



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES "ZARAGOZA"

5
2EJ
RECIBIDA
EL 20
DE
MAYO
1994

"Evaluación de la influencia del fósforo sobre la actividad de la enzima fosfatasa ácida en distintos genotipos de Trigo (*Triticum aestivum*) y Triticale (*X Triticosecale* Wittmack)".

T E S I S
QUE PARA OBTENER
EL TÍTULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A N :

Luz María Calderón López
José Manuel Gabriel Cruz

Director de Tesis: Dr. Juan Luis Tirado Torres.
Jefe de la Sección de Nutrición Vegetal del Instituto de Recursos Naturales del Colegio de Postgraduados

Asesor Interno: M. en C. Gerardo Cruz Flores

México, D.F.

Diciembre, 1994

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

U N A M
FES
ZARAGOZA



LO HUMANO EJE
DE NUESTRA REFLEXION



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS.

Expresamos con respeto y cariño nuestro agradecimiento a la Institución educativa más importante de México, la Universidad Nacional Autónoma de México, por la oportunidad brindada para lograr una carrera profesional y muy en especial a la Facultad de Estudios Superiores "Zaragoza".

Al Colegio de Postgraduados, particularmente al laboratorio de Nutrición Vegetal por facilitarnos sus instalaciones, equipo y todo el material necesario para la realización del presente trabajo.

Agradecemos infinitamente al Dr. Juan Luis Tirado Torres, su muy valiosa dirección y colaboración en el desarrollo y enriquecimiento de ésta tesis, así como su paciente dedicación para con nosotros.

Al M. en C. Gerardo Cruz Flores, quien estuvo siempre pendiente de cada punto, de cada letra, de cada párrafo, de cada experimento de éste trabajo, que no es sólo de nosotros, sino de él también, con respeto y aprecio.

A otras personas que colaboraron con nosotros mediante su ayuda y valiosa opinión como: Biol. Bibiana Zavala Munguía, M. en C. Ramiro Ríos Gómez, Biol. Rubén Zulbarán Rosales y Biol. Ma. de Jesús Sánchez Collin.

Y a todos los profesores de la carrera de Biología, por los conocimientos brindados a lo largo de ésta importante etapa de nuestras vidas.

LUZ MARIA Y JOSE MANUEL.

DEDICATORIA.

A mi compañero de toda la carrera y ahora el compañero de mi vida, a mi amado esposo, MANUEL.

Con mucho cariño a mi papá Maximiliano a mi mamá Flora, a mis hermanos, Lalo, Lety, Bertha, Rosa, Lupe, Manuel, Cesar y Mony, y todos los elementos de mi maravillosa familia.

A mis profesores y compañeros de la Facultad de Estudios Profesionales Zaragoza.

A la Institución que con orgullo pertenezco, la U.N.A.M.

LUZ MARIA.

A mi esposa Luz Maria por todo lo que ella significa para mí, por todo su apoyo moral y afectivo y por ser la persona que a cada momento ha estado a mi lado.

A mis papás, Apolinar y Ma. del Pilar, ya que gracias a su apoyo y valiosos consejos he logrado llevar a feliz término una meta en mi vida.

A mis hermanos Leticia, Marcos, Raúl y Aurelio, por todos los grandes momentos que hemos pasado juntos y que me han servido como estímulo.

A mis compañeros y amigos.

JOSE MANUEL.

CONTENIDO

INDICE DE CUADROS.....	i
INDICE DE FIGURAS.....	ii
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	3
OBJETIVO GENERAL.....	5
OBJETIVOS PARTICULARES.....	5
HIPOTESIS.....	5
REVISION BIBLIOGRAFICA	
TRIGO	
Generalidades.....	6
Clasificación Taxonómica.....	7
TRITICALE	
Generalidades.....	8
Clasificación Taxonómica.....	10
Calidad Nutritiva.....	11
Distribución del cultivo.....	12
CARACTERISTICAS GENERALES DE LAS GRAMINEAS.....	14
ENZIMAS.....	17
FOSFORO.....	21
MECANISMOS PARA LA TOMA DE NUTRIMENTOS EN LAS PLANTAS....	26
METODOLOGIA.....	33
Diseño Experimental.....	34
Método original del p-Nitrofenil fosfato.....	38
Método del p-Nitrofenil fosfato modificado para raíz.....	39
RESULTADOS Y DISCUSION (Calibración de la técnica).....	40
Comportamiento al Hidróxido de sodio (NaOH).....	41
Tiempo de Incubación.....	48
Diferentes Concentraciones del Sustrato (p-Nitrofenil Fosfato).....	54

Diferente pH del Buffer.....	61
Concentración del extracto (Enzima).....	66
Diferentes Temperaturas en la incubación.....	69
RESULTADOS Y DISCUSION (Desarrollo del experimento).....	74
RESULTADOS Y DISCUSION (Análisis Estadístico).....	83
CONCLUSIONES.....	87
BIBLIOGRAFIA.....	89
ANEXO 1.....	94
ANEXO 2.....	95
ANEXO 3.....	96

INDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Rango de concentraciones de NaOH probadas (primero, segundo y tercer experimentos).....	44
Cuadro 2. Rango de concentraciones de NaOH probadas (cuarto experimento).....	45
Cuadro 3. Tiempos de incubación (primero, segundo y tercer experimentos).....	51
Cuadro 4. Diferentes concentraciones del sustrato (primero y segundo experimentos).....	56
Cuadro 5. Diferentes concentraciones del sustrato (tercero, cuarto, quinto y sexto experimentos).....	57
Cuadro 6. Intervalo experimentado de pH del Buffer Universal Modificado	63
Cuadro 7. Pruebas sobre concentración del extracto.....	67
Cuadro 8. Pruebas sobre diferentes temperaturas de incubación	71
Cuadro 9. Actividad fosfatásica de Trigo y Triticales a diferente fuente de fósforo y a distintas edades de la planta.....	77

INDICE DE FIGURAS

	Página
Fig. 1. Esquema del trigo	16
Fig. 2. Primer Experimento. Respuesta de la actividad fosfatásica a la variación de la concentración de NaOH	46
Fig. 3. Segundo Experimento. Respuesta de la actividad fosfatásica a la variación de la concentración de NaOH	46
Fig. 4. Tercer Experimento. Respuesta de la actividad fosfatásica a la variación de la concentración de NaOH	47
Fig. 5. Cuarto Experimento. Respuesta de la actividad fosfatásica a la variación de la concentración de NaOH	47
Fig. 6. Primer Experimento. Respuesta de la actividad fosfatásica a la variación del tiempo de incubación en la técnica.....	52
Fig. 7. Segundo Experimento. Respuesta de la actividad fosfatásica a la variación del tiempo de incubación en la técnica.....	52
Fig. 8. Tercer Experimento. Respuesta de la actividad fosfatásica a la variación del tiempo de incubación en la técnica.....	53
Fig. 9. Primer Experimento. Respuesta de la actividad fosfatásica a la variación de la concentración del p-Nitrofenil fosfato.....	58
Fig. 10. Segundo Experimento. Respuesta de la actividad fosfatásica a la variación de la concentración del p-Nitrofenil fosfato.....	58
Fig. 11. Tercer Experimento. Respuesta de la actividad fosfatásica a la variación de la concentración del p-Nitrofenil fosfato.....	59
Fig. 12. Cuarto Experimento. Respuesta de la actividad fosfatásica a la variación de la concentración del p-Nitrofenil fosfato.....	59
Fig. 13. Quinto Experimento. Respuesta de la actividad fosfatásica a la variación de la concentración del p-Nitrofenil fosfato.....	60

Fig. 14	Sexto Experimento. Respuesta de la actividad fosfatásica a la variación de la concentración del p-Nitrofenil fosfato.....	60
Fig. 15	Primer Experimento. Respuesta de la actividad fosfatásica a diferente pH.....	64
Fig. 16	Segundo Experimento. Respuesta de la actividad fosfatásica a diferente pH.....	64
Fig. 17	Tercer Experimento. Respuesta de la actividad fosfatásica a diferente pH.....	65
Fig. 18	Primer Experimento. Comportamiento de la enzima en sus diferentes concentraciones.....	68
Fig. 19	Segundo Experimento. Comportamiento de la enzima en sus diferentes concentraciones.....	68
Fig. 20	Primer Experimento. Respuesta de la actividad fosfatásica a diferentes temperaturas en la incubación.....	72
Fig. 21	Segundo Experimento. Respuesta de la actividad fosfatásica a diferentes temperaturas en la incubación.....	72
Fig. 22	Tercer Experimento. Respuesta de la actividad fosfatásica a diferentes temperaturas en la incubación.....	73
Fig. 23	Comparación de la respuesta de los Trigos al tratamiento SFT en cuatro etapas de crecimiento.....	78
Fig. 24	Comparación de la respuesta de los Triticales al tratamiento SFT en cuatro etapas de crecimiento....	78
Fig. 25	Comparación de la respuesta de los Trigos al tratamiento Roca Fosfórica en cuatro etapas de crecimiento.....	79
Fig. 26	Comparación de la respuesta de los Triticales al tratamiento Roca Fosfórica en cuatro etapas de crecimiento.....	79
Fig. 27	Comparación de la respuesta de los Trigos al tratamiento Fosfato de Calcio en cuatro etapas de crecimiento.....	80
Fig. 28	Comparación de la respuesta de los Triticales al tratamiento Fosfato de Calcio en cuatro etapas de crecimiento.....	80
Fig. 29	Comparación de la respuesta de los Trigos al tratamiento Fitina en cuatro etapas de crecimiento.....	81

Fig. 30	Comparación de la respuesta de los Triticales al tratamiento Fitina en cuatro etapas de crecimiento.....	81
Fig. 31	Comparación de la respuesta de los Trigos al tratamiento Testigo en cuatro etapas de crecimiento.....	82
Fig. 32	Comparación de la respuesta de los Triticales al tratamiento Testigo en cuatro etapas de crecimiento.....	82

RESUMEN

La investigación agrícola constituye una alternativa para resolver problemas relacionados con granos básicos, aumentando las posibilidades de obtener mayor rendimiento y mejorar su calidad nutritiva. El presente trabajo intenta aportar un nivel más en el conocimiento agrícola, evaluando la actividad de la enzima fosfatasa ácida (que es un mecanismo de adaptación de las plantas al estrés de fósforo en el medio radical), en Trigo y Triticale a diferentes edades de las plantas (15, 22, 29 y 36 días), con diferentes fuentes de fósforo aplicadas en dos dosis entre una determinación y otra.

Se calibró el método a utilizar, y esto llevó a realizar modificaciones a algunos parámetros de la técnica original. Empleando el método modificado se midió la actividad de la enzima fosfatasa ácida (Ac-FA) de las raíces, obteniendo los siguientes resultados: en la primera determinación de la Ac-FA (a los 15 días) se obtuvieron los valores más altos, los cuales oscilan en un rango de 64.362 a 85.816 $\mu\text{mol p-NPP/gr}$ de mat. fresca/hr. Para las dos siguientes determinaciones (22 y 29 días) la Ac-FA disminuye, sin embargo, en la última determinación (36 días) se mantiene constante en casi todos los genotipos.

En cuanto a los tratamientos, las plantas empleadas como testigos (sin fuente de fósforo) presentaron invariablemente una mayor Ac-FA, no así las plantas tratadas con Super Fosfato Triple, donde el fósforo es soluble, respondieron con un decremento en la Ac-FA, lo que implica un efecto directo del tratamiento.

En lo que respecta a las especies la mayor respuesta enzimática se presentó en el Triticale variedad Alamos y la menor en el Trigo variedad 8-029 y el Triticale variedad Tarasca.

INTRODUCCION.

En la actualidad uno de los problemas más agudos a nivel mundial, es proporcionar a la población una alimentación balanceada, pero debido al acelerado crecimiento demográfico y a la correspondiente escasez de alimentos, esto resulta cada vez más difícil principalmente en zonas con menor grado de desarrollo, como son Asia, Africa, y América Latina.

Ante esto la investigación agrícola constituye una alternativa para solventar dicho problema, al aumentar las posibilidades de obtener mayor rendimiento en productos básicos, así como mejorar su calidad nutritiva.

Uno de los cereales más importantes a nivel mundial y al cual le han sido explotados sus recursos genéticos por el hombre, casi hasta su capacidad límite, lo constituye el trigo, tanto por su producción mundial, como por superficie sembrada. A nivel Nacional el trigo tiene un lugar preponderante ya que en volumen de producción se logró 4 321 000 toneladas en el año 1971; lo cual colocó a México en el tercer lugar de producción mundial. En cuanto a la superficie cosechada ésta fue de 980 294 Ha para ese mismo año, todo ello hace a este cereal muy importante para la dieta nacional, comparado con otros productos agrícolas no menos importantes como el maíz y el frijol (S.A.R.H., 1972).

Por otra parte, en un esfuerzo por aumentar la producción de granos alimenticios, se ha desarrollado el triticale, especie vegetal creada por el hombre y que resulta de cruzar el centeno con el trigo.

