



# Efecto del aluminio y el pH en el crecimiento de raíces de *Phaseolus vulgaris* var. caballero en condiciones de laboratorio

## Effect of aluminum and pH on the growth of roots of *Phaseolus vulgaris* var. caballero under laboratory conditions

Julio Chico Ruíz<sup>1\*</sup>, Lisi Cerna-Rebaza<sup>1</sup>, Karla Hernández-Villalobos<sup>1</sup>, Luz Silva-Pereda<sup>2</sup> y Francisco Vasqueéz-Cunya<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Fisiología y Cultivo de Tejidos Vegetales. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo-Perú. <sup>2</sup>Laboratorio de Biotecnología. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional del Santa. Chimbote. Perú.

### RESUMEN

El aluminio (Al) es el tercer metal más abundante en la corteza terrestre y representa cerca del 8% de la misma. Una gran proporción es incorporada al suelo mineral como aluminosilicatos, con pequeñas cantidades en forma soluble - 1 mg l<sup>-1</sup> (~ 37 µM) a valores de pH mayor de 5 pero su concentración sube a pH menores- y junto con este son capaces de influenciar en los sistemas biológicos. Este metal tiene un efecto tóxico en el crecimiento de la planta sea por su alta concentración en el suelo o en soluciones nutritivas. Con estos antecedentes se propuso conocer el efecto del aluminio y del pH en el crecimiento de raíces de *Phaseolus vulgaris* var. caballero en condiciones de laboratorio. Previo a los tratamientos con Al, las raíces fueron expuestas, por 24 horas, a CaCl<sub>2</sub> (0,5 mM), pH 4,5 en 500 ml de agua destilada. Luego se expusieron a concentraciones crecientes de aluminio 10, 25, 50 y 100 µM. Se evaluó el crecimiento de las raíces y algunas malformaciones que se observaron. Para conocer el efecto del pH, se utilizó agua destilada, CaCl<sub>2</sub> (0,5 mM) y las siguientes medidas de pH: 4,5 -5,0- 5,5 - 6,5. La elongación relativa de la raíz, se ve bastante afectada a la concentración de 100µM de aluminio (27,22±3,61) y en menor proporción cuando es expuesta a 10µM de aluminio (51.86±6,28). El valor de pH 4,5, detiene el crecimiento de las raíces, pero conforme los valores del pH van aumentando el crecimiento de las raíces también va en aumento. Se concluye que el aluminio y el pH (los protones) tienen efecto en el crecimiento de las raíces.

**Palabras clave:** aluminio, pH, *Phaseolus vulgaris*, crecimiento radicular

### ABSTRACT

Aluminum (Al) is the third most abundant metal in the earth's crust and represents about 8% of it. A large proportion is incorporated into the mineral soil as aluminosilicates, with small amounts in soluble form - 1 mg l<sup>-1</sup> (~ 37 µM) at pH values greater than 5 but their concentration rises to lower pH - and together with this they are able to influence on biological systems. This metal has a toxic effect on the growth of the plant either because of its high concentration in the soil or in nutrient solutions. The purpose of this investigation was to know the effect of aluminum and pH on root growth of *Phaseolus vulgaris* var. caballero in laboratory conditions. Prior to all treatments, the roots were exposed for 24 hours to CaCl<sub>2</sub> (0.5 mM), pH 4.5 in 500 ml of distilled water. They were then exposed to increasing concentrations of aluminum 10, 25, 50 and 100 µM. Root growth and some malformations were evaluated. To determine the effect of pH, distilled water, CaCl<sub>2</sub> (0.5 mM) and the following pH measurements were used: 4.5-5.0-5.5-6.5. The relative elongation of the root is strongly affected at the concentration of 100µM of aluminum (27.22 ± 3.61) and to a lesser extent when exposed to 10µM of aluminum (51.86 ± 6.28). The pH value 4.5, stops root growth, but as pH values increase, root growth is also increasing. It was concluded that aluminum and pH (protons) have effect on root growth.

**Key words:** aluminum, pH, *Phaseolus vulgaris*, root ground

## INTRODUCCIÓN

La fitotoxicidad de los metales en el suelo no depende de la concentración total sino de su biodisponibilidad. Entre los factores más relevantes para la disponibilidad podemos mencionar el pH, el potencial de óxido reducción, la capacidad de intercambio catiónico y la materia orgánica. La mayoría de los metales son más solubles en suelos ácidos y solamente la disponibilidad del molibdeno (Mo) suele aumentar con el pH. Por regla general, en un suelo ácido, la forma de catión libre del aluminio ( $\text{Al}^{3+}$ ) suele ser la forma más tóxica<sup>1,2,3</sup>.

Los suelos ácidos ocurren en casi la mitad de los suelos arables no irrigados del mundo (aproximadamente 40%), particularmente en los trópicos. Además, la acidificación del suelo por la fertilización o lluvia ácida causada por la contaminación industrial es una amenaza que se incrementa en la agricultura y ecosistemas naturales en regiones templadas. El área de tierras afectadas por acidez del suelo se está incrementando debido a la contaminación natural atmosférica por ácido nítrico y ácido sulfúrico, por contaminantes antropogénicos, y ciertas prácticas de fertilización<sup>4,5</sup>.

