

Aspectos fisiológicos de la remolacha azucarera de siembra otoñal



Consejería de Agricultura y Pesca

ASPECTOS FISIOLÓGICOS DE LA REMOLACHA AZUCARERA DE SIEMBRA OTOÑAL

**Cristina Echevarría Ruiz de Vargas
Rodrigo Morillo-Velarde Pérez-Barquero
Javier Cejudo Fernández
Carmen Ortiz Mellet
José M. García Fernández
Ángel de la Torre Casas
Sofía García-Mauriño Ruiz-Berdejo
Luis Felipe Gordo Ingelmo
Alfonso de Cires Segura
Eduardo T. Jiménez Segovia
Juan José Martínez Quesada
María-Cruz González García
Juan M. Benito Hernández
Rosario Álvarez Morales
Rocío Caballero Valcarce
José A. Monreal Hermoso
Lourdes Carmona López
Ana-Belén Feria Bourrellier
Arancha León Morillo**

Las investigaciones indicadas en este trabajo fueron financiadas con fondos FEDER (ref. 1FD97-0893-(03-01)) con fondos de la Universidad de Sevilla y El Monte (ref.USE/MONTE 99-4) y con la participación de AIMCRA*.

*Asociación de Investigación para la Mejora del Cultivo de la Remolacha Azucarera.

ASPECTOS FISIOLÓGICOS DE LA REMOLACHA AZUCARERA DE SIEMBRA OTOÑAL

©Edita: JUNTA DE ANDALUCÍA. **Consejería de Agricultura y Pesca.**

©Textos: Autores

Publica: Viceconsejería. Servicio de Publicaciones y Divulgación.

Colección: Agricultura.

Serie: Cultivos Industriales.

Coordinadores Científicos: Cristina Echevarría Ruíz de Vargas y Rodrigo Morillo-Velarde Pérez-Barquero.

Autores: Cristina Echevarría Ruíz de Vargas, Rodrigo Morillo-Velarde Pérez-Barquero, Javier Cejudo Fernández, Carmen Ortiz Meillet, José M. García Fernández, Ángel de la Torre Casas, Sofía García-Mauriño Ruiz-Berdejo, Luis Felipe Gordo Ingelmo, Alfonso de Cires Segura, Eduardo T. Jiménez Segovia, Juan José Martínez Quesada, María-Cruz González García, Juan M. Benito Hernández, Rosario Álvarez Morales, Rocío Caballero Valcarce, José A. Monreal Hermoso, Lourdes Carmona López, Ana-Belén Fera Bourrellier y Arancha León Morillo.

Fotografías e Ilustraciones: los autores.

I.S.B.N.: 84-8474-164-8.

Dep. Legal: SE-5989-05.

Maquetación e impresión: Axioma Comunicaciones, S.L. (Sevilla).

ÍNDICE

	PRESENTACIÓN.....	9
Capítulo 1.	CONCEPTOS GENERALES DEL METABOLISMO DEL CARBONO Y DEL TRANSPORTE DE SACAROSA.....	11
	Cristina Echevarría, Ana-Belén Fera y Eduardo T. Jiménez	
Capítulo 2.	CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE LA REMOLACHA AZUCARERA DE SIEMBRA OTOÑAL.....	23
	Luis F. Gordo, Rodrigo Morillo-Velarde, Juan José Martínez, Cristina Echevarría y Sofía García-Mauriño	
Capítulo 3.	ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS DE DEGRADACIÓN DE LA SACAROSA Y PRODUCCIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES EN LA REMOLACHA DE SIEMBRA OTOÑAL.....	45
	Eduardo T. Jiménez, Sofía García-Mauriño, Rodrigo Morillo-Velarde y Cristina Echevarría	
Capítulo 4.	LOS NIVELES DE ADENILATOS REFLEJAN MAYOR ACTIVIDAD METABÓLICA Y CAPACIDAD RESPIRATORIA EN LA REMOLACHA OTOÑAL RESPECTO DE LA PRIMAVERAL.....	71
	Sofía García-Mauriño, Eduardo T. Jiménez, José A. Monreal, Rodrigo Morillo-Velarde y Cristina Echevarría	
Capítulo 5.	EFEECTO DEL NITRÓGENO SOBRE EL DESARROLLO DE LA REMOLACHA AZUCARERA DE SIEMBRA OTOÑAL.....	81
	Juan José Martínez, Rodrigo Morillo-Velarde, Luís F. Gordo, José Luis Bermejo y Cristina Echevarría	
Capítulo 6.	ACTIVIDAD NITRATO REDUCTASA EN RELACIÓN CON LA NUTRICIÓN NITROGENADA Y EL RÉGIMEN DE RIEGO EN PLANTAS DE REMOLACHA AZUCARERA (<i>Beta vulgaris</i> L.) DE SIEMBRA OTOÑAL.....	101
	Rocío Caballero, Lourdes Carmona, Ángel de la Torre y Alfonso de Cires	

Capítulo 7.	LA FOSFOENOLPIRUVATO CARBOXILASA EN RELACIÓN CON LA NUTRICIÓN NITROGENADA Y CON EL ESTRÉS HÍDRICO.....	115
	Rosario Álvarez, Arancha León y Cristina Echevarría	
Capítulo 8.	UNA ESTRATEGIA PARA LA INHIBICIÓN DEL ESPIGADO DE LA REMOLACHA DE SIEMBRA OTOÑAL.....	131
	María Cruz González, Juan José Martínez, Rodrigo Morillo-Velarde y F. Javier Cejudo	
Capítulo 9.	LOS NIVELES DE PROLINA REFLEJAN LA SITUACIÓN DE ESTRÉS HÍDRICO DE LA REMOLACHA DEL SUR.....	143
	José A. Monreal, Eduardo T. Jiménez, Rodrigo Morillo-Velarde, Sofía García-Mauriño y Cristina Echevarría	
Capítulo 10.	RESPUESTA VARIETAL EN REMOLACHA AZUCARERA AL ESTRÉS HÍDRICO.....	153
	Rodrigo Morillo-Velarde, Luis F. Gordo, Juan José Martínez, Cristina Echevarría y Sofía García-Mauriño	
Capítulo 11.	IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE AZÚCARES RESULTANTES DE LA DIMERIZACIÓN DE LA SACAROSA Y DE LA D-FRUCTOSA (DIANHÍDRIDOS DE FRUCTOSA) FORMADOS EN LA RAÍZ DE LA REMOLACHA O DURANTE SU PROCESADO INDUSTRIAL.....	171
	Juan M. Benito, Carmen Ortiz Mellet y José M. García Fernández	

Hasta el siglo XIX no existía otro azúcar que el elaborado a partir de la caña de azúcar. Fue el agrónomo francés Olivier de Serres quien señaló la presencia de la sacarosa en la remolacha y la posibilidad de obtener azúcar cristalizante mediante el tratamiento industrial de la raíz. En 1747 un farmacéutico alemán, Andrés Marggraf, confirmó el descubrimiento de Olivier de Serres, demostrando que a partir de remolacha podía obtenerse azúcar cristalizada de tan buena calidad como la de la caña. En 1802 se obtuvo el primer azúcar de remolacha por un procedimiento industrial. Estas experiencias se extendieron inmediatamente a Francia, Bélgica, Austria, Rusia y otros países europeos.

Los valores de riqueza de sacarosa en esos momentos oscilaban entre 11-14%. La selección genética de variedades con raíces gruesas, sin ramificar y con altas concentraciones de materia sacárida (entre el 18 y el 20% de su peso), en conjunción con un análisis pormenorizado del manejo del cultivo para optimizar su producción han permitido que la remolacha en la actualidad pueda ser cultivada en una gran variedad de áreas climáticas y suelos diversos, con un buen rendimiento del cultivo.

En España, la modificación más profunda de las zonas remolacheras se llevó a cabo en 1972, refundiéndose las diferentes zonas en tres zonas únicas: Zona Duero, Zona Ebro-Centro y **Zona Sur**.

La zona sur es una zona rica en posibilidades, en ella se cultiva la remolacha en secano y en regadío, con un ciclo distinto al resto del país: siembra en Octubre y recolección en Julio, denominada **siembra otoñal**. La zona sur es actualmente la segunda zona remolachera del país.

La **siembra otoñal** se encuentra hoy día en 12 países, todos situados en una estrecha banda, paralelo 40°N-trópico de Cáncer. El 35% de la superficie corresponde a España. Las características específicas de esta práctica de cultivo llevan asociadas una serie de peculiaridades entre ellas: unas **condiciones ambientales muy variables**, las plantas se siembran en otoño, pasan el invierno, y se recogen en verano. La **vernalización** que sufren en las regiones más frías de Andalucía (Jaén) hace que se den problemas de espigado con importantes pérdidas en la cosechas; el periodo de **cultivo es más largo** (nueve meses de media) que en el norte, para conseguir una producción similar, y **las altas temperaturas del verano**, previas a la recolección, causan estragos en la calidad industrial.

La técnica de cultivo de la siembra de otoño no sólo se distingue de la siembra tradicional (primaveral) por las diferentes fechas de siembra y recolección sino también por el uso de algunos factores de cultivo. Especialmente es diferente la preparación del suelo para la siembra, los tipos de variedades (resistentes al espigado, y adaptadas a la zona sur) y el manejo de herbicidas por una mayor competencia de malas hierbas. Además, el riego y recolección requieren un manejo diferencial.

El manejo de algunas de estas técnicas de cultivo se puede considerar un problema resuelto para la siembra de otoño gracias a la investigación y experimentación realizada en nuestro país. Sin embargo, salvo en algunos temas puntuales y aplicados,

Aspectos fisiológicos de la remolacha azucarera de siembra otoñal

existen pocos resultados de trabajos de investigación relativos a problemas de siembra de otoño. La respuesta al manejo de ciertos factores de cultivo sigue siendo errática, muy condicionada al año y la localidad y no permite generalizar la recomendación al agricultor, bien sea esta última mejorar la producción de azúcar, la calidad industrial en Andalucía o disminuir el impacto ambiental por reducción de "input" en el cultivo.

AIMCRA, a través de sus iniciativas para la investigación acuerda realizar un proyecto de investigación con la Universidad de Sevilla para desarrollar los primeros estudios sobre la fisiología de la remolacha de siembra otoñal. Esta iniciativa se consolidó en el proyecto titulado: "ESTUDIO DE LOS FACTORES AMBIENTALES Y FISIOLÓGICOS QUE DETERMINAN LA PRODUCCIÓN Y LA CALIDAD DE LA REMOLACHA AZUCARERA DE SIEMBRA OTOÑAL", fue financiado con fondos FEDER, (ref. 1FD97-0893-CO3-01) y con fondos de la Universidad de Sevilla y El MONTE, en su proyecto de ref. USE/MONTE 99-4 y con la participación de AIMCRA. En él se realizaron tres subproyectos:

- **Subproyecto 1:** Dirigido por la Dra. Cristina Echevarría Ruíz de Vargas, Profesora Titular de Universidad, del Dpto. de Biología Vegetal y Ecología (Unidad de Fisiología Vegetal), de la Facultad de Biología. En este subproyecto nos orientamos hacia aspectos de la fisiología de la remolacha que pudieran estar relacionados con: i) el estrés durante el periodo de recolección y su influencia en la producción de azúcares reductores. Estudiamos la evolución de las enzimas implicadas en la degradación de sacarosa en la raíz, la producción de prolina, y parámetros de calidad como la producción de azúcares reductores (glucosa); ii) las alteraciones de la respiración de la siembra de otoño en comparación con la siembra de primavera, mediante la determinación de los niveles de adenilatos; iii) la actividad nitrato reductasa en relación con la nutrición nitrogenada y el régimen de riego; y por último, iv) la participación de la fosfoenolpiruvato carboxilasa en el balance C/N de la planta, a través de su participación en la producción de compuestos α -amino y en el estrés hídrico.

- **Subproyecto 2:** Dirigido por el Dr. Javier Cejudo Fernández, Profesor Titular de Universidad del Instituto de Biología Vegetal y Fotosíntesis, centro mixto USE/CSIC. Este subproyecto se orientó hacia el estudio del espigado (la floración) y su posible control con inhibidores de giberelinas, así como la clonación de las invertasas, sacarosa sintasa y GA₂₀ oxidasa de la remolacha.

- **Subproyecto 3:** Dirigido por la Dra. Carmen Ortiz Mellet, Profesora Titular del Dpto. de Química Orgánica de la Facultad de Química. Este subproyecto se encaminó a la identificación de compuestos con un posible valor añadido en remolachas de baja calidad. Se centraron en la identificación de dianhídridos de fructosa (DAFs) en la raíz de remolacha.

Por último la participación de AIMCRA, que desarrolló todos los aspectos relacionados con el diseño de parcelas, recogida de muestras y análisis de los parámetros agronómicos de la remolacha, así como la información de los datos climatológicos.

Este trabajo fue un ejemplo de diseño y coordinación para que las muestras analizadas en cada grupo fueran similares de forma que se pudieran relacionar los

resultados. Así, de cada muestreo de campo, muchos, se obtuvieron cuatro lotes iguales, 3-4 remolachas por lote, y se distribuyeron, en la misma mañana, a los diferentes centros de investigación y a AIMCRA (Valladolid y Sevilla), siendo ya procesados en cada centro según los requerimientos de cada investigación. Los resultados obtenidos han demostrado, a pesar de haber limitado a un número reducido de remolachas cada muestreo, simplemente no era viable el procesamiento de más muestras, un acierto en el diseño experimental ya que existe una gran coherencia entre resultados obtenidos por los diferentes grupos, por diferentes técnicas y evaluaciones, dándole una gran consistencia al estudio.

Este proyecto ha sido también un esfuerzo conjunto para integrar visiones tan alejadas como la investigación aplicada y la investigación fundamental en un convencimiento profundo de que sólo así nos beneficiaremos unos y otros, tal como en su momento lo vislumbraron las políticas de investigación dirigidas a potenciar la colaboración entre la Empresa y la Universidad. No siempre fue fácil hablar un idioma común con acentos radicalmente diferentes, pero no hay nada que supere al deseo y la voluntad de entenderse. Este proyecto ha sido, por parte de todos, un buen ejemplo de ello.

Por último, este proyecto ha generado publicaciones científicas, participaciones a congresos nacionales e internacionales, conferencias e intercambio de ideas con grupos extranjeros, presentaciones de resultados, coloquios y jornadas con los diferentes sectores de la Industria Remolachera y con los Agricultores. Además, ha aportado numerosas ideas y perspectivas que no siempre han sido plasmadas en soportes concretos pero que, sin duda, nutrirán en un futuro próximo la investigación y mejorarán el manejo del cultivo de la remolacha de siembra otoñal.

El libro que presentamos no pretende ser una exposición exhaustiva y pormenorizada de los resultados obtenidos de las tres, cuatro cosechas en algunas ocasiones (periodo 1999 a 2003), estudiadas, ya que éstos están recogidos en las memorias anuales del proyecto, sino destacar los aspectos más relevantes de esta investigación. Los diferentes capítulos son la contribución personal de los autores que lo firman, si bien la colaboración entre todos es la que verdaderamente ha hecho posible este trabajo.

Por último queremos mostrar nuestro agradecimiento a José Antonio Esteban por su apoyo continuo y entusiasmo, a Marcelino Bilbao y Antonio Moreno que participaron en las etapas iniciales del proyecto, y a Nieves por su amabilidad y eficacia.

Cristina Echevarría Ruiz de Vargas
Profesora Titular de Universidad
Rodrigo Morillo-Velarde Pérez-Barquero
Director de Investigación de AIMCRA

**Conceptos Generales del
Metabolismo del Carbono y del
Transporte de Sacarosa**



CAP I. CONCEPTOS GENERALES DEL METABOLISMO DEL CARBONO Y DEL TRANSPORTE DE SACAROSA.

Cristina Echevarría, Ana Belén Fera y Eduardo T. Segovia

Dpto. Biología Vegetal y Ecología (Área de Fisiología Vegetal), Facultad de Biología, Universidad de Sevilla. Avda de la Reina Mercedes nº 6. 41012. Sevilla.

LA FOTOSÍNTESIS

Los únicos organismos capaces de convertir los minerales y el CO_2 (moléculas inorgánicas de bajo contenido energético) en moléculas orgánicas de alto contenido energético son los organismos fotosintéticos. Para ello utilizan la energía de la luz en un proceso que se denomina fotosíntesis, donde la energía luminosa es transformada en energía electrónica y en energía química quedando acumulada en la biomasa sintetizada (Fig. 1). En la fotosíntesis se producen hidratos de carbono, como la sacarosa, y se desprende O_2 (Fig. 1).

Los organismos fotosintéticos engloban a las plantas, algas y bacterias fotosintéticas y son llamados autótrofos. El resto de organismos (hongos y animales) no pueden realizar

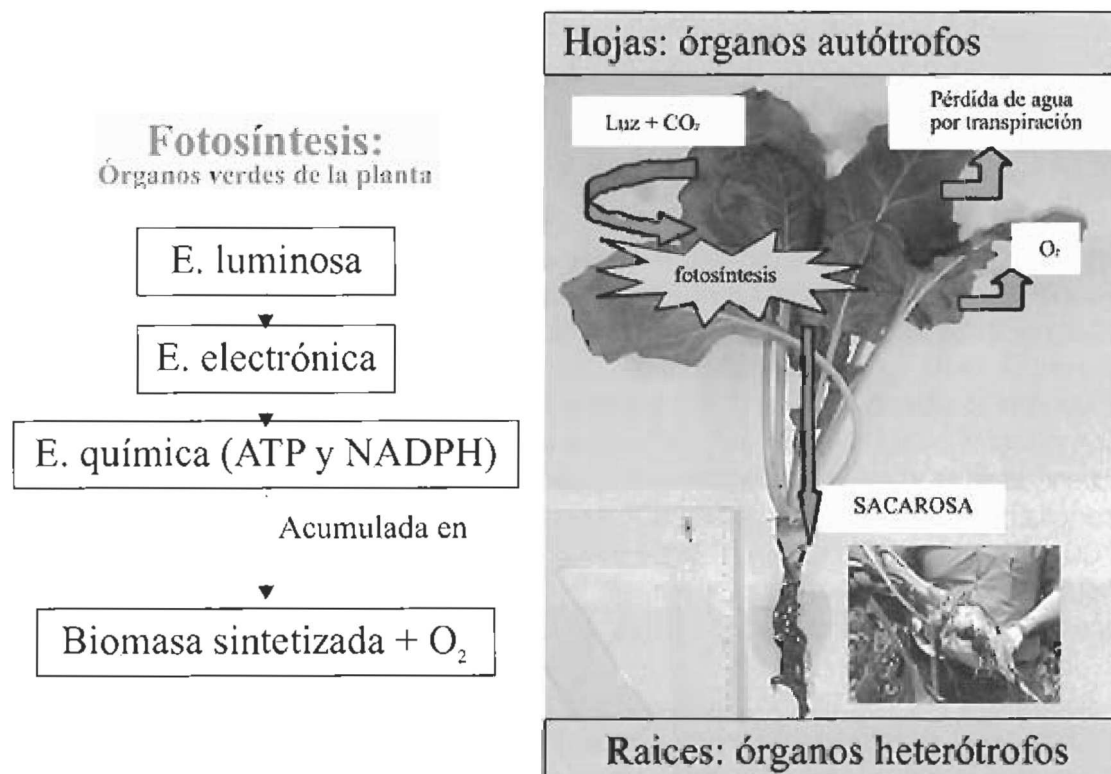


Figura 1: Representación esquemática del concepto de fotosíntesis e ilustración de dicho proceso en la planta.

Aspectos fisiológicos de la remolacha azucarera de siembra otoñal

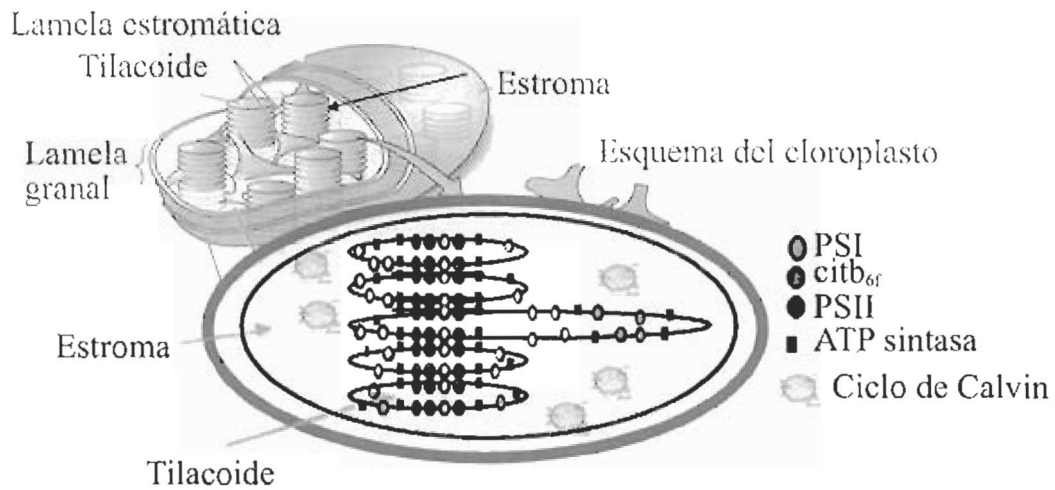


Figura 2: Estructura del cloroplasto.

la fotosíntesis, necesitan alimentarse de la materia orgánica ya sintetizada por lo que reciben el nombre de organismos heterótrofos.