El Triticale ha demostrado prosperar bien en terrenos donde otros cereales tienen problemas por carencia de macro y micronutrientes, incluso algunas variedades de éste son más resistentes a enfermedades comunes en los cereales. Su importancia económica actual es escasa, pero muy seguramente será importante a corto plazo, debido a las amplias posibilidades que ofrece.

Uno de los factores que limita la producción de estos y otros cereales básicos en algunas regiones de México, es la carencia o indisponibilidad de los nutrientes del sustrato, necesarios para completar su ciclo vital. Uno de los más significativos en este sentido es el fósforo (solo después del Nitrógeno), ya que a falta de éste la planta ve afectado su desarrollo y crecimiento en el tejido de raíces y tallos.

Las plantas (incluidos los cereales), han desarrollado mecanismos de adaptación a la escasez de fósforo. Entre los mecanismos de adaptación se encuentra la activación de la enzima fosfatasa ácida por parte de la raíz para solventar la indisponibilidad del fósforo en el suelo (Horst, 1991; Tabatabai, 1982; McLachlan, 1980).

Por todo lo anterior, el presente trabajo se centró en la determinación de la eficiencia radical de diferentes genotipos de trigo y triticale en la producción de la enzima fosfatasa ácida, como mecanismo de tolerancia al estrés ocasionado en la planta por la baja disponibilidad del fósforo, empleando la técnica para determinación de fosfatasas de Tabatabai (1982), modificada por Cruz, (1994) y adaptada para los fines del presente trabajo.

OBJETIVO GENERAL.

Evaluar la actividad de la enzima fosfatasa ácida en dos genotipos de Trigo (*Triticum aestivum*) y cuatro de Triticale (*X Triticosecale* Wittmack), en distintas etapas de crecimiento de las plantas y variando la fuente de fósforo.

OBJETIVOS PARTICULARES.

- Evaluar cada parámetro de la técnica de medición de la actividad de la enzima, para utilizar los más apropiados.

- Determinar la actividad de la enzima fosfatasa ácida en distintas etapas de crecimiento del Trigo y Triticale.

- Evaluar la actividad de la enzima fosfatasa ácida variando la fuente de fósforo en ambas especies.

- Determinar los genotipos de Trigo y Triticale que mejor se adapten a la deficiencia de fósforo, aumentando su actividad fosfatásica.

HIPOTESIS.

Mediante la baja o nula disponibilidad de fósforo para la nutrición de Trigo y Triticale, algunos genotipos incrementarán más rápida o más prolongadamente su actividad fosfatásica ácida, para así liberar fósforo de compuestos en los cuales no está disponible y asimilarlo.

REVISION BIBLIOGRAFICA.

TRIGO

GENERALIDADES. El Trigo es un componente esencial de la dieta de las poblaci3n mexicana y un producto b3sico que contribuye en el desarrollo de la economi3. Ocupa el cuarto lugar en relaci3n a la superficie cosechada, despu3s del maiz, sorgo y frijol y el tercer lugar, considerando el volumen de la producci3n obtenida, despu3s del maiz y del sorgo (S.A.R.H., 1992).

La producci3n nacional de Trigo para el a3o de 1991 fu3 de 4 104 010 ton. repartidas de la siguiente manera: 3 703 985 toneladas para el ciclo de oto3o-invierno y 400 025 para el ciclo primavera-verano. Mientras que la superficie cosechada para ese mismo a3o fu3 de 980 294 Ha (S.A.R.H., 1992).

La producci3n de trigo se desarrolla en un marco de condiciones privilegiadas, si se le compara con los dem3s cultivos b3sicos. Menos expuesto a la aleatoriedad de las condiciones clim3ticas, debido a que los productores de esta graminea son los beneficiarios directos de las obras de irrigaci3n. A lo anterior se agrega el importante apoyo que se ha otorgado para su cultivo, con coberturas en cr3dito y seguro y la liberaci3n de un gran n3mero de variedades mejoradas de altos rendimientos, que ha sido posible difundir y adaptar con 3xito a las condiciones ecol3gicas de cada zona productora. Estos elementos han convertido al Trigo en un cultivo muy atractivo, poco susceptible a los siniestros y muy competitivo en algunas regiones (Noroeste y

Bajío) respecto a los demás productos básicos (S.A.R.H., 1992; CIMMYT, 1981).

La producción mundial del trigo ha aumentado enormemente durante las últimas décadas. Pero será preciso incrementar todavía más si se quiere alimentar a una población cada día más creciente. El próximo aumento significativo de los recursos alimentarios habrá de conseguirse principalmente, a través de nuevas mejoras en la productividad del trigo, ya que no es probable que se pueda disponer de nuevas tierras cultivables en extensión suficiente para resolver el problema y la aplicación de ayuda agrícola de alta energía, tales como fertilizantes, pesticidas y herbicidas están siendo perjudiciales cuando se emplean en exceso (Feldman y Sears, 1981; CIMMYT, 1987-1988).

Es por ello que de gran importancia estudiar los diversos tipos de adaptabilidad de los trigos ante la deficiencia de algún nutrimento.

CLASIFICACION TAXONOMICA. La clasificación taxonómica del Trigo es la siguiente:

REINO.....Vegetal
DIVISION.....Tracheophyta
CLASE.....Monocotyledoneae
ORDEN.....Glumiferales
FAMILIA.....Gramineae
TRIBU.....Triticeae (Hordeae)
SUBTRIBU.....Triticeneae
GENERO.....Triticum

TRITICALE

GENERALIDADES. En 1875, Wilson informó a la Sociedad Botánica de Edimburgo que había obtenido una planta estéril a partir de un cruzamiento de trigo y centeno. Si bien Rimpau produjo el primer Triticale fértil en 1888, este cultivo continuó teniendo relativamente poca trascendencia hasta ya avanzados los primeros decenios del siglo XX (CIMMYT, 1981). El primer adelanto en la producción de triticales fértiles se alcanzó en 1937, con el tratamiento con colchicina (alcaloide derivado de los bulbos o de las semillas del azafrán de otoño (*Colchicum autumnale*)). Este alcaloide puede inducir la duplicación del número de cromosomas de las plantas, esto hizo posible la creación de triticales primarios fértiles (Varughese, et al, 1987).

La segunda gran contribución a la producción de Triticale se produjo en el decenio de 1940, cuando se desarrollaron las técnicas de cultivo de embriones (CIMMYT, 1981).

El perfeccionamiento de las técnicas de rescate de embriones y de la colchicina fueron de gran utilidad para las investigaciones sobre el triticale, por primera vez fué posible producir Triticales en cantidades adecuadas (Varughese, et al, 1987).

En la actualidad el Triticale ha dejado de ser una curiosidad científica y se ha convertido en una planta que se está mejorando genéticamente para contribuir a la alimentación del hombre principalmente. En el mundo existen diversos programas de mejoramiento de Triticales, destacando en este sentido el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), que desde su

fundación en México ha liberado muchas variedades nuevas (Varughese, et al, 1987).

CIMMYT (1981) señala que el triticale es un cultivo que día a día va cobrando mayor interés, reportando una extensión sembrada de más de un millón de hectáreas en todo el mundo.

El Triticale ha sido estudiado por la FECOTRIGO en Brasil, desde 1969, desde entonces se han cultivado extensas zonas en éste país y en otros, con el fin de comparar y mejorar sus características con respecto a sus pregenitores. En un ensayo comparativo de rendimiento del triticale con el trigo, realizada por la CEP- FECOTRIGO, los resultados obtenidos en producción, inmunidad, resistencia y tolerancia, fueron considerablemente superiores al trigo (Svoboda, 1982).

Otros estudios muestran que al comparar el rendimiento y la calidad del forraje de diferentes especies de cereales de grano a través de varios cortes, que los cultivares de Triticale fueron similares al de la avena, superaron al de trigo, pero fueron inferiores a los de centeno (Brown y Almodares, 1976).

CLASIFICACION TAXONOMICA.

El Triticale es un anfiploide resultante de la duplicación de cromosomas del híbrido intergenérico producido al cruzar el Trigo (*Triticum aestivum*) con el Centeno (*Secale cereale*). La clasificación Taxonómica del Triticale es la siguiente:

(Robles, 1978)

REINO.....Vegetal
DIVISION.....Tracheophyta
SUBDIVISION.....Pteropsidae
CLASE.....Angiosperma
SUBCLASE.....Monocotiledoneae
GRUPO.....Glumifora
ORDEN.....Graminales
FAMILIA.....Graminae
TRIBU.....Triticeae
GENERO.....Triticale
ESPECIE.....sp hexaploide
 sp octaploide

CALIDAD NUTRITIVA DEL TRITICALE.

La calidad nutritiva del Triticale es semejante a la del Trigo y en algunos aspectos llega a superarlo. En particular en el mayor contenido de lisina del Triticale, su mejor digestibilidad proteínica y el balance de minerales lo hacen especialmente adecuado para reemplazar o complementar a otros cereales en la alimentación humana o animal (CIMMYT, 1981).

Por otra parte, el contenido de fósforo en el Triticale es más alto que el de cualquiera de las dos especies que le dieron origen (4.5 g/Kg de materia seca, en comparación con 3.8 g/kg del Trigo y 4.1 g/Kg del Centeno), esto hace del Triticale un elemento conveniente en la alimentación de animales cuyas necesidades de fósforo sean considerables (como pudiesen ser cerdos y gallinas) (Varughese, et al, 1987).

Los primeros Triticales contenían un altísimo porcentaje de proteína debido a que sus granos arrugados tenían un bajo contenido de almidón. Conforme se ha mejorado el llenado de los granos del Triticale, el porcentaje de proteína ha disminuido según se había predicho. Los granos de los Triticales de alto rendimiento tienen ahora de 10.5 a 13.5 % de proteína, lo cual se compara con el 10 a 12 % de proteína de los trigos harineros que se cultivan. Por otra parte el porcentaje de lisina es generalmente mayor en el Triticale, que en los trigos harineros (Hernández, 1978).

DISTRIBUCION DEL CULTIVO DEL TRITICALE.

El Triticale es un cultivo que día a día va cobrando mayor interés; se reporta una extensión sembrada de más de un millón de hectáreas en todo el mundo, los países desarrollados son los mayores productores, aunque otros países en desarrollo, como Argentina y México, ya lo producen comercialmente (CIMMYT, 1981).

Polonia cultivaba a finales de la década de los ochentas cerca de 250 000 Ha de triticale, y para principios de la década de los noventas, proyectaba contar con más de un millón de hectáreas dedicadas a este cultivo. Los triticales polacos se siembran hoy en muchos países europeos y en otras regiones donde se siembran cultivos de invierno (CIMMYT, 1981; CIMMYT, 1987- 1988).

Estados Unidos, Suecia, Francia, Gran Bretaña, Alemania, Hungría y otros países, proporcionan nuevas fuentes de diversidad genética. En lo que respecta a las áreas de cultivo en México, el triticale prospera bien en las regiones donde se cultiva actualmente trigo, cebada o avena, y en la mayoría de los casos se desarrolla mejor en terrenos donde otros cereales tienen problemas por carencia de microelementos, como en el caso de escasez de zinc, o en los suelos que contienen mayor cantidad de sales. Por lo que se refiere a precipitación pluvial, si esta no es demasiado irregular, las cosechas de triticale son buenas en áreas donde la cantidad de lluvia es de alrededor de 500 a 600 milímetros (INIA, 1984).

En 1983, en los Altos de Jalisco y la Sierra Tarasca se cultivaba con éxito el triticale y en la parte Noroeste del Lago de Pátzcuaro ha desplazado al trigo ya que produce hasta 30 % más de rendimiento en siembras de temporal. En la región de los Valles Altos

de los Estados de Puebla, Tlaxcala e Hidalgo, este cultivo tiene posibilidades de prosperar, pues responde bien a suelos arenosos, que son frecuentes en esta área y también porque las heladas erráticas de julio no lo dañan, como sucede en los cultivos de maíz y frijol.

El área potencial de siembra de temporal del triticale es amplia, pues con las actuales variedades sería posible sembrar más de 15 000 Ha en cada uno de los Estados de Jalisco y Michoacán, y al rededor de 30 000 Ha en los Estados de Tlaxcala, Hidalgo, Puebla y Estado de México (INIA, 1984).

La importancia social del cultivo de triticale aún es reducida, si se le compara con la del trigo, pues de las variedades existentes del primero, ninguna logra igualar las características de la harina del trigo para la elaboración de pan, aunque se tiene conocimiento de que usando una mezcla de triticale-trigo en proporción 75-25, se logran buenos resultados en la panificación (INIA, 1984; CIMMYT, 1981).

CARACTERISTICAS GENERALES DE LAS GRAMINEAS.

Las gramíneas son plantas herbáceas con tallos cilíndricos fistulosos y articulados, con diafragmas transversales en los nudos engrosados, las hojas se disponen en dos filas a lo largo de ellas, son disticas. Su hoja se compone de una vaina, que abraza al tallo.