El aluminio (Al) es el tercer metal más abundante en la corteza terrestre y representa cerca del 8% de la misma. Una gran proporción de Al es incorporado al suelo mineral como aluminosilicatos, con pequeñas cantidades en forma soluble -  $1 \text{ mg l}^{-1}$  ( $\sim 37 \mu\text{M}$ ) a valores de pH mayor de 5 pero su concentración sube a pH menores- y capaces de influenciar en los sistemas biológicos. El aluminio en solución es fuente de acidez ya que tiende a formar iones hidroxialuminio y finalmente  $\text{Al}(\text{OH})_3$ , generándose  $3\text{H}^+$  por cada aluminio presente<sup>4,6,7,8</sup>.

En los suelos ácidos la liberación de aluminio (Al), de los minerales que contienen Al, es acelerado y este incremento se vuelve fitotóxico, lo mismo sucede con un incremento en la concentración de hidrogeniones ( $\text{H}^+$ ) o un incremento en la concentración de manganeso. El efecto adverso del suelo ácido sobre el crecimiento de la planta en muchos casos, está directamente relacionado a la toxicidad de los iones de Al disueltos. Con frecuencia, los suelos ácidos presentan poco P aprovechable, una baja capacidad de intercambio de bases y una alta capacidad de lixiviación. De este modo hay que añadir casi todos los nutrientes para mantener la fertilidad en estos suelos. La acidez aumenta la disponibilidad de Fe, Mn y Al, pero con frecuencia estos elementos son tóxicos para la planta. Por lo general, es necesario encalar el terreno para elevar el pH del suelo y superar los problemas de toxicidad. La selección de plantas tolerantes a estos elementos es un método alternativo para resolver algunos problemas de toxicidad<sup>4,6,8</sup>.

El  $\text{Al}^{3+}$  se caracteriza por un elevado índice iónico. Este ión resulta fuertemente tóxico a concentraciones en el rango de unos pocos  $\mu\text{M}$ . Es conocido que el Al se solubiliza en  $\text{Al}^{3+}$  el cual es fitotóxico cuando el pH del suelo baja de 5. Estas bajas concentraciones no influyen de forma apreciable en el potencial osmótico del medio. Así la peligrosidad del  $\text{Al}^{3+}$  para las plantas se debe exclusivamente al estrés iónico sin el componente osmótico del medio externo que se observa en el estrés salino<sup>2,9</sup>.

Los mecanismos de resistencia al Al pueden ser agrupados en dos categorías. Uno está basado en la exclusión del Al de la células de la raíz, y el otro depende de mejorar la resistencia de las plantas una vez que ellos ingresen al citosol. Entre los mecanismos de exclusión, el rol de eflujos de ácidos orgánicos ha sido bien documentado en varias especies. Otro mecanismo potencial de exclusión incluye un incremento en el pH de la rizósfera, la salida de fósforo de la célula, la secreción de proteína unido a los iones de Al y la permeabilidad selectiva de la membrana plasmática para reducir la captación de Al en el citosol<sup>10</sup>.

El mecanismo fisiológico por el cual el Al daña a las células no es bien conocido. El síntoma inicial de la toxicidad por aluminio, en las plantas, es la inhibición en la elongación de la raíz, la cual puede

ser observada a los 30' después de exponerla al Al en una raíz sensitiva a este metal. El ápice de la raíz parece ser el lugar primario para la toxicidad porque se expone los 2 o 3 mm de ápice de la raíz<sup>5,10</sup>. Cuando las raíces crecen en suelo ácidos, el apoplasto o la pared celular es la primera parte de la planta que entra en contacto con el Al. Hay evidencia que la acumulación primaria de aluminio se produce en la pared celular, como se demostró en las raíces de cebada, en la cual el 85%-90% del total de aluminio acumulado estuvo fuertemente unido a la pared celular<sup>11</sup>.

Parece que bajas concentraciones de aluminio estimulan el crecimiento de algunas plantas como alfalfa y trébol violeta (7  $\mu\text{M/l}$ ), grás inglés y otras gramíneas (186  $\mu\text{M/l}$ ), maíz (18  $\mu\text{M/l}$ ), tomate "VFNT cherry" (200  $\mu\text{M/l}$ ), remolacha., maíz y algunas leguminosas tropicales, en el rango de 71,4  $\mu\text{M}$  a 185  $\mu\text{M}$ . En té, especie tolerante, estimula su crecimiento a concentración mayor de 1000  $\mu\text{M}$  o incluso a 6400  $\mu\text{M}$ . Los mecanismos de actuación no están bien dilucidados, pero son, casi con certeza, de naturaleza indirecta<sup>4,12,13,14</sup>.

Entre los cereales, el centeno es el más tolerante a Al seguido por la avena, trigo y cebada<sup>15</sup>. Los cultivares de trigo pueden resistir hasta cuatro veces la concentración de Al en medio líquido que el mayor tolerante, la cebada. Se ha demostrado que la tolerancia a Al o suelos con pH ácido en cebada es controlada por un gen dominante. Múltiples alelos para este gen como también el efecto menor de los genes, también se reportaron modificando el control por el gen mayor<sup>15</sup>.

