

# **LAS RELACIONES HÍDRICAS Y EL METABOLISMO DEL NITRÓGENO EN PLANTAS DE TOMATE (*Lycopersicon esculentum* mill) CULTIVADAS EN UN SUELO TRATADO CON BIOSÓLIDOS Y DIFERENTES NIVELES DE ABASTECIMIENTO HÍDRICO.**

**Dr. C. Enio Utria Borges<sup>1</sup>; Dra. C. Inés M. Reynaldo Escobar<sup>2</sup>; Dr. C. Juan Adriano Cabrera Rodríguez<sup>2</sup>; Dr. C. Donaldo Morales Guevara<sup>2</sup>; Lic. Sandra Goffe Sánchez<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup> Centro Universitario de Guantánamo (CUG)

<sup>2</sup> Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA)

## **INTRODUCCIÓN**

Las plantas frecuentemente están sujetas a estreses medioambientales que afectan su crecimiento, metabolismo y rendimiento (Lawlor, 2002a). Es de conocimiento clásico que las plantas para realizar normalmente todas sus funciones vitales, dentro de las cuales se encuentran sus procesos bioquímicos y fisiológicos, deben estar todas sus células turgidas, razones por la cual el estrés hídrico provocado por los intensos periodos de sequía es uno de los factores que más limitan su productividad (Chaves, 2002), porque afectan sus relaciones hídricas, alteran su metabolismo y los fenómenos que ocurren en grandes extensiones de áreas cultivadas (Lawlor, 2002b). Este fenómeno provoca que las plantas manifiesten síntomas de un anormal funcionamiento de sus funciones vitales.

Dentro de los fenómenos más observados en las plantas desarrolladas en sistemas caracterizados por la falta de humedad es la alteración de su metabolismo y la síntesis de sustancias que ayudan a palear los efectos negativos de la sequía.

Dentro de los procesos bioquímicos más afectados por el déficit de humedad en el suelo se encuentra el metabolismo del nitrógeno, proceso mediante el cual el nitrógeno inorgánico pasa a formar parte de diferentes sustancias orgánicas que influyen directamente en la producción de la biomasa vegetal. En este proceso la reducción de nitratos, a través de la enzima nitrato reductasa representa el principal punto de control cuando la fuente externa es el nitrato (Lea, 1997). Esta enzima cataliza la primera etapa de la asimilación del nitrato, y a su vez su actividad depende de la absorción de éste elemento por las raíces (Magalhães et al., 2010), por lo que representa el paso limitante en la incorporación del nitrógeno en las plantas superiores (Costa, 1999). En función de su importancia, esta enzima ha sido frecuentemente utilizada como indicadora de estreses y de otras anomalías asociadas a los factores moduladores del crecimiento de las plantas, debido a que la falta de agua en la misma acarrea reducción de la actividad de esta enzima (Taiz y Zeiger, 2004).

Por otro lado, otra alteración observada en el metabolismo del nitrógeno es la producción de prolina, aminoácido incrementado en las plantas desarrolladas en condiciones estresantes. Este hecho es considerado como un mecanismo que desarrollan las plantas para tolerar el estrés hídrico, las cuales bajo condiciones de estrés hídrico cesan su crecimiento completamente y acumula solutos en las células para mantener el volumen celular turgente en contra de la deshidratación, fenómeno que es nombrado ajuste osmótico.

Teniendo en cuenta los elementos planteados con anterioridad varias alternativas han sido utilizadas para disminuir el efecto negativo del déficit hídrico en el desarrollo de los vegetales, dentro de estas alternativas se encuentran el uso de materiales de origen orgánico, debido a los niveles relativamente altos de materia orgánica presentes en su composición y la capacidad de la misma para retener agua en los suelos, aportar minerales esenciales y facilita su absorción por las plantas, facilitar la penetración de las raíces, disminuir la erosión de los suelos,

promover el desarrollo de los microorganismos de los suelos, entre muchos otros beneficios informados con anterioridad por Yagi *et al.*, (2003).

Dentro de los materiales orgánicos utilizados con estos fines se encuentran los biosólidos de aguas residuales urbanas, debido a su naturaleza orgánica. Estos materiales, que no son más que los residuos orgánicos enriquecidos en nutrientes, derivados del tratamiento de las aguas residuales urbanas, además de aportar elementos esenciales para las plantas, aspectos que fueron informados por Miralles *et al.*, (2002), presentan contenido de materia orgánica que varían de 40% a 60% (Melo *et al.*, 2004), la cual contribuyen a mejorar las propiedades físicas de los suelos, influyendo positivamente en la formación y estabilidad de los agregados del suelo, mejorando su porosidad, disminuyendo la resistencia de las partículas del suelo a la penetración de las raíces y favoreciendo el movimiento de los gases y el balance hídrico del suelo. Esta ultima propiedad es de vital importancia para el sistema radical y la planta en general, ya que una adecuada disponibilidad de agua en el suelo puede resultar en un incremento en la permeabilidad celular de las raíces y una disminución de la resistencia de ésta al flujo de agua y nutrientes hacia el interior de las células vegetales.

Referente a este aspecto existen pocos los trabajos publicados relacionados con el efecto de la aplicación de biosólidos en la bioquímica y las relaciones hídricas del sistema suelo-planta en condiciones de sequía, las cuales pueden ser favorecidas por la aplicación de estos materiales orgánicos, si los niveles de metales pesados contenidos en éstos no sobrepasan los niveles considerados como máximos permisibles establecidos por la leyes de varios países.

Tomando como referente lo anteriormente planteado se realizó el presente trabajo con el objetivo de evaluar la respuesta de algunas variables componentes de estado hídrico y el metabolismo del nitrógeno de plantas de tomate desarrolladas en un suelo tratado con biosólidos y diferentes niveles de abastecimiento de agua.

