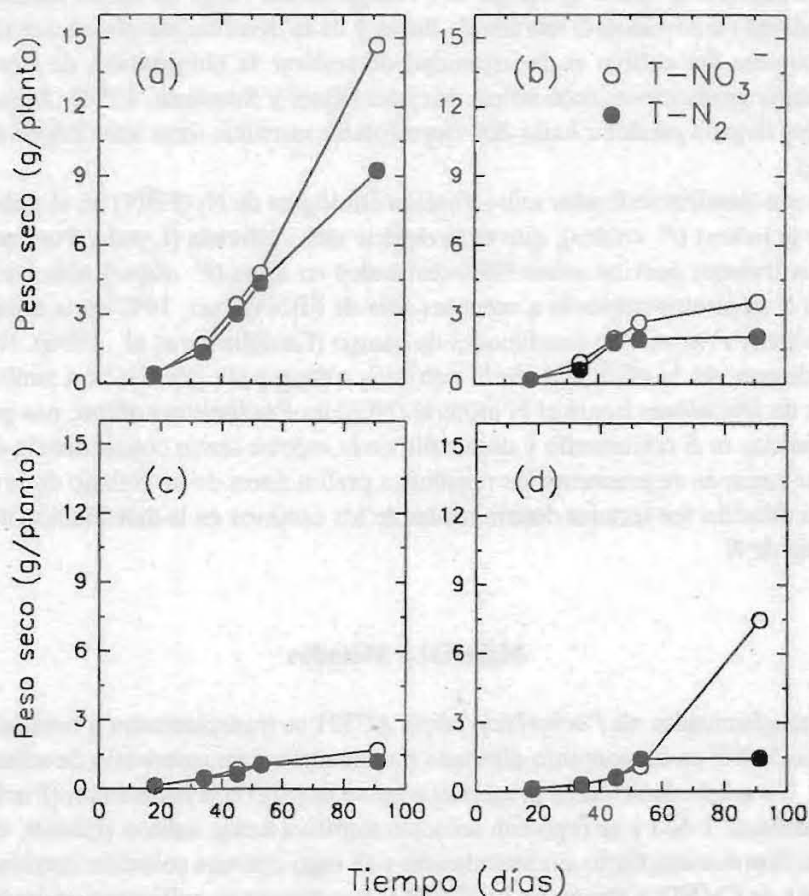


Figura 1. Crecimiento y partición de biomasa en plantas de *Pachyrhizus ahipa* (Wedd.) Parodi cultivadas con distinta fuente de nitrógeno: (a) acumulación de biomasa total por planta; (b) hojas; (c) tallos; y (d) raíces.

de biomasa total (parte aérea y raíces) hasta los 53 días de cultivo. A partir de esa fecha, se registró un importante incremento en el crecimiento de las plantas del tratamiento T- NO_3 en comparación con el tratamiento T- N_2 . En la Fig. 1b, c y d se muestran las diferencias en crecimiento de las distintas partes vegetativas de plantas de *P. ahipa* según fueran cultivadas en un medio con nitrato o a expensas exclusivamente de la fijación simbiótica de N_2 . La mayor acumulación de biomasa aérea, en forma de hojas y estructuras de sostén (tallos y pecíolos) (Fig. 1b y c) en presencia de nitrato en comparación con

FBN, es un efecto común a otras leguminosas (Temprano et al., 1996). Vaillant et al. (1990) detectaron, después de un tratamiento con 20 mM KNO_3 , una mayor proporción de proteínas y almidón marcados (^{14}C) en hojas de *P. erosus* inoculado. La mayor inversión de asimilados en estructuras fotosintéticamente activas de las plantas cultivadas con nitrato (Fig. 1b) determinó una mayor capacidad de producción de carbohidratos que finalmente fueron exportados a las raíces produciéndose el gran aumento de peso registrado (Fig. 1d) en comparación con las plantas cultivadas sin nitrato creciendo a expensas de FBN.

