

Figura 4-Teores peciolares de N, P, K, Ca e Mg, provenientes de vinhas de solos calcários e não calcários e intervalos adequados

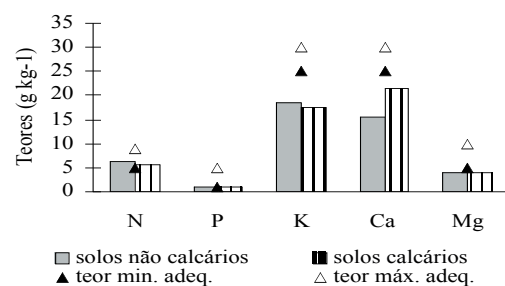
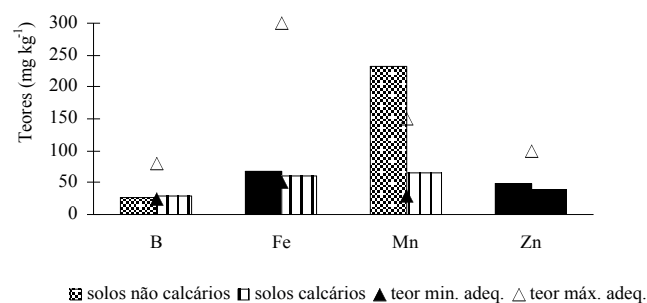


Figura 5-Teores peciolares de B, Fe, Mn, Zn, provenientes de vinhas de solos calcários e não calcários e intervalos adequados



CONCLUSÕES

— O efeito ano, através do clima, representa um factor determinante no estado nutricional da casta Baga, ao pintor, ao influenciar significativamente os teores peciolares de N, K, Ca, Mg, B e Zn. O mesmo não parece ser válido para o elemento P, cujos teores, nestas plantas com “vermelhão” se revelaram constantes e sempre no limite mínimo do intervalo adequado adoptado como de referência, independentemente do ano em análise;

— O solo condiciona o estado nutricional da casta Baga, ao pintor, de forma significativa para os nutrientes N, Ca, B, Mn e Zn, tendo sido os teores de Ca e B mais elevados, e os de N, Mn e Zn mais baixos, nos solos calcários. Não parece influenciar a alimentação em P, a qual se mostrou no limite mínimo do intervalo adequado adoptado como de referência em ambos os tipos de solo (calcários e não calcários).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrade, A. – “Carências e toxicidades da vinha”, DRABL, 2000.
 Champagnol, F. – “Elements de physiologie de la vigne et de viticulture generale”, 1984.
 Champagnol, F. - “Rajeunir le diagnostic foliaire”, P.A. V., 1990.
 Fregoni, M. – “Exigences d’éléments nutritifs en viticulture”, Bulletin de L’O.I.V., 1985.
 Loué A. - “L’analyse foliaire ou pétiolaire et la nutrition”, Vititechnique, 1981.
 Pacheco et al – “Influência do azoto e potássio nos teores foliares de alguns nutrientes de *Vitis vinifera* cv Bical da Região Demarcada da Bairrada”, Actas de Horticultura 18, II Congresso Iberoamericano, Vilamoura, 1997.

CAMBIOS PRODUCIDOS POR EL TRATAMIENTO DE Fe SOBRE LAS CONCENTRACIONES DE ÁCIDOS ORGÁNICOS EN XILEMA DE MELOCOTONEROS AFECTADOS POR CLOROSIS FÉRRICA

Ajmi Larbi, Sofía Andaluz, Fermín Morales, Javier Abadía y Anunciación Abadía

Departamento de Nutrición Vegetal, Estación Experimental de Aula Dei, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Apdo 202, 50080 Zaragoza, España

Introducción

La deficiencia de hierro se considera uno de los mayores estreses abióticos que afectan a los frutales cultivados en suelos calcáreos del área mediterránea. Se conoce desde hace décadas que las concentraciones de ácidos orgánicos aumentan en todas las partes de la planta con la clorosis férrica (ver revisión de Abadía et al., 2001). Este aspecto ha sido muy poco estudiado en árboles frutales, en especial por lo que se refiere a la savia de xilema y apoplasto. Chatti (1997) indicó que la concentración de ácidos orgánicos de la savia de melocotonero cambia ligeramente con el grado de clorosis. López-Millán et al., (2001) indicaron que la concentración total de ácidos orgánicos en apoplasto de peral aumenta con el grado de clorosis. También se encontró un aumento de la concentración de ácidos orgánicos en hojas de manzano y peral cloróticos (Sun et al., 1987; López-Millán et al., 2001).