## MATERIALES Y METODOS

### Aspectos generales

El trabajo de investigación se desarrolló en el Departamento de Fisiología y Bioquímica del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), situado en el municipio San José de las Lajas de la provincia la Habana, Cuba y pertenece al Ministerio de Educación Superior (MES)..

Los biosólidos utilizados procedieron de la EDAR “Quibú” del Municipio Marianao de la Ciudad de La Habana. Los mismos fueron obtenidos mediante un proceso de digestión anaeróbica y su producción varía de 617 – 778 toneladas anuales. Su procedencia es fundamentalmente de origen residencial. Su características químicas se presentan en la **Tabla 1** y los niveles de metales pesados se encuentran dentro de los límites permisibles establecidos por las Normas de Ecología Mexicana, (2001) y el Real Decreto 1310/1990 (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación 1990, España) para su uso agrícola.

**Tabla1.** Características química y humedad de los biosólidos estudiados.

Indicador	Media	Interv. Conf	Indicador	Interv. Conf	Media
MO (%)	42,35	3,02	Cr (mg.kg <sup>-1</sup> )	10,61	79,37
N (%)	2,60	0,7	Pb (mg.kg <sup>-1</sup> )	< LD	< LD
P (%)	1,35	0,24	Cu (mg.kg <sup>-1</sup> )	5,17	337,67
K (%)	0,76	0,27	Ni (mg.kg <sup>-1</sup> )	6,52	59,5
Ca (%)	8,84	1,54	Co (mg.kg <sup>-1</sup> )	2,17	18,83
Mg (%)	0,84	0,22	Mn (mg.kg <sup>-1</sup> )	1,43	55,67

<b>Humedad (%)</b>	6,06	1,37	<b>Zn (mg.kg<sup>-1</sup>)</b>	73,18	135,00
<b>pH (H<sub>2</sub>O)</b>	7,12	0,13	<b>Fe (%)</b>	0,10	2,09

Contenido de **MO**: materia orgánica oxidable; **P**: fósforo asimilable; **Ca**, **K** y **Mg**: calcio, potasio y magnesio intercambiables. Interv. Conf., Intervalo de confianza. LD, Límite de detección.

El suelo utilizado para el desarrollo de la fase experimental se clasifica como Ferralítico Rojo compactado eútrico, según la Nueva Versión de Clasificación Genética de los Suelos de Cuba (Hernández, 1999) y sus características químicas se presentan en la **Tabla 2**.

**Tabla 2.** Características químicas del suelo utilizado en la experimentación (Ferralítico Rojo compactado eútrico).

<b>Indicador</b>	<b>Media</b>	<b>Intervalo de confianza</b>
<b>MO, %</b>	2,71	2,58 – 2,84
<b>P, mg.kg<sup>-1</sup></b>	247,00	143,39 – 350,61
<b>Ca</b>	12,61	12,01 – 13,21
<b>Mg</b>	1,33	0,99 – 1,67
<b>K</b>	0,59	0,50 – 0,68
<b>pH</b>	8,10	7,96 - 8,24

Contenido de **MO**: materia orgánica oxidable; **P**: fósforo asimilable; **Ca**, **K** y **Mg**: calcio, potasio y magnesio intercambiables

Para la realización de la investigación se utilizaron semillas de tomate de la variedad INCA 9-1.

La presente investigación se diseñó a partir de una experiencia previa, donde se conoció la dosis de aplicación de biosólidos más adecuada y el efecto positivo de los mismos en la retención de la humedad del suelo y en algunos indicadores relacionados con las relaciones hídricas, el crecimiento y el desarrollo de las plantas de tomate (Utria *et al.*, 2004).

La misma se llevó a cabo en macetas con una capacidad de seis litros, un diámetro superior y una altura de 0,22 m y un diámetro basal de 0,15 m. La dosis de biosólidos aplicada fue de 135 g de biosólidos.kg<sup>-1</sup>suelo (**B<sub>135</sub>**) al inicio de la investigación y se comparó su efecto con el del suelo natural (**S**) y el del suelo fertilizado con urea a razón 150 kg.ha<sup>-1</sup>, según lo recomendado por MINAGRI (1990) y Hernández y Chailloux (2001) (**F**), para lo cual se utilizaron 30 macetas por tratamiento y se desarrollaron tres plantas por maceta.

Durante los primeros 15 días después de la germinación (ddg) se efectuó el riego cada dos días, a máxima capacidad de retención de humedad del sustrato en horas de la mañana. A partir de los 15 ddg (fase de activo crecimiento celular y comienzo de la diferenciación floral (Sam, (2001), comunicación personal) se consideraron como factores en estudio los tres sustratos mencionados anteriormente: **S**, **F** y **B<sub>135</sub>** y dos niveles de humedad: restablecimiento del 100 y 50% de las pérdidas de agua por evapotranspiración cada dos días (**PAevt**) (**H<sub>1</sub>** y **H<sub>2</sub>**, respectivamente) y se seleccionaron dos grupos de 15 macetas por tratamiento, a un grupo se le continuó restableciendo el 100% (**H<sub>1</sub>**) y al otro sólo el 50% de las **PAevt** (**H<sub>2</sub>**) y se conformaron a partir de ese momento seis tratamientos, cada uno con 15 macetas (**Tabla 3**).

**Tabla 3.** Tratamientos estudiados en el experimento relacionado con las relaciones hídricas y el crecimiento de las plantas de tomate cultivadas en diferentes sustratos y niveles de abastecimiento hídrico.

