

# ACTIVIDAD CITOQUININA Y EFECTO DE LA NUTRICION NITROGENADA EN EL DESARROLLO DE RAICES TUBEROSAS DE *Ipomoea batatas*<sup>1</sup>

D PEREZ\*

## Summary

*The relationship between tuberization induced by a period of nitrogen withdrawal and the cytokinin activity in roots, shoots and xylem exudate was investigated in water cultured plants of sweet potato (Ipomoea batatas cultivar LM-24). Plants with a constant supply of nitrogen were used as control. No tuberization was observed with continuous N, but discontinuous N induced tuberization 5 days after N withdrawal. The roots of plants with discontinuous N supply, showed an increase in cytokinin activity, whereas the activity decreased in the continuous N treatment. In the shoot of plants with continuous N, cytokinin activity decreased, but with discontinuous N, the activity increased. In the exudate, cytokinin activity was reduced in plants with discontinuous N during the nitrogen withdrawal, whereas the activity increased with continuous nitrogen. The increase in cytokinin activity of the shoot related to tuberization induction by the N withdrawal may be related to an increased photosynthetic activity of the leaf in order to meet the increased assimilate requirement of the growing tuber.*

## Introducción

Aunque se han realizado varios estudios sobre la influencia de reguladores del crecimiento en la formación de tubérculos en *Solanum tuberosum*, poco se conoce acerca del control del desarrollo de tubérculos de la batata (7). Se conoce que el desarrollo del tubérculo de la papa está influenciado por factores exógenos como el fotoperíodo y la temperatura y que el nivel endógeno de fitohormonas controla el proceso de tuberización (14); los factores exógenos mencionados afectan el proceso indirectamente, alterando este nivel (16). La tuberización puede afectarse por la nutrición nitrogenada; siendo inhibida por el suministro continuo de nitrógeno y favorecida por interrupciones temporales en el suministro de este elemento (1, 2, 15).

Morita (12), al estudiar el efecto de las aplicaciones de N sobre la tasa de absorción del mismo, en relación al crecimiento total y a la formación y el engrosamiento de las raíces tuberosas de batata, encontró que la aplicación de N tres días después de la siembra desfavorece la tuberización, debido a que se produce un vigoroso crecimiento vegetativo. Sin embargo, si la aplicación de N se produce después de que se ha iniciado el crecimiento del tubérculo, redundando en un incremento de su rendimiento (12). La nutrición nitrogenada influye además sobre el nivel endógeno de citoquininas en las raíces cuya actividad es baja en la punta de los estolones de papa antes de la tuberización y aumenta considerablemente durante la misma (18, 19). La interrupción de la nutrición nitrogenada favorece el proceso mencionado al provocar la disminución de la translocación de citoquininas de las raíces al tallo (16, 17). Estos resultados motivaron este estudio, el cual intenta determinar, bajo condiciones controladas, la influencia de la nutrición nitrogenada sobre la actividad citoquinina y el desarrollo de tubérculos de la batata.

## Materiales y métodos

En Venezuela existe una serie de variedades autóctonas de batata, pero las mejores en actual cultivo

<sup>1</sup> Recibido para publicación el 29 de noviembre de 1983. Se agradece a la Sección de Raíces y Tubérculos del Instituto de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela por haber suministrado el material vegetal para este estudio.

\* Universidad Simón Bolívar. Departamento de Biología de Organismos. Apartado Postal 80 659 Caracas, Venezuela.

son las mexicanas (11). Entre ellas se encuentra la variedad Catemaco, precoz, con producción en 7 meses y un rendimiento promedio de 10 000 kg/ha de raíces tuberosas (10) en la región central del país. A partir de esta variedad, la Sección de Raíces y Tubérculos del Instituto de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela ha desarrollado un programa de mejoramiento genético, que ha dado por resultado la obtención de una nueva variedad, la LM-24, con características de rendimiento y precocidad de tuberización superiores al progenitor Catemaco, razones por las cuales ha sido la variedad escogida para el presente estudio.