Entre los métodos empleados para remediar la clorosis figuran las inyecciones de implantes de Fe en el tronco de los árboles. Se ha descrito que este método es efectivo para aliviar la clorosis, con un efecto duradero por lo menos durante dos o tres años (Hurley et al. 1986).

El principal objetivo de este trabajo es investigar los cambios producidos por las inyecciones de implantes de Fe sobre la composición en ácidos orgánicos en xilema de árboles cloróticos.

Materiales y Métodos

Material vegetal y tratamiento

El experimento se llevó a cabo en una plantación de melocotoneros cloróticos (Babygold 7 injertada sobre pie franco) situada en El Temple, Huesca (España).

Los implantes se realizaron en las ramas. Se trató 1 sola rama por árbol (de 21 a 35 cm de perímetro) con objeto de no tener interacciones entre tratamientos. Se realizaron de 3 a 5 implantes de cápsulas por rama. Las cápsulas utilizadas, con 1,4 g de peso total por unidad, contenían un 22% de hierro en peso (Promi-Ferro de Promisol S.A., Lleida, España) y se colocaron a lo largo de una espiral ligeramente ascendente desde la base de la rama. En todos los casos, las ramas no tratadas se han podido utilizar como testigos. Los implantes se realizaron en Febrero de 2000 y 2001. En el año 2000 se trataron 8 ramas de 8 árboles distintos. En el 2001 se trataron 5 ramas de otros 5 árboles distintos a los tratados en el año 2000.

Extracción de xilema con la cámara de presión en frutales

El uso de presión para extraer xilema en especies frutales es un método común que ha sido descrito por varios autores (Azcón-Bieto y Talón, 1993). La cámara de presión permite medir el estado hídrico de los tejidos y también se puede utilizar para extraer xilema. De hecho, aplicando una presión superior a la presión de equilibrio se obtiene un líquido que según Azcón-Bieto y Talón (1993) representa la savia de xilema bruta.

La extracción del xilema en melocotonero se hizo en dos fechas, 60 y 120 días después de plena floración, en dos años consecutivos (2000 y 2001). Se cortaron brotes del año con tijeras de podar de ramas tratadas y no tratadas entre las 9-10 h a.m. (7-8 h solares) en el mismo día. Los brotes, de entre 20 y 25 cm de longitud, se llevaron al laboratorio inmersos en agua desionizada para evitar su desecación. Se eliminó la corteza de la zona de corte, se limpió esta zona con agua desionizada y se secó con papel. Se introdujo el brote en el cilindro con la parte distal hacia abajo, dejando la parte cortada hacia arriba. La presión aplicada para extraer xilema de los brotes fue de 10-15 bares. La savia se recogió durante 3-5 min en tubos eppendorf. Las primeras gotas del exudado fueron descartadas para evitar la contaminación con contenido celular (Engels y Marschner, 1992). Se usó la actividad c-mdh como marcador de la contaminación de la savia con contenido celular. La actividad c-mdh fue prácticamente nula en todos los casos.

Análisis de ácidos orgánicos en xilema

Los aniones orgánicos fueron analizados por HPLC usando una columna de 300 x 7,8 mm de intercambio

ciónico de tipo Aminex (HPX-87H Bio-Rad, Hercules, CA, USA) en un HPLC de Waters, con una bomba de tipo 600 E, un detector fotodiodo "array" 996 y el programa Millennium 2010.

Determinación del pH de la savia de xilema

El pH de la savia del xilema y apoplasto se midió con un microelectrodo (Metröhm AG 9101, Herisau, Suiza) inmediatamente después de su obtención.

Determinación de la concentración de Fe en xilema

La determinación de la concentración de Fe se efectuó por la técnica de absorción atómica con horno de grafito (Varian SpectrAA con corrector Zeeman) en el Servicio Científico Técnico de la Universidad de Barcelona, en condiciones estándar. Las muestras se analizaron por triplicado.

