

LOS MACRONUTRIENTES CATIONICOS EN LA FISIOLOGIA DE LAS PLANTAS

por

I. AGÜI MARTIN y M. C. ALVAREZ TINAUT

1.—INTRODUCCION

Entre los elementos minerales encontrados en el análisis químico de las plantas, sólo algunas se consideran como esenciales para un metabolismo normal, de acuerdo con los criterios de ARNON y STOUT (3, 4, 5) y NICHOLAS (113). Desde un punto de vista exclusivamente cuantitativo, dichos elementos suelen dividirse en dos grandes grupos: macro y micronutrientes. En el grupo de los macronutrientes, además del C, H y O, se hallan incluidos el N, P, S, K, Ca y Mg. Atendiendo a la forma en que son preferentemente absorbidos por la planta, el N, P y S, se denominan "macronutrientes aniónicos", mientras que el K, Ca y Mg serían "macronutrientes catiónicos".

En la presente revisión haremos un estudio de cada uno de los macronutrientes catiónicos por separado, atendiendo principalmente al papel que desempeñan en el metabolismo de la planta, aunque también trataremos otros aspectos de interés fisiológico. Sin embargo, antes de comenzar dicho estudio conviene considerar brevemente las disponibilidades de los macronutrientes catiónicos en el suelo, lo que queda justificado por el hecho de que éste constituye el sustrato natural de las plantas terrestres.

El suelo es un medio heterogéneo formado por: a) una *fase sólida* constituida por materia mineral procedente de las rocas y materia orgánica en diferentes grados de descomposición; b) una *fase líquida* generalmente llamada "solución del suelo", donde se encuentran disueltos los iones; y c) una *fase gaseosa*,

también llamada "atmósfera del suelo", que rellena aquellos intersticios no ocupados por la fase líquida.

Normalmente los iones disueltos en la fase líquida representan la fuente de nutrientes más inmediata para la raíz. Sin embargo, la fase sólida es, a la larga, la principal reserva de nutrientes, ya que al estar en equilibrio con la fase líquida repone los iones absorbidos por la raíz, permitiendo que su concentración en la solución del suelo se mantenga constante.

Aunque los *macronutrientes catiónicos* pueden encontrarse ligados a las partículas del humus en cantidades significativas, sin embargo, la mayor parte de estos elementos están principalmente asociados a los compuestos inorgánicos de la fase sólida, formando parte de minerales tales como: feldspatos, biotita, montmorillonita y anortita, en formas no directamente asimilables por las plantas. La liberación de elementos de la fase sólida a la solución del suelo puede realizarse no sólo por solubilización de las sales que integran los minerales, sino también mediante fenómenos de intercambio catiónico. En efecto, las partículas sólidas de arcilla y materia orgánica, que por hallarse cargadas negativamente son capaces de absorber cationes, pueden actuar como materiales de intercambio catiónico, de forma que ceden cationes a la solución del suelo a cambio de H^+ . Por otra parte, en determinadas condiciones la raíz puede intercambiar directamente H^+ por los cationes de la fase sólida, sin necesidad de que pasen previamente por la fase líquida.

La "capacidad de intercambio catiónico" de un suelo es una medida de la cantidad de cationes intercambiables presentes en el mismo, y varía según el tipo de suelo. Así, los suelos calcáreos suelen tener una capacidad de cambio más elevada que los suelos silíceos.

La mayoría de los suelos contienen menos de 200 ppm de macronutrientes catiónicos, aunque en ocasiones se han encontrado valores por encima de los 1.000 ppm. A medida que aumenta la acidez del suelo disminuyen las disponibilidades de estos cationes, en parte porque una gran proporción de los lugares de intercambio catiónico de las partículas del suelo están ocupadas por H^+ , y en parte porque los H^+ compiten con los cationes metálicos por los lugares de unión del transportador en las células de la raíz.

2.—ESTUDIO FISIOLÓGICO DEL POTASIO

2.1.—INTRODUCCION.—El K es el único catión monovalente indispensable para todos los seres vivos sin distinción. Para las plantas se le considera un macronutriente catiónico esencial, encontrándose en los tejidos en una concentración media de 0,25 átomos-mg/g. Los fenómenos patológicos de la deficiencia de K se presentan, generalmente, cuando su concentración en los tejidos desciende al 50 por ciento de la óptima. Los resultados analíticos, obtenidos de una multitud de especies vegetales, permiten afirmar que la concentración normal de K excede a la de cualquier otro nutriente de tipo catiónico y que sólo la supera el nitrógeno entre los macronutrientes minerales. Su especificidad cualitativa está también plenamente probada, ya que ningún otro elemento puede reemplazarse totalmente (51). Sólo el Rb, que posee unas propiedades químicas muy parecidas, parece ser capaz de sustituirle parcialmente en algunos organismos vegetales, aunque para algunos autores tal capacidad de sustitución resulta discutible.