Tratamientos	Descripción
<b>S<sub>100</sub></b>	<b>S</b> con 100% del restablecimiento de las pérdidas de agua
<b>F<sub>100</sub></b>	<b>F</b> con 100% del restablecimiento de las pérdidas de agua
<b>B<sub>100</sub></b>	<b>B<sub>135</sub></b> con 100% del restablecimiento de las pérdidas de agua
<b>S<sub>50</sub></b>	<b>S</b> con 50% del restablecimiento de las pérdidas de agua
<b>F<sub>50</sub></b>	<b>F</b> con 50% del restablecimiento de las pérdidas de agua
<b>B<sub>50</sub></b>	<b>B<sub>135</sub></b> con 50% del restablecimiento de las pérdidas de agua

**S:** suelo natural; **F:** Suelo tratado con fertilizante mineral; **B<sub>135</sub>**, 135 g biosólidos.kg<sup>-1</sup> de suelo

A los 12 días después de impuestos los tratamientos de niveles de humedad (**dnh**) (27 días después de la germinación (**ddg**)), se procedió a aplicar el 100% de las **PAevt** (recuperación) y a los 4 días después se efectuó la última evaluación de este experimento (31 **ddg**).

Durante el desarrollo del experimento los recipientes fueron situados debajo de un cobertizo de polietileno transparente para protegerlos de las precipitaciones y del rocío.

El porcentaje de humedad del sustrato (**Phs**), el contenido relativo de agua foliar (**CRA**) y el potencial hídrico foliar (**Ψh**), se evaluaron cada cuatro días, desde el inicio de implantados los tratamientos de niveles de humedad hasta el final del experimento (16 **dnh**) y la actividad de la enzima nitrato reductasa (**AEnr**) se realizaron a los 12 **dnh**.

### Metodologías empleadas en la realización de las diferentes evaluaciones.

#### Humedad del sustrato (%)

Las evaluaciones del porcentaje de humedad del sustrato (**Phs**) se efectuaron cada cuatro días a partir de impuestos los tratamientos de niveles de humedad (**dnh**) y las muestras se tomaron con una barrena en tres puntos de tres macetas por tratamiento y se secaron en una estufa a 110 ± 5 °C hasta lograr masa constante y los datos se expresaron gráficamente como porcentaje de humedad del sustrato (%), en base seca. Para esto se utilizó el método gravimétrico y el cálculo mediante la ecuación:

$$\text{Phs} = (\text{Mf} - \text{Ms}) / \text{Mf} \times 100$$

Donde: **Phs**, porcentaje de humedad del sustrato; **Mf**, masa fresca y **Ms**, masa seca de la muestra.

#### Variables componentes del estado hídrico de las plantas.

Para la evaluación de estas variables se seleccionaron de cuatro plantas por tratamiento, cuatro hojas bien desarrolladas del tercio superior.

#### Contenido Relativo de Agua (%).

Se determinó según la metodología descrita por Turner (1981) y para el cálculo de esta variable se utilizó la fórmula:

$$\text{CRA} = [(\text{Mf} - \text{Ms}) / (\text{Mt} - \text{Ms})] \times 100.$$

Donde: **CRA**, Contenido Relativo de Agua; **Mf**, Masa fresca de la hoja en el momento del muestreo; **Ms**, Masa seca de la hoja después de secadas en la estufa a 75 ± 5°C, hasta masa constante; **Mt**, Masa turgente de las hojas tras su saturación en agua destilada durante 24 horas a 4 °C en condiciones de oscuridad.

#### Potencial hídrico foliar (Mpa).

Las evaluaciones de esta variable se efectuaron con una cámara de presión tipo Scholander, según la técnica descrita por Turner (1981) y se utilizó para ello N gaseoso.

### **Variable bioquímica.**

#### **Actividad de la enzima nitrato reductasa (nmoles.NO<sub>2</sub> ms<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>).**

La actividad de la enzima se realizó “in vivo” en hojas frescas, según la metodología descrita por Blondel y Blanc (1975). El medio de incubación de la enzima estuvo compuesto de un tampón de Tris-HCl (0,05 mol.L<sup>-1</sup>, pH 7,4), Tween-80 (0,02%) y KNO<sub>3</sub> 0,1 mol.L<sup>-1</sup>. La cuantificación se determinó espectrofotométricamente a través del producto formado a una longitud de onda de 540 nm.

### **Concentración de prolina**

#### **Contenido de prolina foliar. (μg.g ms<sup>-1</sup>).**

La determinación cuantitativa de prolina se realizó según la metodología descrita por (Bates, Waldrein y Teare, 1973) citada por (Meloni et al., 2004), utilizando la L-prolina como un estándar. Se realizó macerando las muestras (0,25 g de material vegetal) con 7 ml de agua hirviendo, posteriormente se filtro con tela de muselina y el sobrenadante se aforó a 10 ml. La mezcla fue extraída con tolueno y la prolina libre se cuantificó espectrofotómetricamente a 250 nm.

