

ESTUDIOS SOBRE EL METABOLISMO DEL NITROGENO EN PLANTAS DE PAPA DECAIDAS ECOLOGICAMENTE POR ACCION DE ALTAS TEMPERATURAS ¹

POR S. O. TRIONE ²

SUMMARY

Sprouted tubers of Katahdin variety divided into half brother tubers were submitted respectively to the action of low and high temperature over a period of 68 days. Following the treatments they were culture under greenhouse condition for a comparative assay of yield. It was showed that the high temperature treatment provoked a highly significant decrease in the yield. The nitrogen metabolism —free or soluble amino acids and amides, and protein amino acids— was studied through the development cycle in different organs of the potato plants originated from the thermal treatments. There were variations in the relative proportion of the diferent nitrogen pools (soluble and insoluble), mainly in the relative proportion of amides, arginine and gamma-amino butyric acid on the one hand, and of proline-hidroxyproline, and arginine-leucines, on the other. High temperature promotes a large soluble-N pool and a concomitant small insoluble-N pool to those formed under low temperature treatment. A discussion on the changes in nitrogen metabolism related to thermal treatments and yield capacity of the potato plant is given by the author.

Es conocido el hecho que clones de papa bajo ciertas condiciones ambientales, e. g. multiplicación continua en climas templado-cálidos y cálidos, experimentan un decaimiento progresivo en sus rendimientos de manera tal que su cultivo resulta antieconómico (17). Este fenómeno, llamado “degeneración”, ya comenzó a preocupar a investigadores de mediados del siglo pasado, habiéndose atribuido desde entonces a varias causas. Entre ellas, senilidad; agotamiento de tubérculo “semilla” por sucesivas eliminaciones de las yemas durante el almacenaje; ataques de virus; condiciones ambientales, especialmente altas temperaturas durante el crecimiento; etc. (14, 15, 16, 21, 24, 2). Sin embargo, el fenómeno conocido como “degeneración”, en realidad es el resultado de dos procesos que se pueden cumplir independientemente, uno provocado por virus y otro por temperaturas relativamente altas. De acuerdo a lo recomendado por

¹ Trabajo realizado en el Departamento de Botánica de la Univesidad de Cornell, Ithaca, N.Y., durante el período de tenencia de una beca de perfeccionamiento otorgado al autor por el Consejo Nacional de Investigaciones Cientificas y Técnicas de la República Argentina.

² Profesor Adjunto de la Cátedra de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias, U.N.C., Mendoza, Argentina.

SÍVORI, a este último conviene denominarlo "decaimiento ecológico" (4, 9, 17, 21, 22, 23, 24, 26).

Aunque todavía subsiste cierta controversia entre los autores en relación a la causa principal que provoca esta disminución de los rendimientos, parece estar suficientemente probado que las altas temperaturas producen en el clon de papa un cambio fisiológico (13) que lo hace más susceptible o receptivo a virus (22). De acuerdo a este punto de vista y en virtud que el nitrógeno está implicado en el proceso de tuberización (27), se decidió estudiar los cambios que experimenta el metabolismo de amino ácidos y amidas durante el decaimiento ecológico de clones de papa.

No es de conocimiento del autor la existencia de literatura sobre el metabolismo del nitrógeno, específicamente relacionado con el problema del decaimiento de clones de papa. PRYANISCHNIKOV (1900), GAÜMANN (1931-32), STOKES (1953), citados por Mc. KEE (11), estudiaron el efecto de altas y bajas temperaturas sobre el metabolismo del nitrógeno en plántulas de otras especies. En papa, los principales estudios se refieren a su rol nutricional en procesos tales como la tuberización (26, 27). La composición del nitrógeno soluble e insoluble de tubérculos de papa pertenecientes a diferentes variedades, puede consultarse en THOMPSON y STEWARD (20) y en la bibliografía allí citada. Cambios en la actividad de auxinas, enzimas, respiración y contenido de ácido ascórbico, han sido determinados en tubérculos de papa "degenerada" y "no degenerada" (13).

En el presente estudio se determinó el post-efecto que las bajas y altas temperaturas, dadas sobre tubérculos "semillas", ejercieron sobre el rendimiento de las plantas por ellos originadas, y sobre la calidad y cantidad de amino ácidos y amidas, tanto libres como ligados, en diferentes regiones morfológicas de la planta de papa, durante el ciclo vegetativo.

MATERIAL Y METODOS

Parte experimental: Los tubérculos de papa "semilla", variedad *Katahdin*, calidad "certificada", fueron obtenidos de las plantaciones que la Vegetable Crops de la Universidad de Cornell posee en Freeville, Nueva York. Estos, una vez cosechados se almacenaron a $\pm 5^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de su empleo. Cien tubérculos seleccionados por su tamaño, uniformidad y apariencia sanitaria, se transfirieron a invernáculo ($18-23^{\circ}\text{C}$) donde se dejaron durante 15 días para facilitar su brotación. Al cabo de ese lapso, cada tubérculo se seccionó longitudinalmente, esterilizando cada vez el cuchillo empleado. Para posterior identificación, las dos mitades de cada tubérculo recibieron la misma numeración. Un lote de medios tubérculos se llevó a cámara de baja temperatura ($9-10^{\circ}\text{C}$), y el otro a cámara de alta temperatura ($32-34^{\circ}\text{C}$). Para evitar el exce-

sivo alargamiento de las yemas, cada lote se iluminó diariamente durante 12 horas. Por la misma razón la humedad ambiente se mantuvo a un nivel bajo. En estas condiciones las respectivas variantes permanecieron por espacio de 68 días, al cabo de los cuales fueron retirados de los tratamientos y plantados en macetas (20 por 22 cm) que contenían partes iguales de tierra de cultivo, estiércol y arena fina. Las plantas cumplieron su ciclo completo en condiciones de invernáculo (22° C diurnos y 19° C nocturnos, aproximadamente), permitiendo una distancia entre ellas de 35 cm. Las macetas fueron dispuestas de tal manera que las mitades de cada tubérculo original se ubicaron apareadas. Durante el período de crecimiento, cualquier planta sospechosa de estar infectada por virus fue descartada. Con intervalo de una semana se efectuaron pulverizaciones con un insecticida fosforado para el control de áfidos y otros vectores de virus. El largo del período de crecimiento fue de 92 días (plantación: 7-V-63; cosecha: 7-VIII-63). Las muestras para análisis se tomaron a los 42 días de plantación (estado de pre-tuberización); a los 59 días (estado de plena floración e iniciación de tuberización); a los 72 días (estado de formación de frutos); y a los 92 días (estado de maduración de tubérculos). Cada vez se tomaron como muestras tres plantas por tratamiento. Finalmente se cosecharon 68 pares de plantas, cuyos tubérculos se colocaron separadamente en bolsitas para determinar número, tamaño y peso fresco por planta (rendimiento).