Mediante cultivos hidropónicos de flujo continuo, en los que el K era el único nutriente limitante del crecimiento, se ha podido establecer que basta una concentración de $10^{-5}M$ en el medio de cultivo (6), para permitir el normal crecimiento de las plantas. A este respecto, es interesante señalar que aplicando los análisis cinéticos de Michaelis-Menten a las curvas de absorción de K, de acuerdo con la teoría de los "transportadores", se obtienen unos resultados del orden de $3 \times 10^{-6}M$, muy concordantes con la concentración mínima suficiente establecida experimentalmente. Es de destacar que si los cálculos se realizan considerando las constantes de estabilidad de los complejos de K actualmente conocidos (12), la concentración mínima necesaria supera ampliamente estos valores.

Debido a la labilidad de los complejos que probablemente forma el K, este elemento presenta una gran movilidad dentro de la planta, emigrando siempre hacia los tejidos más jóvenes; es por ello que los síntomas de deficiencia aparecen, de forma invariable, localizados primariamente en los órganos más viejos.

2.2.—EFECTOS DE LA DEFICIENCIA Y TOXICIDAD DE K

2.2.1.—*Sintomas visuales de deficiencia de K.*—Los síntomas de deficiencia de K presentan una serie de características que, aunque diferentes en los detalles, son bastantes análogas en la mayoría de las plantas. En general, la deficiencia de K determina una considerable disminución del crecimiento, acompañada del acortamiento de los entrenudos y engrosamiento del tallo, adquiriendo la planta un porte “achaparrado”. El desarrollo de la raíz también queda afectado, aunque con menos intensidad que el tallo, por lo que el cociente tallo/raíz disminuye significativamente (110). Otra característica de la deficiencia de K es la pérdida de la dominancia apical (20), que determina el desarrollo de numerosas yemas axilares, lo que sugiere un cambio en el control hormonal de este fenómeno. Cuando la deficiencia es muy intensa, las yemas tanto terminales como axilares acaban por morir.

En las hojas, la deficiencia de K va siempre asociada con la detención del crecimiento del limbo, en aquellas regiones donde dicho crecimiento se localiza: bordes y ápices. No obstante, el síntoma más característico de la deficiencia de K en las hojas, es la necrosis. Esta puede presentarse al azar —en pequeñas y numerosas manchas necróticas, o en grandes manchas irregulares— pero generalmente se inicia, como una continuación de la detención del crecimiento, en el ápice y en los bordes (160, 161), llegando a alcanzar a veces la mitad del limbo foliar. En esta fase se produce la caída de la hoja.

Se ha sugerido que la necrosis se encuentra asociada con una elevación de la actividad del enzima tirosinasa. También se ha observado que las lesiones necróticas que se desarrollan en la deficiencia de K —especialmente cuando ésta va acompañada de elevados niveles de Ca— se debe a, o está asociada con, la acumulación de putrescina (25, 26, 124, 125), compuesto nitrogenado que se produce como consecuencia de la alteración del metabolismo y que es responsable de la muerte de las células. A veces, la necrosis puede ir acompañada o precedida de otros síntomas, como son la aparición de tonos verde-azulados, verdes oscuros, verdes pálidos, o bronceados, dependiendo de la clase de planta. Asimismo, se ha podido observar que las hojas pueden sufrir deformaciones, curvándose y enrollándose. En la ma-

yoría de los casos los síntomas de deficiencia de K se manifiestan primero en las hojas viejas, y más tarde en las jóvenes (116, 119).

En algunas especies pueden aparecer síntomas característicos de deficiencia en otras partes de la planta, como peciolo y frutos. Así, en el caso del tomate, los frutos pueden madurar irregularmente, mostrando manchas amarillo-verdosas, que destacan en el color rojo de la superficie ("blotchy-ripening") (163).

2.2.2.—*Efectos anatómicos e histológicos asociados con la deficiencia de potasio.*—Uno de los efectos más importantes debidos a la deficiencia de K, es la pérdida de la actividad cambial, excepto en el ápice del tallo, y el aumento de la lignificación (116). En las hojas, las primeras células que se necrosan son las del tejido en empalizada (110), mientras el tejido lagunar se afecta más tarde. Algunos autores (103, 148, 156) han observado también que los cloroplastos sufren alteraciones como consecuencia de la deficiencia de K.