### **Análisis estadísticos.**

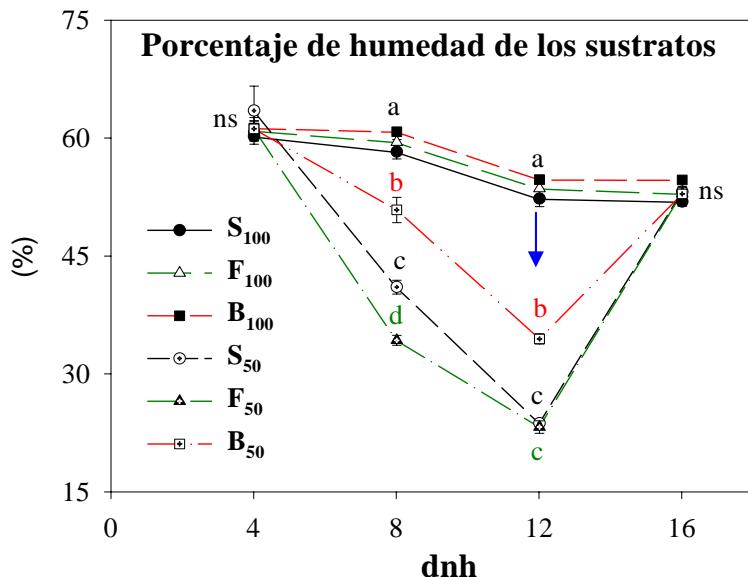
Los resultados experimentales fueron sometidos a Análisis de Varianza según el diseño completamente aleatorizado y se comprobó previamente la normalidad de los datos por la prueba de Kolmogorov-Smirnov y la homogeneidad de varianza por la prueba de Bartlett. En los casos en que se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, las comparaciones de medias se realizaron según la Dócima de Duncan para el 5% de probabilidad del error. Para el análisis estadístico fue utilizado el paquete estadístico STATGRAPHICS Versión 5.0 y para realizar los gráficos el programa SigmaPlot versión 6, ambos en ambiente Windows.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Teniendo en cuenta el contenido de materia orgánica de los biosólidos, la capacidad de la misma para retener agua y el interés mundial por las alternativas agrícolas que contribuyan a minimizar los efectos negativos producidos por los cambios globales, fundamentalmente la sequía o el déficit hídrico en los suelos, se evaluó el efecto de la aplicación de dichos residuos orgánicos en el porcentaje de humedad de los sustratos y la variables relacionadas con el estado hídrico y bioquímico de las plantas.

Al evaluar el comportamiento del porcentaje de humedad del sustrato (**Figura 1**) se pudo observar que no existieron diferencias significativas entre el suelo tratado con biosólidos, el suelo natural y el tratado con fertilizante mineral, cuando se efectuó el riego normal (restablecimiento del 100% de las **PAevt**) a las macetas; mientras que, la aplicación de biosólidos en condiciones de abastecimiento hídrico limitado (restablecimiento del 50% de las **PAevt**) propició a los 8 y 12 **dnh** las mayores magnitudes de esta variable, con relación a los restantes tratamientos. A los 12 **dnh** el sustrato tratado con este residuo orgánico sólo experimentó un porcentaje de reducción de 37%; mientras que, el encontrado en el suelo natural y el tratado con fertilizante mineral fueron del 55 y 57%, respectivamente, comparados estos con los porcentajes encontrados en los mismos sustratos, pero con el restablecimiento del 100% de las **PAevt**. Esto evidencia que la aplicación de biosólidos aumenta la capacidad de los

sustratos para retener agua, debido al contenido relativamente alto de materia orgánica presente en estos residuos, lo que permite mejorar el balance hídrico de los suelos y a su vez, aumentar la capacidad de retención hídrica de los mismos, aspecto que ha sido informado con anterioridad por Gómez *et al.*, (2000).



**Figura 8.** Porcentaje de humedad de los sustratos sometidos a diferentes niveles de abastecimiento hídrico, en la fase comprendida desde el inicio de impuestos los tratamientos de niveles de humedad, hasta el final del experimento. **S<sub>100</sub>**, suelo natural (**S**) + 100% del restablecimiento de las pérdidas de agua (**H<sub>1</sub>**); **F<sub>100</sub>**, suelo tratado con fertilizante mineral (**F**) + **H<sub>1</sub>**; **B<sub>100</sub>**, 135 g biosólidos.kg<sup>-1</sup> de suelo (**B<sub>135</sub>**) + **H<sub>1</sub>**; **S<sub>50</sub>**, **S** + 50% del restablecimiento de las pérdidas de agua (**H<sub>2</sub>**); **F<sub>50</sub>**, **F** + **H<sub>2</sub>**; **B<sub>50</sub>**, **B<sub>135</sub>** + **H<sub>2</sub>**. **dnh**, Días de impuestos los tratamientos de niveles de humedad. La flecha indica el momento a partir del cual se restableció el 100% de las pérdidas de agua en todos los tratamientos (Fase de recuperación). **I**, Error estándar de la media.

Cuando se efectuó el riego normal en todos los tratamientos a partir de los 12 **dnh** y se evaluó la humedad de los sustratos cuatro días después, no se detectaron diferencias significativas entre los mismos.

Como se puede observar, la aplicación de biosólidos en el suelo contribuye de manera decisiva en favor de la retención de humedad de los sustratos, fenómeno que pone de manifiesto sus potencialidades para ser aplicados como alternativa ante condiciones de escasa pluviometría o de abastecimiento hídrico deficitario o para ahorrar el insumo de agua utilizada en los sistemas de producciones agrícolas.

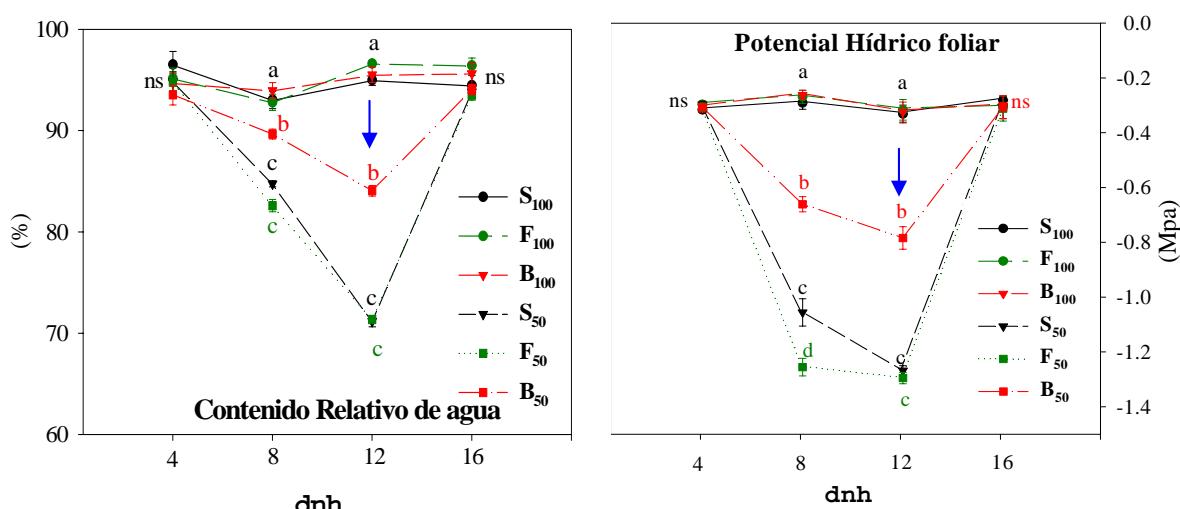
#### Variables componentes del estado hídrico de las plantas

