

CBS

**CAMBIOS FISIOLÓGICOS CAUSADOS POR LA
DEFICIENCIA DE MAGNESIO EN PLANTAS
DE SOYA**

U. A. M. IZTAPALAPA BIBLIOTECA

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO
EN BIOLOGIA EXPERIMENTAL PRESENTA EL
Q.F.B. JORGE EDUARDO MORALES TORRES.

1988

CONTENIDO

Abreviaturas	2
<u>INTRODUCCION</u>	5
Clasificación de los nutrimentos	7
Mecanismos para la toma de nutrimentos	10
Estado de desarrollo	13
Funciones del magnesio	19
Síntomas de la deficiencia de magnesio	23
<u>OBJETIVOS</u>	28
<u>METODOLOGIA</u>	
Siembra	30
Cosecha	32
Determinación de la tasa de crecimiento	34
Determinación de clorofila	35
Determinación de magnesio y fosfato	36
Determinación de carbohidratos no estructurales	37
Determinación de lípidos	39
<u>RESULTADOS Y DISCUSION</u>	
Clorosis	40
Crecimiento	45
Partición de fotosintatos	50
Carbohidratos solubles totales	54
Sacarosa	54
Fosfatos	63
<u>CONCLUSIONES</u>	71
<u>APENDICE A</u>	75
<u>BIBLIOGRAFIA</u>	76
<u>AGRADECIMIENTOS</u>	84

ABREVIATURAS USADAS EN ESTE TRABAJO

A D P -----Adenosina difosfato
A T P -----Adenosina trifosfato
T P -----Triosa fosfato
P_i -----Fosfato inorgánico
R G R -----Tasa relativa de crecimiento (relative growth
rate)
H C -----Solución de Hoagland completa
H-Mg -----Solución de Hoagland sin magnesio

La maestría en biología experimental tiene el apoyo del consejo nacional de ciencia y tecnología (CONACYT) por medio del subsidio 002205 PPR4A-27 AP-84 para el fortalecimiento del posgrado nacional.

Esta tesis fue parcialmente apoyada por el fondo de estudios e investigaciones Ricardo J Zebada por medio del subsidio que se identifica con la ref 150&87.

A mi madre a quien debo lo que soy.

Esta tesis quiero dedicarla
muy especialmente a todas aquellas
personas que trabajan cantando.

A la memoria de mi padre.

No hay roca tan dura y tan mala que no pueda dar algún día una flor de alegría

INTRODUCCION

Todos los suelos una vez fueron rocas, se han formado gracias a la disolución y desintegración de las mismas, debido a la acción abrasiva que sufren las partículas al chocar entre sí ya sea por las corrientes de agua, los deshielos y las caídas a pendientes más bajas. Los cambios de temperatura originan esfuerzos internos en las rocas que traen como consecuencia la desintegración de las mismas y las partículas de roca que resultan de la pulverización y de la acción de la temperatura llegan a conformar una masa de material primario del cual un suelo puede comenzar a desarrollarse, es más, aún después de su primera deposición, este suelo en desarrollo puede ser movido una vez más a través de la erosión por el agua, el viento o la gravedad y esta nueva masa no consolidada se deposita en una nueva localización hasta que finalmente se convierte en un suelo (4).

Dado que el suelo suministra un soporte físico y anclaje para muchas plantas, así como nutrimentos de diversas clases para la mayoría de ellas, es, sin embargo, mucho más que un soporte pasivo o simple recipiente de agua y sales nutritivas; es un medio complejo que influye en la vida de la planta de muchas maneras, ya que las raíces no sobreviven en él si no crecen a través suyo y por lo tanto sus propiedades físicas y químicas son un factor decisivo en la vida de la planta (4,5).

La porción mineral activa del suelo, la constituyen las arcillas; ahora bien, el término arcilla tiene 3 significados en el vocabulario de los suelos, 1) es una fracción compuesta de partículas con diámetro efectivo menor a dos micras, 2) es un nombre para minerales de composición específica y 3) es una clase de textura. La mayoría de las arcillas, son cristales que presentan planos de átomos de oxígeno con silicio y átomos de aluminio que retienen a los átomos de oxígeno por enlace iónico (13). Por varias razones, las arcillas poseen una carga negativa neta, la cual atraerá y retendrá cationes positivos, tales como potasio, sodio, amonio, calcio, magnesio y protón, las cantidades de cationes retenidas varían dependiendo de la clase de arcillas de que se trate, además a medida que aumenta la cantidad de cationes retenidos, simultáneamente aumenta la capacidad de amortiguamiento del pH del suelo. Estos cationes retenidos

son resistentes a la remoción por lavado por el agua pero pueden ser reemplazados por otros iones en solución por intercambio cationico dependiendo del contenido de humedad, del pH del suelo (un pH alcalino reduce la solubilidad de todos los micronutrientos exepctuando al molibdeno) así como de la temperatura, (ya que las semillas poseen una temperatura óptima de germinación), por ejemplo los suelos frios tienden a retardar la absorción de fosfato, así dependiendo de las condiciones en que se encuentren los factores antes mencionados será la disponibilidad de nutrientes para la planta (4).

CLASIFICACION DE LOS NUTRIMENTOS

En el estudio de la nutrición vegetal ha sido práctica común el analizar por separado la nutrición por carbono, oxígeno e hidrógeno ya que estos son tomados directamente de la atmosfera bajo la forma de bioxido de carbono, por otro lado se estudia la nutrición mineral de las plantas, debido a que los nutrientes inorgánicos y el agua son tomados del suelo por diferentes mecanismos, estos nutrientes minerales han sido clasificados de diferentes formas; como macro y micronutrientos, como esenciales y no esenciales o bien de acuerdo a su función metabólica, siendo mas generalizado el uso de la primera clasificación.

La primera clasificación está basada en la cantidad necesaria del nutriente para el desarrollo óptimo de la

planta y divide a los nutrimentos en dos grupos.

MACRONUTRIMENTOS Calcio, Magnesio, Potasio,
Nitrógeno, Fosforo, y Azufre.

MICRONUTRIMENTOS Fierro, Manganeso, Boro, Cobre, Cinc
y Molibdeno.

La segunda clasificación propuesta por D I Arnon y P R Stout en 1939, clasifica a los elementos nutritivos en dos grupos :

ELEMENTOS ESENCIALES son aquellos elementos cuya carencia evita totalmente el desarrollo de la planta.

ELEMENTOS NO ESENCIALES son aquellos elementos cuya carencia permite el desarrollo normal de la planta.

Esta clasificación se halla basada en tres criterios arbitrarios, que adolecen del problema de ser demasiado estrictos, ya que es muy difícil demostrar la no esencialidad de un elemento, más aún si dicho elemento se requiere a nivel de unos cuantos cientos de átomos por célula o menos de tal manera que ningún método analítico puede detectar la contaminación por dicho nutrimento en un

cultivo , y por otro lado su no esencialidad tampoco puede ser demostrada por la incapacidad de manifestar una deficiencia.

Si bien la tercera clasificación no es aceptada a nivel general, ha sido sugerida por Mengel y Kirkby quienes clasificaron a los nutrimentos en cuatro grupos a saber:

GRUPO 1: N y S Estos átomos en su forma reducida están covalentemente unidos como constituyentes de la materia orgánica de la planta.

GRUPO 2: P , B , Si Los cuáles se encuentran como oxianiones (fosfatos, boratos y silicatos).

GRUPO 3: K , Na , Mg , Ca , Mn , Cl El papel fundamental de estos átomos es el de mantener el balance osmótico y iónico de la planta, además de sus funciones específicas a nivel enzimático.

GRUPO 4: Fe , Cu , Mo y Zn Que se encuentran presentes como quelatos estructurales o metaloproteínas (2,8,13).

Independientemente de la clasificación que se use, lo importante es el estudio de las interacciones involucradas entre los elementos nutritivos, ya que estas interacciones pueden afectar directa o indirectamente las

vías metabólicas fundamentales de la planta puesto que dependiendo de las propiedades de los elementos nutritivos será el carácter de esencialidad de los elementos en cuestión para el crecimiento y desarrollo óptimos de la planta.

Por otro lado, los elementos nutritivos pueden desempeñar 3 papeles distintos en las plantas: electroquímicos, estructurales y catalíticos (13).

El papel electroquímico incluye el balance de las concentraciones iónicas, la estabilización de las macromoléculas y la neutralización de cargas. El papel estructural lo desempeñan los elementos incorporados a la estructura química de macromoléculas mientras que los papeles catalíticos corresponden a los elementos involucrados en los sitios activos de las enzimas (4,5).

MECANISMOS PARA LA TOMA DE NUTRIMENTOS

los iones disueltos en la fase suelo-agua están libremente disponibles para las raíces, mientras que los que están unidos a las partículas del suelo sólo están disponibles conforme entran en solución, de tal forma que su captación dependerá de la concentración de los nutrientes en solución y no de la cantidad total de nutrientes que contenga el suelo. Además, la

disponibilidad de los nutrimentos dependerá de las tasas relativas de adición o de remoción, así como por su tendencia a permanecer o ser lavados del suelo por la lluvia (8).

La fase suelo agua se encuentra constituida por la porción coloidal del suelo que son las arcillas, agua y algunos iones en solución, que en conjunto constituyen la suspensión del suelo, dicha suspensión se mueve hacia las raíces por gravedad y de ahí el agua y los nutrientes son suministrados a las plantas para su absorción mediante tres mecanismos principales a saber (13):

- 1) Flujo de masa.
- 2) Difusión.
- 3) Intercepción radicular.

El flujo de masa se origina por el simple movimiento de los nutrimentos disueltos en el agua en movimiento, a través del suelo y al pasar estos a una distancia cercana a la raíz son absorbidos por ella.

Al momento en que las raíces absorben algunos de los nutrimentos de la solución del suelo otros nutrimentos disueltos se mueven hacia las raíces por simple difusión.

Con el crecimiento de las raíces la planta se extiende a nuevas áreas, extendiéndose así el área de absorción de la planta y por consiguiente se disminuye la distancia necesaria para que los nutrientes se muevan por flujo de masa o difusión hacia la superficie de las raíces dándose así la intercepción radicular.

Dado que la raíz es una combinación compleja de un enrejado activo formado por paredes celulares, que está en contacto con la solución del suelo y el protoplasma celular el cual a su vez está rodeado de una membrana selectiva que va a discriminar a los iones que puedan o no entrar mediante procesos que aún no están claramente conocidos (4,13).

A pesar de la complejidad del proceso de toma de nutrimentos, ha sido bien reconocido, que tanto las raíces como la fracción arcillosa de los suelos poseen propiedades de intercambio catiónico, de tal forma que las raíces de las plantas van a secretar protones los cuales una vez en la solución del suelo van a ser intercambiados principalmente por los iones divalentes adsorbidos en la superficie de las partículas de arcilla, una vez removidos estos van a ser translocados al interior de la raíz por mecanismos probablemente diferentes a la simple difusión ya que si se cambia la solución del suelo por agua, estos iones no difunden hacia el exterior de la raíz.

Por otro lado para iones tales como NO_3^- , HCO_3^- ,

$H_2PO_4^-$, SO_4^{-2} no se ha descrito ningún mecanismo de intercambio aniónico por lo que es probable que estos puedan entrar a las raíces mediante un sistema de difusión (5,13) ver fig 1.1.

Sin embargo, la absorción de nutrientes no depende únicamente de la capacidad de intercambio catiónico, propia de la raíz, sino que ésta absorción va a estar influenciada por el estado de desarrollo de la raíz así como por las interacciones que tengan entre si los nutrimentos.

ESTADO DE DESARROLLO

En la parte apical de la raíz, en las células endodérmicas es característica la ausencia de la banda de Caspary (*) la cual comienza a aparecer después de una distancia que oscila de 5mm a 2 cm a partir del ápice dependiendo de la planta, y las células con bandas de Caspary la poseen tanto lateral como transversalmente en sus paredes celulares, constituyendo el estado I de suberización (ver apéndice a). A medida que se aleja uno del ápice de la raíz empieza a observarse que en las células de la endodermis, se empieza a formar una capa de suberina tanto en las células del cortex como en el estele (**). En este estadio de desarrollo, los iones pueden entrar a la endodermis por transporte a través de la membrana celular de la parte cortical de la célula o a

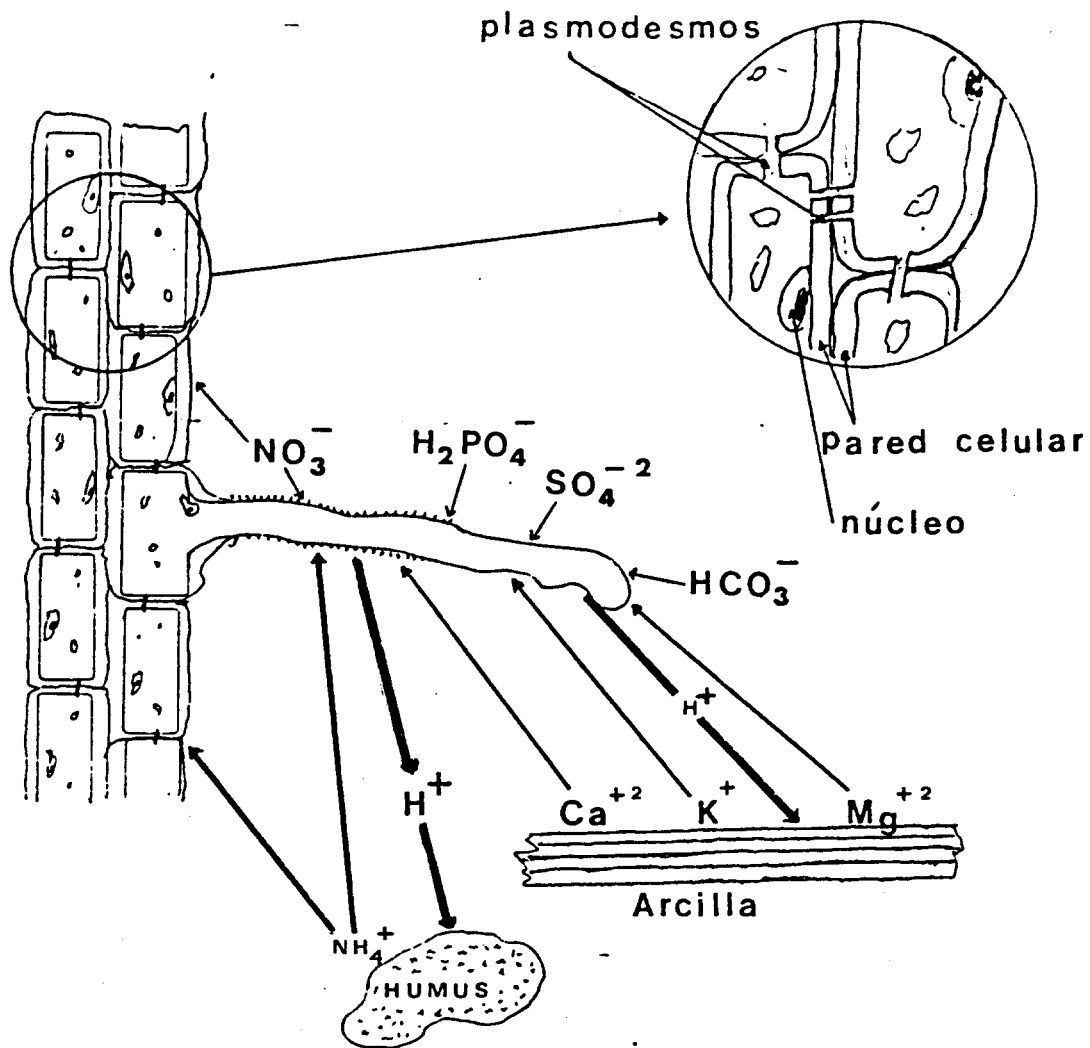


FIGURA 1.1

Se ilustra como un pelo radicular absorbe nutrientes de la solución del suelo y adsorbe (intercambia) iones de un cristal de arcilla. Un pelo radicular es una extensión de una de las células epidérmicas y es sabido que absorbe casi toda el agua y los nutrientes de la planta.

través del simplasto por medio de las conexiones del ¹⁵
plasmodesmo con las células del cortex (46). Las
posteriores etapas del desarrollo se caracterizan por la
deposición de una capa continua de suberina entre el
plasmalema (membrana plasmática) y la pared celular (estado
II de suberización), en este estadio del desarrollo los
iones no pueden penetrar la capa de suberina y por
consiguiente la única entrada al plasmalema es entre la
zona endodermica y las células corticales, figura 1.2. El
último estadio de suberización de la raíz (estado III)
que se presenta en los estados avanzados del desarrollo, se
caracteriza por una deposición de suberina en la parte
interior de las paredes celulares aunada a la deposición
característica del estado II (46).

(*) Banda de Caspar. Engrosamiento
altamente suberizado de las paredes
celulares que impide el paso de agua
del exterior hacia el interior.

(**) Estele. Se refiere a la sección
central del tallo incluyendo el floema y
todo lo existente en su interior.