Desde hace décadas se han concertado esfuerzos para conocer las bases genéticas y fisiológicas de la resistencia de Al en diferentes especies. Así como los experimentos a corto plazo son esenciales para el conocimiento de los mecanismos primarios de toxicidad y las bases moleculares de los mecanismos de tolerancia, los estudios a largo plazo del comportamiento de las poblaciones son de gran interés desde el punto de vista ecológico, de la evolución de los genotipos y de los procesos de adaptación. La resistencia a la toxicidad por  $\text{H}^+$  y  $\text{Al}^{3+}$  son necesarios para la sobrevivencia de la planta en suelos ácidos y tóxicos por aluminio.

*Phaseolus vulgaris* "frejol caballero" es un cultivo muy apreciado por sus frutos y semillas que son de consumo popular; además es una planta muy sensible a las condiciones medio ambientales adversas, por lo que su cultivo se limita a ciertas áreas que llevan los requisitos de clima y suelos nutritivos que exige la planta. Con sus características de tallo corto (menos de un metro), raíces fibrosas, grandes y gruesas, y de ciclo biológico corto (tres meses aproximadamente) permite desarrollar experiencias en el laboratorio, pues la respuesta fisiológica a una situación estresante es rápida<sup>16</sup>.

El principal interés por el aluminio se debe a que algunas especies vegetales (acumuladoras) toleran altos contenidos de aluminio en sus tejidos, y el otro motivo es su efecto tóxico en el crecimiento de la planta por su alta concentración en el suelo o en soluciones nutritivas. Con estos antecedentes, se pretende conocer el efecto del aluminio y del pH en el crecimiento de raíces de *Ph. vulgaris* var. caballero en condiciones de laboratorio.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Preparación del material vegetal:

La semilla certificada de *Ph. vulgaris* var. caballero se adquirió en la estación experimental Donoso (Huaral, Perú) y los ensayos se realizaron en el laboratorio de Fisiología y Cultivo de Tejidos Vegetales de la Universidad Nacional de Trujillo.

En el laboratorio, las semillas fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio al 2% por 5 minutos, luego lavada varias veces con agua destilada estéril y se dejaron remojando, en agua destilada, por 30 minutos. En placas petri, de diámetro de 20 cm., se acondicionaron las semillas para su germinación,

utilizando para ello papel de filtro Whatman N° 1 y 30 ml de agua destilada. Se colocaron 30 semillas por placa y luego, todo el sistema, fue llevado a condiciones de oscuridad y a temperatura de laboratorio, 25°C ±2°C.

Plántulas de tres días de edad, con raíces que presentaban la misma longitud, aproximadamente 2 a 3 cm, fueron seleccionadas y se acondicionaron en un sistema hidropónico que contenía una solución de Hoagland modificada, en base a fertilizantes (Tabla 1) a la tercera parte de su concentración normal, el pH fué 6,5 y el sistema aireado por compresoras de aire. El sistema hidropónico acondicionado en recipientes plásticos, de un litro de capacidad, se llevó a la cámara de crecimiento en el cual había dos fluorescentes de luz blanca (40 w) que permitían un fotoperíodo de 16 horas de luz y ocho de oscuridad (16:8), la temperatura fue medida diariamente (9 a.m. y 7 p.m.) estableciéndose el siguiente promedio 25°C ±2°C . A los 6 días de edad las raíces estaban preparadas para la experiencia, con una longitud promedio de 5 cm. (Fig. 1).

Tabla 1. Solución de fertilizantes utilizaba para el cultivo hidropónico d e *P. vulgaris* var, caballero.

Solución stock	Volúmenes (ml/l)
NH <sub>4</sub> SO <sub>4</sub>	10
KNO <sub>3</sub>	10
Super simple	10
MgSO <sub>4</sub>	10
Fetrilon	01
Micronutrientes	01

## Tratamientos

**a) Efecto del aluminio:** Previo a los tratamientos con Al, las raíces fueron expuestas, por 24 horas, a CaCl<sub>2</sub> (0,5 mM), pH 4,5 y 500 ml de agua destilada. Las plántulas se dispusieron en recipientes plásticos de un litro de capacidad y después fueron llevados a la cámara de crecimiento. Se seleccionaron cinco recipientes plásticos, de un litro de capacidad, en cada uno de ellos se vertió un litro de agua destilada, CaCl<sub>2</sub> (0,5 mM) y se estableció el pH de 4,5 las cuales se corrigieron con HCl 1N o NaOH 1 N. Al final cada recipiente plástico recibió los siguientes tratamientos con aluminio (Al) (Tabla 2):

Tabla 2. Composición del medio de cultivo con diferentes concentraciones de aluminio

Concentraciones	Tratamientos				
AlCl <sub>3</sub> (μM)	0	10	25	50	100
CaCl <sub>2</sub> (mM)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
pH	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5
Agua destilada (ml)	500	500	500	500	500

Las plántulas, de 8 días de edad, se dispusieron en estos recipientes cuya tapa presentaba cinco agujeros de 2 cm de diámetro cada uno. Cada 24 horas se midió la raíz más larga (marcada con tinta china) utilizando para ello una regla y los datos fueron convertidos mediante la siguiente fórmula que permite obtener la elongación relativa de la raíz:

$$\text{ERR} = \frac{\text{longitud de la raíz con aluminio}}{\text{longitud de la raíz sin aluminio}} \times 100$$

Se realizaron tres repeticiones y en cada tratamiento se utilizaron cinco plántulas. Con los datos obtenidos se procedió a realizar el análisis estadístico, utilizando para ello fórmulas de promedio, desviación estándar y análisis de varianza con  $p \leq 0.05$ .