Las plantas de *Ipomoea batatas* variedad LM-24 utilizadas, se obtuvieron mediante el método de propagación por sección de guías, con arena lavada como sustrato. A los 45 días después de la aparición de los primeros brotes, las plantas se transfirieron a recipientes plásticos oscuros y tapados de 5 litros de capacidad (una planta por recipiente), que contenían solución nutritiva con los macronutrientes (m M/l) K 2.0; Ca 0.75;  $\text{NO}_3^-$  3.0;  $\text{SO}_4^{2-}$  0.5;  $\text{PO}_4^{3-}$  1.0 y los micronutrientes ( $\mu$  M/l) Fe 17.9; Mn 3.6; Cu 1.6; Zn 1.5; B 55.5; Mo 1.0

La oxigenación de los cultivos se aseguró mediante el uso de difusores de aire tipo acuario. Durante 29 días, las plantas se cultivaron en solución completa, renovada cada 7 días, en cámaras de crecimiento bajo condiciones climáticas constantes (20°C de temperatura diurna y nocturna, 80% de humedad relativa, fotoperiodo de 12 horas e intensidad luminosa de  $9.8 \times 10^7$  erg/s m<sup>2</sup>).

Con la finalidad de inducir después de este periodo de pre-cultivo, la mitad de las plantas se transfirió bajo idénticas condiciones climáticas, a recipientes con solución nutritiva exenta de nitrógeno, para lo cual el  $\text{NO}_3^-$  se reemplazó por  $\text{SO}_4^{2-}$ . Fueron cultivadas en este medio durante 10 días y luego transferidas nuevamente durante 5 días a la solución nutritiva completa. El resto de las plantas se trató en solución completa durante todo el periodo de duración del experimento, bajo las mismas condiciones climáticas mencionadas.

A partir del día 29, cuando comenzó la interrupción del suministro de nitrógeno, 6 de las plantas se cosecharon cada 3 días hasta el día 39, cuando comenzó nuevamente la nutrición nitrogenada; la última cosecha se realizó al quinto día de este tratamiento. La misma cantidad de plantas control se cosechó en las mismas ocasiones.

De las 6 plantas cosechadas, 3 fueron decapitadas 5 cm por encima de la raíz, y el explante se introdujo en un tubo plástico para recoger el exudado del xile-

ma durante 24 horas. Del resto de las plantas se separaron las raíces y los tallos; tanto estas fracciones como el exudado del xilema se guardaron a -30°C hasta la extracción de citoquininas.

