

# TEJIDO INDICADOR PARA LAS INVESTIGACIONES NUTRICIONALES EN TABACO

**Lisette Monzón<sup>1</sup>, Abdón Joaquín Trémols<sup>1</sup>, Roberto de Armas<sup>2</sup> y Milagros García<sup>1</sup>.**

1. *Instituto de Investigaciones del Tabaco (IIT), Cuba*
2. *Universidad de La Habana, Cuba*

## Introducción.

El análisis de la planta puede emplearse para el diagnóstico, para la determinación de la cantidad de nutrientes removidos por un cultivo, para monitorear la efectividad de los programas de fertilización o para predecir rendimientos, y se afirma que es el método más confiable para determinar el estado nutricional de un cultivo (Hartz and Hochmuth, 2000). Uno de los aspectos a tener en cuenta en el logro de un resultado confiable en los análisis es la selección del tejido indicador y la toma de muestra. La parte de la planta a emplear debe ser fácilmente identificable, fácil de colectar, estar relacionada con la movilidad y redistribución del elemento a estudiar (Robson, 1993), y reflejar la estrecha transición que delimita la concentración que define deficiencia, con la que indica el estadio de suficiencia nutricional (Fageria et. al., 1997). Se ha establecido que las hojas son los órganos más apropiados para el análisis de las plantas pues el resto de las partes funcionan a menudo como estructuras de almacenamiento y acumulan de manera selectiva los diversos elementos absorbidos (Marschner, 1995). Las hojas que se empleen deben ser metabólicamente activas, es decir que los síntomas de deficiencia no sean muy pronunciados. En las investigaciones realizadas en tabaco en Cuba se han realizado numerosos estudios que se apoyan en el análisis de las hojas verdes, sin embargo no conocemos que se haya definido el tejido indicador para ello, o al menos un trabajo que hable de la sensibilidad de las hojas de mostrar cambios en la composición química a partir de situaciones experimentales propuestas (estrés o suficiencia). Por ello los objetivos de este trabajo fueron: evaluar el cumplimiento de todos los requisitos establecidos para reconocer un órgano como tejido indicador en las hojas de tabaco y seleccionar el nivel foliar que sea más sensible a mostrar las variaciones en el estado nutricional de la planta.

## Materiales y métodos.

Las semillas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L. cv Habana 2000) germinaron en una mezcla de 50% de sustrato de Turba y 50% de arena de cuarzo (0.3-0.8mm). Las plantas crecieron en una cámara climática bajo condiciones controladas con un fotoperíodo de 14 horas de luz con intensidad de 370  $\mu\text{mol/m}^2\text{s}$ , temperatura entre 25 / 20 °C día/noche y la humedad relativa al 60%. Luego de 40 días de sembradas, las plántulas se transplantaron a macetas en el interior del invernadero. Se emplearon 48 macetas de Mitscherlich con 17 kg de suelo de baja fertilidad, elaborado a partir de la mezcla de un arenosol africano (90%) y un ferrisol alemán (10%). De acuerdo con los niveles de los diferentes nutrientes en el suelo africano (más pobre), se le incorporó hasta niveles óptimos los macroelementos (P: 80 mg P/Kg, K: 150 mg/Kg, Mg: 50 mg/Kg). Los valores empleados resultan de estudios previamente realizados con el suelo de origen africano por investigadores del Instituto de Nutrición en Plantas de la Universidad de Hohenheim (Römhild com per., 2005). Estos cálculos también tuvieron en cuenta la cantidad de cada uno de estos portadores empleados en la fertilización de este tipo de tabaco en Cuba.

La fuente nitrogenada empleada fue  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  y la aplicación de fondo se incorporó al suelo en el momento del llenado de las macetas. Se evaluaron 4 tratamientos con cuatro réplicas cada uno en un diseño completamente al azar. Los tratamientos consistieron en cuatro

cantidades totales de nitrógeno. Su distribución se realizó según lo establecido en el instructivo técnico para el tabaco negro (MINAG,2005).

