

RESPUESTAS FISIOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS DE PLANTAS DE TABACO A CONCENTRACIONES DE ALUMINIO EN INVERNADERO

Physiological and Biochemical Responses of Tobacco Plants to Aluminum Concentrations under Greenhouse Conditions

Libia Iris Trejo-Télez^{1‡} y Fernando C. Gómez-Merino²

RESUMEN

La toxicidad por aluminio (Al) es una de las principales limitantes para la producción agrícola en suelos ácidos. No obstante, a bajas concentraciones, este elemento se ha considerado benéfico para algunas plantas, principalmente de las familias *Rubiaceae* y *Melastomataceae*. En este estudio se evaluaron las respuestas fisiológicas y bioquímicas de plantas de tabaco a dos concentraciones de Al (50 y 100 μM) en la solución nutritiva, considerando como testigo una solución nutritiva sin Al. Las variables estudiadas comprendieron indicadores del crecimiento del vástago (número de hojas, área foliar, altura y peso fresco) e inhibición del crecimiento de la raíz principal; también se analizó la concentración de proteínas solubles presentes en raíces y la exudación de malato y citrato; y finalmente la acumulación de Al en raíces mediante la tinción con eriocromo cianina R. Se establecieron efectos benéficos del Al en una baja concentración (50 μM) sobre el crecimiento del vástago, reflejados en incrementos de 31, 7 y 2% en el área foliar, la altura de planta y el peso fresco del vástago, respectivamente; en dicha concentración, también se obtuvo un incremento de 6% en el contenido de proteínas solubles, respecto a las plantas del testigo. El incremento en la concentración de Al a 100 μM redujo el peso fresco (27%) y el crecimiento radicular (41%) respecto al testigo, y se inhibió la formación de pelos radicales. La presencia de 100 μM de Al propició la exudación de citrato, desde las raíces, y la acumulación de Al se observó principalmente en los ápices. Estos resultados permiten concluir que una baja concentración (50 μM) de Al resulta benéfica en tabaco

y que con el incremento en la concentración de Al se activan mecanismos de tolerancia externa (exudación de citrato), los cuales, sin embargo, no son suficientes para evitar los efectos tóxicos de este metal en las plantas.

Palabras clave: toxicidad de aluminio, citrato, malato, tolerancia al aluminio, crecimiento de raíces.

SUMMARY

Aluminum (Al) toxicity is a major constraint for agricultural production on acid soils. However, Al has been considered a beneficial element at low concentrations for many plants, including some species of *Rubiaceae* and *Melastomataceae* families. Physiological and biochemical variables of tobacco plants treated with two Al concentrations (50 and 100 μM) in the nutrient solution were evaluated. A solution without Al was considered the control. The studied variables included growth parameters of shoot (number of leaves, leaf area, plant height and fresh weight) and growth inhibition of principal root; soluble protein concentration and exudation from malate and citrate, and the accumulation of Al in roots were determined by staining with eriochrome cyanine R. Beneficial effects of Al at low concentrations (50 μM) were observed on shoot growth (ie, increase of 31, 7 and 2% in leaf area, plant height, and fresh weight, respectively). In this treatment, soluble protein contents increased 6% over the control. An increase of Al concentration of 100 μM reduced fresh weight (27%) and root growth by 41%, with respect to the control. Additionally, inhibition of root hair growth was observed. Treatment with 100 μM of Al induced citrate exudation from the roots and accumulation of Al was observed principally in the root apex. These results indicate that low concentrations of Al (50 μM) result in beneficial effects on tobacco and that an increase in Al concentration activates external tolerance mechanisms such as citrate exudation, although those mechanisms are not enough to prevent toxic effects of Al in plants.

¹ Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. 56230 Montecillo, Estado de México.

[‡] Autor responsable (llibia@colpos.mx)

² Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba. 94500 Córdoba, Veracruz, México.

Index words: *aluminium toxicity, malate, citrate, aluminium tolerance, root growth.*

INTRODUCCIÓN

La toxicidad provocada por el aluminio representa una de las principales limitantes para la producción de los cultivos en suelos ácidos. La forma iónica Al^{3+} se considera tóxica para la rizosfera; sin embargo, las formas de hidróxido de Al [$\text{Al}(\text{OH})_2^+$, $\text{Al}(\text{OH})_3^0$ y $\text{Al}(\text{OH})_4^-$], presentes en la solución en valores comprendidos entre 5 y 6.2 de pH, han mostrado no ser tóxicas para las plantas (Kinraide, 1997).

Los suelos ácidos ocupan alrededor de 30% de la superficie terrestre (3.95×10^9 ha) y en América Latina los suelos con problemas de acidez representan 66% del área cultivable (Baligar y Ahlrichs, 1998). En México, existen 14 millones de ha de suelos ácidos, las cuales se ubican en los estados del sureste.

La toxicidad en plantas provocada por el Al ha sido bien documentada (Delhaize y Ryan, 1995; Marienfeld *et al.*, 2000; Kochian *et al.*, 2004). Las plantas que se desarrollan en suelos ácidos presentan un reducido crecimiento de las raíces, resultado probablemente de la inhibición, tanto de la elongación como de la división celular (Marschner, 1995). El Al también interfiere en la absorción, transporte y uso del agua y diferentes nutrimentos esenciales, ya sea por el daño causado en la raíz o por ejercer efectos antagónicos en la absorción de Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , NH_4^+ , NO_3^- y PO_4^{3-} (Nichol *et al.*, 1993; Ryan y Kochian, 1993); en consecuencia, se observan diversos síntomas de deficiencias nutrimentales y disminuciones importantes en el rendimiento.