Por último, en raíces escindidas de tomate se ha visto que la falta de este elemento suprime la formación de raíces secundarias, pero no evita su elongación (165).

2.2.3.—*Síntomas de toxicidad de potasio.*—Casi sin excepción, el exceso de K sólo se presenta como consecuencia de aplicaciones excesivas de este elemento (155). La razón de que sea muy rara la aparición de toxicidad de K es su facilidad para fijarse en el suelo, tanto en la formación cambiante como en la no cambiante, con lo que las plantas nunca llegan a absorberlo en cantidades excesivas. Es por esto que solo en algunos cultivos se han descrito síntomas visuales como característicos de la toxicidad de K. Así, en cultivos de agrios (16) el primer síntoma de exceso de K es un retraso en el crecimiento. Cuando el exceso es grande puede producirse defoliación y, menos frecuentemente, la aparición de zonas necrosadas semejantes a las que se observan cuando hay un exceso de sales solubles.

Por otra parte, en experiencias realizadas con cultivos artificiales (33) se ha puesto de manifiesto que, efectivamente, los árboles con exceso de K se desfolian y se desarrollan menos, hasta quedar incluso enanos, pero no se observan síntomas característicos en las hojas ni quemaduras en las mismas; a lo sumo, puede aparecer una sintomatología foliar que recuerda

la carencia de Mn, pero sin que se observen alteraciones de ninguna clase en ramas ni troncos. Los autores son de la opinión de que el contenido de K en las plantas puede fluctuar entre límites muy amplios, sin que afecte materialmente la producción y desarrollo de las mismas ("consumo de lujo").

Por último, se ha visto que el exceso de K produce un fruto más grande, pero de calidad inferior (117).

2.3.—FUNCION DEL POTASIO EN EL METABOLISMO DE LAS PLANTAS SUPERIORES

2.3.1.—*Generalidades.*—A diferencia de los otros macroelementos, no se ha podido demostrar de forma concluyente que el K entre en la composición de ninguno de los constituyentes celulares —proteínas, grasas, carbohidratos, clorofila o enzimas— que intervienen en el metabolismo de la planta. Esto no quiere decir que no pueda cambiarse de forma efectiva con estos compuestos, pero debido a que los complejos de K son relativamente débiles e inespecíficos, resulta imposible los tejidos vegetales y mucho menos identificarlos.

El papel metabólico del K es, por tanto, muy difícil de determinar, y a pesar de los estudios realizados en este sentido, aún no se puede decir que las funciones del K estén perfectamente definidas.

El estudio de las consecuencias producidas por la deficiencia de K ha puesto de manifiesto que, bajo estas condiciones, las plantas presentan un amplio cuadro de anormalidades metabólicas, lo cual sugiere que este elemento debe actuar "in vivo" sobre procesos muy diferentes. Por otra parte, se ha comprobado que más de 30 enzimas (que intervienen en diferentes etapas metabólicas) requieren para su funcionamiento "in vitro" la presencia de iones K^+ (51). Relacionando las alteraciones provocadas por la deficiencia de K con los enzimas activados "in vitro" por este elemento, se puede elaborar un cuadro general de las posibles funciones del K en el metabolismo vegetal. De esta forma, el papel de K quedaria justificado a nivel enzimático, y ello suministraría una base teórica adecuada para comprender el carácter único de la esencialidad del K dentro de los metales alcalinos, singularidad que no podía explicarse considerando al K como un simple regulador inespecífico de pro-

cesos físico-químicos en la célula: mantenimiento de un estado coloidal apropiado, funcionamiento osmótico de la célula, etc.

Estudiaremos, pues, en primer lugar, algunas particularidades del comportamiento del K como activador de sistemas enzimáticos, y a continuación consideraremos la intervención de este elemento en los principales procesos metabólicos, así como las diferentes explicaciones que se han propuesto para justificar dicha intervención.

2.3.2.—*El potasio en los sistemas enzimáticos.*—Parece perfectamente establecido que el principal papel del K es la activación específica de numerosos enzimas (51). Aunque "in vitro" puede a veces ser sustituido por otros cationes monovalentes, éstos resultan siempre menos efectivos que el K, por lo que no cabe duda que este elemento debe ser el catión monovalente funcional "in vivo". Ahora bien, en contraste con otros elementos que también actúan como activadores o cofactores enzimáticos, el K solo ejerce dicha acción a concentraciones extraordinariamente elevadas. La explicación del fenómeno parece estar en la poca afinidad del elemento por los ligandos orgánicos. Se necesitan, por tanto, grandes cantidades de K para que la reacción se desplace hacia la formación del complejo enzima-K o enzimasustrato-K (76).