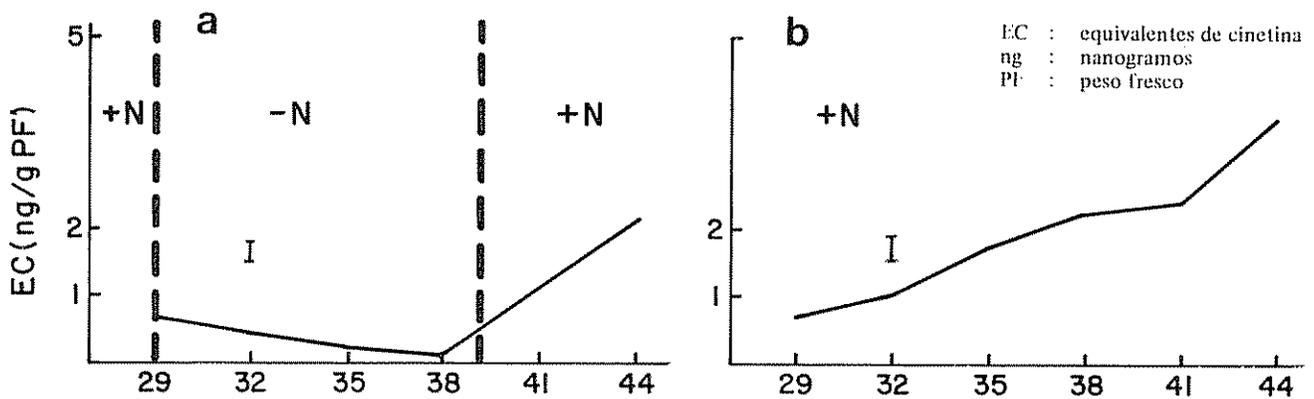
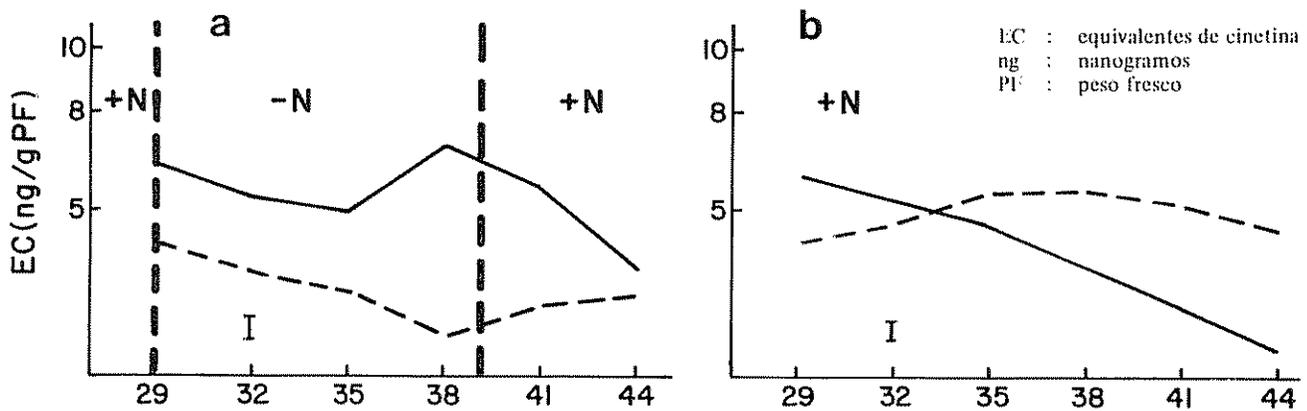
El material congelado se homogeneizó en 50 ml de metanol 80% por 10 g de peso fresco, y se extrajo por 6 horas a 4°C con agitación continua. El extracto se filtró y extrajo tres veces más, cada vez durante 3 horas. La mezcla de extractos alcohólicos se concentró y centrifugó a 40 000 g por 1 hora, el residuo se resuspendió en agua destilada y se centrifugó de nuevo. Se mezclaron ambos sobrenadantes y se ajustó el pH a 3.7. El extracto se pasó por una columna de intercambio catiónico 100 mesh, luego de lo cual la columna fue lavada con 4 volúmenes de agua destilada. Las citoquininas fueron eluidas con 5 volúmenes de  $\text{NH}_4\text{OH}$  2N; después de eliminar el  $\text{NH}_3$  al vacío, se ajustó nuevamente el pH a 3.7, y se extrajo 4 veces con volúmenes equivalentes de éter dietílico.

Se ajustó el pH a 7 y se extrajo 4 veces con volúmenes equivalentes de n-butanol a saturación. La fase acuosa restante de esta extracción, correspondiente al material proveniente del tallo, se redujo a sequedad en vacío, se resuspendió en metanol 80% y se analizó por cromatografía en papel con sec-butanol:  $\text{NH}_4\text{OH}$ : agua (6:2:2). Las fases alcohólicas combinadas se procesaron de manera idéntica a lo descrito, pero la cromatografía se realizó en placa de celulosa. Las zonas Rf de los cromatogramas fueron utilizadas directamente para el bioensayo de formación de clorofila en cotiledones de pepino (5), para determinar la actividad de la citoquinina en los diferentes extractos purificados, con respecto a patrones de cinetina.