Existe una variación considerable entre las diferentes especies y cultivares en cuanto a su tolerancia al Al; asimismo, los mecanismos que regulan tal tolerancia no han sido plenamente estudiados hasta ahora.

Por otro lado, si bien el Al no se considera un micronutriente, puede asumir un papel interesante en algunas reacciones bioquímicas. Por ejemplo, las hortensias (*Hydrangea macrophylla*) de color rosa cambian a color azul cuando se exponen a tratamientos con aluminio. Lo anterior ocurre como consecuencia de la absorción de grandes cantidades de Al. Aparentemente, el color azul puede atribuirse a la formación de un complejo coloidal o a la combinación libre del pigmento delfinidina y Al (Nauman y Horst, 2003). Otros de los efectos benéficos del Al pueden estar relacionados con la reducción de la absorción de

un segundo elemento presente en el ambiente radical a concentraciones potencialmente tóxicas, como pueden ser P, Cu y Mn en suelos ácidos. Sin embargo, en la mayoría de los casos en que se reporta un efecto positivo del Al en el crecimiento de las plantas, la información es insuficiente para establecer algún efecto indirecto de éste en la disminución de la toxicidad de otro elemento, por lo que es necesario realizar investigación sobre estas sinergias entre elementos.

El objetivo de este trabajo fue evaluar las respuestas fisiológicas y bioquímicas en plantas de tabaco como resultado de diferentes concentraciones de Al en la solución nutritiva. Asimismo, definir si el Al puede tener un efecto benéfico sobre las variables de crecimiento en plantas de tabaco, en condiciones controladas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Vegetal y Condiciones del Estudio

Se desarrollaron plántulas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) cv. Samsum, en charolas de plástico de 45 x 25 x 18 cm (largo, ancho y profundidad, respectivamente) empleando como sustrato una mezcla de vermiculita grado medio y turba en una relación 1:1 (v/v), en condiciones de invernadero con ciclos de luz/oscuridad de 16 h/8 h y 24 °C/19 °C, respectivamente, y con una humedad relativa constante de 60%. La intensidad luminosa fue de 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Variables de Crecimiento del Vástago

Plántulas de tabaco de tres semanas de edad se establecieron individualmente en macetas de 0.5 L de capacidad con vermiculita grado medio. Las plántulas se regaron durante 15 días con una solución nutritiva con la siguiente composición ($\text{mol}_e \text{ m}^{-3}$): 1.0 NO_3^- , 0.005 H_2PO_4^- , 1.25 SO_4^{2-} , 0.5 Cl^- , 0.005 Na^+ , 1.0 NH_4^+ , 0.5 K^+ , 1.0 Ca^{2+} y 0.25 Mg^{2+} . Los micronutrimentos se adicionaron a dicha solución en las siguientes concentraciones (mg L^{-1}): 5.0 Fe, 0.5 B, 0.5 Mn, 0.1 Mo, 0.05 Zn y 0.02 Cu. El Fe se proporcionó como Fe-EDTA, de acuerdo con Steiner y Van Winderen (1970). Diferentes concentraciones de Al (0, 50 y 100 μM), abastecido como $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, se adicionaron a la solución nutritiva y el pH de la solución, en todos los casos, se ajustó a 4.3. Las plantas recibieron 100 mL de la solución respectiva por día. Las concentraciones evaluadas de Al se determinaron considerando que las plantas

acumuladoras de Al, como el trigo sarraceno (*Fagopyrum esculentum* Moench), toleran concentraciones de 100 μM de Al sin mostrar síntomas de toxicidad (Shen y Ma, 2001) y que respuestas positivas en el crecimiento radicular se han reportado a concentraciones menores de 40 μM de Al^{3+} (Asher, 1991; Clune y Copeland, 1999).

Como variables de crecimiento de la parte aérea de la planta se evaluaron: número de hojas, área foliar, altura de planta y peso fresco. La altura de planta (cm) se midió desde la base del tallo y hasta el ápice de crecimiento, con una regla. El peso fresco (g) se determinó en una balanza electrónica (Ohaus modelo GT 480). El área foliar (cm^2) se determinó midiendo largo y ancho de cada hoja con una regla; la fórmula empleada para el cálculo fue la reportada por Walch-Liu *et al.* (2000):

$$\text{área foliar} = \pi (\text{ancho}/2) (\text{largo}/2),$$

la cual considera una forma elipsoidal de la hoja de tabaco.