<b>Tratamientos</b>	1. 60 kg N/ha
<b>Nitrógeno total</b>	2. 100 kg N/ha
	3. 150 kg N/ha
	4. 200 kg N/ha

Se recolectaron todos los niveles foliares a partir de los 45 días después del trasplante (DDT) el primer nivel foliar y cada cinco días los siguientes. Se le determinó la producción de biomasa foliar y total. Los análisis específicos se le realizaron a los niveles Uno y medio ( bajo), Centro Fino 1 (medio) y Corona (alto). Se determinaron los niveles de clorofila, empleando el instrumento de medición SPAD-502 a los 42 y 50 DDT, en la porción central de la lámina de la hoja. La concentración de nitrato en la savia (NITRACHEK ), nitrógeno total usando un Analizador elemental NCS 2500 (CE Instrument, Milan, Italia) por combustión de Dumas, el fósforo por el método colorimétrico de molibdovanadato en espectrofotómetro (U-3300, Hitachi, Japón), con longitud de onda de 436 nm. Los metales Zn, Mg, Cu, Mn se determinaron en espectrofotómetro de absorción atómica (Unicam AAS 939, Kassel, Alemania). El potasio se determinó por fotometría de llama (Flame Atomic Emission, Eppendorf Elex 6361, Alemania).

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa GraphPad InStat version 3.06 32 bit para Windows, GraphPad Software, San Diego California USA, [www.graphpad.com](http://www.graphpad.com). Se realizó ANOVA paramétrico para las variables que cumplieron con las condiciones de normalidad (Test Kolmogorov-Esmirnov) y de uniformidad en las desviaciones estándares (Test de Bartlet), el test a posteriori empleado fue el Tukey. Se evaluó la correlación de Pearson entre la concentración de nitrato en la savia, nitrógeno total.

## Resultados .

### Producción de biomasa Foliar total

La diferencia en la producción de biomasa total (g) por tratamientos, reflejada por el ANOVA fue extremadamente significativa ( $p<0,0001^{***}$ ) y se corresponde con las variaciones diseñadas para los tratamientos, pues se han impuesto condiciones de deficiencia-suficiencia y un valor elevado que se propone como exceso.

**Tabla 1.** Valores medios de biomasa foliar total para cada tratamiento. Comparación de medias por la prueba de Tukey ( $p<0.05$ )

Tratamiento	60	100	150	200
kg ha <sup>-1</sup>				
Biomasa Foliar total* (g)	261.5 b	286.2 b	360.25 a	357 a
ES	13.9	6.78	11.5	14.9

\*Letras distintas señalan diferencias significativas al menos para  $p=0.05$

El desarrollo foliar en el tratamiento de 60 kg ha<sup>-1</sup> de N es mínimo, estas plantas además mostraron los síntomas visuales característicos de la deficiencia nitrogenada y su crecimiento de manera general se vio afectado. Por lo que se demuestra que se alcanzó la condición de deficiencia necesaria para evaluar la respuesta de los posibles tejidos indicadores.

### **Clorofila**

Los niveles de clorofila en la primera medición estuvieron entre 30-50 SPAD. En este momento no se observó el patrón normalmente establecido para el tabaco, en el que los niveles de nitrógeno total aumentan hacia los niveles foliares superiores, como describen Layten y Nielsen, (1999) y Tso (1990). A los 50 días sí se define claramente este patrón los valores oscilaron entre 35-57 SPAD. La variación en el comportamiento de los niveles de clorofila se justifica, según Gastal y Lemaire (2002), debido a que las hojas más expuestas a la luz tienen un mayor contenido de nitrógeno. Con el ascenso por pisos foliares hay menor efecto de sombreado y mayor incidencia solar, por ello los niveles de clorofila aumentan.

### **Nitrógeno**

El porcentaje de nitrógeno osciló entre 1,4%- 3.7%. En este intervalo se incluyen valores de deficiencias, lo que concuerda con lo descrito en las variables morfológicas para el tratamiento 1, que mostró signos visuales de deficiencia y concuerdan con los reportados como normales (2 - 5%) para tabaco Negro por Choteau (1969) en Francia. Sólo están fuera de lo normal los valores del tratamiento 1 (1,4% N, deficiente), en su nivel central (Centro Fino 1, lo que indica un estadio de deficiencia según Choteau (1969) y Monzón (2007).

Las plantas que tuvieron niveles de nitrógeno por debajo del nivel crítico (<1,5% N) establecido se correspondieron con aquellas que mostraron síntomas visuales de deficiencia. Esto apunta hacia la sensibilidad presente en el Centro Fino 1, indicando su potencialidad para reflejar condiciones nutricionales extremas. Estas mismas plantas en el nivel foliar superior (Corona) conservaron valores elevados de alrededor de 2,3 %N. Para los tratamientos de 150 y 200 kg ha<sup>-1</sup> N el porcentaje de nitrógeno aumenta con el ascenso por niveles foliares en concordancia con Layten and Nielsen (1999); Tso (1990) Choteau y Fauconnier (1993). Cuando elaboramos la curva de crecimiento se obtiene un patrón sigmoideo similar al descrito por numerosos autores (Marschner, 1995; Fageria, 1997; Benton 2001) en los que se definen zonas de deficiencia, suficiencia y toxicidad. La zona de toxicidad para nuestras condiciones experimentales está bien definida para el tratamiento de 200 kg ha<sup>-1</sup>.