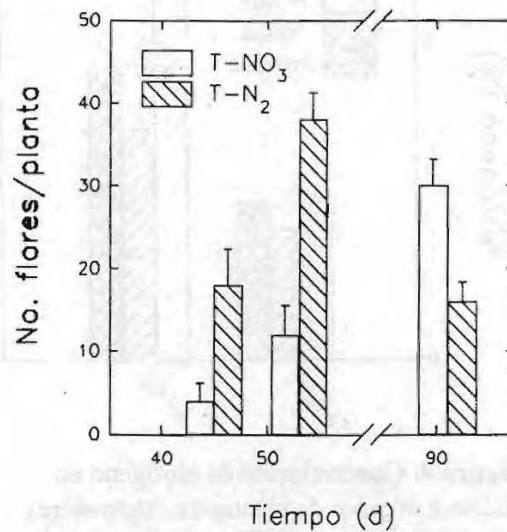


Figura 2. Número de flores producidas por planta de *Pachyrhizus ahipa* (Wedd.) Parodi cultivadas con distinta fuente de nitrógeno.

Otro aspecto de gran importancia que debe destacarse es el aumento de precocidad y número de flores producidas por planta en el tratamiento T- N_2 (Fig. 2). Como consecuencia de esta mayor precocidad en floración, el tratamiento T- N_2 presentó sumideros alternativos (frutos) de mayor fuerza en captación de asimilados (Minchin y Thorpe, 1996; Wardlaw, 1990) que el tratamiento T- NO_3 . Este fenómeno se refleja en una mayor acumulación de asimilados en frutos (como peso de frutos por planta) en las plantas T- N_2 (Fig. 3). Las diferencias en el número de frutos por planta entre tratamientos no fueron significativas (Fig. 3). Así, la floración temprana inducida en las plantas de *P. ahipa* por el tratamiento T- N_2 determinó la creación de sumideros altamente competitivos para el destino de los carbohidratos producidos por la actividad fotosintética (Wardlaw, 1990) reduciendo el transporte a las raíces y determinando su menor crecimiento en comparación con las plantas en T- NO_3 .

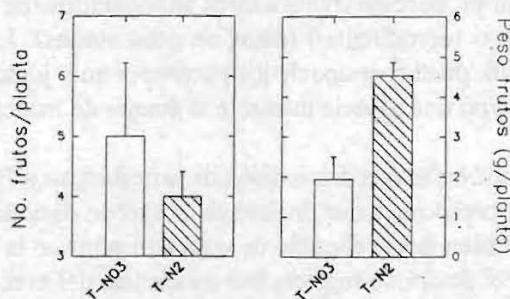


Figura 3. Número y peso de frutos en plantas de *Pachyrhizus ahipa* (Wedd.) Parodi cultivadas con distinta fuente de nitrógeno.

Concentración de N en distintos órganos y composición de savia de xilema.

En la Fig. 4 se presenta las diferencias observadas en la concentración de N en distintas partes (hojas, tallos y raíces) de plantas de *P. ahipa* cultivadas con nitrato o FBN. La menor concentración en órganos vegetativos de las plantas en T-NO₃ podría deberse a un efecto de dilución debido al mayor crecimiento registrado en este tratamiento.

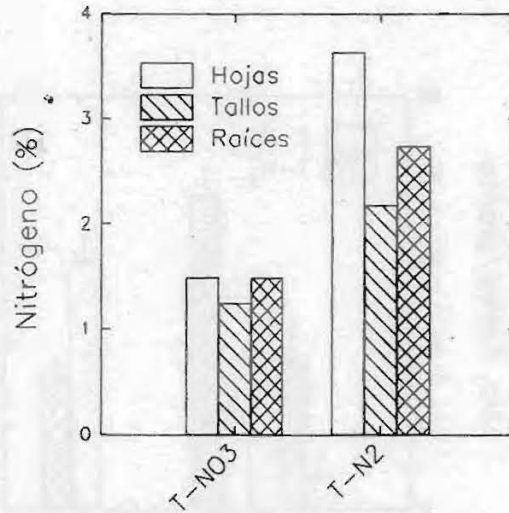


Figura 4. Concentración de nitrógeno en distintos órganos de plantas de *Pachyrhizus ahipa* (Wedd.) Parodi al estado vegetativo cultivadas con distintas fuente de nitrógeno.