Las espículas forman inflorescencias complejas especiformes o en forma de panícula. Cada espícula está envuelta en su base por las glumas, generalmente en número de dos. Siguen a estas, dispuestas de manera distica, los lemas o glúmelas inferiores, que funcionan como bracteas madres de las flores (Strasburger, 1974; Soldano, 1978).

El embrión posee un cotiledón transformado en un órgano absorbente de forma abroquelada, el escutelo, mediante el cual se aplica por el flanco al endosperma.

La importancia de las gramíneas en la biosfera es muy elevada, ellas determinan el carácter del paisaje en las sabanas, estepas y praderas. La evolución de grandes grupos de animales no podría imaginarse sin ellas. Para el hombre es un cultivo que representa una fuente alimenticia de enorme importancia (Strasburger, 1974).

Uno de los cereales más importantes es el trigo, cuyas características son: espículas solitarias, por lo común con 3 a 5 flores, glumas anchas y lemas aristados. El más importante es el trigo común hexaploide (Strasburger, 1974) Ver Figura 1 (a, b y c).

El trigo está constituido por un sistema radical, tallo principal y tallos secundarios o macollos, hojas inflorescencias. Las raíces son numerosas, fibrosas y se extienden en la superficie y profundidad de acuerdo a las condiciones del suelo. Existen dos tipos de raíces

las primarias o seminales y las secundarias o adventicias (Soldano, 1978).

Mackey (1973), citado por Solano (1986), señala que las raíces del trigo han sido modificadas, inadvertidamente como consecuencia del mejoramiento genético orientado básicamente a la parte aérea. Rappaport y Sachs (1977), citado por Solano (1983), indican que el sistema radicular es controlado por factores genéticos de la misma amplitud que aquellos que controlan la parte aérea, y que el sistema radicular puede ser visto como un reflejo de la parte aérea.

El Triticale es morfológicamente semejante al trigo, éste tiende a ser más vigoroso en su tallo con un grano más grande y una espiga más larga dependiendo de su hábitat. El grano del Triticale suele ser más encogido y arrugado que el del trigo (Bushuk y Larter, 1980).

El alto contenido de proteína en el grano del Triticale tiende a estar asociado con el arrugamiento del endospermo (Zillinski, 1974).

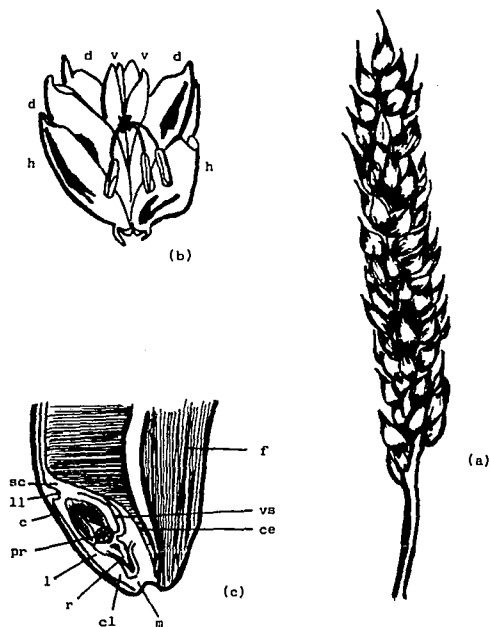


Figura 1
 a). Trigo (*Triticum aestivum*).
 b). Espicula del trigo: glumas (h), lemas (d), páleas (v).
 c). Sección Longitudinal mediana de la parte inferior de un grano de trigo, pared lateral del surco del grano (f), en la parte inferior izquierda del embrión con escutelo (sc), haz conductor (vs) y epitelio cilíndrico (ce), ligula (l), coleoptilo (c), como vegetativo caulinar (pr), epiblasto (ll), coleorriza (cl), radícula (r), caliptra (cp) y punto de salida (m).

ENZIMAS.

La enzimología es la ciencia que se refiere al estudio de la estructura y el funcionamiento de las enzimas. Esta ciencia reviste especial interés en el fenómeno biológico debido a la asociación que existe entre las enzimas y la vida misma; tanto así que el origen de la vida se ha relacionado, en gran medida, con el origen de las enzimas.

Se sabe que la vida de una célula depende de un complejo conjunto de reacciones químicas sucesivas conocidas como vías metabólicas. Cada una de estas vías es una secuencia de transformaciones químicas catalizadas por enzimas específicas. La modificación o la ausencia de cualquiera de éstas enzimas puede ocasionar serios trastornos en estos procesos e incluso la muerte de las células o los organismos (Sánchez, 1987).

La acción enzimática es un fenómeno que presenta características relevantes, tanto para la biología como para la fisicoquímica y otras ciencias.

A partir de que Payeu y Persoz descubrieran las enzimas (fermentos o diastasas) en 1833 y de que Eduard Buchner reconociera, en 1897, que los procesos enzimáticos no requieren la presencia de la célula viviente, el estudio de las enzimas se centró primordialmente en conocer su naturaleza química. Los trabajos de Sumner en 1926 (posteriormente ampliados y confirmados por Northrop en 1930) demostraron claramente que las enzimas son proteínas (Sánchez, 1987; Miller, 1981).

Durante los 20 años siguientes, se intensificaron las investigaciones, lo que permitió descubrir y purificar un considerable número de enzimas, así como cristalizar algunas de éstas. El avance logrado en este período permitió internarse más en el área de la caracterización química de las enzimas y profundizar en el conocimiento de la secuencia de los aminoácidos que las constituyen. Avances posteriores de gran significación en el campo de la cinética enzimática, el intercambio de moléculas radiactivas y los caracteres termodinámicos de los complejos enzima-sustrato, permitieron comprender mejor algunas de las características fundamentales de la acción enzimática, tales como su especificidad por sustratos, el reconocimiento del sitio activo y sus mecanismos de acción.

Finalmente, el avance logrado en los últimos tiempos en el conocimiento de la estructura tridimensional de las enzimas, el reconocimiento de los "dominios" de las proteínas y su conservación durante la evolución biológica, han contribuido a cambiar los conceptos sobre la organización y la regulación de las enzimas en las células vivas (Sánchez, 1987).

Por otra parte, una de las características de la célula activa es su habilidad para desarrollar reacciones complejas rápidamente y a la temperatura ambiente. Fuera de la célula estas reacciones se desarrollarían con demasiada lentitud. La compleja maquinaria metabólica fundamental para la célula, no podría trabajar a velocidades tan bajas. Los principales agentes que participan en las notables transformaciones celulares pertenecen a un grupo de proteínas denominadas enzimas (Conn y Stumpf, 1982).

Una enzima es una proteína sintetizada por la célula *v.g.*, que cataliza o acelera, una reacción termodinámicamente posible. De esta manera, la velocidad de la reacción resulta compatible con el proceso bioquímico esencial para el mantenimiento de la vida celular. La enzima no modifica en forma alguna la constante de equilibrio o el ΔG de una reacción. Como son proteínas, todos los agentes capaces de desnaturalizar a estos compuestos (como el calor, los ácidos y las bases fuertes, los solventes orgánicos y otros materiales) hacen perder a las enzimas sus propiedades catalíticas.

La elevada especificidad de la función catalítica de las enzimas se debe a su naturaleza protéica. La extraordinariamente compleja estructura de las proteínas les confiere tanto los medios para un mecanismo de reacción particular, como la capacidad de molde para identificar solo a un limitado grupo de sustratos. La célula puede elaborar enzimas para diferentes funciones debido a que, en realidad, la estructura primaria dictamina la estructura compleja final (estructura terciaria) (Conn y Stumpf, 1982).

Especificidad enzimática.

Una de las características más sobresalientes de la catálisis enzimática es el alto grado de especificidad de la enzima por el o los sustratos de la reacción. Esta propiedad se limita a una sola molécula o a un rango muy restringido de sustancias químicamente relacionadas con ella.

Los diferentes grupos de enzimas varían mucho su grado de especificidad según sean el o los sustratos de la reacción. Algunos, como el de las deshidrogenasas, comprenden enzimas de las más específicas ya que, en términos generales, sólo aceptan un sustrato

como donador de hidrógenos y otro como receptor. Sin embargo, otras enzimas actúan sobre un rango más amplio de sustancias, aunque difieren mucho en la velocidad de la catálisis (Sánchez, 1987).

Existe, además, una notoria estereoespecificidad en las enzimas que incluye la capacidad de distinguir entre dos sustratos con grupos funcionales aparentemente idénticos colocados en una molécula asimétrica. Con el uso de isótopos radiactivos se ha podido confirmar experimentalmente que las enzimas son capaces de seleccionar solamente uno de los isómeros ópticos de una mezcla D/L. Esta observación en el comportamiento enzimático lleva a concluir que la unión de la enzima con el sustrato requiere de la participación de un mínimo de tres grupos residuales de la cadena peptídica para la debida orientación del sustrato.

Así pues, si se considera que estos catalizadores de alta especificidad determinan no sólo la velocidad de cada una de las reacciones celulares, sino que además pueden distinguir, en un momento determinado, entre múltiples metabolitos presentes, cuál o cuáles son los que van a ser transformados, se concluye que la actividad interrelacionada de catalizadores muy especializados dentro de una célula viva representa un sistema organizativo de la naturaleza sumamente complejo, que permite una regulación precisa y simultánea de las diversas vías metabólicas operantes (Sánchez, 1987).

FOSFORO.

El fósforo es uno de los 16 elementos esenciales para todas las plantas (Miller, 1981), y el segundo más crítico nutrimento vegetal de los macroelementos, esto es debido a que el total del suministro de fósforo en la mayoría de los suelos es bajo y no está realmente disponible para las plantas (Donahue, 1981).

El fósforo total en un suelo arable promedio es aproximadamente de 0.1 % por peso, del cual solo una infinitésima parte está disponible para las plantas (Donahue, 1981).

Otros autores mencionan que la cantidad de fosfatos en el suelo es inferior a 1 kg/Ha y en casos muy específicos llega a ser hasta de 0.1 kg/Ha (Thompson, 1982).

No es tan importante la cantidad de fosfato en el suelo como la velocidad a la cual se va disolviendo. Las plantas pueden adquirir un desarrollo satisfactorio con una cantidad muy pequeña de fosfato en solución, siempre y cuando se mantenga esta concentración. Esto significa que las condiciones para una rápida formación de fosfato asimilable, a partir de los compuestos orgánicos y de los inorgánicos debe ser favorable (Thompson, 1982).

La fuente original de fósforo en el suelo es la apatita $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$, un fosfato cálcico de baja solubilidad. Los iones solubilizados, H_2PO_4^- , reaccionan rápidamente en el suelo para formar fosfatos insolubles (este mecanismo es conocido como fijación de fosfatos), con iones de calcio o con hidróxido de hierro y aluminio, esto sucede en suelos ácidos, en suelos alcalinos se forma fosfato tricálcico que también es poco soluble. Como se puede observar el

fósforo no es muy móvil en las soluciones del suelo y debe ser aplicado donde sea necesario. Las pérdidas por lavado no son considerables (Donahue, 1981; Monsivais, 1989).

No sólo las formas minerales de fósforo tienen baja solubilidad sino que no hay un mecanismo eficiente para absorción de iones $H_2PO_4^-$ como iones intercambiables en los cristales de arcilla o partículas de humus por cationes. Como resultado, el fósforo usado por las plantas más que el aplicado como fertilizante es derivado principalmente de los fosfatos liberados durante la descomposición de la materia orgánica en el suelo (Donahue, 1981).

Aunque se reconoce que el fósforo se encuentra como anión intercambiable, se cree que el intercambio no es importante en la nutrición de la planta con este elemento, es decir, las raíces de las plantas toman directamente el fosfato de la solución en una proporción mucho mayor que el que absorben por intercambio (Thompson, 1982).

En años recientes ha cobrado interés la determinación de la actividad enzimática en los suelos y esto ha promovido un significativo avance en este campo. En particular los métodos desarrollados para determinar la actividad de la enzima fosfatasa, la cual libera al fósforo orgánico, rompiendo los enlaces ester-fosfato de los compuestos en la rizósfera, dicha actividad enzimática se incrementa en relación a la deficiencia de fósforo en el suelo (Trasar y Gil, 1986).

Es importante recordar que el fósforo no se encuentra en estado de "pureza química" (P) en el suelo, este se combina constituyendo compuestos orgánicos (como los fosfolípidos, ácidos nucleicos, fitina

e inositol, pertenecientes a la composición de la materia orgánica) e inorgánicos (procedentes además de la descomposición bacteriana del material orgánico, de los minerales del suelo del grupo de la apatita principalmente como fluorapatita, clorapatita, hidroxapatita y de fosfatos específicos como los de Ca, Fe y Al) (Rodríguez, 1982; Monsivais, 1989).

Las diferentes funciones en las cuales interviene el fósforo en las plantas son muy diversas. El fósforo inorgánico actúa como coenzima y mantiene el equilibrio con el fósforo orgánico dentro de la planta. Por otra parte el fósforo orgánico interviene en la constitución de compuestos de almacenamiento y de estructura (como la fitina) en las semillas, fosfolípidos (como la lecitina), ácidos nucleicos y nucleoproteínas constituyentes de cromosomas; el fósforo orgánico también forma parte de compuestos del metabolismo intermediario como el difosfato y trifosfato de adenosina (ADP Y ATP) que son los almacenadores y transportadores de energía y además interviene en procesos de la reproducción de las plantas (Rodríguez, 1982; Gaucher, 1971).