Aislamiento y Cuantificación de Proteínas Solubles Totales

Un gramo de peso fresco (PF) de raíces se maceró en mortero con la ayuda de nitrógeno líquido. Posteriormente, se adicionaron 2 mL de amortiguador extractor que contenía: 250 mM N-(2-hidroxietil) piperazina N'-(ácido 3 etanosulfónico)/2-amino-2(hidroximetil)-1,3-propanediol (HEPES/tris) pH = 8.2 mM 1,4-ditiotreitol (DTT), 5 mM ácido n-caprónico, 1 mM benzamidina, 20 mM leupeptina, 1 mM fluoruro de fenil metil sulfonilo (PMSF), 1 mM polivinil pirrolidona (PVP-40) y 1 mM ditionito de sodio (Höfner *et al.*, 1989). La mezcla se centrifugó por 10 min a 4 °C y 17 530 g. La fase líquida se colocó en un nuevo tubo y se le adicionó una mezcla de fenol/ β -mercaptoetanol (500/1), en una proporción 1:1. Las muestras se incubaron por 30 min en hielo. Después, éstas se centrifugaron nuevamente por 5 min (4 °C y 17 530 g), con el propósito de separar las fases. A la fase fenólica se le adicionó etanol/glicerina (95:5) en una proporción 1:1 (v/v) y 20 μL de acetato de amonio 7.5 M. La precipitación de la proteína ocurrió durante 12 h, a una temperatura de -20 °C. El sedimento se lavó con etanol a 70% y se secó al aire. La proteína se disolvió en una solución reguladora (0.125 M tris/HCl pH = 6.8,

0.025% azul de bromofenol, 5% dodecilsulfato sódico y 4 M de urea). Se aplicaron volúmenes de 5 μL de la proteína en solución a membranas de nitrocelulosa, mediante el procedimiento dot blot (Kafatos *et al.*, 1979). Las membranas se tiñieron con negro amido (Serva) (0.1% negro amido; 30% metanol y 10% ácido acético) y destiñieron para cuantificar la proteína con una solución 25 mM NaOH en metanol 50% (Zlatanova *et al.*, 1994). La medición se realizó con espectrofotómetro (Pharmacia LKB Modelo NovaspécII), a una longitud de onda de 640 nm. La albúmina de suero bovino se empleó como estándar.

Análisis del Crecimiento Radicular

Quince plántulas de tabaco de siete días de edad se establecieron en condiciones estériles en un medio nutritivo sólido (0.125% goma gellan, Sigma) contenido en cajas Petri cuadradas con dimensiones de 100 x 100 x 14 mm (NUNC); la composición del medio fue igual a la indicada en el apartado de variables de crecimiento del vástago. El medio contuvo 50 y 100 μM Al y como testigo se estableció un medio sin Al. El pH en todos los medios se ajustó a 4.3. Las mediciones del crecimiento radicular se realizaron durante 10 días y el porcentaje de elongación se calculó con la fórmula:

Porcentaje de elongación = (longitud de la raíz tratada con Al/longitud de la raíz sin Al) x 100.

Cuantificación de Ácidos Orgánicos Exudados y Acumulación de Al en Raíces

Plántulas de tabaco de siete días desarrolladas sobre gasa en cajas Petri y regadas con la solución usada para la evaluación de las variables de crecimiento del vástago, se transfirieron a una solución con 0.5 mM de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, a pH de 4.3, sin Al y con 100 μM Al por 24 h. El tratamiento con 50 μM de Al no se evaluó, en virtud de que las plantas de éste no mostraron diferencia significativa ($P \geq 0.05$) con el testigo, en la altura y el contenido de proteínas solubles; adicionalmente, en este tratamiento no existió inhibición en el crecimiento de raíz.

Las alícuotas de la solución se colectaron y almacenaron a -70 °C para las determinaciones posteriores de citrato y malato, las cuales se realizaron utilizando los sistemas citrato UV-Test y malato UV Test (Möllering, 1974, 1985) (Boehringer Mannheim/R-Biopharm, Roche), siguiendo la metodología proporcionada por el proveedor.

Después de la incubación con Al, las raíces se lavaron por 5 min con agua bidestilada y se incubaron por 30 min en una solución de eriocromo cianina-R a 0.1% (en agua bidestilada) para la tinción. En presencia de Al, la eriocromo cianina R forma un compuesto rojo en el tejido de la raíz (Aniol, 1995; Slaski, 1995). Por último, las raíces se lavaron nuevamente por 5 min con agua bidestilada y se observaron en un microscopio de luz (Leica modelo ATC 2000). Las imágenes digitales de la tinción de las raíces se tomaron con una cámara Olympus AX70 TRR-AF1 adaptada al microscopio (aumento 10X).

Análisis Estadístico

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar. El número de muestras se presentan en cada determinación como n, el cual fue de cuatro para la mayoría de las determinaciones. En el caso de la determinación de crecimiento radicular, los resultados provienen de 15 observaciones por tratamiento.

Las variables numéricas mostradas se expresan como medias aritméticas \pm SD (desviación estándar); se empleó la prueba t-Student para determinar las diferencias significativas entre pares de medias, comparando siempre el testigo con el resto. Los resultados se consideraron significativos (*) cuando $P \leq 0.05$ y altamente significativos (**) cuando $P \leq 0.01$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Crecimiento de la Parte Aérea

Los síntomas de toxicidad por Al no son fácilmente identificables en las plantas, debido a que son semejantes a los que se presentan por deficiencia de fósforo (hojas pequeñas de color verde oscuro y tallos de color púrpura). En algunos casos, la toxicidad por Al puede inducir la deficiencia de Ca o reducir el transporte del mismo, lo que origina enchinamiento o enrollamiento de hojas jóvenes y colapso en los puntos de crecimiento y pecíolos. El exceso de Al también induce deficiencias de Fe en diversos cultivos (Rout *et al.*, 2001). En este experimento, las plantas de tabaco tratadas con 50 μ M Al no mostraron síntoma visual de toxicidad por Al, ya que su aspecto fue similar al de las plantas crecidas en ausencia de Al. Cuando la concentración de Al en la solución nutritiva se incrementó a 100 μ M se observaron tallos más cortos y más gruesos (Figura 1).