Dentro de la planta podemos aplicar estos dos conceptos a los diferentes órganos y tejidos. Los órganos y tejidos autótrofos son aquellos capaces de realizar la fotosíntesis (hojas fundamentalmente) y los órganos heterótrofos (raíces, flores, frutos y semillas) son nutridos por las hojas y tejidos fotosintéticos (Fig. 1). Algunos de estos órganos heterótrofos, como algunas cubiertas de semillas o frutos, desarrollan tejido fotosintético durante estadios jóvenes, procurándose parte del alimento, aunque en general la mayor parte de la nutrición de estos órganos la soportan las hojas exportando sacarosa (Fig. 1).

La fotosíntesis se realiza en las células fotosintéticas que contienen cloroplastos (Fig. 2). Los cloroplastos están formados por dos membranas. La membrana interior está enormemente apilada recordando los acumuladores de las centrales eléctricas. Estos apilamientos de membranas se llaman grana y cada repliegue, **que constituye un compartimento estanco**, se llama tilacoide (Fig. 2). Haciendo una ampliación de un detalle de la membrana del tilacoide se aprecian una serie de complejos proteicos fijos en la membrana interconectados por moléculas móviles (no mostradas), en definitiva una serie de componentes colocados secuencialmente y que van a permitir el transporte de electrones. De todos estos componentes insertos en la membrana se destaca el fotosistema II (PSII ó P680), el fotosistema I (PSI ó P700), el citocromo b_6/f , y la ATP sintasa (Fig. 2). En el estroma se encuentra la RubisCO (Ribulosa bifosfato Carboxilasa Oxigenasa), el enzima que fija el CO_2 , y toda la maquinaria necesaria para la realización del Ciclo de Calvin o ciclo asimilador de CO_2 (Fig. 2).

En el PSI y PSII se encuentran las clorofilas. Las clorofilas son moléculas capaces de captar luz. A este tipo de moléculas se les llama pigmentos. Las clorofilas absorben eficazmente luz roja (680 y 700 nm) y azul y reflejan el verde. Reciben su nombre del cloro, que es un gas de color amarillo verdoso. **Todos** los organismos fotosintéticos poseen clorofila.

La corriente electrónica útil se genera de forma sencilla. La Fig. 3 recoge este proceso. La luz incide en las clorofilas de los fotosistemas liberando un electrón. Este electrón circula de unos transportadores a otros (PQ, citocromo b_6f y PC) hasta el PSI, donde es nuevamente impulsado por la energía luminosa hasta el NADP^+ donde finalmente queda atrapado, dando lugar al **NADPH**. Las clorofilas del PSII que han perdido su electrón lo recuperan del agua en una reacción en la que se rompe la molécula de agua en sus componentes, electrones (e^-), protones (H^+) y el O_2 . Del agua se aprovechan todos sus elementos. Los **electrones** ($4e^-$ por cada dos moléculas de agua) proveen de electrones a la corriente electrónica impulsada por la luz y quedarán finalmente acumulados en la molécula de **NADPH**. El O_2 es desprendido a la atmósfera suministrando oxígeno para la respiración. Finalmente, **los protones** (H^+) se van acumulando en el tilacoide, **que es un compartimento estanco**, creándose un gradiente de protones entre el interior y el exterior. Los protones tienden a salir del tilacoide para disipar el gradiente, y lo hacen por otro complejo proteico inserto en la membrana del tilacoide llamado ATP sintasa donde se sintetiza el **ATP** (adenosin trifosfato) (Fig. 3). Si bien el **NADPH** libera la energía acumulada cediendo un electrón (energía redox) el **ATP** libera su energía hidrolizando el enlace fosfato (Energía de enlace fosfato, $\sim P$).

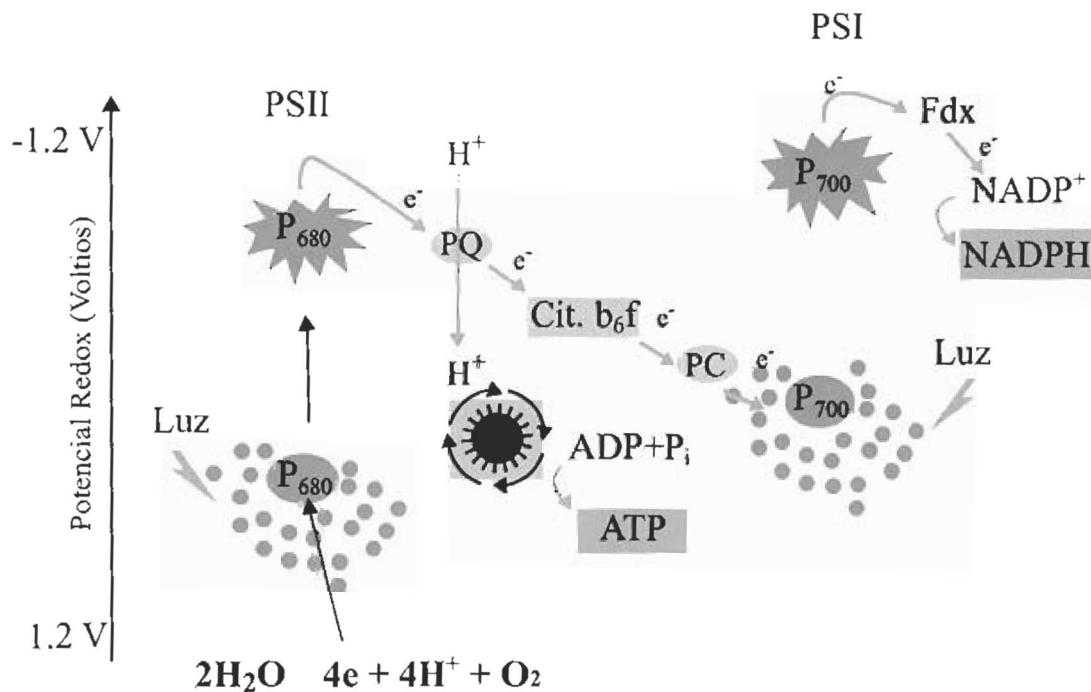


Figura 3: Esquema del transporte fotosintético de electrones. Se señala el cambio de potencial redox que experimentan las clorofilas tras la absorción de luz y los diferentes componentes de la cadena del transporte fotosintético de electrones.

Este proceso es la transformación de la energía luminosa en energía electrónica y finalmente en energía química acumulada en el **NADPH** y en el **ATP** y constituye la parte **fotoquímica** de la fotosíntesis.

Aspectos fisiológicos de la remolacha azucarera de siembra otoñal

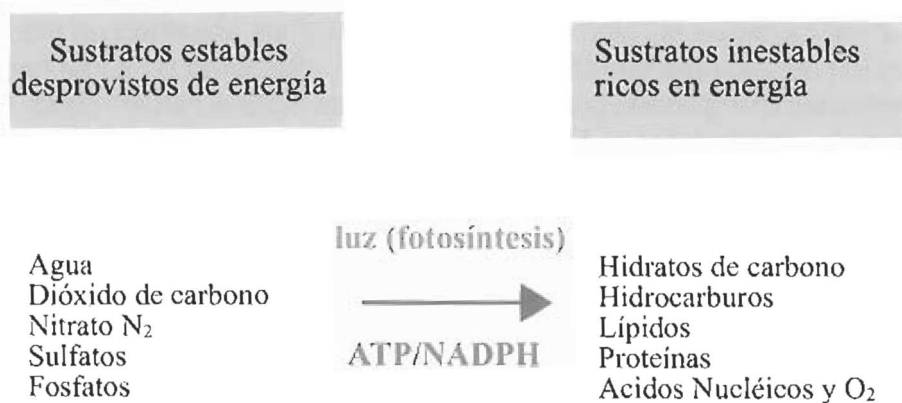


Figura 4: Principales transformaciones de moléculas inorgánicas en moléculas orgánicas utilizando la energía del NADPH y el ATP.

Los electrones acumulados en el **NADPH** reducido serán utilizados para reducir el carbono y también el nitrógeno y el azufre y para todos los procesos metabólicos de la planta. La reducción de estos sustratos inorgánicos estables pero sin energía, dará lugar a sus correspondientes moléculas orgánicas inestables y ricas en energía. El fósforo es el único elemento que no se reduce. Interviene en el metabolismo general de la planta como acumulador y transportador de la energía del ATP, pasando de fósforo inorgánico (Pi) a fósforo rico en energía (~P). La Fig. 4 recoge estas transformaciones.

Este esquema pone en evidencia que el NADPH y el ATP que hay en la célula es común y que debe haber un equilibrio en su utilización, en las diferentes rutas metabólicas para que el crecimiento de la planta sea el adecuado. Por ejemplo, un exceso de abonado nitrogenado puede alterar el balance C/N de la planta destinándose más esqueletos carbonados al crecimiento de los órganos vegetativos de la planta y menos a órganos de reserva y frutos, lo que en cultivos como el de la remolacha merma la producción.

LA REDUCCIÓN FOTOSINTÉTICA DEL CARBONO

La reducción/asimilación del carbono en la planta se da en una serie de reacciones que se recogen en la figura 5. Primero se fija el CO₂ en una reacción de carboxilación catalizada por la RubisCO produciéndose dos moléculas de 3-fosfoglicerato. Éste se reduce, utilizando el ATP y el NADPH, para producir gliceraldehido-fosfato (triosas fosfato). Parte de esas triosas fosfato se utilizan para abastecer el ciclo que es autocatalítico, y parte se destinan a la síntesis de sacarosa y almidón. Este ciclo se conoce con el nombre de ciclo de Calvin-Benson en honor a los dos investigadores que lo describieron. Ocurre en el estroma del cloroplasto (Fig. 2), y está altamente regulado y acoplado a las reacciones fotolumínicas descritas anteriormente, donde se produce el ATP y el NADPH. Con este ciclo se completa la fotosíntesis que comprende las reacciones fotolumínicas (Fig. 3) y el ciclo de Calvin-Benson (Fig. 5).

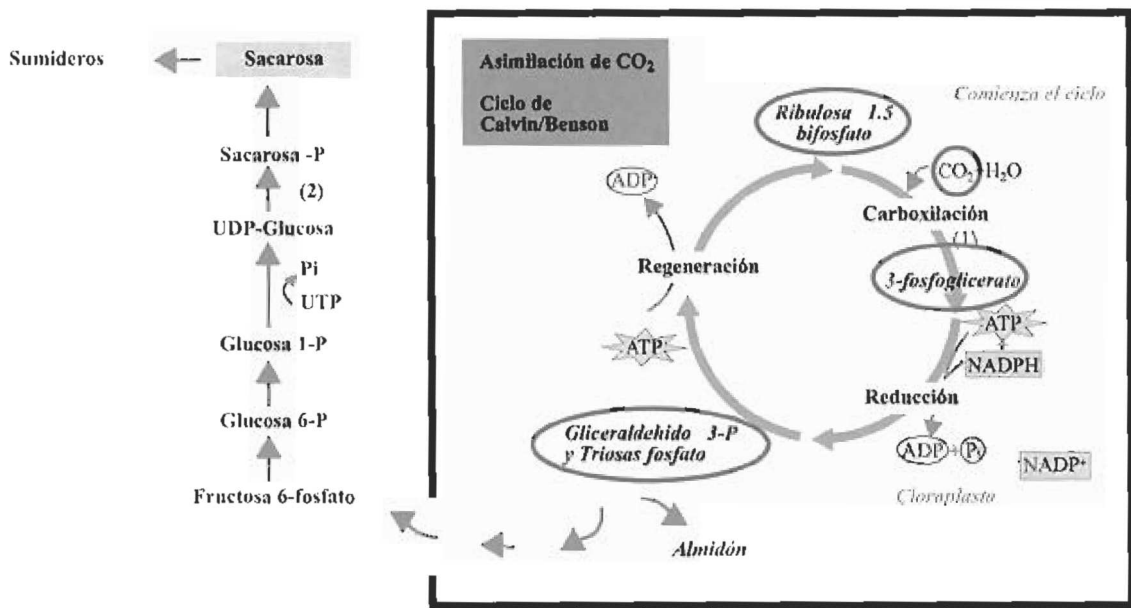


Figura 5: Etapas representativas del Ciclo de asimilación de CO_2 o ciclo de Calvin-Benson y algunos pasos de la síntesis de sacarosa. (1) Enzima Ribulosa bífosfato carboxilasa/oxigenasa (RuBisCO), (2) Enzima Sacarosa fosfato sintetasa (SPS).

La síntesis de sacarosa se realiza a partir de UDP-glucosa y de Fructosa-6-P, en una reacción catalizada por la Sacarosa Fosfato Sintasa (Fig.5). Cuando las necesidades energéticas y nutricionales de la hoja están satisfechas, el exceso de sacarosa es exportado a los órganos heterótrofos procurándoles el alimento y la energía necesarios para su desarrollo. A diferencia de la glucosa y de la fructosa (azúcares reductores), la sacarosa es un azúcar no reductor, es decir, no reacciona espontáneamente con ningún compuesto, siendo la molécula ideal para ser transportada. Otros azúcares no reductores que se transportan en algunas plantas son la rafinosa, estaquiosa y verbascosa.

TRANSPORTE DE SACAROSA DE LAS FUENTES A LOS SUMIDEROS

El transporte de sacarosa desde las fuentes donde es producida (hojas y partes verdes) a los sumideros, donde se consume y/o se acumula (raíces, frutos, semillas), se realiza por el floema (Fig. 6). Por el contrario,



Figura 6: Representación esquemática de las vías de transporte en la planta.

Aspectos fisiológicos de la remolacha azucarera de siembra otoñal

el agua y las sales minerales se transportan por el xilema (Fig. 6).

El transporte de sacarosa en el floema se hace por un mecanismo que, por lo simple, los Fisiólogos Vegetales tardaron en aceptarlo. Es un transporte por **flujo en masa**. En los centros de producción de sacarosa (fuentes), la sacarosa sobrante es cargada en el floema (Fig. 7). Esto hace que baje el potencial osmótico en esa parte del floema (Fig. 7, $\Psi_s = -1,7$ MPa), y el potencial hídrico (Fig. 7, $\Psi_w = -1,1$ MPa), produciéndose una entrada de agua que hace que aumente el potencial de presión (Fig. 7, $\Psi_p = 0,6$ MPa). A nivel de los sumideros ocurre el proceso contrario, la sacarosa sale del floema para ser consumida o acumulada en la raíz, produciéndose un aumento del potencial osmótico (Fig. 7, $\Psi_s = -0,7$ MPa) que conlleva una salida de agua en esa parte del floema y una bajada del potencial de presión (Fig. 7, $\Psi_p = 0,3$ MPa). En consecuencia se establece una diferencia de presión hidrostática entre la fuente, con 0,6 MPa, y el sumidero con 0,3 MPa, que tiende a disiparse produciéndose un flujo de agua. Este flujo de agua arrastra a las sustancias en solución como la sacarosa, e incluso a partículas en suspensión transportándolas a lo largo del floema (Fig. 7).

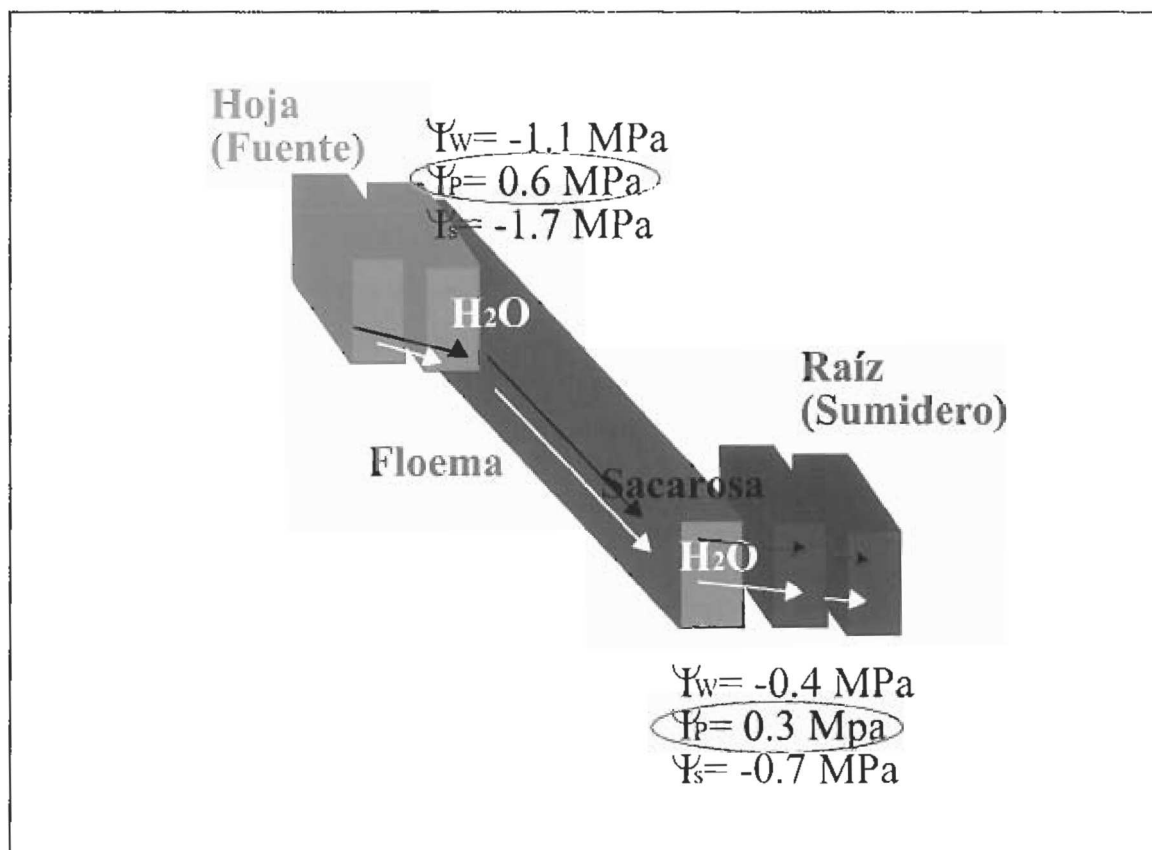


Figura 7: Mecanismo de transporte de sacarosa por flujo en masa.

PARTICIÓN DEL CARBONO

La pregunta que nos podríamos hacer sería ¿cómo se decide, en un momento dado, a qué sumidero va la sacarosa?, o ¿cuanta sacarosa se destina a cada uno de los sumideros: flores, frutos, raíces e incluso hojas nuevas?. Para responder a esta pregunta sabemos que el flujo de sacarosa será mayor cuanto mayor sea la diferencia de presión hidrostática entre dos puntos (fuente-sumidero). Esta diferencia viene determinada por la fuerza del sumidero, siendo ésta igual a la talla del sumidero por su actividad (Fig. 8). La distribución de la materia seca, fundamentalmente fotoasimilados, entre los diferentes sumideros se denomina **partición**, y es un parámetro de gran importancia en la determinación de la productividad de las especies cultivadas (Gifford, et al., 1984). De hecho, la mayor productividad de los cultivares más modernos se debe a un aumento en la proporción de fotoasimilados acumulados en las partes aprovechables, más que a un aumento en la fotosíntesis total de la planta, y esto se consigue mediante un proceso de selección y mejora.

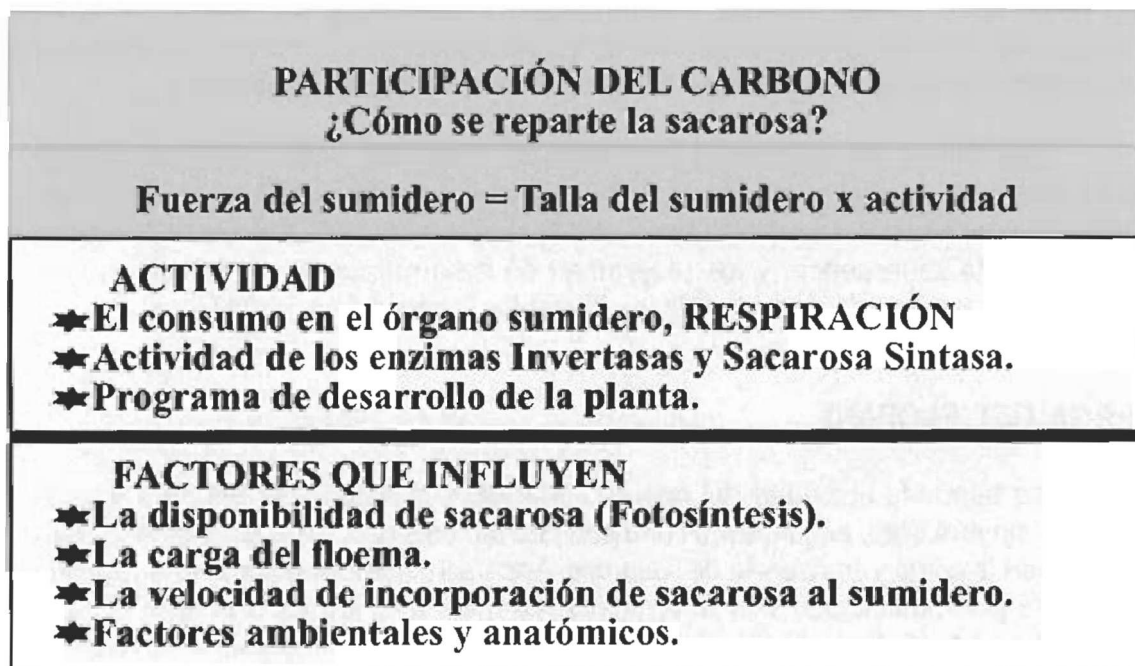


Figura 8: Esquema que destaca algunos conceptos implicados en la partición del carbono, como la fuerza del sumidero, la actividad, y los factores que influyen en la actividad.