Procedimientos analíticos: La extracción de amino ácidos y amidas libres y su determinación cuantitativa mediante cromatografía bi-direccional sobre papel, se realizó empleando los métodos descritos por THOMPSON y STEWARD (20), y más tarde modificados en los laboratorios del Dr. STEWARD. La extracción de los compuestos nitrogenados solubles se efectuó con alcohol 80 %, seguido por evaporación y purificación del extracto por adsorción de los compuestos nitrogenados sobre resina de intercambio catiónico. De ella fueron cluidos, y separados así de los azúcares y ácidos orgánicos que interfieren en la cromatografía. Esta se llevó a cabo empleando como solventes de corrido fenol/colidina - lutidina, o fenol/n-butanol-ácido acético. La revelación se hizo por un procedimiento que standariza la intensidad del color desarrollado por la ninhidrina. Para el nitrógeno insoluble, referido aquí como nitrógeno proteico, el residuo insoluble en alcohol fue hidrolizado en medio ácido (HCl 6N aprox.), siendo los amino ácidos purificados y determinados como se indicó previamente.

Datos: Comúnmente están expresados en la siguiente forma: el nitrógeno de cada compuesto analizado está dado en microgramos por gramo de peso seco de tejido. De la suma de ellos se obtiene el nitrógeno total reactivo a la ninhidrina. Esta cifra mide el tamaño del compartimiento nitrogenado (soluble o insoluble) que está relacionado con el compartimiento de compuestos metabólicamente

activos. La composición relativa de los diferentes amino ácidos y amidas se obtiene expresando el nitrógeno en cada compuesto como porcentaje del total. Los histogramas muestran dicha composición relativa (calidad del compartimiento nitrogenado), y las cifras de sus bases indican la cantidad de nitrógeno total (tamaño del compartimiento). Una convención muy útil es emplear un sistema de números para cada diferente compuesto nitrogenado, a saber:

ácido aspártico	(2)	arginina	(13)
ácido glutámico	(3)	prolina	(15)
serina	(4)	valina	(16)
glicina	(5)	leucinas (leucina e isoleucina)	(18)
asparagina	(6)	fenilalanina	(19)
treonina	(7)	tirosina	(21)
alanina	(8)	ácido gamma-amino-butírico	(23)
glutamina	(9)	hidroxiprolina	(24)
histidina	(11)	ácido piperóico	(26)
lisina	(12)		

Más aún, al confeccionar los histogramas, una práctica standard es colocar la asparagina: 6, y glutamina: 9, desde la parte superior hacia la base, y al ácido aspártico: 2, ácido glutámico: 3, ácido gamma-amino butírico: 23, y al resto de los compuestos, en orden numérico creciente, desde la base hacia arriba. De esta manera, en forma visual se pueden seguir rápidamente los cambios de los principales constituyentes nitrogenados.

RESULTADOS

Los datos del cuadro I muestran que las altas temperaturas, actuando durante 68 días sobre tubérculos brotados, provocaron un marcado decaimiento en los rendimientos de las plantas por ellos originadas. De los 68 pares de plantas, 56 mostraron una diferencia de peso fresco de tubérculos favorable al tratamiento de baja temperatura, mientras que tan sólo 12 pares fueron favorables al de alta temperatura. Testando la significancia de tales diferencias, el valor de "t" fue 9.18, el cual corresponde a una diferencia altamente significativa.

Es interesante destacar que a través del ciclo vegetativo, las plantas provenientes de tubérculos tratados a altas temperaturas mostraron una reducción general del tamaño en comparación con las de bajas temperaturas. Concomitantemente se observó también una reducción del orden del 30 % en el peso fresco de los tubérculos, y una disminución del número de tubérculos por planta que alcanzó un valor promedio del 15 %.

El efecto primario de los pre-tratamientos térmicos sobre el metabolismo del nitrógeno en la planta, se manifestó en la relación N-soluble total/N-insoluble total (cuadro II), pues las altas tem-