En general el fósforo tiene una importancia vital en funciones como la respiración, la fotosíntesis, la división celular, síntesis de azúcar, grasas y proteínas, la acumulación de energía (ATP y NADP) en los fenómenos de la fosforilación y la regulación del PH de las células. El fósforo normalmente se acumula en tejidos activos (de síntesis y respiración), los meristemas (puntos de división celular) semillas y frutos, en los cuales juega un papel primordial para el buen desarrollo de las plantas (Rodríguez, 1982).

El fósforo también es necesario para ciertos procesos enzimáticos, como la producción de alcohol a partir de azúcares, y la transformación de azúcares en almidón, y viceversa (Miller, 1981).

Una buena disponibilidad de fósforo produce un mayor desarrollo radical, mayor crecimiento y mejor desarrollo general de la planta, aceleración de la floración y fructificación, mayor resistencia a condiciones adversas (Rodríguez, 1982). El núcleo de cada célula de la planta contiene fósforo, por lo que la división y crecimiento celular son dependientes de adecuadas cantidades de él (Donahue, 1981).

Por otra parte, la aplicación de grandes cantidades de fósforo soluble como fertilizante en suelos bajos en zinc disponible, puede originar deficiencia de este elemento en plantas como el maíz, frijol y lino ya que lo inmoviliza por la formación de fosfatos insolubles de zinc (Donahue, 1981).

Las plantas deficientes en fósforo son de crecimiento lento y a menudo enanas en la madurez. Las hojas son de color verde oscuro, y el desarrollo de las antocianinas pueden estar aumentando (Miller, 1981).

Si hay deficiencia de fósforo, la división celular en los vegetales se retarda y el crecimiento se detiene. Una coloración verde oscuro asociada a un color púrpura en el primer periodo de crecimiento es síntoma de deficiencia (Monsivais, 1989).

La deficiencia de fósforo interfiere también con la normal apertura de los estomas de ciertas plantas, creando temperaturas 10 % más altas en las hojas, mediante periodos de sol, que en las hojas de plantas con adecuado fósforo. Las altas temperaturas en las hojas

pueden afectar críticamente el crecimiento de la planta en áreas donde la temperatura aumenta demasiado. Sin embargo, las bajas temperaturas ambientales afectan también directamente al crecimiento de las plantas que toman el fósforo procedente de la descomposición de la materia orgánica, ya que el frío disminuye la descomposición y la consecuente liberación de fosfatos, lo que provoca una baja disponibilidad de fósforo y por consiguiente un menor crecimiento (Donahue, 1981).

Los factores que afectan a la inmovilización y a la mineralización del fósforo están asociados con la actividad microbiana. Cuando la población microbiana se está desarrollando rápidamente, los organismos pueden agotar la cantidad de fosfato soluble de una manera temporal. A medida que la población disminuye parte del fósforo del tejido microbiano se mineraliza. La mineralización y la inmovilización son reversibles, pero la reacción no es un proceso en equilibrio (Thompson, 1982; Donahue, 1981).

La relación entre el pH y la cantidad de fósforo asimilable es muy estrecha. Se cree que el pH óptimo para la solubilización del fósforo se encuentra en el intervalo de 6.5 a 7.5. En el intervalo de pH que se encuentra en el suelo (entre 4 y 10) existen tres formas de ortofosfato: el monovalente, $H_2PO_4^-$; el divalente, HPO_4^{2-} , y el trivalente PO_4^{3-} . La existencia de cualquiera de estas formas está en función del pH (Thompson, 1982).

MECANISMOS PARA LA TOMA DE NUTRIMENTOS EN LAS PLANTAS.

Las plantas absorben los nutrientes del suelo principalmente en forma de iones, estas pueden obtenerlos también mediante la absorción a través de las hojas o de las raíces. El agua es absorbida por los estomas, pero la cantidad es pequeña comparada con la cantidad que entra por las raíces. Investigaciones con elementos radioactivos han demostrado que solamente el hidrógeno del agua es utilizado por la planta; el oxígeno es liberado como un gas (Donahue, 1981).

Los nutrientes son suministrados mediante los siguientes mecanismos: Flujo de masa, Difusión e Intercepción radical.

Las plantas transpiran gran cantidad de agua, la mayor parte de ésta es absorbida por las raíces, la cual se mueve a través de las mismas y del tallo, y finalmente la mayor parte se pierde como vapor por los estomas en las hojas. La continua absorción y transpiración del agua por las plantas significa que grandes volúmenes de éste líquido deben moverse a través del suelo. El agua con los nutrientes disueltos (llamada solución del suelo), se mueve del suelo a las raíces. De ahí que el agua y los nutrientes son absorbidos por la planta mediante diferentes mecanismos. El movimiento de los nutrientes a través del suelo, en el agua en movimiento, es llamado flujo de masa (Donahue, 1981).

Al momento que las raíces absorben nutrientes de la solución del suelo, otros nutrientes disueltos se mueven hacia las raíces, esto por las leyes de difusión (que es, de zonas de mayor concentración de nutrientes a zonas de concentración más baja).

Con el crecimiento de las raíces, ellas se extienden a nuevas áreas del suelo donde se encuentran o interceptan con iones en solución. La extensión de la raíz disminuye la distancia necesaria para que los nutrimentos se muevan por flujo de masa o difusión hacia la superficie de las raíces (Donahue, 1981). Este mecanismo es conocido como "Intercepción radical", que es el desarrollo de la mayor elongación de la raíz bajo condiciones de estrés, para tener mayor espacio-volumen de exploración (Anuradha y Narayanan, 1991; McLaughlin y James, 1991; citados por Cruz, 1994).

La raíz es una combinación de un enrejado activo (formado por paredes celulares), que está en contacto con la solución del suelo y el protoplasma celular (la porción viva interior), que está rodeado por una membrana. Una selectiva y discriminante absorción de iones esenciales (también como la de no esenciales) ocurre a través de estas membranas celulares por procesos muy complejos.

A medida que las raíces absorben nutrimentos, excretan cationes H^+ en una cantidad de cationes equivalentes o un anión HCO_3^- por una cantidad de nutrimento aniónico absorbido.

La principal fuente de nutrimentos aniónicos, es la materia orgánica del suelo. La descomposición de la materia orgánica por bacterias, hongos y actinomicetos (todos microorganismos) pone estos nutrimentos aniónicos disponibles para la absorción de las plantas (Donahue, 1981). La capacidad que tienen las sustancias húmicas de formar sales disociadas, junto con la adsorción de cationes por las arcillas, origina el complejo de cambio iónico, mediante el cual existe un equilibrio dinámico de cationes, llamado bases de cambio (y en menor grado de aniones), entre el complejo organomineral y la

solución del suelo, permitiendo así la adecuada nutrición vegetal (Gallardo, 1980).

Los iones en el suelo se encuentran de diversas maneras:

1. En la saturación acuosa del suelo en donde son fácilmente asimilados por las plantas, la solución del suelo es el principal proveedor de iones.
2. En los coloides que forman el suelo, los iones se encuentran adsorbidos allí por las atracciones eléctricas de los coloides orgánicos e inorgánicos y las cargas de los distintos iones.
3. En la estructura cristalina de los coloides.

Las plantas utilizan los iones que se encuentran en la solución acuosa del suelo y los adsorbidos en la superficie de las partículas coloidales. Las plantas aprovechan con mayor facilidad los iones de las soluciones edáficas, en cambio, los adsorbidos en los coloides serán más difíciles de un aprovechamiento directo siendo intercambiables con la solución del suelo (Rodríguez, 1982).

Las sales nutritivas en el suelo al entrar en la solución tienden a disociarse en sus partes conformantes, los aniones de carga negativa y los cationes de carga positiva.

Mediante la llamada serie litotrópica de los cationes u ordenamiento de los cationes de acuerdo a la fuerza en que están unidos a los coloides del suelo, se explica la facilidad que tiene la planta de intercambiar iones directamente con las micelas.

Los coloides del suelo se pueden dividir en coloides minerales y orgánicos. Los minerales están constituidos por las micelas de los distintos grupos de arcillas (caolinitas, vermiculitas, montmorillonitas, cloritas, entre otras), las partículas de óxido de

hierro y aluminio y los alofanos. Los coloides orgánicos son el humus (mor, mull, moder, anmoder y humus microbiano), y demás sustancias orgánicas (Gallardo, 1980).

Los nitratos, sulfatos y bicarbonatos son aniones que se destacan por una fácil intercambiabilidad, con excepción de los fosfatos que en suelos alcalinos precipitan en forma de fosfato de calcio y manganeso, y en suelos ácidos son fijados por las caolinitas y óxidos de hierro y aluminio, por lo tanto, los fosfatos no son fácilmente absorbidos por las plantas (Rodríguez, 1982).

En el proceso de absorción de los nutrimentos se distinguen cinco etapas:

1. El intercambio de iones entre micelas y la solución salina del suelo. En la superficie de las micelas se encuentran adsorbidos los distintos cationes; la fuerza con que están adsorbidos depende del tipo de catión (determinando la serie liotrópica), indicando la mayor probabilidad de intercambio con la solución del suelo de aquellos cationes que estén menos fuertemente unidos. Esta etapa es conocida como "adsorción de la interface micela-solución del suelo".

2. Intercambio de iones entre la raíz y el suelo.

La raíz puede hacer el intercambio de dos formas respecto al suelo:

- Directamente por contacto entre raíz y suelo.
- Indirectamente a través de la solución del suelo.

El intercambio directo se produce entre los iones de la superficie de la raíz y los iones adsorbidos en el complejo de intercambio del suelo.

En el intercambio indirecto a través de la solución del suelo la raíz constantemente absorbe nutrimentos como Ca^{++} , K^+ , NH_4^+ , Mg^{++} , Al^{+++} , H^+ , Fe^{++} , Na^{++} , entre otros, y elimina al suelo CO_2 que son los desechos del proceso metabólico y la respiración (Rodríguez, 1982).

3. Acumulación de iones entre la pared celular y el plasma celular. La pared celular de las raíces posee una gran permeabilidad que permite una buena penetración de los iones, la cual actúa favoreciendo por medio de sus cargas eléctricas el pasaje de los iones según su carga.

4. Transporte activo y pasivo a través de la membrana. La absorción de iones puede ser de una forma pasiva o activa. La pared celular, el espacio intercelular y los vasos xilemáticos constituyen el apoplasto. Ahí se forma un "espacio libre aparente" en donde los iones circulan en forma pasiva y libre. La entrada o salida de los iones depende de un gradiente de difusión, es decir que los iones se van moviendo de acuerdo a las diferencias de concentración que hay entre un punto y otro (Rodríguez, 1982).

Los iones van avanzando al interior de la raíz siguiendo un gradiente de concentración, van de un punto de mayor concentración a otro de menor; al llegar a la endodermis se encuentran con las Bandas de Caspari, que son impermeables, y para poder entrar al simplasto

deben gastar energía metabólica, constituyendo de esta manera una absorción activa.

El gasto de energía metabólica supone un gasto de respiración ya que la energía es obtenida a partir de la respiración o consumo de algunos substratos orgánicos, utilizándose para este proceso el oxígeno. La absorción activa promueve una elevación de la concentración de iones en el simplasto hasta niveles muy superiores que los del exterior, y esto se debe al gasto energético que realiza la planta, pues se absorben iones en contra del gradiente de concentración (contrariamente de lo que ocurre en la absorción pasiva). El simplasto es continuo en el interior del vegetal; así, los iones llegan al cilindro central a través de los plasmalemas. En el transporte activo intervienen unas sustancias específicas llamadas "transportadores", situados en las membranas de las células. Los transportadores dejan libres a los iones en el apoplasto del cilindro central, es decir en los vasos xilemáticos, siendo allí las concentraciones de los iones mucho mayor que en la solución del suelo. Una vez en el xilema, los iones son transportados con el agua a las diversas partes de la planta. El transporte activo origina una acumulación constante en las células en crecimiento y en las que se produce una multiplicación celular (Rodríguez, 1982).

5. Traslado y distribución de las sales inorgánicas. Los iones inorgánicos absorbidos por la raíz en forma de aniones (que constituyen los nutrimentos de la planta), son trasladados por el xilema en forma ascendente junto con el agua. En esta corriente ascendente del xilema también se produce una difusión lateral de los

iones inorgánicos hacia el floema (que transporta sustancias orgánicas). Cuando las sales llegan a las células de las hojas se combinan con las sustancias orgánicas y migran hacia arriba y abajo de los órganos de la planta a través del floema.

Existen diversos factores que afectan la absorción iónica de tipo interno y externo entre los cuales están:

Factores internos.

- Los factores puramente genéticos de la especie que determina la capacidad de absorción.
- El estado de desarrollo de las plantas, estas tienen mayor absorción de nutrimentos en este período, ya que en el momento de la floración se detiene relativamente la absorción puesto que la planta esta gastando gran cantidad de energía en dicho proceso de desarrollo.
- El estado general de sanidad de la planta. Una planta enferma posee menos capacidad de relación con el medio.