La actividad del sumidero viene determinada por el consumo de sacarosa en el órgano sumidero, que a su vez viene determinado, en primera instancia, por la actividad de los enzimas que degradan la sacarosa: las invertasas y la sacarosa sintasa. Ambos parámetros de actividad vienen definidos por el programa de desarrollo del órgano y de la planta, tal como veremos en capítulos posteriores, y por las condiciones ambientales (Fig. 8). Por ejemplo, el comienzo del desarrollo del programa de floración supone un reajuste total de la partición del carbono (sacarosa), destinándose menos a la raíz y más al desarrollo del tallo floral.

Aspectos fisiológicos de la remolacha azucarera de siembra otoñal

En *Beta vulgaris* y guisante se ha visto que la reducción considerable de las fuentes (eliminación drástica del número de hojas) no reduce el aporte de sacarosa a corto plazo (8 h), sin embargo las raíces empiezan a recibir menos sacarosa que las hojas jóvenes (Fondy and Geiger, 1977); este experimento sugiere que las hojas jóvenes en estas plantas son potentes sumideros.

El estrés hídrico o las altas temperaturas promueven el cierre estomático (poros de la planta por los que penetra el CO₂ para la fotosíntesis y por los que se pierde el agua por transpiración) reduciéndose o incluso anulándose la fotosíntesis, lo que hace que la planta tenga que utilizar sus reservas de carbono esto, en cultivos como el de la remolacha azucarera, puede representar importantes pérdidas en la producción.

El efecto del estrés hídrico puede modificar también el gradiente de presión ya que la falta de agua puede bajar la presión en el floema. En estas condiciones se destinaría más sacarosa a la raíz (Schulz, 1994). Además, la turgencia de las células puede tener un efecto en el transporte a través de la membrana modificando la actividad de las ATPasas (Wyse et al., 1986). También influyen factores anatómicos, por ejemplo, el tamaño final del fruto del manzano está directamente relacionado con el número de células del fruto, factor que se determina durante las primeras fases de su ontogenia.

Por último, las hormonas vegetales, así como los niveles de carbohidratos (sacarosa) o sus metabolitos pueden modificar la relación entre fuente y sumidero (Koch, 1996), en concreto las hormonas tienen un papel relevante controlando el desarrollo de los órganos, la senescencia y los programas de desarrollo que, en definitiva, van a establecer el tamaño y la actividad de los diferentes órganos de la planta.

CARGA DEL FLOEMA

La talla y la actividad del órgano sumidero son determinantes para importar sacarosa, sin embargo, encontramos una serie de factores que también juegan un papel relevante en la carga y transporte de sacarosa, éstos son: i) la disponibilidad de sacarosa (producida por fotosíntesis) y ii) la velocidad de incorporación en el floema. En *Beta vulgaris*, en la hoja, la sacarosa se vierte al exterior de la célula (espacio apoplástico) (Taiz and Zeiger, 2000), y se incorpora al floema mediante un transporte activo que depende de la disponibilidad de ATP.

Durante los meses de diciembre-enero, la remolacha otoñal crece poco. Su fotosíntesis y crecimiento están ralentizados debido a los fotoperiodos cortos y a las bajas temperaturas. La llegada de la primavera, con aumento del fotoperiodo y aumento de temperaturas, posibilita el periodo de máximo crecimiento y también de máxima exportación de sacarosa a la raíz (Gordo, 2003).

DESCARGA DEL FLOEMA

La sacarosa transportada por el floema se descarga en los sumideros a través de los plasmodesmos por la vía simplástica (vía de conexión de las células que comunica los citoplasmas). Sin embargo en las raíces acumuladoras de *Beta vulgaris* y en las hojas nuevas de maíz parece ser que la sacarosa al llegar al sumidero saldría al exterior de las células del floema a los espacios intercelulares ocupados por la pared celular (apoplasto) y se incorporaría al sumidero desde el apoplasto, en un proceso en el que la sacarosa sería invertida por la invertasa ácida de pared, y atravesaría la membrana plasmática en forma de fructosa y glucosa (Taiz and Zeiger, 2000). Una vez en la célula, la glucosa y la fructosa pueden ser consumidas o convertidas en sacarosa y acumuladas en la vacuola.

DEGRADACIÓN DE SACAROSA

El primer paso para la degradación de la sacarosa lo catalizan los enzimas invertasas (ácidas y neutras) y la sacarosa sintasa. En la figura 9 se muestran las reacciones catalizadas por estas enzimas que rompen la sacarosa en fructosa y glucosa o UDP-glucosa, los precursores de todas las rutas metabólicas y energéticas que se desarrollen en el órgano sumidero (Fig. 9). Finalmente, la sacarosa acumulada en la raíz será igual a la sacarosa que llega de las hojas menos la sacarosa consumida.

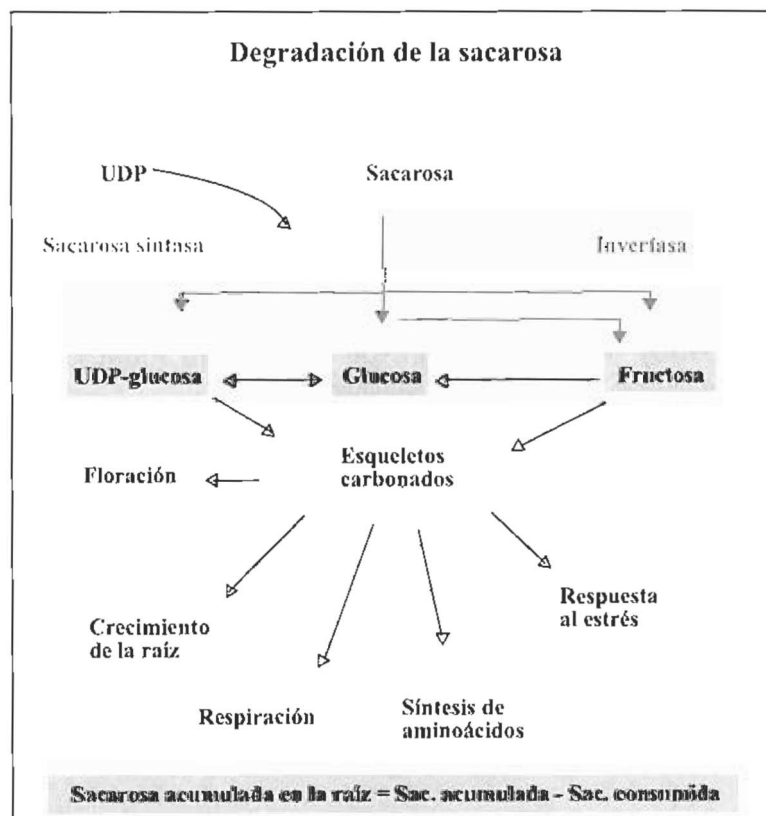


Figura 9: Degradación de la sacarosa por los enzimas Invertasa y Sacarosa sintasa y algunas de las vías de utilización de los esqueletos carbonados.

Aspectos fisiológicos de la remolacha azucarera de siembra otoñal

Esta breve descripción de algunos aspectos de la fotosíntesis, del metabolismo del carbono y del transporte de sacarosa nos pone en antecedente de la perfección y del equilibrio establecidos en una planta para lograr sobrevivir y perpetuarse y nos muestra el largo camino recorrido en lo que concierne a la domesticación de las especies vegetales para su mejor rendimiento en agricultura, a través de los programas de selección o, más recientemente, con la transformación genética de especies vegetales. En este sentido cabe destacar la progresión de la *Beta vulgaris* que pasa de ser una hierba de la que se utilizaban sus hojas para comida de animales con una raíz acumuladora capaz de acumular un 7-8 % de sacarosa, a doblar la capacidad de acumulación de sacarosa, con variedades, cosechas y condiciones en las que se alcanza hasta un 20 % de sacarosa en la raíz y cuyo cultivo representa un tercio de la producción mundial de azúcar.

BIBLIOGRAFÍA

Koch KE (1996). Carbohydrate-modulated gene expression in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol* 47: 509-540.

Fondy BR, and Geiger DR (1977). Sugar selectivity and other characteristics of phloem loading in *Beta vulgaris* L. *Plant Physiol* 59: 953-960.

Gifford RM, Thorne JH, Hitz WD, Giaquinta RT. (1984). Crop productivity and photoassimilate partitioning. *Science* 225: 801, 808.

Gordo LF (2003). La calidad tecnológica de la remolacha azucarera. AIMCRA, Ed. Artes gráficas. Valladolid.

Schulz A (1994). Phloem transport and differential unloading in pea seedlings after source and sink manipulations. *Planta* 192: 239-248.

Taiz and Zeiger (2000). Translocation in the Phloem. In *Plant Physiology*. Sinauer Associates, Inc., Publishers. Sunderland, Massachusetts.

Wyse RE, Zamski E, Tomos AD (1986). Turgor regulation of sucrose transport in sugar beet taproot tissue. *Plant Physiol* 81: 478-481.

Crecimiento y **D**esarrollo de la
Remolacha **A**zucarera de
Siembr a **O**toñal



CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE LA REMOLACHA AZUCARERA DE SIEMBRA OTOÑAL

Luis F. Gordo¹, Rodrigo Morillo-Velarde¹, Juan José Martínez¹ Cristina Echevarría² y Sofía García-Mauriño²

¹AIMCRA (Asociación de Investigación para la Mejora del Cultivo de la Remolacha Azucarera), Delegación Sur, C/ Metalurgia nº 36, 41080 Sevilla, España.

²Departamento de Biología Vegetal y Ecología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Avenida Reina Mercedes nº 6, 41012 Sevilla, España.

INTRODUCCIÓN

La planta de la remolacha, en su desarrollo, responde como cualquier cultivo de forma directa a las interacciones del medio donde se encuentra. Los condicionantes de temperatura, estado hídrico, situación nutricional, etc van a cuestionar su crecimiento y posterior potencial productivo.

Debido a las situaciones climáticas tan diversas que pasa la remolacha de siembra otoñal desde que se siembra hasta que se recoge no nos permite aplicar los modelos nutricionales obtenidos para el otro y mayoritario cultivo de siembra primaveral; aunque si que es cierto que ambos tipos de siembra poseen las mismas necesidades.

Consideramos que el seguimiento evolutivo de los diferentes parámetros de desarrollo de la planta a lo largo de su ciclo, nos puede dar una herramienta factible del conocimiento de su comportamiento frente a los condicionantes agronómicos y climáticos que en su conjunto van a cuestionar la producción final de cara al agricultor y la mayor posibilidad de extracción del azúcar que la raíz contiene.

OBJETIVOS

El poder predecir en tiempo y manera el comportamiento final de producción tanto agrícola como industrial de la remolacha azucarera de siembra otoñal. Se pretende obtener las curvas patrones del comportamiento evolutivo de la remolacha, curvas que nos servirán para poder caracterizar las necesidades de la planta y sus posibles correcciones puntuales. Este estudio se ha realizado dentro del proyecto de investigación FEDER 1FD97-0893-C03.

LA REMOLACHA EN ESPAÑA Y EN ANDALUCÍA

El cultivo de la remolacha en España representaba el 0,6% de la superficie cultivada. La cuota de azúcar nacional era de 1 Mt, la cual era producida mediante el cultivo de remolacha en cerca de 180.000 ha y de caña aunque como se verá la superficie cultivada es oscilante en el tiempo.

El cultivo se sitúa en tres grandes zonas (Norte, Centro y Sur) que se reparten la cuota de azúcar nacional y a la postre la producción de la raíz (ver Tabla 1). En dicha tabla tanto las hectáreas como las producciones de raíces son estimadas a partir de la cuota asignada, coeficientes que varían con el tiempo.

Tabla 1.- Cuota Nacional de Azúcar procedente de la remolacha

	Azúcar blanco (t)	t de raíz	ha cultivadas
España	985.000	7.500.000	180.000
Zona Norte	595.950	4.500.000	110.000
Zona Sur	325.050	2.520.000	60.000
Zona Centro	64.000	480.000	10.000

España goza de una doble modalidad de cultivo que se distingue por la época de siembra y recolección. Las zonas Norte y Centro siembran en primavera y recogen la cosecha en otoño-invierno y la zona Sur con dos tipos de cultivo (secano y regadío) siembran a finales del otoño para cosechar en primavera-verano. Las condiciones climatológicas que sufren ambas modalidades de siembra diferencian claramente la forma de cultivo y marcan en recolección los rendimientos industriales y agrícolas.

En la Tabla 2 se reflejan las superficies de cultivo y producciones tanto de azúcar como de remolacha en valores medios de las campañas 2000/01 a 2003/04. Las dos últimas columnas informan de las producciones medias por hectárea de raíz y de azúcar ensacado en cada zona y en el conjunto nacional.

Tabla 2.- Producciones medias cuatro últimas campaña

	Azúcar Blanco	t. de Raíz	Ha. Cultivadas	Az t/ha	Raíz t/ha
España	1.037.789	7.169.777	109.688	9,46	65,37
Zona Norte	638.410	4.230.178	57.100	11,18	74,08
Zona Sur	65.939	468.833	5.925	11,13	79,13
Zona Centro	333.440	2.470.766	46.663	7,15	52,95

En la Tabla 3, se indican los resultados de la campaña recientemente finalizada (2003/04). El dato de azúcar blanco producido es estimado aunque muy próximo al real.

Tabla 3.- Producciones medias última campaña

	Azúcar Blanco	t. de Raíz	Ha Cultivadas	Az t/ha	Raíz t/ha
España	913.225	6.519.239	97.700	9,34	66,72
Zona Norte	591.809	4.079.479	52.200	11,34	78,15
Zona Sur	55.356	417.569	5.000	11,07	83,51
Zona Centro	266.060	2.022.191	40.500	6,57	49,93

Las producciones nacionales son oscilantes. La máxima producción de azúcar blanco se produjo en la campaña 2002/03 con 1.200.000 t. Siendo la pasada con 913.000 t la que menos produjo. Lo mismo nos ocurrió con respecto a la cosecha de raíz; con respecto al azúcar envasado por hectárea el máximo rendimiento se dio en la campaña 2002/03 con 10,31 t/ha frente a la 2001/02 que superó escasamente las 8 t/ha. La superficie cultivada ha disminuido en estas cuatro campañas, pasando como media nacional de 120.000 ha en la campaña 2000/01 a 97.700 ha en la pasada. Los aumentos de producción han sido patentes lo que ha motivado que se llegue, como media nacional, casi a la barrera impensable hace unos años de 10 t/ha de azúcar ensacado.

En la siembra otoñal la superficie cultivada ha disminuido en las cuatro últimas campañas un 27% siendo las producciones medias de raíz oscilantes entre 56 t/ha de la campaña 2002/03 a 49 t/ha de la 2001/02. La mayor producción de azúcar ensacado por hectárea la obtuvo la campaña 2002/03 con 8,09 t/ha.

En la Tabla 4 se reflejan las diferentes condiciones de temperatura y pluviometría de la campaña 2003/04 que sufre el cultivo a lo largo de su ciclo según siembras.

La mayor parte de la superficie sembrada en la zona norte se realiza en el mes de marzo, la nascencia plena se efectúa en el mes de abril, la Eto correspondiente en este período es inferior a la de la siembra otoñal para la misma época de cultivo. Uno de los condicionantes que cuantifica la diferencia entre las dos siembras es el valor de la Eto que es sumamente elevada en la siembra otoñal, precisamente en el período en el que el cultivo presenta su máximo desarrollo; la Eto de los meses de mayo a agosto supera los 170 mm, frente a las necesidades de la siembra primaveral (meses de julio a septiembre) que no alcanza los 100 mm. Otro dato importante es la radiación neta recibida en esos meses en los que la siembra primaveral no alcanza los 800 MJ/m², valor que es superado en la siembra otoñal. Hay que destacar como otra diferencia las temperaturas medias que soporta la planta en esos períodos críticos, en los que la siembra otoñal alcanza los 25°C (meses de junio a agosto), mientras que en la siembra primaveral

Aspectos fisiológicos de la remolacha azucarera de siembra otoñal

Tabla 4.- Datos comparativos climáticos entre las dos siembras. Coloreado los meses de cultivo.

		Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio
Siembra Primavera	Temp. Media °C	3,6	3,8	9,4	10,6	14,6	21,5
	ETo(P.MON.) mm	12,4	15,6	23,8	26,8	33,4	50,5
	Radiación neta MJ/m ²	211,1	220,8	445,9	554,3	781,8	772,7
	Precipitación mm	71,2	58,8	28,0	49,4	26,6	14,4
Siembra Otoño	Temp. Media °C	3,6	3,8	9,4	10,6	14,6	21,5
	ETo(P.MON.) mm	12,4	15,6	23,8	26,8	33,4	50,5
	Radiación neta MJ/m ²	211,1	220,8	445,9	554,3	781,8	772,7
	Precipitación mm	71,2	58,8	28,0	49,4	26,6	14,4
		Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
Siembra Primavera	Temp. Media °C	21,1	23,4	17,9	10,9	8,0	4,5
	ETo(P.MON.) mm	86,0	69,4	60,8	39,0	28,2	17,7
	Radiación neta MJ/m ²	774,1	628,0	389,9	237,7	158,5	152,0
	Precipitación mm	18,4	26,8	17,2	94,0	71,8	23,6
Siembra Otoño	Temp. Media °C	24,8	26,2	22,0	15,5	10,4	10,5
	ETo(P.MON.) mm	212,1	193,0	144,1	72,5	40,8	34,5
	Radiación neta MJ/m ²	895,8	763,2	625,5	350,0	284,9	244,5
	Precipitación mm	0,0	0,2	34,6	162,6	98,4	93,8

no llega a alcanzar en ningún mes de cultivo dicha temperatura. En el período de arranque las diferencias entre una y otra siembra alcanzan los 17°C (primaveral frente a otoñal).

Las precipitaciones por año son superiores en la siembra otoñal (648,6 mm) que en la primaveral (500 mm) aunque muy desuniformemente repartidos en la otoñal; con períodos fuerte de lluvia al comienzo del cultivo (que facilita la nascencia y asentamiento de la planta) y brusca parada en los períodos de más necesidades hídricas.

Todo lo anterior conlleva a hacer un tratamiento diferencial a una u otra siembra, buscando actuaciones propias que rentabilicen el cultivo. Bien es cierto que en el regadío otoñal se alcanzan con naturalidad producciones de 80 t/ha, techo que fácilmente se puede superar con una adecuación correcta del cultivo que se va desarrollando gracias a la investigación aplicada de AIMCRA y al esfuerzo de múltiples agricultores que asumen las recomendaciones que se les proporciona realizando un manejo apropiado del cultivo.

Debido a las condiciones climáticas de la siembra otoñal, ha habido una revolución sustancial en la fecha de siembra que lentamente ha ido siendo adelantada (normalmente se realiza en el mes de octubre), aumentando con ello el ciclo y escapando en la mayor medida posible de las altas temperaturas que se producen en el verano que provocan serios deterioros a la raíz. A su vez el adelantamiento de la siembra ha inducido un desarrollo rápido de la planta provocando la posible invernización de la misma que puede inducir a un aumento sustancial del espigado. Estas siembras tempranas producen una serie de ventajas importantes como son: el mejor aprovechamiento de las lluvias de otoño-invierno; un adelanto sustancial de la nascencia; desarrollo rápido de las hojas; facilidad de la aplicación de los herbicidas de postemergencia; cierre más temprano del ciclo, con una recolección más temprana que lleva a un aumento sustancial de la producción. Frente a las ventajas expuestas existen también inconvenientes como son: el aumento del espigado y la mayor aparición de plagas y enfermedades que van a llevar a la realización de mayor número de tratamientos insecticidas y fungicidas.

Hoy día prácticamente el 95% de la siembra se realiza de precisión utilizando o bien variedades monogérmes genéticas ó con semillas multigérmes calibradas. Una distribución del tipo de semilla utilizada sería:

• Monogérmes pildoradas	52,2%
• Monogérmes desnudas	1,4%
• Multigérmen calibrada pildorada	42,1%
• Multigérmen calibrada	0,3%
• Multigérmen natural	4,0%

Es importante destacar que AIMCRA realiza un control anual de todos los lotes vendidos en el mercado.

DESARROLLO EVOLUTIVO DEL CULTIVO

El estudio evolutivo del cultivo, se ha basado en el seguimiento de 17 campos en la campaña 2001, 4 en la 2002 y 3 en la 2003.