Aunque, en general, no se registraron diferencias significativas ($P \geq 0.05$) entre tratamientos, posiblemente debido a que el tiempo de exposición (15 días) fue corto, en las variables de crecimiento (número de hojas, área foliar, altura de planta y peso fresco), los datos muestran tendencias interesantes. Plantas crecidas en presencia de Al en la solución (50 y 100 μ M) desarrollaron un menor número de hojas, en comparación con aquellas crecidas en ausencia del mismo (Figura 2A).

En las plantas tratadas con la solución nutritiva con 100 μ M Al se registró un decremento en el área foliar, altura de planta y peso fresco, del orden de 4, 13 y 27%, respectivamente, en comparación con las plantas del testigo (Figuras 2B, 2C y 2D).

Por lo contrario, con una concentración de 50 μ M Al se obtuvieron incrementos con respecto al testigo de 31, 7 y 12% en el área foliar, altura de planta y peso fresco, respectivamente (Figuras 2B, 2C y 2D). Existen algunos reportes en los cuales se señala que el crecimiento de las plantas se estimula por las bajas concentraciones de aluminio. Por ejemplo, en *Betula pendula* Roth las concentraciones menores de 75 μ M incrementan de manera significativa la expansión foliar (Kidd y Proctor, 2000); también se ha reportado que el Al no afecta la germinación de las semillas, sino por el contrario ayuda en el desarrollo de la nueva raíz y el establecimiento de la plántula (Nosko *et al.*, 1988). Los mecanismos propuestos para explicar la estimulación del crecimiento con bajas concentraciones de Al incluyen un incremento en el aprovechamiento de Fe y P, alteración en la distribución de los reguladores del crecimiento, prevención de toxicidad provocada por Cu y Mn (Foy,



Figura 1. Crecimiento de plantas de tabaco en solución nutritiva con diferentes concentraciones de Al.

1984) y disminución de la toxicidad por H^+ (Kinraide, 1993).

Concentración de Proteínas Solubles Totales

La concentración de proteína en las raíces disminuyó en el tratamiento con $100 \mu M$ de Al. Dicha reducción fue de alrededor de 74% con respecto al testigo. En las plantas con $50 \mu M$ de Al, la concentración de proteínas

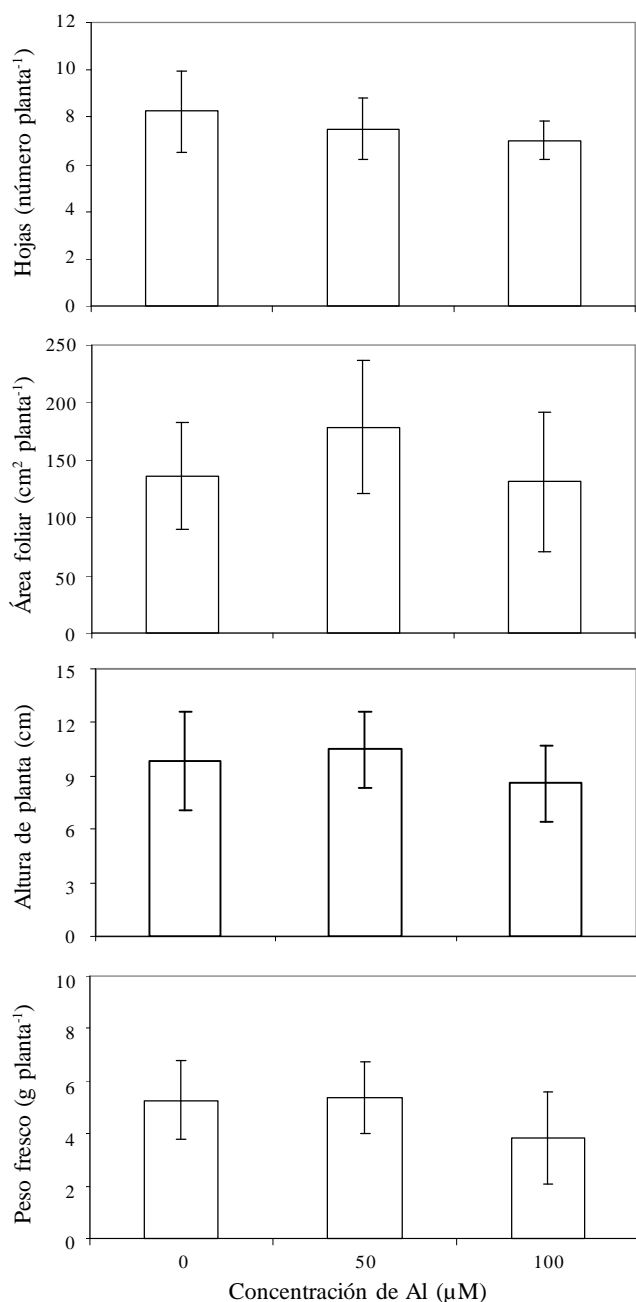


Figura 2. Indicadores de crecimiento de la parte aérea de plantas de tabaco tratadas con diferentes concentraciones de Al en la solución nutritiva. $n = 4$, \pm SD.