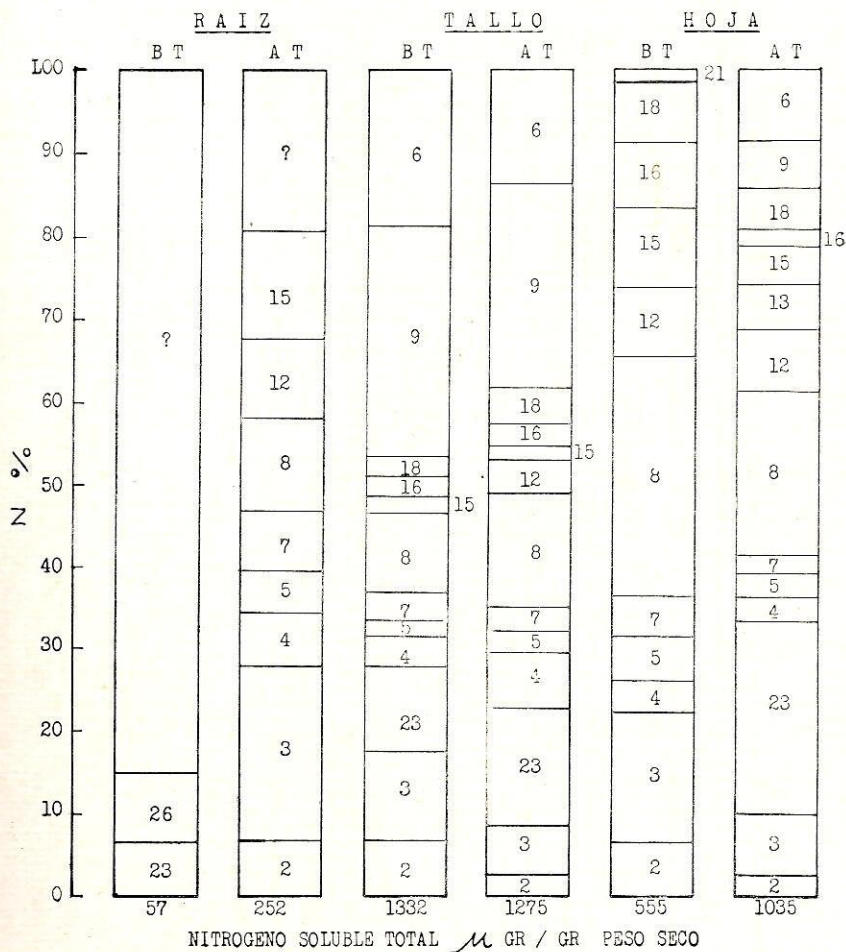


Fig. 1. — Composición relativa del nitrógeno soluble en raíz, tallo y hoja procedentes de pre-tratamientos de baja temperatura (BT) y alta temperatura (AT), a los 42 días de la plantación.

peraturas acentúan el contenido de N-soluble en los tejidos y hacen decrecer el N-proteico. Estas diferencias parecen originarse durante el tratamiento de los tubérculos brotados (TRIONE y STEWARD, datos no publicados), e indudablemente reflejan la conversión del N-proteico a N-soluble.

CUADRO I
Rendimiento comparativo entre plantas de papa provenientes de tubérculos previamente tratados con altas y bajas temperaturas

Número de los medios tubérculos apareados	Peso fresco de los tubérculos en gramos			Número de los medios tubérculos apareados	Peso fresco de los tubérculos en gramos		
	BT	AT	Diferencia		BT	AT	Diferencia
1.....	210	50	--160	35.....	160	215	+ 55
2.....	179	97	- 82	36.....	188	143	- 45
3.....	98	135	+ 37	37.....	192	57	-135
4.....	170	159	- 11	38.....	234	182	- 52
5.....	95	67	- 28	39.....	94	108	+ 14
6.....	177	47	-130	40.....	160	100	- 60
7.....	267	128	-139	41.....	202	82	-120
8.....	224	172	- 52	42.....	287	141	-146
9.....	155	47	-108	43.....	190	115	- 75
10.....	115	172	+ 57	54.....	163	56	-107
11.....	140	97	- 43	45.....	102	70	- 32
12.....	225	118	-107	46.....	158	182	+ 24
13.....	176	57	-119	47.....	202	157	- 45
14.....	127	137	+ 10	48.....	183	111	- 72
15.....	230	97	--133	49.....	94	67	- 27
16.....	117	51	- 66	50.....	120	55	- 65
17.....	169	139	- 30	51.....	222	115	-107

18.....	92	127	+ 35	52.....	150	194	+ 44
19.....	167	44	-123	53.....	244	99	-145
20.....	131	76	- 55	54.....	192	113	- 79
21.....	203	122	- 81	55.....	164	216	+ 52
22.....	113	127	+ 14	96.....	187	52	-135
23.....	247	106	-141	57.....	189	117	- 72
24.....	228	159	- 69	58.....	217	64	-153
25.....	173	48	-125	59.....	253	189	- 64
26.....	222	56	-166	60.....	278	138	-140
27.....	293	182	-111	81.....	239	159	- 80
28.....	134	167	+ 33	62.....	86	128	+ 42
29.....	287	156	-131	63.....	209	137	- 72
30.....	217	203	- 14	64.....	200	124	- 76
31.....	181	64	-117	65.....	169	101	- 68
32.....	172	103	- 69	66.....	199	110	- 89
33.....	201	126	- 75	67.....	169	114	- 55
34.....	160	55	-105	68.....	182	123	- 59
				Suma.....	12 373	7.825	-4.598
				Promedio...	182	115	- 67

Análisis estadístico :

$$« t » = \frac{67}{\sqrt{\frac{242.958}{68 \times 67}}} = 9,18 \text{ (altamente significativa)}$$

BT = tratamiento de baja temperatura. AT = tratamiento de alta temperatura.

(-) = diferencia favorable a baja temperatura. (+) = diferencia favorable a alta temperatura.

CUADRO II

Efecto de los pre-tratamientos térmicos sobre el contenido de nitrógeno soluble e insoluble en diferentes órganos de la planta de papa durante su ciclo vegetativo (N en cada órgano como % del total)

Variantes	Días desde la plantación															
	42						59						72		92	
	Raíz		Tallo		Hoja		Tubérculo		Rizoma		Hoja		Tubérculo		Tubérculo	
	NS	NI	NS	NI	NS	NI	NS	NI	NS	NI	NS	NI	NS	NI	NS	NI
Bajas temperaturas.....	0,20	99,80	8,48	91,52	1,08	98,92	40,45	59,65	16,48	83,82	2,62	97,38	19,20	80,80	38,97	61,03
Altas temperaturas.....	1,42	98,58	9,35	90,65	4,27	95,73	36,00	64,00	44,45	55,55	4,58	95,42	20,57	79,43	42,12	57,88

NS = Nitrógeno soluble total.

NI = Nitrógeno insoluble total.

Para nuestros propósitos resulta útil conocer cómo varía la composición nitrogenada soluble de las distintas regiones morfológicas, por efecto de las temperaturas previas, pues a través de estos metabolitos están determinadas las reacciones involucradas en el proceso de crecimiento. Un rasgo que debe notarse (figs. 1, 2 y 3) es que cualquiera sea el órgano analizado, las altas temperaturas previas promueven un compartimiento nitrogenado soluble que posee más compuestos que su similar de bajas temperaturas.