Soja (A) y
(B)
Senda de Caspari
Sanguina medular
Ejercicio
X

La presencia de suberina puede restringir la entrada de ciertos iones tales como Ca^{+2} , Mg^{+2} y de cierto modo también de fosfato, aunque se ha mencionado que la presencia de la capa de suberina en la endodermis no afecta de una manera drástica la entrada de fosfato, es cierto también que en condición de estado II y III de suberización el transporte de fosfato hacia el brote desde la región del extremo basal de las raíces se encuentra disminuido, y la correlación entre la aparición de la lámina de suberina y la restricción del movimiento radial del fosfato en la zona basal, puede deberse a una reducción de la absorción efectiva en la superficie de la raíz, causada por la presencia de una capa de baja permeabilidad iónica en el espacio libre comprendido entre el plasmalema y las paredes celulares de las células corticales reduciéndose la entrada de fosfato hacia el simplasto (15,34,46,47).

Además de la presencia de estas bandas de suberina existen otros problemas que presenta el transporte de iones, a saber:

- la permeabilidad
- el tamaño de su esfera de hidratación
- la escasa solubilidad lipídica

Así también, el movimiento de un ion influye automáticamente sobre el patrón de cargas a través de la membrana y por consiguiente se verá modificado el potencial transmembranal, de tal forma que el movimiento de otros iones se verá afectado, siendo muy común el fenómeno de antagonismo entre los iones absorbidos (8,13).

Independientemente de la zona por donde entran los nutrimentos, se han descrito dos posibles vías para la movilización de iones a través de la raíz hasta los sitios de utilización, una de ellas es el apoplasto (*) y la otra el simplasto(**). Se ha descrito que el transporte de iones puede llevarse a cabo por la fase citoplasmática continua del último, sin embargo aún no está claro por cual de estas vías se movilizan los iones (46).

(*) El apoplasto incluye todas las partes de tejido accesibles a los iones y comprende todo el espacio extracelular incluidas las paredes celulares y se supone que todo este espacio está lleno de una solución por donde son transportados los iones.

(**) El simplasto incluye al citoplasma de las células, las cuales se hallan unidas por prolongaciones de la membrana celular llamadas plasmodesmos que constituyen las interconexiones celulares tanto entre las células de la endodermis como con las células corticales.

FUNCIONES DEL MAGNESIO

Es común observar que el 70 % o más del magnesio vegetal se halla en forma disponible, siendo una característica notable la alta solubilidad relativa de sus sales.

Su abundancia sugiere una gran multiplicidad de funciones y hay una gran lista de reacciones enzimáticas que requieren Mg^{+2} como cofactor metálico, dichas enzimas generalmente catalizan las reacciones de transferencia de fosfato en las que el magnesio parece actuar como un eslabón que vincula a la enzima con su sustrato fig 1.3.

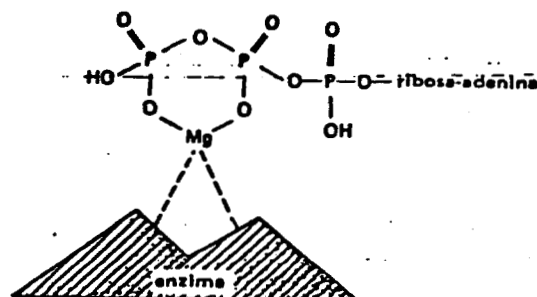
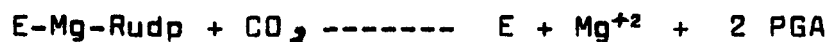


Figura 1.3 Posible papel del magnesio en el enlace de ATP a una enzima, tomado de Bidwell Fisiología Vegetal, A G T Editor, México 1983.

También es común encontrar al magnesio como un cofactor de enzimas que transfieren nucleótidos y de otras enzimas, tales como : fosfatasas, cinasas, ATPasas, sintetetasas y carboxilasas; también se ha reportado que requieren magnesio para su actividad algunas deshidrogenasas, mutasas y liasas (4,8).

Una de las carboxilasas dependientes de magnesio más importantes en el metabolismo vegetal es la ribulosa-1,5-difosfato carboxilasa cuya función es fragmentar al aceptor del CO_2 fijado por la planta para dar dos moléculas de ácido-3-fosfoglicérico , constituyendo quizá el paso crítico para la formación de carbohidratos en el ciclo de Calvin (4) y cuyo mecanismo de acción según Rabin y Trown es el siguiente:



Por otro lado el magnesio también parece estar implicado en la estabilización de las partículas ribosómicas al enlazar las subunidades que forman el ribosoma (4).

También es importante hacer notar que el magnesio es

parte estructural de la molécula de la clorofila, ya que forma parte del tetrapirrol del anillo de porfirina. Además actúa como cofactor de algunas de las enzimas involucradas en la biosíntesis de clorofilas, tal es el caso de la ácido δ aminolevulínico sintetasa, y por lo tanto el magnesio es esencial para la fotosíntesis.

Por otro lado se ha descrito que el magnesio juega un papel muy importante en el mantenimiento de pH del estroma, ya que un exceso de éste catión aumenta el pH del estroma debido a que modifica el flujo de protones a través de la membrana externa, en una acción dependiente de potasio y se ha concluido que el magnesio modifica el intercambio reversible K^+ (Na^+) / H^+ a través de la membrana externa, e incluso se ha postulado la existencia de una ATPasa K^+ / H^+ muy sensible a los niveles de protones en el estroma la cual es regulada por un antiportador H^+ / K^+ cuya función a su vez es regulada por Mg^{+2} (28,39) (fig 1.4).

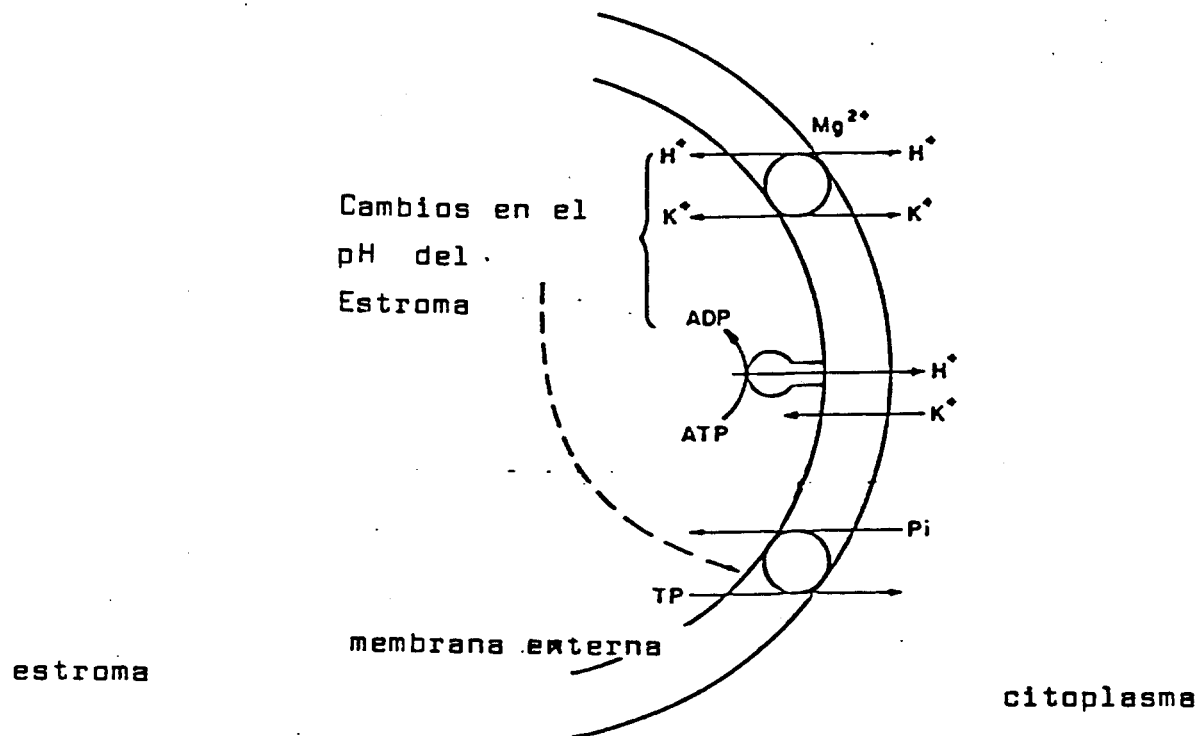


FIGURA 1.4 Representación esquemática de los dos mecanismos postulados que involucran el flujo de H^+ y K^+ a través de la membrana externa del cloroplasto, El magnesio exógeno activa el intercambio pasivo H^+ / K^+ y una ATPasa de protones cambia el pH del estroma alterandose así la utilización de los fotosintatos.

Así también se ha descrito el papel del magnesio en el mantenimiento de los procesos fotosintéticos luminosos, ya que mediante el uso de técnicas de cambios de fluorescencia así como el empleo del ionoforo A 23187 se ha visto que hay un intercambio Mg^{+2} / H^{+} en la membrana del tilacoide cuyo posible sitio de localización está asociado a la actividad de fotosistema I (25).

Dada la multiplicidad de funciones del magnesio es de esperarse que los síntomas de su deficiencia sean muy variados y puede afectar casi todas las partes de la planta.

SINTOMAS DE LA DEFICIENCIA DE MAGNESIO

Además de diversas las opiniones sobre la deficiencia de magnesio, éstas también son controvertidas en algunos casos. Entre los primeros trabajos acerca de la deficiencia de magnesio están los trabajos de Wallace (59) quien reportó que la deficiencia de magnesio afecta principalmente al follaje, siendo frecuente la clorosis, así como los tonos brillantes y las hojas caen

prematuramente antes de marchitarse. Sin embargo en lo que respecta a la clorosis, Kenedy et al (32) trabajando con cepas de Chlorella sp y usando una extensa serie de concentraciones de magnesio, mostraron que no había un cambio significativo en el cociente fotosíntesis / clorofila en cultivos crecidos por 6 o 7 días, además el cociente clorofila / volumen celular también permaneció inalterado lo cual indicaba que no había clorosis y era muy poco probable que se manifestaran de forma leve los síntomas de deficiencia de magnesio en sus condiciones de trabajo (32,59).

También es interesante hacer notar que aunque en los trabajos de Wallace (59) se habló de que la deficiencia de magnesio afectó principalmente al follaje, los experimentos posteriores hechos por Aparicio y Boyer (2) usando concentraciones muy bajas de magnesio, mostraron que la tasa de desarrollo del brote, la talla final de la planta y el área foliar fueron las mismas en los diferentes niveles de magnesio con que trabajaron, por consiguiente la actividad fotosintética de las plantas que es proporcional al peso seco de los brotes fué similar tanto para las plantas control como para las plantas crecidas con bajo contenido de magnesio en el medio (2). Por otro lado también hay discrepancias en lo que se refiere al tamaño de la planta, ya que mientras Aparicio y Boyer no reportaron cambio alguno , Marinós (38), trabajando con ápices de cebada encontró que los ápices de las plantas deficientes

de magnesio mostraron una pequeña elongación que finalmente cesó de crecer a los 15 o 18 días después de ser transferidos a cultivos acuosos, e incluso algunos de los ápices con deficiencia de magnesio formaron pocos y anormales primordios florales irregularmente espaciados a lo largo del eje (38).

También se han realizado estudios en la ultraestructura de los cloroplastos provenientes de las hojas de plantas deficientes de magnesio, encontrándose, dependiendo de la edad, gránulos de almidón en gran cantidad, además de un desordenamiento del sistema lamelar, así también otros autores han descrito la presencia de gránulos (que en un caso fueron llamados gránulos permanganofílicos y en otro gránulos osmiofílicos) tanto en las mitocondrias como en los cloroplastos provenientes de plantas deficientes de magnesio, dichos gránulos, en algunos, casos parecen estar en contacto con las vesículas del aparato de Golgi y el hecho de que estos pudieran estar asociados a membranas sugiere que tal vez estas inclusiones se forman dentro de las cisternas del aparato de Golgi. Otro dato interesante al respecto es que se ha observado en algunas micrografías electrónicas que los cloroplastos de plantas deficientes de magnesio carecen de grana, sin embargo este dato se debe tomar con precaución, ya que se ha reportado que la ausencia de magnesio en cloroplastos aislados, trae como consecuencia un desapilamiento de los grana de los tilacoides y bien pudiera ser que los supuestos cloroplastos

agranales no sean otra cosa que cloroplastos con los grana ²⁶
desapilados, lo cual explicaría por qué presentan buena
actividad fotosintética dichos cloroplastos
(23,24,38,58). También en lo que respecta a la actividad
fotosintética de los cloroplastos provenientes de las
plantas deficientes de magnesio hay controversias, ya que
Bazinsky et al (3), han mostrado que tanto las actividades
del fotosistema I como la del fotosistema II no se ven
alteradas por la deficiencia de magnesio, así como tampoco
la relación clorofila a / clorofila b, ni la relación
proteína / magnesio de las clorofilas se ven alteradas por
dicha deficiencia, mientras que Spencer y Possingham (54)
trabajando con cloroplastos de tomate , han reportado una
disminución significativa en la reacción de Hill en
aquellos cloroplastos provenientes de las plantas
deficientes de magnesio, aunque también este dato se debe
tomar con la debida precaución ya que dependiendo del tipo
de aceptor electrónico como también del sitio donde se mida
el transporte de electrones fotosintético será el
resultado que se obtenga (3,54).

También se ha descrito que la deficiencia de magnesio
en plantas de maíz trae como consecuencia un incremento en
la suberización de la raíz, ésto en potencia también
puede tener implicación en la toma de iones por la planta
como se explicó antes (47). Así mismo también se ha
descrito que el peso fresco de las plantas es función de la
concentración de Mg^{+2} en la solución nutritiva, lo cual

aparentemente no afecta el flujo de calcio especialmente cuando la planta es joven, estos dos iones aparentemente poseen una relación constante en la planta, la cual si es modificada por una disminución de magnesio provoca una disminución del sodio intercambiable (7) . Se ha sugerido que probablemente el magnesio juega un papel intermediario en el reemplazamiento del aluminio del suelo permitiendo de antemano más acumulación de sodio para la reacción de intercambio, sin embargo también se ha observado que un aumento en la relación Mg^{+2} / Ca^{+2} en plantas de zacate incrementa los niveles de sodio y disminuye la concentración de potasio (7,21).

Por último, se ha observado en híbridos de maíz una acumulación de magnesio en los nódulos de las hojas lo cual ha sido asociado a una deficiencia de magnesio o bien a una deficiencia en el sistema metabólico concerniente a la translocación del magnesio, sin embargo también se ha postulado a este respecto una probable precipitación del magnesio en los nódulos o bien la presencia de una barrera física que evite la movilización del magnesio, la cuál no ha sido demostrada (52).

OBJETIVOS

Muy probablemente, una parte de las discrepancias se deben a que los estudios antes mencionados en relación con la deficiencia de magnesio, han sido realizados en diferentes plantas y a diferentes edades de dichas plantas, lo cual trae como consecuencia que la mayoría de dichos datos no sean comparables entre ellos, lo que hace mas complicada su interpretación.

En el presente trabajo se trabajará en base a los siguientes objetivos:

- 1.- Establecer cuál es el momento en la vida de la planta en el que se manifiestan los cambios debidos a la deficiencia de magnesio.
- 2.- Establecer cuál o cuáles de los sintomas observados en la deficiencia de magnesio son atribuibles directamente al magnesio, así como cuales son consecuencia indirecta por ser el resultado de otra alteración.
- 3.- Proponer un mecanismo por medio del cual se puedan explicar los sintomas de la deficiencia de magnesio estudiados en este

trabajo así como sus posibles interrelaciones.

Hasta hoy no se ha desarrollado un método analítico capaz de llevar a cabo sin error un análisis de conciencia

METODOLOGIA

SIEMBRA

Plantas de soya (Glicine max) de la variedad tetabiate (cosecha 1981) fueron sembradas en un soporte de Agrolita (de Dicalite de México) de 7 cm de espesor y regadas tres veces a la semana con 300 ml de solución de Hoagland completa ver tabla 2.1 (43) en el caso de las plantas control, mientras que en las plantas deficientes de magnesio se utilizó una solución nutritiva de igual composición a excepción de que el sulfato de magnesio $Mg(SO_4)_2$ de la solución original fue substituido por sulfato de sodio $Na_2(SO_4)$. Tanto la agrolita como las soluciones nutritivas fueron previamente esterilizadas a 20 libras de presión por espacio de 30 minutos en un autoclave Anasco modelo 8818-M. Durante el periodo de crecimiento la temperatura osciló entre 25-28 °C con un fotoperiodo natural. Las plantas con magnesio y sin magnesio se dispusieron dentro del invernadero de manera aleatoria, para evitar los efectos debidos a gradientes dentro del recinto.