En el transcurso de los ensayos se hicieron anotaciones del crecimiento de las raíces y algunas malformaciones que se vayan manifestando. Con la finalidad de observar el efecto del aluminio a nivel de tejido se hicieron coloraciones con azul de metileno (0,1%) y con rojo neutro (0,1%) de la raíz completa e íntegra para observar la presencia o ausencia de las células del borde, y corte transversal de la parte apical de la raíz, para observar si las células estaban vivas o muertas. Todas las observaciones microscópicas se hicieron utilizando un microscopio de luz, marca NIKON, y con aumento de 400x. También se tomaron datos de peso fresco y peso seco de la raíz.

#### **b) Efecto del pH (protones)**

Para analizar o descartar que el aluminio era el que causaba el efecto y no el pH se procedió a realizar el siguiente ensayo: en recipientes plásticos de un litro de capacidad se vertió un litro de agua destilada,  $\text{CaCl}_2$  (0,5 mM) y se establecieron los siguientes valores de pH: 4,5-5,0-5,5 y 6,5. En cada recipiente se colocaron cinco plántulas de 8 días de edad, las cuales previamente se dejaron 24 horas en  $\text{CaCl}_2$  (0,5 mM). Cada 24 horas se midió la longitud de la raíz utilizando una regla. Se realizaron tres repeticiones y con los datos obtenidos se procedió a realizar el análisis estadístico, utilizando para ello fórmulas de promedio, desviación estándar y análisis de varianza con  $p \leq 0.05$ .

## **RESULTADOS**

La apariencia normal de una raíz de frejol (*P. vulgaris* var. caballero) es de color blanco, de forma cilíndrica, larga, con la zona apical pronunciada y débil, pocas raíces laterales, todas emergen de un mismo centro de origen y con un crecimiento diario promedio de 0,5 cm (datos no presentados) (Fig. 1). Las raíces expuestas al  $\text{CaCl}_2$ , por 24 horas, producen posteriormente numerosas raíces laterales. Cuando las raíces son expuestas a las diferentes concentraciones de aluminio, éstas cambian de color, de crema a marrón, su diámetro sub-apical es mayor, y toda esta zona se torna de un color marrón oscuro. La parte sub-apical se retuerce en diferentes posiciones (Figs. 2 y 3).

La elongación relativa de la raíz, se ve bastante afectada a la concentración de  $100\mu\text{M}$  de aluminio ( $27,22 \pm 3,61$ ) y en menor proporción cuando son expuestas a  $10\mu\text{M}$  de aluminio ( $51,86 \pm 6,28$ ), el análisis de varianza nos indica que hay diferencias significativas para los tratamientos ( $p \leq 0,05$ ) (Fig. 4).



Fig 1. Raíces de *P. vulgaris* var. caballero de seis días de edad

El peso fresco de las raíces se ve afectada a la concentración de  $100\mu\text{M}$  de Al ( $0,30865\text{ g.}$ ) y mucho menos a  $10$  y  $25\mu\text{M}$  ( $0,43\text{ g.}$  y  $0,3323\text{ g.}$ , respectivamente) y lo mismo sucede con los pesos secos de las raíces:  $0,02993\text{ g}$  para  $10\mu\text{M}$ ,  $0,0232\text{ g}$  para  $25\mu\text{M}$ ,  $0,022\text{ g}$  para  $50\mu\text{M}$  y  $0,021\text{ g}$  para  $100\mu\text{M}$ . (Fig. 5).

Las raíces, expuestas a  $100\mu\text{M}$  de Al, al ser coloreadas con azul de metileno ( $0,1\%$ ) observamos que las células del borde están destruidas (Fig. 6) y cuando hacemos un corte transversal de estas raíces la epidermis y la corteza están completamente teñidos –muertos- (Fig. 7). Usando el microscopio, una intensa coloración azul se observa en el ápice de la raíz, acoplado con una severa degradación en la capa epidérmica extendiéndose de la zona de elongación hasta el ápice. El daño fue mucho mayor si se prolonga el tiempo de exposición (de  $24$  a  $72$  horas) y se incrementa la concentración de aluminio, las raíces se vuelven flácidas y se rompen con facilidad.

El efecto del pH, cuando las raíces de frejol caballero son expuestas a pH  $4,5$ , el crecimiento prácticamente se detiene (es lento), pero conforme el pH se incrementa el crecimiento de las raíces también va en aumento. (Fig. 8)

## DISCUSIÓN

Los cambios morfológicos de las raíces de *P. vulgaris* var. caballero cuando son expuestas al aluminio (Figs. 2 y 3) también fueron observados en las raíces de sorgo que recibieron un exceso de Al. Ellas mostraron una marcada reducción de la elongación, eran más gruesas, oscuras y muy viscosas. Las raíces secundarias y las auxiliares nuevas fueron las más afectadas las cuales comenzaron a crecer en mayor número, pero no fueron capaces de desarrollar mucho<sup>6</sup>. El daño por aluminio en las raíces, se debe a que en las partes jóvenes apicales en crecimiento aún no se ha formado la endodermis y exodermis, al no existir esta barrera existe una mayor facilidad del flujo apoplástico continuo hacia la zona vascular. En esta zona apical existe exudación de mucílagos y otros componentes de significación para la nutrición y defensa de la planta. De este modo, por difusión, flujo de masa, interceptación e intercambio catiónico, los metales disponibles alcanzan fácilmente la raíz para seguir las rutas del apoplasto y del simplasto<sup>2</sup>.