A partir de los resultados encontrados al evaluar el porcentaje de humedad de los sustratos y tomando en consideración que algunos residuos pueden tener en su composición un contenido elevado de sales, dentro de las cuales se encuentran las de *metales pesados* (MP), lo cual provoca que a pesar de la existencia de niveles de humedad adecuados en los sustratos, la absorción de agua por las plantas se vea limitada, situación que conlleva a la marchitez fisiológica del vegetal, según lo informado por Primavesi (2002). Por esta razón se decidió

evaluar el efecto de la aplicación de biosólidos en las relaciones hídricas y algunas variables del metabolismo del nitrógeno en las plantas.

Se destaca, que al analizar las diferentes variables, de forma general se observó la existencia de interacción entre los dos factores en estudios (sustratos y niveles de humedad).

Al igual que el porcentaje de humedad de los sustratos, las magnitudes del *Contenido Relativo de Agua (CRA)* y el *potencial hídrico foliar ( $\Psi_h$ )* de las plantas desarrolladas en el suelo tratado con biosólidos no difirieron significativamente de las desarrolladas en el suelo natural y el suelo tratado con fertilizante mineral, cuando se restableció el 100% de las **PAevt** (Figura 2). Sin embargo, el tratamiento al suelo con este residuo orgánico provocó que cuando el suministro hídrico fuera limitado las magnitudes de estas variables fueran superiores al de las plantas cultivadas en el suelo tratado con fertilizante mineral y el que no se aplicó ninguna fuente nutritiva (**S<sub>50</sub>**), ambos con igual condición de abastecimiento hídrico.



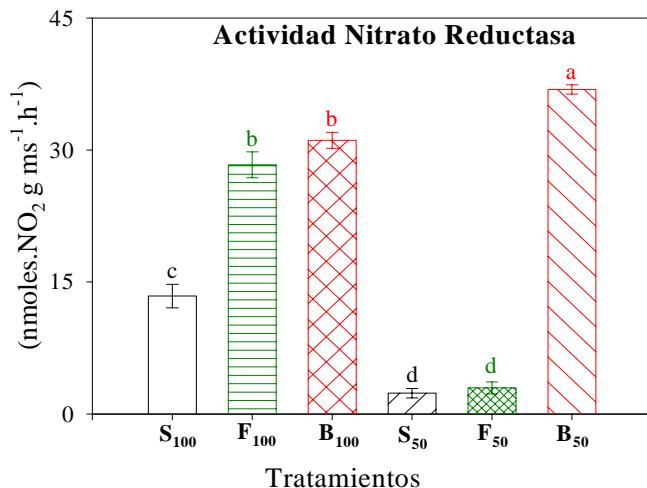
**Figura 2.** Contenido Relativo de Agua (**CRA**) y Potencial Hídrico foliar ( $\Psi_h$ ) de plantas de tomate cultivadas en diferentes sustratos y niveles de abastecimiento hídrico, en la fase comprendida desde el inicio de impuestos los tratamientos de niveles de humedad hasta el final del experimento. **S<sub>100</sub>**, suelo natural (**S**) + 100% del restablecimiento de las pérdidas de agua (**H<sub>1</sub>**); **F<sub>100</sub>**, suelo tratado con fertilizante mineral (**F**) + **H<sub>1</sub>**; **B<sub>100</sub>**, 135 g biosólidos. $\text{kg}^{-1}$  de suelo (**B<sub>135</sub>**) + **H<sub>1</sub>**; **S<sub>50</sub>**, **S** + 50% del restablecimiento de las pérdidas de agua (**H<sub>2</sub>**); **F<sub>50</sub>**, **F** + **H<sub>2</sub>**; **B<sub>50</sub>**, **B<sub>135</sub>** + **H<sub>2</sub>**. **dnh**, días de impuestos los tratamientos de niveles de humedad. La flecha indica el momento a partir del cual se restableció el 100% de las pérdidas de agua en todo los tratamientos (Fase de recuperación). I, Error estándar de la media.

Al restablecer el 100% de las **PAevt** a los 12 **dnh** en todos los sustratos con la misma frecuencia de aplicación y evaluar estas variables cuatro días después, se encontró que tanto el **CRA** como el  $\Psi_h$  fueron similares en todos los tratamientos, lo que evidencia que la reducción del suministro hídrico no provocó la marchitez permanente de las plantas, ya que las mismas fueron capaces de recuperar la turgencia de sus tejidos.