TABLA 2.1

COMPOSICION DE LA SOLUCION DE HOAGLAND (43)

Stock Solution	1 Complete	2 -N	3 -K'	4 -P	5 -Ca	6 -Mg	7 -S	8 -Fe	9 -6 Micronutrientes
1 M Cu(NO ₃) ₂	10 ml	- ml	10 ml	10 ml	- ml	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml
1 M KNO ₃	10	-	-	10	10	10	10	10	10
1 M MgSO ₄	4	4	4	4	-	-	-	4	4
1 M KH ₂ PO ₄	2	2	-	-	2	2	2	2	2
FeEDTA ^a	2	2	2	2	2	2	2	-	2
Micronutrients ^b	2	2	2	2	2	2	2	2	-
1 M NaNO ₃	-	-	10	-	20	-	-	-	-
1 M MgCl ₂	-	-	-	-	-	-	4	-	-
1 M Na ₂ SO ₄	-	-	-	-	-	4	-	-	-
1 M NaH ₂ PO ₄	-	-	2	-	-	-	-	-	-
1 M CaCl ₂	-	10	-	-	-	-	-	-	-
1 M KCl	-	10	-	2	-	-	-	-	-

^a en lugar del FeEDTA se utiliza una solución de cloruro férrico, cuya concentración es 5 mg de ION Fe⁺³ por mililitro de solución.

^b la solución de micronutrientes no contiene fierro.

Las cantidades señaladas en esta tabla son para 2 litros de solución.

COSECHA

Para la determinación de área foliar, contenido de clorofila, tasa de crecimiento y contenido de humedad se cosecharon 16 plantas de ambos lotes (plantas control y plantas deficientes de magnesio) de manera aleatoria, a los 4, 7, 9, 11, 14, 16, 18, 21, 23, 25, 28 y 30 días después de la siembra, fueron procesadas según el esquema analítico de la figura 2.1.

Para la determinación de almidón, carbohidratos solubles, sacarosa, contenido de magnesio, contenido de fosfato y de lípidos de raíz se cosecharon 200 plantas de ambos lotes (plantas control y plantas deficientes de magnesio) a los 7 días después de la siembra, 100 a los 14 días y 50 a los 21 y 30 días, las cuales inmediatamente después de ser cosechadas fueron congeladas a -70°C en un congelador Revco modelo ULT 1185 A por espacio de 30 minutos, inmediatamente después fueron trituradas y puestas a secar en un horno de secado Forma Scientific modelo Forma Quick Dry 60973-12 por 48 horas a 100°C , después de lo cual fueron molidas en un mortero y guardadas en un desecador, a 4°C

hasta, su utilización para la determinación de las variables antes mencionadas.

PLANTA COMPLETA

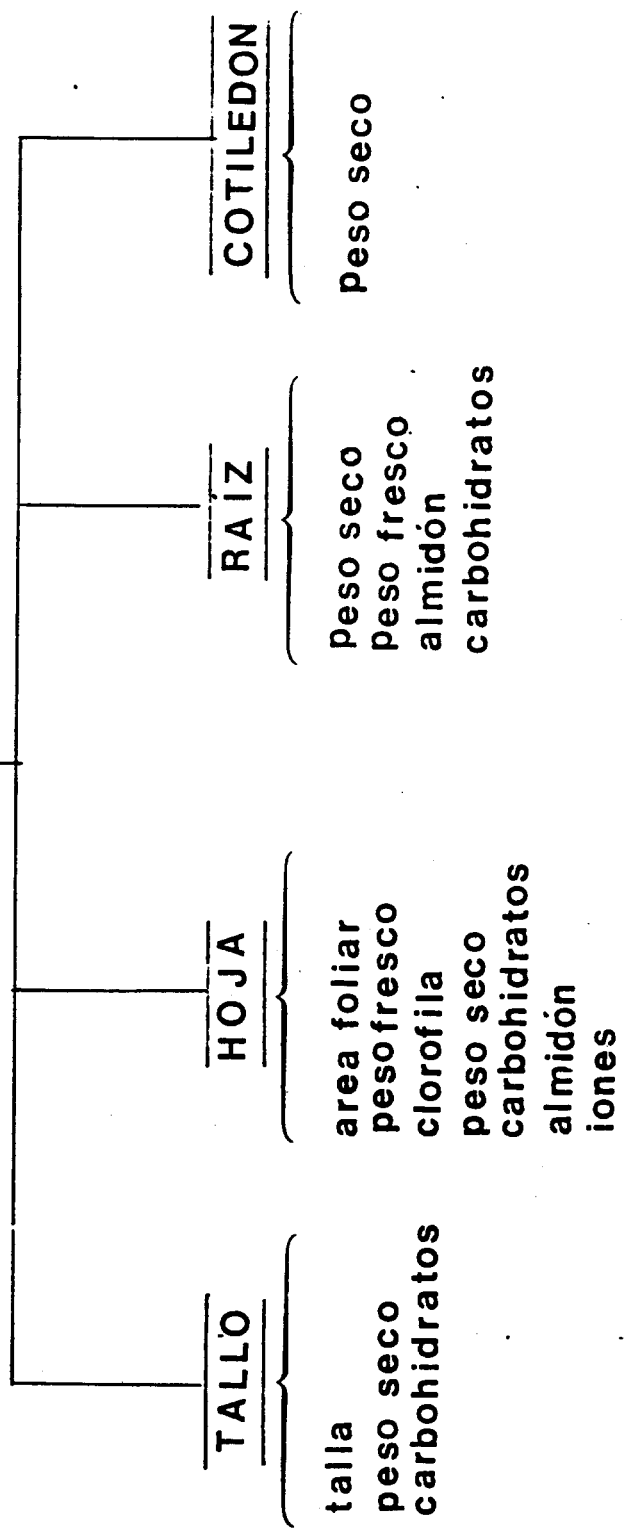


FIGURA 2.1

Esquema analítico para la determinación de los parámetros de crecimiento.

Todas las anteriores cosechas fueron hechas a la misma hora del día (8 AM), ya que ha sido reportado que inmediatamente después del período de oscuridad las plantas tienen sus niveles basales y conforme avanza el período de iluminación hay cambios significativos tanto en el contenido de clorofilas así como cambios en el peso seco de las diferentes partes de la planta (30,60), esto podría alterar los resultados obtenidos y en un momento dado podría llevar a conclusiones erróneas.

DETERMINACION DE LA TASA DE CRECIMIENTO

La determinación de la tasa relativa de crecimiento (RGR) se hizo en base a los pesos secos de todas las partes de la planta, los cuales fueron determinados en una balanza analítica Mettler modelo H54AR de cinco cifras y su cálculo fue hecho de acuerdo con el método propuesto en Techniques in Bioproductivity and Photosynthesis (9), el cuál consiste en graficar el logaritmo del peso seco total de la planta contra el tiempo, y derivar la curva en los días experimentales con lo que se obtiene la tasa de crecimiento según la siguiente fórmula :

$$RGR = \frac{d \ln W}{dt}$$

Donde RGR = tasa relativa de crecimiento (relative growth rate).

$d \ln W$ = derivada del logaritmo natural del peso seco total.

dt = derivada del tiempo.

En la determinación del crecimiento diferencial se

graficó el logaritmo del peso seco de la raíz contra el logaritmo del peso seco del brote completo esto es hojas, tallos, peciolo y cotiledones juntos, siendo la pendiente de la recta obtenida, el valor de la constante alométrica K, cuyo valor es característico para cada tipo de planta (9,31).

DETERMINACION DE CLOROFILA

La determinación de clorofila se hizo a partir de 7 gramos de hojas, a las cuales se les agregaron 25 ml de acetona pura más 50 ml de acetona al 80 %, una vez hecho esto se molieron en una licuadora a máxima velocidad por espacio de dos minutos, la mezcla se pasó a tubos de centrífuga y fue corrida a 7000 X g en una centrífuga Sorvall modelo RC 5 por 10 minutos, al término del proceso, el sobrenadante fue colectado en tubos de ensayo de 20 X 200 mm cubiertos con papel aluminio y el precipitado fue lavado 3 veces a 7000 X g por 15 minutos con 10 ml de acetona al 80 % cada vez. Una vez hecho esto, los extractos fueron guardados a -20 °C por espacio de 2 horas para eliminar las impurezas debidas a fenómenos de postprecipitación, despues de lo cual éstos extractos nuevamente fueron centrifugados a 9000 X g por espacio de 15 minutos en el mismo rotor, hecho esto se colectó el sobrenadante y se tomó una alícuota a la cual se le hizo un barrido de 700 a 400 nm en un espectrofotómetro Beckman modelo Acta M-IV y el contenido de clorofila se calculó de acuerdo a la

siguiente fórmula (57)

mg de clo total $6.45(A665) + 17.12(A649) / 1000$ (vol)
(dilución)

DETERMINACION DE MAGNESIO Y FOSFORO

Para extraer los iones inorgánicos del tejido vegetal, se agregaron 10 ml de HCl 0.1 N a 100 mg de polvo seco y esta mezcla se calentó a 80 ° C por 15 minutos , después de lo cual se dejó en agitación constante durante 50 minutos a temperatura ambiente, inmediatamente después se filtró la suspensión obteniéndose en el filtrado una solución de los iones metálicos presentes en la planta (41), una vez hecho esto se procedió a la determinación de magnesio por titulación con eriocromo negro T (17,35) y el curso de la titulación se siguió a 630 nm en un espectrofotómetro Beckman modelo Acta M-IV.

En el caso de la determinación de fosfato total, se tomó 1 ml del filtrado anterior, en el que se extrajeron los iones de la planta, se adicionaron 9 ml de TCA al 10 % y se procedió a centrifugar a 7000 X g por 15 minutos en una centrífuga Sorvall, modelo RC 5, para eliminar las

proteínas. La determinación se llevó a cabo de acuerdo al método de Fiske y Subarrow (18). Para el caso de la determinación de fosfato soluble, la hidrólisis con HCl de la sección anterior fue substituida por una hidrólisis con agua en las mismas condiciones que la anterior hidrólisis determinandose el fosfato por el mismo método.

DETERMINACION DE ALMIDON, CARBOHIDRATOS SOLUBLES Y SACAROSA

Para la extracción de los carbohidratos solubles se tomaron 200 mg del polvo de las plantas, los cuales fueron colocados en un tubo de centrifuga y se adicionaron unas gotas de etanol al 80 % caliente hasta obtener una pasta, inmediatamente despues se adicionaron 5 ml de agua se agitó la mezcla y se añadieron 25 ml de etanol al 80 % caliente; una vez hecho esto, se procedió a centrifugar a 9000 X g durante 5 minutos en una centrifuga Sorvall modelo RC 5, y despues se decantó la solución alcohólica y el precipitado se lavó dos veces más con porciones de 25 ml cada una, en las mismas condiciones, una vez hecho esto el precipitado se utilizó para la determinación de almidón mientras que la solución alcohólica fue guardada en un congelador para la posterior determinación de carbohidratos solubles y sacarosa.

Para la determinación de almidón, el precipitado de la sección anterior fue colocado en hielo y se le agregaron 5 ml de agua destilada fría y con agitación constante se añadieron 6.5 ml de ácido perclórico al 52 %, en seguida, se agitó el tubo por 5 minutos y se dejó en hielo por otros 15 minutos con agitación ocasional, se preservó en hielo y se agregaron 20 ml de agua, se centrifugó a 3500 X g en el mismo rotor por 15 minutos y el sobrenadante fue pasado a un matraz volumétrico de 100 ml, al precipitado se le adicionaron otros 6.5 ml de ácido perclórico al 52 % (siempre en hielo) y se dejó solubilizar el contenido del tubo por 30 minutos, después de lo cual el contenido del tubo fue pasado al matraz volumétrico y se llevó a la marca de aforo con agua destilada, se filtró a través de papel filtro Watman número 5 descartándose los primeros 5 ml (40)

La determinación del contenido de almidón se hizo según el método de la antrona en el digerido de ácido perclórico (56) y los resultados son expresados como mg de sacarosa / gramo de tejido seco .

La determinación de carbohidratos solubles totales se hizo en el extracto alcohólico de la primera parte del método anteriormente descrito, según el método de Yemm y Willis (61), mientras que la determinación de sacarosa, por el mismo método de la antrona, se realizó calentando el extracto alcohólico con KOH al 30 % a 100 °C por 10

minutos con el objeto de oxidar y/o reducir todos los monosacaridos presentes (reacción de Canizzaro), una vez hecho esto se determinó el contenido de sacarosa por el método de la antrona (30).

DETERMINACION DEL CONTENIDO DE LIPIDOS TOTALES DE RAIZ

Para la determinación del contenido total de lípidos de raíz, 100 mg del tejido seco se depositaron en cartuchos de papel filtro Watman número 1, los cuales previamente fueron puestos a peso constante mediante extracciones con una mezcla de éter de petroleo-éter etílico (3:1) por espacio de 3 horas y secados por espacio de una hora con una lampara de rayos infrarrojos. Una vez depositado el tejido seco en el interior de los cartuchos se procedió a la extracción de los lípidos en un aparato soxhlet con la misma mezcla de éteres por espacio de 100 horas despues de lo cual se secaron los cartuchos con una lampara de rayos infrarrojos durante 3 horas e inmediatamente fueron colocados en un desecador hasta que fueron pesados. El contenido de lípidos se calculó por diferencia de peso entre los cartuchos antes de extraer y despues de extraer los lípidos.

Ley de Harvard Bajo las condiciones más rigurosamente controladas de presión, temperatura, volumen y humedad un organismo vivo hará lo que le venga en gana

RESULTADOS Y DISCUSION

CLOROSIS

La primera pregunta que nos planteamos, debido a la discrepancia en la literatura, fue si había o no clorosis en las hojas de las plantas deficientes de magnesio y de existir ésta en qué momento se presentaba. De acuerdo con los experimentos de Wieckowsky (60), el contenido de clorofila varía en función del parámetro que se escoja para su determinación; lo que implica que los datos del contenido de clorofila en función de masa húmeda, masa seca y/o área foliar, son totalmente diferentes entre sí. Por otro lado, cada una de las variables antes mencionadas puede variar de manera independiente con respecto a las otras, siendo entonces poco confiable la utilización de una sola de ellas. Por este motivo, para probar la ausencia o presencia de clorosis, se decidió determinar el contenido

Por otro lado, para demostrar la presencia o no de clorosis, se requiere utilizar cantidades iguales de hojas (36) , sin embargo la elección de lo que son cantidades iguales de hoja es delicada ya que si se consideran como cantidades iguales de hoja, a hojas con igual área foliar, no indica ésto que tengan el mismo peso fresco o el mismo peso seco.

Por lo que en este trabajo fijaremos arbitrariamente como cantidades iguales de hojas, cuando las hojas procesadas posean la misma área foliar, peso seco igual y preferiblemente aunque no necesariamente igual peso húmedo. En nuestro caso se tomaron todas las hojas de 16 plantas de ambos lotes (plantas control y plantas deficientes de magnesio) ya que el área foliar y el peso seco de las hojas de ambos tipos de plantas fue exáctamente el mismo (figuras 3.1 y 3.2).

Una vez cuantificada la clorofila, se encontró que el contenido de clorofila en función del área foliar, en función del peso seco, así como el contenido total de clorofila en el extracto de hoja no tuvo cambios significativos entre las plantas control y las plantas deficientes de magnesio, mientras que el contenido de clorofilas en función de masa húmeda disminuyó 16 % a los 30 días de edad de las plantas deficientes de magnesio (ver tabla 3.1). En este último caso se observó que el

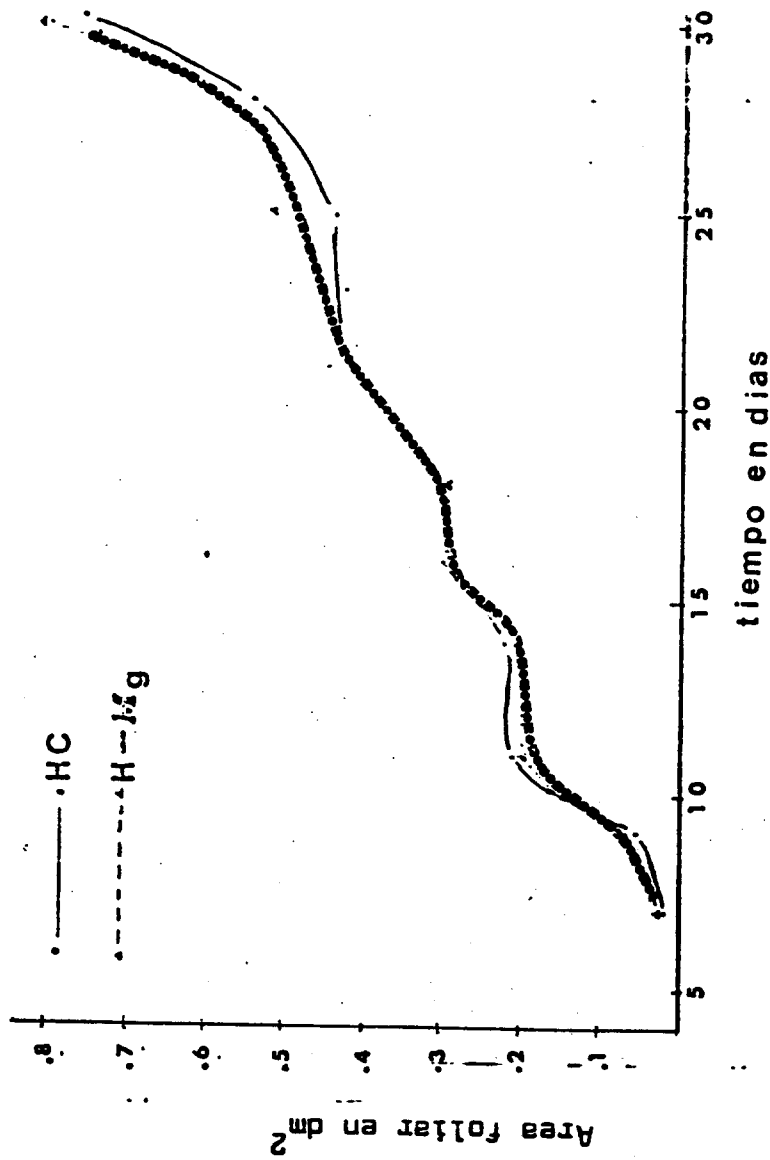


FIGURA 3.1

Area foliar total. Cada punto representa el area foliar total de todas las hojas de 16 plantas (control y deficientes de magnesio) HC indica Hoagland completo y H - Mg indica Hoagland sin magnesio.