solubles registró un ligero incremento (6%), en comparación con el testigo (Figura 3). El aluminio interfiere de manera rápida con la estructura de la pared celular, donde se une fuertemente a las cargas negativas de la matriz péctica y afecta su permeabilidad y extensibilidad. El Al también modifica el metabolismo de los componentes de la pared celular, principalmente por incremento en la producción de hemicelulosa y ácido ferúlico (Van *et al.*, 1994; Tabuchi y Matsumoto, 2001). Sin embargo, la influencia del Al en la composición y concentración de proteínas, así como sobre el metabolismo, ha sido poco documentada y los reportes son contradictorios. En raíces de chícharo, el estrés por Al incrementó el nivel de proteínas de enlace covalente, pero no el de proteínas de la pared celular solubles en soluciones salinas (Kenjebaeva *et al.*, 2001); por el contrario, en raíces de cebada se observó que el Al indujo la acumulación de polipéptidos de bajo peso molecular (Tamás *et al.*, 2001).

Crecimiento Radicular

El crecimiento radicular en las plantas de tabaco se inhibió por la presencia de Al en la concentración de $100 \mu M$ en el medio, a partir del tercer día de exposición. Dicho efecto se acentuó a partir del quinto día (Figura 4). Durante los 10 días de exposición el crecimiento radicular en las plántulas del testigo fue cercano a 0.4 cm, mientras que con $100 \mu M$ de Al sólo fue de 0.23 cm, lo que significa una inhibición del crecimiento radicular de 41% en las raíces tratadas con Al, en comparación con el testigo.

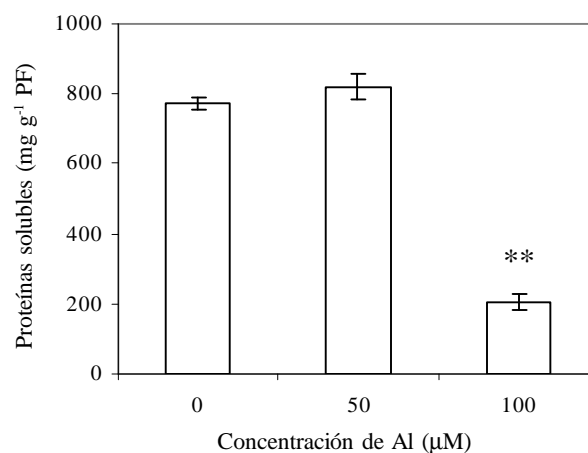


Figura 3. Concentración de proteínas solubles totales en raíces de tabaco crecidas con diferentes concentraciones de aluminio en la solución nutritiva. $n = 4$, \pm SD, t-Student: ** (probabilidad ≤ 0.01), comparación realizada entre los tratamientos de $50 \mu M$ Al con el testigo.

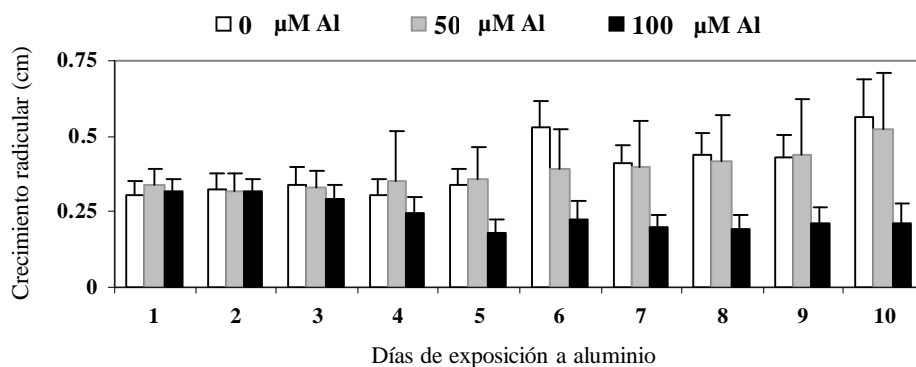


Figura 4. Crecimiento de raíces de plántulas de tabaco en solución nutritiva con diferentes concentraciones de aluminio (Al) (0, 50 y 100 mM Al). n = 15, \pm SD.

La inhibición en el crecimiento radicular por influencia del Al, trae consigo otros efectos secundarios, como disturbios en el balance hormonal, deficiencia de nutrimentos esenciales, inhibición de la fotosíntesis y alteraciones en relaciones hídricas (Foy, 1984).

Con una concentración de 50 μ M Al en el medio de crecimiento no se observó inhibición en el crecimiento de la raíz, pues la disminución fue sólo de 3%, en comparación con el testigo, y la comparación de medias no refleja diferencias significativas.

Además de la inhibición del crecimiento en la raíz principal, la presencia de 100 μ M de Al evitó la formación y el crecimiento de pelos radiculares (Figura 5). Jones *et al.* (1998) reportaron inhibición en el crecimiento de los pelos radiculares, en mutantes de *Arabidopsis thaliana* sensibles a Al desarrollados en presencia de este elemento. Estos resultados proveen información importante acerca de la arquitectura del sistema radical, la disminución en el área de absorción y el volumen de suelo o sustrato explorado, lo cual puede servir de línea

base para conducir investigaciones dirigidas a la búsqueda de fenotipos élite en poblaciones de individuos que desarrollen estrategias que eviten o reduzcan los daños producidos por Al en suelos ácidos.