Resultados

Cambios producidos por el tratamiento sobre la concentración de Fe en el xilema

Las inyecciones en las ramas de melocotonero produjeron un aumento de la concentración de Fe. Este aumento fue significativo en todas las fechas en que analizamos las muestras. A 60 días después de la plena floración y en dos años distintos 2000 y 2001, la concentración de Fe en xilema de ramas tratadas fue 2,9 y 3,2 veces más alta que la obtenida en ramas no tratadas (Fig. 1). A 120 días después de la plena floración se obtuvo un aumento de la concentración de Fe en xilema de ramas tratadas de 3 veces en comparación con las ramas no tratadas. Se obtuvo una disminución de la relación citrato / Fe en las ramas tratadas en comparación con las no tratadas. A 60 días después de la plena floración se obtuvo una disminución de 8,8 y 7,2 veces en las ramas tratadas en el año 2000 y 2001 respectivamente, mientras que a 120 días se obtuvo una disminución más importante, de 10 veces, en las ramas tratadas en el año 2000.

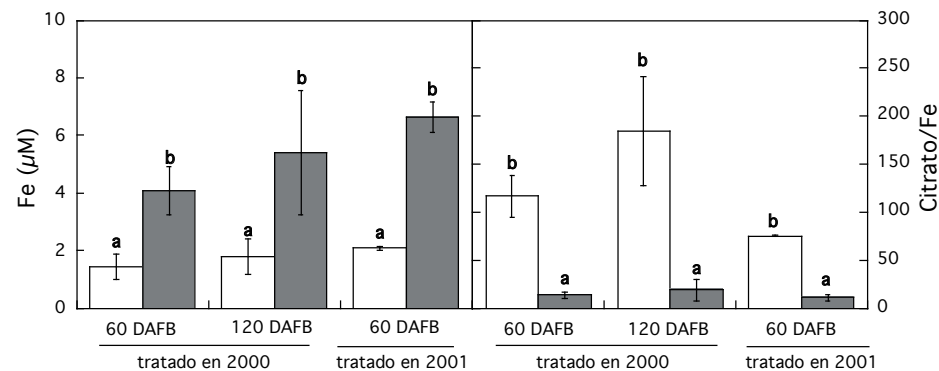


Fig.1. Cambios producidos por el tratamiento sobre la concentración de Fe y la relación citrato/Fe en xilema de ramas tratadas (en negro) y no tratadas (en blanco).

Cambios producidos por las inyecciones de Fe sobre la composición en ácidos orgánicos en xilema

Se identificaron citrato, malato, succinato, formato, fumarato, oxalato, 2-oxoglutarato y malonato, siendo citrato, malato, succinato, formato y malonato los ácidos mayoritarios. Cabe destacar que todos los ácidos orgánicos mostraron la misma tendencia, teniendo unas concentraciones más bajas cuando se trata de xilema extractado de las ramas tratadas, salvo el caso de malonato a 60 días después de la plena floración (Fig. 2). También hay que señalar que a 120 días después de la plena floración la diferencia entre la concentración en ácidos orgánicos en ramas tratadas y no tratadas fue más importante que la obtenida a 60 días (Fig. 2).

Cambios producidos por el tratamiento sobre el pH del xilema

No se obtuvo ninguna diferencia entre los valores de pH de xilema de ramas tratadas y no tratadas en las dos fechas de muestreo y en dos años diferentes. Cabe señalar que los valores de pH del xilema fueron bastante similares en todas las fechas de muestreo; los valores de pH obtenidos variaron entre 6,5 y 7,2 en las ramas tratadas y no tratadas (Fig. 3).