## Resultados y discusión

En las plantas que recibieron suministro continuo de nitrógeno, la actividad de la citoquinina butanol-soluble en las raíces disminuyó a lo largo del periodo de experimentación (Figura 3b). Simultáneamente, se observó un aumento de actividad en el exudado del xilema (Figura 2b), lo cual sugiere que la translocación puede estar, al menos parcialmente, implicada en la disminución de la actividad citoquinina observada en las raíces de este grupo de plantas. A pesar de este aumento de actividad en el exudado, ocurrió una disminución de actividad en las partes aéreas de las plantas cultivadas en solución completa, a lo largo de todo el tratamiento (Figura 1b).

En el grupo de plantas sometidas a interrupción en el suministro de N, se observó un acentuado aumento de la actividad citoquinina butanol-soluble de las raíces (Figura 3a); sin embargo, la actividad disminuyó cuando las plantas se colocaron nuevamente en solución completa. En el exudado del xilema la dismi-



nución de la actividad citoquinina fue muy marcada durante el período de cultivo en solución exenta de N (Figura 2a), observándose un importante aumento de actividad en las muestras obtenidas después de reiniciada la nutrición nitrogenada. En las partes aéreas de este grupo de plantas (Figura 1a), hubo un sorpresivo aumento de actividad citoquinina hacia el final del período de cultivo en ausencia de N, después de iniciada la tuberización; cuando se restableció la nutrición nitrogenada la actividad decayó notablemente. El hecho de que una proporción considerable de las citoquininas en el tallo de las plantas control permanezca en la fase acuosa durante la extracción (Figura 1a y b), sugiere que el aumento de actividad citoquinina de este órgano en las plantas inducidas a tuberizarse podría deberse a un cambio en la estructura molecular de las citoquininas más que a una nueva síntesis de estos compuestos.

Antes de inducirse la tuberización la actividad citoquinina era mayor en las raíces que en las partes aéreas, y si bien la actividad total aumenta durante el período de cultivo en ausencia de nitrógeno, sigue siendo relativamente mayor en las raíces. Sin embargo, antes de reiniciarse la nutrición nitrogenada la relación se invierte, debido no solo al aumento observado en el tallo sino a un ligero descenso de actividad en las raíces. Al reiniciarse el suministro de N, la relación a favor de las raíces se restablece y los niveles de actividad citoquinina en ambos órganos son similares a los que había antes de iniciada la tuberización.

Los resultados parecen indicar que el inicio de la tuberización en plantas de batata se encuentra relacionado con un aumento de la actividad citoquinina de las raíces, aunque una vez iniciado el proceso, durante el subsiguiente crecimiento del tubérculo, la ac-