Exudación de Ácidos Orgánicos

Las plantas resistentes a Al excretan diferentes ácidos orgánicos desde sus raíces, como mecanismo de tolerancia contra este tipo de estrés (De la Fuente *et al.*, 1997). En el presente experimento se examinó la exudación de citrato y malato. Dado que con una concentración de 50 μ M de Al no se observaron reducciones en el crecimiento del vástago, ni en el de la radícula, no se estimó la exudación de ácidos orgánicos en dichas plantas.

La presencia de 100 μ M de Al no afectó los niveles de exudación de malato. El citrato no se detectó en ausencia de Al, pero en su presencia (100 μ M de Al) su exudación se estimuló en forma significativa (Figura 6).

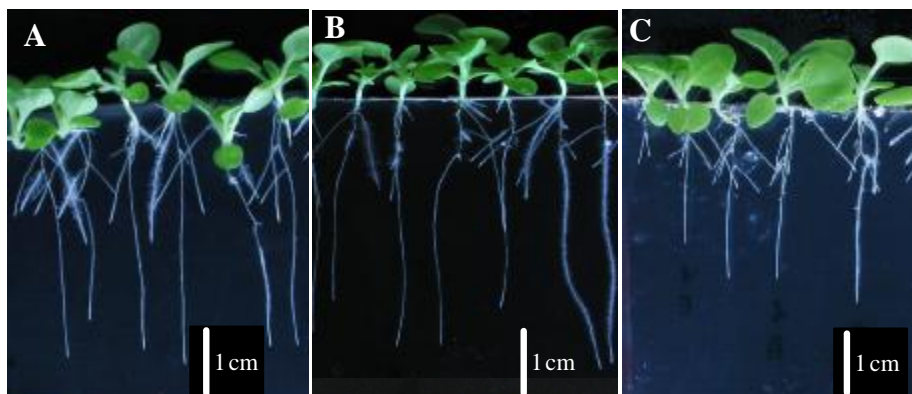


Figura 5. Crecimiento radical en plántulas de tabaco con y sin aluminio (Al) en el medio nutritivo sólido después de diez días de exposición. A. Sin Al, B. 50 mM Al, y C. 100 mM Al.

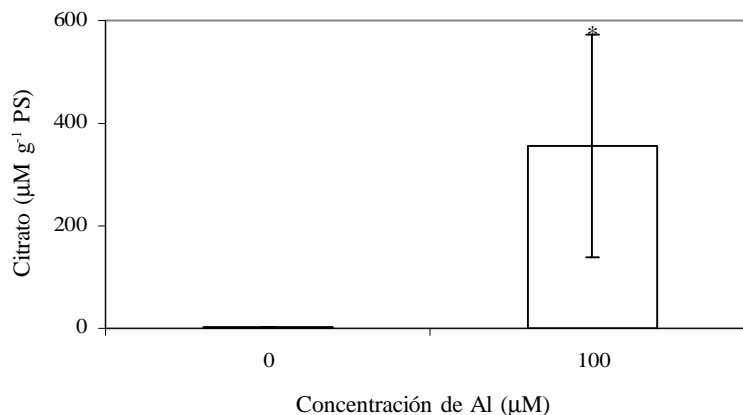


Figura 6. Exudación de citrato por raíces de plántulas de tabaco en ausencia y con presencia de 100 mM aluminio (Al) en la solución nutritiva después de 24 h de incubación. PS: peso seco de raíz; n = 4, \pm SD, t-Student: * ($P \leq 0.05$).

En protoplastos aislados del córtex de los ápices radiculares de dos cultivares de maíz se comprobó que el Al activó un canal aniónico permeable a citrato en el cultivar resistente (Kollmeier *et al.*, 2001). Por otro lado, al comparar las constantes de formación de complejos de Al:citrato y Al:malato (9.6 y 5.7, respectivamente), se establece que el citrato quelata con mayor fuerza al Al que el malato (Kochian *et al.*, 2004), lo que en sentido práctico significa que el citrato es más efectivo en la desintoxicación de Al.

Acumulación de Al en Raíces

En las plantas sin Al, no se observó una tinción positiva con eriocromo cianina R en sus raíces (Figura 7A); de igual forma que con la presencia de

50 µM (Figura 7B). Por el contrario, en las raíces de las plantas desarrolladas con 100 µM de Al, se observó una coloración intensa en 90% de las raíces analizadas. La mayor intensidad de la tinción se localizó en los ápices (Figura 7C), lo cual es consistente con otros reportes que señalan a esta parte de la raíz como el primer sitio de adsorción y acumulación de Al en cualquier tipo de planta cuyos mecanismos de resistencia han sido rebasados por las altas concentraciones del metal en la solución del suelo (Ryan *et al.*, 1993; Sivaguru y Horst, 1998).

La tolerancia a Al es variable entre especies, se tienen intervalos desde concentraciones micromolares, como en el caso del tabaco, hasta concentraciones milimolares, como en *Camellia sinensis* y *Richeria grandis*.