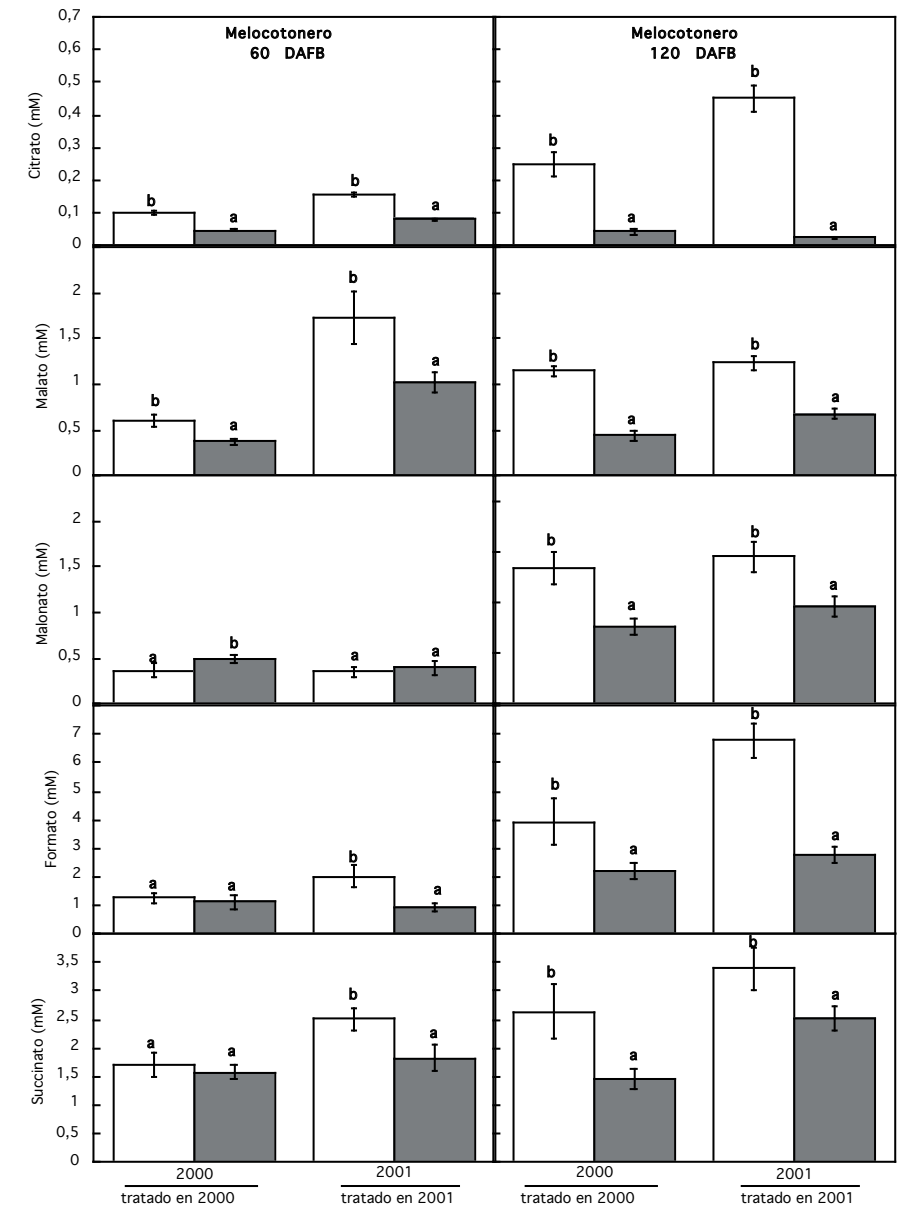


Fig.2. Cambios producidos por el tratamiento sobre las concentraciones de ácidos orgánicos en xilema de ramas tratadas (en negro) y no tratadas (en blanco).

Discusión

Los resultados obtenidos en este trabajo indican que la concentración de ácidos orgánicos en xilema disminuye tras el tratamiento con Fe. Chatti (1997) indicó que la concentración en ácidos orgánicos en xilema de árboles cloróticos de melocotonero fue ligeramente superior a la obtenida en el xilema de árboles control. En nuestro trabajo el tratamiento con implantes de Fe provocó una disminución, en algunos casos altamente significativa, de las concentraciones de ácidos orgánicos. Esta diferencia entre las

ramas tratadas y no tratadas es más importante a 120 días después de la plena floración que a 60 días lo que puede ser debido al grado de clorosis más acentuado a 120 días que a 60. No se obtuvo ninguna diferencia entre los valores de pH de la savia de las ramas tratadas y no tratadas. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Chatti (1997). Se obtuvo un aumento significativo de la concentración de Fe en el xilema de las ramas tratadas y por lo tanto una disminución de la relación citrato/Fe. Se ha descrito que los altos cocientes de citrato/Fe en el fluido apoplástico podrían disminuir la capacidad de adquisición de Fe por las células del mesófilo (González-Vallejo et al., 1999). Por lo tanto, en nuestro caso si este alto cociente encontrado en el xilema se mantiene en el apoplasto podría afectar a la adquisición de Fe en el mesófilo de hojas de melocotonero. Larbi (1999) indicó que la actividad reductasa del mesófilo de hojas deficientes en Fe de melocotonero es inferior a la de las hojas controles.