### Variables bioquímicas

Al hacer un análisis de la actividad de la enzima nitrato reductasa (**AEnr**) foliar a los 12 **dnh** (Figura 3), se observó que la aplicación de biosólidos (**B<sub>100</sub>**) bajo condiciones de abastecimiento

hídrico normal (restablecimiento del 100% de las **PAevt**), propició que los niveles en la actividad de la enzima encontrados en las plantas desarrolladas en este sustrato fueran similares a los alcanzados por las desarrolladas en el suelo tratado con fertilizante mineral (**F<sub>100</sub>**) y ambos tratamientos superaron la actividad de la enzima de las plantas cultivadas en el suelo natural (**S<sub>100</sub>**). Se destaca que los niveles de la **AEnr** en las plantas cultivadas en el suelo tratado con biosólidos y el tratado con fertilizante mineral, presentaron magnitudes similares a las encontradas por (Torres, 2001), en plantas de tomate desarrolladas en condiciones normales de abastecimiento hídrico. Esto demuestra la capacidad de los biosólidos para garantizar además de NH<sub>4</sub>, niveles de NO<sub>3</sub> adecuados para el buen funcionamiento de la enzima nitrato reductasa.



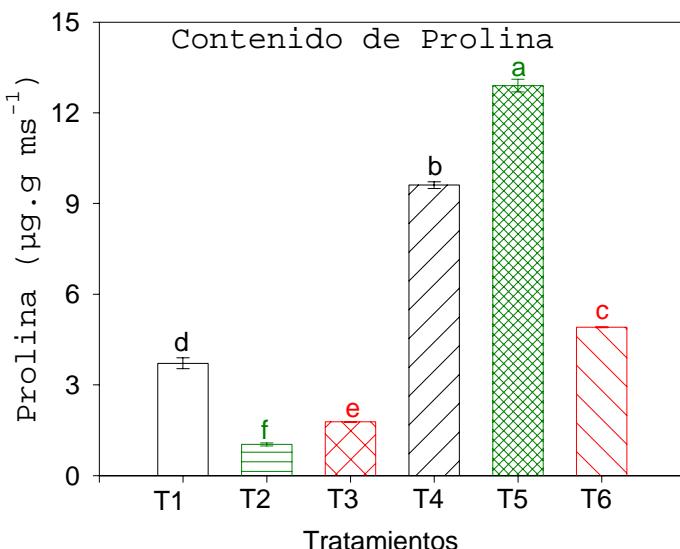
**Figura 3.** Actividad de la enzima Nitrato Reductasa foliar de plantas de tomate cultivadas en diferentes sustratos y niveles de abastecimiento hídrico, a los 12 dnh. **S<sub>100</sub>**, suelo natural (**S**) + 100% del restablecimiento de las pérdidas de agua (**H<sub>1</sub>**); **F<sub>100</sub>**, suelo tratado con fertilizante mineral (**F**) + **H<sub>1</sub>**; **B<sub>100</sub>**, 135 g biosólidos.kg<sup>-1</sup> de suelo (**B<sub>135</sub>**) + **H<sub>1</sub>**; **S<sub>50</sub>**, **S** + 50% del restablecimiento de las pérdidas de agua (**H<sub>2</sub>**); **F<sub>50</sub>**, **F** + **H<sub>2</sub>**; **B<sub>50</sub>**, **B<sub>135</sub>** + **H<sub>2</sub>**. I, Error estándar de la media.

La utilización de la **AEnr** como indicador del estado hídrico de las plantas, evidenció que a los 12 dnh las plantas desarrolladas en el suelo donde se aplicó biosólidos y se restableció el 50 % de las **PAevt** (**B<sub>50</sub>**), lograron valores en la **AEnr** significativamente superiores al de los restantes tratamientos, incluyendo aquellos en que se restableció el 100% de las **PAevt**.

Este comportamiento, pudo deberse a que cuando la afectación del estado hídrico en la planta es ligera o moderada, como ocurrió en las plantas cultivadas en el suelo tratado con biosólidos y se restablecieron sólo el 50% de las **PAevt**, ocurre una acumulación de nitratos al disminuir el volumen celular, el cual induce el incremento de la enzima, si la deficiencia persiste hasta volverse severa y la concentración de nitratos continua en aumento, esto unido al incremento del amonio libre producido por la degradación de las proteínas y los aminoácidos, entonces se alcanzan niveles tóxicos que afectan negativamente la actividad de las enzimas del metabolismo del N, fundamentalmente la nitrato reductasa, ya que el ión NO<sub>3</sub><sup>-</sup> según lo encontrado por Lovatt, (1987) y Chaves *et al.*, (2002) es inductor al mismo tiempo que inhibidor de esta enzima. Esto conjuntamente con los daños celulares que ocurren por el estado de deshidratación de los tejidos, provoca la disminución de la actividad enzimática, según Flexas y Medrano, (2002), como se observó en los tratamientos donde las plantas crecieron en suelo natural y donde se aplicó fertilizante, ambos con aplicación del 50% de las **PAevt** (**S<sub>50</sub>** y **F<sub>50</sub>**,

respectivamente). A lo anterior, se suma la pérdida de capacidad de absorción y traslocación de elementos, especialmente N en la planta cuando ésta se encuentra sometida a condiciones estresantes por deficiencia hídrica, según lo informado por Wagner *et al.*, (1998). Por otra parte, la AE<sub>nr</sub> también se vió afectada cuando las plantas se desarrollaron en suelo natural con restablecimiento del 100% de las PA<sub>evit</sub>, lo cual pudo deberse a los niveles relativamente bajos de MO presente en este tipo de suelo, fuente natural de N en el mismo.

Al evaluar el contenido de prolina foliar (figura 4) se observó que cuando las plántulas crecieron en suelo sólo y donde se aplicó fertilizante químico con restablecimiento del 50 % de las pérdidas de agua por evapotranspiración (T4 y T5, respectivamente) se logró la mayor acumulación del aminoácido, observándose los valores más bajo de esta variable cuando se aplicó fertilizante químico (T2) y lodos (T3) con restablecimiento del 100 % del agua ET. Resultados similares fueron encontrados por Lazcano-Ferrat y Lovatt (1999) en Frijol y Jiang y Huang (2001) en pasto, quienes evidenciaron que la concentración de prolina foliar se vio aumentada en las plantas sometidas a condiciones de estrés hídrico severo.