2.3.3.—*El potasio en los procesos metabólicos.*

2.3.3.1.—*El potasio en el metabolismo glucídico.*—Uno de los primeros síntomas que provoca la deficiencia de K, es la alteración de los procesos relacionados con la síntesis y degradación de los hidratos de carbono. Experiencias realizadas con plantas enteras (63) pusieron de manifiesto que la intensidad de la fotosíntesis disminuía con la severidad de la deficiencia de K. Esto puede deberse, sin duda, a numerosas causas:

En primer lugar, se ha comprobado que la concentración de K en los tejidos está correlacionada positivamente con el tamaño de la hoja, aunque no con el número de ellas (79, 80). Además, el período de actividad de las hojas también aumentaba con la concentración de K (79, 80). Resulta, así, que el K incrementa el área foliar funcional, debido al mayor número de hojas activas y al aumento en superficie de las mismas.

Otra posible explicación de la disminución de la actividad fotosintética en condiciones de deficiencia de K, podría ser la acumulación de azúcares, que daría lugar a una inhibición por retroceso. En efecto, algunos autores han observado que, como consecuencia de la deficiencia de K, se altera el contenido de glúcidos en la planta, en el sentido de una acumulación de carbohidratos solubles (132) —incluyendo azúcares reductores (27, 43, 69, 164)— y una disminución del contenido de polisacáridos (27, 116, 132). Esta alteración puede tener su origen a nivel enzimático, considerando que el K activa numerosos enzimas implicados en procesos tales como: ciclo de Krebs, formación de ATP o síntesis de ácidos grasos (51). Pero también puede deberse al hecho, al parecer indiscutible, de que la deficiencia de K disminuye el transporte de los productos fosfosintetizados en la hoja (70). Sin embargo, como sugiere EPSTEIN (49), no se ha comprobado hasta qué punto este efecto no es una consecuencia indirecta de haberse dañado el floema.

En cualquier caso, parece ser que el K está directamente implicado en el proceso fotosintético, a través de su relación con los cloroplastos. En efecto, la gran cantidad de K encontrado en estas organelas (93, 130, 140) parece tener un significado funcional, tanto para el mantenimiento de la estructura (103, 148, 156), como para el normal desarrollo de la actividad de dichas organelas (88).

2.3.3.2.—*El potasio en el metabolismo proteico.*—La acumulación de aminoácidos y amidas (27, 64, 65, 69, 126, 139, 158), así como la incapacidad para utilizar los aminoácidos (27, 43, 55, 64, 65, 69, 126, 133, 139, 158), observadas en las plantas deficientes de K indican que, bajo dichas condiciones, la síntesis proteica debe hallarse disminuida.

La explicación de estas anomalías se ha buscado a nivel bioquímico, basándose en el hecho de que el K se halla implicado en varias etapas de la proteosíntesis (51, 127). Sin embargo, los trabajos de HSIAO et al. (78) no concuerdan con la hipótesis de que el K tenga un papel directo en la síntesis proteica. Quizás, como se ha sugerido (124), la deficiencia de K aumenta la proteólisis, lo cual provocaría unas alteraciones muy semejantes a las descritas.

2.3.3.3.—*El potasio en el equilibrio hídrico: apertura y cierre de los estomas*—Entre las funciones fisiológicas de tipo físico-químico que tradicionalmente se han atribuido al K, destaca el papel de este elemento en la economía del agua. Así, mientras el Ca reduce la hídricación de los tejidos, el K la incrementa, manteniendo la presión de turgescencia en las células.

Este papel del K resulta de enorme trascendencia en la regulación de determinados procesos, tales como la apertura y cierre de los estomas. Aunque el mecanismo propuesto para explicarlo estaba basado en fenómenos de tipo osmótico, se había considerado que las únicas sustancias responsables eran los carbohidratos solubles; sin embargo, más tarde se ha podido comprobar que también la apertura y cierre de los estomas está estrechamente relacionada con la acumulación y extrusión de iones K^+ por las células de guardia (52, 56, 82, 131). Estos movimientos iónicos presentan características típicas de un transporte activo, que se llevaría a cabo a través de un mecanismo de alta especificidad. En efecto, a excepción del Rb^+ , los demás cationes resultan mucho menos efectivos (81). Algunos investigadores (118, 166), sin embargo, han encontrado que el Na^+ resultaba tan efectivo como el K^+ en la apertura de los estomas, y que el mecanismo de actuación era similar en ambos casos.