A los 42 días de la plantación (fig. 1), las diferencias atribuidas a las temperaturas fueron más aparentes en raíces y hojas que en tallos. Las raíces procedentes de bajas temperaturas presentaron un compartimiento de N-soluble pequeño (57 microgramos de N/gr P.S.), y resuelto en tan sólo tres compuestos: ácido gamma-amino-butírico: 23, ácido pipercolico: 26 y un tercero no identificado, que pareciera ser etanolamina, el cual comprende más del 80 % del N-soluble total. En cambio las raíces procedentes de altas temperaturas presentaron un compartimiento casi cinco veces mayor (252 microgramos de N/gr P.S.), y resuelto en nueve compuestos que, sorpresivamente, no contiene los ácidos gamma-amino-butírico, ni pipercolico.

En hojas ocurrió algo similar en cuanto a tamaño del compartimiento y número de compuestos. El rasgo más sobresaliente del efecto de la alta temperatura fue la síntesis de asparagina: 6, glutamina: 9, arginina: 13 y la gran proporción relativa de ácido gamma-amino-butírico, mientras que la baja temperatura destaca la proporción relativa de los precursores de amidas tales como los ácidos aspártico: 2 y glutámico: 3. En tallos, donde las amidas dominan el compartimiento nitrogenado soluble, las diferencias son menos aparentes, pero la alta temperatura hizo sentir su efecto provocando una disminución de la proporción relativa de amidas y ácidos dicarboxílicos, y favoreciendo la síntesis de lisina: 12.

A los 59 días de la plantación (fig. 2), que correspondió a la iniciación de la tuberización y plena floración, se analizaron tubérculos, rizomas y hojas. En tubérculos, la alta temperatura previa promovió un compartimiento que resultó más rico en amidas que su similar proveniente de baja temperatura. De las amidas, la principal fue asparagina. En ese período los tubérculos estaban en pleno crecimiento, y comenzaron a acumular el nitrógeno soluble presentando, por lo tanto, el mayor tamaño de compartimiento con respecto a los demás órganos. En rizoma, dominaron las amidas y arginina. Las altas temperaturas favorecieron más la síntesis de amidas, especialmente asparagina, que de arginina, mientras que las bajas temperaturas favorecieron el camino inverso. Las hojas de la variante de altas temperaturas perdieron su nitrógeno amídico, se empobrecieron en amino ácidos básicos (arginina y lisina), y se enriquecieron en ácido gamma-amino-butírico.

Durante los dos últimos períodos, 72 y 92 días de la plantación respectivamente (fig. 3), sólo se analizaron los tubérculos. A los

72 días, cuando los tubérculos entraron en la fase retardada del crecimiento, y comenzaron a formarse los frutos, el post-efecto de las altas temperaturas se hizo notar en una reducción del nitrógeno amídico, especialmente asparagina, y en un aumento proporcional

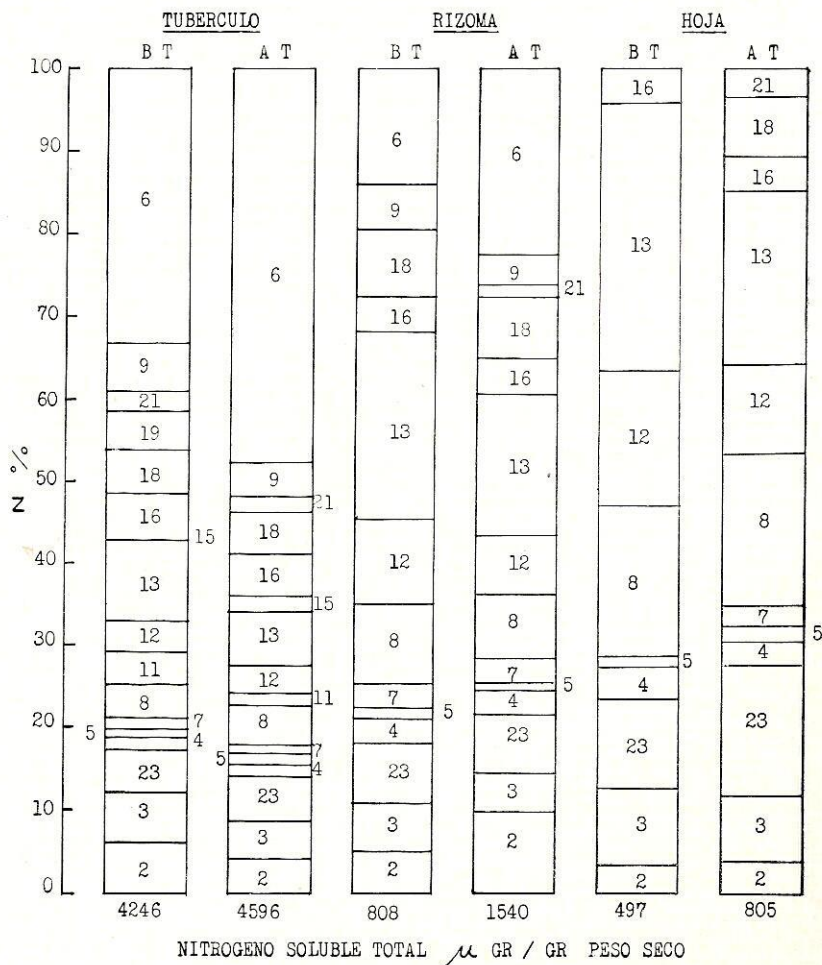


Fig. 2. — Composición relativa del nitrógeno soluble en tubérculo, rizoma y hoja procedentes de pre-tratamientos de baja temperatura (BT) y alta temperatura (AT), a los 59 días de la plantación.

de nitrógeno de arginina. En cambio las bajas temperaturas acentuaron el nitrógeno amídico, siendo éste casi totalmente asparagina. Cabe destacar que en esa época, independientemente del tratamiento térmico, los tubérculos perdieron casi las tres cuartas partes de su nitrógeno soluble, posiblemente vía frutos en crecimiento (TRONE y STEWARD, datos no publicados).