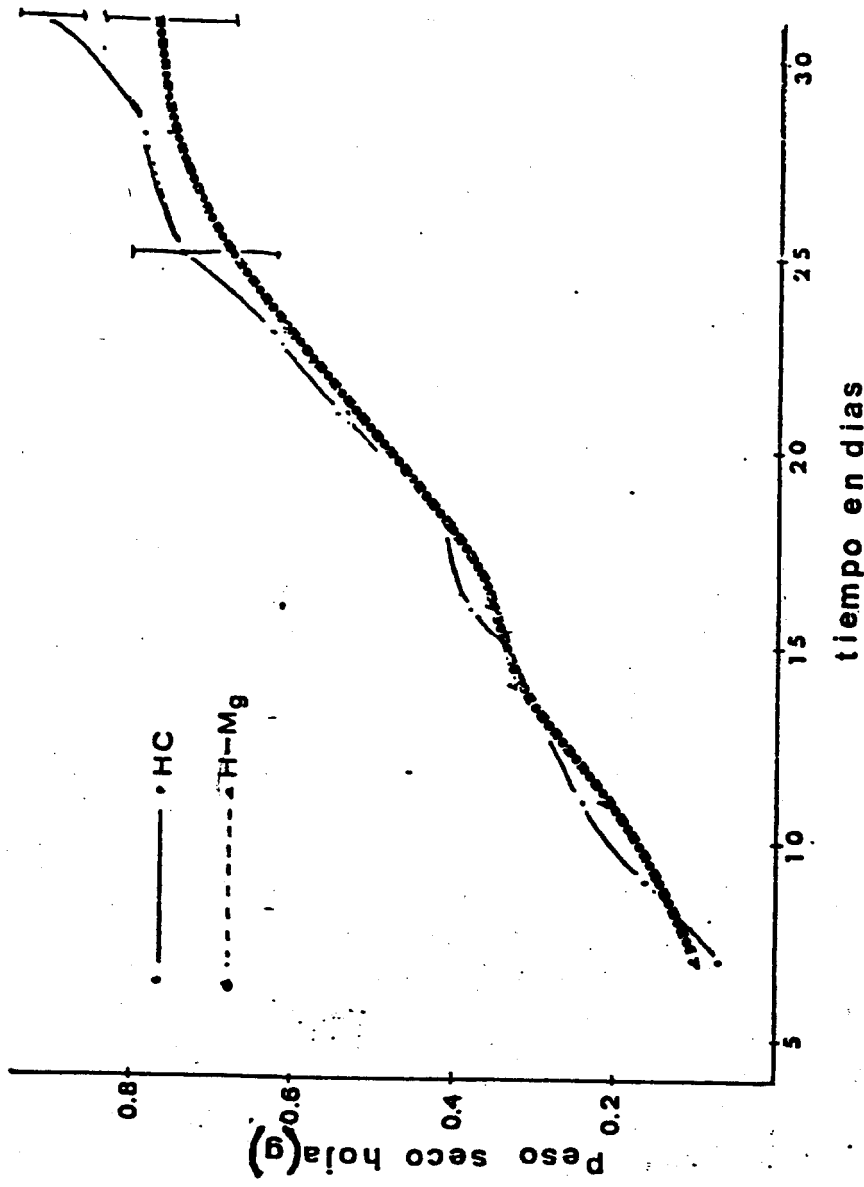


FIGURA 3.2

Peso seco de las hojas (plantas control y plantas deficientes de magnesio) HC indica Hoagland completo y H - Mg indica Hoagland sin magnesio. Los puntos representan el promedio de 5 siembras diferentes.

DÍAS DE CULTIVO DE LA PLANTA	CLOROFILA (mg) MATERIA SECA(g)		CLOROFILA(mg) A FOLIAR(Dm ²)		CLOROFILA (mg) MATERIA FRESCA(g)		CLOROFILA(mg) EXTRACTO	
	control	-Mg ⁺²	control	-Mg ⁺²	control	-Mg ⁺²	control	-Mg ⁺²
7	0.445 ± 0.23	0.439 ± 0.23	2.110 ± 0.365	.713 ± 0.262	0.103 ± 0.02	0.113 ± 0.06	.0362 ± 3.6X10 ⁻³	.0173 ± 3.6X
14	1.98 ± 0.5	2.917 ± 0.68	6.024 ± 1.100	4.556 ± .130	0.714 ± 0.18	0.522 ± 0.07	1.30 ± 0.5	0.96 ± 0.0
21	5.42 ± 1.0	4.79 ± 0.65	7.589 ± 1.120	9.095 ± .150	0.944 ± 0.18	1.119 ± 0.25	3.46 ± 1.0	3.92 ± 1.0
30	6.38 ± 0.67	6.54 ± 0.30	9.232 ± 1.150	7.660 ± .120	1.47 ± 0.01	1.09 ± 0.08	7.07 ± 1.5	6.05 ± 0.2

TABLA 3.1

Contenido de clorofila en función de masa seca, área foliar, masa húmeda así como el contenido de clorofilas en el extracto de hojas; todas las hojas de 16 plantas (control y deficientes de magnesio) fueron tomadas en experimentos diferentes.

contenido de clorofilas empieza a nivelarse a partir de los 21 días de edad de la planta, mientras que en las plantas control éste sigue incrementándose, siendo los valores significativamente diferentes a partir de los 25 días de edad de la planta (figura 3.3). Esta aparente clorosis solo es observable en los extractos de clorofila ya que a simple vista no se observó cambio en el follaje, lo cual sugiere entonces que al menos en soya y hasta los 30 días de edad de la planta la carencia de magnesio no produce clorosis.

CRECIMIENTO

En las plantas deficientes de magnesio, se da el caso de que la plántula aumenta en longitud al igual que las plantas control y sin embargo hay un desaseo neto en el peso seco al mismo tiempo. Para poder interpretar esta aparente disminución del crecimiento, se expresó la curva de crecimiento en términos de diferenciales del peso seco total de la planta lo cual tiene la ventaja de dar velocidades de crecimiento de la planta en su totalidad (4,14).

Este tipo de análisis, basado en diferenciales, ha proporcionado uno de los sistemas más útiles para el estudio de poblaciones relativamente grandes de plantas, ya sea de cultivo o bien el estudio de árboles, siendo muy

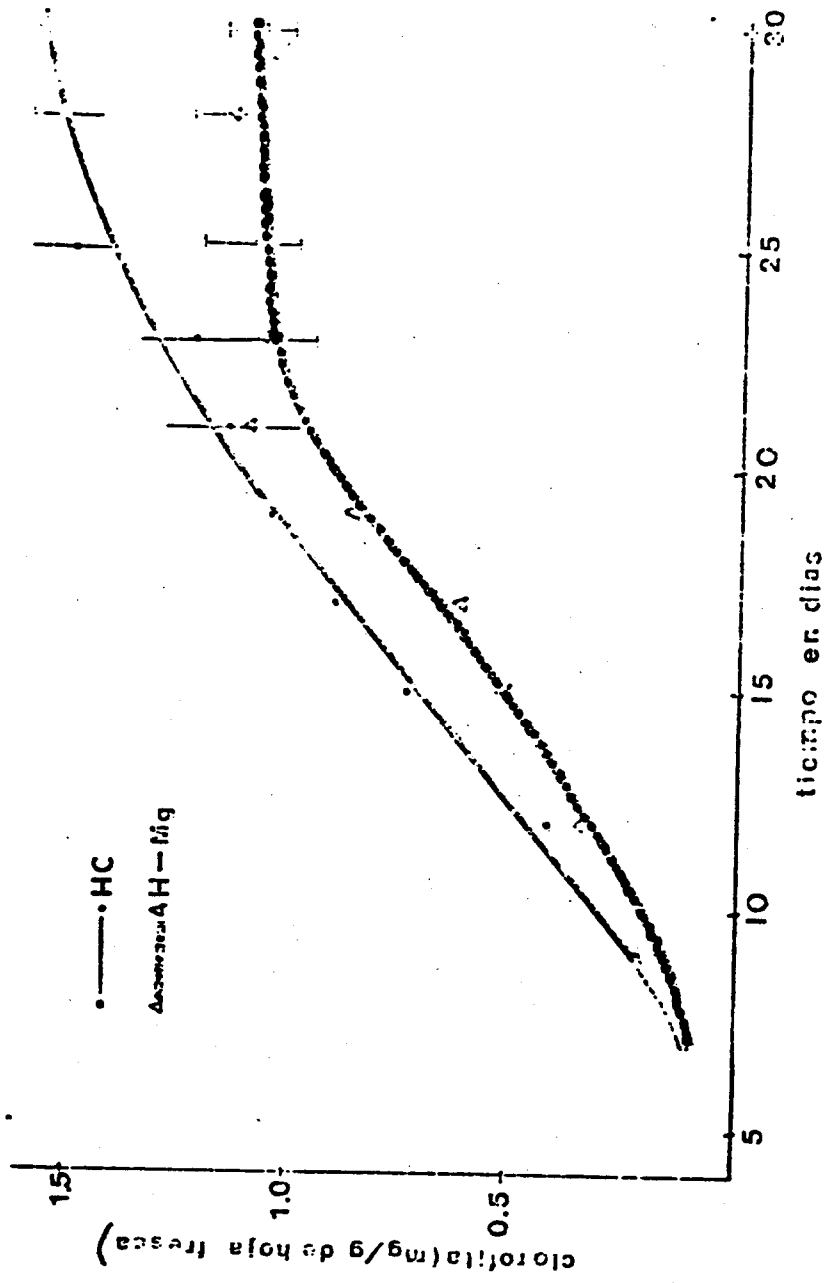


FIGURA 3.3

Contenido de clorofila en función de masa húmeda, la clorofila fue extraída de las hojas de 5 plantas (control y deficientes de magnesio) con acetona 80 % y luego se hizo un barrido de cada una de las muestras de 400 a 700 nm, calculándose el -- contenido de clorofilas de acuerdo con Vernon (1949)

generalizado en el uso del análisis de crecimiento vegetal (plant growht analysis) (9), que tiene la gran ventaja de que solamente requiere dos tipos de mediciones para poder hacer el análisis de crecimiento:

a) el peso de la planta, que usualmente es empleado como peso seco.

b) El tamaño del sistema asimilatorio, que generalmente se expresa como área foliar.

Debido a que éste es un método destructivo requiere de poblaciones muy homogéneas y de un muestreo ideal. En este trabajo usamos únicamente la tasa de crecimiento RGR (relative growht rate), el cual se define como el incremento de materia por unidad de materia presente en todo instante de tiempo.

Se encontró, que la deficiencia de magnesio, afecta principalmente al crecimiento de las plantas en todos los tiempos experimentados como puede observarse en la figura 3.4, ya que la pendiente correspondiente a las plantas deficientes de magnesio es 50 % más negativa con respecto al control y permanece constante en todos los tiempos experimentados.

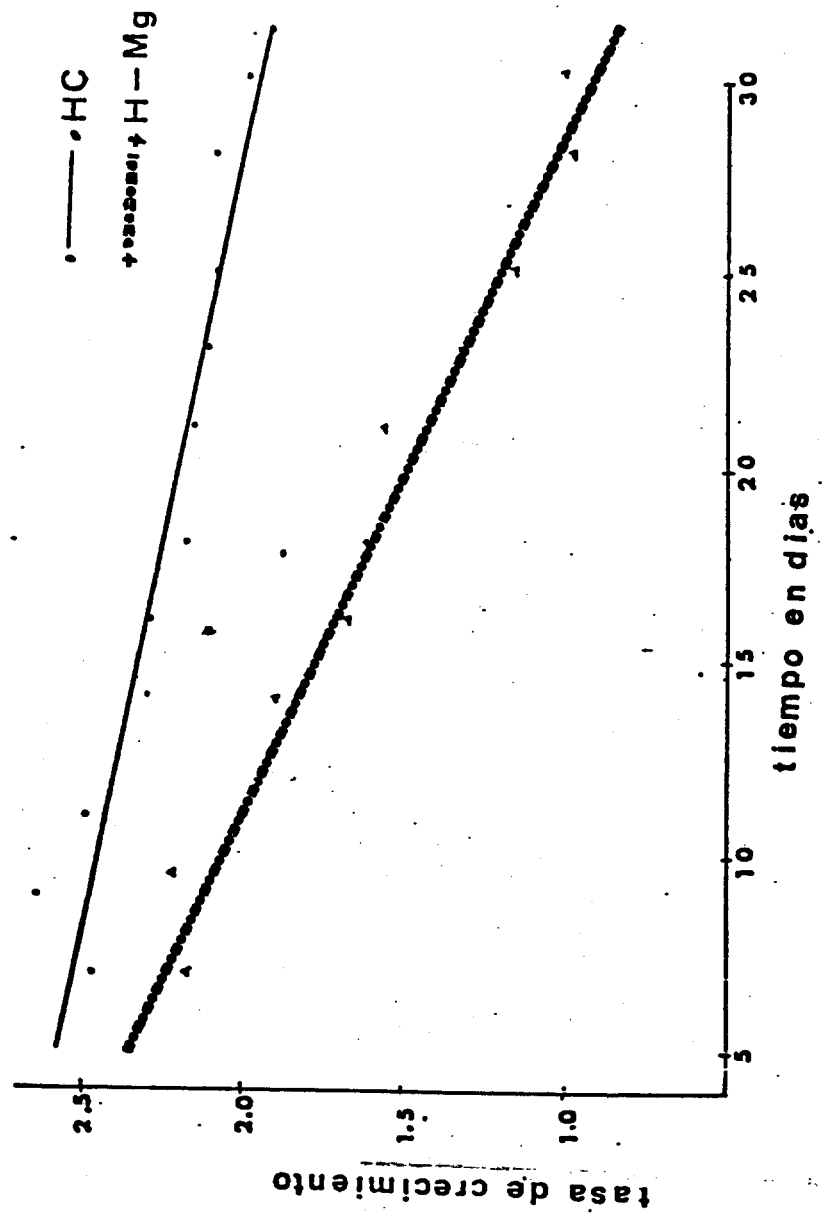


FIGURA 3.4

Tasa de crecimiento, esta tasa se calcula por derivación de la curva de 10 g peso seco total vs. tiempo tanto para las plantas control como para las deficientes de Mg. HC indica Hoagland completo y H-Mg indica Hoagland sin magnesio.

Estos resultados nos indican que la deficiencia de magnesio, trae como consecuencia principal una disminución de la tasa de crecimiento RGR, en todo el periodo de estudio, mientras que, al menos, hasta los 30 días de edad de la planta no se observó clorosis alguna. Esta ausencia de clorosis aunada al hecho de que la talla de ambos tipos de plantas (control y deficientes de magnesio) es igual, sugerían que la disminución en la tasa de crecimiento (peso seco) podía estar asociada a una mala distribución de los fotosintatos.

El análisis de crecimiento vegetal no nos proporciona información de cómo se encuentra la partición de fotosintatos entre las hojas y el resto de la planta, por lo que se hace necesario recurrir al crecimiento diferencial en donde ha sido establecido que, cuando se grafica el logaritmo del peso seco de la raíz vs el logaritmo del peso seco de las partes aéreas de la planta se obtiene una relación cuya ecuación es:

$$\log R_w = \log b + K \log S_w$$

donde R_w = peso seco de la raíz

S_w = peso seco del brote

K es una constante para las especies en crecimiento durante la fase vegetativa y esta constante es conocida generalmente como constante alométrica (31).

Se ha observado una tendencia general a un incremento de la constante K cuando las plantas son sometidas a estrés nutricional, este aumento se puede deber o bien a una disminución en el peso de la raíz aunado al crecimiento constante de las partes aéreas, o en su defecto a un crecimiento constante de la raíz con disminución del crecimiento de las partes aéreas. Este aumento de la constante alométrica K, está íntimamente relacionado con la distribución de los fotosintatos entre las hojas y el resto de la planta (31).

Los resultados mostraron que en las plantas deficientes de magnesio el peso seco de la raíz se mantiene constante, mientras que el peso seco del vástago va disminuyendo con respecto al control a partir del día 21 (ver tabla 3.2).