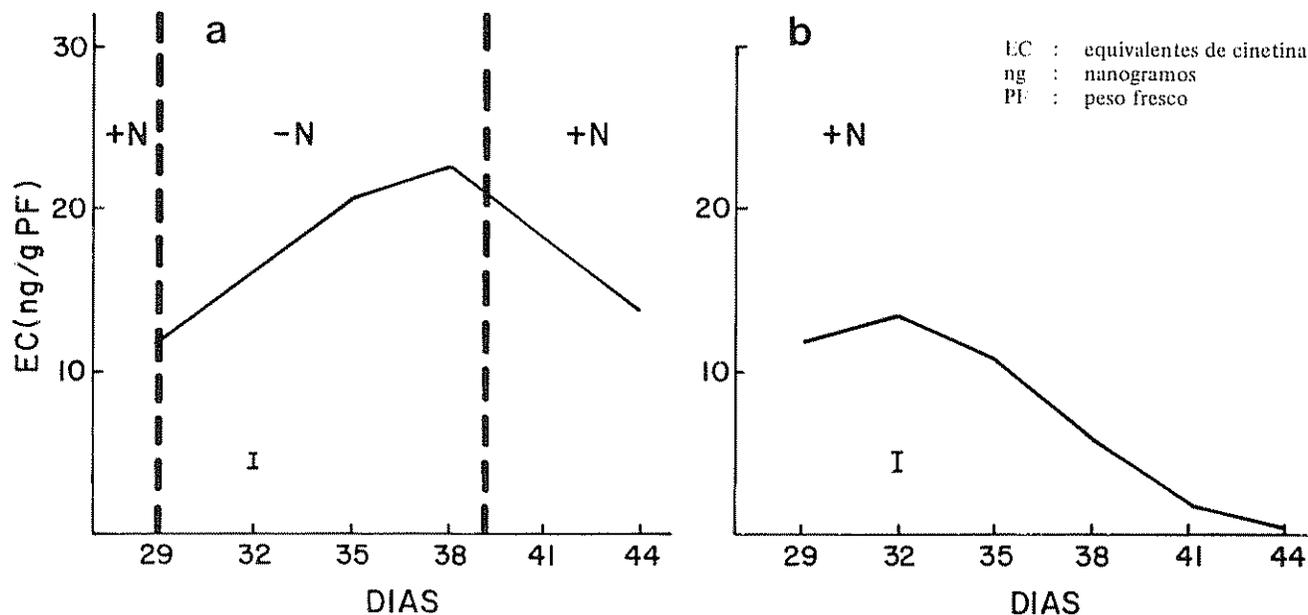


Fig. 3 Actividad citoquinina en raíces de plantas de *Ipomoea batatas*

- a Con interrupción del suministro de nitrógeno (-N)  
b Nutrición completa (+N)

(—) Fracción butanol-soluble  
(---) Fracción agua-soluble  
Trazo vertical: promedio de las desviaciones estándar.

tividad de la citoquinina de las raíces disminuye. Por otra parte, el suministro continuo de nitrógeno inhibió la tuberización, asociado a un pronunciado descenso en la actividad de la citoquinina de las raíces, posiblemente como resultado del aumento de la tasa de translocación hacia las partes aéreas de la planta, como lo muestran los resultados obtenidos para el exudado del xilema.

El aumento de la actividad de la citoquinina en el tallo de las plantas sometidas a interrupción en el suministro de N, justamente durante este período que es cuando ocurre la tuberización, podría no ser resultado directo de la ausencia de N en el medio cultivo sino más bien estar relacionado con el proceso mismo de tuberización inducido por la falta de N. Este aumento temporal de la actividad de la citoquinina del tallo con respecto a la de las raíces durante este período podría entonces estar asociado indirectamente al proceso de tuberización. Resultados similares han sido encontrados en *Solanum tuberosum* (6, 17). El aumento de la actividad de la citoquinina en el tallo parece ser el resultado de cambios en la forma molecular de las citoquininas, que causan una disminución en la fracción agua-soluble con el consiguiente aumento de la fracción soluble en butanol. No fue posible en este estudio realizar la identificación de las citoquininas presentes en ambas fracciones. Según Menary y van Staden (8), la actividad de la citoquinina en la fase acuosa se debe a una participación incompleta, pero Conrad y Kohn (3) sugieren que la fase acuosa con-

tiene ribótidos de citoquininas, los cuales no son tan activos como los ribósidos correspondientes, ya que constituirían formas de reserva de las citoquininas que podrían ser movilizadas y transformadas en la forma ribósido, fisiológicamente más activa, cuando la planta así lo requiera.

Las citoquininas tienen un efecto estimulador sobre la formación del aparato fotosintético (4) y sobre la síntesis de almidón en hojas aisladas (9); desde 1965 (13) se conoce que la actividad fotosintética en plantas de *Solanum tuberosum* aumenta después de la tuberización. Los resultados sugieren que el aumento de la actividad de la citoquinina en los órganos aéreos de la planta de batata después de iniciada el engrosamiento de las raíces y el cambio en la forma molecular de las citoquininas presentes, podrían estar causalmente relacionados con el aumento de la actividad fotosintética de la hoja, con la finalidad de asegurar el suministro adecuado de asimilados requeridos por las raíces tuberosas en crecimiento.

