

RESPUESTA DE LA PLANTA DE CEBOLLA
(*ALLIUM CEPA* L.) A DIFERENTES CONDICIONES
AMBIENTALES DURANTE SU CICLO ANUAL.
II. VARIACION DE LA COMPOSICION AMINADA SOLUBLE

TRIONE, S. O. y J. B. CAVAGNARO

SUMMARY

RESPONSE OF THE ONION PLANT (*ALLIUM
CEPA* L.) TO DIFFERENT ENVIRONMENTAL
CONDITIONS DURING ITS ANNUAL CYCLE.

II. VARIATION OF THE SOLUBLE AMINO ACID POOL.

Variations occurring in the soluble nitrogen compounds of the onion plant, were investigated during its growth and development. The concentration of total insoluble nitrogen and the spectres of amine acids and their amides in the soluble nitrogen pool were determined in relation to various growth parameters. This was done for root, foliage leaf and bulb during three stage of their annual cycle. 16 amino compounds were present in one or another morphological region, or growth stage. The fluctuations in the size of the nitrogen insoluble and soluble pools, as well as the outstanding presence of determined soluble amino compounds, e.g., asparagine, glutamine, arginine, alanine, have been associate to a particular metabolic activity —protein synthesis or breakdown—, or stage of growth —juvenility, maturation, senescence—, in relation to the changing environmental factors characteristic of the field conditions.

INTRODUCCIÓN

El típico crecimiento de una planta es, en última instancia, el resultado de un gran número de reacciones bioquímicas enmarcadas dentro de un determinado modelo metabólico. Si dicho crecimiento, en cualquiera de sus fases, es alterado por acción de fac-

(*) Ingenieros Agrónomos, Profesores Adjunto y Jefe de Trabajos Prácticos, respectivamente, de la Cátedra de Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias, Mendoza, Argentina.

tores ambientales, naturales o impuestos, es el modelo metabólico quien primariamente cambia. Estas variaciones se han puesto de manifiesto en innumerables ocasiones (17, 20, 23, 33, 55, 57, 60, 63, 64, 65, 69) por fluctuaciones más o menos temporarias, en calidad y cantidad de metabolitos muy diversos, e.g., proteínas, enzimas, ácidos nucleicos, amino ácidos y amidas libres, etc.

En la interpretación de fenómenos de preacondicionamiento de especies hortícolas, como podría ser cebolla, es conveniente ganar algún conocimiento de las fluctuaciones metabólicas que acompañan las alteraciones del crecimiento, producidas cuando la planta se somete a estímulos como déficit hídrico edáfico, altas o bajas temperaturas, intensidad y duración lumínica, etc. Una indicación de ello podría derivarse de los cambios que experimentan los amino ácidos y amidas de la fracción nitrogenada soluble, ya que, al estar ellos vinculados a la síntesis de proteínas y compuestos macromoleculares esenciales (56, 60), su metabolismo se entrecruza con el de los hidratos de carbono (2, 17, 69). Para ello es necesario conocer previamente cómo varía el espectro aminado soluble, cuando la planta se encuentra sometida a las condiciones ambientales, que se suponen normales, durante su crecimiento y desarrollo en una localidad determinada.

Desde los últimos años del siglo pasado y primeros del presente se realizaron, a través de las investigaciones pioneras de ZALENSKY, HETTLINGER, PRYANISHNIKOV, SHATKIN (42), una cantidad apreciable de trabajos en cebolla, sobre contenido de nitrógeno soluble, fundamentalmente, en bulbos. Sin embargo, pocos estudios han concernido a los cambios en la composición nitrogenada soluble de la planta entera, y menos aún, en relación a los diferentes estadios durante su crecimiento. Este trabajo muestra de qué manera fluctúan normalmente los amino ácidos y amidas en el nitrógeno soluble de raíz, bulbo y hoja de cebolla (*Allium cepa* L.), a lo largo de su ciclo vegetativo anual.

MATERIAL Y MÉTODO

Las plantas de cebolla (*Allium cepa* L. c.v. 'Valenciana Mejorada') se obtuvieron a partir de semillas, cultivándose en condiciones de campo, en la misma localidad y manera descrita en la parte I (4). Las muestras de plantas fueron tomadas en tres estadios de su crecimiento, designados aquí como, E-1: planta en almácigo, antes de trasplante, en estado de 3 hojas; E-2: planta en comienzo de bulbificación —diámetro del bulbo 2 cm—, dos meses posteriores al estadio anterior; E-3: plantas con hojas en comienzo de senescencia y bulbo en maduración —dos meses posteriores al estadio anterior y un mes antes de la recolección—. En cada estadio, antes

del análisis, 10 a 30 plantas se seccionaron en sus componentes: raíz, bulbo y hoja, determinándose, para estos dos últimos órganos, el peso fresco y seco absoluto, diámetro de bulbo, número de hojas, altura de planta (bulbo + hojas), y para raíces, el porcentaje de materia seca.