A.- Caracterización climatológica de las tres campañas

En el cuadro adjunto se muestran comparativamente los diferentes datos climáticos, sobre la misma estación meteorológica (Rinconada), de las tres campañas donde se ha realizado este proyecto. La comparación se realiza mensualmente. En la

Mes	Tª Máxima (°C)			Tª Mínima (°C)			Tª Media (°C)		
	2001	2002	2003	2001	2002	2003	2001	2002	2003
Oct	24,2	25,7	25,4	10,2	14,7	12,5	17,2	19,6	18,4
Nov	18,5	18,0	19,4	6,9	7,2	8,0	12,8	12,0	13,7
Dic	15,9	15,6	16,5	7,1	5,6	8,2	11,3	10,1	12,1
Ene	15,1	16,6	14,8	7,1	6,2	4,5	11,0	10,9	9,2
Feb	18,1	19,1	16,2	7,0	5,4	4,8	12,0	11,7	10,2
Mar	21,1	21,3	21,5	10,6	9,2	9,4	15,6	14,9	15,0
Abr	25,2	23,2	21,9	10,0	10,3	10,6	17,6	16,6	15,9
May	26,3	26,9	29,1	12,4	11,5	13,9	19,3	19,4	21,6
Jun	33,3	31,0	32,3	15,8	16,0	17,1	24,7	23,4	24,6
Jul	32,3	33,6	34,7	16,0	16,7	16,4	24,2	25,0	25,4
Ago	35,7	32,3	41,2	18,2	16,9	21,2	26,6	24,2	30,8

Mes	Precipitación (l/m²)			Radiación (MJ/día)			Eto (mm/día)		
	2001	2002	2003	2001	2002	2003	2001	2002	2003
Oct	16,1	38,2	25,4	14,0	12,3	13,3	2,3	2,9	3,0
Nov	63,9	94,6	141,8	8,8	10,5	9,0	1,5	1,8	1,6
Dic	181,6	59,0	90,8	5,6	7,5	7,5	1,1	1,6	1,1
Ene	171,2	45,0	51,8	6,7	9,2	9,5	1,1	1,6	1,5
Feb	19,2	5,2	61,6	11,1	12,8	12,0	2,2	2,3	1,8
Mar	149,2	91,6	45,6	13,8	16,3	15,8	2,9	3,2	3,4
Abr	4,2	57,6	109,4	23,3	20,2	19,9	5,1	4,3	4,0
May	22,4	11,8	11,4	22,4	25,8	26,3	5,0	5,7	5,8
Jun	1,0	4,0	0,6	28,2	27,7	27,1	6,3	6,4	5,9
Jul	0,4	0,0	0,0	26,0	28,6	28,4	5,7	6,4	5,9
Ago	0,0	0,0	0,0	23,9	25,8	25,8	5,4	5,8	6,2

temperatura media, máxima, mínima, radiación y ETo se representa la media diaria, mientras que la precipitación representa la suma del mes correspondiente.

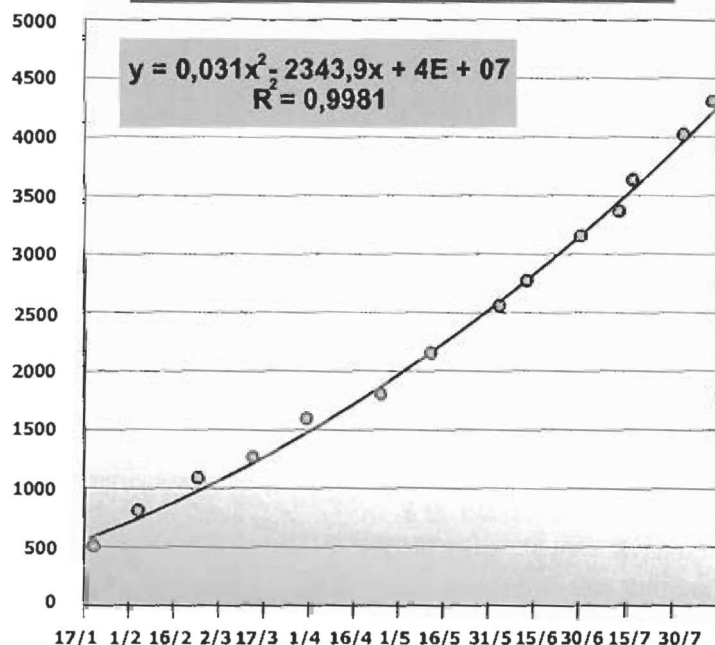
De los datos climatológicos mostrados se destaca el año 2003 con el invierno (Enero-Febrero) más frío que ha existido dando medias mensuales inferiores en más de 1,5°C a los otros años. También se puede mencionar el incremento de temperaturas desde Abril a Mayo donde se produce un aumento en las temperaturas máximas de 7,2°C frente a 3,7°C en el 2002 y 1,1°C en el 2001, así como en las temperaturas mínimas con un incremento de 3,3°C frente a 1,2°C y 2,4°C respectivamente. Aunque en Junio las temperaturas máximas y medias fueron similares al resto de las campañas no ocurrió así con las temperaturas mínimas que se mantuvieron superiores durante este mes.

Sobre las precipitaciones el invierno más lluvioso ha sido el del 2001 con un 340% más que el 2002 y 180% que el 2003. En el período de asentamiento del cultivo (meses de abril y mayo) el año 2003 es el que más agua ha recibido, el 2001 con un 22% sobre aquel es el que menos lluvias han tenido, también el 2002 tan solo ha recibido un 57% de lo que ha tenido el 2003. En su computo general la lluvia recibida en cada año en los meses de octubre a agosto ha sido de 629,2 L para el año 2001; de 407 L en el 2002 y de 538,4 L en el 2003. En términos relativos el año 2002 ha recibido de agua de lluvia un 64% de la que había recibido el 2001 y el 2003 un 85% de la del 2001.

B.- Seguimiento evolutivo

La metodología empleada en este estudio nos permite hablar de tendencias más que de valores absolutos. Con el fin de minimizar el efecto de siembra y fecha de nascencia, el estudio evolutivo se ha basado en referencia a los grados-día acumulados en el cultivo. Algunos autores como Holen consideran que el desarrollo fenológico depende de las temperaturas acumuladas desde la siembra, así indican que para que se produzca la emergencia el número de grados-día acumulados debe de ser de 230 y de 570

Fig. 1.- Relación grados-día y fecha de cultivo



Aspectos fisiológicos de la remolacha azucarera de siembra otoñal

para que la planta presente las primeras hojas verdaderas. La relación grados-día acumulados y las fechas medias de toma de muestra sigue una parábola de segundo grado con R^2 de 0,998, Fig. 1.

• Producción de Raíz

Observando la Fig. 2, el peso de raíz crece lentamente hasta finales de febrero donde a partir de ahí casi sube exponencialmente hasta primeros de junio donde tiende a estabilizarse con un ligero ascenso. ECHO que parece producirse cuando las temperaturas medias alcanzan los 25°C y los grados-día acumulados se aproximan a los 3500. La curva de ajuste representa una parábola de tercer grado con un R^2 de 0,993.

• Producción Foliar

La producción de materia foliar -Fig. 3- cumple una parábola de tercer grado con R^2 de 0,989, con un máximo a finales de mayo, correspondiendo a unos 2500 grados-día. Tanto la pendiente de acumulación positiva del primer período (hasta finales de mayo) como la del segundo negativa son prácticamente iguales. Es de destacar la fuerte pérdida de masa foliar que se produce a partir de la segunda quincena de junio, llegando a perder cerca del 80% hasta el final de las tomas. Se puede indicar que el efecto que parece ser produce esa pérdida de hojas lo marca la temperatura media diaria, que ya en el mes de junio alcanza valores próximos a los 25°C.

Fig. 2.- Evolución de la Producción de Raíz (t/ha)

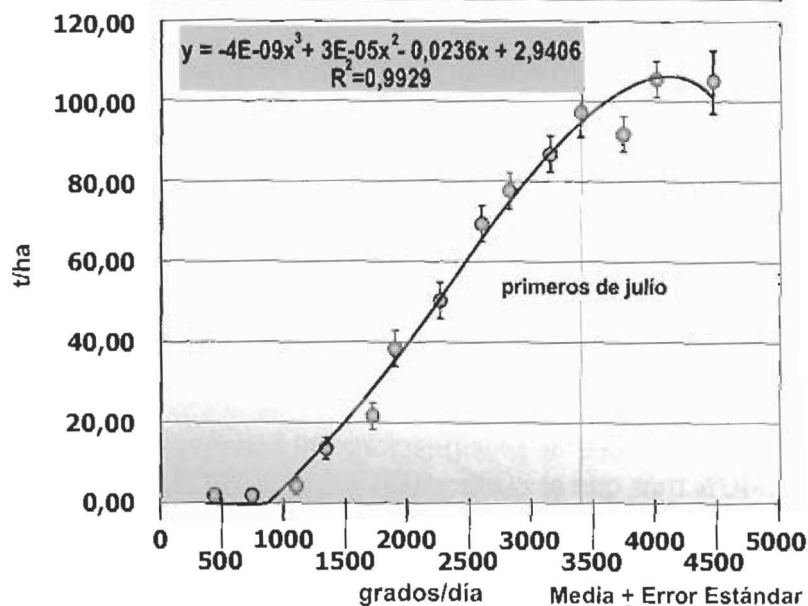
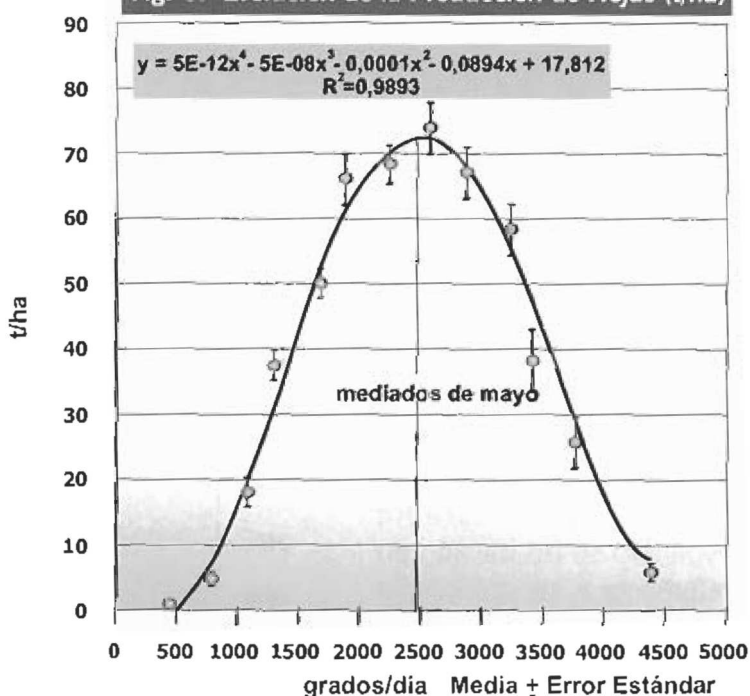
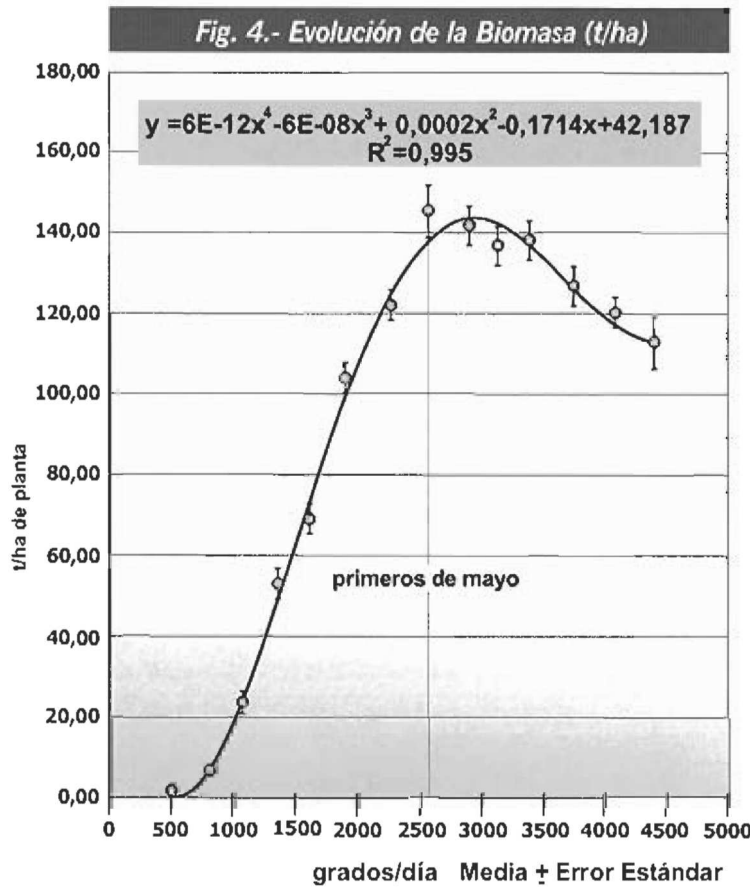


Fig. 3.- Evolución de la Producción de Hojas (t/ha)



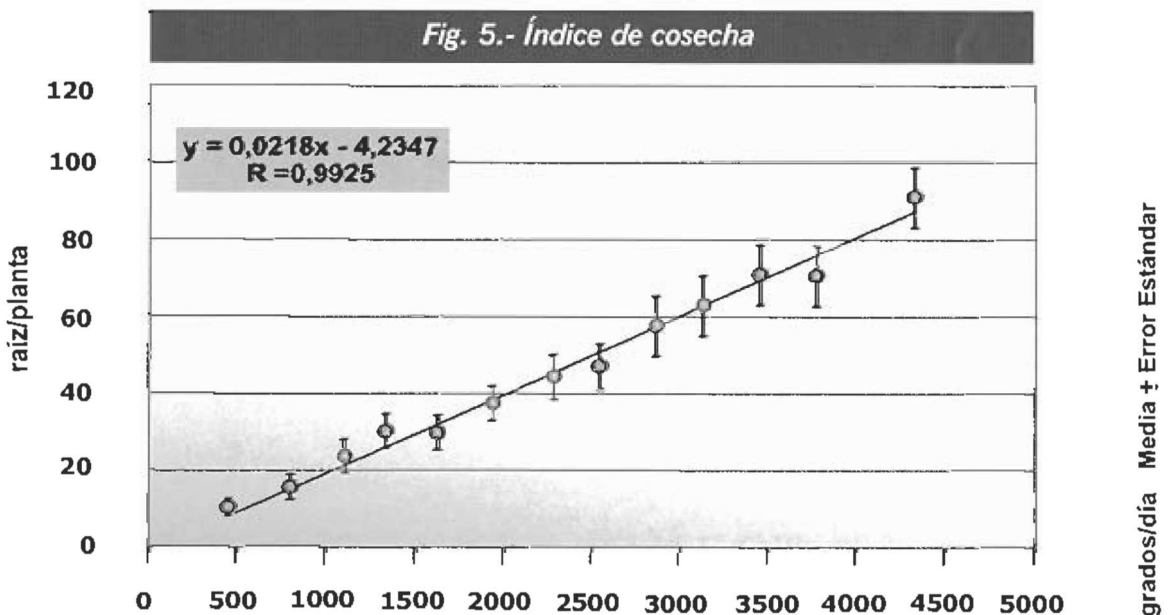


• Producción de biomasa total

Observando la Fig. 4 donde se representa la producción del total de la planta (Hojas + Raíz) podemos ver cómo existe un crecimiento inicial de tipo exponencial hasta mayo. A partir de aquí se produce un descenso en la biomasa hasta las 112 t/ha en final de toma. La curva de ajuste es una parábola de segundo grado con un R^2 de 0,995.

• Índice de cosecha

Denominamos índice de cosecha a la relación que existe entre el peso de la raíz y el de la planta completa. Su estudio evolutivo se puede ver en la Fig. 5. La recta de ajuste frente a los grados-día presenta una pendiente positiva de 0,0218 con un R^2 de 0,993.



Aspectos fisiológicos de la remolacha azucarera de siembra otoñal

• Cobertura

En la Fig. 6 se muestra la evolución de la cobertura a lo largo del ciclo. Se observa como la cobertura crece hasta primeros de mayo, manteniéndose así casi todo un mes, entre valores comprendidos de 2200 a 3200 grados-día. A partir de ese punto la planta comienza a perder hojas hasta alcanzar el 32% de cubrición en el último muestreo. La curva de ajuste es una parábola de segundo grado con un R^2 de 0,984.

• Hojas por planta

La evolución del número de hojas por planta, Fig. 7, va muy pareja con el porcentaje de la cobertura, presenta una parábola de segundo grado semejante a esta, con un máximo que se alcanza a finales de mayo con 34 hojas/planta, para empezar a descender en la segunda semana de junio, cuando ya los grados-día alcanzan valores iguales o superiores a 3000 y las temperaturas medias rondan los 25°C llegando a perder más del 70% de hojas a primeros de agosto, con grados-día próximo a los 4500. La curva de ajuste presenta un R^2 de 0,989.

• Radiación interceptada

La eficiencia del uso de la radiación recibida es importante para mantener un gradual desarrollo de la planta, al depender de ella toda la fotosíntesis. En la Fig. 8 se

Fig. 6.- Evolución de la cobertura

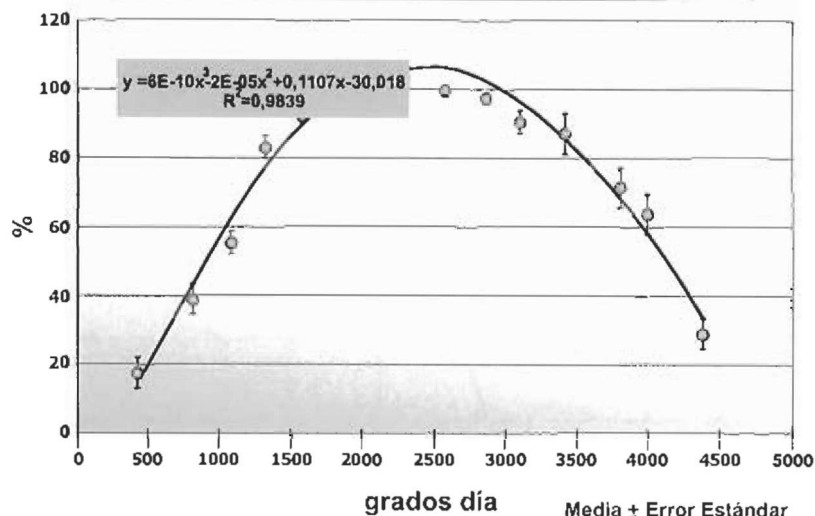
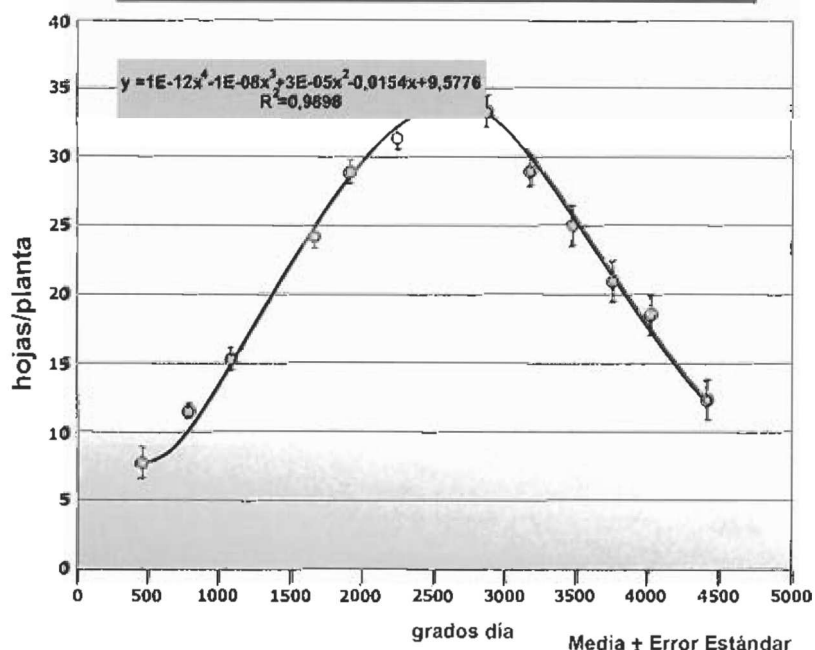


Fig. 7.- Evolución del nº de hojas por planta



representa la tasa de radiación recibida y la interceptada, esta última depende del porcentaje de cobertura del cultivo. Las tasas máximas de aprovechamiento de la radiación se producen cuando los grados-día alcanzan el valor de 2500 reduciéndose casi de la misma manera que había tenido antes de alcanzar ese máximo. A partir de mediados de julio sufre una caída brusca en el aprovechamiento de la radiación, para llegar a mediados de agosto con una eficiencia de tan solo el 30%.