PARTICION DE FOTOSINTATOS

Steven C. Huber et al, trabajando con semillas de trigo, betabel, tabaco y soya, observaron que las diferencias en la partición de fotosintatos entre almidón y sacarosa, podían estar correlacionados de manera consistente con las diferencias en la relación raíz / tallo expresada en pesos secos y encontraron que en general esta partición está correlacionada inversamente con el peso relativo de la raíz, así como con los niveles de carbohidratos tanto en la hoja como en la raíz (29).

DIA	HOAGLAND COMPLETO			HOAGLAND SIN MAGNESIO		
	masa seca			masa seca		
	TALLO	HOJA	RAIZ	TALLO	HOJA	RAIZ
7	0.2863 ±0.017	0.0813 ±0.017	0.1353 ±0.024	0.4838 ±0.26	0.0841 ±0.018	0.1655 ±0.04
9	0.3543 ±0.027	0.1795 ±0.017	0.1858 ±0.018	0.3714 ±0.04	0.1738 ±0.012	0.193 ±0.02
14	0.5540 ±0.062	0.3716 ±0.063	0.1997 ±0.008	0.5867 ±0.1012	0.3256 ±0.06	0.2234 ±0.004
18	0.6811 ±0.027	0.4110 ±0.014	0.2130 ±0.006	0.7164 ±0.1018	0.4172 ±0.025	0.244 ±0.005
21	0.808 ±0.1086	0.5463 ±0.077	0.2270 ±0.027	0.9072 ±0.173	0.5438 ±0.041	0.2547 ±0.008
25	1.086 ±0.046	0.8564 ±0.068	0.2773 ±0.06	0.9345 ±0.1196	0.6874 ±0.066	0.3007 ±0.066
30	1.1712 ±0.26	1.0732 ±0.109	0.2660 ±0.016	1.0563 ±0.24	0.7707 ±0.1645	0.2520 ±0.03

TABLA 3.2

Peso seco de las diferentes partes de la planta, en esta tabla se puede observar que el peso seco de las raíces de ambos tipos de plantas (control y deficientes de magnesio.) se mantiene constante y no hay diferencias significativas entre -- ambos tipos de plantas. Los puntos representan el promedio de cuatro experimentos diferentes.

Posteriormente el mismo autor observó que la diferencia en la acumulación de almidón en las hojas resulta de un cambio en la partición de fotosintatos entre el almidón y el peso seco residual de la hoja, y basándose en la hipótesis de que la acumulación del almidón foliar resulta, ya sea de una limitación en la síntesis y translocación de sacarosa o bien de una síntesis programada por la demanda energética de los periodos luz-obscuridad, encontró que la tasa de acumulación diurna de almidón se vió alterada por la longitud del fotoperiodo bajo las condiciones en que fueron crecidas las plantas. Así la tasa de acumulación foliar de fotosintatos en los periodos fotosintéticos de 7 horas fueron mucho mayores que en los de 14 horas, lo que demostraba que la acumulación de carbohidratos y/o almidón es un proceso modificado por el fotoperiodo. Finalmente estos mismos autores, basándose en el hecho de que el almidón se sintetiza en el cloroplasto mientras que la sacarosa se forma en el citoplasma y por consiguiente los esqueletos carbonados deben ser transportados del estroma del cloroplasto hacia el citoplasma, propuso que probablemente la acumulación de almidón estuviera regulada por la actividad de la sacarosa fosfato sintetasa y esta a su vez por los niveles de nitrógeno, para demostrar esa hipótesis, crecieron plantas de soya en diferentes fuentes de nitrógeno y las cosechó a varios tiempos, encontrando que la partición del CO_2 fijado fotosintéticamente, entre el almidón y la sacarosa, que se lleva a cabo en las células del mesófilo,

debió ser regulado en parte por la actividad de la sacarosa fosfato sintetasa (6).

En general, este autor encontró una buena correlación entre la formación de sacarosa en las células aisladas y la actividad de la sacarosa fosfato sintetasa. En sus experimentos el almidón y la sacarosa juntos representaron del 60 al 80 % de la radiactividad total del CO_2 fijado por las células aisladas de hojas y encontró que el incremento del flujo de carbono hacia uno de estos productos ocurre a expensas del otro, esto es que un incremento en la formación de sacarosa, se asocia con un decremento en la formación de almidón. Así mismo, la tasa de formación de sacarosa, puede entonces estar regulada indirectamente por la tasa de formación de almidón y consecuentemente la correlación negativa entre el contenido de almidón de la hoja completa (tasa de acumulación) y la actividad de la enzima limitante relacionada en la vía de la sacarosa, puede ser explicada, y por lo tanto la partición del carbono entre el almidón y la sacarosa en las hojas puede ser uno de los factores que afectan el crecimiento de los brotes con respecto a las raíces, fenómeno que además se ve aumentado con la deficiencia de nitrógeno (6,29,30).

Según lo anteriormente expuesto, el decremento en el peso seco de las partes aéreas observado en este trabajo, en las plantas deficientes de magnesio, se encuentra íntimamente relacionado con la distribución de

fotosintatos y dicha distribución puede modificarse de de dos maneras: no se genera el almidón o bien, este se forma normalmente pero no es transportado de manera adecuada al resto de la planta.

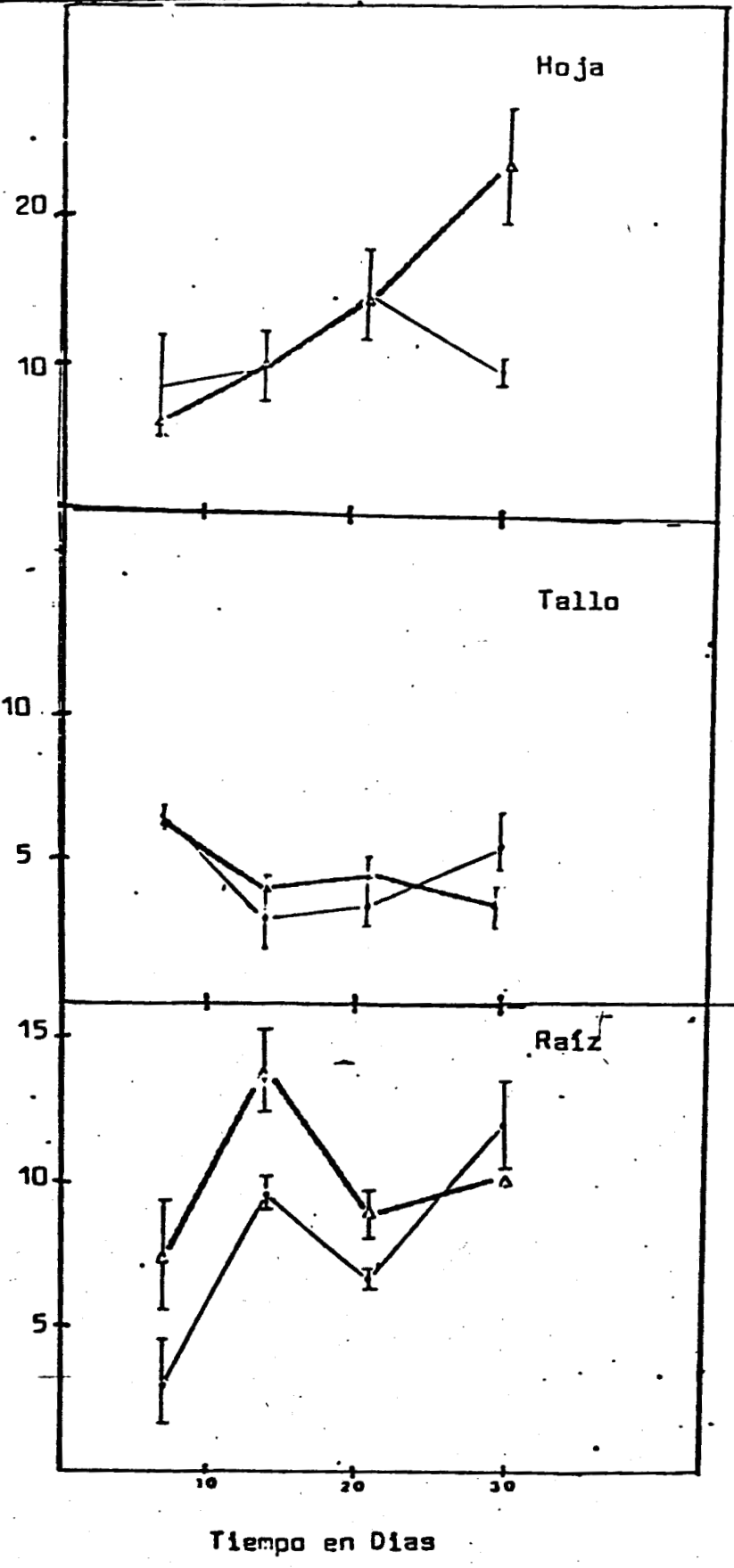
CARBOHIDRATOS SOLUBLES TOTALES

Para poder discernir cuál de estas dos posibilidades era la que se estaba manifestando en las plantas deficientes de magnesio, se decidió determinar el contenido de carbohidratos no estructurales (solubles totales, almidón y sacarosa) en ambos tipos de plantas (plantas control y plantas deficientes de magnesio), encontrándose aumentado el contenido de carbohidratos solubles totales en un 150 % en las hojas de las plantas deficientes de magnesio a partir de los 21 días de edad de la planta, no así en el tallo en donde los niveles fueron iguales para ambos tipos de plantas y para el caso de la raíz nuevamente se encontró aumentado en un 30 % el contenido de carbohidratos no estructurales en las plantas deficientes de magnesio antes de los 21 días, pudiendo corresponder ésto a una alteración en la redistribución de los carbohidratos entre la raíz y las hojas en el día 21 (figura 3.5).

SACAROSA

Así mismo, el contenido de sacarosa siguió la misma

Contenido de Carbohidratos Solubles totales (mg / g tejido seco)



Tiempo en Dias

FIGURA 3.5

Contenido de carbohidratos solubles totales, los carbohidratos fueron determinados por el método de la antrona (5 experimentos); la línea gruesa indica Hoagland sin magnesio y la línea delgada el control.

tendencia que los carbohidratos solubles totales, con la diferencia de que en las raíces de las plantas deficientes de magnesio el contenido de sacarosa se encontró disminuido en un 26 % en todos los tiempos experimentales probados (figura 3.6).

A L M I D O N

Por otro lado, el contenido de almidón incrementó durante los primeros 21 días de edad en las hojas de las plantas deficientes de magnesio y a partir de ese día empezó a disminuir. En los tallos, el contenido de almidón tuvo una tendencia a disminuir desde el inicio de la vida de las plantas deficientes de magnesio siendo esta disminución del 75 % a los 30 días, lo que está en concordancia con la disminución del peso seco del tallo y para el caso de las raíces, las plantas deficientes de magnesio tuvieron disminuido su contenido de almidón en un 30 % con respecto al control en todos los tiempos experimentados (figura 3.7)

El aumento en el contenido de fotosintatos, en las hojas de las plantas deficientes de magnesio, es un fenómeno, que en primer lugar, nos está indicando que el proceso fotosintético aparentemente no está alterado por la deficiencia de magnesio, lo que a la vez implica que los niveles de magnesio total en la hoja deberían ser iguales o por lo menos muy similares en ambos tipos de plantas (plantas control y plantas deficientes de magnesio), por lo que se procedió a determinar el contenido total de magnesio

Contenido de Sacarosa (mg / g tejido seco)

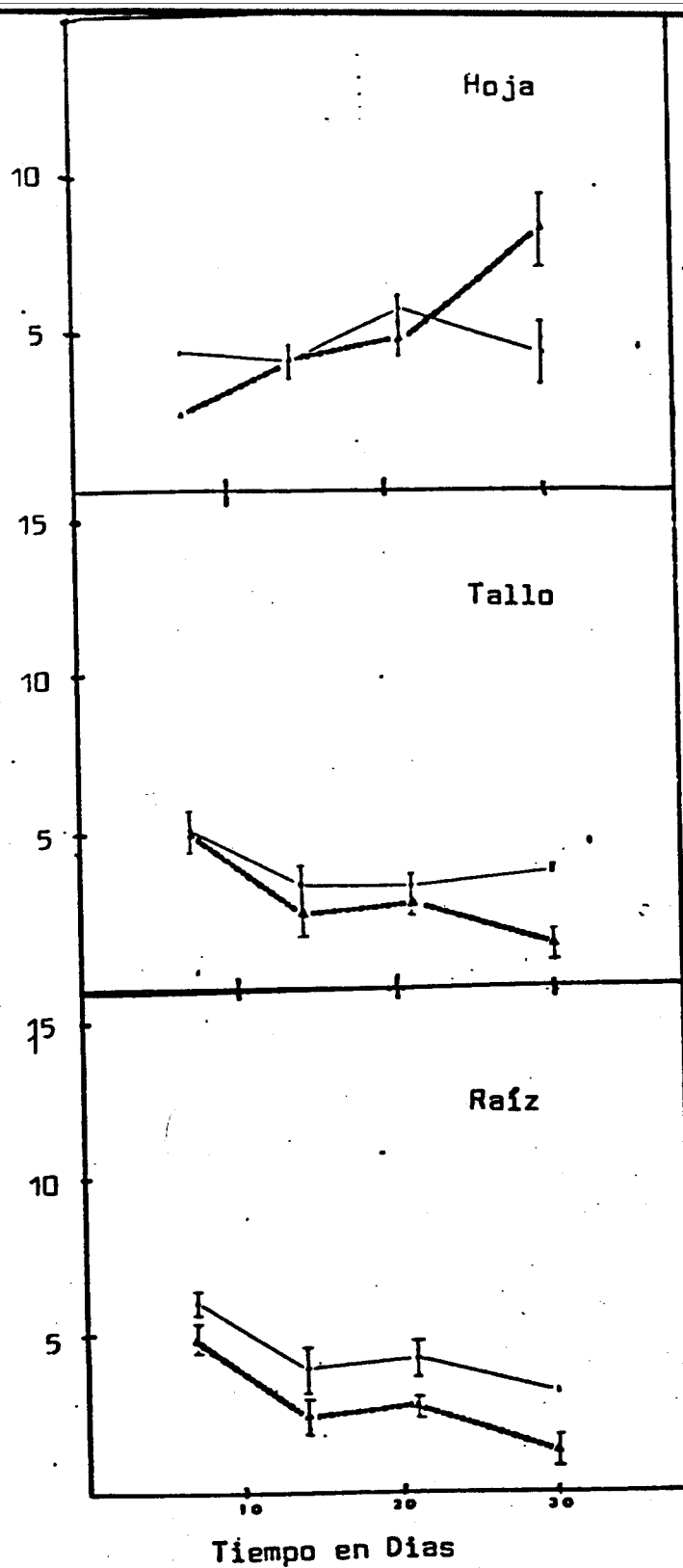


FIGURA 3.6

Contenido de sacarosa. La sacarosa fue determinada en el mismo extracto en el que se determinaron los carbohidratos solubles totales previo tratamiento con KOH 30 %, así mismo fueron determinados los niveles de sacarosa por el método de la antrona, la línea gruesa indica Hoagland sin magnesio y la línea delgada el control.

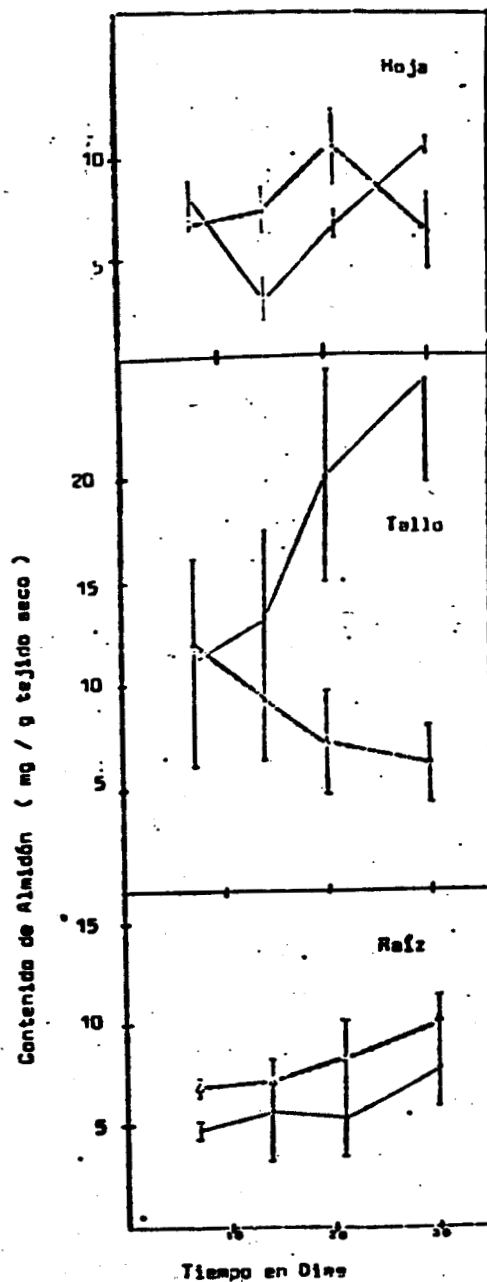


Fig. 3.7

Contenido de almidón, el almidón fue determinado según el método de McReady et al, previa extracción de los carbohidratos solubles. La línea gruesa indica Hoagland sin magnesio y la línea delgada Hoagland completo.

en hoja, tallo y raíz. Se encontró que efectivamente no había cambios significativos en el contenido total de magnesio en las hojas de ambos tipos de plantas, por lo menos hasta los 25 días de edad, a partir de los cuales ocurre una disminución del 21 % en los niveles del magnesio total de las hojas en las plantas deficientes de magnesio (figura 3.8), disminución que se debe principalmente a la disminución del magnesio disponible (figura 3.9), dato que está en concordancia con la ausencia de clorosis ya discutida. Por otro lado, los niveles de magnesio en los tallos fueron iguales para ambos tipos de plantas (plantas control y plantas deficientes de magnesio), mientras que en las raíces de las plantas deficientes de magnesio, el contenido de dicho ion se ve drásticamente disminuido desde el inicio de la vida de la planta alcanzando un 62 % de disminución a los 30 días de edad de la planta (figura 3.8).