Recientemente se ha descubierto que asociado a la aparición de los primeros indicios de marchitamiento, se produce en la hoja un incremento en la concentración de ácido abscísico (ABA) (167, 168), lo que parece ser causa del cierre de los estomas (111). Aparentemente la acción del ABA consiste en facilitar la extrusión de iones K^+ de las células de guardia (90, 101).

3.—ESTUDIO FISIOLÓGICO DEL CALCIO

3.1.—INTRODUCCION.—Aunque el uso de calizas y gredas en agricultura data de los tiempos precristianos (ref. en 149), el Ca no fue reconocido como elemento esencial para las plantas superiores hasta mediados del siglo pasado (151).

Los análisis de una gran variedad de plantas, bajo condiciones ambientales muy diferentes, indicaron que el contenido de Ca suele ser bastante elevado, aunque variable, dependiendo de las distintas especies y del órgano considerado. Así, mientras el contenido en las hojas de algunas dicotiledóneas alcanza

valores de hasta un 3-4 por ciento del total de materia seca (9), las hierbas y los cereales, presentan concentraciones más bajas (0,2-0,5 por ciento). Las raíces, tanto en mono como en dicotiledóneas, suelen tener menos Ca que los vástagos, y los frutos y las semillas sólo lo contienen en pequeñas cantidades. De acuerdo con los altos valores encontrados, las soluciones que se han venido usando desde entonces para cultivos hidropónicos contenían de 200 a 300 ppm de Ca (77).

A la vista de las anteriores observaciones es natural que el Ca se considerase como un macronutriente. Sin embargo, recientemente, algunos autores han sugerido que los requerimientos de este elemento, al menos para muchas plantas superiores, se han sobreestimado. En efecto, PHARIS et al. (120) han establecido que las necesidades de Ca para el "Pinus taeda" L. eran muy bajas; por otra parte, WALACE et al. (159) han sido capaces de cultivar tabaco y maíz en una solución que sólo contenía unas pocas ppm de Ca, con tal de que otros iones —potencialmente tóxicos, aunque esenciales— como Mg, Cu, Fe y Mn se mantuviesen a un nivel adecuado. LONERAGAN et al. (97) también cultivaron numerosas plantas con concentraciones de calcio muy bajas ($3 \cdot 10^{-4}$ — 1 mM), comprobando que sólo en un margen muy estrecho ($3 \cdot 10^{-4}$ — $25 \cdot 10^{-4}$ mM), el incremento de Ca repercutía en la cosecha; por encima de este valor no se acusaba un aumento de peso, aunque la absorción de Ca por la planta era mayor.

Otros hechos, como la capacidad de los iones Ca^{++} para contrarrestar los efectos adversos producidos por una concentración elevada de H^{+} —sobre la elongación de las raíces— (18, 19) o sobre la absorción iónica (87, 121)— así como su efecto protector frente a cantidades tóxicas de metales pesados (36, 107, 114, 150), hacen suponer que los altos niveles de Ca utilizados en el crecimiento de las plantas son necesarias principalmente para disminuir las toxicidades de ciertos iones, y que el papel del Ca, bajo condiciones ideales, podría aproximarse al de un micronutriente.

En cuanto a la movilidad de este elemento, WALLACE (163) hace notar que aunque la mayor parte del Ca presente en la planta se encuentre en forma soluble, éste no se desplaza fácilmente a través de ella, acumulándose en los órganos más viejos. Así, mientras éstos pueden tener una elevada reserva de Ca, los

más jóvenes pueden presentar deficiencia, debido a la conocida inmovilidad del Ca en el floema.

3.2.—EFECTOS DE LA DEFICIENCIA Y TOXICIDAD DE CALCIO.

3.2.1.—*Síntomas visuales de deficiencia de calcio.*—Los síntomas producidos por la deficiencia de calcio pueden presentarse en diversas partes de la planta, y la susceptibilidad de los distintos tejidos varía según las especies. Sin embargo, en general, dichos síntomas suelen aparecer en las hojas más jóvenes y cerca de los puntos de crecimiento de tallo y raíces, pues, como ya hemos señalado, el Ca es un elemento poco móvil.