Cuando las plantas se acercaron a la fase final de su ciclo (92 días), con tubérculos en período de maduración, comenzaron a acumular de nuevo el nitrógeno soluble. Los procedentes de

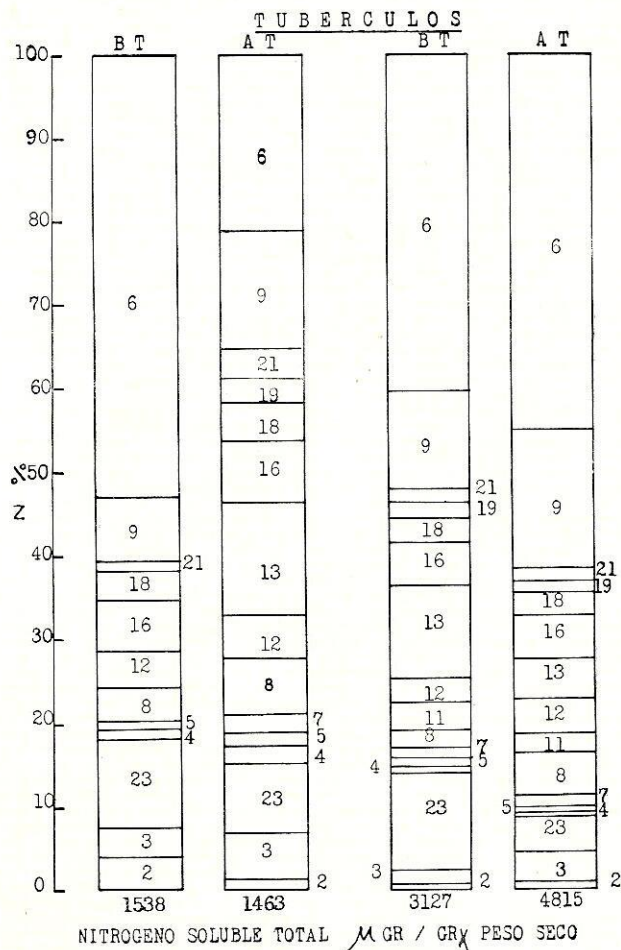


Fig. 3. — Composición relativa del nitrógeno soluble en tubérculos procedentes de pre-tratamientos de baja temperatura (BT) y alta temperatura (AT), a los 72 días (izquierda) y 92 días (derecha) de la plantación.

altas temperaturas lo hicieron fundamentalmente en forma amídica (aprox. 60 % del N-soluble total), mientras que los de bajas temperaturas lo acumularon tanto en forma amídica (aprox. 50 % del N-soluble total), como en forma amínica (ácido gamma-amino-butírico y arginina, aprox. 30 % del N-soluble total).

El metabolismo del nitrógeno de la planta de papa no puede ser del todo entendido a menos que la fracción insoluble en alcohol,

CUADRO
Efecto de los pre-tratamientos térmicos sobre la composición del nitrógeno
su ciclo vegetativo. (Nitrógeno en

III
insoluble en distintas regiones morfológicas de la planta de papa durante
cada amino ácido como % del total)

	D I A S D E S D E						L A P L A N T A C I O N									
	42		59		72		92									
	Raíz		Tallo		Hoja		Tubérculo		Hoja		Rizoma		Tubérculo		Tubérculo	
	BT	AT	BT	AT	BT	AT	BT	AT	BT	AT	BT	AT	BT	AT	BT	AT
Aspártico.....	7,66	5,95	6,85	8,54	4,80	8,08	9,35	7,79	10,52	8,60	11,58	3,01	8,30	6,55	7,55	8,04
Glutámico.....	6,97	6,06	7,79	6,85	3,57	6,48	4,40	6,97	7,07	6,85	8,65	2,86	5,70	6,74	5,59	5,80
Serina.....	6,56	5,38	5,32	4,89	5,45	3,77	4,67	4,36	3,50	3,79	6,24	1,55	4,41	4,42	4,94	4,41
Glicina.....	7,47	7,10	7,73	6,76	5,39	6,05	6,16	6,91	7,16	7,58	6,59	1,87	5,47	7,13	6,55	6,39
Treonina.....	4,08	3,51	3,43	3,16	5,95	4,02	3,39	3,31	3,31	3,37	3,37	1,82	3,70	3,80	3,73	3,77
Alanina.....	7,16	6,38	8,33	6,13	5,88	6,41	6,56	6,45	6,24	7,08	7,86	4,52	6,97	6,57	5,93	6,22
Histidina.....	3,27	3,44	2,54	4,96	trazas	2,19	2,82	2,53	2,58	2,58	T	T	2,05	4,33	3,98	2,58
Lisina.....	11,60	12,23	12,05	12,47	11,85	11,00	10,30	12,83	7,79	8,61	11,32	10,65	9,64	10,32	10,06	8,57
Arginina.....	11,66	14,84	14,89	17,30	17,82	19,20	16,37	18,78	16,32	16,30	20,62	22,85	12,75	15,06	12,83	10,47
Leucinas.....	14,43	15,27	15,20	12,38	23,79	16,00	15,92	13,35	13,47	15,86	12,45	17,35	22,26	16,74	18,69	22,76
Valina.....	5,52	5,82	6,04	5,10	4,99	6,17	5,46	5,74	5,20	5,81	5,90	11,84	6,32	6,21	6,59	6,60
Tirosina.....	2,30	2,46	2,14	2,08	0,48	0,62	1,24	0,98	1,54	1,46	1,17	1,81	2,22	2,50	2,85	2,90
Fenilalanina.....	3,60	5,48	4,64	3,69	8,02	4,61	4,61	4,61	6,60	5,58	3,67	6,86	6,62	6,17	7,08	6,74
Prolina.....	2,73	3,54	2,73	5,02	1,91	4,88	5,19	4,78	7,96	5,88	T	12,98	3,53	3,43	3,59	4,73
Hidroxiprolina.....	0,96	2,53	0,32	0,65	0,10	0,50	0,24	0,59	0,72	0,62	0,57	T	T	T	T	T
Nitrógeno total..... (microgr/gr P. S.)	28.073	17.491	14.388	12.373	50.942	23.209	6.279	8.152	18.507	16.806	4.186	1.925	6.473	5.650	4.900	6.610

BT = Procedente de pre-tratamiento de baja temperatura.