Los compuestos nitrogenados presentes en savia de xilema en distintas etapas de crecimiento de las plantas cultivadas con nitrato o FBN (Tabla 1), diferenciaron claramente ambos tratamientos. Los niveles de ureidos, indicativos de una activa fijación de N₂, fueron significativamente diferentes a partir del segundo muestreo (V4, 4a. hoja trifoliolada), coincidentes con el mayor crecimiento de los nódulos y plena actividad fijadora. La concentración de aminoácidos fue elevada en las etapas de crecimiento vegetativo para las plantas cultivadas con ambas fuentes de N, posiblemente debido a la redistribución de N desde los cotiledones a la parte aérea. Los cotiledones hipogeos de *P. ahipa* son de dimensión considerable y entran en senescencia tardíamente. Los niveles relativamente altos de NO₃⁻ observados en la savia de las plantas T-NO₃ pueden deberse a que la especie reduzca el nitrato fundamentalmente en la parte aérea, como es el caso de otras leguminosas (Andrews, 1986; Temprano et al., 1997).

El análisis de aminoácidos y amidas presentes en savia xilemática permitió detectar la presencia de L-canavanina en exudados de ambos tratamientos. Su concentración, sin embargo, fue superior en la savia de la plantas T-N₂, si bien su proporción frente a otros aminoácidos fue variable según el momento de muestreo (estado vegetativo o reproductivo) (datos no presentados). La presencia en savia de L-canavanina, potente antimetabolito, puede ser uno de los caracteres que, junto a la presencia de rotenona (Sørensen, 1996) hacen de *P. ahipa* una especie tolerante al ataque de insectos.

En conclusión, la fuente de N afectó la distribución de asimilados en *P. ahipa* como consecuencia fundamentalmente de cambios de precocidad, que finalmente indujeron distintos destinos a los asimilados según la fuerza del sumidero. Si bien desde el punto de vista agronómico la nutrición por FBN produjo efectos no deseables al promover el desarrollo reproductivo a expensas del crecimiento de la raíz tuberosa, no debe olvidarse que en condiciones de cultivo en campo, la presencia de N mineral en el suelo determinaría una nutrición nitrogenada mixta en las plantas inoculadas. En estas condiciones, los cambios en la distribución de asimilados serían menos evidentes que los observados en este trabajo. Sin embargo,

dada la importancia de las diferencias inducidas por la FBN, uno de los aspectos que reclama nuestra atención para el futuro es el estudio de los posibles factores determinantes del cambio de precocidad (y en consecuencia del índice de cosecha) por la repercusión que su conocimiento puede suponer para otros cultivos de leguminosas.

Tabla 1. Concentración de compuestos nitrogenados en savia de ajipa (*Pachyrhizus ahipa* ac. 521 (Wedd.) Parodi) cultivadas con nitrato o inoculadas con *Rhizobium* spp. en distintos estadios de crecimiento (en $\mu\text{moles/ml}$ savia).

Estadio de crecimiento	Tratamiento	Ureidos (ALN+ALC)	Aminoácidos	NO ₃
V3	T-NO ₃	0,27	12,0	0,90
	T-N ₂	0,30	11,8	0,00
V4	T-NO ₃	0,06	8,3	1,12
	T-N ₂	1,27	5,3	0,00
R6	T-NO ₃	0,00	0,6	1,22
	T-N ₂	2,19	1,5	0,00
R7	T-NO ₃	0,10	1,9	nd
	T-N ₂	1,86	2,22	nd

nd, no determinado.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Prof. Marten Sørensen (Royal Veterinary and Agricultural University, Denmark) la cesión de las semillas e inoculantes empleados en este estudio y a D^a. Asunción de Castro por la asistencia técnica.