### Resumen

Mediante el cultivo hidropónico de plantas de batata (*Ipomoea batatas* variedad LM-24) se investigó la relación entre la inducción de la tuberización causada por la interrupción del suministro de nitrógeno, y la actividad citoquinina en raíces, tallos y exudado del xilema. Como testigo del experimento se usaron plantas con nutrición nitrogenada continua. No se ob-

servó tuberización en las plantas control, mientras que la interrupción de la nutrición nitrogenada la indujo a partir del quinto día de este tratamiento. En las raíces de las plantas con suministro discontinuo de N se observó un aumento de la actividad citoquinina, mientras que en las plantas control hubo una disminución. En el tallo de las plantas control también disminuyó la actividad de la citoquinina pero en las plantas tratadas hubo un aumento de la misma. En el exudado del xilema hubo una disminución de la actividad de la citoquinina en plantas con N discontinuo, mientras que en las plantas control la actividad aumentó.

El aumento de la actividad citoquinina en el tallo de las plantas tratadas, después de la inducción de la tuberización, podría estar relacionada con el aumento de la actividad fotosintética de la hoja como respuesta al aumento en el requerimiento de asimilados por parte de las raíces tuberosas en crecimiento.

#### Literatura citada

1. BAL, K. T. Action des sels minéraux sur la tuberisation de fragments de tiges de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L. var Bintje) cultivés *in vitro*. Comptes Rendus 277 Serie D: 645-648. 1973.
2. BAL, K. T. Action de quelques ions minéraux sur la tuberisation des germes de pomme de terre cultivés *in vitro*. Comptes Rendus 277 Serie D: 1467-1469. 1973.
3. CONRAD, K. y KOHN, B. Zunahme von Cytokinin und Auxin in verwundetem Speicherewebe von *Solanum tuberosum*. Phytochemistry 14:325-328. 1975.
4. FEIERABEND, J. Characterization of cytokinin action on enzyme formation during the development of the photosynthetic apparatus in rye seedlings. Planta 94:1-15. 1970.
5. FLETCHER, R. A. y Mc CULLAGH, D. Cytokinins-induced chlorophyll formation in cucumber cotyledons. Planta 101:88-90. 1971.
6. LANGILLE, A. R. y FORSLINE, P. L. Influence of temperature and photoperiod on cytokinin pools in the potato (*Solanum tuberosum* L.). Plant Science Letters 2:189-193. 1974.
7. Mc DAVID, C. R. y ALAMU, S. The effect of growth regulators on tuber initiation and growth in rooted leaves of two seed-potatoes cultivars. Annals of Botany 45:363-364. 1980.
8. MENARY, R. C. y VAN STADEN, J. Effect of P nutrition and cytokinins on flowering in the tomato, *Lycopersicon esculentum* Mill. Australian Journal of Plant Physiology 3:201-205. 1976.
9. MITTELHEUSER, C. y VAN STEVENICK, R. F. The ultrastructure of wheat leaves: I Changes due to natural senescence and the effect of kinetin and ABA on detached leaves incubated in dark. Protoplasma 73:239-252. 1971.
10. MONTALDO, A. Variedades de batatas (*Ipomoea batatas*) para la región central de Venezuela. Fitotecnia Latinoamericana 4(2):39-65. 1967.
11. MONTALDO, A. Cultivo de raíces y tubérculos tropicales. Ed. IICA. Perú. 1977. pp. 144-197.
12. MORITA, T. In: International Symposium on Tropical Root and Tuber Crops, Philippine International Convention Center. 1979.
13. NOESBERGER, J. y HUMPHRIES, E. C. The influence of removing tubers on dry matter production and assimilation rate of potato plants. Annals of Botany 29:579-588. 1965.
14. OKAZAMA, Y. y CHAPMAN, H. W. Regulation of tuber formation in potato plant. Physiology Plant 15:413-419. 1962.
15. SATTELMACHER, B. y MARSCHNER, H. Nitrogen nutrition and cytokinin activity in *Solanum tuberosum*. Physiology Plant 42:185-189. 1978.
16. SATTELMACHER, B. y MARSCHNER, H. Relation between nitrogen nutrition, cytokinin activity and tuberization in *Solanum tuberosum*. Physiological Plant 44:65-68. 1978.
17. SATTELMACHER, B. y MARSCHNER, H. Cytokinin activity in stolons and tuber of *Solanum tuberosum* during the period of tuberization. Physiology Plant 44:69-72. 1978.
18. SMITH, O. E. y PALMER, C. E. Cytokinins and tuber initiation in the potato *Solanum tuberosum* L. Nature 221:279-280. 1969.
19. SMITH, O. E. y PALMER, C. E. Cytokinins-induced tuber formation on stolons of *Solanum tuberosum*. Physiology Plant 23:599-606. 1970.