AT = Procedente de pre-tratamiento de alta temperatura.

predominantemente proteína, sea analizada. Esto permite registrar los cambios en la proporción relativa de sus amino ácidos constituyentes, y hace posible discernir si la composición de la proteína sintetizada bajo ambos estímulos térmicos, es la misma o cambia de calidad.

Como se dijo, la fracción denominada nitrógeno proteico, fue el resultado de la hidrólisis ácida del residuo insoluble en alcohol. Es obvio que compuestos tales como asparagina, glutamina, triptofano, etc. desaparecen bajo este tratamiento. En el cuadro III se puede apreciar que la composición relativa de esta fracción fue mucho menos afectada cualitativamente que la fracción N-soluble, y que los compuestos que dominan este compartimiento insoluble son leucinas: 18, arginina: 13 y lisina: 12. Las diferencias atribuidas a los pre-tratamientos térmicos radican por un lado, en la proporción relativa de los amino ácidos cíclicos prolina e hidroxiprolina, y de arginina y leucina, pues en la mayoría de los órganos las altas temperaturas parecen promover un tipo general de proteína más rica en hidroxiprolina y en arginina; y por otro lado en el tamaño del compartimiento, pues éste se reduce por efecto de las altas temperaturas previas.

Un hecho notable de cambio en la calidad de la fracción proteica total provocada por el tratamiento de alta temperatura, lo constituye sin lugar a dudas el que se operó en los rizomas. Se puede apreciar (cuadro III) la acentuada reducción de aspártico, glutámico, serina, glicina, treonina y alanina, mientras se exalta la proporción relativa de arginina, valina, leucinas, fenilalanina y muy especialmente prolina.

Si comparamos el nitrógeno insoluble total de las hojas tomadas a los 42 y 59 días de la plantación, vemos que la proveniente de la variante bajas temperaturas, hacia la época de la iniciación de la tuberización y plena floración, moviliza aproximadamente un 65 % de su nitrógeno proteico total, mientras que la de altas temperaturas tan sólo moviliza el 27 % del nitrógeno proteico total.

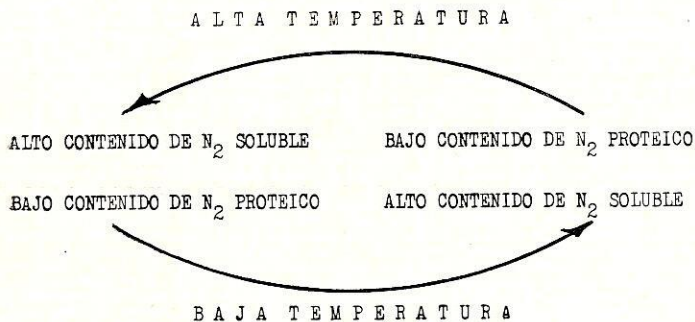
DISCUSION

Al interpretar los resultados obtenidos a lo largo de esta experiencia, no será raro que aparezcan más presunciones que evidencias, pues por razones obvias no se pudieron estudiar otros procesos concomitantes que permitieran correlacionar, en forma más directa, la disminución del rendimiento de la planta de papa afectada por un período de temperaturas relativamente altas, con los cambios de tamaño y composición de los compartimientos nitrogenados. Sin embargo las cifras muestran claramente que las altas temperaturas, actuando sobre tubérculos "semillas" brotados, durante 68 días, tienen un marcado efecto no solamente sobre el rendimiento de las plantas por ellos originadas, sino también sobre el metabolismo de compuestos nitrogenados libres y ligados.

Es evidente que el estímulo de las altas temperaturas hace sentir su efecto sobre muchos de los procesos sintéticos y metabólicos. Por lo tanto se debe prestar preferente atención a los contrastes encontrados en, 1) contenido total de nitrógeno soluble e insoluble, 2) cantidad de ellos que se movilizan en órganos tales como hojas y tubérculos, 3) cambios en la calidad de los compartimientos nitrogenados solubles de los distintos órganos, 4) cambios en la composición del complemento proteico.

Prácticamente todos los compuestos sufrieron variaciones, y ambos compartimientos nitrogenados fueron alterados cuali y cuantitativamente, pero metabolitos tales como amidas, ácidos dicarboxílicos, ácido gamma-aminobutírico y arginina en la fase soluble, resultaron prominentes.

Es necesario admitir que las diferencias anotadas a lo largo del ciclo vegetativo, se han originado durante el tratamiento térmico, pues TRIONE y STEWARD (datos no publicados) sometiendo tubérculos brotados de la variedad Saco a los efectos de bajas y altas temperaturas por espacio de 65 días, encontraron que estas últimas favorecieron el catabolismo de la fracción proteica y acrecentaron la cantidad de amino ácidos libres, mientras que las bajas temperaturas actuaron en sentido contrario. Este modelo de distribución del nitrógeno, esquematizado en el diagrama 1, se hace evidente



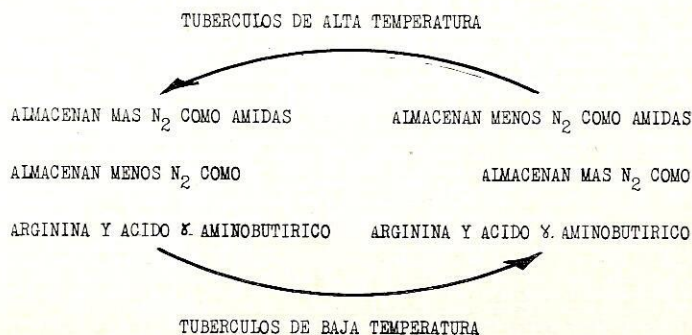
D I A G R A M A 1

en los órganos analizados a los 42 días de la plantación. En relación a esta dinámica del nitrógeno, pareciera que el estímulo térmico actuara en el mismo punto focal que el estímulo lumínico, ya que un proceso semejante se opera en hojas y tallos de la planta de *menta* crecida bajo regímenes de días largos y cortos (5).