Determinación de las formas de nitrógeno.

Alícuotas de cada región morfológica, fueron tratadas repetidamente con alcohol etílico 80% para extraer el nitrógeno soluble. En esta fracción, los amino ácidos y amidas libres se purificaron a través de resina de intercambio catiónico, se separaron e identificaron por cromatografía bi-direccional sobre papel, determinándose por espectrofotometría, de acuerdo al método cuantitativo descripto por THOMPSON y STEWARD (61), ya referido por uno de nosotros en un trabajo previo (64). En el residuo insoluble en alcohol, se determinó el nitrógeno ligado —principalmente proteico— por el método de micro Kjeldahl.

Datos. Los amino ácidos y amidas libres se representan en forma de histogramas, por la cantidad de nitrógeno (mg) contenido en cada compuesto. El nitrógeno soluble e insoluble total está expresado en miligramos por gramo de peso seco de tejido, y representado también en forma de histograma.

RESULTADOS

Las diferentes medidas del crecimiento, registradas a lo largo de los sucesivos estadios (tabla II-1), dan una idea de la modalidad del crecimiento de cada región morfológica de la planta. El activo crecimiento de raíces y hojas se inició en el estadio E-1 y, presumiblemente, estuvo asociado a una marcada absorción de nutrientes y un incremento de la capacidad fotosintética, que fue conduciendo a un aumento de materia seca y de nitrógeno total. Dicho incremento, durante el estadio E-2, se hizo más aparente en la masa foliar que en el bulbo. Sin embargo, a medida que el ciclo avanzó y se alcanzó el estadio E-3, las hojas, como era de esperar, sufrieron una disminución en estos parámetros, mientras que el bulbo, en forma concomitante, los incrementó muy apreciablemente.

La composición aminada soluble de las diferentes partes de la planta (fig. II-1), reflejan los cambios que se suceden en las mismas a través de los estadios considerados. Así, el espectro de amino ácidos, que podríamos considerar típico de los distintos órganos de una planta juvenil (E-1), estuvo integrado por 10 a 13 compuestos, entre los cuales sobresalió, por su proporción de nitrógeno, alfa-alanina (Nº 8). La zona del futuro bulbo se distinguió de las hojas y raíces —muy similares en sus espectos aminados— por la presencia de las amidas asparagina (Nº 6) y glutamina (Nº 9), prolina (Nº

TABLA II-1.

Medidas del crecimiento de diferentes regiones morfológicas de la planta de cebolla (*Allium cepa* L.) a través de su ciclo vegetativo anual.

ESTADIOS DEL CRECIMIENTO	HOJAS				BULBO				RAIZ	ALTU- RA PLAN- TA	N.T.A. (bul- bo+ hojas)	P. S. HOJAS
	canti- dad	P.F.A. (g)	P.S.A. (g)	N.T.A. (mg)	láme- tro (cm)	P.F.A. (g)	P.S.A. (g)	N.T.A. (mg)	P.S. %	(bul- bo+ hojas) (cm)	(mg)	P. S. ULBO
E - 1 (mediados Noviembre)	3	6.9	0.6	17	0.5	0.6	0.08	2	9.0	27.8	19	7.5
(mediados Enero) E - 2	10	63.0	6.5	221	1.6	25.0	2.02	48	10.2	49.0	269	3.2
(mediados Marzo) E - 3	14	51.0	5.0	167	7.1	265.0	27.70	431	9.9	57.0	598	0.2