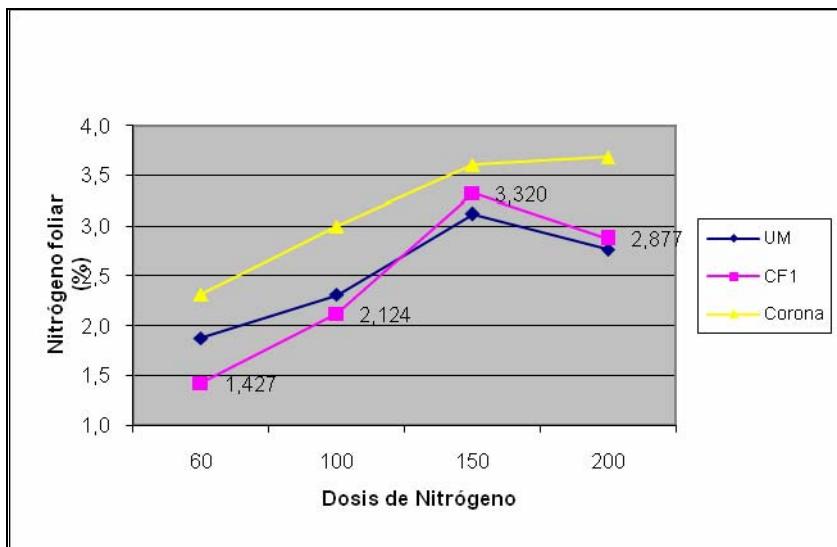


Figura 1. Sensibilidad de cada nivel foliar a las condiciones de deficiencia y suficiencia nitrogenada.

### Nitrato

La concentración de nitrato en la savia de la lámina, fue muy baja en los tratamientos 1 y 2. Considerando que la acumulación de nitrato en los tejidos de las plantas significa que la demanda de nitrógeno ha sido cubierta según (Marschner, 1995) una vez más se demuestra que estos tratamientos coinciden con niveles inferiores a los de suficiencia. Para los tratamientos restantes hubo mayores concentraciones de nitrato en las hojas, los valores más elevados fueron los del tratamiento 4, lo que reafirma la hipótesis de que esta cantidad sobrepasa los requerimientos de la variedad.

### Fósforo

Los contenidos en la hoja oscilaron entre 0,1%-0,3% P; este intervalo se encuentra dentro de lo propuesto por Wolf *et al.*, 1990, aunque el intervalo propuesto por los autores es más amplio (hasta 1%). El comportamiento por nivel foliar fue el siguiente: Nivel foliar Bajo 0,1-0,13% P; Medio 0,16%- 0,18% P; Superior 0,25-0,31% P. El aumento del contenido de fósforo con el ascenso en nivel foliar concuerda con lo establecido para este elemento en tabaco por Choteau y Fauconnier (1993).

### Potasio

El porcentaje de potasio osciló entre 2,6%- 4,5% K. Investigaciones realizadas en tabaco Virginia reportan como intervalos normales entre 2.5% -4.5% (Bergmann, 1992) al parecer hay bastante similitud entre estos tipos de tabaco para este elemento. Los mayores niveles de potasio estuvieron en el nivel inferior con valores entre 3,4%-4,5% K, en el central 2,6%-3,4% K y en el superior entre 3.1%-3,6% K. La disminución con el ascenso por nivel foliar concuerda con lo descrito por Choteau y Fauconnier (1993) para tabacos recolectados hoja a hoja. Este resultado puede explicarse según Kafkafi (1998) quien afirma que un aumento de la energía radiante provoca mayores necesidades de nitrógeno y menores de potasio.

### **Magnesio.**

El magnesio en el interior de la hoja verde estuvo entre 0,37%-1,12% Mg. Los niveles inferiores presentan más magnesio que los superiores lo que concuerda con lo descrito en investigaciones de tabaco (Layten and Nielsen, 1999). Se observó el mismo patrón descrito para el K en las hojas centrales, pues el tratamiento 1 completo tiene los menores valores de magnesio de todo el estudio.

