

# **DISTRIBUCIÓN DE P-FOLIAR ASOCIADO A DIFERENTES MOLÉCULAS ORGÁNICAS EN PLANTAS DE MAÍZ (*ZEA MAYS*, VAR: P-7928) TRATADAS CON SUSTANCIAS HÚMICAS LÍQUIDAS POR VÍA RADICULAR Y FOLIAR.**

**Rafael Huelva, Dariellys Martínez, Orlando L. Hernández y Fernando Guridi.**

*Dpto. Química. Fac. de Agronomía. Universidad Agraria de la Habana “Fructuoso Rodríguez Pérez”. La Habana. Cuba [rafael@isch.edu.cu](mailto:rafael@isch.edu.cu)*

## **Introducción.**

Lograr la disminución en la utilización de fertilizantes químicos y plaguicidas sintéticos es uno de los factores más importantes a tener cuenta en la instrumentación de una agricultura sostenible o biodinámica (Miklos y col, 2000). Las sustancias húmicas líquidas, obtenidas fundamentalmente de fuentes orgánicas reciclables como los compost y vermicompost pueden ser utilizadas por sus reconocidos efectos beneficiosos (Peyvast y col, 2007) como una de las alternativas viables para el desarrollo de esta práctica.

Nardi y col. (2002) en un resumen sobre los efectos generales de las sustancias húmicas relativo el crecimiento y desarrollo de los vegetales, señalan la influencia positiva en el transporte de iones facilitando la absorción, la acción directa sobre procesos metabólicos tales como: respiración, fotosíntesis y síntesis de proteínas mediante el aumento o disminución de la actividad de diversas enzimas, el contenido de metabolitos y la actividad tipo hormonal de estas sustancias.

En la bioquímica y fisiología de las plantas el efecto de las sustancias húmicas líquidas (SHL) ha sido progresivamente estudiado en los últimos años para poder dar una explicación más rigurosa de los efectos que éstas causan en el desarrollo y la producción de los vegetales.

Se han encontrado modificaciones del plano metabólico en la composición de diferentes moléculas, utilizando las SHL, en particular, cambios en la composición de azúcares, aminoácidos y proteínas, así como en las actividades de diferentes enzimas (Canellas, 2004).

En las plantas, el fósforo (P) forma parte de diversos compuestos orgánicos que participan en innumerables procesos metabólicos o constituyen elementos estructurales de tejidos y órganos del vegetal. El contenido foliar del P está en función directa de estos eventos (Plaxton, 2004) y frecuentemente es un factor limitante en la productividad de las plantas (Zancani y col., 2009). El P forma parte de los ácidos nucleicos, nucleótidos libres, azúcares, lípidos y otras estructuras de interés para el normal desarrollo de las plantas. El contenido de estos metabolitos fosforilados puede modificarse por diversas condiciones ambientales (Guridi, 2000).

El efecto de las (SHL) en la captación de N y el metabolismo ha sido más documentado, sin embargo, el conocimiento sobre la dinámica y distribución del P todavía es limitado cuando son aplicadas estas sustancias en los diferentes cultivos.

El objetivo del presente trabajo es:

- Evaluar el contenido foliar de diferentes formas moleculares fosforiladas a los 13 días después de la siembra (DDS) en plantas de maíz tratadas por vía foliar y vía radicular con sustancias húmicas líquidas.

## **Materiales y Métodos.**

El experimento se llevó a cabo con semillas de maíz (*Zea mays* L., var: P7928), las que fueron plantadas y cultivadas en macetas bajo condiciones artificiales de luminosidad en el mes de febrero del 2009. Las semillas fueron esterilizadas con solución de NaClO al 5 % (v/v), luego se colocaron en macetas de 1L de capacidad con arena lavada y estéril, las que continuamente tuvieron suministro de una disolución nutritiva (Murashine Skoog, 1960).

Se sembraron 10 plantas por maceta (6 réplicas) y se utilizaron para el estudio de los indicadores 6 observaciones respectivamente. Los diferentes tratamientos se mantuvieron en

las macetas durante el tiempo experimental de manera que las disoluciones (solución nutritiva y/o + sustancias húmicas líquidas 1:40 v:v) llegasen a las raíces por capilaridad hasta el momento del muestreo.

Para el experimento fue utilizado un extracto de vermicompost de estiércol vacuno (SHL) semejante al caracterizado por Caro (2004\*).