El síntoma más característico que se presenta en las hojas es la aparición de zonas de color pardo en las regiones marginales, principalmente las situadas debajo del ápice. Al mismo tiempo, se restringe el crecimiento de las hojas en anchura y los bordes llegan a ser perceptiblemente cóncavos en las regiones cloróticas. La clorosis y la curvatura marginal son más intensas, y se desarrollan más cerca del ápice, a medida que las hojas son más jóvenes.

Aunque la necrosis no es un síntoma general de la deficiencia de Ca, algunas especies presentan este síntoma en forma de manchas entre los nervios. La deficiencia de Ca está frecuentemente asociada con síntomas de marchitamiento, que pueden aparecer en las áreas internerviales de la hoja (39, 72, 73). Los nervios mayores, nervio central y peciolos se van afectando, y la hoja termina por caer. El marchitamiento puede también extenderse a ciertas partes del tallo, y a los pedúnculos si la planta se encuentra en periodo de floración (72, 73, 75, 154).

La muerte de la yema es también característica de la deficiencia de Ca en muchas plantas. Con deficiencia moderada o débil, el número de brotes puede incrementarse adquiriendo la planta un aspecto arbustivo.

En general, las raíces son más sensibles a la deficiencia de Ca que las partes aéreas, afectándose seriamente el crecimiento de las mismas. Esto se refleja en el cociente vástago/raíz que aumenta considerablemente (110). Con frecuencia se produce la detención del crecimiento de la raíz principal y aparecen numerosas raíces secundarias de pequeño tamaño. La falta de Ca

afecta también a los pelos radicales, impidiendo incluso su iniciación (29, 30).

La deficiencia de Ca puede también afectar otros órganos. Así, en algunas plantas, las flores caen prematuramente. El desarrollo del fruto también se altera (13), dando lugar, a veces, a síntomas característicos; por ejemplo, en los frutos jóvenes del tomate, se produce la degeneración del extremo apical ("Blossom end rot") (137, 163). La producción de semillas disminuye, aún cuando la floración haya sido normal, y con frecuencia —en cereales— la formación de granos puede quedar totalmente suprimida (74).

3.2.2.—*Efectos anatómicos e histológicos asociados con la deficiencia de calcio.*—En 1929 SOROKIN y SOMMER (136) observaron que la omisión del Ca de la solución nutritiva provocaba una rápida degeneración de las células apicales en "*Pisum sativum* L.", produciéndose una disminución de la extensión del citoplasma y un aumento de vacualización en las células merismáticas, así como una alteración de la mitosis. Sin embargo, estos autores no encontraron ningún efecto adverso sobre la pared celular, por lo que concluyeron que sus observaciones no apoyaban la hipótesis que considera al Ca como agente cementante de la pared celular. Estos resultados fueron severamente criticados por EDWARDS (44), tanto por los métodos histológicos empleados como por los efectos tóxicos de otros iones presentes en el medio; y BAMFORD (7) consideró los defectos cromosómicos como un efecto terminal de la deficiencia de Ca y el desequilibrio del balance iónico. Sin embargo, desde entonces, han aparecido numerosos trabajos que indican una fuerte asociación entre deficiencia de Ca y anormalidad cromosómica (74, 83, 138).

REED (123), en desacuerdo con SOROKIN y SOMMER (136), encontró que las células deficientes en Ca presentaban irregularidades en las paredes celulares, observando además que estas células eran incapaces de formar una nueva "placa celular" durante su división.

Los estudios efectuados por MARINOS (102) con el microscopio electrónico, revelaron que la falta de Ca producía una gran desintegración de las membranas citoplasmáticas. Observaciones similares han sido descritas posteriormente por otros autores (57, 105). Asimismo, se ha comprobado que las organelas

de tipo membranoso, como mitocondrias (53, 96) y cloroplastos (156), resultan también afectadas por la deficiencia de Ca.

3.2.3.—*Efectos producidos por la toxicidad de calcio.*—Aunque no parece probable que en condiciones naturales exista toxicidad de Ca como tal, sí que son frecuentes las consecuencias indirectas que produce un exceso de este elemento en el medio nutritivo. En efecto, en terrenos calizos con pH elevado, donde suele darse esta circunstancia, es bien conocida la falta de asimilación de muchos elementos. Así, se ha observado que el exceso de Ca puede producir clorosis férrica e inmovilizar el Zn, Cu, B y P, provocando la carencia de estos elementos. El Ca presenta también antagonismos con el K, de forma que un exceso del primero puede inducir carencia del segundo. Las interacciones Ca-Mg no son muy pronunciadas, pero la relación de estos elementos es un parámetro importante en el desarrollo de las plantas.