Fig. 8.- Radiación Interceptada y recibida

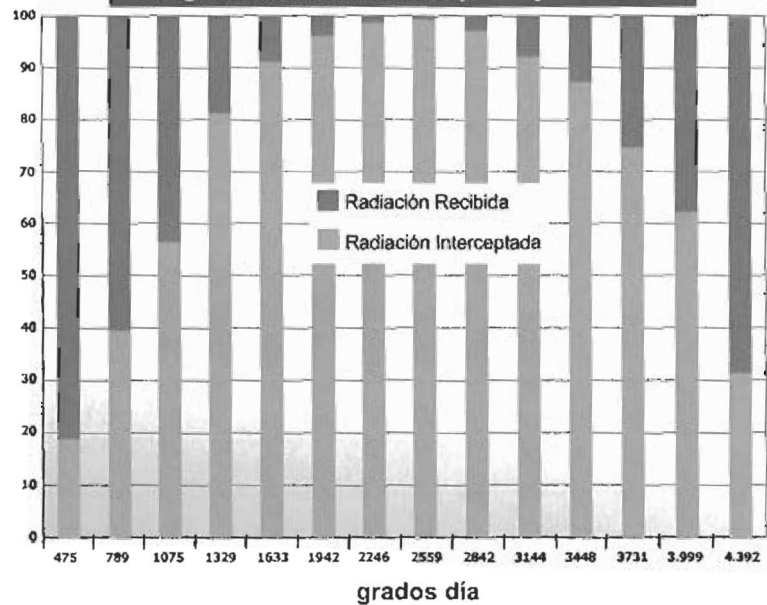
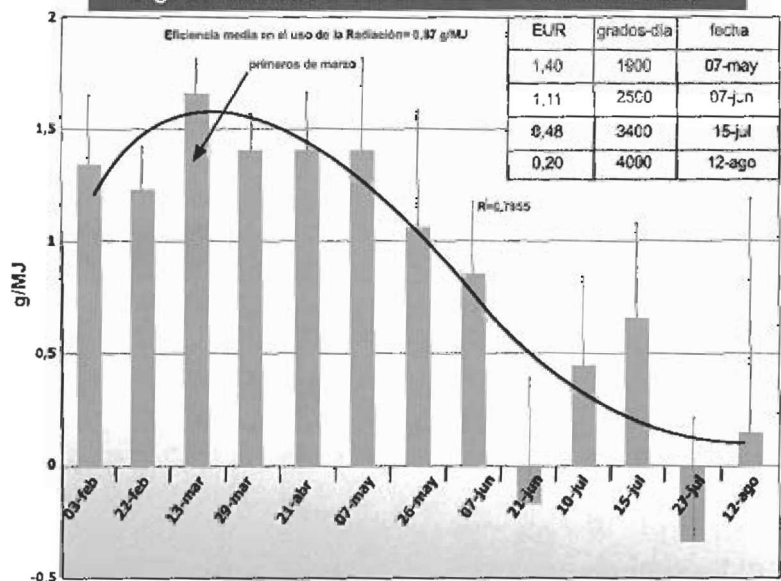


Fig. 9.- Eficiencia del uso de la Radiación (EUR)



Se ha determinado la eficiencia media del uso de la radiación por la planta. Se define como la cantidad de MJ/m² que la planta utiliza para crear un gramo de materia seca. En la Fig. 9 se representa la eficiencia por días desde nacimiento. Los datos que existen en la bibliografía corresponden a Cooke y Scott que dan como eficiencia media para el cultivo en Inglaterra de 1,74 g/MJ, y para días muy luminosos de 1,90 g/MJ aquí, en la siembra otoñal se ha obtenido un valor medio de 0,87 g/MJ, este dato es el 50% del que dan los ingleses, es decir que la remolacha en la siembra otoñal desperdicia un 50% de la radiación que recibe en relación a las plantas cultivadas en Inglaterra, este uso en teoría menor puede llevar a confusión pues hay que tener en cuenta que la luminosidad de los cielos andaluces es muy superior a los de Inglaterra y en estas condiciones la menor radiación que recibe el cultivo es mayormente aprovechada por la planta, aunque sí en sus valores absolutos

Aspectos fisiológicos de la remolacha azucarera de siembra otoñal

se podría indicar que la capacidad de conversión de la remolacha de siembra otoñal es inferior a aquella, posiblemente debido a que aquí se alcanza la saturación del sistema fotosintético más rápidamente. La pérdida de hojas en la siembra otoñal se hace evidente a partir de primeros de julio pues desde esa fecha hasta el final del cultivo la EUR obtiene valores medios relativamente pequeños. Al tomar valores medios por períodos de grados-día, según la Tabla 5, se obtienen cuatro puntos que se ajustan a una recta con pendiente negativa de 0.42:

Tabla 5.- Valores medios de la EUR según períodos en grados-día

Grados-Día	EUR en g/MJ
a 1.900	1,40
1.900-2.500	1,11
2.500-3.400	0,48
a fin	0,20

• Tasas de crecimiento relativo

Se podría definir como la capacidad que tiene la planta por la radiación recibida en producir un kilogramo de tejido nuevo por kilogramo de tejido antiguo.

Para determinar las tasas de crecimiento relativo se aplica en cada punto la siguiente ecuación:

$$T = (\ln(P) - \ln(P_a)) / (GD - G_{da})$$

• Donde P es la producción en un punto

• Pa es la producción en el punto anterior

• GD son los grados-día del punto

• Gda los grados-día de punto anterior.

Fig. 10.- Relación grados-día y fecha de cultivo

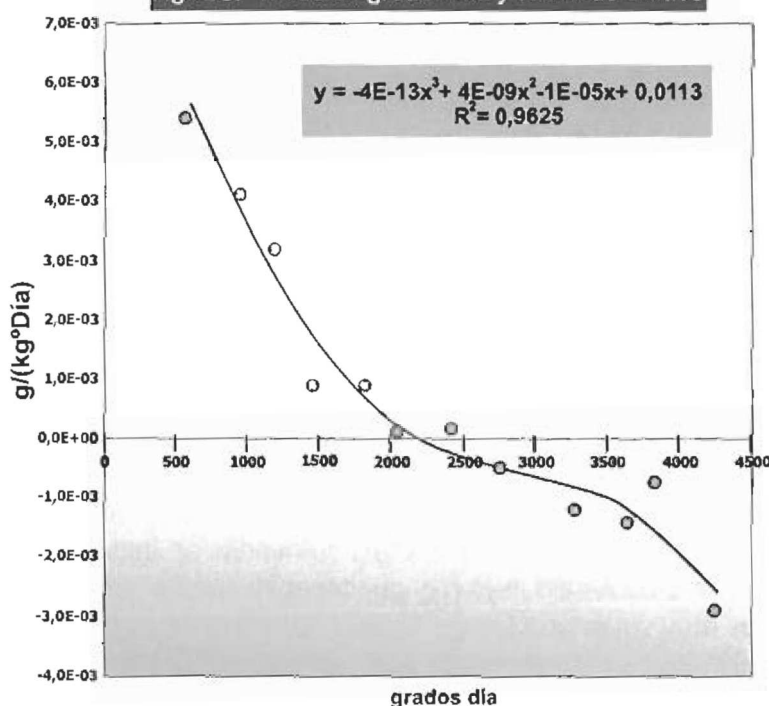


Fig. 11.- Tasa de crecimiento relativo de Raíz

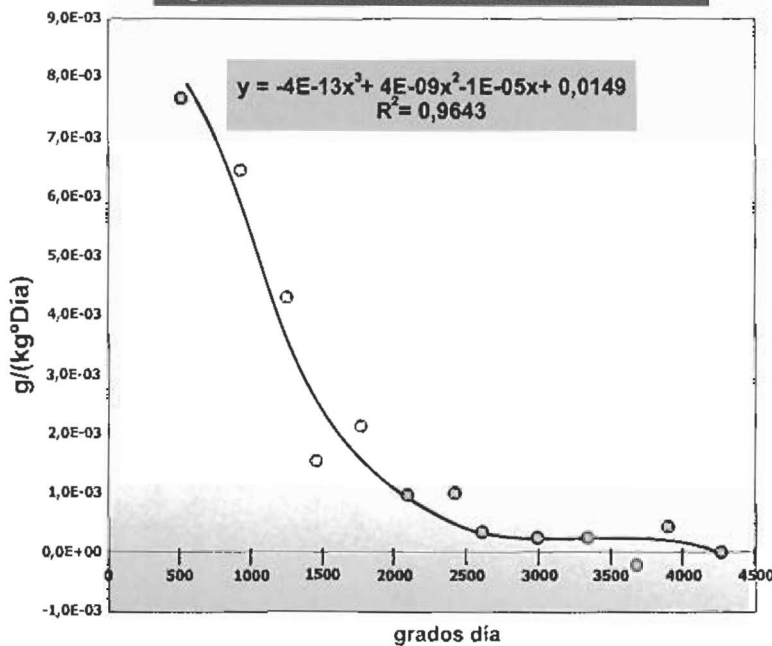
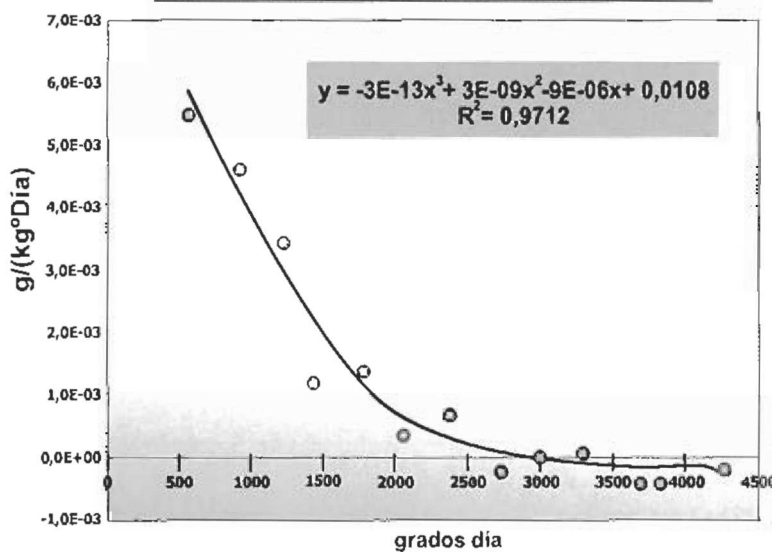


Fig. 12.- Tasa de crecimiento relativo de Planta



La Fig.10, 11 y 12 representan las tasas de crecimiento relativo de las hojas, de la raíz y de la planta completa. Las curvas de ajuste son parabólicas de tercero, todas ellas presentan un R^2 superior a 0,96.

La tasa de crecimiento relativo de hojas es muy alta al principio, disminuye posteriormente al no desarrollarse en proporción a la radiación recibida. Posee un punto, alrededor de los 2500 grados-día, en el que es netamente negativa provocado por la pérdida de masa foliar.

El aprovechamiento de la radiación recibida en la producción de raíz es relativamente alto al comienzo del ciclo, realizando una caída relativa desde el principio del muestreo (gran producción de peso de raíz), para estabilizarse a los 2500 grados-día manteniendo a partir de ese momento prácticamente inalterada.

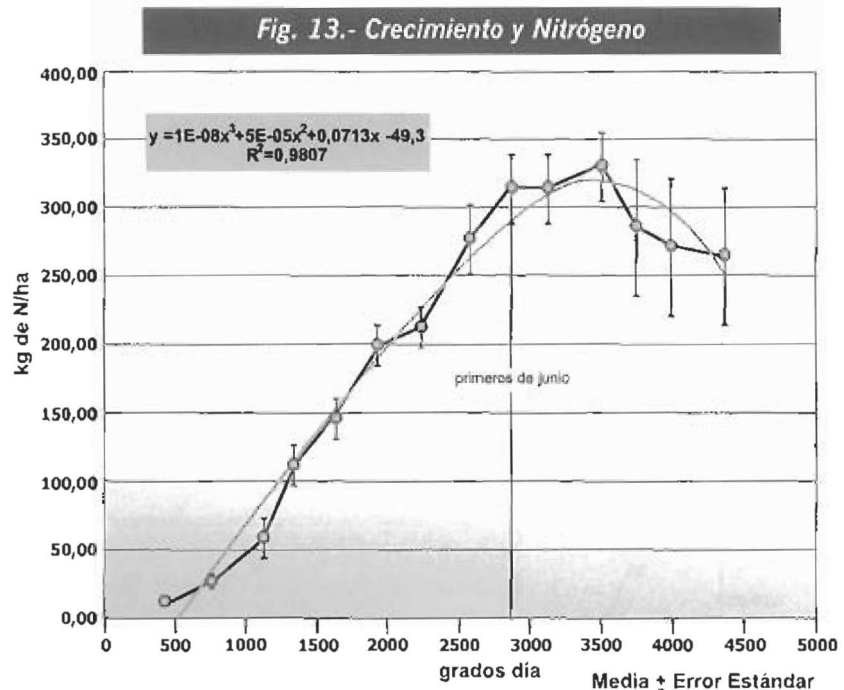
La tasa de crecimiento relativo de la planta (hojas y raíces) es parecida a la de las raíces. Disminuye desde el principio siendo negativa a partir de los 2500 grados-día.

Todo parece indicar que al pasar la barrera de los 2500 grados-día la tasa de crecimiento de la planta se estabiliza y toda la energía que recibe la utiliza para mantenerse.

C.- Evolución de los parámetros químicos analizados

• **Nitrógeno total asimilado**

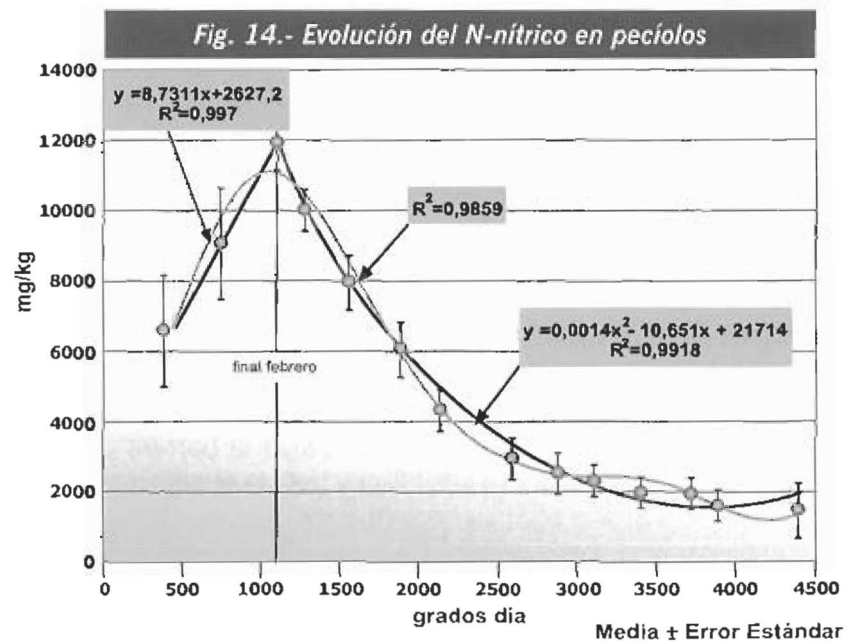
La Fig. 13 representa el nitrógeno asimilado por el cultivo (kg de N/ha). Como se puede observar el nitrógeno tomado aumenta fuertemente hasta primeros de junio (con tasa de asimilación superior a 300 kg/ha), a partir de aquí la planta deja de tomar nitrógeno o al menos lo toma al mismo ritmo que lo pierde (por pérdida de masa foliar). A partir de mediados de julio, cuando los grados-día acumulados superan la barrera de 3500, la pérdida de nitrógeno supera ya los 50 kg/ha, alcanzando al final del cultivo (mediados de agosto), una pérdida próxima a los 100 kg/ha.



La curva de ajuste es una parábola de tercer grado con un R^2 de 0,981.

• **Nitrógeno nítrico en peciolo**

Éste es uno de los parámetros que consideramos más importante en el desarrollo evolutivo del cultivo y nos va a marcar todos los parámetros de producción, como veremos más adelante.



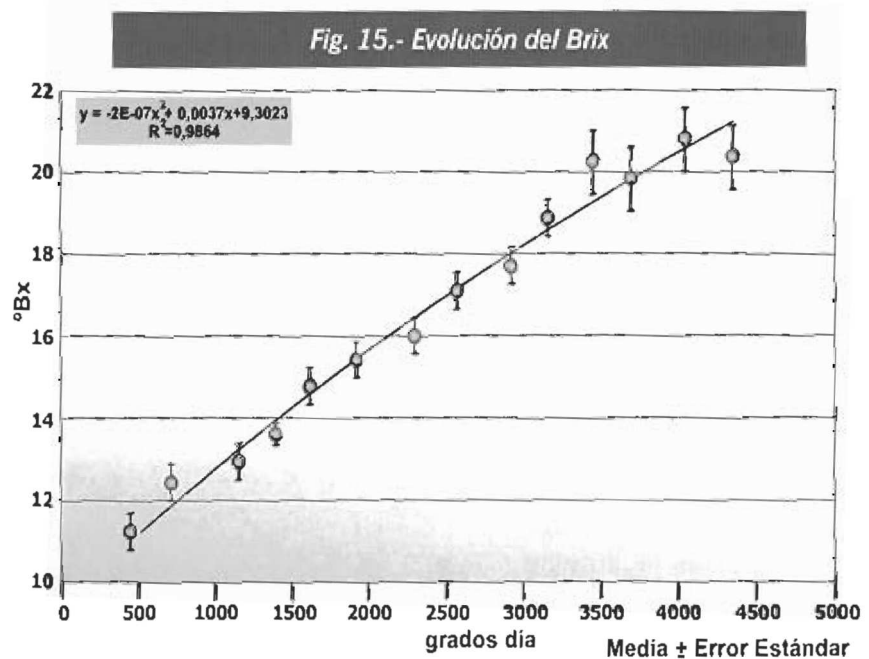
La curva de asimilación global (Fig. 14) la podemos dividir en dos tramos; el primero que corresponde desde el asentamiento del cultivo hasta el máximo de asimilación, la cual se ajusta perfectamente a una recta con un R^2 de 0,997. Dicho punto se nos produce en los aproximadamente 1000 grados-día y que en período de cultivo está alrededor de finales de febrero. En esta época es cuando la remolacha podría necesitar más el nitrógeno mineral.

A partir del máximo y hasta el final del seguimiento, la evolución del contenido de nitrógeno nítrico decrece en forma de parábola de segundo grado, la curva presenta un R^2 de 0,992, la pendiente de decrecimiento marcará los potenciales productivos en la recolección.

Realizado el ajuste con todos los puntos, la parábola presenta un R^2 de 0,986.

• Evolución del Brix

El Brix representa el porcentaje de sólidos solubles que contiene la raíz. Se ha mostrado su evolución en la Fig. 15. La tendencia que presenta es muy semejante a la dada por la polarización en todos los puntos del m u e s t r e o , separándose al final del ciclo, por a c u m u l a c i ó n proporcional de más no azúcares solubles. Desde el comienzo e v o l u c i o n a positivamente

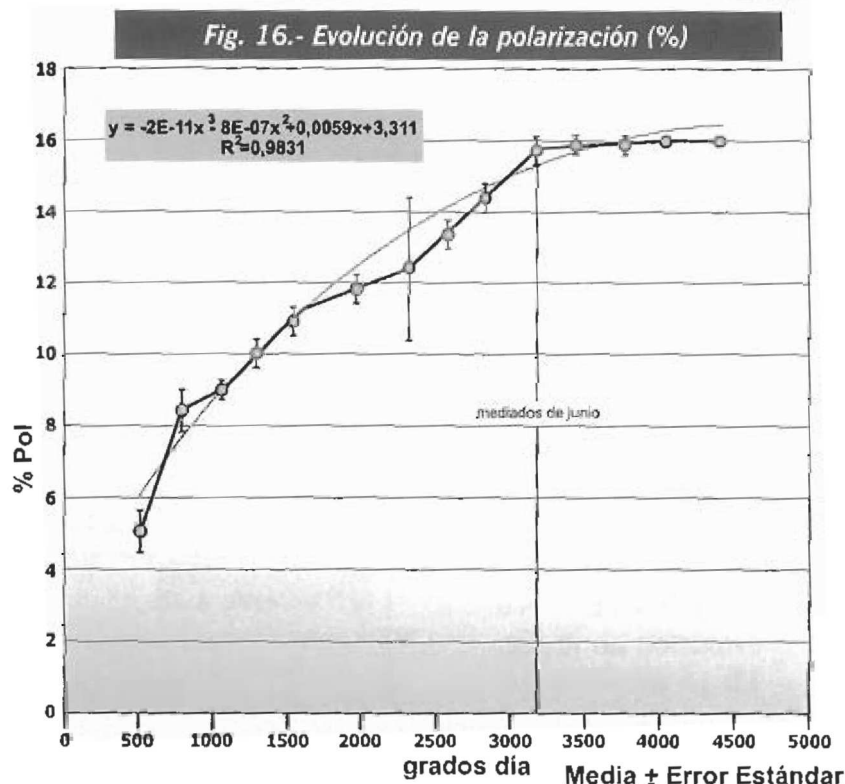


aumentado 9 puntos desde el comienzo hasta que la planta ha acumulado 3500 grados-día (primeros de julio) a partir de dicho punto la tasa de acumulación de solutos se mantiene, tendiendo al final a una ligera disminución. La parábola de ajuste es de segundo grado con un R^2 de 0,986.