**Tabla 1. Contenido de materia orgánica, sustancias húmicas (SH), ácidos húmicos (AH) y ácidos fulvicos (AF) purificados del extracto.**

% M.O	% SH	% AH	% AF	AH/AF
36.2	25.82	12.78	13.09	0.98

Los espectros (UV, RMN e IR) encontrados por este autor (\*) son semejantes a los de las sustancias húmicas del suelo.

**Tabla 2. Composición inorgánica del extracto obtenida por ICP.**

Elemento	Ca	Mg	K	Na	P
Concentración (mg/L <sup>-1</sup> )	20.2	6.52	1830	570	1189

A los 10 días después de sembradas (DDS) se conformaron tres tratamientos; C: control consistente sólo en la disolución nutritiva; en el segundo tratamiento se utilizó una disolución de sustancias húmicas líquidas (SHLr; 1:40, v:v) para que las plantas tomaran por la raíz sus componentes; en el tercer tratamiento se asperjó foliarmente la disolución de SH (SHLf; 1:40, v:v).

A los 13 DDS se determinaron los indicadores masa fresca y seca de toda la planta. Además se realizó la extracción y separación del fósforo (P) contenido en las formas de P inorgánico y en la fitina (Pi+f), P contenido en nucleótidos libres (Pn), P esterificando a monosacáridos (Pa) y el P total foliar (Pt) mediante el procedimiento descrito por Pochinok (1976). En la determinación de P fue empleada la técnica basada en la formación del complejo fosfo-molíbdico modificada al utilizar el ácido cítrico como reductor y empleando para las lecturas de absorbancia el equipo **UV-Vis (RayLeigh; UV-2100)**.

Los datos obtenidos de cada variable en estudio fueron tratados previamente con el Microsoft Office EXEL 2003 y posteriormente se realizó un ANOVA Simple mediante el paquete estadístico StatGraphics Plus (v. 5.1). En los casos en que los indicadores mostraron diferencias significativas se utilizó la comparación múltiple de medias de Tukey ( $p<0,05$ ).

### **Resultados y discusión.**

En la Tabla 3 son reflejadas las medias de las masas frescas y secas de los tratamientos utilizados en el experimento. Existen numerosas evidencias que documentan el efecto bioestimulador de las SHL y su posible rol a través de la actividad equivalente a las Auxinas en el incremento de las ATP-asas y en el aumento de la plasticidad de las membranas y paredes celulares para posibilitar el crecimiento y división de las células (Canellas, 2004). Parece ser que la toma por la raíz de las SHL provoca un efecto similar a la aplicación de estas por vía foliar, resultados que ya han sido referidos por Huelva y col (2009).

Coinciendo con los anteriores resultados varios autores han reportado incrementos en indicadores como la masa fresca y seca, longitud y área foliar específica de plantas tratadas con extractos líquidos a partir de vermicompost contenido sustancias húmicas (Calderín, 2010).

**Tabla 3. Contenido de masa fresca y seca de plantas de maíz enteras aplicadas con un extracto de sustancias humitas líquidas.**

Tratamientos	Masa fresca (g)	Masa seca (g)
Control	0.5157 b	0.0484 b
SHLr	0.5449 a	0.0541 a
SHLf	0.5362 a	0.0532 a
ESx	0.004	0.0009
CV (%)	3.36	7.09

a...b/ Medias con desiguales letras difieren significativamente según Tukey a p<0,05

Nótese que existen diferencias significativas con respecto al control tanto para la masa fresca como para la masa seca. Sin embargo, parecen ser equivalentes los resultados relacionados con la formas de aplicación de SHL.

Los trabajos realizados por Martínez (2006) y Huelva (2009) demostraron que las aplicaciones de extractos de SHL a partir de vermicompost en otros cultivos o en diferentes variedades de maíz produjeron una disminución de los azúcares y fundamentalmente de monosacáridos lo que conlleva a pensar que están siendo movilizados para la obtención de energía metabólica y/o para la formación de otras moléculas por diferentes rutas metabólicas.

Lo anterior se apoya con lo graficado en las Figuras 1 y 2. Apréciese que las aplicaciones foliares o radiculares de la SHL a la concentración empleada inducen a una disminución del fósforo asociado a estructuras de azúcares y a un aumento del P que se encuentra asociado a nucleótidos libres como pudieran ser el ATP, GTP u otra molécula de transferencia de energía metabólica. Esta situación estaría relacionada con el aumento de los mecanismos de bombeo protónico de las ATP-asas en las plantas tratadas dada la estimulación producida por el extracto de SH ya que Martínez (2006) encontró para este indicador similares respuestas utilizando otras concentraciones.