P. F. A. = peso fresco absoluto.

P. S. A. = peso seco absoluto

N. T. A. = nitrógeno total absoluto

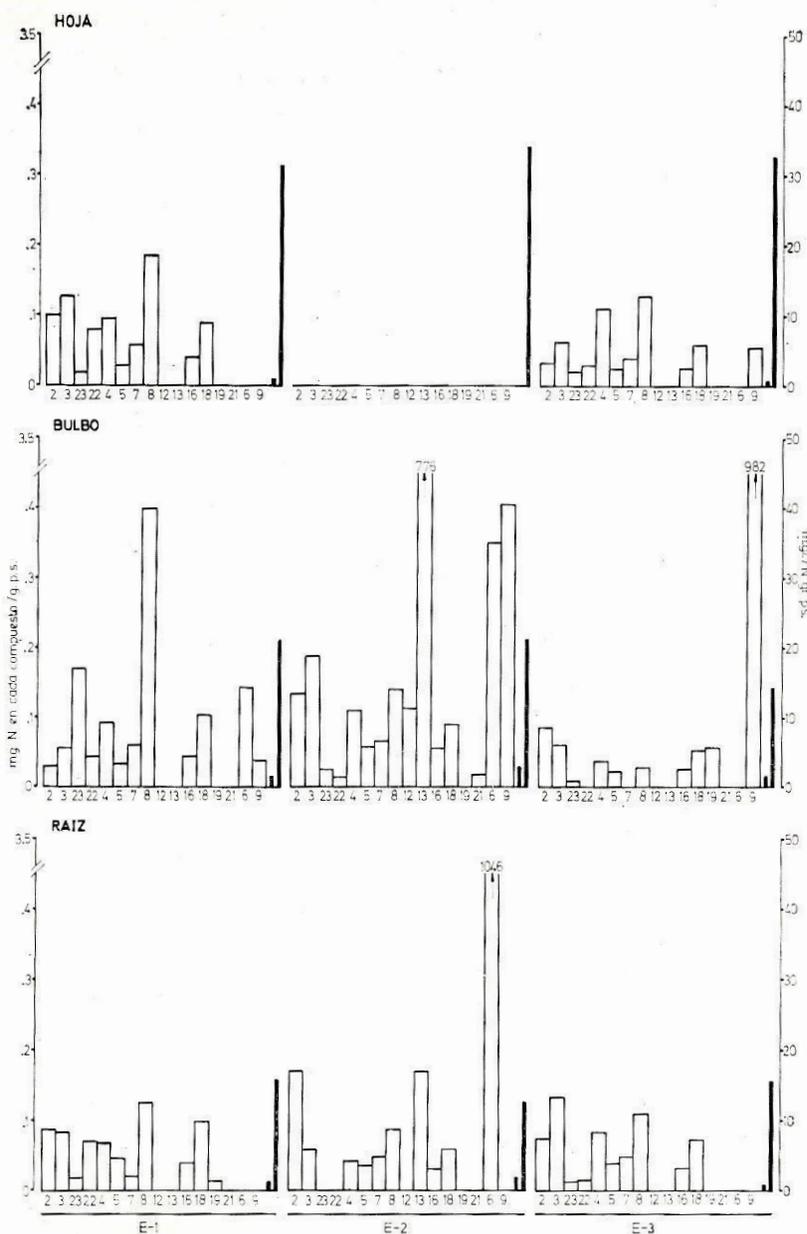


FIGURA II-1.

Composición aniónica soluble e insoluble y contenido total de nitrógeno soluble e insoluble (barras llenas izquierda y derecha respectivamente), de hojas, bulbo y raíces de *Allium cepa* L. en diferentes estadios de su crecimiento. *Clave de los números*. 2: ácido aspártico, 3: ácido glutámico, 4: serina, 5: glicina, 6: asparagina, 7: treonina, 8: alanina, 9: glutamina, 12: lisina, 13: arginina, 16: valina, 18: leucina, 19: fenilalanina, 21: tirosina, 22: beta-alanina, 23: ácido gamma-aminobutírico.

15) y un contenido mayor de alanina y ácido gamma-aminobutírico (Nº 23), que fueron balanceados por una reducción de beta-alanina (Nº 22) y los ácidos aspártico (Nº 2) y glutámico (Nº 3).

El cambio que se produjo en la planta con el comienzo del fenómeno de bulbificación (E-2), se pudo notar claramente en la composición nitrogenada soluble. En raíces se acumuló asparagina—cuyo nitrógeno contribuyó con más del 60% del total soluble— y apareció arginina (Nº 13), mientras el resto de los compuestos se redujeron o bien desaparecieron del compartimiento, e. g., beta-alanina, ácido gamma-aminobutírico, fenilalanina (Nº 19). En hojas, el nitrógeno soluble estuvo reducido a cantidades trazas, sin duda, por ser empleado en la síntesis proteica (2). Por su parte el bulbo, que inició un crecimiento acelerado, acumuló compuestos rico-nitrogenados como arginina y las amidas asparagina y glutamina, cuyo conjunto representó el 60% del nitrógeno soluble total.