Las raíces y hojas, órganos que constituyen centros activos de procesos de síntesis y transformaciones, reflejan, en la composición de su nitrógeno libre, el cambio fisiológico inducido por las altas temperaturas. Así, el glutámico y la lisina que son conspicuos en raíces procedentes de bajas temperaturas, aparecen respectivamente como productos de decarboxilación (ácido gamma-aminobutírico)

y de ciclación (ácido piperólico) en raíces de altas temperaturas. Del mismo modo, los ácidos aspártico y glutámico que son prominentes en hojas de bajas temperaturas, aparecen como productos amidados (asparagina y glutamina respectivamente) en hojas procedentes de altas temperaturas. Este último caso da evidencia de un efecto catabólico de las altas temperaturas, pues el amoníaco que acompaña el desdoblamiento proteico, sería captado por los ácidos dicarboxílicos para transformarse en sus respectivas amidas.

Otro hecho que debe notarse es la variación en el contenido de N-proteico y N-soluble en los distintos órganos al producirse la tuberización y maduración de la planta. Hacia el comienzo de la tuberización, que coincide con la floración, las hojas experimentan una reducción de su N-proteico el cual, evidentemente, debe migrar a las flores y tubérculos en crecimiento. Dicha reducción es del orden del 64 % en hojas de bajas temperaturas, y tan sólo del 28 % en hojas de altas temperaturas. En rizomas procedentes de altas temperaturas encontramos 54 % menos de N-proteico y 48 % más de N-soluble que su similar de bajas temperaturas. Cuando los frutos comienzan a madurar, el N-soluble de los tubérculos de ambos tratamientos sufre una reducción del orden del 65 al 70 %, en cambio el N-proteico prácticamente no varía en tubérculos de bajas temperaturas, pero sí lo hace en los de altas temperaturas, reduciéndose en un 30 %. Hacia el final del ciclo vegetativo, cuando los tubérculos maduran, éstos comienzan a almacenar definitivamente sus compuestos nitrogenados. Los de altas temperaturas incrementan tanto el N-soluble como el N-proteico, mientras los de bajas temperaturas incrementan tan solo el N-soluble. Esto trae como consecuencia que las relaciones de acumulación de los compuestos rico-nitrogenados solubles sea diferente en cada variante. Así, los tubérculos de altas temperaturas almacenan relativamente más nitrógeno amídico (61 %) y menos nitrógeno amínico (9 %) que los de bajas temperaturas (52 % y 22 % respectivamente). Estas relaciones están mostradas en el diagrama 2. La disminución del N-



D I A G R A M A 2

proteico observada en tubérculos de la variante bajas temperaturas, podría estar correlacionada con su mayor crecimiento sobre la base de una disminución de la relación: peso fresco/peso seco, realmente constatada. Cabría esperar que durante el crecimiento de los tubérculos se produjera una acumulación progresiva de productos hidrocarbonados que conduciría ciertamente a un incremento de la relación: hidratos de carbono/proteínas, favorable al crecimiento (6).

El menor crecimiento de las plantas procedentes de pre-tratamientos de altas temperaturas, igualmente podría estar influenciado por el incremento observado en la relación hidroxiprolina/prolina de la fracción proteica. Dicha relación podría correlacionarse con el proceso de crecimiento, por un mecanismo de inhibición antagónica. Bien conocida es la inhibición que la hidroxiprolina provoca sobre el crecimiento de tejidos de raíces de *zanahoria*, a través de la síntesis de proteína, y que un balance adecuado con prolina puede superar dicho efecto (18).

Es evidente que todos los cambios observados en los distintos metabolitos están gobernados por reacciones enzimáticas. Las altas temperaturas previas, durante un tiempo prolongado, deben necesariamente influenciar no solamente la velocidad de la reacción enzimática sino también, y en alto grado, el deterioro de las enzimas, y el traslado de la velocidad óptima de reacción hacia temperaturas más bajas. Las diferencias en el balance de glutamina y asparagina registradas podrían reflejar una diferente actividad de las enzimas que operan durante el ciclo de KREBS para los ácidos alfa-cetoglutarico y oxaloacético, como ha sido observado en varias especies (10); o podrían tener su expresión en el metabolismo de los hidratos de carbono a través de un incremento de la actividad respiratoria (13, 27), que desviarían el metabolismo oxidativo normal por una de las tantas rutas metabólicas alternativas (5). En este caso, la clase de compuesto carbonoso que se comporta como aceptor de nitrógeno puede cambiar, y también existe la posibilidad que pueda alterarse tanto la producción de compuestos fosforados rico-energéticos, como su mecanismo de acople al proceso de crecimiento de los tejidos de los tubérculos.

Finalmente las altas temperaturas podrían actuar, como ya se ha mencionado, de una manera similar a como lo hacen los estímulos de la tuberización y del crecimiento de los tubérculos tales como foto y termoperíodo, nivel nutricional nitrogenado, etc. (27, 8, 3, 25, 1).

RESUMEN

Se estudia el metabolismo de amino ácidos y amidas libres, y de proteínas, en clones de papa decaídos ecológicamente (por efecto de altas temperaturas) y clones no decaídos. Tubérculos uniformemente brotados del clon *Katahdin*, divididos en mitades, fueron

sometidos, en lotes separados, a la acción de altas temperaturas (32-34°C) y bajas temperaturas (9-10°C) durante 68 días. Después del tratamiento térmico fueron plantados y cultivados en invernáculo, en ensayo comparativo de rendimiento. Se mostró que el tratamiento de altas temperaturas provocó en la generación hija una disminución de los rendimientos que resultó altamente significativa. En diferentes regiones morfológicas de plantas provenientes de ambos tratamientos, se estudió la composición del nitrógeno soluble y proteico durante su ciclo vegetativo. El post-efecto de las altas temperaturas se manifestó promoviendo un tamaño mayor del compartimiento nitrogenado soluble y una concomitante disminución del compartimiento insoluble en casi todos los órganos analizados. Asimismo promovió variaciones notables en la composición relativa (calidad) de los diferentes amino ácidos y amidas componentes de las fracciones N-soluble y N-proteico. En la fase soluble los metabolitos que más transformaciones sufrieron fueron asparagina, glutamina y arginina, mientras que en la fase insoluble se manifestaron diferentes balances entre hidroxiprolina-prolina y arginina-leucinas. El autor hace una discusión especulativa sobre los cambios observados en la calidad y cantidad de los compartimientos nitrogenados, en los diferentes órganos, en relación a los tratamientos térmicos y la capacidad productiva de las plantas originadas por los tubérculos hermanos en distintos estados fisiológicos.