De igual manera, Zancani y col (2009), en un cultivo de células de tabaco creciendo en 3 diferentes fracciones de humus de un suelo, provocaron modificaciones en la cantidad de ATP, el contenido de glucosa-6-P y en el total de fosfatos, de manera similar a lo que se encuentra en los resultados obtenidos; los extractos aquí poseen, al igual que los del suelo, las características propias de las sustancias húmicas y por tanto se pueden alcanzar efectos similares.

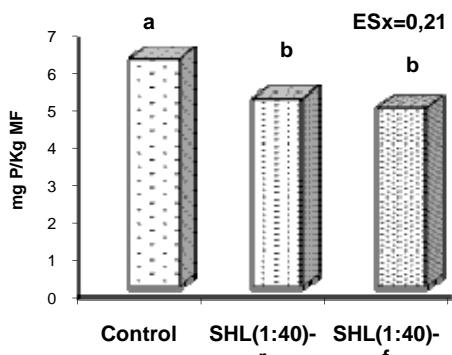


Fig. 1 Contenido de P-foliar asociado a azúcares en plantas de maíz a los 13 DDS

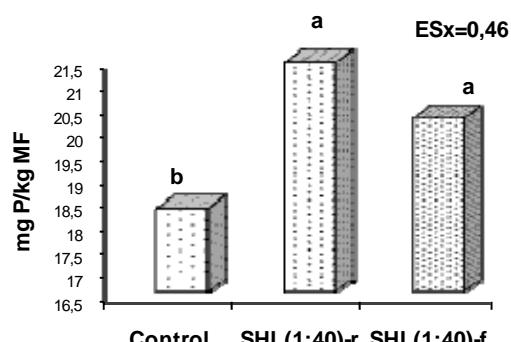


Fig. 2. Contenido de P-foliar asociado a nucleótidos libres en plantas de maíz a los 13 DDS.

a...b/ Medias con desiguales letras difieren significativamente según Tukey a p<0,05

Los resultados graficados en las Fig. 1 y 3 demuestran así mismo, que los tratamientos donde se empleó las SHL disminuyen con respecto al control, ello implicaría una respuesta dirigida a una rápida utilización de metabolitos con el fin de garantizar las necesidades de energía para el crecimiento y síntesis de estructuras estimulados por la utilización de las SHL.

Bajo las condiciones del experimento existe una determinada disponibilidad de P en las disoluciones de la SHL y de la disolución nutritiva que pudiera ser absorbido por las raíces y hojas de las plantas e incorporado a la estructura de la fitina que tiene en las plantas como uno de sus roles principales participar en el flujo de la energía metabólica por los grupos fosfatos presentes en ella (Fig. 3).

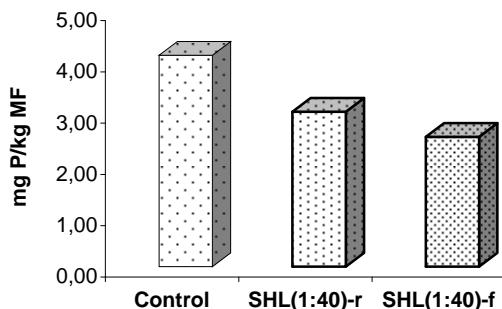


Fig. 3. Contenido de P-foliar asociado al P-fitina en plantas de maíz a los 13 DDS.

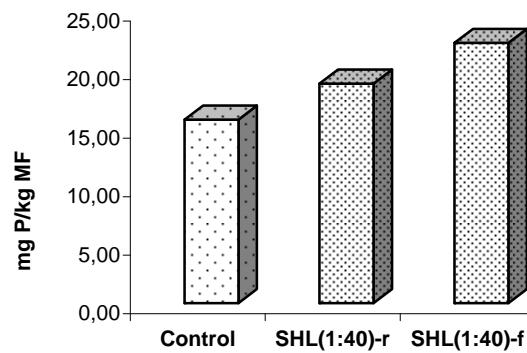


Fig. 4. Contenido de P total foliar en plantas de maíz a los 13 DDS

#### a...b/ Medias con desiguales letras difieren significativamente según Tukey a p<0,05

Por otra parte, no se descarta la entrada de este elemento por vía estomática u otra de la arquitectura foliar (translocación simporte) que permita la acumulación de este elemento libre o asociado a otras moléculas, de ahí que existan diferencias entre los tratamientos de SHL con respecto al control cuando es analizado el P-total. Nótese que el tratamiento SHL-f acumula en las hojas una mayor cantidad de P (Fig. 4). El uso de las SHL mejoró la captación y la eficiencia del uso de este nutriente coincidiendo los resultados con los obtenidos por Ortega y Fernández (2007).