Factores externos.

- Temperatura del suelo, el oxígeno, la luz y la concentración salina externa, son algunos de los factores que influyen en el proceso de absorción de nutrimentos por la planta.

METODOLOGIA

El trabajo se realizó en el Laboratorio de la Sección de Nutrición Vegetal del Instituto de Recursos Naturales del Colegio de Postgraduados, México.

Se utilizaron para el desarrollo del experimento, dos genotipos de trigo (*Triticum aestivum*) y cuatro genotipos de triticale (*X Triticosecale* Wittmack).

Los genotipos de trigo utilizados en el experimento fueron:

S-029 acid soil

S-030 acid soil

Estos genotipos son variedades que prosperan muy bien en suelos ácidos, y son variedades provenientes de Brasil.

Los genotipos de triticale utilizados en el experimento fueron:

Alamos Stier 25

Eronga 83 Tarasca 87

La siembra de las semillas se hizo utilizando semilleros de unisel para los primeros 7 días, al cabo de los cuales, se transplantaron las plántulas a vasos de unisel del No. 110, como sustrato se empleó Agrolita, tanto en el semillero como en los vasos. Se sembraron de tres a cuatro semillas por cada contenedor del semillero. Después cada vaso fue tomado como la unidad experimental.

El experimento se realizó de acuerdo al siguiente diseño experimental completamente aleatorio.

Donde:

A = DIFERENTES TRATAMIENTOS DE FOSFORO.

ESPECIES

T = Trigo.

H = Triticale.

GENOTIPOS

T1-T2 = Distintos genotipos de Trigo.

H1-H4 = Distintos genotipos de Triticale.

TRATAMIENTO DE FOSFORO	A	
	T	H
ESPECIES		
1a. Repetición	T1 T2	H1 H2 H3 H4
2a. Repetición	T1 T2	H1 H2 H3 H4
3a. Repetición	T1 T2	H1 H2 H3 H4

Total de unidades experimentales por determinación = 90

(6 genotipos X 5 tratamientos X 3 repeticiones = 90)

El riego se realizó con agua destilada cada tercer día partiendo de la fecha de siembra y durante quince días, al final de los cuales se tomó la primera muestra de raíz de cada genotipo de cada especie, para determinar la fosfatasa ácida natural, es decir, sin haber aplicado ningún tratamiento, solo agua destilada. A cada vaso se le hicieron orificios para la percolación.

Se realizaron tres observaciones de cada uno de los tratamientos tanto en trigo como en triticale, la toma de muestras se realizó en cada una de estas distintas unidades experimentales, de esta manera se obtuvieron las tres repeticiones para cada genotipo de ambas especies.

Pasados los quince días de edad de las plántulas, desde el momento de la siembra, estas fueron sometidas al tratamiento con soluciones nutritivas, para de esta forma asegurar que se vieran abastecidas de todos los macro y micronutrientes que requieran, excepto el fósforo que fue el objetivo de estudio. El suministro de la solución nutritiva fue aplicada con el agua destilada cada tercer día, esta solución fue a base de:

Sulfato de amonio.....	$(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$	1 M.....	5 meq/l
Nitrato de calcio.....	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1 M.....	8 meq/l
Sulfato de magnesio.....	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1 M.....	3 meq/l
Sulfato de potasio.....	K_2SO_4	1 N.....	5 meq/l
Fe-EDTA			0.5 ml/l

Y una solución de micronutrientos, compuesta de:

Sulfato de zinc.....	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.010 g
Sulfato de cobre.....	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.005 g
Acido bórico.....	H_3BO_3	0.500 g
Sulfato de manganeso.....	$MnSO_4 \cdot H_2O$	0.500 g

Estos micronutrientos disueltos en 100 ml de agua destilada.

Las diferentes fuentes de fósforo fueron las siguientes:

Superfosfato Triple al 46 % (SFT).....	0.6 meq de P
Roca fosfórica de Baja California al 50% de acidulación con H_2SO_4	0.6 meq/l de P
Fosfato de Calcio ($Ca_3P_2O_8$).....	0.6 meq/l de P
Fósforo orgánico (Fitina).....	0.6 ppm de P
Testigo (sin Fósforo).....	0.0 meq/l de P

Mediante dichas fuentes de obtención de fósforo para la planta, se observó cual de ellas aporta más rápida y/o prolongadamente fósforo, evaluándolo mediante la actividad fosfatásica de la raíz de la plántula de cada especie y de cada genotipo.

Estas diferentes fuentes de fósforo fueron aplicadas como tratamiento en dos dosis en el transcurso de la semana, esto es, entre una determinación de fosfatasa y otra, a partir de los 15 días de siembra de la semilla. Las determinaciones de la actividad de la enzima se realizaron una cada semana.

La segunda determinación de la enzima fosfatasa ácida se hizo a los 22 días de la fecha de siembra, es decir, siete días después de haber aplicado los distintos tratamiento o fuentes de fósforo y,

cuando hipotéticamente empezaron las plantas a carecer de fósforo y por consiguiente, incrementaron su actividad fosfatásica.

Una tercera determinación se realizó a los 29 días de edad de las plantas, es decir, catorce días después de la aplicación de las fuentes de obtención de fósforo, y una cuarta y última a los 36 días.

Las determinaciones de la enzima fosfatasa ácida, se realizaron mediante el Método del P-nitrofenil fosfato (Tabatabai, 1982), partiendo de la modificación hecha por Cruz (1994), para evaluar con material vegetal, se calibraron cada uno de los distintos parámetros de la técnica, lo cual nos llevó a a modificar algunos de ellos como se muestra a continuación:

METODO ORIGINAL DEL P-NITROFENIL FOSFATO.

A) Pesar 1 g de suelo y colocarlo en un matraz erlenmeyer.

B) Agregar 0.2 ml de Tolueno, 4 ml de Buffer Universal Modificado (MUB) pH 6.5 (para determinación de fosfatasa ácida) o pH 11 (fosfatasa alcalina), 1 ml de solución de P-Nitrofenil fosfato y homogenizar el contenido mezclando por unos segundos.

C) Tapar el matríz y colocarlo a incubación por una hora a 37°C.

D) Concluida la incubación sacar del baño María y agregar rápidamente 1 ml de Cloruro de calcio (CaCl_2) 0.5 M y 4 ml de Hidróxido de sodio (NaOH) 0.5 M.

E) Agitar y filtrar la suspensión con papel Whatman No 2.

F) Medir la intensidad del color amarillo del filtrado con un colorímetro fotoeléctrico Klett-Summerson.

G) Calcular el contenido de P-Nitrofenol fosfato del filtrado con referencia en la gráfica de calibración, obtenida con estándares conteniendo 0, 10, 20, 30, 40 y 50 microgramos de P-Nitrofenol.

CURVA DE CALIBRACION.

A) Se toman alícuotas de 0, 1, 2, 3, 4 y 5 ml de solución estándar de P-nitrofenol 0.007 M y se ajustan los volúmenes de cada una hasta 5 ml, agregando agua destilada.

B) Se procede igual que las muestras desde la incubación.

**METODO DEL P-NITROFENIL FOSFATO MODIFICADO POR CRUZ FLORES
(1994).**

A) Pesar 0.1 g de raíz previamente lavada. El lavado debe ser rápido y con agua destilada.

B) Agregar 2 ml de Buffer Universal Modificado (MUB) pH 6.5 y macerar la raíz utilizando arena de cuarzo.

C) Tomar 0.3 ml del homogenizado de raíz.

D) Tapar e incubar agregando 4 ml de M.U.B. pH 6.5 y 1 ml de p-Nitrofenil fosfato 0.003 M. La incubación se hace en baño María a 37°C durante 10 min.

E) Concluida la incubación sacar del baño María y agregar rápidamente 1 ml de Cloruro de calcio (CaCl_2) 0.5 M y 4 ml de Hidróxido de sodio (NaOH) 0.5 M.

F) Agitar y filtrar la suspensión en papel Whatman No 2.

G) El filtrado se lee en el espectrofotómetro a 400 nm, la intensidad del color amarillo indica Ac-Fa en la muestra.

CURVA DE CALIBRACION.

A) Se toman alícuotas de 0, 1, 2, 3, 4 y 5 ml de solución estándar de P-nitrofenol 0.007 M y se ajustan los volúmenes de cada una hasta 5 ml, agregando agua destilada.

B) Se procede igual que las muestras desde la incubación.

**PARAMETROS MODIFICADOS EN EL METODO DEL P-NITROFENIL FOSFATO ADAPTADO
PARA RAIZ, EN EL PRESENTE TRABAJO.**

- pH del Buffer Universal Modificado (MUB) de 6.5 a 5.5.
- Tiempo de incubación de 10 min. a 20 min.
- Temperatura de incubación de 37°C a 30°C.

RESULTADOS Y DISCUSION (Primera parte).

CALIBRACION DE LA TECNICA.

Partiendo de la técnica para determinación de la actividad de enzimas fosfatasas (ácidas y alcalinas) del suelo hecha por Tabatabai, 1982; en éste trabajo se modificaron algunos parámetros originales de dicha técnica para adaptarla y poder evaluar la Ac-FA con material vegetal, en éste caso con las raíz de las plantas de trigo y triticale.

Los diferentes parámetros evaluados tuvieron un soporte para cada uno de varios experimentos realizados, para decidir las condiciones más apropiadas de acuerdo a las características del experimento.

Se experimentaron diferentes parámetros de la técnica original y son los siguientes:

- 1) Comportamiento a la concentración de Hidróxido de Sodio (NaOH).
- 2) Tiempo de incubación.
- 3) Diferentes concentraciones del sustrato (p-Nitrofenil Fosfato).
- 4) Diferentes pH del Buffer Universal Modificado (M.U.B).
- 5) Diferente concentración del Extracto (Enzima).
- 6) Diferentes temperaturas en la incubación.

Con dichos parámetros calibrados y modificados se realizó el experimento final, es decir, la respuesta de la actividad fosfatásica en cada uno de los seis genotipos utilizados, en diferentes edades de las plantas y con distintas fuentes de fósforo.

COMPORTAMIENTO AL HIDROXIDO DE SODIO (NaOH).

En cuanto al comportamiento frente al NaOH, se evaluaron diferentes concentraciones en molaridad (M), para observar el efecto que este reactivo tiene en la determinación de la actividad de la enzima fosfatasa ácida (Ac-FA), dado que en dicha técnica es utilizado para desestabilizar a la enzima y detener la reacción.

En la Cuadro 1 se muestra el rango de concentraciones molares experimentadas y las concentraciones expresadas en micromoles de p-Nitrofenil fosfato por gramo de materia fresca por hora ($\mu\text{mol p-NPP/ gr de mat. fresca/ hr}$), para tres observaciones de cada uno de estos tratamientos, así como el valor medio (\bar{X}) de las mismas.

Las figuras 2,3,4 y 5 muestran en gráficos la actividad de la enzima tomando los valores promedio de cada experimento realizado y a sus diferentes concentraciones de NaOH.

Observando los valores obtenidos y sus gráficas realizadas con el dato promedio de cada serie de resultados (figuras 2, 3, 4, y 5), se decidió utilizar la concentración (C) de 0.5 M para desestabilizar a la enzima y detener la reacción. El motivo de utilizar esta concentración en el experimento se debió a que en las concentraciones nulas de NaOH C1 o con bajas C2 los valores obtenidos son bajos, es decir la Ac-FA se ve afectada de manera muy marcada con valores como 3.646, 1.607 ó 4.017 (Cuadro 1) que son bajos comparandolos con los obtenidos para las C2, C3, C4 y C5 que muestran valores casi uniformes a pesar de ser distintas concentraciones (figura 3 y 4).

La C7 se observa que es muy alta y afecta la lectura final de la Ac-FA, dando valores como 79.924, 70.115 ó 68.292 (Cuadro 1) que son

muy altos comparandolos con los obtenidos para las C2, C3, C4 y C5 cuyos valores resultaron con valores con escasa diferencia de acuerdo a las gráficas (figura 2, 3, 4 y 5).

Las C2, C3, C4, C5 e incluso C6 mostraron en los cuatro experimentos realizados poca variación en el dato final y a las cuales consideramos más apropiadas para el experimento, dada la poca variabilidad.

Otra de las razones por la cual se tomaron estas concentraciones es que si hubiesen variaciones involuntarias en la concentración de NaOH, los datos no se verían afectados de una manera muy marcada, lo cual se observa con mayor claridad en la Figura 4.

De las C2, C3, C4, C5 y C6 se decidió utilizar la C4 por ser la intermedia entre las concentraciones que resultaron con menor variabilidad en los datos, y por tanto en las gráficas comparativas y por ser la utilizada en dos experimentos similares anteriores al presente trabajo. Zavala Munguía (1993), utiliza para la determinación de la actividad de la enzima fosfatasa Ácida la técnica de Tabatabai (1982), modificada por Cruz (1994), en la cual la concentración de NaOH considerada apropiada para detener la reacción es de 0.5 M, lo cual concuerda con el resultado obtenido en la calibración de éste parámetro.