Aspectos fisiológicos de la remolacha azucarera de siembra otoñal

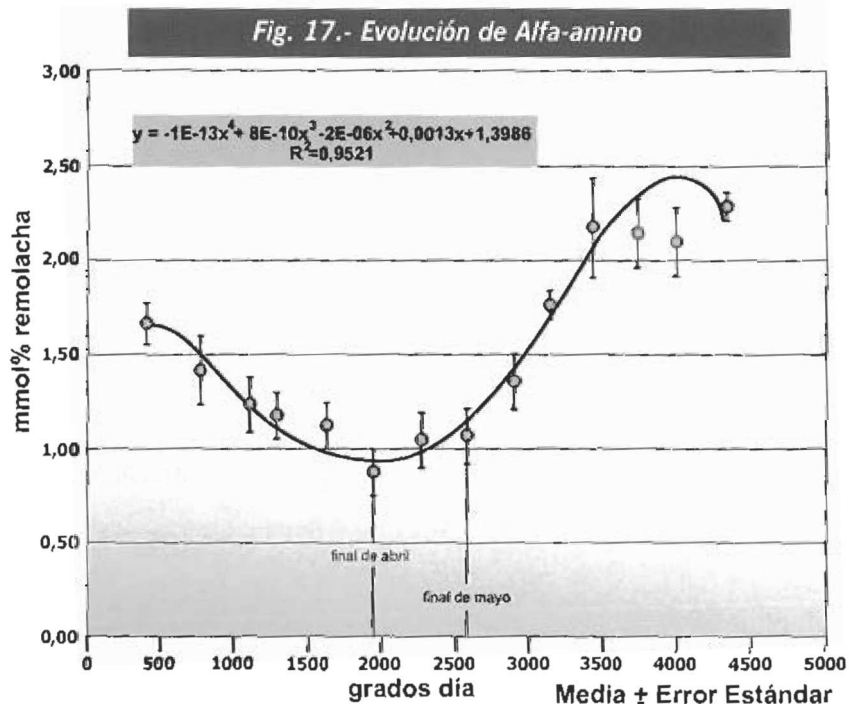
• Evolución de la polarización

La acumulación de sacarosa en la raíz es progresiva a lo largo del cultivo (Fig. 16) hasta mediados de junio, punto donde la pérdida de hojas se hace más patente, a partir de esa fecha el movimiento acumulativo de sacarosa puede ser más debido a la desecación de la raíz que a la propia acumulación de la misma. La curva de ajuste se representa mediante una parábola de tercer grado con un R^2 de 0,983. Desde el principio del cultivo y hasta que la planta recibe los 2500 grados-día ha acumulado el 276% de la sacarosa inicial, a partir de ese punto y hasta mediados de junio aumenta un 13% y de ahí hasta final de cultivo un 6%.



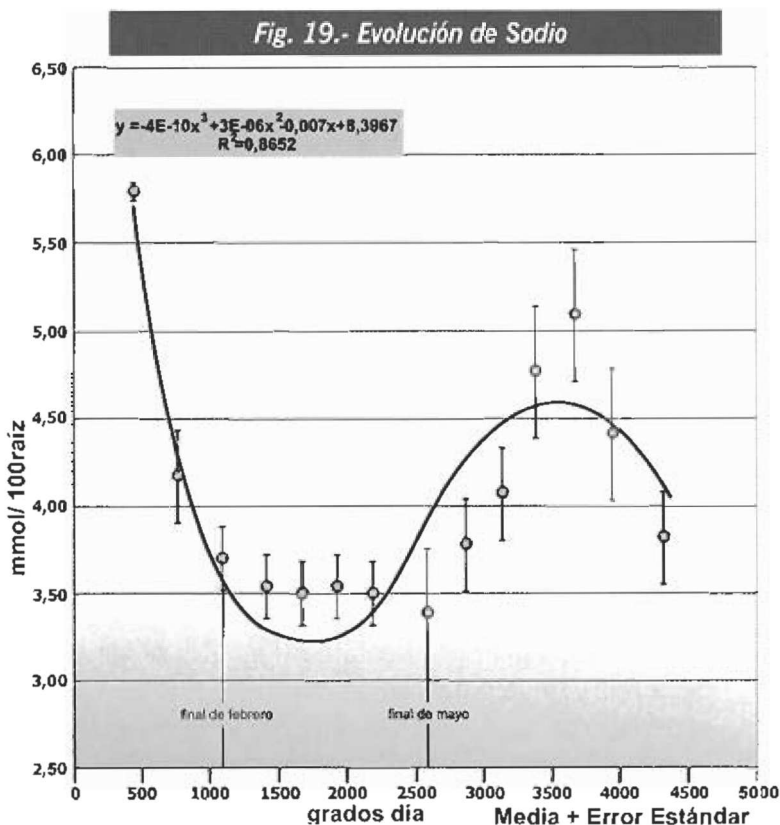
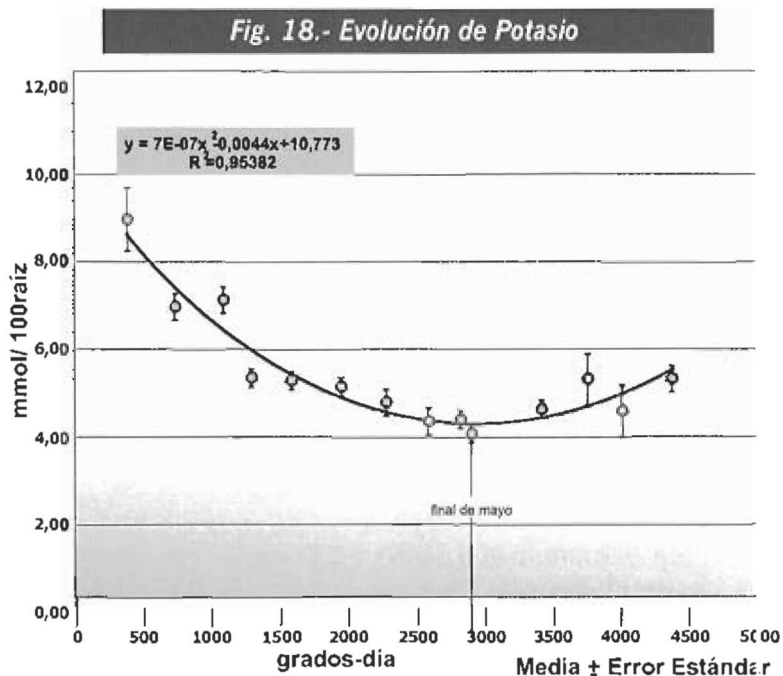
• Evolución de los no-azúcares fácilmente medibles

Como no-azúcares fácilmente medibles y que repercuten muy directa y negativamente en el rendimiento industrial, provocando que la sacarosa no vaya "al saco", son el nitrógeno a-amino procedente de los aminoácidos, el potasio, sodio y los azúcares reductores.



En la Fig. 17 se presenta la evolución que sigue en el cultivo los contenidos de alfa amino nitrógeno que contiene la raíz frente a los grados-día acumulados. La curva de ajuste es una parábola de cuarto grado con un R^2 de 0,952. Desde el comienzo y hasta finales de abril, con cerca de 2000 grados-día acumulados, la acumulación del nitrógeno a-amino es negativa, a partir de esa fecha y hasta finales de mayo (próximo a los 2500 grados-día) comienza lentamente a aumentar y a partir de esa fecha las acumulaciones de aminoácidos en raíz son fuertemente elevadas hasta llegar a los 3500 grados donde se estabiliza ya en valores relativamente altos. Desde final de mayo a final de recolección se han duplicado los contenidos en alfa-amino-nitrógeno.

Los contenidos de potasio en raíz (Fig. 18) disminuyen fuertemente hasta los 1500 grados-día, a partir de ese punto y hasta los 2500 grados-día la disminución es más lenta manteniéndose en valores prácticamente iguales hasta que supera los 3000 grados-día en que vuelve a tener una tendencia positiva. La curva de ajuste es una



Aspectos fisiológicos de la remolacha azucarera de siembra otoñal

parábola de segundo grado con un R^2 de 0,938.

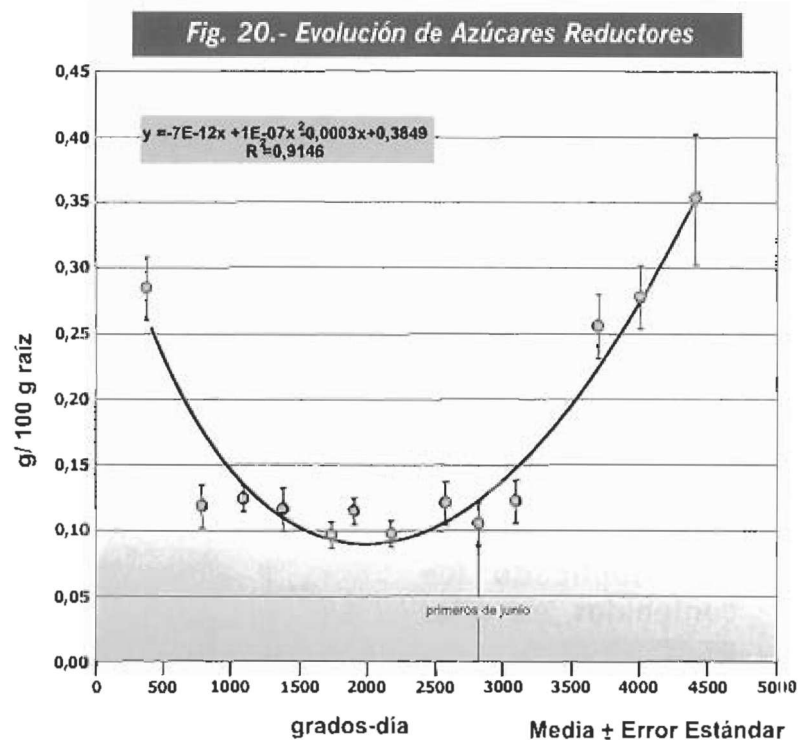
La evolución del sodio de la raíz está representada en la Fig. 19. La curva comienza con altos contenidos para decaer fuertemente hasta que los grados-día superan el valor de 1000 (final de febrero) punto en el que a partir de él los contenidos permanecen constantes hasta que la planta ha superado los 2500 grados-día, a partir de ese punto los contenidos de sodio en la raíz comienzan a ascender hasta presentar un máximo alrededor de los 3700; el aumento de contenido en sodio en ese período es del 56%. A partir de los 3700 grados-día y al final del período pierde un 33% de lo acumulado anteriormente. La curva de ajuste es una parábola de tercer grado con un R^2 de 0.865.

La Fig. 20 representa la evolución del contenido de azúcares reductores (glucosa y fructosa) en la raíz. La planta posee valores relativamente altos en el primer punto de muestreo, para disminuir el 150% ya en el segundo. Desde ese punto que corresponde a un valor aproximado de 800 grados-día se mantiene prácticamente constante hasta superados los 2500 grados-día momento en el que los contenidos de la raíz en azúcares reductores crecen con una pendiente altamente positiva, triplicando su valor al final del cultivo.

La curva de ajuste es una parábola de tercer grado con un R^2 de 0,915. La amplitud del error estándar en los cuatro últimos puntos de los muestreos, nos indica que no todos los campos han sufrido la misma tasa de acumulación de reductores, aunque en todos ellos los contenidos son muy altos.

• Evolución del azúcar obtenido por hectárea

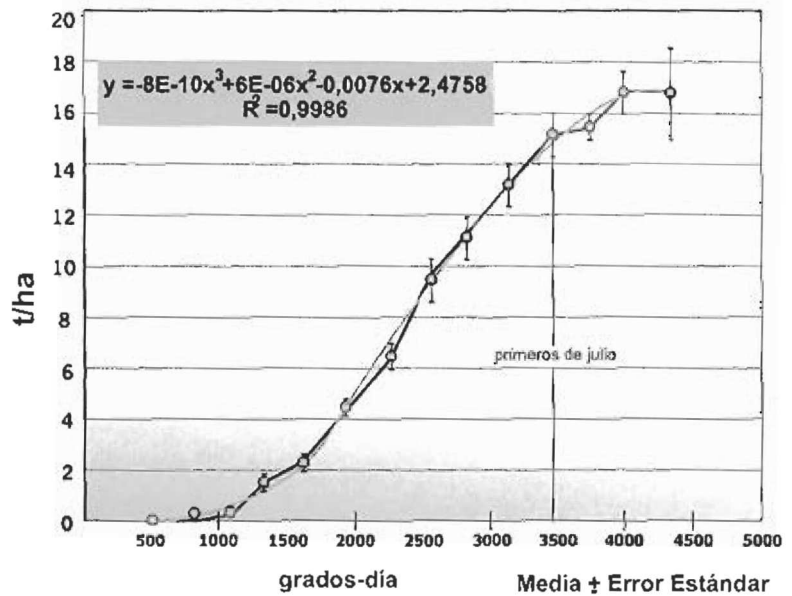
El azúcar por hectárea (Fig. 21) al ser un parámetro obtenido a partir del peso de la raíz y de la polarización mantiene una curva muy parecida a la de aquellos. Durante el período de formación de la planta y mientras las condiciones externas le son favorables la evolución del azúcar por hectárea es positiva; aumentado al principio próximo al 50% para pasar a un 20% próximo a los 3500 grados-día, a partir de ese momento se produce



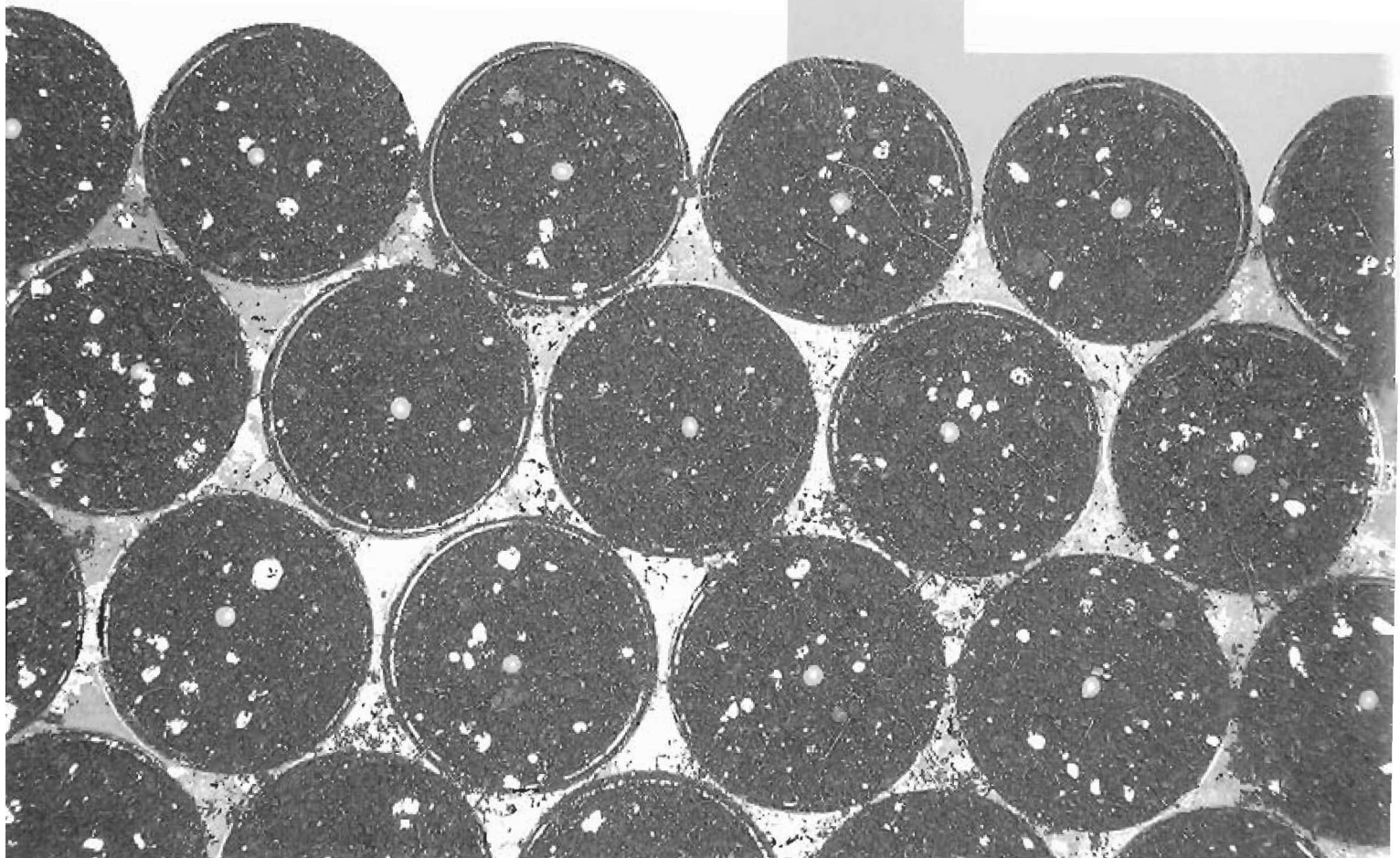
un ligero ascenso más bien motivado por la pérdida de agua con el consiguiente aumento de la polarización y la ligera subida del peso por acoplamiento de los metabolitos.

La curva de ajuste es una parábola de tercer grado con un R^2 de 0,999.

Figura 21.-Evolución del Az/ha



**Actividades Enzimáticas de
degradación de la Sacarosa y
producción de Azúcares
Reductores en la Remolacha
de siembra otoñal**



ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS DE DEGRADACIÓN DE LA SACAROSA Y PRODUCCIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES EN LA REMOLACHA DE SIEMBRA OTOÑAL

Eduardo T. Jiménez¹, Sofía García-Mauriño¹, Rodrigo Morillo-Velarde², Cristina Echevarría¹

¹Departamento de Biología Vegetal y Ecología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Avenida Reina Mercedes nº 6, 41012 Sevilla, España.

²AIMCRA (Asociación de Investigación para la Mejora del Cultivo de la Remolacha Azucarera), Delegación Sur, C/Metalurgia nº 36, 41080 Sevilla, España.

INTRODUCCIÓN

La siembra de la remolacha azucarera, *Beta vulgaris*, en la mayor parte de la península (Norte y Centro) se realiza a principios de primavera, y la recolección a finales de septiembre-octubre. Este calendario de siembra-recolección se denomina remolacha de “**siembra primaveral**”. En Andalucía, las altas temperaturas que se alcanzan en verano hacen inviable esta modalidad de cultivo por lo que la siembra se realiza a final de octubre-noviembre y se cosecha desde final de junio hasta mediados de julio. A esta modalidad se la denomina “**siembra otoñal**”. En el sur de la península se encuentra la principal superficie de toda Europa de remolacha cultivada en siembra otoñal.

Los cultivos rara vez obtienen su máximo potencial debido a las limitaciones impuestas por el ambiente, tales como deficiencia hídrica, temperaturas adversas y deficiencias de nutrientes (Kramer, 1980). Bajo condiciones de estrés hídrico, asociado a altas temperaturas, se produce un descenso de la calidad de la remolacha de siembra otoñal (Gordo, 2003), especialmente porque provoca el aumento en la concentración de nitrógeno α -amino (Moro, 1992; Gordo, 2003) y compuestos no sacarídicos como glucosa y fructosa, denominados azúcares reductores (Gordo, 2003). Todos estos compuestos disminuyen la calidad posterior del azúcar obtenida y dificultan su extracción en el proceso industrial.

Los niveles de productividad de la remolacha tras la cosecha vienen determinados por la concentración de sacarosa obtenida en la raíz (%) y por el peso de la misma.

La ruptura de este disacárido no reductor, la sacarosa, almacenado en la vacuola de la raíz durante el primer año de desarrollo de la planta puede originar la acumulación de azúcares reductores, responsables de la disminución de la calidad de la cosecha.

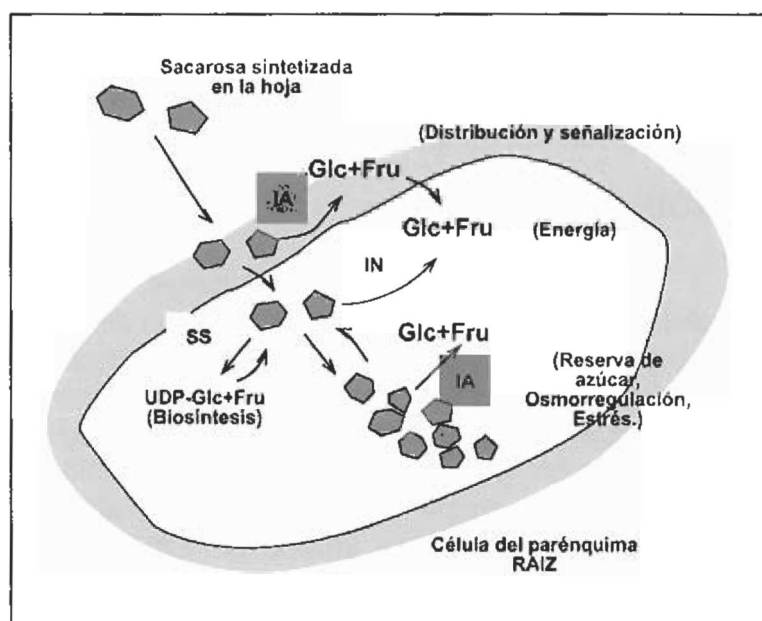
Son varias las enzimas que pueden estar implicadas en esta degradación de la sacarosa en plantas: sacarosa sintasa, invertasa neutra e invertasas ácidas.

Aspectos fisiológicos de la remolacha azucarera de siembra otoñal

Aunque la **sacarosa sintasa (SS)** es capaz de sintetizar sacarosa hay evidencias de que *in vivo* está principalmente implicada en la degradación de la misma. La UDP-glucosa y fructosa que se obtienen en esta degradación están destinadas principalmente a la síntesis de nuevos compuestos. Las invertasas, neutra o alcalina (**IN**; pH óptimo 7,0-7,8) y ácida (**IA**; pH óptimo 4,5) son hidrolasas que rompen la sacarosa almacenada hasta glucosa y fructosa. Estos monosacáridos pueden ser utilizados para la obtención de energía, permanecer acumulados en la vacuola participando en la osmorregulación de la célula o ser transportados hasta células vecinas (ver esquema adjunto)

La acción combinada de estos tres enzimas es responsable de las concentraciones de sacarosa que encontremos en las células de almacenamiento de la remolacha y de los azúcares reductores acumulados.