#### Bibliografía.

- Canellas, L. P.; López. O. F.; Façanha, N. A.; Rocha, F. A. Humic Acids Isolated from Earthworm Compost Enhance Root Elongation, Lateral Root Emergence, and Plasma Membrane H<sup>+</sup>-ATPase Activity in Maize Roots. *Plant Physiology*, vol. 130, pp: 1951-1957, 2002.
- Canellas, LP y Façanha, A.R. Chemical nature of soil humified fractions and their activity. *Pesquisa Agropecuaria brasileira*, Brasilia, vol. 39, No 3, pp 233-240, 2004.
- Caro I. Caracterización de algunos parámetros químico - físico del humus líquido obtenido a partir de vermicompost de estiércol vacuno y su evaluación sobre algunos indicadores biológicos y productivos de dos cultivos. Tesis de Master en Ciencias de la Química Agraria. Universidad Agraria de la Habana (UNAH ). La Habana, 2004.

- Calderín A. Retención de cationes de metales pesados y actividad biológica de la fracción residual de un vermicompost, Tesis en opción al Título de Master en Ciencias de la Química Agraria. Universidad Agraria de la Habana (UNAH). La Habana, 2010.
- Guridi F. O fósforo, a matéria orgânica e a micorriza no cafeiro (*Coffea arabica* L.). Tese em Opção do título de Ph.D. Doctor. Brazil, 2000.
- Huelva R. y Martínez Dariellys. Modificaciones causadas en indicadores Bioquímicos-Fisiológicos por aplicaciones de Humus Líquido en plantas de maíz (*Zea mays*; var: P-7928) en condiciones de hidroponía". IV Conferencia Internacional sobre Desarrollo Agropecuario y Sostenibilidad "AGROCENTRO'09". Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central "Martha Abreu". Las Villas. ISBN 978-959-250-424-0, 2009
- Miklos, A.A.W.; Piedade S.M.S.; Mafra, A.L.; Karall, J.M.; Trento Filho, E.; Oliveira, O. Biodynamic preparations and nutrient loss in composting residues of the sugar cane industry. Proceedings at 10th International Meeting of the International Humic Substances Society (IHSS 10), Toulouse, France, (2), 2000.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue. Phys. Plant. 15:473-493.
- Martínez, Dariellys. "Evaluación del efecto del Humus Líquido en indicadores bioquímicos-fisiológicos en el cultivo del maíz (*Zea mays* L)." Tesis presentada en opción al Título de Master en Ciencias de la Química Agraria. Universidad Agraria de la Habana "Fructuoso Rodríguez Pérez". La Habana, 2006.
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A., Vianello, A. Physiological effects of humic substances on higher plants. Soil Biology & Biochemistry (34), pp: 1527-1536, 2002.
- Ortega R. y Marcela Fernández. Agronomic Evaluation of Liquid Humus Derived From Earthworm Humic Substances. Journal of Plant Nutrition, Vol. 30. No. 12, 2007.
- Peyvas Gh., Olfat J.A., Madeni S., y Forghani A. "Effect of vermicompost on the growth and yield of spinach (*Spinacia oleracea* L.) Journal of Agriculture and Environment, Vol. 6(1), 2007.
- Plaxton, V. C. Plant responses to stress: biochemical adaptations to phosphate deficiency. In: Goodman, R. (Ed.), Encyclopedia of Plant and Crop Science. Marcel Dekker, New York, pp. 976–980.
- Pochinok, J. N. Los métodos de análisis bioquímicos de las plantas Kiev: Nauta Dunka. P. 118-130, 1976.
- Zancani M., Petrussa E., Krajnakova J., Casolo V., Spaccini R., Piccolo A., Macri F., Vianello A. Effect of humic acids on phosphate level and energetic metabolism of tobacco BY-2 suspension cell cultures. Environmental and Experimental Botany. 65: 287–295, 2009.