Próximo a la época de recolección o cosecha del bulbo (E-3), cuando el crecimiento se desaceleró, los espectros aminados de raíces y hojas—éstas últimas en fase de maduración y comienzo de senescencia— tomaron una configuración que recordaron a los de sus respectivos estados juveniles, mientras el bulbo—en fase de maduración, netamente almacenador— siguió acumulando sostenidamente nitrógeno soluble en forma de glutamina, que representó más del 70% del total soluble.

DISCUSIÓN

Al discutir los cambios observados, es útil recordar que los metabolitos presentes en la fracción nitrogenada soluble, son partes intervinientes de las reacciones globales, que determinan las distintas modalidades de crecimiento. Ellos lo hacen, cediendo su nitrógeno para la síntesis de proteína (55), actuando como bloqueadores de secuencias metabólicas (60), o constituyendo formas de almacenamiento y traslado del nitrógeno orgánico.

El hecho de que en esta planta, el nitrógeno soluble represente una pequeña fracción del nitrógeno total, sobre todo en raíces y hojas que son órganos elaboradores por excelencia, es indicativo de su reutilización en la síntesis de proteína (2), pues las raíces parecen tener un crecimiento continuo durante todo el ciclo (22) mientras que las hojas van progresivamente incrementando su número, hasta que al final su nitrógeno, junto con la materia seca, es enviado directamente al bulbo (42).

Durante el estadio de plántula (E-1), donde se debe notar una diferenciación menos acentuada, los espectros aminados solubles revelan una marcada similitud bioquímica entre raíces y hojas. En cambio, la zona que más tarde dará lugar al bulbo, muestra

una diferenciación de carácter metabólico, pues la disminución de ácido aspártico y beta-alanina parece estar ligada a la síntesis de asparagina, mientras que la disminución de ácido glutámico lo estaría con la síntesis de ácido gamma-aminobutírico, glutamina y prolina (15).

Al comienzo de bulbificación (E-2), el alto contenido de N-asparagina en raíces, puede ser considerado como la forma inmediata de nitrógeno para ser empleada en el nuevo crecimiento que configura la aparición del segundo grupo de raíces producida en esta época (22), o bien, puede ser la consecuencia de un activo desdoblamiento proteico (55) que canaliza su nitrógeno a través de esta amida, para ser luego trasladado al bulbo en crecimiento. En relación a esto último, se debe notar que el aumento de nitrógeno soluble total del bulbo se debe, fundamentalmente, a amidas y arginina. La ausencia de nitrógeno soluble en hojas coincide con un aumento respetable de nitrógeno insoluble y un activo crecimiento, todo lo cual involucra una gran demanda de nitrógeno soluble para ser empleado en la síntesis de proteína.

En el último estadio (E-3), era de esperar que se produjera en los tejidos almacenadores del bulbo, un aumento del nitrógeno soluble e insoluble, por tratarse de un órgano reservante (42), en estado de maduración. Por lo tanto, la abundante presencia de glutamina libre se debe considerar asociada a reacciones que determinan formas de acumulación de reservas nitrogenadas.

Los datos aquí presentados muestran que la composición espectral de los amino ácidos y sus amidas libres, en las distintas regiones morfológicas de la planta de cebolla cultivada en condiciones normales de campo, reflejan, lógicamente, los procesos endógenos autónomos, como también los efectos de los factores ambientales que operan durante el curso de su ontogenia. Su estudio aporta elementos de juicio que, sin duda, resultarán de utilidad en la interpretación de fenómenos de precondicionamiento fisiológico en esta especie.

RESUMEN

Se ha investigado las variaciones que ocurren en los compuestos nitrogenados solubles de la planta de cebolla, durante su crecimiento y desarrollo. La concentración de nitrógeno insoluble total y los espectros de amino ácidos y sus amidas en el nitrógeno soluble, fueron determinados en relación a varios parámetros del crecimiento. Esto fue realizado para raíz, hoja y bulbo durante tres estados de su ciclo anual. 16 compuestos aminados estuvieron presentes en una u otra región morfológica, o estadio del crecimiento. Las fluctuaciones en los tamaños de los compartimientos aminados,

insoluble o soluble, como asimismo la presencia destacada de determinados compuestos aminados solubles, e.g., asparagina, glutamina, alanina, arginina, se asociaron a una actividad metabólica particular —síntesis o desdoblamiento proteico—, o estadio del crecimiento —juventud, maduración, senescencia, en relación, a los factores ambientales característicos de las condiciones de campo.

NOTA: La bibliografía corre agregada al final de la Parte V.