También se ha observado que un exceso de Ca hace disminuir el crecimiento radical.

3.3.—FUNCION DEL CALCIO EN EL METABOLISMO DE LAS PLANTAS SUPERIORES

Aunque el papel del Ca no está completamente definido (112), sin embargo, una gran cantidad de datos experimentales indican que este elemento actúa principalmente en las siguientes estructuras celulares: pared celular, membranas y cromosomas. Además existe cierta evidencia de que el Ca interviene también en el mantenimiento de la configuración de determinadas enzimas, así como en su activación.

3.3.1.—*Papel del calcio en la pared celular.*—La hipótesis de que el Ca —en forma de pectato cálcico— actúa como agente cementante de la pared celular, es un hecho generalmente aceptado desde los primeros trabajos de MANGIN (100) y HANSTEEN (68), a pesar de que algunos autores rebatieron dicha hipótesis apoyándose en el hecho de que, en condiciones de deficiencia, no se observaba una separación de las paredes celulares, como cabría esperar si la laminilla media se destruyera o tuviese dificultades para formarse (41, 135).

BENNET-CLARK (10) explicó el efecto estimulante del EDTA sobre la elongación de coleoptilos de avena, postulando que este compuesto "secuestraba" los iones Ca que ligan las cadenas pectínicas de la pared celular. De esta forma, se aumentaba la plasticidad de la misma y se facilitaba la extensión celular. Que la acción no se debe al EDTA en sí, sino a su efecto quelante sobre el Ca, lo apoya el hecho de que el oxalato amónico, y no el cloruro amónico, produzcan los mismos resultados.

Por este mismo mecanismo se ha tratado de explicar la acción estimulante de ciertas sustancias sobre la elongación celular. Así actuarían —según CARR y NG (22)— los citratos, aunque estos autores (115), en desacuerdo con BENNET-CLARK (10) encontraron que el EDTA era incapaz de ejercer dicho efecto. Por último, la propuesta (10, 21) de que la auxina podría también actuar secuestrando los iones Ca^{++} ha sido posteriormente rebatida (17, 24), al comprobarse que la presencia de auxina no provocaba una pérdida de Ca de la pared celular.

Entre los hechos en favor de la presencia de Ca en la pared celular figuran los siguientes:

a) La formación de pectato cálcico incrementa la rigidez de la pared celular (122, 141).

b) El proceso de calcificación aumenta la resistencia del tejido a la infección, probablemente por incrementar la resistencia de las paredes a la acción de la poligalacturodinasa (8).

c) El EDTA, sólo (95) o con proteínas o disolventes lipídicos (60), produce la maceración del tejido, dando lugar a células aisladas, mientras que el Ca y otros cationes metálicos tienen un efecto cementante sobre la unión de las paredes celulares (61).

d) El tratamiento con EDTA origina la separación de iones Ca^{++} y pectina e incrementa la plasticidad celular (147).

A pesar de los anteriormente expuestos, algunos autores no están de acuerdo en que la laminilla media esté constituida por pectato cálcico. Así, GINZBURG (60) apuntó que las condiciones requeridas para conseguir la maceración del tejido por el EDTA, eran más drásticas de lo que cabría esperar si los iones Ca^{++} estuviesen unidos al ácido péctico por simple quelación. Por otra parte, ABDEL-HALIM (1) encontró que la relación entre las concentraciones de Ca^{++} y ácido péctico, no era la adecuada para formar pectato. En algunos tejidos el Ca^{++} estaba por debajo

del límite de detección, mientras todavía podían encontrarse cantidades apreciables de ácido péptico.

3.3.2.—*El calcio en las membranas celulares y en la absorción iónica.*—La desorganización general de las células y tejidos afectados por la deficiencia de Ca (apartado 3.2.2.) indican que uno de los papeles claves del Ca es, sin duda, mantener las membranas en un estado funcional adecuado. Ya en 1914, TRUE (150) encontró que el agua destilada era tóxica para las raíces de las plantas, y sugirió que la presencia de Ca en el medio externo era necesaria para mantener la permeabilidad selectiva de la membrana celular. En cambio, JONES y LUNG (89), aunque no en total desacuerdo con las anteriores observaciones, vieron que el efecto más pronunciado al colocar las raíces de maíz en agua destilada-desionizada era la casi total ruptura del citoplasma de las células del ápice. La razón de esta drástica influencia del Ca e iones relacionados puede ser la necesidad de este elemento en la estructura de las membranas, que se haría más patente en las células en división. Como quiera que el Ca se transporta difícilmente (11) es lógico que el ápice sea el más afectado.