Otros autores, aunque con algunas modificaciones utilizan la técnica de Tabatabai y Bremner (1969), citado por Tabatabai (1982), para la determinación de la actividad de la enzima y utilizan el NaOH para detener la reacción a una concentración de 0.5 M, tal es el caso de Browman y Tabatabai (1978) en la determinación de fosfodiesterasas.

Press y Lee (1982) utilizan también NaOH 0.5 M para la determinación de la Ac-FA en *Sphagnum sp*, en relación con la nutrición de fosfatos.

De acuerdo a los resultados obtenidos podemos afirmar que las concentraciones de NaOH muy bajas o muy altas afectan el resultado final del experimento.

Cuadro 1.

CONCENTRACION DE HIDROXIDO DE SODIO (NaOH)
Rango de concentraciones de NaOH probadas

C1	0.000 M
C2	0.125 M
C3	0.250 M
C4	0.500 M
C5	1.250 M
C6	2.500 M
C7	5.000 M

PRIMER EXPERIMENTO

$$\mu\text{moles p-NPP/gr de materia fresca/hr} \quad \bar{x}$$

C1	14.532	12.456	11.038	12.675
C2	36.329	36.329	34.253	35.637
C3	41.519	45.671	49.823	45.671
C4	46.709	46.709	53.975	49.131
C5	48.785	48.785	57.088	51.553
C6	45.671	47.747	72.658	55.359
C7	51.899	53.975	79.924	61.933

SEGUNDO EXPERIMENTO

$$\mu\text{moles p-NPP/gr de materia fresca/hr} \quad \bar{x}$$

C1	3.739	3.739	3.459	3.646
C2	47.678	46.743	43.004	45.808
C3	48.613	46.743	43.004	46.120
C4	48.613	46.743	44.874	46.743
C5	53.287	54.222	49.548	52.352
C6	56.092	56.092	46.743	52.976
C7	56.092	56.092	70.115	60.766

TERCER EXPERIMENTO

$$\mu\text{moles p-NPP/gr de materia fresca/hr}$$

C1			1.607	\bar{x} 1.607
C2	40.172	38.565	40.172	39.636
C3	39.368	39.368	39.368	39.368
C4	39.368	39.368	40.975	39.904
C5	40.172	43.385	40.975	41.511
C6	43.385	43.385	49.813	45.528
C7	63.471	40.172	68.292	57.312

Cuadro 2.

CUARTO EXPERIMENTO

µmoles p-NPP/gr de materia fresca/hr

	\bar{x}
C1	4.017
C2	35.351
C3	37.761
C4	39.368
C5	41.779
C6	44.189
C7	52.223

PRIMER EXPERIMENTO

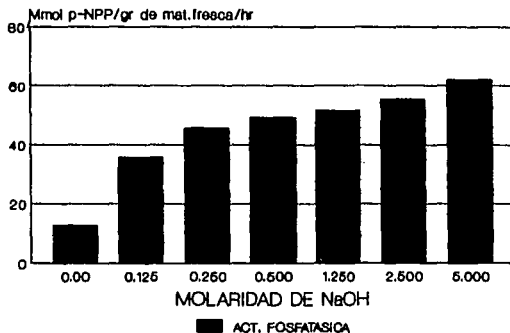


Figura 2. Respuesta de la actividad fosfatásica (Ac-FA) a la variación de la concentración de NaOH.

SEGUNDO EXPERIMENTO

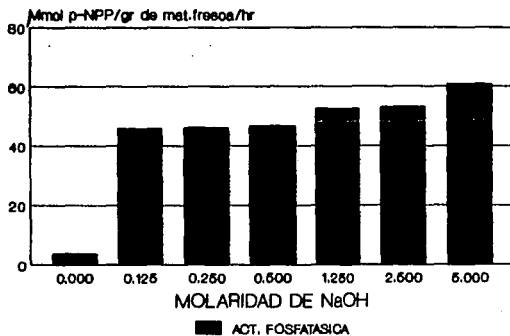


Figura 3. Respuesta de la actividad fosfatásica (Ac-FA) a la variación de la concentración de NaOH.

TERCER EXPERIMENTO

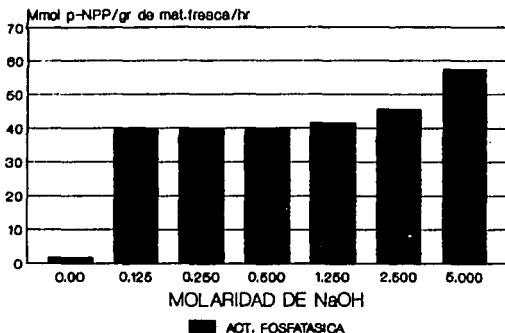


Figura 4. Respuesta de la Ac-FA a la variación de la concentración de NaOH.

CUARTO EXPERIMENTO

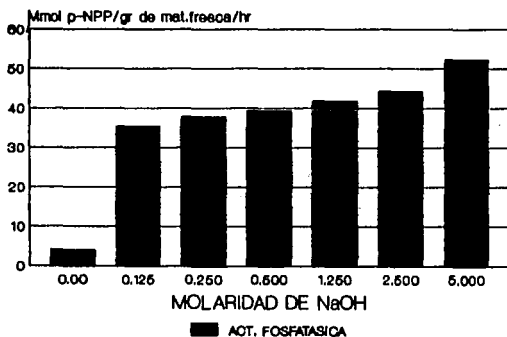


Figura 5. Respuesta de la Ac-FA a la variación de la concentración de NaOH.

TIEMPO DE INCUBACION

Como sustento de esta evaluación se realizaron 3 diferentes experimentos, con distintos tiempos de incubación que variaron desde 5 hasta 30 minutos.

Los resultados de dichas exploraciones se encuentran en el Cuadro 3. Se muestran los grupos de datos obtenidos y sus respectivos valores medios (\bar{X}), dados en $\mu\text{mol p-NPP/ gr de mat. fresca/hr.}$

El tiempo de incubación en reacciones enzimáticas es de importancia tanto, como la temperatura a la cual se lleve ésta, por ello se evaluaron distintos tiempos a una temperatura, una concentración de sustrato, un pH de buffer y una alícuota de extracto, todos estos parámetros constantes.

Los resultados muestran variaciones crecientes de la Ac-FA conforme se aumentó el tiempo de incubación, a una temperatura siempre constante que fue de 30°C, esto es un resultado esperado para una enzima sometida a un lapso creciente de incubación a determinada temperatura, pues hay mayor conversión de sustrato a producto con respecto a mayor tiempo. La técnica original marca 10 minutos de incubación para la determinación de la Ac-FA, así que se evaluó en este tiempo y en otros alrededor de éste.

Como se muestra en las figuras 6 y 7, la Ac-FA creció, conforme transcurrió el tiempo de la incubación. Entre los valores de 10, 15 y 20 minutos no existe una gran variación en los datos, no así a los 5 minutos donde la actividad fue menor y a los 30 donde la actividad aumentó con respecto a los otros tiempos de incubación.

En la Figura B se puede observar un comportamiento un tanto distinto al de las gráficas anteriores, pues a los 20 minutos baja ligeramente la Ac-FA al compararla con la de 10 minutos, en este experimento ya no se evaluó a los 30 minutos.

Para la evaluación de éste parámetro, se observa que diversos autores manejan el tiempo de incubación de acuerdo a las necesidades de su experimento, aumentando la temperatura de incubación o disminuyendo el tiempo de la misma, tal es el caso de Press y Lee (1982), que incuban a 25°C por 5 minutos, para la determinación de la Ac-FA en especies de *Sphagnum*.

O'Connell y Grove (1985), utilizan un tiempo de incubación de 30 minutos a una temperatura de 30°C, para determinar la Ac-FA en *Eucalyptus diversicolor*, utilizan el mismo procedimiento de Barrett-Lennard (1982), es decir, 30 minutos a una temperatura de 30°C, estos últimos para una caracterización de fosfatasa solubles en trigo, bajo deficiencia de fósforo y agua.

Tadano y Sakai (1984), para evaluar la secreción de fosfatasa ácida en raíces de nueve cultivos distintos y bajo condiciones de deficiencia de fósforo, utilizan un tiempo de 20 minutos a una temperatura de 30°C, lo cual es similar a las condiciones del presente trabajo.

Barrett-Lennard, et al, (1981), mencionan dentro de las condiciones óptimas para el manejo de fosfatasa solubles e insolubles un tiempo de incubación de 15 minutos, dado que se facilita el manejo del volumen de las muestras.

Se adoptó un tiempo de incubación de 20 minutos, ya que en cada determinación de la Ac-FA se evaluaban un total de 90 muestras y esto

hacia más propia la opción de incubar por 20 que por 10 minutos, en el presente experimento.

Cuadro 3.

TIEMPO DE INCUBACION

PRIMER EXPERIMENTO

 $\mu\text{moles p-NPP/gr de materia fresca/hr}$

5 min.	10 min.	15 min.	20 min.	30 min.	
66.543	74.105	81.666	84.691	90.74	
68.055	75.617	81.666	86.203	87.716	
74.105	81.666	84.691	89.228	93.765	
84.691	84.691	78.642	87.716	96.79	
68.055	84.691	78.642	89.228	96.79	
$\bar{X} =$	72.290	80.154	81.061	87.413	93.16

SEGUNDO EXPERIMENTO

 $\mu\text{moles p-NPP/gr de materia fresca/hr}$

5 min.	10 min.	15 min.	20 min.	30 min.	
50.794	62.223	68.573	77.462	77.462	
50.794	63.493	71.112	80.001	81.271	
62.223	68.573	73.652	73.652	81.271	
53.334	73.652	80.001	71.112	85.081	
57.144	77.462	78.731	76.192	86.351	
$\bar{X} =$	54.858	69.08	74.414	75.684	82.287

TERCER EXPERIMENTO

 $\mu\text{moles p-NPP/gr de materia fresca/hr}$

5 min.	7 min.	10 min.	20 min.	
41.895	50.274	51.322	52.369	
38.753	48.18	51.322	50.274	
43.99	43.99	56.559	51.322	
$\bar{X} =$	41.546	47.481	53.067	51.322

PRIMER EXPERIMENTO

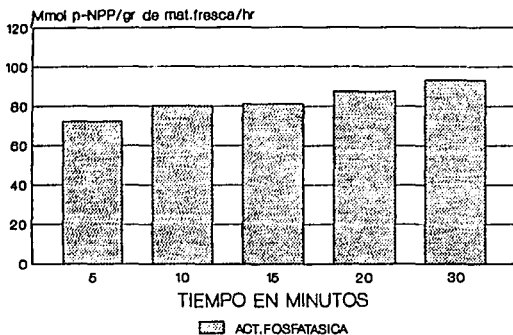


Figura 6. Respuesta de la actividad fosfatásica (Ac-FA) a la variación del tiempo de incubación.

SEGUNDO EXPERIMENTO

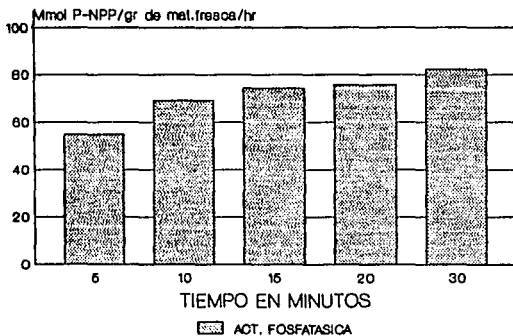


Figura 7. Respuesta de la (Ac-FA) a la variación del tiempo de incubación.

TERCER EXPERIMENTO

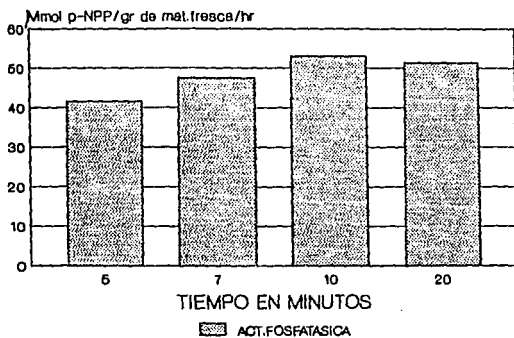


Figura 8. Respuesta de la actividad fosfatásica a la variación del tiempo de incubación.

DIFERENTES CONCENTRACIONES DEL SUSTRATO (P-NITROFENIL FOSFATO).

En este trabajo se realizaron diferentes evaluaciones para determinar la concentración de sustrato más apropiada a las necesidades del presente trabajo. Se utilizó un rango de concentraciones que va desde 0.001 hasta 0.1 M (Cuadro 4). Las series de valores obtenidos se muestran por experimento, así como la media de cada una de éstas series.

Para este experimento se mantuvieron constantes los datos obtenidos en las otras evaluaciones de calibración de la técnica, como la concentración de NaOH y el tiempo de incubación de 20 minutos.