En este trabajo se ha estudiado la actividad de los enzimas descritos: SS, IN e IA y la relación con el incremento de azúcares reductores que se observa en los períodos de recolección de la remolacha de siembra otoñal. Este estudio se ha realizado comparando la actividad enzimática y la acumulación de azúcares reductores en dos variedades y en diferentes condiciones hídricas y de abonado nitrogenado.



MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño de los ensayos y toma de muestras. Se presentan los resultados de las campañas 1999/2000, 2000/2001 y 2001/2002.

Se describen los ensayos donde se obtuvieron resultados más relevantes:

1-Ensayo Hídrico con dos variedades. Las variedades utilizadas fueron Claudia, variedad convencional y con altos niveles de acumulación de azúcares reductores en período estival, y Ramona, con bajos niveles de acumulación de reductores. Se cultivaron

en dos situaciones hídricas diferentes: Riego a Demanda y Déficit Hídrico. Fueron por tanto cuatro las variables obtenidas y comparadas: Claudia Riego, Claudia Déficit, Ramona Riego, Ramona Déficit.

2-Ensayo de abonado nitrogenado. Se establecieron diferentes niveles de abonado en las parcelas ensayadas: sin abonado, abonado recomendado y abonado en exceso.

3-Ensayo de ciclo de cultivo. Se realizó para evaluar la siembra primaveral en la zona sur. Permite estudiar el comportamiento fisiológico de la remolacha en siembra de primavera y compararla con la siembra otoñal.

El estudio se realizó mediante un Diseño de Bloques Completos al Azar (RCBD) con 4, 5 ó 6 repeticiones.

La toma de muestras se realizó con una frecuencia quincenal durante los meses de invierno y primavera y semanalmente en el período estival. En cada campaña el inicio y la finalización de la toma de muestras se llevó a cabo en diferentes momentos:

1ª campaña (1999/2000): marzo-julio

2ª campaña (2000/2001): enero-agosto

3ª campaña (2001/2002): mayo-agosto. La toma de muestras para la siembra primaveral se prolongó hasta mediados de noviembre.

Preparación de las muestras. Una vez transportadas las muestras al Laboratorio de Fisiología Vegetal eran procesadas. De cada muestreo se trocearon, mezclaron y picaron tres remolachas diferentes permitiendo así obtener una muestra más homogénea. Tras el procesado se almacenaban en porciones de 25g a temperaturas de -35°C hasta el momento de su utilización.

Determinaciones enzimáticas y de metabolitos. Actividad Sacarosa Sintasa. Según método de Morell and Copeland (1985).

Actividad Invertasa Acida y Neutra. Según método de Zhu et al. (1997). Glucosa en raíz. Se determinó espectrofotométricamente usando el test de glucosa de Sigma (HK) Assay kit, GAHK-20.

Determinación de proteínas solubles: Según método de Bradford (1976).

Determinación de sacarosa: Realizada en los laboratorios de AIMCRA en Valladolid.

Determinación de Nitrógeno total en planta. Realizada en los laboratorios de AIMCRA en Valladolid.

RESULTADOS Y DISCUSION

LOS NIVELES DE GLUCOSA EN LA RAÍZ DE LA REMOLACHA

En este trabajo se midió la glucosa como índice de la presencia de azúcares reductores. En la mayor parte del ciclo de desarrollo de la planta en condiciones de siembra otoñal la glucosa no se acumula en la raíz, de la misma forma que ocurre en la siembra primaveral. Sin embargo, en los períodos de recolección de la planta, en las diferentes campañas estudiadas, se observaron incrementos significativos de este monosacárido en la raíz en siembra otoñal. En la primera campaña, en la que los riegos se prolongaron hasta mediados de julio, no se observó este incremento de glucosa en la raíz (Jiménez 2004).

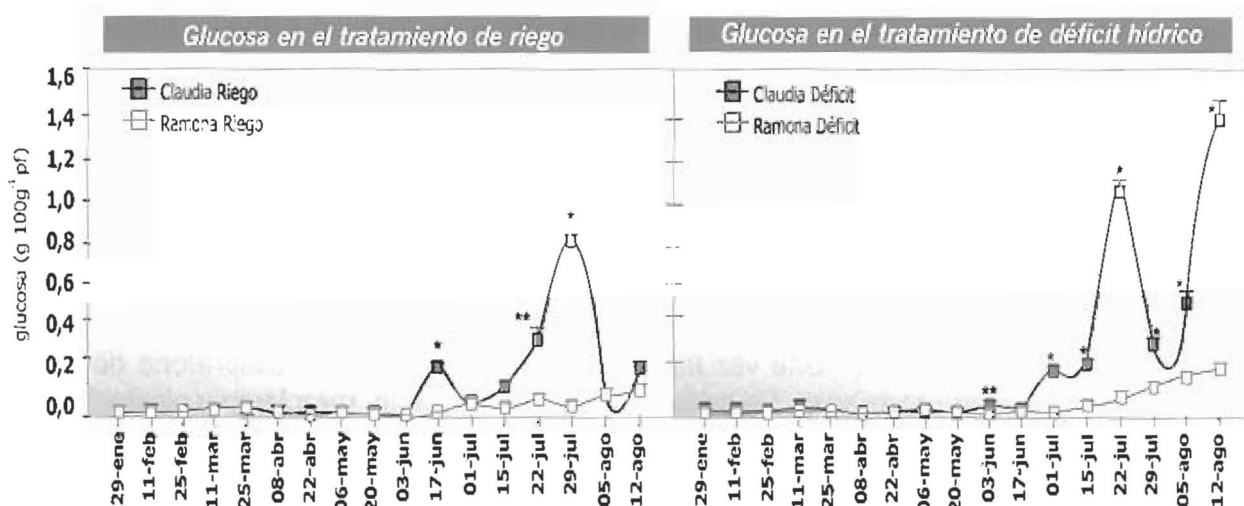


Figura 1. Comparación de la evolución de los niveles de glucosa en la raíz de remolacha durante el ciclo del cultivo en las variedades Claudia y Ramona en el ensayo hídrico (tratamientos de riego y déficit hídrico) realizado durante la 2ª campaña (2000-2001) (Media ± ES) (* diferencias significativas con $p < 0,001$; ** diferencias significativas con $p < 0,05$).

Este incremento de glucosa se produjo principalmente en las condiciones de déficit hídrico y en la variedad **Claudia frente a Ramona** (Fig. 1, campaña 2ª). Los riegos finalizaron a final de junio por lo que en el período julio y principios de agosto podría considerarse que la condición "Riego" no era tal, sino que iba aumentando la situación de déficit hídrico en la planta a medida que se adentraba en el período de verano.

En la 3ª campaña estudiada, 2001/2002, vuelve a encontrarse un comportamiento muy parecido con respecto a la acumulación de glucosa (Fig. 2). La variedad Claudia acumula los niveles más altos de glucosa en la raíz, con valores muy superiores a los encontrados en la variedad Ramona. En ambas especies los valores de glucosa acumulada son superiores en la condición de déficit hídrico que en riego durante el periodo comprendido hasta julio. Posteriormente, se produce una brusca acumulación de glucosa en las dos

Cap III. Estudio de las actividades enzimáticas

condiciones, coincidiendo con la finalización de los riegos que se produce a finales de junio. Destacar también los niveles más altos de acumulación de glucosa que se producen en esta 3ª campaña (Fig. 2) respecto de la 2ª (Fig. 1).

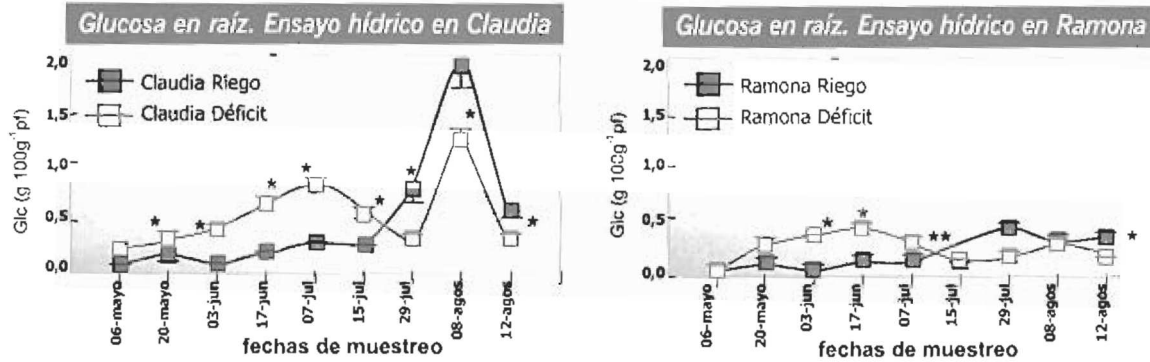


Figura 2. Evolución de los niveles de glucosa en la raíz de remolacha durante el ciclo del cultivo de la remolacha en siembra otoñal (hídrico en Claudia e hídrico en Ramona) realizados durante la 3ª campaña (2001-2002) (Media: ES) (* diferencias significativas con $p < 0,001$; ** diferencias significativas con $p < 0,05$).

Al comparar las diferentes condiciones de abonado (sin abonado, abonado recomendado y abonado en exceso) durante las tres campañas estudiadas, no se encontró un patrón definido de relación entre la acumulación de glucosa con respecto al nitrógeno añadido a la parcela de estudio.

Sin embargo, si se analizan los datos en función del nitrógeno existente en la planta en los diferentes tratamientos de abonado, durante la 2ª y 3ª campaña, sí se observan diferencias. Estos valores de nitrógeno fueron determinados como la cantidad máxima detectada en la planta entre los meses de mayo y junio expresado como kg ha^{-1} , y fueron suministrados por AIMCRA. En función del valor obtenido de nitrógeno en planta se crearon tres grupos artificiales: G1) corresponde al tratamiento de abonado recomendado durante la 2ª campaña,

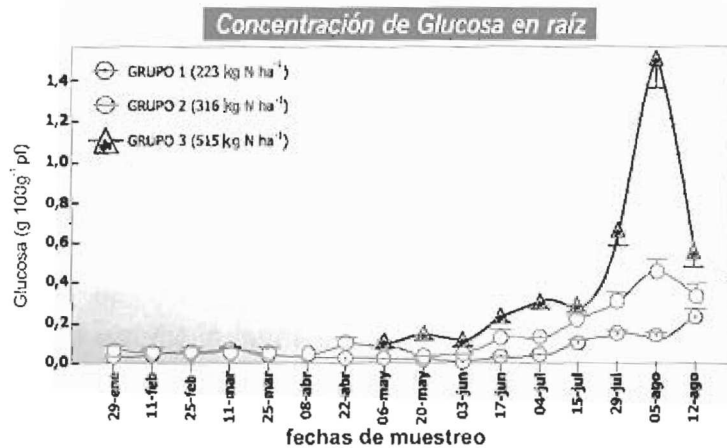


Figura 3. Acumulación de glucosa en la raíz según los niveles determinados de Nitrógeno en planta a lo largo del ciclo de desarrollo del cultivo de la remolacha azucarera. (G1, 223 kg ha^{-1} , tratamiento de abonado recomendado en 2ª campaña, 2000/2001; G2, 316 kg ha^{-1} , tratamiento de abonado en exceso en 2ª campaña, 2000/2001; G3, 515 kg ha^{-1} , tratamiento sin abonado, abonado recomendado y abonado en exceso en 3ª campaña, 2001/2002).

Aspectos fisiológicos de la remolacha azucarera de siembra otoñal

con un valor medio de nitrógeno en planta de 223 kg ha⁻¹; G2) corresponde al tratamiento de abonado en exceso durante la 2^a campaña, con un valor medio de nitrógeno en planta de 316 kg ha⁻¹; G3) corresponde a los tratamientos sin abonado, recomendado y en exceso realizados en la 3^a campaña de estudio (2001/2002) con un valor medio de nitrógeno en planta de 515 kg ha⁻¹.

Estos tres grupos (G1, G2, G3) acumularon glucosa en la raíz en diferentes cantidades. El G3, con 515 kg ha⁻¹, presentó los niveles más altos de acumulación de glucosa en raíz, especialmente altos desde finales de julio hasta mediados de agosto. El G2, con 316 kg ha⁻¹, bajó mucho sus niveles de glucosa en raíz y el G1, 223 kg ha⁻¹, presentó los niveles más bajos, con máximos en agosto (Fig. 3).

Estos resultados ponen de manifiesto que el contenido de nitrógeno en la planta está altamente relacionado con la acumulación de glucosa y podría estar en la base de las diferencias observadas entre las dos últimas campañas en casi todos los parámetros estudiados. Además, se evidencia que el contenido de nitrógeno encontrado en la planta no se corresponde con el abonado recibido, debido probablemente a un contenido alto de nitrato en el suelo y al efecto de las condiciones climáticas y agronómicas (lluvias, T^o, textura del suelo) que favorecen que se incorpore el nitrato a la planta o que no sea absorbido por ésta y se pierda por el lavado del suelo. En este sentido, las lluvias fueron muy abundantes durante el invierno de la 2^a campaña. Una vez que el nitrato se ha incorporado a la planta, sí se observa relación entre un alto contenido de nitrato y una mayor acumulación de la glucosa en la raíz.

En general, estos resultados muestran que julio y agosto son las fechas en las que se producen los principales incrementos de glucosa. Fue en la campaña del 2002 (3^a campaña) donde se acumuló más glucosa llegando a concentraciones de hasta un 2%. También se pone en evidencia que por encima del manejo del cultivo, son las condiciones climáticas anuales las que determinan la calidad de la remolacha en cuanto a la acumulación de glucosa. Estas condiciones climáticas determinan en última instancia aspectos tan importantes como la incorporación de nutrientes (como el nitrato) que serán fundamentales para el desarrollo de la planta. A su vez, estos parámetros serán determinantes para la producción, riqueza y calidad de la remolacha recolectada. Sin embargo, esta presión climática anual puede ser paliada por un manejo adecuado del riego, o por la utilización de una variedad adecuada, en este caso fue Ramona, la cual, independientemente de las condiciones climáticas anuales, mostró muy bajos niveles de glucosa en comparación con Claudia.

LA RIQUEZA O POLARIZACIÓN DE LA RAÍZ. NIVELES DE SACAROSA

La sacarosa se acumula en la raíz progresivamente a lo largo del desarrollo de la planta llegando a alcanzar hasta el 20% del contenido de la raíz. La fase de acumulación de sacarosa más acentuada se produce en los meses de mayo y junio. En los meses finales, principalmente agosto, puede sufrir pérdidas, probablemente debidas a una mayor

Cap III. Estudio de las actividades enzimáticas

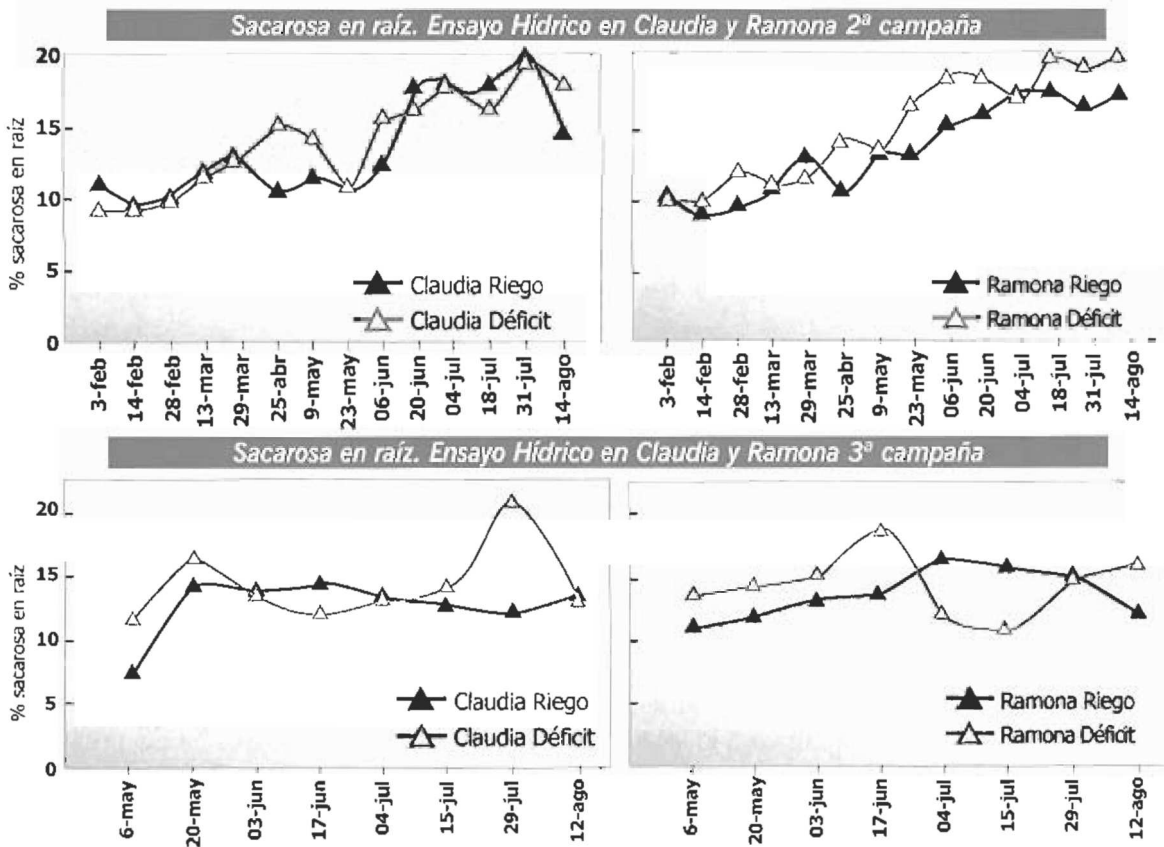


Figura.4. Acumulación de sacarosa en la raíz de remolacha a lo largo del periodo de estudio en el ensayo hídrico en Claudia y Ramona durante la 2ª y 3ª campaña (2000-2001 y 2001-2002).

degradación de la sacarosa acumulada en la raíz para la producción de hexosas, necesarias para mantener: 1) la respiración, que puede llegar a significar casi el 70% de la respiración de la planta (Ribas-Carbó y González-Meller, 2000), especialmente en condiciones de escasez de agua, puesto que las raíces deben desarrollarse más para buscar el recurso hídrico; 2) la biosíntesis de nuevos compuestos primarios necesarios para el mantenimiento de las estructuras celulares.

Si bien Ramona destaca por su baja producción de azúcares reductores (glucosa), los niveles de acumulación de sacarosa en raíz

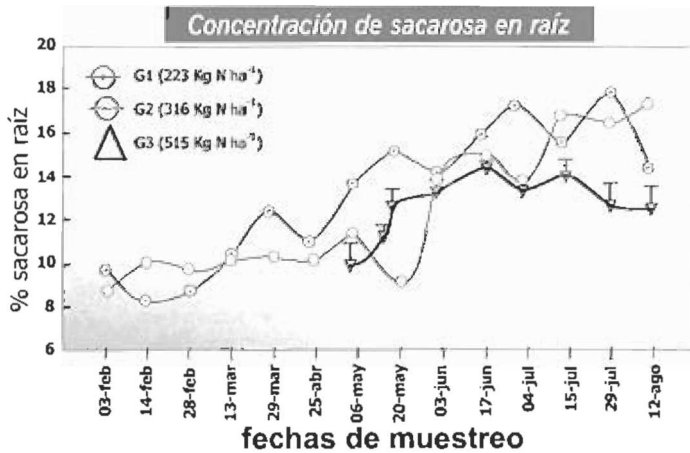


Figura.5. Acumulación de sacarosa en la raíz según los niveles determinados de Nitrógeno en planta a lo largo del ciclo de desarrollo del cultivo de la remolacha azucarera. (G1, 223 kg ha⁻¹, tratamiento de abonado recomendado en la 2ª campaña, 2000/2001; G2, 316 kg ha⁻¹, tratamiento de abonado en exceso en la 2ª campaña, 2000/2001; G3, 515 kg ha⁻¹, tratamiento sin abonado, abonado recomendado y abonado en exceso en la 3ª campaña, 2001/2002).

Aspectos fisiológicos de la remolacha azucarera de siembra otoñal

que se obtienen son equiparables a los de Claudia, incluso con valores superiores en condiciones de secano, observándose nuevamente más variabilidad entre las campañas que la producida por la utilización de estas dos variedades (Fig. 4).

Respecto a los grupos de Nitrógeno en la planta (G1, G2 y G3) se detectan, desde mediados de julio a mediados de agosto, menores niveles de sacarosa en la raíz en el G3, (Fig. 5). Estos resultados muestran que las plantas con mayor contenido en Nitrógeno poseen menor riqueza de la raíz al final del período de recolección.

LOS ENZIMAS QUE DEGRADAN LA SACAROSA

El estudio de la evolución de las actividades Sacarosa Sintasa (SS), Invertasa Neutra (IN) e Invertasa Acida (IA) determinadas in vitro, nos ha permitido realizar una propuesta de modelo de comportamiento de estos enzimas en la raíz de la remolacha azucarera de siembra otoñal a lo largo del desarrollo del cultivo.

La SS presenta los niveles más altos de actividad en todas las campañas, ensayos y tratamientos realizados en este estudio, lo que confirma la importancia de este enzima en la degradación de la sacarosa a lo largo de todo el desarrollo del cultivo. La SS presenta su máxima actividad en el mes de mayo, en la segunda campaña (Fig. 6, 2ª campaña).