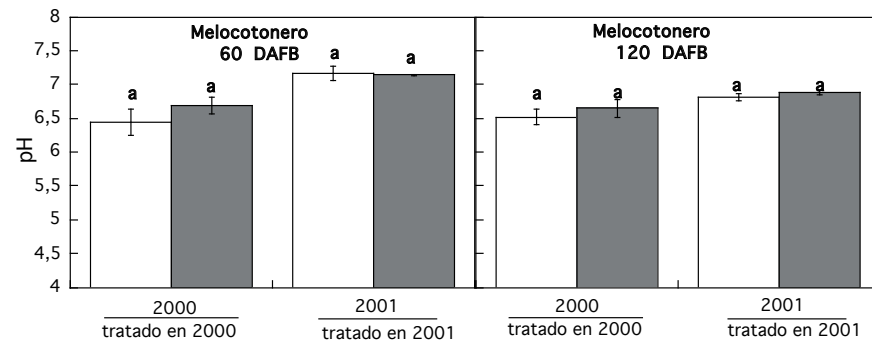


Fig. 3. Cambios producidos por el tratamiento sobre el pH de xilema de ramas tratadas (en negro) y no tratadas (en blanco).

Agradecimientos

Financiado por los proyectos del Plan Nacional de Investigación AGL2000-1721 a AA, y PB97-1176 y BOS2001-2343 a JA.

Referencias bibliográficas

- Abadía J, López-Millán AF, Rombolà A, Abadía A (2001). Organic acids and Fe deficiency: A review. *Plant and Soil* 241: 75-86.
- Azcón-Bieto J y Talón M (1993) Fisiología y bioquímica vegetal. McGraw-Hill-Interamericana, España.
- Chatti J (1997) Quelques changements de la composition chimique de la seve du xyleme sous deficiencia en Fe chez la tomate, le pêcher et l'amandier. Master Thesis. IAMZ, Zaragoza, Spain.
- Engels C, Marschner H (1992) Adaptation of potassium translocation into the shoot maize (*Zea mays L*) to shoot demand: Evidence for xylem loading as a regulating step. *Physiol Plant* 86: 263-268.
- Hurley AK, Wasler RH, Davis TD, Barney DL (1986). Net photosynthesis and chlorophyll, and foliar iron in apple trees after injection with ferrous sulfate. *HortScience* 21: 1029-1031.
- González-Vallejo EB, González-Reyes JA, Abadía A, López-Millán AF, Yunta F, Lucena JJ, Abadía J (1999). Reduction of ferric chelates by leaf plasma membrane preparations from Fe-deficient and Fe-sufficient sugar beet. *Aust J Plant Physiol* 26: 601-611.
- Larbi A (1999). Effêt de la chlorose ferrique sur la reduction de fer par le mesophyle de feuilles de la betterave a sucre et du pêcher. Master Thesis. IAMZ, Zaragoza, Spain.
- López-Millán AF, Morales F, Abadía A, Abadía J (2001). Iron deficiency-associated changes in the composition of the leaf apoplasmic fluid from field-grown pear trees. *J Exp Bot* 52: 1489-1498.
- Sun XP, Wang SY, Tong YA, Korcak RF, Faust M (1987). Metabolic changes in iron-deficient apple seedlings. *J Plant Nutr* 10: 1021-1030.