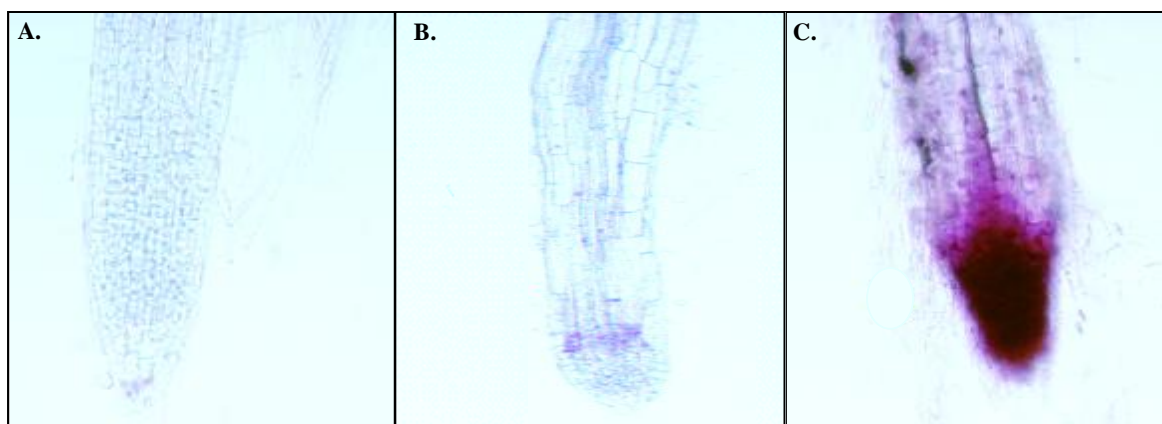


Figura 7. Tinción de raíces de plántulas de tabaco con eriocromo cianina R después de 24 h de tratamiento sin y con aluminio (Al). A. Sin Al, B. 50 mM Al y C. 100 mM Al.

CONCLUSIONES

En este estudio fue posible demostrar algunos efectos benéficos del aluminio en una concentración de 50 μM sobre algunas variables en plántulas de tabaco. Con el incremento de la concentración a 100 μM de aluminio en el medio, se observaron efectos tóxicos en las plántulas (menor crecimiento del vástago y la raíz, y en la formación de pelos radicales), mismas que activan mecanismos de desintoxicación externa, como la excreción de citrato. A pesar de que se activan tales mecanismos de tolerancia, se puede concluir que la variedad Samsun aquí estudiada es sensible a concentraciones de 100 μM de Al. Debido a que en este estudio se analizaron sólo tres concentraciones de aluminio en la solución nutritiva (0, 50 y 100 μM), es necesario realizar estudios con intervalos más estrechos dentro de las concentraciones 50 y 100 μM de aluminio, para determinar las concentraciones de este elemento que pueden resultar benéficas y con ellas llevar el cultivo hasta cosecha y analizar, si el aluminio puede tener efectos sobre el rendimiento.