### **Cinc**

Las concentraciones de cinc oscilaron entre 16  $\mu\text{g/g}$  MS - 65 $\mu\text{g/g}$  MS. Este intervalo concuerda con lo propuesto por Wolf *et al.*, (1990) y con Choteau (1969). Los mayores valores se encontraron en el nivel inferior entre 40  $\mu\text{g/g}$  MS - 65  $\mu\text{g/g}$  MS. Los valores de los niveles medio y superior no siguen un patrón definido, aunque la gran mayoría los valores del nivel medio son más bajos que los del superior.

### **Manganeso**

Los valores estuvieron entre 63  $\mu\text{g/g}$  MS- 169  $\mu\text{g/g}$  MS. El nivel inferior fue el que mostró los mayores valores. Nuevamente las hojas centrales de la planta muestran valores inferiores a los de la superior.

### **Cobre**

De todos los elementos analizados el cobre es el único que no se comportó dentro de los intervalos referidos para tabaco. Los valores obtenidos estuvieron entre 0,86  $\mu\text{g/g}$  MS – 6,8 $\mu\text{g/g}$  MS. Estos resultados están muy por debajo de los estándares descritos; 10ppm- 34ppm (Wolf *et al.*, 1990) y 30ppm-60ppm Choteau (1969). No podemos afirmar que los valores estén correctos o no, pues no contamos con ningún trabajo que nos brinde referencia de valores en tabaco cubano.

De acuerdo con los análisis realizados los resultados han mostrado que el nivel foliar central es mucho más sensible a cambios que el uno y medio, y la corona. La transición del estadio de deficiencia a la suficiencia quedó claramente representada para la modelación propuesta en este trabajo.

### **Conclusiones**

1. Los menores valores de potasio, magnesio, cinc, cobre y manganeso se observaron en el nivel medio de los tratamientos de carencia nitrogenada. Mostrando que este nivel foliar además es susceptible a mostrar desbalances de los diferentes elementos estudiados incluyendo aquellos más móviles.
2. El centro fino 1 cumple con los requisitos establecidos en la literatura especializada para su reconocimiento como tejido indicador en el diagnóstico nutricional en tabaco.
3. Dado el dominio del nombre y la ubicación exacta en la planta por los productores el trabajo de toma de muestra es más confiable

## Bibliografía

1. Benton, J. J. Jr. 2001. Laboratory guide for conducting soil tests and plant analysis. CRC Press. USA.
2. Bergmann, W. 1992. Nutritional disorders of plants: Development, visual and analytical diagnosis. Gustav Fisher Verlag Jena Stuttgart New York.
3. Choteau, J. y D. Fauconnier. 1993. Fertilizando para alta calidad y rendimiento Tabaco. IPI- Boletín No. 11. Instituto Internacional de la Potasa. 59pp.
4. Chouteau, M. 1969. Facteurs de la production du tabac. Institut experimental du tabac de Bergerac.
5. Fageria, N. K.; V.C. 1997. Baligar and C. Allan Jones. Growth and Mineral Nutrition of field crops. 2<sup>nd</sup> edition. Revised and Expanded Marcel Dekker Inc.
6. Gastal, F., and G. Lemaire. 2002. N uptake and distribution in crops: an agronomical and ecophysiological perspective. *Journal of Experimental Botany. Inorganic Nitrogen Assimilation Special Issue*. 53 (370): 789-799.
7. Hartz, T.K. and G.J. Hochmuth. 2000. Fertility management of drip-irrigated vegetables. UC Davis, Vegetable Research and Information Center. 10 pp.
8. Kafkafi, Uz.1998. Topics in fertilization of field crops and plant nutrition. Seven lectures on selected topics. The Hebrew University. Jerusalem. Israel. Folleto 64pp
9. Layten, D.; M.T Nielsen. 1999. Tobacco: Production, Chemistry and Technology. Blackwell Science. USA. 467pp.
10. Marschner H. 1995. Mineral Nutrition of higher plants. 2<sup>nd</sup> Edn. London, UK: Academic Press Limited.
11. Monzón, L. 2007. Aportes al conocimiento de la nutrición del tabaco negro cubano (*Nicotiana tabacum* L.). tesis en opción al título de Master en Biología Vegetal. Facultad de Biología. Universidad de La Habana. Cuba
12. Tso, T.C. 1990. Production, Physiology and Biochemistry of tobacco plant. Ideals, Inc. USA. 685pp
13. Wolf, B.; J. Benton; H. A. Mills. 1990. Tables of interpretative Plant analyses data. Micro-Macro Publishing. Athens, Georgia. 112-113pp.