**Figura 4.** Concentración de prolina foliar en plantas de tomate cultivadas en diferentes sustratos y niveles de abastecimiento hídrico, a los ocho 8 días de *implantados* los tratamientos de niveles de humedad (dditnh). Tratamientos (T): T1) Suelo (S1) + 100% del agua ET(N1); T2) Suelo con fertilizante (S2) + N1; T3) 135 g lodo.kg<sup>-1</sup> suelo (S3) + N1; T4) S1 + 50% del agua ET (N2); T5) S2 + N2; T6) S3 + N2.

La prolina es un aminoácido libre que se presenta en pequeñas cantidades en las hojas de las plantas, cuando éstas crecen sin ningún tipo de restricción. Bajo esas condiciones, la prolina se oxida para formar parte del ácido glutámico y otros compuestos solubles que posteriormente originan proteínas. En condiciones inadecuadas de crecimiento, tales como el déficit de nutrientes, de humedad o exceso de sales, la formación de ácido glutámico es inhibida e inclusive revierte la ya formada, pudiéndose acumular prolina en las hojas al disminuir su tasa de oxidación (Stewart *et al.*, 1997).

Una acumulación de prolina en plantas sometidas a estrés hídrico puede ser consecuencia de un aumento en su síntesis o de un decrecimiento de su degradación. La ruta metabólica responsable de la síntesis de prolina mas conocida en las plantas es la del aminoácido (glutamato), el cual puede ser producido por hidrólisis de las proteínas, por reacción de

transaminación o por reacción catalizada por el ciclo GS/GOGAT. A partir de los resultados obtenidos, la acumulación de prolina no pudo tener su origen en el glutamato proveniente del N asimilado recientemente, o sea, por el ciclo GS/GOGAT, debido a que la primera enzima del metabolismo del nitrógeno (NR) se vio afectada por el estrés hídrico severo como se vio en los tratamientos 4 y 5, siendo su actividad inversamente proporcional a la acumulación de prolina. Consecuentemente, una disponibilidad de glutamato necesario para la síntesis de prolina sólo puede ser explicada por hidrólisis de proteínas o por transaminación a partir de otros aminoácidos. Una hidrólisis de la proteína, además de contribuir con el aminoácido precursor (glutamato), también puede contribuir a la prolina, favoreciendo su aumento como aminoácido libre en los tratamientos sometidos a estrés hídrico (Marques et al., 2002).

Cuando se compara la respuesta de la NR con la acumulación de prolina libre en las hojas, se observa una tendencia opuesta, o sea, los tratamientos que tienen mayor actividad de la enzima, tiene menor acumulación de prolina y viceversa. De forma general cuando el estrés fue ligero (T6), se evidenció la mayor actividad de la enzima y niveles medios en la concentración de prolina.

## CONCLUSIONES

1. Las relaciones hídricas de las plantas en condiciones de buen abastecimiento hídrico responde de igual manera, independientemente del sustrato utilizado; sin embargo, cuando el suministro hídrico es limitado la aplicación de biosólidos las favorece, al igual que a la conservación de la humedad del sustrato.
2. La actividad de la enzima nitrato reductasa en plantas de tomate desarrolladas en un suelo tratado con biosólidos y con buen abastecimiento hídrico responde de igual manera a las plantas desarrolladas en un suelo fertilizado mineralmente. Mientras que, el suministro hídrico limitado al suelo afecta la actividad de la enzima cuando las plantas se desarrollan en un suelo natural y en uno fertilizado mineralmente, en un menor espacio de tiempo que las desarrolladas en un suelo tratado con biosólidos.
3. Un grado de deshidratación ligero estimula positivamente la actividad nitrato reductasa de plantas desarrolladas en un suelo tratado con biosólidos,
4. Ante un suministro hídrico limitado al suelo la concentración de prolina en hojas de plantas de tomate desarrolladas en un suelo tratado con biosólidos se mantiene en niveles inferiores al de las plantas desarrolladas en un suelo tratado con fertilizante mineral y un suelo sin tratar y mantuvo niveles cercanos al de las plantas desarrolladas en los tratamientos donde el suministro hídrico fue adecuado.

## BIBLIOGRAFÍA

- Blondel, A. M.; Blanc, D. Mise au point d'une méthode de mesure in vivo de l'activité de la nitrato reductase. *Ann. Agron*, 1975, vol. 26, p. 309-322.
- BOE (Boletín Oficial de Estado). Real Decreto 1310/1990, de 29 de octubre, por el que se regula la Utilización de los Lodos de Depuración en el Sector Agrario. Mº De Agricultura, Pesca y Alimentación, 1990, 262 p.
- Chaves M. 2002. Water stress in the regulation of photosynthesis in the field. *Annals of Botany*, vol. 89. P. 907–916.
- Chaves, M. M.; Pereira, J. S.; Maroco, J.; Rodríguez, M. L.; Ricardo, C. P. P.; Osorio, M. L.; Carvalho, I.; Faria, T. y C. Pinheiro. How Plant COPE with Water Stress in the field? Photosynthesis and Growth. *Annals of Botany*, 2002, vol. 69, no 7, p. 907-916.