Como en toda reacción enzimática, al mantenerse fija la concentración de enzima y aumentar la concentración del compuesto que se está transformando (sustrato), hay un incremento considerable en la velocidad de la reacción, pero a medida que se va aumentando la concentración del sustrato, la aceleración de la velocidad de dicha reacción empieza a decrecer, hasta que finalmente, cuando la concentración del sustrato es elevada, ya no se observa cambio en la velocidad, es decir, los sitios activos de la enzima se saturan con las moléculas del sustrato hasta que, en el punto llamado de saturación, no queda un sitio libre.

En la Figura 9 se observa este comportamiento creciente conforme aumenta la concentración de p-NFP. La velocidad de reacción se incrementa tanto en la Figura 9 como en la 10, pero no se llega a la saturación con la concentración de 0.100 M, por tanto en este trabajo no se realizaron cálculos de velocidad media de reacción (K_m).

En las concentraciones de 0.100 y 0.050 M se obtienen lecturas en el espectrofotómetro muy cercanas al límite de absorbancia (1.5), lo cual puede provocar valores distintos con una pequeña variación de la aguja en la escala, debido a que el intervalo en esta es más cerrado que a lecturas menores, por lo tanto se decidió explorar las concentraciones de p-NPP donde la lectura de absorbancia diera cercana a donde el intervalo de la escala es más amplio y así poder disminuir cierto grado de error visual que pudiera haber en cada una de las lecturas.

En el Cuadro 5 se observan las concentraciones elegidas para evaluar nuevamente (C1 y C2).

Para éste experimento se realizaron 4 diferentes exploraciones con ambas concentraciones, resultando más propia para los fines del experimento la de 3 mM (0.003 M) debido a que en el rango del espectrofotómetro las lecturas están cercanas al valor 0.4 de la escala, y es ahí donde la escala presenta una mayor amplitud esto se observa en las Figuras 11, 12, 13 y 14. Por lo tanto la concentración del sustrato a utilizar fue de 0.003 M.

Cuadro 4.

DIFERENTES CONCENTRACIONES DEL SUSTRATO
(P-NITROFENIL FOSFATO)

RANGO DE CONCENTRACIONES EXPERIMENTADAS

C1	0.100 M
C2	0.050 M
C3	0.025 M
C4	0.010 M
C5	0.003 M
C6	0.001 M

PRIMER EXPERIMENTO

µmoles p-NPP/gr de materia fresca/hr						
C1	C2	C3	C4	C5	C6	
78.554	67.032	56.559	52.369	46.085		19.9
82.743	62.843	56.559	53.416	47.132		10.474
73.317	62.843	57.606	50.274	52.369		19.9
\bar{X} - 78.204	64.239	56.908	52.02	48.529		16.758

SEGUNDO EXPERIMENTO

µmoles p-NPP/gr de materia fresca/hr						
C1	C2	C3	C4	C5	C6	
157.107	125.686	72.269	54.464	46.085		33.516
157.107	146.633	77.506	53.416	50.274		30.374
157.107	136.16	74.364	53.416	48.18		31.421
\bar{X} - 157.107	136.16	74.713	53.766	48.18		31.771

Cuadro 5.

DIFERENTES CONCENTRACIONES DEL SUSTRATO
(P-NITROFENIL FOSFATO)

RANGO DE CONCENTRACIONES EXPERIMENTADAS

C1 0.025 M
C2 0.003 M

TERCER EXPERIMENTO

CUARTO EXPERIMENTO

		Moles p-NPP/gr de materia fresca/hr	
	C1	C2	
	100.156	30.817	84.747
	100.156	31.588	107.86
	92.452	30.817	100.156
\bar{x}	97.588	31.074	97.588

QUINTO EXPERIMENTO

SEXTO EXPERIMENTO

		Moles p-NPP/gr de materia fresca/hr	
	C1	C2	
	100.156	32.358	100.156
	100.156	53.93	100.156
	107.86	42.374	92.452
\bar{x}	102.724	42.887	97.588

PRIMER EXPERIMENTO

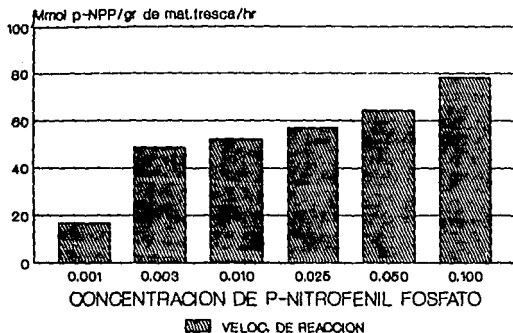


Figura 9. Respuesta de la actividad fosfatásica (Ac-FA) a la variación de la concentración del p-Nitrofenil fosfato.

SEGUNDO EXPERIMENTO

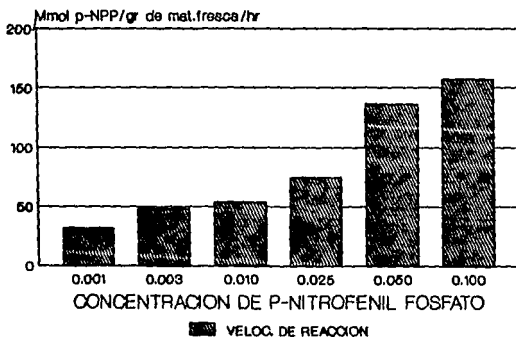


Figura 10. Respuesta de la (Ac-FA) a la variación de la concentración del p-Nitrofenil fosfato.

TERCER EXPERIMENTO

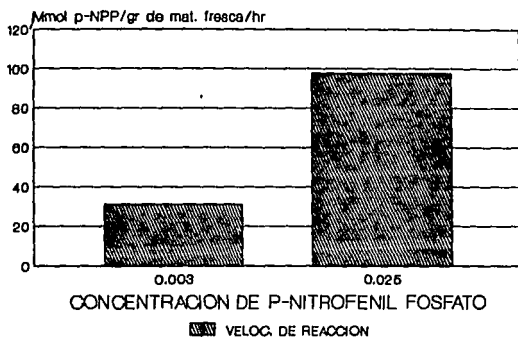


Figura 11. Respuesta de la actividad fosfatásica (Ac-FA) a la variación de la concentración del p-Nitrofenil fosfato.

CUARTO EXPERIMENTO

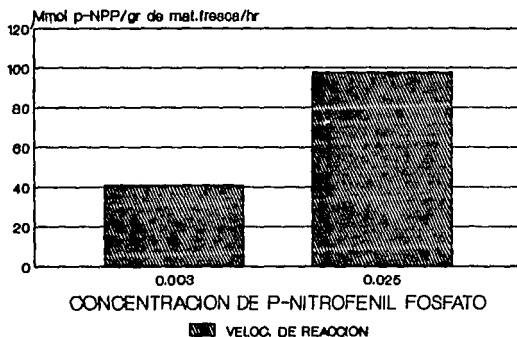


Figura 12. Respuesta de la AC-FA a la variación de la concentración del p-Nitrofenil fosfato.

QUINTO EXPERIMENTO

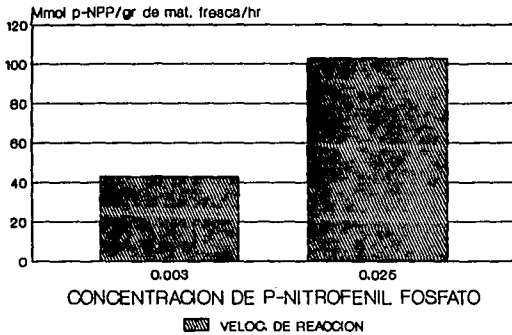


Figura 13. Respuesta de la actividad fosfatásica (Ac-FA) a la variación de la concentración del p-Nitrofenil fosfato.

SEXTO EXPERIMENTO

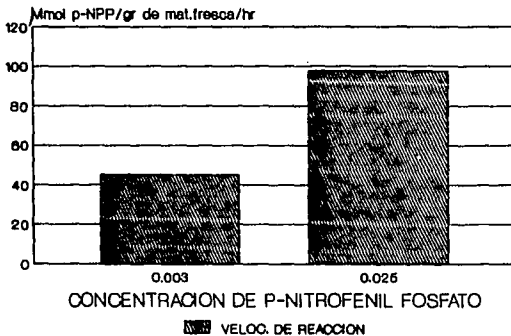


Figura 14. Respuesta de la Ac-FA a la variación de la concentración del p-Nitrofenil fosfato.

DIFERENTE pH DE BUFFER.

En los estudios enzimáticos es muy importante establecer, el pH óptimo y, si se requiriera los límites de uno u otro lado del punto.

Una vez encontrado esto, se debe mantener la reacción en el medio controlado con alguna solución amortiguadora (buffer) de adecuada capacidad estabilizadora.

El tipo de Amortiguador empleado fue el Buffer Universal Modificado (M.U.B.), el cual fue probado a distintos pH.

En el Cuadro 6 se muestra el rango de pH experimentado para la evaluación de la Actividad de la enzima fosfatasa ácida, el cual va desde 5.0 hasta 7.0.

Para calibrar este parámetro de la técnica se realizaron 3 determinaciones a 5 distintos pH, cada uno de los grupos de datos se presentan por experimento y graficados con sus valores medios (\bar{X}), estos datos corresponden a las figuras 15, 16 y 17.

Las enzimas por ser proteínas se ven afectadas de manera notable por el pH, modificando el carácter iónico de los grupos amino y carboxílico lo que a su vez modifica el sitio catalítico, así como la configuración. De manera general los valores altos o bajos de pH producen efectos iónicos en la enzima, lo cual puede causar la inactivación de ésta.

Por ello se buscó un pH óptimo, es decir donde la actividad de la enzima tuviera su máxima expresión, aunque cabe hacer notar, que el pH en el cual alcanza su máxima actividad no necesariamente coincide con el pH al que se observa su máxima estabilidad como se puede establecer en las figuras 15, 16 y 17 se obtiene una curva acampanada con un máximo, y con pendientes que decrecen a ambos lados. En éste

caso el pH óptimo es de 5.5, donde se observa el pico más elevado de la curva.

Dick y Tabatabai (1984), mencionan que el valor de pH óptimo para la enzima fosfatasa evaluada en material vegetal es de 5.5, esto en su estudio de parámetros cinéticos de fosfatasas. Tadano y Sakai (1991), aunque utilizan Buffer acetato de sodio, lo usan a un pH de 5.6, midiendo la secreción de fosfatasa ácida en las raíces de nueve especies de cultivos, bajo condiciones de deficiencia de fósforo. Así mismo utilizan en la técnica un tiempo de incubación de 20 minutos a una temperatura de 30°C, sólo que para terminar la reacción usan una solución saturada de Na_2CO_3 .

Por otra parte Barrett- Lennard, et al, (1981) utilizan buffer acetato de potasio a un pH 5.0 como el apropiado para la determinación de la Ac-FA en trigos. McLachlan (1980), al evaluar la Ac-FA en raíz de trigo y centeno, entre otros, emplea en su técnica Acetato de Sodio a un pH de 5.0.

Como conclusión en este experimento resultó que la máxima actividad enzimática o velocidad de reacción se presentó siempre en pH 5.5 del buffer y la menor actividad en el pH de 7.0. Por tanto se decidió utilizar el Buffer Universal Modificado (M.U.B.) a un pH de 5.5.

CUADRO No. 6

BUFFER UNIVERSAL MODIFICADO A DIFERENTE pH

RANGOS DE pH EXPERIMENTADOS

pH	5.0
pH	5.5
pH	6.0
pH	6.5
pH	7.0

PRIMER EXPERIMENTO

	μmoles/gr de materia fresca/hr				
	5.0	5.5	6.0	6.5	7.0
	79.163	88.856	59.776	48.467	47.659
	77.547	105.012	66.238	50.083	44.428
	80.778	105.012	68.662	52.506	41.197
	75.932	79.163	72.701	48.467	43.62
\bar{X}	78.355	94.511	66.844	49.881	44.226

SEGUNDO EXPERIMENTO

	μmoles/gr de materia fresca/hr				
	5.0	5.5	6.0	6.5	7.0
	84.747	77.043	42.374	60.094	47.767
	77.043	100.156	65.487	60.094	53.93
	73.961	84.747	57.782	63.175	53.93
	72.42	84.747	61.634	63.175	53.93
\bar{X}	77.043	86.673	56.819	61.634	52.389

TERCER EXPERIMENTO

	μmoles/gr de materia fresca/hr				
	5.0	5.5	6.0	6.5	7.0
	58.553	67.798	57.782	53.93	53.93
	57.782	63.175	48.537	50.078	53.16
	57.782	65.487	57.782	47.767	40.833
	58.553	63.946	53.93	47.767	44.685
\bar{X}	58.167	65.101	54.508	49.885	48.152

PRIMER EXPERIMENTO

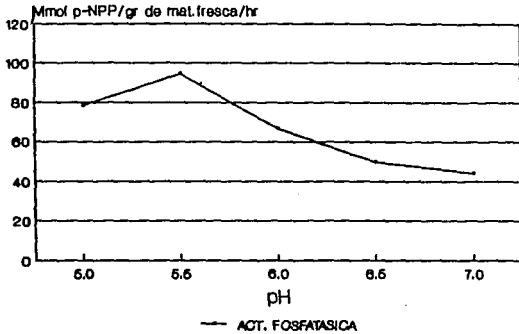


Figura 15. Respuesta de la actividad fosfatásica a diferente pH.