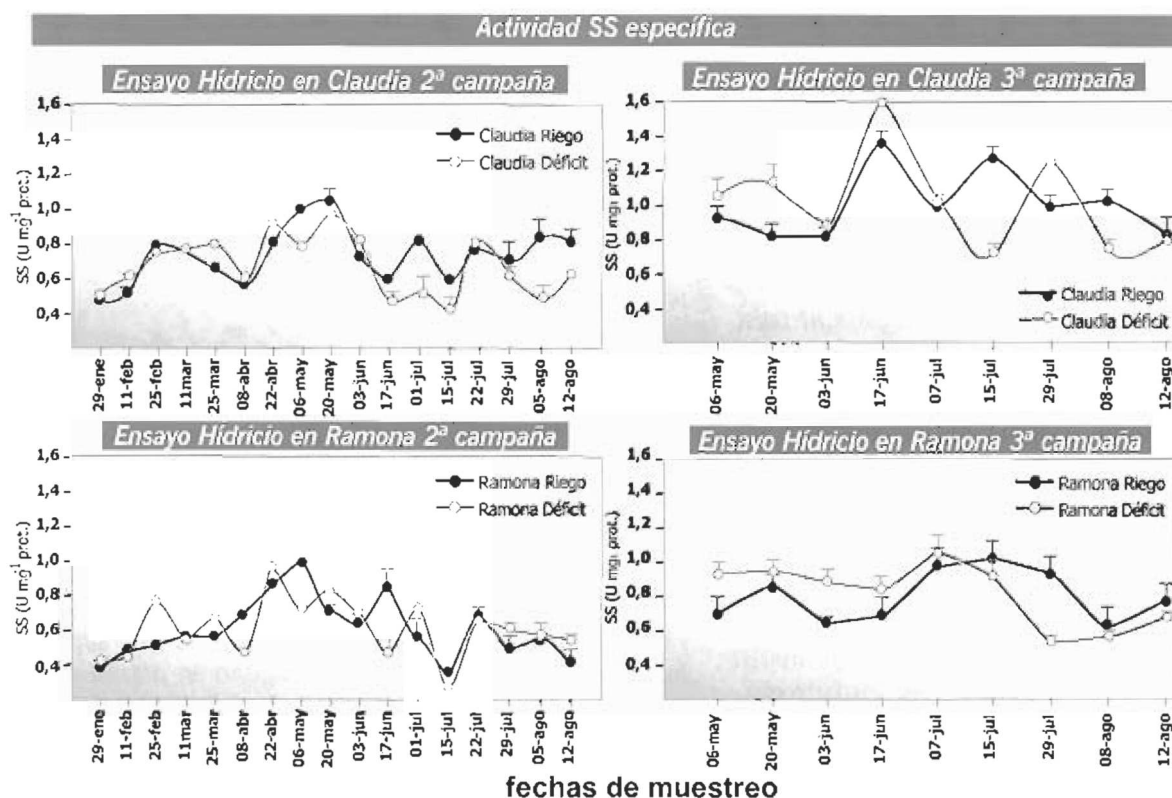


Figura 6. Evolución de la actividad Sacarosa Sintasa (SS) específica (U mg⁻¹ prot.) en la raíz de remolacha a lo largo del periodo de estudio en el ensayo hídrico en Claudia y Ramona durante la 2ª y 3ª campaña (2000-2001 y 2001-2002) (Media + ES).

Cap III. Estudio de las actividades enzimáticas

Posteriormente la actividad desciende permitiendo de esta forma que se alcancen los máximos de polarización que se establecen, en esta campaña, en los 18-20 grados. En la 3ª campaña los valores de SS no sólo no descendieron después de mayo, sino que incluso aumentaron (Fig. 6, 3ª campaña). Esta subida de actividad podría estar en relación a los bajos niveles de polarización que se alcanzaron en la 3ª campaña (Fig. 4 y 5).

La actividad es semejante en las dos variedades (Claudia y Ramona) excepto en la 3ª campaña donde los niveles de actividad SS en Ramona no sobrepasan valores de $1 \text{ U mg}^{-1} \text{ prot.}$, mientras que en Claudia se alcanzan niveles de actividad de $1,5 \text{ U mg}^{-1} \text{ prot.}$ (Fig. 6). Hay que señalar que si bien los valores de SS para Ramona son más bajos que para Claudia, éstos fueron superiores a los de la 2ª campaña durante los meses de junio y julio (Fig. 6).

No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos de riego y secano en las dos variedades estudiadas (datos no mostrados).

En relación a los grupos de nitrógeno establecidos se muestra que el G3 (mayor contenido de nitrógeno en planta) presenta una actividad SS específica más alta que G1 y G2 durante los meses de junio y julio (Fig. 7). Se observa, por tanto, la existencia de una asociación entre los altos niveles de nitrógeno en planta en el G3, valores que corresponden a la 3ª campaña, y los altos valores de SS sintasa detectados en el G3 en los meses de junio y julio.

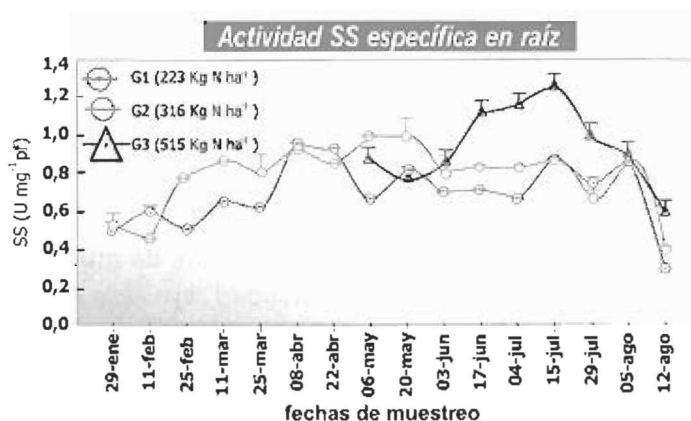


Figura 7. Actividad SS específica en la raíz según los niveles determinados de Nitrógeno en planta a lo largo del ciclo de desarrollo del cultivo de la remolacha azucarera. (G1, 223 kg ha^{-1} , tratamiento de abonado recomendado en la 2ª campaña, 2000/2001; G2, 316 kg ha^{-1} , tratamiento de abonado en exceso en la 2ª campaña, 2000/2001; G3, 515 kg ha^{-1} , tratamiento sin abonado, abonado recomendado y abonado en exceso en la 3ª campaña, 2001/2002).

En conjunto, un análisis global de los resultados pone de manifiesto que los valores alcanzados en mayo en las tres campañas estudiadas son valores bastante homogéneos oscilando alrededor de $1 \text{ U mg}^{-1} \text{ prot.}$ y luego decaen en todos los ensayos. Excepcionalmente, estos valores aumentan en la tercera campaña hasta niveles de $1,7 \text{ U mg}^{-1} \text{ prot.}$ y se mantienen en general más altos que en las otras dos campañas. **Este excepcional aumento de la actividad SS en el mes de junio-julio podría estar en la base de la baja concentración de sacarosa registrada en la 3ª campaña.**

Otro de los enzimas que degradan la sacarosa es la **Invertasa Neutra (IN)**. La actividad Invertasa Neutra o Alcalina (pH óptimo entre 7,0-7,8) está menos caracterizada

Aspectos fisiológicos de la remolacha azucarera de siembra otoñal

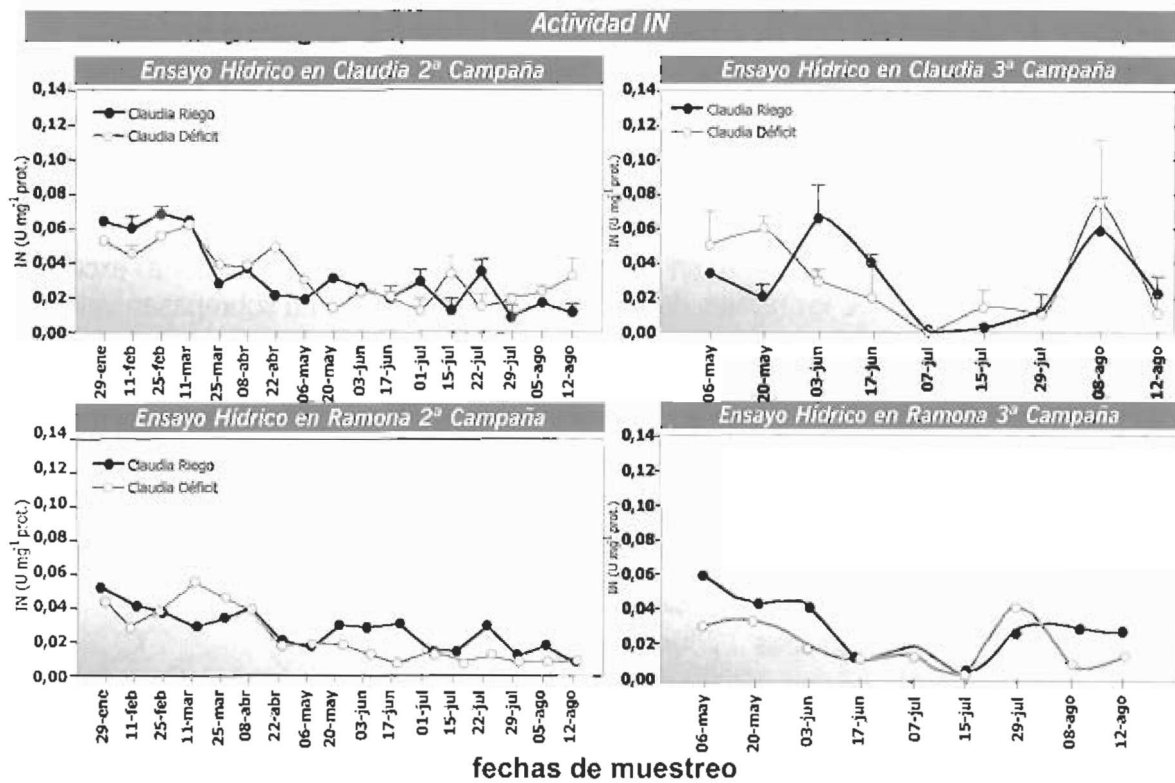


Figura 8. Evolución de la actividad Invertasa Neutra (IN) específica ($U\ mg^{-1}\ prot.$) en la raíz de remolacha a lo largo del periodo de estudio en el ensayo hídrico en Claudia y Ramona durante la 2ª y 3ª campaña (2000-2001 y 2001-2002) (Media \pm ES).

la SS. Por tanto, es posible que la SS tenga una mayor contribución a la degradación de la sacarosa que la IN (Ross, 1996). La IN presenta su máxima actividad en el mes de febrero (cuando la planta está en su 4º mes de desarrollo), mostrando una fuerte caída de actividad hasta el mes de junio en prácticamente todos los ensayos estudiados (Fig. 8). En febrero, cuando la actividad IN es más alta, las hexosas producidas tras la hidrólisis no se acumulan ya que serán rápidamente utilizadas por la planta para su crecimiento, que en ese momento se encuentra en fase activa.

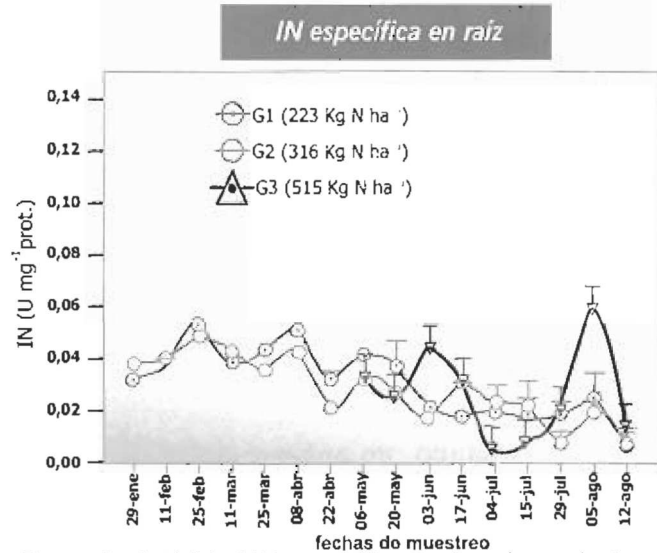


Figura 9. Actividad IN específica en la raíz según los niveles determinados de Nitrógeno en planta a lo largo del ciclo de desarrollo del cultivo de la remolacha azucarera. (G1, 223 kg ha⁻¹, tratamiento de abonado recomendado en la 2ª campaña, 2000/2001; G2, 316 kg ha⁻¹, tratamiento de abonado en exceso en la 2ª campaña, 2000/2001; G3, 515 kg ha⁻¹, tratamiento sin abonado, abonado recomendado y abonado en exceso en la 3ª campaña, 2001/2002).

Cap III. Estudio de las actividades enzimáticas

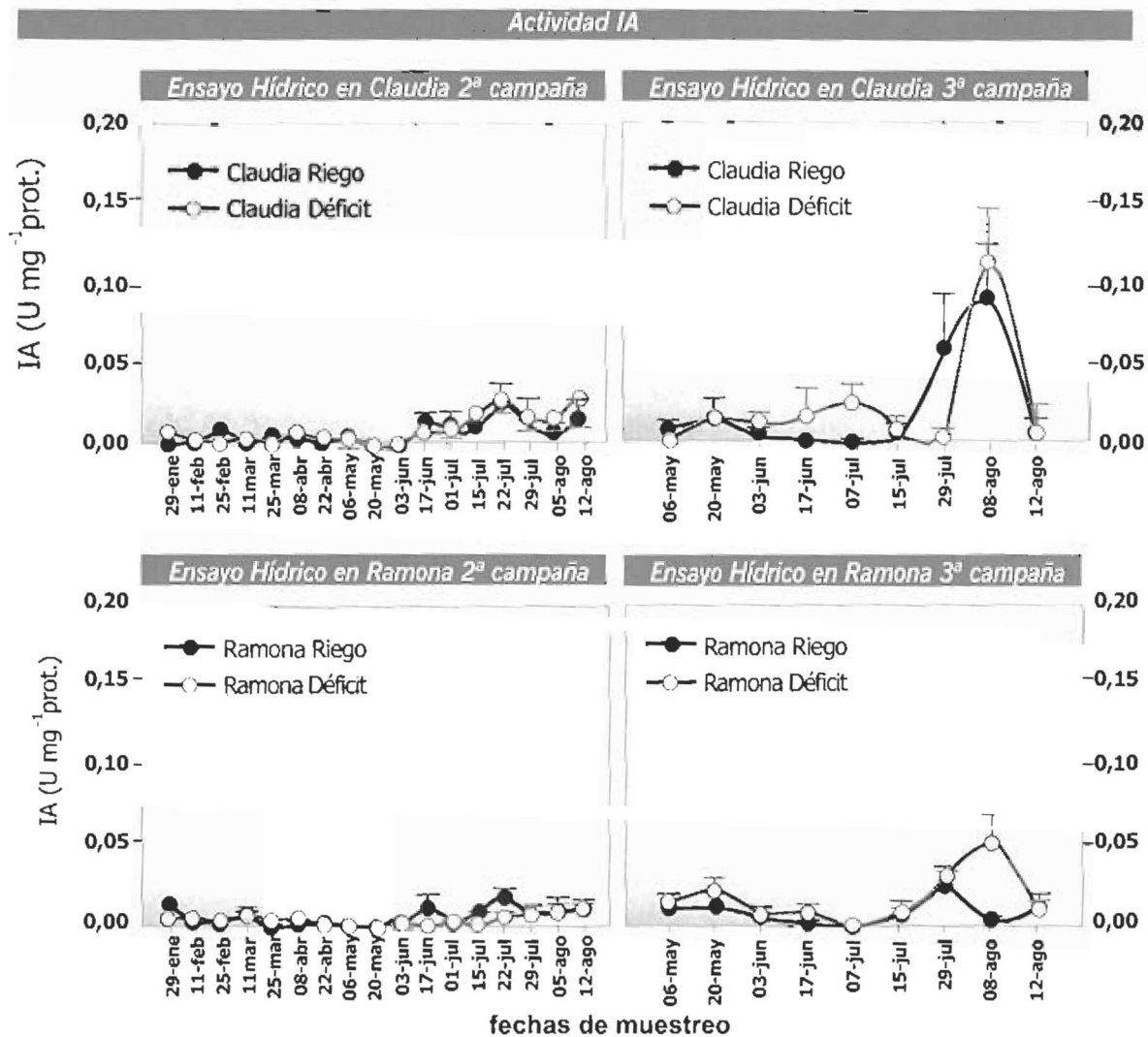


Figura 10. Evolución de la actividad Invertasa Acida (IA) específica ($U\ mg^{-1}\ prot.$) en la raíz de remolacha a lo largo del periodo de estudio en el ensayo hídrico en Claudia y Ramona durante la 2ª y 3ª campaña (2000-2001 y 2001-2002) (Media \pm ES).

Los resultados de los ensayos realizados (Fig. 8) muestran que los valores de actividad IN específica ($U\ mg^{-1}\ prot.$) son hasta 15-25 veces menores a los detectados para la SS, dependiendo del momento del ciclo y del tratamiento realizado.

De los resultados obtenidos no se desprende la existencia de diferencias significativas entre las dos condiciones hídricas ensayadas (riego y déficit hídrico). Sin embargo con respecto a las variedades utilizadas (Claudia y Ramona) cabe destacar nuevamente la respuesta diferencial de Ramona con valores más bajos que Claudia en la 3ª campaña (Fig. 8).

También se puede apreciar que en la 3ª campaña, en la que la concentración de sacarosa fue muy baja (Fig. 4), los valores de actividad IN fueron excepcionalmente bajos durante el mes de julio (Fig. 8) mientras que los niveles de actividad SS fueron

Aspectos fisiológicos de la remolacha azucarera de siembra otoñal

excepcionalmente altos en dicho mes (Fig. 6). Estos resultados parecen indicar que es la alta actividad SS y no la IN la responsable de la pérdida de sacarosa de la 3ª campaña durante el mes de julio.

La agrupación de los niveles de actividad IN en función del contenido de N en planta no muestra diferencias significativas entre los tres grupos creados (G1, G2 y G3) (Fig. 9). Destacan los bajos valores de IN en el G3 en el mes de julio, precisamente en el grupo con menor polarización obtenida.

Estos resultados refuerzan la idea de que la IN no sería responsable de la caída de polaridad de la tercera campaña y que ésta estaría en relación con los altos niveles de SS de la 3ª campaña en los meses de junio y julio. Tampoco se ha observado en este estudio la existencia de una asociación entre la actividad IN y la acumulación de glucosa en la raíz, principalmente en los meses estivales.

El tercer enzima degradativo de la sacarosa que ha sido estudiado en este trabajo ha sido la **Invertasa Ácida (IA)**. Trabajos realizados con remolacha cultivada en campo, en ciclo de siembra primaveral (marzo-noviembre) en el Norte de Europa han mostrado la existencia de una alta actividad IA, tanto soluble como insoluble, en las primeras etapas del desarrollo de la planta (marzo-junio). Estos niveles descienden paulatinamente hasta alcanzarse niveles muy bajos desde julio hasta la recolección (noviembre) (Masuda, 1987; Berghall, 1997).

En nuestro estudio en siembra otoñal los niveles de actividad IA fueron muy bajos hasta la recolección (Fig.10). La actividad IA comenzó a ascender en los meses de julio y agosto, especialmente en las dos últimas campañas. Estos incrementos de actividad IA podrían estar altamente relacionados con la acumulación de glucosa que se produce en estos meses finales del cultivo. Los niveles más altos de actividad IA en estos meses se registraron en la variedad Claudia, con respecto a la variedad Ramona, y en la situación de déficit hídrico frente a las situaciones de riego (Fig. 10). En las dos últimas campañas los riegos se interrumpieron en la última semana de junio, por

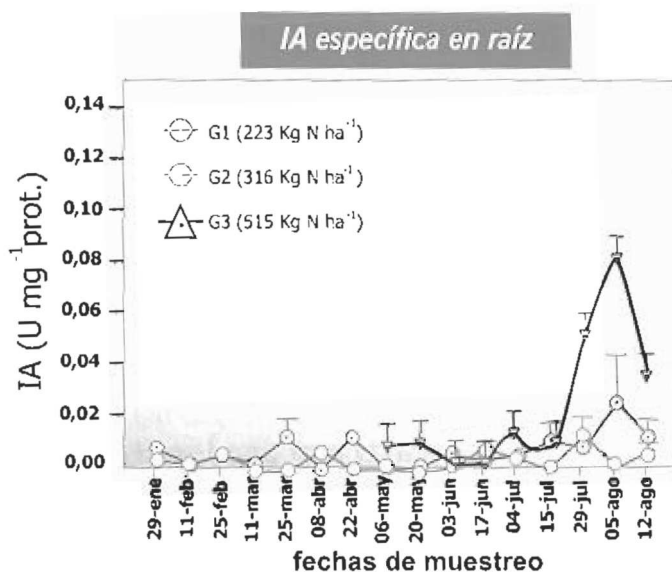


Figura 11. Actividad IA específica en la raíz según los niveles determinados de Nitrógeno en planta a lo largo del ciclo de desarrollo del cultivo de la remolacha azucarera. (G1, 223 kg ha⁻¹, tratamiento de abonado recomendado en 2000/2001; G2, 316 kg ha⁻¹, tratamiento de abonado en exceso en campaña 2000/2001; G3, 515 kg ha⁻¹, tratamiento sin abonado, abonado recomendado y abonado en exceso en campaña 2001/2002).