AGRADECIMIENTOS

Es un placer agradecer al profesor Dr. F. C. STEWARD por sus consejos, amabilidad y apoyo prestado en su laboratorio de la Universidad de Cornell. El autor desea expresar su agradecimiento a Mr. CARL DAVIS, Research Assistant, Vegetable Crops, de la Universidad de Cornell, por suministrar los tubérculos "semillas" empleados en esta investigación. Igualmente agradece al Ing. Agr. ERNESTO MAVRICH, profesor de Cálculo Estadístico de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNC, quien realizó el análisis estadístico del ensayo comparativo de rendimiento.

BIBLIOGRAFIA

1. BOOTH, A., 1963. The role of growth substances in the developmental of stolon. En "The Growth of the Potato". Ed. por J. D. IVING & F. L. MILTHORPE.
2. BURTON, W. G., 1948. The Potato. Chapman & Hall. Londres.
3. CHAPMAN, H. W., 1958. Tuberization in the potato plant. *Physiologia Plantarum*, 11 : 215-24.
4. CLAVER, F. K.; TIZIO, R. y R. E. MONTALDI. 1957. Efectos degenerativos de las altas temperaturas durante la formación de los tubérculos de papa. *Revista de Investigaciones Agrícolas*. 11 (3) : 209-14. Buenos Aires.

5. CRANE, F. A. and F. C. STEWARD. 1962. Effects of day length and of calcium and potassium on the nitrogenous metabolites of *Mentha piperita* L. Part IV. Cornell Univ. Agric. Exp. St. Memoir. 379. Ithaca. New York.
6. FOWDEN, L., 1959. Nitrogenous compounds and nitrogen metabolism in the *Liliaceae*. VI. Changes in nitrogenous composition during the growth of *Convallaria* and *Polygonatum*. The Biochemical Journal. 71 (4) : 643-48.
7. FOWDEN, L. and F. C. STEWARD, 1957. Nitrogenous compounds and nitrogen metabolism in the *Liliaceae*. I. The occurrence of soluble nitrogenous compounds. Annals of Botany. 21 (81) : 53-67. London.
8. GREGORY, L. E., 1956. Some factors for tuberization in the potato plant. Amer. Jour. Bot. 43 : 281-88.
9. KOZLOWSKA, A., 1960. Effects of environment on tuber production, potassium absorption, and susceptibility of potatoes to virus disease in Poland. Amer. Potato Jour. 37 (11) : 366-72.
10. LOOMIS, W. D., 1958. The synthesis of amino acids in plants. En "Encyclopedia of Plant Physiology". VIII. Ed. W. R. RUHLAND, pág. 224-48.
11. MCKEE, H. S., 1958. Nitrogen metabolism of seedlings. En "Encyclopedia of Plant Physiology". VIII. Ed. W. R. RUHLAND, pág. 477-515.
12. MIEGE, E., 1935. Influence du froid sur la conservation et productivité de la pomme de terre. Comp. Rend. de l'Acad. des Sci. 200 : 1976-78. Paris.
13. MONTALDI, E. R.; SÍVORI, E. M.; TIZIO, R. y F. K. CLAVER, 1955. Cambios fisiológicos y bioquímicos entre papa importada (no degenerada) y del país (degenerada). Rev. de Inv. Agrícolas. 9 (2) : 89-95. Buenos Aires.
14. NORRIS, D. O., 1953. *The effect of virus X on yield of potatoes - an assessment*. The Journal of the Australian Institute of Agricultural Science. 19 (4) : 251-56.
15. SALAMAN, R. N., 1926. Potato varieties. Cambridge, Univ. Press.
16. SILBERSCHMIDT, K. and M. KRAMER, 1942. O vírus Y, uma das principais causas da degenerescencia das batatinhas no Estado de São Paulo. O. Biológico. 8 (2) : 38-46. Brazil.
17. SÍVORI, E. M. 1951. La degeneración de la papa. Ciencia e Investigación. 8 (7) : 289-336. Buenos Aires.
18. STEWARD, F. C.; POLLARD, J. K.; PATCHEIT, A. A. and B. WITKOP. 1958. The effects of selected nitrogen compounds on the growth of plant tissue cultures. Biochim. Biophys. 28 : 308-17.
19. THOMPSON, J. F. and F. C. STEWARD. 1951. Investigations of nitrogen compounds and nitrogen metabolism in plants. I. II. Plant. Physiol. 26 : 275-297 and 421-440.
20. THOMPSON, J. F. and F. C. STEWARD, 1952. The analysis of the alcohol-insoluble nitrogen of plants by quantitative procedures based on paper chromatography. II. Jour. of Experimental Botany, 3 (8) : 170-87.
21. TIZIO, R., 1951. Efecto de las altas temperaturas como factor de degeneración de la papa. Phytion. 1 (2) : 69-89.
22. — 1962. La dégenérescence de la pomme de terre; effect de la haute temperature et du virus X sur la variété *Bintje*. Phytion. 18 (2) : 137-50.
23. — y E. R. MONTALDI, 1953. Influencia de las temperaturas de almacenaje sobre la capacidad productiva de la variedad de papa *Huinkul*. Rev. Facultad de Agronomía. La Plata 29 (2) : 133-148. La Plata.
24. — , MONTALDI, E. R.; CLAVER, F. K. y E. M. SÍVORI, 1955. Efecto de las temperaturas previas a la plantación sobre la variedad *Katahdin* en el primer año de cultivo en el país. Rev. de Inv. Agrícolas 9 (2) : 143-54.
25. WENT, F. W., 1959. Effects of environment of parent and grandparent generation on tuber production by potatoes. Amer. J. of Bot. 46 (4) : 277-82.
26. WERNER, H. O., 1934. The effect of a controlled nitrogen supply with different temperatures and photoperiods upon the developmental of the potato plant. Neb. Agri. Exp. Sta. Research Bulletin 75.
27. — 1935. The effect of temperature, photoperiod, and nitrogen level upon tuberization in the potato. Amer. Potato J. 12 (10) : 274-80.