LITERATURA CITADA

- Aniol, A. M. 1995. Physical aspects of aluminum tolerance associated with the long arm of chromosome 2D of the wheat (*Triticum aestivum* L.) genome. *Theor. Appl. Genet.* 91: 510-516.
- Asher, C. J. 1991. Beneficial elements, functional nutrients, and possible new essential elements. pp. 703-723. *In: J. J. Mortvedt* (ed.). *Micronutrients in agriculture*. 2nd ed. SSSA Book Series. Soil Science Society of America. Madison, WI, USA.
- Baligar, V. C. and J. L. Ahlrichs. 1998. Nature and distribution of acid soils in the World. pp. 1-11. *In: R. E. Schaffert* (ed.). *Proceedings of a Workshop to Develop a Strategy for Collaborative Research and Dissemination of Technology in Sustainable Crop Production in Acid Savannas and other Problem Soils of the World*. Purdue University Press. West Lafayette, IN, USA.
- Clune, T. S. and L. Copeland. 1999. Effects of aluminium on canola roots. *Plant Soil* 216: 27-33.
- De la Fuente, J. M., V. Ramírez-Rodríguez, J. L. Cabrera-Ponce, and L. Herrera-Estrella. 1997. Aluminium tolerance in transgenic plants by alteration of citrate synthesis. *Science* 276: 1566-1568.
- Delhaize, E. and P. R. Ryan. 1995. Aluminum toxicity and tolerance in plants. *Plant Physiol.* 107: 315-321.
- Foy, C. D. 1984. Physiological effects of hydrogen, aluminium and manganese toxicities in acid soil. pp. 57-97. *In: F. Adams* (ed.). *Soil acidity and liming*. Agronomy 12. 2nd ed. Soil Science Society of America. Madison, WI, USA.
- Höfner, R., L. Vázquez-Moreno, A. A. Abou-Mandour, H. J. Bohnert, and J. M. Schmitt. 1989. Two isoforms of phosphoenolpyruvate carboxylase in the facultative CAM plant *Mesembryanthemum crystallinum*. *Plant Physiol. Biochem.* 27: 803-810.
- Jones, D. L., S. Gilroy, P. B. Larsen, S. H. Howell, and L. V. Kochian. 1998. Effect of aluminum on cytoplasmic Ca^{2+} homeostasis in root hairs of *Arabidopsis thaliana* (L.). *Planta* 206: 378-387.
- Kafatos, F. C., C. W. Jones, and A. Efstratiadis. 1979. Determination of nucleic acid sequence homologies and relative concentrations by a dot hybridization procedure. *Nucleic Acids Res.* 7: 1541-1552.
- Kenjebaeva, S., Y. Yamamoto, and H. Matsumoto. 2001. The impact of aluminium on the distribution of cell wall glycoproteins of pea root tip and their Al-binding capacity. *Soil Sci. Plant Nutr.* 47: 629-636.
- Kidd, P. S. and J. Proctor. 2000. Effects of aluminium on the growth and mineral composition of *Betula pendula* Roth. *J. Exp. Bot.* 51: 1057-1066.
- Kinraide, T. B. 1993. Aluminum enhancement of plant growth in acid rooting media. A case of reciprocal alleviation of toxicity by two toxic cations. *Physiol. Plant.* 88: 619-625.
- Kinraide, T. B. 1997. Reconsidering the rhizotoxicity of hydroxyl, sulphate and fluoride complexes of aluminium. *J. Exp. Bot.* 48: 1115-1124.
- Kochian, L. V., O. A. Hoekenga, and M. A. Piñeros. 2004. How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 55: 459-493.
- Kollmeier, M., P. Dietrich, C. S. Bauer, W. J. Horst, and R. Hedrich. 2001. Aluminum activates a citrate-permeable anion channel in the aluminum-sensitive zone of the maize root apex. A comparison between an aluminum-sensitive and an aluminum-resistant cultivar. *Plant Physiol.* 126: 397-410.
- Marienfeld, S., N. Schmohl, M. Klein, W. H. Schröder, A. J. Kuhn, and W. J. Horst. 2000. Localisation of aluminium in root tips of *Zea mays* and *Vicia faba*. *J. Plant Physiol.* 156: 666-671.
- Marschner, H. 1995. *Mineral nutrition of higher plants*. 2nd ed. Academic Press. London, UK.
- Möllering, H. 1974. Malat. Bestimmung mit Malat-Dehydrogenase und Glutamat-Oxalacetat-Transaminase. pp. 1636-1639. *In: H. U. Bergmeyer* (ed.). *Methoden der Enzymology*. Academic Press. New York, NY, USA.
- Möllering, H. 1985. Citrate. Determination with citrate lyase, MDH and LDH. pp. 2-12. *In: H. U. Bergmeyer* (ed.). *Methods of enzymatic analysis*. Academic Press. New York, NY, USA.
- Naumann, A. and W. J. Horst. 2003. Effect of aluminium supply on aluminium uptake, translocation, and blueing of *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser. cultivars in a peat-clay substrate. *J. Hort. Sci. Biotech.* 78: 463-469.
- Nichol, B. E., L. A. Oliveira, A. D. M. Glass, and M. Y. Siddiqi. 1993. The effects of aluminum on the influx of calcium, potassium, ammonium, nitrate, and phosphate in an aluminum-sensitive cultivar of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Physiol.* 101: 1263-1266.
- Nosko, P., P. Brassard, J. R. Kramer, and K. A. Kershaw. 1988. The effect of aluminium on seed germination and early seedling establishment growth and respiration of white spruce (*Picea glauca*). *Can. J. Bot.* 66: 2305-2310.
- Rout, G. R., S. Samantaray, and P. Das. 2001. Aluminium toxicity in plants: a review. *Agronomie* 21: 3-21.
- Ryan, P. R. and L. V. Kochian. 1993. Interaction between aluminum toxicity and calcium uptake at the root apex in near-isogenic

- lines of wheat (*Triticum aestivum* L.) differing in aluminum tolerance. *Plant Physiol.* 102: 975-982.
- Ryan, P. R., J. M. Di Tomaso, and L. V. Kochian. 1993. Aluminum toxicity in roots: an investigation of spatial sensitivity and the role of the root cap. *J. Exp. Bot.* 44: 437-446.
- Shen, R. and J. F. Ma. 2001. Distribution and mobility of aluminium in an Al-accumulating plant, *Fagopyrum esculentum* Moench. *J. Exp. Bot.* 52: 1683-1687.
- Sivaguru, M. and W. J. Horst. 1998. The distal part of the transition zone is the most aluminum-sensitive apical root zone of maize. *Plant Physiol.* 116: 155-163.
- Slaski, J. J. 1995. Differences in the metabolic responses of root tips of wheat and rye to aluminum stress. pp. 327-333. *In*: F. Valuska (ed.). *Structure and function of roots*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands.
- Steiner, A. and H. van Winden. 1970. Recipe for ferric salts of ethylenediaminetetraacetic acid. *Plant Physiol.* 46: 862-863.
- Tabuchi, A. and H. Matsumoto. 2001. Changes in cell-wall properties of wheat (*Triticum aestivum*) roots during aluminium-induced growth inhibition. *Physiol. Plant.* 112: 353-358.
- Tamás, L., J. Huttová, L. Hajasová, and I. Mistrík. 2001. The effect of aluminium on polypeptide pattern of cell wall proteins isolated from the roots of Al-sensitive and Al-resistant barley cultivars. *Acta Physiol. Plant.* 23: 161-168.
- Van, H. L., S. Kuraishi, and N. Sakurai. 1994. Aluminium-induced rapid root inhibition and changes in cell wall components of squash seedlings. *Plant Physiol.* 106: 971-976.
- Walch-Liu, P., G. Neumann, F. Bangerth, and C. Engels. 2000. Rapid effects of nitrogen form on leaf morphogenesis in tobacco. *J. Exp. Bot.* 51: 227-237.
- Zlatanova, J., E. Paneva, and J. Yaneva. 1994. A spot test for protein detection and semiquantitative estimation in small samples. *Cytobios* 78: 135-138.