Las observaciones con el microscopio electrónico han puesto de manifiesto en otros muchos casos —ya comentados en el apartado 3.2.2.— que, en efecto, la deficiencia de Ca provoca la desintegración de las membranas celulares.

Por otra parte, los resultados obtenidos en los trabajos sobre absorción iónica, también relacionan el Ca con la integridad de las membranas. Específicamente el mecanismo responsable de la discriminación entre K y Na (48, 86), así como la absorción de K a partir de soluciones de bajo pH (121), dependen de la presencia de Ca en la solución externa. Otros muchos autores (23, 46, 47, 94) también han confirmado que el Ca resulta esencial para que el transporte y la retención iónica se realicen normalmente. De tal forma esto es así, que si la experiencia se efectúa en ausencia de Ca (99), el tejido se comporta como si fuese permeable y cada ión sigue su propio gradiente de difusión.

El hecho de que el uso de EDTA, para obtener tejidos desprovistos de Ca, afecte la absorción y retención iónica (54, 67) de forma análoga a como lo hacen los tratamientos con luz

ultravioleta, con RNA-asa, o con inhibidores del grupo sulfhídrico (143, 144, 145, 146), han sugerido que los "transportadores de membrana" podrían ser complejos de Ca con ribonucleoproteínas. En favor de esta hipótesis están los hechos siguientes: a) La especial sensibilidad de los protoplastos a la acción de la RNA-asa, a pesar de que dichos orgánulos son estables a diversas proteinasas y lipasas (128); y b) La capacidad del calcio para formar complejos químicos con los ácidos nucleicos (35, 50, 92).

3.3.3.—*El calcio en la estructura de los ácidos nucleicos y en los cromosomas.*—Desde los primeros trabajos realizados por SOROKIN y SOMMER (136), se ha postulado que el Ca tiene un papel directo en la organización nuclear. La sugerencia de que este elemento interviene en la estabilidad de los cromosomas, por ser un constituyente estructural de los mismos, parece estar apoyada por varios hechos. En efecto, se ha observado que la deficiencia de Ca está siempre asociada con ciertas aberraciones cromosómicas (74, 83, 138) y que el EDTA provoca la desintegración de los cromosomas debido, según parece, a la ruptura de los puentes iónicos. La capacidad del DNA para formar compuestos con los iones divalentes descrita por KIRBY (92), y más recientemente por CHENG (35), hace pensar que ésta sería la forma de intervención del Ca en las estructuras cromosómicas.

Se ha visto también que el Ca es capaz de formar complejos específicos con el ATP (48), y ALLENDE et al. (2) han propuesto que el Ca y otros cationes divalentes intervienen en la formación de Treonil-RNA soluble, aunque no se sabe si el Ca confiere especificidad al RNA soluble o al enzima.

La pérdida de nucleótidos producida por la exposición de las raíces a la acción del EDTA (67); las observaciones de GRUNWALD (66) de que una pequeña fracción del Ca presente en las mitocondrias está asociado con el RNA; así como los trabajos de FOOTE y HANSON (54) anteriormente mencionados (apartado 3.3.2), parecen indicar que el Ca y los ácidos nucleicos intervienen en el transporte a través de las membranas. En vista de tales observaciones es muy probable que las funciones del Ca en el metabolismo de los ácidos nucleicos y en la permeabilidad de las membranas sean similares.

3.3.4.—*El calcio en la actividad enzimática.*—Entre los numerosos enzimas en los que interviene el Ca, cabe destacar la α -amilasa y las ATP-asas.

Se sabe que el Ca es un componente integrante de la α -amilasa de diversos tejidos animales y de bacterias, probablemente necesario para mantener la configuración enzimática (84, 142). Recientemente, CHRISPEELS y WARNER (37) han demostrado que el Ca es también requerido para la actividad de este enzima en las plantas superiores.

Las ATP-asas tienen diferentes respuestas frente al Ca dependiendo del material de que procedan. Así, mientras los enzimas de las paredes celulares de plantas (42) y de ciertos tejidos animales (59, 106) son activados, o estimulados, por el Ca o el Mg, otros enzimas —obtenidos de muchas fuentes animales (134) y del *Arachis hypogaea* (14) resultan inhibidos por este elemento.

Otros muchos enzimas, tales como: fosfolipasas (40, 45), estererasas (91), glucosa-6-P-deshidrogenasa (104) y otros (108), también se ha visto que son estimulados por el Ca.

(Sigue)