Una vez hecho esto, la siguiente pregunta era: por qué se acumulaba el almidón, al mismo tiempo que los carbohidratos solubles ?, para contestarla, fué necesario hacer una revisión cuidadosa tanto del ciclo de Calvin como de la translocación de fotosintatos hacia afuera del cloroplasto y hacia afuera de la célula parenquimatosa (figura 3.10).

Millimoles de ión magnesio por gramo de tejido seco

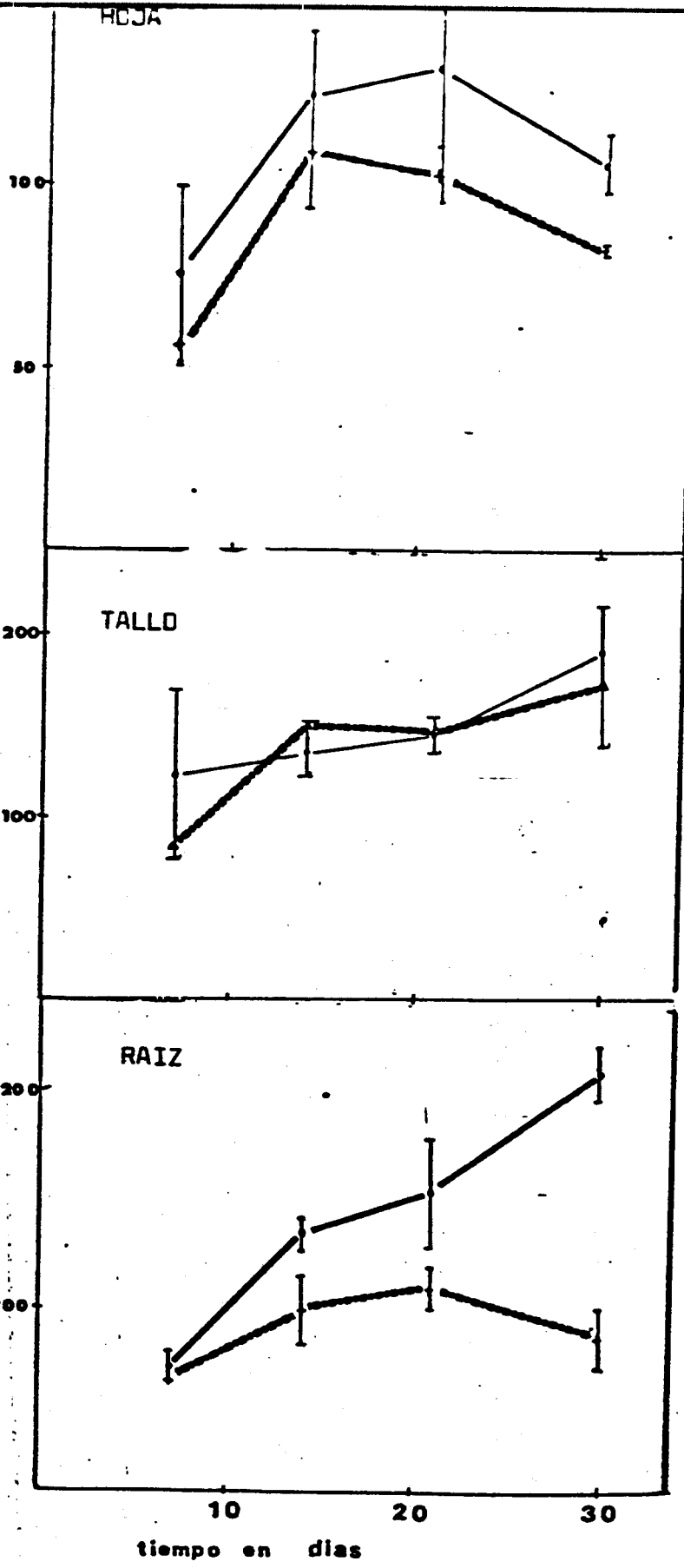


FIGURA 3.8

079231

Contenido de magnesio total, el magnesio fue extraído del tejido vegetal por hidrólisis con HCl y luego determinado colorimétricamente por titulación con EDTA usando como indicador Eriocromo negro T. La línea gruesa indica Hoagland sin magnesio y la línea delgada Hoagland completo.

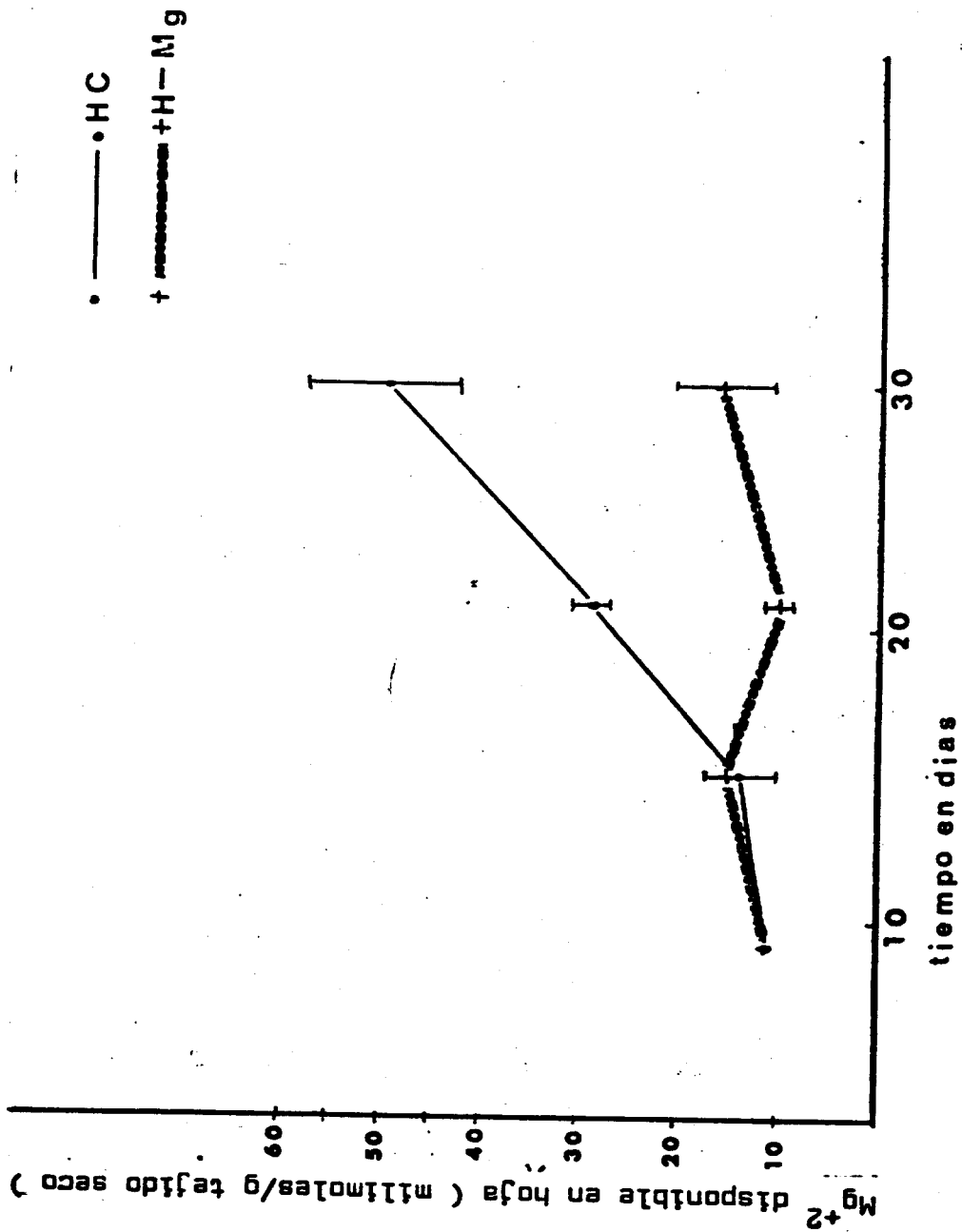


FIGURA 3.9

Contenido de magnesio disponible en hoja, el magnesio se determinó por titulación complejométrica con EDTA en presencia de eriocromo negro T como indicador previa extracción del ión con agua. HC indica Hoagland completo y H - Mg indica Hoagland sin magnesio.

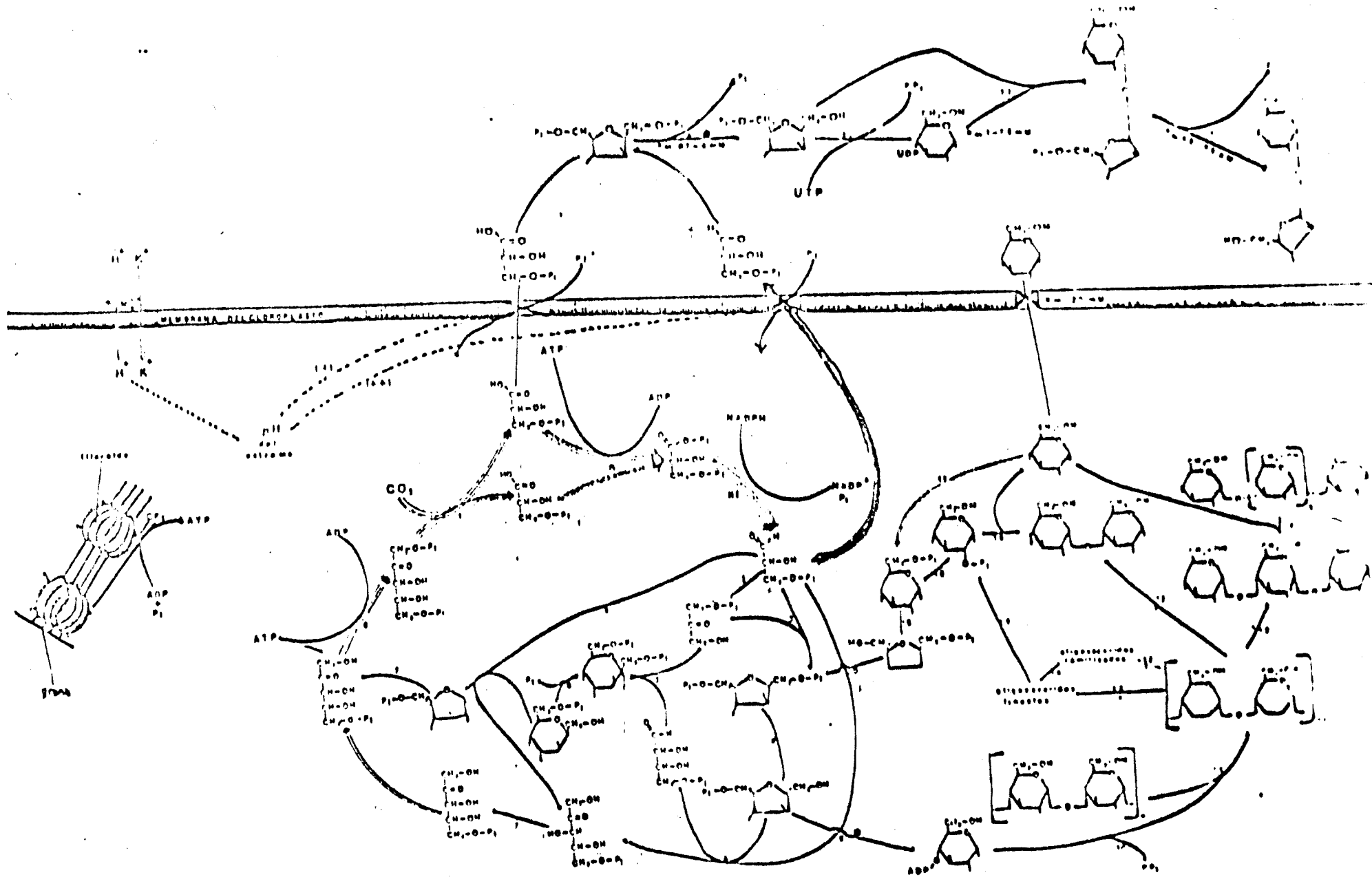


FIGURA 3.10

Fijación fotosintética del CO_2 por el ciclo de Calvin, ciclo que parece ser ubicuo en todos los tipos de plantas (CAM , C_3 y C_4) así mismo se han integrado las vías metabólicas del almidón y la sacarosa indicándose con números las diferentes enzimas que participan en estos procesos.

ENZIMAS

- | | |
|--|--------------------------------|
| I Ribulosa bis fosfato carboxilasa | 14 Enzima R |
| II 3-Fosfoglicerocinasa | 15 Fosforilasa |
| III Gliceraldehido-3-Pi-deshidrogenasa | 16. Maltosa fosforilasa |
| 2 Triosa fosfato isomerasa | 17 Hexocinasa |
| 3 Aldolasa | 18 Fosfoglucomutasa |
| 4 Fructosa-1,6-difosfato fosfatasa | 19 Fosfoglucoisomerasa |
| 5 Transcetolasa | 20 Fosfofructocinasa |
| 6 Fosfatasa | 21 UDP Glucosa pirofosforilasa |
| 7 Fosfopentoisomerasa | 22 Sacarosa fosfato sintetasa |
| 8 Fosfopentocinasa | 23 Sacarosa fosfato fosfatasa |
| 9 UDP Glucosa pirofosforilasa | |
| 10 Pirofosfatasa | |
| 11 Almidón sintetasa | |
| 12 Amilasa | |
| 13 Enzima D | |

Los signos * indican que las enzimas son regulables por los niveles de fosfato libre.

Los signos \square indican la presencia de un translocador.

Los signos ? indican que la vía señalada no ha sido totalmente demostrada.

Las flechas con líneas dobles indican que son dos moléculas las involucradas, - las líneas triples, tres moléculas y así sucesivamente.

La anterior figura constituye una recopilación tomada de Grahame J Kelly and Erwin Lutzko, Ann Rev Plant Physiol 27:181-205 (1976) Preiss Jack Ann Rev Plant Physiol 33 431-454 (1982) y Beadle C L et al in Photosynthesis in Relation to Plant Production in Terrestrial Environments, First Edition (1985) London UNEP Published

FOSFATOS

Fueron descartadas las enzimas dependientes de magnesio, ya que no hay disminución en los niveles de magnesio en las hojas de las plantas con deficiencia de magnesio con excepción de la raíz. Al descartar la posibilidad del ion Mg^{+2} , había que buscar una explicación, al incremento en los niveles de carbohidratos.

Heldt et al (27) encontraron que discos de hoja cultivados en condiciones de deficiencia de fosfato acumulaban grandes cantidades de carbohidratos. Con base en los experimentos de Heldt et al y de acuerdo con la figura 3.10, una posible explicación al aumento de los carbohidratos solubles y el almidón es que las plantas deficientes de magnesio tuviesen una disminución concomitante en los niveles de fosfato, puesto que el fosfato inhibe las actividades de la ADP glucosa pirofosforilasa y la sacarosa fosfato sintetasa, y al haber una disminución en los niveles de fosfato también podría perderse el efecto inhibitorio del fosfato en ambas enzimas, lo cual se reflejaría en una acumulación de carbohidratos solubles y almidón en las hojas de las plantas deficientes de magnesio. Así mismo para que las triosas fosfato puedan salir del cloroplasto, estas necesitan ser intercambiadas por fosfato en la membrana externa del

cloroplasto, por lo que una disminución en los niveles de fosfato también se refleja en la acumulación de triosas fosfato (26).

Para probar la hipótesis de que el aumento de carbohidratos inducido por la deficiencia de magnesio se debe a una disminución concomitante en los niveles de fosfato, se procedió a determinar el contenido de fosfato en las hojas, tallos y raíces de ambos tipos de plantas (plantas control y plantas deficientes de magnesio), encontrándose que el contenido de fosfato total en las hojas provenientes de las plantas deficientes de magnesio se encuentra disminuido durante los primeros 16 días de edad de la planta, posteriormente se iguala el contenido de fosfatos en ambos tipos de plantas (figura 3.11). Ahora bien, la forma del fosfato capaz de alterar la actividad de las enzimas es el fosfato libre y no el fosfato unido, razón por la cual se determinó el fosfato libre, encontrándose que éste estaba disminuido desde los 10 días de edad de la planta en las hojas de plantas deficientes de magnesio y solo se vio una disminución del fosfato disponible en las plantas control hasta los 30 días de edad de la planta (figura 3.12). Al ser determinado el contenido de fosfatos en los tallos provenientes de ambos tipos de plantas (control y deficientes de magnesio), no se encontró ningún cambio significativo hasta los 21 días de edad de la planta sufriendo después una ligera disminución,

CONTENIDO DE FOSFATO TOTAL (mg/ g tejido seco)

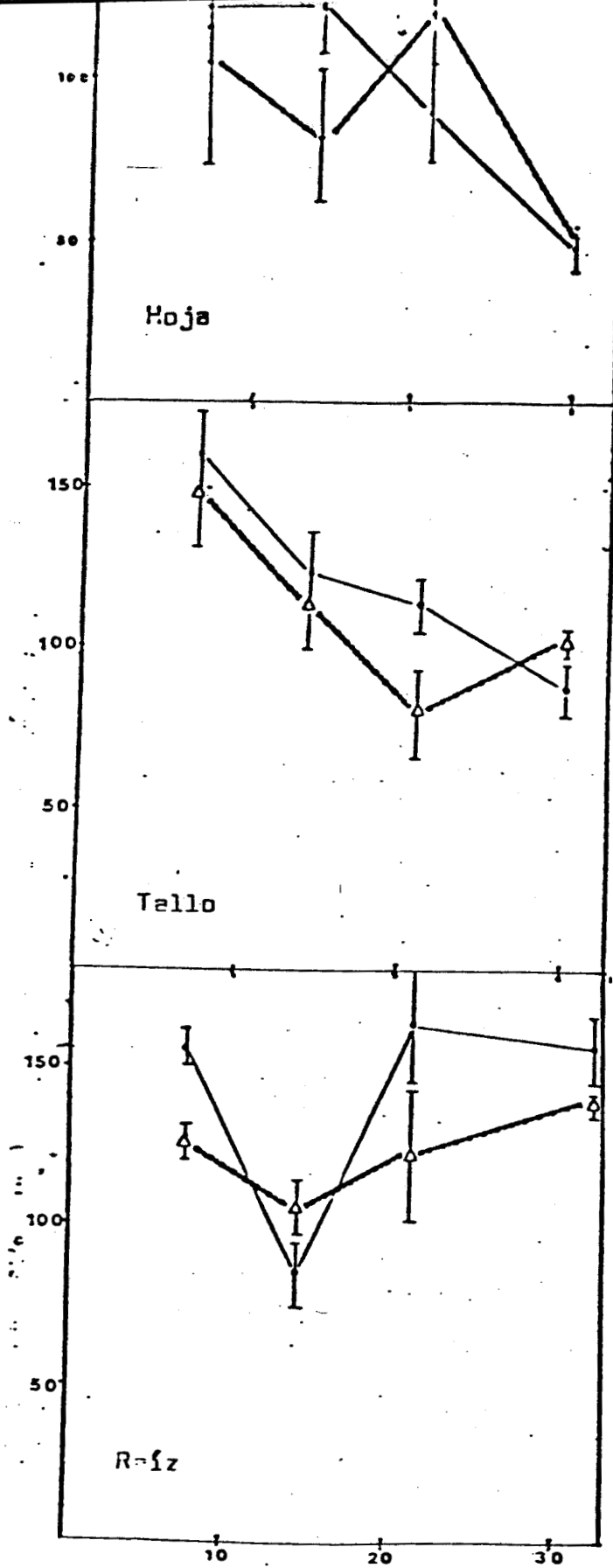
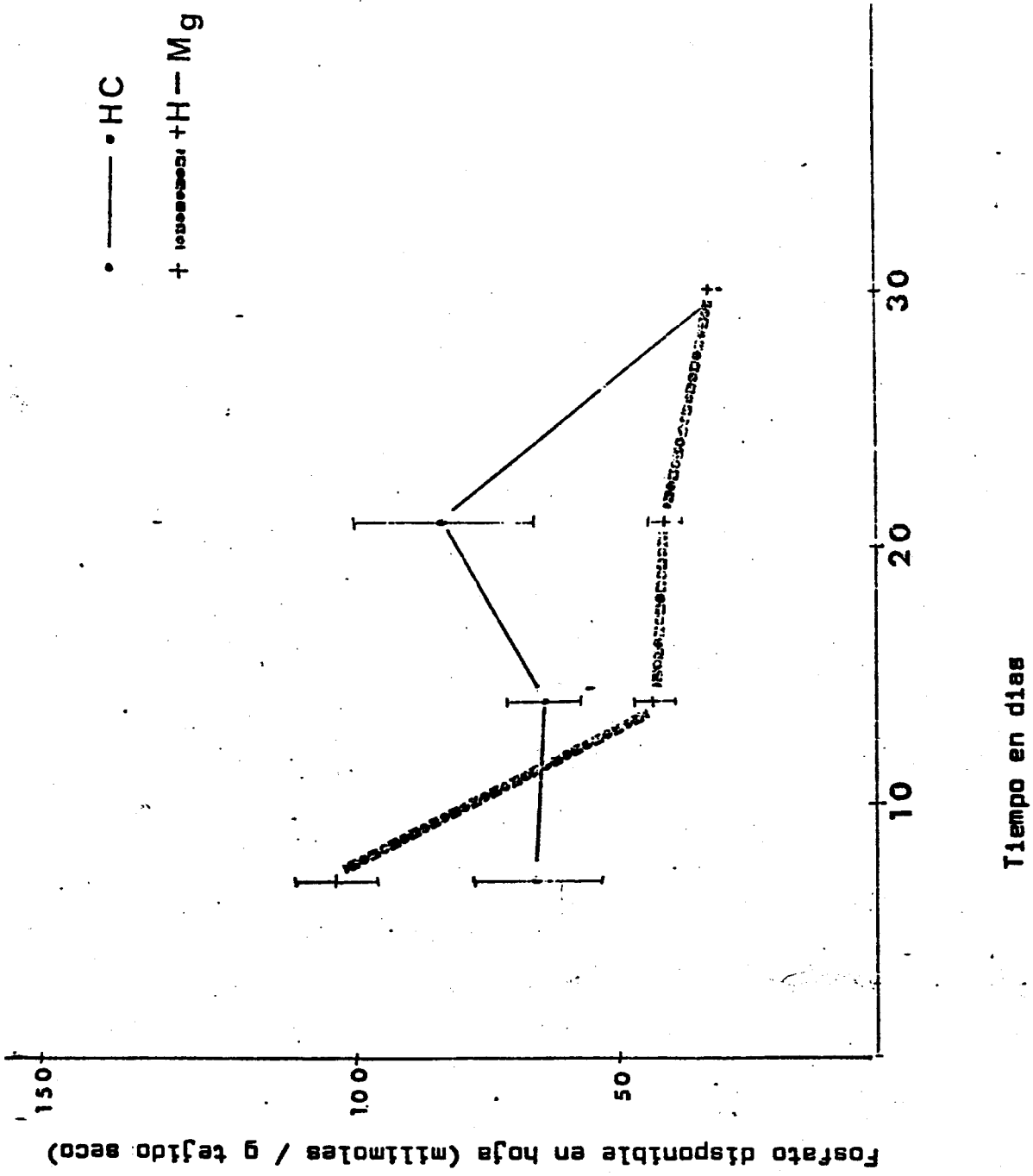


FIGURA 3.11

Contenido de fosfato total, el fosfato fue determinado por el método de Fiske y Subarow previa extracción del ion por hidrólisis con HCl. La línea gruesa representa plantas sin magnesio y la línea delgada plantas control.



Tiempo en días

FIGURA 3.12

Contenido de fosfato disponible en hojas, el fosfato fue determinado por el método de Fiske y Subarrow previa extracción del ión con agua. HC - indica Hoagland completo y H - Mg indica Hoagland sin magnesio

mientras que en la raíz se encontró disminuido en todos tiempos a excepción de los 14 días de edad de la planta (figura 3.11), lo cual nos indicaba que efectivamente la posible causa del aumento de carbohidratos en las hojas era la disminución en los niveles de fosfatos, de acuerdo con los datos de Heldt ya mencionados.

El siguiente paso era tratar de explicar por qué se hallaban disminuidos los fosfatos, si la deficiencia inducida fue la deficiencia de magnesio, una posible explicación a esto está en los trabajos de Pozuelo y Kolattukudy (36,66) quienes reportaron que la deficiencia de magnesio incrementa el contenido de suberina en raíces de maíz y que la presencia de suberina en exceso tal vez puede bloquear la entrada de fosfato, de ser así tienen que cumplirse dos condiciones: la disminución del contenido de fosfatos en todas las partes de la planta y dos, que previamente a la disminución de fosfatos debe haber un incremento notable en el contenido de lípidos de raíz, como consecuencia de la deficiencia de magnesio. para poder comprobar esto, se determinó el contenido de lípidos en las raíces de ambos tipos de plantas (control y plantas deficientes de magnesio), encontrándose datos contradictorios que no permitieron llegar a una conclusión.

De acuerdo con los datos disponibles en la literatura, la absorción de fosfato y otros iones, puede ser vía un

mecanismo de cotransporte con protón, se ha sugerido que los protones pueden ingresar por los extremos de los pelos radicales de cebada, así como por la superficie de la raíz que se encuentra por debajo de los pelos radicales (8). Se han reconocido algunas especies que son particularmente efectivas para obtener fosfato de los suelos deficientes de este anion. Cada una de estas especies, acidifica su rizosfera por un mecanismo de extrusión de protones cambiando el pH hasta 4.1 y se ha reportado que éste cambio de pH, incrementa hasta diez veces la disponibilidad del fosfato para las raíces (8).

Por otro lado, se ha publicado que las plantas deficientes de fosfato pueden liberar grandes cantidades de carbohidratos y particularmente de aminoácidos a la rizosfera así como que el escape de carbohidratos puede ser atribuido a un decremento de fosfolípidos en las raíces de plantas de sorgo deficientes de fosfato.

En lo que se refiere al mecanismo de absorción del ion fosfato, éste ha sido ampliamente estudiado en las asociaciones hongo-planta llamadas micorrizas, y se sabe que el fosfato es absorbido por la hifa externa del hongo, y el transporte através de la membrana plasmática del hongo parece ser vía un simportador $2H/P_i$, que depende de la translocación de protones de una ATPasa. Una vez dentro del citoplasma del hongo, el fosfato es secuestrado en

vacuolas y convertido en polifosfato por la acción de la enzima polifosfato cinasa, y de aquí posteriormente tiene que pasar hacia la planta por un mecanismo que aparentemente está acoplado a los flujos de carbohidratos hacia la rizosfera (8).

Al ser analizados nuestros datos en el tiempo (tabla 3.3), se puede ver que la primera alteración que se presenta es una disminución en los niveles de fosfato en las hojas y las raíces de las plantas deficientes en magnesio, disminución que se presentó al mismo tiempo que la disminución en los niveles de magnesio, esto es, aproximadamente a los 14 días de edad de la planta, por consiguiente ésta disminución debería traer como consecuencia una acumulación de carbohidratos en las hojas, acumulación que se observó a partir de los 21 días de edad de la planta, mismo fenómeno que se presentó en los tallos (tanto para los carbohidratos solubles totales como para la sacarosa).

Si el mecanismo de entrada de fosfatos, requiere de la salida de carbohidratos y puesto que los datos obtenidos en éste trabajo apuntan a una disminución en el transporte de fotosíntatos desde las hojas hacia la raíz, una posible explicación de la disminución del contenido fosfatos en las plantas deficientes en magnesio es que no existan suficientes carbohidratos en éstas plantas que puedan salir para la entrada de fosfato, sin embargo esto

		Tiempo en días			30.		
		7	14	21			
Magnesio foliar total (milimoles por g de tejido seco)	Control	74	133.3	120.37	105.5		
	-Mg ⁺²	+ 18 55.5 ± 15	+ 20 101.8 ± 7.4	+ 15 94.5 ± 5.2	+ 7.4 81.48 ± 2		
Fosfato foliar disponible (milimoles por g de tejido seco)	Control	65.78	64.47	84.21	30.26		
	-Mg ⁺²	+ 12 105.2 ± 7.8	+ 7.8 44.72 ± 4.0	+ 15 44.28 ± 2.6	+ 1 32.8 ± 2.21		
Carbohidratos solubles totales en hoja (incluye sacarosa) (mg por g de tejido seco)	Control	8.5	10.5	16	10.5		
	-Mg ⁺²	+ 1.5 6.0 ± 1.0	+ 2.5 10.5 ± 2.5	+ 3 15.5	+ 1 25.85 ± 4		

TABLA 3.3

Comparación de los principales síntomas de la deficiencia de magnesio en los tiempos experimentales usados en este trabajo. Cada dato constituye el promedio de cinco siembras diferentes.

no excluye la posibilidad de que la banda de Caspari pueda disminuir la entrada de fosfato, ya que se ha reportado (47) que las raíces de las plantas deficientes en magnesio exhiben un engrosamiento de las láminas de suberina de la endodermis y peridermis.

Siempre que se trabaja en base a una pregunta, resulta bueno saber la respuesta de antemano

CONCLUSIONES

a) La deficiencia de magnesio en plantas de soya trae como principal alteración una disminución de la tasa de crecimiento en todos los tiempos experimentados.

b) Las plantas de soya deficientes de magnesio son capaces de movilizar sus reservas de magnesio (provenientes de cotiledón probablemente) hacia las hojas, de tal manera que sus niveles totales de magnesio solo se ven disminuidos en las otras partes de la planta tales como las raíces, razón por la cual no se manifiesta la clorosis en las hojas de las plantas deficientes de magnesio.

c) una alteración fisiológica asociada a la deficiencia de magnesio es la deficiencia de fosfato que cursa simultáneamente con la deficiencia de magnesio y que probablemente sea consecuencia de la deficiencia de

magnesio.

d) La acumulación de almidón y de carbohidratos solubles en las hojas puede ser consecuencia de la deficiencia de fósforo, la cuál a su vez puede ser consecuencia primaria de la deficiencia de magnesio.

e) La acumulación de fotosintatos en las hojas de las plantas deficientes en magnesio, sugiere que el aparato fotosintético no está alterado

f) Aparentemente el principal problema de las plantas deficientes de magnesio es una translocación inadecuada de los fotosintatos desde las hojas hacia los tallos y raíces de la planta, lo cuál se ve reflejado en la disminución de la tasa de crecimiento.

g) Se propone que la deficiencia de magnesio induce simultáneamente una deficiencia de fosfatos. Dicha deficiencia de fosfatos, trae como consecuencia una acumulación de los carbohidratos no estructurales (almidón, sacarosa y carbohidratos solubles diferentes de sacarosa) en las hojas de las plantas deficientes de magnesio, al mismo tiempo que éstos disminuyen en el tallo y la raíz, lo cual sugiere una disminución en la translocación de fotosintatos de las plantas deficientes de magnesio figura 4.1, sin embargo con los datos que se

tienen no se puede excluir la posibilidad de que la disminución de los fosfato en las raíces de las plantas deficientes de magnesio se deba a un bloqueo de su entrada debido a la banda de Caspari.

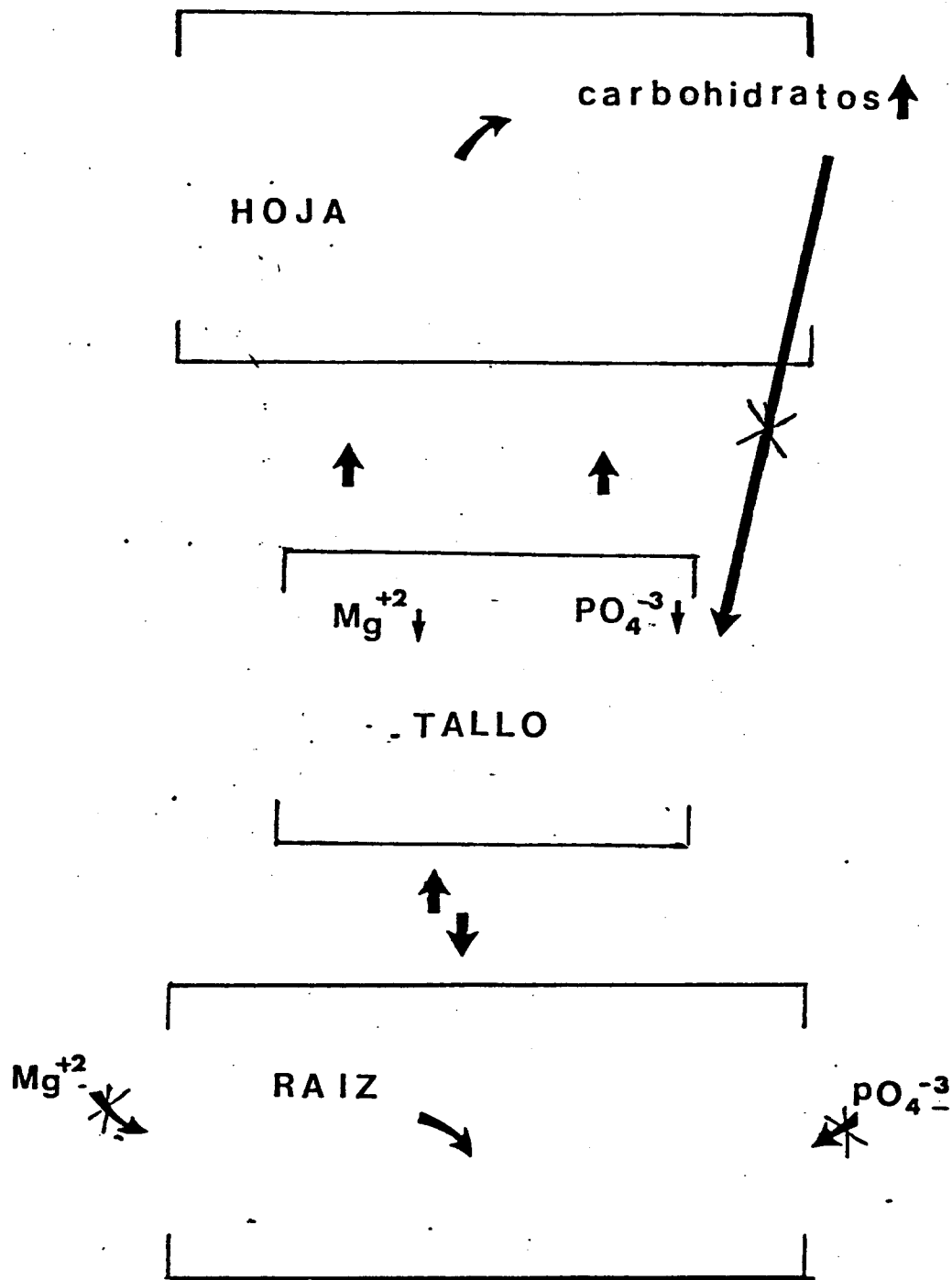
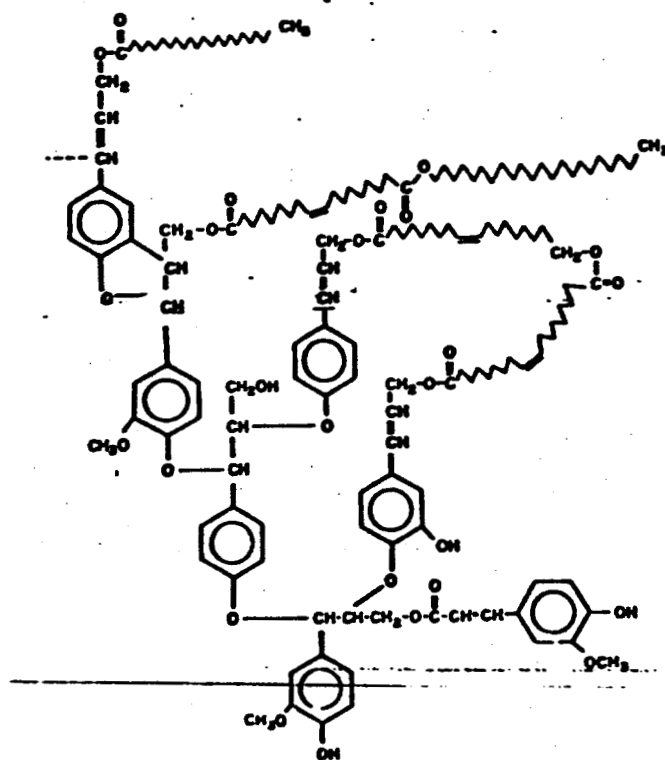


FIGURA 4.1

Modelo que nos indica la posible interconexión entre los síntomas de la deficiencia de magnesio.

APENDICE A

La suberina es una estructura polimérica compuesta por una matriz fenólica que podría ser estructuralmente similar a la lignina, a esta matriz se encuentran unidas estructuras de ácidos carboxílicos alifáticos de cadena larga, y muy probablemente este complejo se encuentre unido covalentemente a las paredes celulares via los residuos fenólicos generandose un poliéster cuya posible estructura es la siguiente (34)



BIBLIOGRAFIA

- 1 Anderson Louise E, Chin Hae-Min and Gupta Vimal K
Modulation of Chloroplast Fructose-1,6-bisphosphate Activity
by Light.
Plant Physiol 64 ; 491-494 (1979).
- 2 Aparicio Pedro M and Boyer John S
Magnesium Nutrition and Grain Yield of Maize Having Low
Water Potential
Agron J 75 ; 919-923 (1983)
- 3 Baszinsky Tadeus, Brand Jerry, Barr Rita, Krogmann David W
and Crane Frederick L
Some Biochemical Characteristics of Chloroplasts from
Mineral-Deficient Maize
Plant Physiol 50 ; 410-411 (1972)
- 4 Bidwell R G S
Fisiología Vegetal
1ª Edición en Español
México, A G T Editor ;1983
- 5 Brown John C
Interactions Involving Nutrient Elements
Ann Rev Plant Physiol 29 ; 263-276 (1963)
- 6 Chatterton N Jerry and Silvius John E
Photosynthate Partitioning Into Starch in Soybean Leaves
Plant Physiol 64 ; 749-753 (1979)
- 7 Clark R B
Diferential Magnesium Efficiency in Corn Inbreeds I .
Dry-Matter Yields and Mineral Element Composition
Soil Sci Soc Amer Proc 39 ; 488-491 (1975)
- 8 Clarkson D T and Hanson John B
The Mineral Nutrition of Higher Plants Ann Rev Plant Physiol
27 ; 239-298 (1980)
- 9 Coombs J and Hall D O
Techniques in Bioproductivity and Photosynthesis
London, Pergamon Press 1981
Chapter 1

- 10 Devlin Robert M and Witham Francis H
Plant Physiology
4 th Edition
Boston, P W S Publishers, 1983
- 11 Cordova Carlos Vicente
Fisiología Vegetal
H Blume Ediciones, 1976
- 12 Doehlert Douglas C and Huber Steven C
Phosphate inhibition of Spinach Leaf Sucrose Phosphate
Synthase as Affected by Glucose-6-Phosphate and
Phosphoglucoseisomerase
Plant Physiol 76 ; 250-253 (1984)
- 13 Donahue Roy L, Miller Reimond W and Shickluma John C
Introducción a los suelos y al crecimiento de las plantas
Primera edición en Español
Colombia, Prentice Hall Internacional, 1981
- 14 Erickson Ralph D
Modeling Plant Growth
Ann Rev Plant Physiol 27; 407-434 (1976)
- 15 Ferguson I B and Clarkson D T
Ion Uptake in Relation to the Development of a Root
Hypodermis
New Phytol 77; 11-14 (1976)
- 16 Ferguson I B and Clarkson D t
Simultaneous Uptake and Translocation of Magnesium and
Calcium in Barley (Hordeum vulgare) Roots
Planta 128; 267-269 (1976)
- 17 Fischer Robert E y Peters Dennis G
Compendio de Análisis Químico Cuantitativo
México, Editorial Interamericana (1971)
cap 10
- 18 Fiske C H and Subarrow Y
The Colorimetric Determination of Phosphorus
J Biol Chem 66; 375-400 (1925)

- 19 Fuesler Thomas P, Wright Lawrence A and Castelfranco Paul A
Properties of Magnesium Chelatase in Greening Etioplasts
Plant Physiol 67; 246-249 (1981)
- 20 Fuesler Thomas P, Hanamoto Claire M and Castelfranco Paul A
Separation of Mg-Protoporphyrin and Mg-Protoporphyrin IX
Monomethyl Ester Synthetized de novo by Developing Cucumber
Etioplasts
Plant Physiol 69 ; 421-423 (1981)
- 21 Girdhar I K and Yadav S P
Effect of Magnesium-Rich Waters on Soil Properties, Yield
and Chemical Composition of Wheat
Soil Sci 134; 348-353 (1952)
- 22 Granick S
Magnesium Vinyl Pheoporphyrin as Another Intermediate in the
Biological Synthesis of Chlorophyll
J Biol Chem 183 ;713-730 (1950)
- 23 Hall J D, Barr R, Al-Abbas A H and Crane F L
The Ultrastructure of Chloroplasts in Mineral-Deficient
Maize Leaves
Plant Physiol 50; 401-409 (1972)
- 24 Harrison Robert and Glunt George
Biological Membranes
London, Ed Blakie (1975)
- 25 Hayyim Gozal Ben and Krause Gotthard H
Transport of Mono and Divalent Cations Across Chloroplast
Membranes Mediated by the Ionophore A23187
Arch Biochem Biophys 202; 546-557 (1980)
- 26 Heber Ulrich and Heldt Hans W
The chloroplast Envelope: Structure, Function and Role in
the Leaf Metabolism
Ann Rev Plant Physiol 32; 139-168 (1981)

27 Heldt Hans W, Chon Chong Ja, Maronde Dorothea, Herold Alice,
Stankovic Zivko S, Walker David A, Kraminer Anna, Kirk
Martha R and Heber Ulrich
Role of Orthophosphate and Other Factors in the Regulation
of Starch Formation in Leaves and Isolated Chloroplasts
Plant Physiol 59 ;1146-1155 (1977)

28 Huber Steven C and Maury Wendy
Effects of Magnesium on Intact Chloroplasts I
Plant Physiol 65 ;350-354 (1980)

29 Huber Steven C and Israel Daniel W
Biochemical Basis for Partitioning of Photosynthetically
Fixed Carbon Between Starch and Sucrose in Soybean (Glicine
max) Leaves
Plant Physiol 69; 691-696 (1982)

30 Huber Steven C
Relation Between Photosynthetic Starch Formation and
Dry-Weight Partitioning Between the Shoot and Root
Can J Bot 61; 2709-2716 (1983)

31 Hunt Roderick
Plant Growth Analysis
Studies in Biology N°96
Ed Edward Arnold London 1978
Chapter 1

32 Kennedy Sydney R
The Influence of Magnesium Deficiency, Chlorophyll
Concentration and Heat Treatments on the Rate of
Photosynthesis of Chlorella
Am J Bot 27; 68-73 (1940)

33 Kikuchi Goro, Abhaya Kumar, Phyllis Talmaje and Shemin David
The Enzymatic Synthesis of δ -Aminolevulinic Acid
J Biol Chem 233; 1214-1219 (1958)

34 Kolattukudy P E
Biopolyester Membranes of Plants Cutin and Suberin
Science 208; 990-1000 (1980)

- 35 Lewis L L and Melnick L M
Determination of Calcium and Magnesium With
(Ethylenedinitrilo) Teraacetic Acid
Analytical Chemistry 32; 38-42 (1960)
- 36 Leopold A Carl
Plant Growth and Development
New York, McGraw Hill Co, 1964
- 37 Meas E V and Ogata Gen
Absortion of Magnesium and Chloride by Excised Corn Roots
Plant Physiol 47; 357-360 (1971)
- 38 Marinos Nicos G
Studies on Submicroscopic Aspects of Mineral Deficiencies II
; Nitrogen, Potassium, Sulfur, Phosphorus and Magnesium
Deficiencies in the shoot Apex of Barley
Am J Bot 50; 908-1005 (1963)
- 39 Maury Wendy J, Huber Steven C and Moreland Donald E
Effects of Magnesium on Intact Chloroplasts II
Plant Physiol 68; 1257-1263 (1981)
- 40 Mc Ready R M, Guggolz Jack, Vernon Silviere and Owens H S
Determination of Starch and Amilose in Vegetables
Analytical Chemistry 22; 280-283 (1968)
- 41 Miyasawa M, Pavan M A and Block F M
Determination of Ca, Mg, K, Mn, Cu, Zn, Fe and P in Coffee,
Soybean, Corn, Sunflower and Pasture Grass Leaf Tissues By
HCl Extraction Method
Commun in Soil Sci Plant Anal 15(2); 141-147 (1984)
- 42 Moore David P, Overstreet Roy and Jacobson Louis
Uptake of Magnesium & its Interaction With Calcium in Exiced
Barley Roots
Plant Physiol 36; 290-295 (1961)

- Moore Thomas C
Research Experiences in Plant Physiology
43 2 Edition
New York, Springer Verlag 1981
- Mortvedt J J, Giordana P W y Lyndsay W L
Micronutrientes en Agricultura
44 Primera Edición en Español
México, A G T Editor (1983)
- Peterson Gary L
45 A Simplification of the Protein Assay Method of Lowry et Al
Which is More Generally Applicable
Analytical Biochemistry 83; 346-356 (1977)
- Pitman M G
46 Ion Transport Into The Xilem
Ann Rev Plant Physiol 28; 71-88 (1977)
- Pozuelo Jose M, Espelie Karl E and Kolattukudy P E
47 Suberization in Endodermis and Hypodermis of Corn Roots
Plant Physiol 74; 256-260 (1984)
- Preiss Jack
48 Regulation of the Biosynthesis and Degradation of Starch
Ann Rev Plant Physiol 33; 431-454 (1982)
- Reveiz Constantin A and Castelfranco Paul A
49 Protochlorophyll and Chlorophyll Biosynthesis in Cell-Free
Systems From Higher Plants
Ann Rev Plant Physiol 24; 129-172 (1973)
- Reveiz Constantin A and Lascelles June
50 Biosynthesis of Pigments in Plants and Bacteria
(in Photosynthesis Energy Conversion by Plants and Bacteria
Vol 1 Chapter 15)
Academic Press 1982

- 51 Rimington C
Las Porfirinas
Endeavour 14
- 52 Schauble C E and Barber S A
Magnesium Imobility in the Nodes of Certain Corn Imbreds
Agron J 50; 651-653 (1958)
- 53 Shanmugan K I, Gara F O, Andersen K and Valentine R C
Biological Nitrogen Fixation
Ann Rev Plant Physiol 29; 263-276 (1978)
- 54 Spencer D and Possingham J V
The Effect of Nutrient Deficiencies on the Hill Reacton of
Isolated Chloroplasts From Tomato
Aust J Biol Sci 13; 441-455 (1960)
- 55 Stit Marck, Wirtz Wolfgang and Heldt Hans W
Regulation of Sucrose Synthesis by Cytoplasmic Fructose
Bisphosphatase and Sucrose Phosphate Synthase During
Photosynthesis in Varying Light and Carbon Dioxide
Plant Physiol 72; 767-774 (1983)
- 56 Van Handel Emile
Direct Microdetermination of Sucrose
Analytical Biochemistry 22; 280-283 (1968)
- 57 Vernon Leo P
Spectrophotometric Determination of Chlorophylls and
Pheophytins in plant Extracts
Anal Chem 32; 1144-1150 (1960)
- 58 Vesik Maret, Possingham J V and Mercer F V
The Effect of Mineral Nutrient Deficiencies on the Structure
of the Leaf Cells of Tomato, Spinach and Maize
Aust J Biol Sci 13; 441-455 (1960).
- 59 Wallace T
Insuficiencias Minerales de las Plantas
Endeavour 5; 58-63 (1946)

60 Wieckowski S
The Relation Between the Growth of the Leaf and the
Synthesis of Chlorophylls in Phaseolus vulgaris
Photochem Photobiol 2; 199-205 (1963)

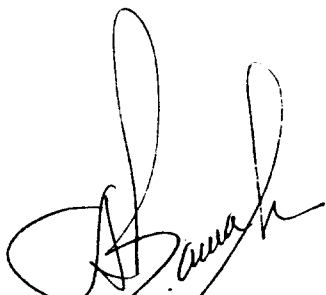
61 Yemm E W and Willis A J
The Estimation of Carbohydrates in Plant Extracts by
Anthrone
Biochemistry 57; 508-514 (1954)

AGRADECIMIENTOS

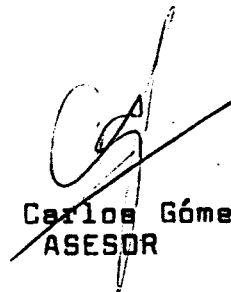
Quiero dar las gracias muy especialmente al Dr Marc Engleman por la ayuda que nos brindó para la identificación de la banda de Caspary en las muestras de raiz. Así mismo doy las gracias al Dr Cajuste por su ayuda en la localización de la bibliografía utilizada en este trabajo . A la Dra Ortega por su orientación para la determinación de carbohidratos al Dr Hamabata por su paciente orientación a lo largo de este trabajo.

Finalmente quiero dar las gracias a mis alumnas quienes me ayudaron en la realización de los experimentos.


El jurado designado por el Departamento de Ciencias de la Salud de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA Unidad Iztapalapa aprobó el siguiente trabajo de tesis



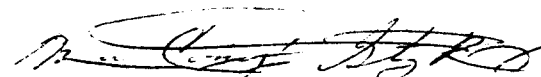
Dr Alberto Hamabata N
TUTOR



Dr Carlos Gómez Lojero
ASESOR



Dr Heliodoro Celis S
ASESOR



M en C Concepción Gutiérrez
ASESOR

Mayo 11 de 1988