La inhibición del crecimiento longitudinal de la raíz es, por regla general, uno de los primeros síntomas externos del efecto tóxico y la medida de la elongación relativa radicular (ERR) suele usarse como indicador temprano, para diferenciar entre genotipos sensibles y tolerantes<sup>2</sup>. En nuestros ensayos

las diferentes concentraciones de aluminio afectaron la elongación de la raíz (Figs. 4 y 5,  $p \leq 0.05$ ) y este fue mayor a  $100 \mu\text{M}$ . Igual efecto tuvo esta concentración para los pesos fresco y pesos secos de las raíces. La elongación de las raíces se debe al conjunto coordinado de los procesos de división celular y alargamiento celular que se produce en la zona apical de las raíces. Es precisamente en esta zona apical donde se inicia el efecto tóxico de la mayoría de los metales. La inhibición de la división celular en el meristemo apical y/o de la elongación celular no solamente producen la reducción en la longitud total del sistema radicular sino en muchas ocasiones también inducen un engrosamiento radial y un estímulo en la producción de raíces laterales que debido al efecto tóxico del metal tampoco llegan a crecer longitudinalmente. Varios resultados sugieren que la unión del Al a la pared celular juega un rol importante en la inhibición de la elongación celular. El resultado de este patrón anómalo de crecimiento es un sistema radicular corto, achaparrado, sin apenas pelos radiculares. Este sistema radicular es poco eficiente en la exploración del suelo y tiene una capacidad muy restringida de absorción de agua y de nutrientes esenciales. Consecuencia indirecta de estas limitaciones son la mayor sensibilidad a la sequía y a la deficiencia mineral, especialmente de fósforo y de potasio de estas plantas<sup>2,10,17</sup>. En los casos de estimulación del crecimiento, por ejemplo, *Zea mays* una especie tolerante, esto se relaciona con la estimulación del tamaño de la cubierta de la raíz mejorando la actividad del meristemo apical<sup>18,19,20</sup>.

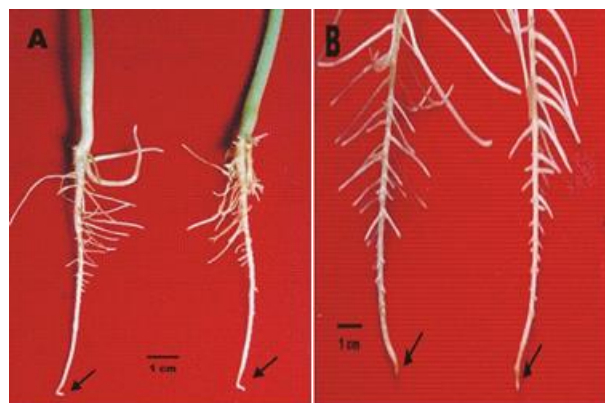


Fig 2. Raíces de *P. vulgaris* var. caballero expuestas a  $100 \mu\text{M AlCl}_3$ .

- A) 8 días de edad, 24 horas expuestas al aluminio, se observa el ápice radical en ángulo recto (flecha)  
 B) 11 días de edad, 72 horas expuestas al aluminio, observamos numerosas raíces laterales, ápice radical grueso y de color marrón (flecha)

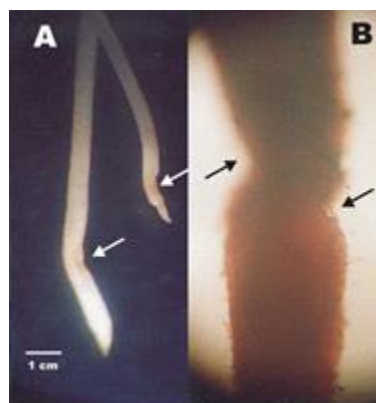


Fig 3. Raíces de *P. vulgaris* var. caballero dañadas por aluminio (100 M A) Vista macroscópica con estereoscopio, 45x. La flecha señala el daño del aluminio sobre la raíz. B) Vista microscópica, 100x, coloración con rojo neutro (0,1%). La misma observación indicando como la superficie de la raíz ha sido alterada.

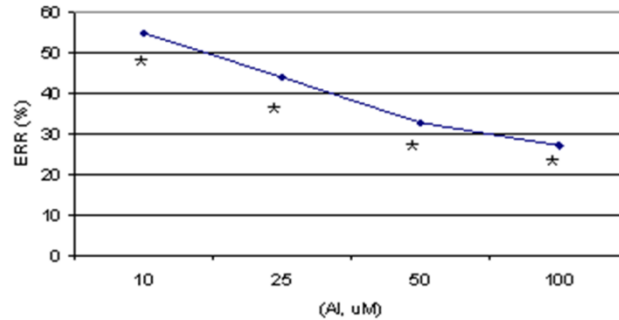


Fig. 4: Elongación relativa de la raíz (ERR, %) de *P. vulgaris* var. caballero cuando son expuestas a diferentes concentraciones de aluminio por 3 días ( $\bar{X} \pm DE$ ,  $n = 15$  plántulas). Los asteriscos indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p = 0.05$ )

El lugar inicial para la captación de Al es el ápice radical y la capa de mucílago, se muestra al colorear con azul de metileno (0,1%), un colorante que se une al Al, *in vitro*, y forma un complejo coloreado. Las raíces expuestas a 100  $\mu\text{M}$  Al no presentan mucílago, ni células de borde ni otras secreciones propias de la raíz (fig. 6, 8). Las raíces jóvenes y sanas liberan exudados como mucílagos, células del borde y otras sustancias relacionadas, en respuesta al ambiente y a señales endógenas. Se ha hipotetizado que el aluminio reduce la secreción de mucílago en la célula periférica aumentando su efecto tóxico o sea que protege a los ápices radicales de la toxicidad al aluminio, posiblemente exudando un mucílago que ligue a esta sustancia tóxica<sup>5,19</sup>.

Cuando las raíces de “frejol caballero” se expusieron a diferentes valores de pH, su elongación se vió afectada a pH 4,5 (Fig. 8) esto se debe a que el ión  $\text{H}^+$  puede tener un efecto directo sobre el crecimiento de las plantas al causar daños al sistema radical. Por otro lado, el exceso de hidrógeno puede disminuir el aprovechamiento de otros cationes debido



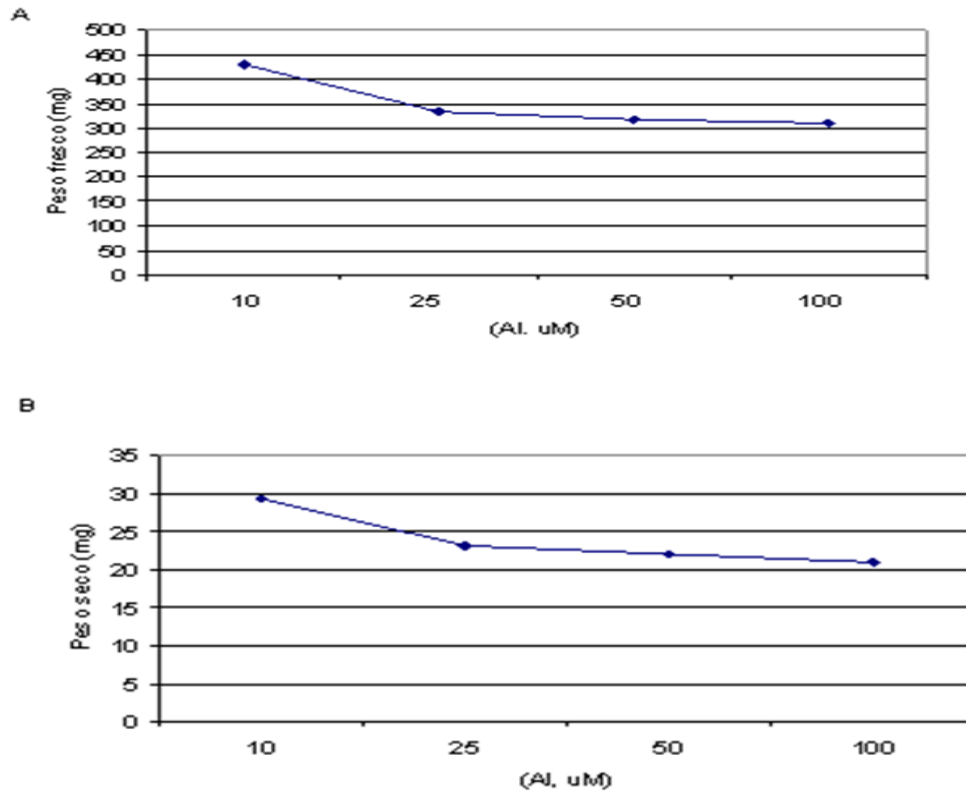


Fig. 5: Diferencias en los pesos de las raíces expuestas al estrés por aluminio. Las raíces *P. vulgaris* var. caballero fueron cultivadas a niveles creciente de aluminio (10, 25, 50, 100 uM) por 3 días. A) Peso fresco de las raíces, en mg ( $\bar{X} \pm DE$ ,  $n = 15$  plántulas ). B) Peso seco de las raíces en mg ( $\bar{X} \pm DE$ ,  $n = 15$  plántulas ).

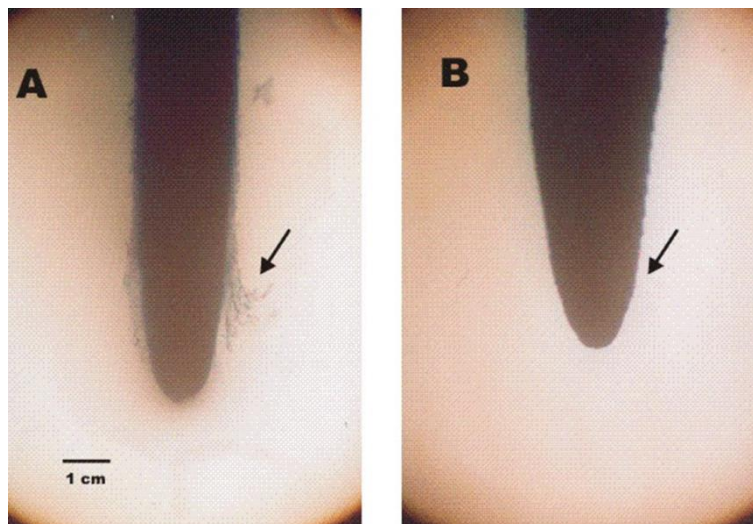


Fig 6. Raíces de *P. vulgaris* var. caballero afectadas por aluminio (100  $\mu$ M a las 24 horas. La coloración se hizo con azul de metileno (0,1%). A) Sin aluminio y con células del borde (flecha). B) Con Al y sin células del borde (flecha).

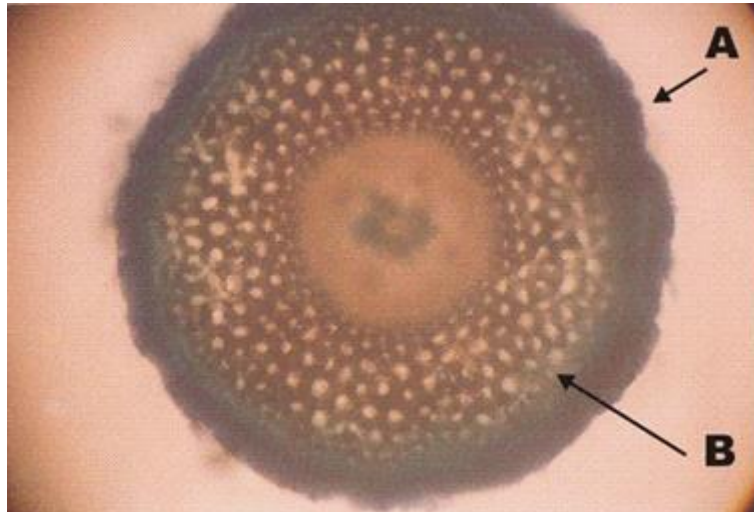


Fig 7. Raíz de *P. vulgaris* var. caballero expuesta a 100  $\mu$ M Al por 24 horas (corte transversal, 100X, coloración azul de metileno-0,1%-) A) superficie de la raíz deteriorada. B) zona de la corteza alterada por el aluminio.

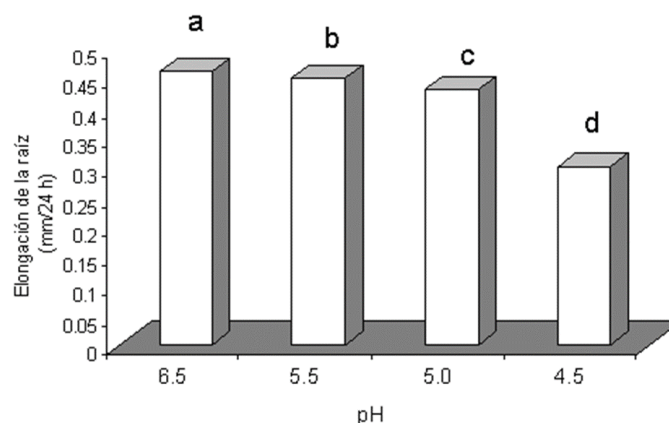


Fig. 8: Efecto de los diferentes valores de pH sobre la elongación de la raíz de *P. vulgaris* var. caballero. Las plántulas fueron expuestas a 0,5 mM  $\text{CaCl}_2$  con diferentes valores de pH. Las longitudes de las raíces fueron medidas a las 24 horas utilizando una regla. ( $\bar{X} \pm DE$ ,  $n = 15$  plántulas). Las letras diferentes indican diferencias significativas ( $p = 0.05$ ).

a competencia por los sitios de absorción. La presencia de cationes, metálicos tóxicos, como por ejemplo  $\text{Al}^{3+}$ , o incluso una excesiva acidez (toxicidad de  $\text{H}^+$ , protones, a pH inferior a 4,1) desplazaría estos cationes esenciales ( $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  que contribuyen a la estabilidad de las membranas) desestabilizando las membranas y causando múltiples disfunciones. También es posible el hecho que inicialmente la inhibición del alargamiento radicular causado por un exceso de protones o ciertos iones metálicos sea rápidamente reversible por la adición de  $\text{Ca}^{2+}$  u otros iones metálicos<sup>2,7</sup>. Es probable que al aumentar la concentración de hidrogeniones la captación de cationes es inhibida por dos razones: (i) deficiencia en la salida de  $\text{H}^+$  debido a una alteración de la membrana y de la bomba de protones y (ii)

disminución en la carga de cationes polivalentes ( $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ) en el apoplasto de las células corticales de la raíz. De acuerdo a la concentración externa de estos cationes, bajando el pH, decrece su captación y la adición de aluminio, como un fuerte competidor polivalente para los sitios de unión en el apoplasto, entonces se acentuaría este decrecimiento<sup>19</sup>. En espinaca, el crecimiento de la raíz fue inhibido a pH 4,5 quizás para evitar el efecto protector del oxalato que es secretado por las raíces cuando se exponen al aluminio<sup>20</sup>. Se ha reportado que su toxicidad, de los protones, inhibe la elongación de la raíz en varias especies vegetales y que el desplazamiento del  $Ca^{2+}$  por los protones es parte de la acción tóxica. Futuros ensayos son necesarios para analizar estas posibilidades.

Sin embargo, información adicional sobre la adaptación al estrés por protones es necesario conocer, para dilucidar que la resistencia al aluminio y la resistencia a los protones son controlados por mecanismos separados. Una resistencia a la toxicidad por aluminio y por protones son necesarios para que la planta sobreviva en acidez, o sea suelos con concentraciones de aluminio tóxicos.

En conclusión, las diferentes concentraciones de aluminio afectan la elongación de la raíz, como también disminuyen sus pesos frescos y sus pesos secos (la concentración de  $100\mu M$  de Al es la que mayor daño causó a las raíces y pH 4,5 inhibe la elongación de la raíz).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lavado RS, Rodríguez MB, Taboada MA. Treatment with biosolids affects soil availability and plant uptake of potentially toxic elements. *Agriculture, Ecosyst & Environm*, 2005; 110(3-4):119-122
2. Poschenrieder C, Barceló J. Estrés por metales pesados. En: Reigosa M, Pedral N, Sánchez A. (eds.), *La Ecofisiología vegetal: Una ciencia de síntesis*. Madrid: Thomson Editores Spain Paraninfo, S.A. 2002; pp.413-442.
3. Werner W. Biotransfer of heavy metals as a function of site-specific and crop-specific factors. *Plant Res & Develop*, 1996; 43:31-49
4. Marschner H. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 2nd ed. London: Academic Press limited. 1997.
5. Miyasaka SC, Hawes MC. Possible role of root border cells in detection and avoidance of aluminum toxicity. *Plant Physiol*, 2001; 125:1978-1987
6. Clark RB. Respuestas de las plantas a la toxicidad y deficiencia de elementos minerales. En: Christiansen y Lewis (eds.), *Mejoramiento de plantas en ambientes poco favorables*. México, DF: Noriega Editores. 1991.
7. Solórzano PPR. Fertilidad de suelos, su manejo en la producción agrícola. Alcance 51. *Revista de la Facultad de Agronomía*. Universidad Central de Venezuela. Maracay-Venezuela. 1997.
8. Zheng SJ, Yang JL. Target sites of aluminum phytotoxicity. *Biol Plantarum*, 2005; 49(3):321-331
9. Feng You J, Fen He Y, Li Yang J, Jian Zheng S. A comparison of aluminum resistance among *Polygonum* species originating on strongly acidic and neutral soils. *Plant and Soil*, 2005; 276:143-151
10. Zheng SJ, Yang JL. He YF, Yu XH, Zhang L, You JF, Shen RF, Matsumoto H. Immobilization of aluminum with phosphorus in roots is associated with high aluminum resistance in buck wheat. *Plant Physiol*, 2005; 138:297-303
11. Zheng SJ, Lin X, Yang JY, Liu Q, Tang, C. The kinetic of aluminum adsorption and desorption by root cell walls of an aluminum resistant wheat (*Triticum aestivum*) cultivar. *Plant & Soil*, 2005; 261:85-90
12. Meredith C. Selection and characterization of aluminum-resistant variants from tomato cell cultures. *Plant Science Letters*, 1978; 12:25-34
13. Meredith C. Response of cultured tomato cells to aluminum. *Plant Science Letters*, 1978; 12:17-24
14. Urbano Terrón P. *Tratado de Fitotecnia General*. 2º ed. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa. 1992.
15. Hossain M, Zhou M, Mendham N. A reliable screening system for aluminum tolerance in barley cultivars. *Australian J Agricul Res*, 2005. 56:475-482
16. Padilla E, Tuesta CL, Saldaña JA. Determinación de la acumulación del plomo en cuatro variedades de *Phaseolus vulgaris*. En: X Jorn Investig en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú. 2005; pp.105-117.

17. Pineros MA, Magalhaes MA, Carvalho Alves VM, Kochian LV. The physiology and biophysics of an aluminum tolerance mechanism based on root citrate exudation in maize. *Plant Physiol*, 2002; 129:1194-1206
18. Wenzl P, Patiño GM, Chaves AL, Mayer JE, Rao IM. The high level of aluminum resistance in signal grass is not associated with known mechanisms of external aluminum detoxification in root apices. *Plant Physiol*, 2001; 125:1473-1484
19. Yang JL, Zheng SJ, He YF, You JF, Yu X.H. Comparative studies on the effect of a protein-synthesis inhibitor on aluminum-induced secretion of organic acids from *Fagopyrum esculentum* Moench and *Cassia tora* L. roots. *Plant Cell & Environm*, 2005; 21:1-7
20. Yang JL, Zhen SJ. He YF, Matsumoto H. Aluminum resistance requires resistance to acid stress: a case study with spinach that exudes oxalate rapidly when exposed to Al stress. *J Experim Botany*, 2005; 56:1197-1203

<p><b>Presentado en:</b> julio, 2015 <b>Aprobado en:</b> setiembre 2015 <b>Correspondencia:</b> jchico@unitru.edu.pe</p>
--