## Reseña de libros

WESTERN, S. ed Soil survey contracts and quality control Oxford University Press Norfolk, Great Britain 1978 284 p (£ 16 50)

Dentro del múltiple quehacer de un profesional dedicado al estudio del suelo, se presenta a menudo el problema de hacer contratos para trabajos específicos. La segunda etapa, es garantizar una cierta calidad del trabajo realizado en función de los objetivos y métodos establecidos en el contrato confeccionado y aprobado para su ejecución. Todo aquello que se relacione con estos dos aspectos del estudio de los suelos es cubierto por Western en ocho capítulos y dos apéndices.

Para escribir un texto como el presente se requiere de una amplia experiencia profesional, factor que no afecta la obra dado que su autor ha sido consultor en Africa, el Medio Oriente, América del Sur, Australia y Europa. Quizás esta experiencia es la que hace al autor mencionar que no hay dos situaciones iguales pero sí lineamientos generales que son el concepto central de cada capítulo.

El primer capítulo estudia el contrato para la cartografía de los suelos de una región. Aquí se analizan las formas de cartografía, el problema de las intensidades y escalas de trabajo, la necesidad de estudio, los usos que se le pueden dar al trabajo finalizado y la definición del contrato para cartografía de suelos. El resto del libro en forma general se presenta incluyendo algunas definiciones necesarias.

En el siguiente capítulo se analiza la relación institucional y las oficinas encargadas de la cartografía de suelos. Se menciona y discute los contratos internos (dentro de la misma institución) y aquellos externos a realizar por personas o firmas consultoras. Las organizaciones encargadas de cartografía se agrupan en i) gubernamentales, ii) internacionales públicas (FAO) e

iii) independientes. Al final se incluye un cuadro con algunas firmas consultoras de acuerdo al Who's Who y al Year Book 1975.

Inmediatamente, se presenta la etapa de planeamiento del contrato (Capítulo 3). Se discuten las etapas i) inicio, ii) propuesta, iii) discusión y iv) de compromiso. La etapa de propuesta incluye la mayoría del espacio, por cuanto trata sobre metodología de campo y de análisis de suelo, estadística de muestreo, cronogramas, contratación de servicios y costos.

En el capítulo 4 se discuten los aspectos relacionados con la organización del trabajo de campo con el fin de lograr una eficiencia adecuada con buena calidad. Se destacan los problemas típicos de trabajos normalmente con un equipo de expertos extranjeros en comunidades poco desarrolladas y con la ayuda de uno o dos profesionales locales.

Los capítulos 5 y 6 tratan sobre el periodo de ejecución del trabajo. Se considera la etapa de cronograma e integración con otras partes del estudio regional (el mapa de suelos es sólo uno de los componentes).

El capítulo 7 se refiere a la confección del informe final, considerando etapas de ejecución como son el informe de campo, la preparación de un primer borrador, la discusión del borrador y la publicación del informe final.

Consideraciones de tipo económico-filosófico se hacen en el capítulo 8, en el cual se discute la relación costo-beneficio y la calidad del trabajo entregado.

La obra, a pesar de su fecha de publicación (1978), representa una contribución complementaria para profesionales que dirigen o planifican programas de recursos naturales y debería considerarse como referencia básica en cursos de Planeamiento y Uso de la Tierra, Evaluación de Suelos, Economía de la Tierra y afines.

ALFREDO ALVARADO  
FACULTAD DE AGRONOMIA  
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA