

# FORMA DE ACUMULACION DEL NITROGENO SOLUBLE EN TUBERCULOS DE PAPA PROVENIENTE DE PLANTAS SOMETIDAS A DIFERENTES REGIMENES DE SEQUIA

Por S. O. TRIONE<sup>1</sup> y G. ALMELA PONS<sup>1</sup>

## SUMMARY

*Form of accumulation of the soluble nitrogen in potato tubers coming from plants submitted to different water stress regimes.*

Potato tubers (*Solanum tuberosum*, cv. White Rose), originated from plants submitted to different water stress regimes, viz., in plantation; in critical period for water need (initiation of tuberization); combination of both treatment; and check watered normally, were examined for their soluble nitrogen content. The samples were taken during the storage period of the tubers, at 50 and 70 days after harvest.

Qualitative as well as quantitative differences were observed in all the variable. Tubers from water stress in plantation accumulated more total nitrogen than that of the check, and this much more than tubers from water stress in the critical period. During the early time of storage (50 days) the tuber's soluble nitrogen was accumulated as their amino acids form, while later (70 days) the soluble nitrogen changed preferentially to the amide form, except those tubers coming from the critical period of water deficit. Compounds such as the aspartic, glutamic and gamma-amino-butyric acids, the leucine (s), valine, arginine, and the amides asparagine and glutamine were prominent in the soluble nitrogen fraction of the tubers.

The dissimilarities among these metabolites with respect to the different water stress treatments are described and discussed. The type of compounds mainly accumulated are emphasised because they represent the nitrogen material used in the first stage of sprouting of the tubers.

<sup>1</sup> Laboratorio de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias (U.N.C.) Chacras de Coria, Mendoza, Argentina.

En lo referente a la fracción nitrogenada, el tubérculo de papa se distingue de los otros órganos de la planta, por el hecho que los compuestos nitrogenados solubles representan un porcentaje elevado del nitrógeno total. Los amino ácidos y amidas libres que se acumulan en esta fase, son preferentemente empleados en los primeros estadios de la brotación del tubérculo<sup>10</sup>. Por lo tanto, siempre resulta de interés el estudio de la composición del denominado compartimiento nitrogenado soluble.

La aplicación de la técnica cromatográfica bi-direccional a extractos etanólicos de tubérculos de papa, primeramente realizada por DENT *et al.*,<sup>3</sup> en 1947, facilitó la detección de sus metabolitos nitrogenados solubles y preparó el camino para ulteriores estudios. Desde entonces muchos trabajos han mostrado el reflejo de las variaciones ambientales y nutricionales sobre dicha fracción<sup>9</sup>. Entre otros, TRIONE y STEWARD (datos aún no publicados) pusieron de manifiesto el efecto de la localidad, temperatura, y tipos genéticos sobre la composición nitrogenada soluble de diferentes regiones morfológicas de la planta de papa; TRIONE<sup>13</sup> mostró el post-efecto que sobre dicha composición ejercen las altas temperaturas suministradas, durante un tiempo relativamente largo, sobre tubérculos brotados.

Trabajos previos en este laboratorio<sup>5</sup> demostraron que la aplicación de déficit hídricos a la planta de papa durante determinados estadios de su ciclo vegetativo, viz., sequía en plantación; sequía en "período crítico" de necesidad de agua (comienzo de tuberización), ejercen marcada influencia en los rendimientos, evaluado por el peso fresco, tamaño y número de tubérculos. Como el rendimiento observado fue independiente del volumen total de agua suministrada a las parcelas, se infiere que es el estímulo hídrico, a través del desarrollo, y no la cantidad total de agua, el que modifica la expresión del factor genético determinante del tamaño final que deben alcanzar los tubérculos.

Atendiendo al hecho de que la acción que ejerce el estímulo hídrico sobre el crecimiento, debe canalizarse a través de una modificación de los procesos sintéticos y metabólicos, incluido el metabolismo nitrogenado, este trabajo tuvo por finalidad analizar las variaciones cuali-cuantitativas de los amino ácidos libres y sus amidas, almacenados en el tubérculo, según los diferentes tratamientos de sequía sufridos por las plantas madres durante el ciclo vegetativo.

#### MATERIAL Y METODOS

El material vegetal, i. e., tubérculo de papa (*Solanum tuberosum*, cv. White Rose), fue obtenido en un ensayo realizado en este laboratorio (5, loc. cit.), vale decir, provenía de plantas sometidas a los siguientes tratamientos de déficit hídrico: i) SP: sequía en plantación del "tubérculo semilla", hasta el momento en que emergió el 50 %

de los brotes. ii) SPC: sequía en período crítico de necesidad de agua, i.e., comienzo de tuberización (hasta síntomas de marchitamiento foliar por dos días consecutivos). iii) SP+ SPC: sequía en plantación y en período crítico (tratamiento combinado). iv) T: tratamientos con riegos normales (testigo).

Los tubérculos de cada tratamiento, inmediatamente de cosechados se almacenaron en recinto aireado, a temperatura de laboratorio. Las muestras para análisis se tomaron a los 50 y 70 días posteriores a la cosecha. Esta última muestra correspondió a tubérculos próximos a ruptura de dormición. La extracción, purificación y posterior evaluación de los compuestos nitrogenados solubles se realizó aplicando la técnica y métodos de THOMPSON y STEWARD<sup>11</sup>. Vale decir, extracción en alcohol etílico 80 %, purificación a través de resinas de intercambio catiónico, y evaluación cuantitativa de los amino ácidos y amidas por cromatografía bi-direccional revelado con ninhidrina. En el residuo insoluble en alcohol se determinó el nitrógeno insoluble (mayormente nitrógeno proteico) por el método de micro-Kjeldhal. Los datos se presentan en forma de histogramas, en el cual cada compuesto está representado por su contenido porcentual de nitrógeno en relación al nitrógeno soluble total reactivo a la ninhidrina. Este último, igual que el nitrógeno insoluble total y el nitrógeno total, se expresan en microgramos por gramo de peso seco de tejido.

## RESULTADOS

Puede apreciarse (Fig. 1) el aumento de nitrógeno total, i.e., N-soluble + N-insoluble, en los tubérculos provenientes de tratamientos de sequía en plantación (SP; y SP + SPC) comparados con los del testigo (T) regado normalmente. Dicho aumento alcanza al 35 %. Al contrario, tubérculos provenientes de sequía en período crítico (SPC), muestran una disminución del 33 % del N total en relación al testigo, y 50 % en relación a los tratamientos con sequía en plantación.

A los 50 días de almacenaje se detectó mayor cantidad de N-soluble total en tubérculos provenientes de tratamientos de sequía. El tamaño de dicho compartimiento (medido en  $\mu\text{g} / \text{g}$  de tejido seco), resultó según los casos, entre tres y cinco veces mayor que el testigo. Este período se caracteriza porque el nitrógeno libre se acumula en forma amínica, i.e., como amino ácidos y no como amidas. Los más prominentes, por su proporción relativa de nitrógeno, son los ácidos aspártico, glutámico, y gamma-aminobutírico, leucina (s), valina, y eventualmente alfa-alanina. Los tratamientos de sequía provocan mayor acumulación de N-ácido aspártico, y menor de N-leucina (s) que el testigo. Tubérculos de SPC presentan el más bajo porcentaje relativo de N-ácido glutámico y el más alto de N-ácido gamma-amino-butírico, producto de descarboxilación del primero.



A los 70 días de almacenaje, el nitrógeno soluble acumulado aparece principalmente en forma amídica, i.e., N-asparagina y N-glutamina, excepto en la variable SPC que continúa acumulado en forma amínica. De las amidas la principal es la asparagina, siendo la relación, N-asparagina / N-glutamina, de 3.1 para testigo; 1.1 para SP; 2,2 para SP + SPC. En todas las variables también aparece lisina, mientras que el otro amino ácido de característica básica, arginina, sólo se presenta en T y SP. El tamaño del compartimiento introgenado soluble, comparado con el del período anterior, incrementa 10 veces en testigo, y 5 veces en tratamiento combinado, mientras que en las otras variables no se observan diferencias apreciables. El tratamiento combinado de sequía sigue presentando el mayor tamaño de este compartimiento, superando en casi tres veces al del testigo.

#### DISCUSION

Sí, como parece evidente (Cuadro 1), los déficit hídricos y no la cantidad total de agua recibida por cada tratamiento, son los responsables de los rendimientos observados, se debe presumir que la creación de dichos déficits serían en gran parte (las plantas con tratamiento de sequía en plantación iniciaron la tuberización 30 días después que las de T y SPC) los determinantes de las diferencias cuali-cuantitativas apuntadas precedentemente. En su favor se pueden

CUADRO I. Período de crecimiento de los tubérculos de papa c.v. White Rose durante los 112 días del ciclo gevetativo de las plantas madres sometidas a diferentes regímenes de sequía; rendimiento medio; y volumen de agua recibido por cada tratamiento.

Tratamientos	Período de crecimiento de los tubérculos (días)	Rendimiento Medio de Tubérculos			Volumen relativo del agua recibida (%)
		Kg./Parcela	Número/Planta	Tamaño Medio (cm.)	
Testigo	82	12.5	9	4	100
Sequía plantación.	53	16.7	13	6	75
Sequía período crítico.	82	7.1	10	3	83
Sequía plantación + sequía período crítico.	53	13.2	11	5	59

citar varios acontecimientos. Así, se postula, con bastante probabilidad, que los efectos ambientales y nutricionales sobre el metabolismo de las plantas, frecuentemente intervienen en el área en que los aminoácidos y sus amidas se entrecruzan con el metabolismo de los carbohidratos<sup>8</sup>. Como los aminoácidos se encuentran entre los primeros productos de la fotosíntesis<sup>1, 12</sup>, cualquier factor que limite este proceso, como los déficits hídricos, debe alterar inevitablemente el nivel de estos metabolitos y las rutas metabólicas implicadas. Por otra parte, los déficits hídricos al favorecer, en muchos órganos, el desdoblamiento de proteínas<sup>4</sup>, provocan un incremento en el nitrógeno libre, el cual puede ser reutilizado por varias vías metabólicas<sup>2</sup>. También, cortos déficits hídricos, alteran cuantitativamente el traslado de metabolitos a tubérculos que muestran crecimiento secundario<sup>6, 7</sup>.

Es lícito pensar que efectos similares a los citados, hayan tenido lugar durante los tratamientos de sequía, con la concomitante alteración de vías metabólicas, las cuales incidieron en la velocidad de crecimiento y en la forma de acumular y re trabajar el nitrógeno libre de los tubérculos hijos. La manera y alcance por lo cual tales influencias hídricas pueden ser explicadas en términos del metabolismo del nitrógeno, son todavía muy complejas, y necesitan estudios más profundos. Sin embargo, al seguir el curso de los compuestos individuales, muchos aspectos de su metabolismo pueden ser descriptos e intentar una explicación de sus cambios.

Los tratamientos de sequía afectan la cantidad total de nitrógeno de los tubérculos. Como era de esperar, por tratarse de órganos separados de la planta madre, el aumento de N-soluble se realiza a expensas del N-insoluble, y las variaciones cuali-cuantitativas de los metabolitos nitrogenados libres, se suceden sin cambios aparentes en la cantidad de N-total (soluble + insoluble).

Un hecho que debe destacarse es que el N-total incrementa con el tratamiento de SP y disminuye notablemente con SPC, pero cuando estos dos tratamientos se combinan, el efecto beneficioso de SP, en el aporte de N-total, no es afectado por el efecto detrimental de SPC. Este fenómeno se puede apreciar mejor cuando se estudian individualmente los compuestos nitrogenados solubles. Así, los porcentajes relativos de nitrógeno de asparagina, glutamina y ácido glutámico que aparecen en el tratamiento de SP, resultan sensiblemente iguales a los del tratamiento combinado.

Otras variaciones metabólicas que deben notarse, surgen al comparar las calidades de los respectivos compartimientos N-soluble en las dos épocas en que se analizaron. Al final del período de almacenaje, cuando los tubérculos estaban próximos a salir de su estado de dormición, la concomitante movilización del nitrógeno provoca alteraciones en calidad y cantidad de los constituyentes en todos los tratamientos. Los aminoácidos dicarboxílicos (aspártico y glutámico) disminuyen su porcentaje relativo en todas las variables, con excep-

ción de SPC que los incrementa. Tal disminución coincide con la síntesis de la amidas asparagina y glutamina a expensa de sus precursores ácidos aspártico y glutámico, favorecida muy posiblemente por el catabolismo proteico. Al contrario, la falta absoluta de amidas en SPC explicaría la mayor proporción de los ácidos dicarboxílicos observado. Esta diferente actividad metabólica hace que, mientras los tubérculos procedentes de plantas regadas normalmente acumulen su N-libre preferentemente como amidas, los de tratamientos con sequía en plantación lo hagan tanto en forma amídica como amínica (aspártico, glutámico, g-aminobutírico, arginina). Por su parte, los tubérculos procedentes de SPC acumulan su N-soluble únicamente en forma amínica, siendo el principal N-ácido aspártico. Estas serían, a su vez, las formas de provisión de nitrógeno para los primeros estadios de la brotación de las yemas que cada variable presentaría a los centros activos de crecimiento de los tubérculos.

Es evidente que en la planta de papa deben existir ciertas potencialidades genéticamente determinadas para el metabolismo del nitrógeno, pero los resultados de este ensayo sugieren, que la expresión de tales potencialidades son susceptibles de ser modificadas, durante el desarrollo de las plantas, por la acción de los déficit hídricos.

#### RESUMEN

Tubérculo de papa (*Solanum tuberosum*, cv. White Rose), proveniente de plantas sometidas a diferentes regímenes de sequía, viz., en plantación (SP); en período crítico de necesidad d agua, i.e., comienzo de tuberización (SPC); combinación de ambos tratamientos (SP + SPC); y testigo, regado normalmente (T), fueron examinados en cuanto a la composición de su fracción nitrogenada soluble, e.g., amino ácidos y amidas, y en su contenido de nitrógeno insoluble total. Tal examen se realizó durante el período de almacenaje, a los 50 y 70 días de cosechados.

Diferencias cuali-cuantitativas aparecieron en todas las variables. Los tratamientos que tuvieron sequía en plantación acumularon más N-total que el testigo, y éste mucho más que el tratamiento SPC. Durante el período temprano de almacenaje (50 días), el N-soluble se acumuló en forma amínica, mientras que al final (70 días), éste tendió a ser preferentemente amídico, a excepción de SPC que no acusó presencia a las amidas asparagina o glutamina. Compuestos tales como los ácidos aspártico, glutámico, gamma-aminobutírico; leucina (s), valina, asparagina, glutamina, arginina, resultaron prominentes en la fracción N-soluble.

Se describen y discuten las variaciones de tales metabolitos en relación a los déficit hídricos, y se destaca la forma de acumulación del N-soluble que cada variable presenta a los centros de crecimiento de los tubérculos, para el proceso ulterior de brotación.

## RECONOCIMIENTO

Los autores desean expresar su agradecimiento a la Ingeniera BELE R. DE LIS por sus sugerencias y revisión del manuscrito, y al Sr. HORACIO MORALES por asistencia técnica.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 — BENSONN, A. A. and M. CALVIN. 1950. Carbon dioxide fixation by green plant. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 1:25.
- 2 — BIDWELL, R. G. S.; BARR, R. A. and F. C. STEWARD. 1964. Protein synthesis and turnover in cultured plant tissue : sources of carbon for synthesis and the fate of the protein breakdown products. *Nature* (Lond), 203 (4943): 367-373.
- 3 — DENT, C. E.; STEPKA, W. and F. C. STEWARD. 1947. Detection of the free amino-acids of plant cells by partition chromatography. *Nature* (Lond) 160:682.
- 4 — HENCKEL, P. A. 1964. Physiology of plants under drought. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 15 : 363-386.
- 5 — LIS, B. R. DE; CAVAGNARO, J. B. y R. TIZIO. Inducción de rusticidad a sequía en papa. Interacción de sequía en plantación y en período crítico en relación al rendimiento y la modalidad de tuberización. (En prensa).
- 6 — McCORQUODALE, A. J. 1966 Second-growth of potato tubers in relation to water deficit and the movement of photosynthate. *M. Sc. Thesis, University of Nottingham*, (no visto el original, citado por Moorby, J. 1968).
- 7 — MOORBY, J. 1968. The influence of carbohydrate and mineral nutrient supply on the growth of potato tubers *Ann. Bot.* 32 (125):57:68.
- 8 — STEWARD, F. C.; CRANE, F.; MILLAR, K.; ZACHARIUS, R. M.; RABSON, R. and D. MARGOLIS. 1959. Nutritional and environmental effects on the nitrogen metabolism of plants. *Symp. Soc. Biol.* XIII : 148-176.
- 9 — STEWARD, F. C. and D. B. DURZAN. 1965. Metabolism of nitrogenous compounds. En *Plant Physiology, a treatise*. Ed. por F. C. Steward, Vol. IV A : 379-636.
- 10 — STREET, H. E.; KENYON, A. E. and G. M. WATSON. 1946. The nature and distribution of various form of nitrogen in the potato. *Ann. Appl. Biol.* 33 : 1.
- 11 — THOMPSON, J. F. and F. C. STEWARD. 1951. Investigation of nitrogen compounds and nitrogen metabolism in plants. I. II. *Plant Physiol.* 26: 274-297 y 421-440.
- 12 — TOLBERT, N. E. and L. P. ZILL. 1954. Photosynthesis by protoplasm extruded from *Chara* and *Nitella*. *J. Gen Physiol.* 37: 575.
- 13 — TRIONE, S. O. 1968. Estudios sobre el metabolismo del nitrógeno en plantas de papa decaídas ecológicamente por acción de las altas temperaturas. *Rev. Fac. C. Agrarias* (Mendoza), 14 (1-2): 39-57.