BIBLIOGRAFIA

- ANDREWS M (1986) Nitrate and reduced-N concentrations in the xylem sap of *Stellaria media*, *Xanthium strumarium* and six legume species. *Plant Cell Environ.* 9: 605-608.
- CASTELLANOS RJ, ZAPATA F, PEÑA-CABRIALES JJ, JENSEN ES, HEREDIA GE (1996) Symbiotic nitrogen fixation and yield of *Pachyrhizus erosus* (L.) Urban cultivars and *Pachyrhizus ahipa* (Wedd.) Parodi landraces as affected by flower pruning. *Soil Biol. Biochem.* (en prensa)
- CATALDO DA, HAROON M, SCHRADER LE, YOUNGS VL (1975) Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 6: 71-80.
- HALAFIHI M, GRUM M, STOLEN O, SØRENSEN M (1994) Biological nitrogen fixation in *Pachyrhizus* Rich. Ex DC. En: *Proceedings First International Symposium on Tuberous Legumes* (M. Sørensen, ed.) pp. 215-225. DSR Boghandel, Denmark.
- HEINRIKSON RL, MEREDITH SC (1984) Amino acid analysis by reverse-phase high-performance liquid chromatography: Precolumn derivatization with phenylisothiocyanate. *Anal. Biochem.* 136: 65-74.
- HEWITT E.J. 1966. Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition. (2nd rev. ed.) Commonw. Agric. Bur., Farnham Royal, Great Britain.
- KJAER S (1992) Biological nitrogen fixation in *Pachyrhizus ahipa* (Wedd.) Parodi. *Ann. Bot.* 70: 11-17.
- KJAER S, SØRENSEN M (1994) Symbiotic nitrogen fixation in *Pachyrhizus ahipa* (Wedd.) Parodi. En: *Proceedings First International Symposium on Tuberous Legumes* (M. Sørensen, ed.) pp. 227-235. DSR Boghandel, Denmark.
- LYND JQ, PURCINO AAC (1987) Effects of soil fertility on growth, tuber yield, nodulation and nitrogen fixation of yam bean (*Pachyrhizus erosus* (L.) Urban) grown on a Typic Eutruxox. *J. Plant Nutr.* 10: 485-500.
- MINCHIN PEH, THORPE MR (1996) What determines carbon partitioning between competing sinks?

- J. Exp. Bot. 47: 1293-1296.
- SØRENSEN M. (1988) A taxonomic revision of the genus *Pachyrhizus* (Fabaceae-Phaseolae) Nord. J. Bot. 8: 167-192.
- SØRENSEN M. (1996) Yam bean *Pachyrhizus* DC. IPGRI, Rome, Italy.
- TEMPRANO VERA FJ, SANTAMARIA LIZANA C, DAZA ORTEGA A, LEIDI EO, RODRIGUEZ NAVARRO DN (1997) Tolerancia simbiótica a nitrato de distintas leguminosas. En: este volumen.
- VALLANT V, ROBIN C, ZINSOU C (1990) Effects of the inhibition of nodule metabolism by nitrate on the regulation of assimilate partitioning in *Pachyrhizus erosus*. Plant Physiol. Biochem. 28: 131-136.
- VOGELS GD, van der DRIFT C (1970) Differential analyses of glyoxylate derivatives. Anal. Biochem. 33: 143-157.
- YEMM EW, COCKING EC (1955) The determination of amino-acids with ninhydrin. Analyst 80: 209-213.
- WARDLAW IF (1990) The control of carbon partitioning in plants. New Phytol. 116: 341-381.