EFFECTO DEL APORTE DE Fe SOBRE LAS CONCENTRACIONES DE ÁCIDOS ORGÁNICOS EN XILEMA Y APOPLASTO DE PLANTAS DE REMOLACHA DEFICIENTES EN Fe

Ajmi Larbi, Sofia Andaluz, Fermin Morales, Javier Abadía y Anunciación Abadía

Departamento de Nutrición Vegetal, Estación Experimental de Aula Dei, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Apdo 202, 50080 Zaragoza, España

Introducción

La deficiencia de Fe es un problema ampliamente extendido en agricultura, especialmente en los suelos alcalinos, en los cuales, a pesar de que es un elemento abundante, a menudo es insoluble (Lindsay, 1995). En plantas eficientes de estrategia I la respuesta incluye cambios morfológicos y bioquímicos (ver Schmidt, 2000). Entre los cambios bioquímicos cabe destacar la acumulación de ácidos orgánicos, principalmente malato y citrato, en todas las partes de la planta (Brown, 1966, Landsberg, 1981; Alhendawi et al., 1997; López-Millán et al., 2000a,b, 2001a,b,c; Abadía et al., 2001). Las posibles funciones de los ácidos orgánicos son muy diversas. Sus características como agentes quelantes les permiten intervenir en la movilización de Fe en la rizosfera (Abadía et al., 2001). Se sabe también que el citrato tiene un papel importante en la translocación y el transporte de Fe a larga distancia (Tiffin, 1966a,b; López-Millán et al., 2000b). También se ha propuesto que sean los ácidos orgánicos la fuente de protones liberados por las raíces (Landsberg, 1981). Otra posible función de los ácidos orgánicos sería el uso de estos compuestos de C para mantener procesos básicos, tales como la respiración (Abadía et al., 2001).

El aporte de Fe a las plantas deficientes de Fe suele aumentar la concentración de clorofila, restablecer la actividad fotosintética y aumentar la concentración de Fe en raíces y hojas (Young y Terry, 1982; Nishio y Terry, 1983; Nishio et al., 1985; Pushnik y Miller, 1989; López-Millán et al., 2001a,b). Según López-Millán et al (2001a), la adición de hierro disminuye la actividad de diferentes enzimas implicadas en la síntesis de ácidos orgánicos y, por consiguiente, la concentración total de ácidos orgánicos en raíces y en hojas.

El principal objetivo de este artículo es investigar los cambios producidos por el aporte de Fe en la composición de ácidos orgánicos en el xilema y el apoplasto de plantas deficientes en Fe, ya que estos dos compartimentos son cruciales en el transporte de Fe a larga distancia en la planta.

Materiales y Métodos

Cultivo de plantas

Las plantas de remolacha (*Beta vulgaris* L. cv. Monohil; Hillesjö, Landskrona, Suecia) se cultivaron en solución nutritiva en cámara de cultivo a 350 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$, a 22 °C, 80% de humedad relativa y un fotoperiodo de 16 h luz/8 h oscuridad. Los cubos en donde se hicieron crecer las plantas contenían solución nutritiva 1/2 Hoagland con 0 ó 45 μM de NaFe(III)-EDTA, dependiendo del experimento. Para imitar las condiciones naturales de la deficiencia de Fe en campo se incrementó el pH de la solución nutritiva de las plantas sin Fe hasta 7,7, mediante la adición de NaOH 1 mM y CaCO₃ 1g L⁻¹. El aporte de Fe a las plantas deficientes se hizo tras dos semanas sin Fe, cambiando la solución nutritiva por otra nueva conteniendo 45 μM de Fe con un pH 5,5.

Extracción de xilema y apoplasto

El xilema y el apoplasto se extrajeron del peciolo y de las hojas de remolacha respectivamente, por centrifugación directa, como se describe en López-Millán et al. (2000b).

Análisis de ácidos orgánicos en xilema y apoplasto

Los aniones orgánicos fueron analizados por HPLC usando una columna de 300 x 7,8 mm de intercambio catiónico de tipo Aminex (HPX-87H Bio-Rad, Hercules, CA, USA) en un HPLC de Waters, con una bomba de tipo 600 E, un detector fotodiodo "array" 996 y el programa Millennium 2010.

Determinación del pH de la savia de xilema y apoplasto

El pH de la savia del xilema y apoplasto se midió con un microelectrodo (Metröh AG 9101, Herisau, Suiza) inmediatamente después de su obtención.

Determinación de la concentración de Fe en xilema

La determinación de la concentración de Fe se efectuó por la técnica de absorción atómica con horno de grafito (Varian SpectraAA con corrector Zeeman) en el servicio Científico Técnico de la Universidad de Barcelona, en condiciones estándar. Las muestras se analizaron por triplicado.