- COSTA, R.C.L. da. *Assimilação de nitrogênio e ajustamento osmótico em plantas noduladas de feijão-de-corda (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) submetidas ao estresse hídrico*, Tese de Doutorado, Fortaleza/CE. 1999. 100 p.
- Cuba. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Efecto de estrés abiótico asociado a los cambios globales en la biología de dos especies de importancia económica. Torres y col. Informe final de proyecto, INCA, 2001, 147 p.
- Cuba. MINAGRI. Carta Tecnológica del cultivo del tomate. 1990.
- Cuba. MINAGRI. Instituto de Suelos. Nueva Versión de Clasificación Genética de los Suelos de Cuba. Hernández y col. La Habana. AGRINFOR, 1999, 64 p.
- Flexas, J.; Medrano, H. Drought-inhibition of photosynthesis in C<sub>3</sub> plant: Stomatal and Non-stomatal Limitation Revisited. *Annals of Botany*, 2002, vol. 89, p. 183 - 189.
- Gómez, O.; Casanova, A.; Laterrot, H.; Anais, G. Mejora genética y manejo del cultivo del tomate para la producción en el caribe. Eds R. C. Alvarezesar y W. Calderón, 2000, 159 p.
- Hernández, A. et al, 1999. Nueva versión de clasificación genética de los suelos de Cuba. Instituto de Suelos. Ministerio de la agricultura. La Habana. AGRINFOR. 64 P.
- Hernández, M. I.; Chailloux, M. La nutrición mineral y la biofertilización en el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Temas de Ciencia y Tecnología*, 2001, vol. 15, no. 3, p. 11-27.
- Jiang, Y. y B. Huang, 2001. Osmotic adjustment and root growth associated with drought preconditioning-enhanced heat tolerance in kentucky bluegrass. *Crop Science*, 2001, vol. 41, no. 4, p. 1168-1173.
- Lawlor, D. W. Limitation to photosynthesis in water-stressed leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP. *Annals of Botany*. 2002a, vol. 89, p. 871 – 885.
- Lawlor, D. W. Limitation in Water stressed Leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP. *Annals of Botany*, 2002b, no. 2, p. 871-875.
- Lazcano-Ferrat, I. y C. J. Lovatt. Relationship between relative water content, nitrogen pools, and growth of *phaseolus vulgaris* L. and *P. acutifolius* A. Gray during water deficit. *Crop Science*. 1999, vol. 39, no. 2, p. 467-475.
- Lea, P. J. Primary Nitrogen Metabolism. In: *PLANT BIOCHEMISTRY* (DEY, P. M. & HARBORNE, J. B. eds.), 1997, pp. 273-306. Academic Press, San Diego, California-USA.]
- Lovatt, C. J. Stress. *California Avocado Society Yearbook*, 1987, p. 251 - 255.
- Magalhães Aragão2 Rafael, Joaquim Albenísio Gomes Silveira3\*, Evandro Nascimento Silva4, Ana Karla Moreira Lobo5 e Antônia Tathiana Batista Dutra6. Absorção, fluxo no xilema e assimilação do nitrato em feijão-caupi submetido à salinidade1. *Revista Ciência Agronômica*, 2010, vol. 41, no. 1, p. 100-106.
- Marques, V.; Magalhães, P. C.; Machado, F. O.; Mota, L. E. y A. A. Corsetti. Metabolismo do nitrogênio associado à deficiência hídrica e sua recuperação em genótipos de milho. *Ciência rural*, Santa Maria, 2002, vol. 32. no 1, p. 13-17.
- Melo, V.; Amauri, A.; Menezes, Z.; Centurion, J. F.; Melo, J. M. Atributos físicos de Latossolos adubados durante cinco anos com biofertilizante. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 2004, vol. 39, no.1, p.67-72.
- Meloni, D. A.; Colotta, M. R.; Martínez, C. A. y M. A. Oliva. The effects of salt stress on growth, nitrate reductase and proline and glycinebetaine accumulation in *Prosopis alba*s. *Braz. J. plant. Physiol.*, 2004, vol. 16, no. 1, p. 39-46.

- Miralles, R.; Beltrán, E.; Porcel M. A.; Delgado, M.; Beringola, M. L.; Valero, L.; Calvo, R. y I. Walter. 2002. Emergencia de seis cultivos tratados con lodos, fresco y compostado de estaciones depuradora. *Rev. Int. de Contam. Ambient.*, 2002, vol. 18, no 3. P. 139-146.
- NOM-004-ECOL-2001. Norma Oficial Mexicana, Protección ambiental; lodos y biosólidos; especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. SEMARNAT. Publicado en el Diario Oficial de la Federación el 18 de febrero de 2002.
- Primavesi, A. Manejo ecológico del suelo. 5 ed. Buenos Aires: el Ateneo. 2002, 499 p.
- Real Decreto 1310/1990 (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación 1990, España)
- Sam, O. (Comunicación personal), Investigadora del INCA. La Habana, Cuba, 2001.
- Stewart, C. R.; Boggess E. F.; Aspinall D. y L. E. Paleg. 1997. Inhibition of proline oxidation by water stress. *Plant physiol.*, 1997, vol 59, p. 930-932.
- Taiz, L.; Zeiger, E. *Fisiología vegetal*. Trad. SANTARÉM, E. R...[et al.]. – 3.ed. –Porto Alegre: Artmed,.], 2004.
- Turner, N. C. Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. *Plant and Soil*. 1981, vol. 58, p. 339-366.
- Utria, E.; Reynaldo, I.; Cabrera, A.; Morúa, A. Respuesta de las relaciones hídricas y el crecimiento de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) a la aplicación de lodos de depuradora en un suelo Ferralítico Rojo sometidos a diferentes condiciones de abastecimiento hídrico. (En: Congreso Científico del INCA (14: 2004, nov 9-12), La Habana) Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
- Wagner, M.; Laborem, G.; Medina, G. Y L. Rangel. 1998. Efecto del patrón y la frecuencia de riego sobre el nivel foliar de prolina en el naranjo “Valencia”. *Bioagro*. Vol. 10, no. 3, p. 76-79.
- Yagi, R.; Ferreira, M. E.; Pessoa, M. C.; Barbosa, J. C. Organic matter fractions and soil fertility under the influence of liming, vermicompost and cattle manure. *Scientia Agricola*, 2003, vol.60, no.3, p.549-557.