6

SEGUNDO EXPERIMENTO

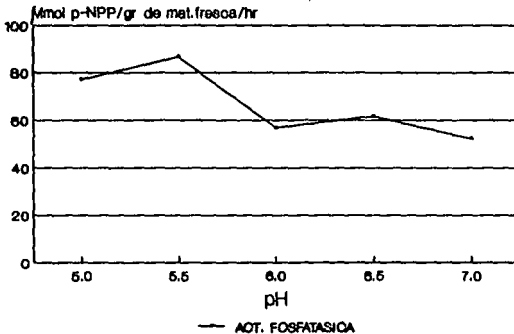


Figura 16. Respuesta de la actividad fosfatásica a diferente pH.

TERCER EXPERIMENTO

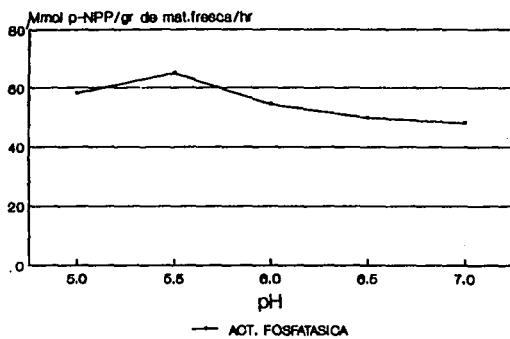


Figura 17. Respuesta de la actividad fosfatásica a diferente pH.

CONCENTRACION DEL EXTRACTO (ENZIMA).

Se hicieron algunas pruebas para determinar la concentración del extracto. Para esta prueba se emplearon diferentes alícuotas de extracto que variaban entre los 0.050 ml y los 0.500 ml (Cuadro 7).

Estas pruebas se realizaron dos veces y se graficaron las medias de los datos obtenidos en los dos experimentos por separado (Figura 18 y 19).

Como en todas las reacciones biológicas la velocidad de ésta depende en forma directa de la concentración de la enzima. Se observó que en un tiempo de reacción de 20 minutos, al aumentar la cantidad de la enzima aumentaba la cantidad de sustrato transformado.

Se eligió 0.3 ml de extracto tratando de evitar un exceso de enzima, sin embargo de acuerdo a la gráfica (figuras 18 y 19) y los resultados obtenidos (Cuadro 7), pudo haberse utilizado una alícuota de 0.2 ml lo cual también hubiese sido adecuado.

Por el contrario utilizar cantidades muy pequeñas de enzima como la alícuota de 0.05 ml podrían provocar errores por exceso de sustrato y por tanto la transformación a producto no sería completa.

Cuadro 7.

PRUEBAS SOBRE CONCENTRACION DEL EXTRACTO

ALICUOTAS DEL EXTRACTO

A	0.050 ml
B	0.100 ml
C	0.150 ml
D	0.200 ml
E	0.300 ml
F	0.500 ml

PRIMER EXPERIMENTO

	µmoles p-NPP/gr de materia fresca/hr					
	A	B	C	D	E	F
	28.506	31.588	50.848	61.634	69.339	100.156
	23.113	36.981	50.848	65.487	77.043	84.747
	24.654	35.44	51.619	64.716	68.568	100.156
	30.047	33.128	53.93	60.864	67.798	94.763
\bar{x}	26.58	34.284	51.811	63.175	70.687	94.955

SEGUNDO EXPERIMENTO

	µmoles p-NPP/gr de materia fresca/hr					
	A	B	C	D	E	F
	16.949	21.572	23.883	31.588	34.669	60.864
	15.409	22.342	23.113	30.047	39.292	64.716
	14.638	36.981	25.424	33.128	37.751	51.619
\bar{x}	15.665	26.965	24.14	31.588	37.237	59.066

PRIMER EXPERIMENTO

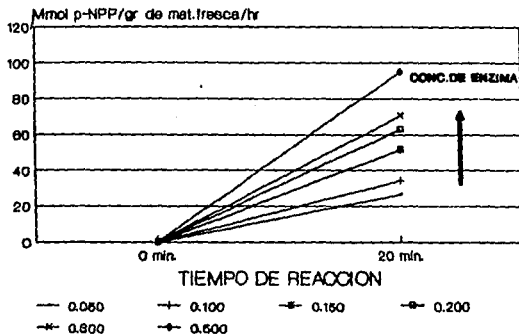


Figura 18. Comportamiento de la enzima en sus diferentes concentraciones.

SEGUNDO EXPERIMENTO

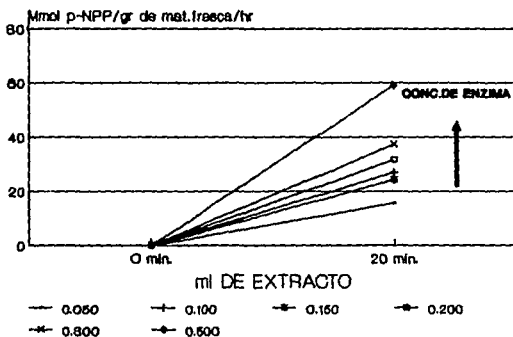


Figura 19. Comportamiento de la enzima en sus diferentes concentraciones.

DIFERENTES TEMPERATURAS EN LA INCUBACION.

En la Cuadro 8 se muestra el rango de temperaturas experimentadas para calibrar este parámetro de la técnica, estas oscilaron entre los 18 y los 40°C.

En las gráficas 20, 21 y 22 se observa el comportamiento casi proporcional del aumento de la temperatura en la incubación y el aumento en la AC-FA.

La temperatura al igual que el pH, afecta marcadamente a las reacciones enzimáticas; las enzimas son sensibles a los cambios de temperatura, sin embargo, debido a la naturaleza protéica de éstas, la desnaturalización térmica hará que disminuya su concentración efectiva y por tanto la velocidad de la reacción, apareciendo el punto de inflexión en la curva.

En este experimento el punto de inflexión de la curva no se observó, siendo el valor máximo de temperatura explorada de 50°C, aunque en los cuadros y gráficas solo se muestra el valor obtenido a la temperatura de 40°C.

Casi desde el inicio de estas evaluaciones de éste parámetro de la técnica, se empleó la temperatura de 30°C, que fue la más comúnmente utilizada por los investigadores como la ideal, en los artículos consultados bibliográficamente. Inicialmente la temperatura a la cual se trabajó fue de 37°C que era la empleada en la técnica original, sin embargo, considerando que la técnica inicial era empleada en suelo y no en material vegetal, esta era ligeramente elevada y se corría el riesgo de provocar una posible desestabilización en la enzima y crear resultados poco confiables.

O'Connell y Grove (1985), utilizan una temperatura de incubación de sus muestras de 30°C, para la determinación de la Ac-FA en *Eucalyptus diversicolor* F. Muell. Tadano y Sakai (1991), utilizan 30°C en la determinación de la secreción de fosfatasa ácida en raíces de nueve especies de cultivos, bajo condiciones de déficit de fósforo. Así mismo, Barrett-Lennard (1981), en sus técnicas de determinación de Ac-FA realizadas con trigo, emplea una incubación de 30°C.

Por otra parte, las lecturas obtenidas en el espectrofotómetro para la temperatura de 30°C caen en el intervalo donde la escala de absorbancia es más amplia y hay menor probabilidad de error visual en la lectura y por lo tanto en la conversión al valor final de micromoles de p-NPP.

Cuadro 8.

PRUEBAS DE DIFERENTES TEMPERATURAS DE INCUBACION

TEMPERATURAS EXPERIMENTADAS

T1	18° C
T2	30° C
T3	35° C
T4	40° C

PRIMER EXPERIMENTO

µmoles p-NPP/gr de materia fresca/hr				
T1	T2	T3	T4	
30.817	57.782	77.043		
32.358	50.078	77.043	84.747	
33.128	47.767	100.156	115.564	
36.981	46.226	100.156		
37.751	50.078	84.747	115.564	
\bar{X} =	34.207	50.386	87.829	105.292

SEGUNDO EXPERIMENTO

µmoles p-NPP/gr de materia fresca/hr				
T1	T2	T3	T4	
35.44	44.685	73.191	84.747	
36.981	57.012	73.961	100.156	
32.358	47.767	69.339	100.156	
34.669	50.848	71.65	92.452	
31.588	47.767	73.191		
\bar{X} =	34.207	49.616	72.266	93.992

TERCER EXPERIMENTO

µmoles p-NPP/gr de materia fresca/hr				
T1	T2	T3	T4	
20.802	51.619	54.700	77.043	
20.802	33.899	51.619	77.043	
23.113	37.751	53.160	84.747	
\bar{X} =	21.572	41.09	53.160	79.611

PRIMER EXPERIMENTO

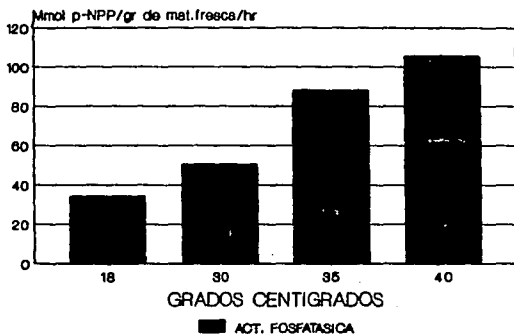


Figura 20. Respuesta de la actividad fosfatásica a diferentes temperaturas en la incubación.

SEGUNDO EXPERIMENTO

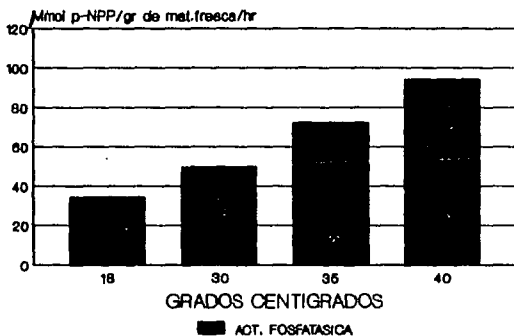


Figura 21. Respuesta de la actividad fosfatásica a diferentes temperaturas en la incubación.

TERCER EXPERIMENTO

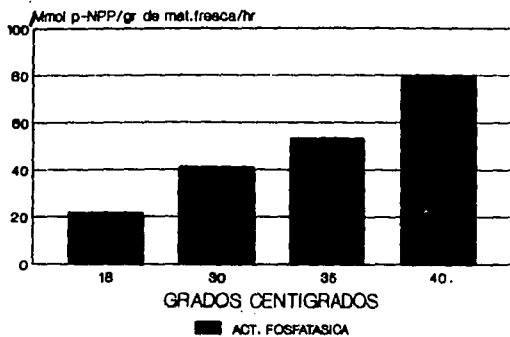


Figura 22. Respuesta de la actividad fosfatásica a diferentes temperaturas en la incubación.

RESULTADOS Y DISCUSION (Segunda parte).

EXPERIMENTO

Los resultados obtenidos en éste experimento se reportaron en el Cuadro 9, donde se muestran unicamente los valores medios (\bar{X}) de las tres repeticiones.

En la primera determinación (a los 15 días) se observó de manera general, una Ac-FA alta, en un intervalo de 85.816 a 64.362 Mmol p-NPP/gr de mat. fresca/hr (Cuadro 9), esto se debe a que la semilla agota sus reservas alimenticias antes del día 15, en el cual se realiza la primera determinación, y debido a que a lo largo de estos 15 días se aplicó exclusivamente agua destilada a las plantas, se activó su mecanismo enzimático para obtener P del medio.

En la segunda determinación la Ac-FA disminuyó considerablemente, debido a que se aplicaron previamente a esta, los diferentes; ésta disminución también se presentó en los testigos, lo cual suponemos se debe a otros factores como: la edad, la especie y el genotipo (figura 23 a 32).

Las plantas tratadas con SFT, presentaron la menor Ac-FA en la segunda determinación con respecto a los otros tratamientos, esto se debe a que el fósforo en este compuesto es altamente disponible, como se observa en los trigos variedad S-029 y S-030 (figura 23) y los triticales variedad Alamos, Eronga, Stier y Tarasca (figura 24), este comportamiento se debe a que el fósforo está más disponible (más soluble) que en los restantes tratamientos y por tanto las plantas tienden a disminuir su Ac-FA.

En las plantas tratadas con roca fosfórica también disminuyó la Ac-FA pero en menor grado que en el caso anterior (figuras 25 y 26), por la disponibilidad de fósforo menos inmediata que con la aplicación de SFT.

Para el caso de las plantas a las cuales se les aplicó los tratamientos con fosfato de calcio (figura 27 y 28) y fitina (figura 29 y 30), también presentaron una disminución de la Ac-FA con respecto a la primera determinación, aunque esta fue menor que en el caso de las tratadas con roca fosfórica (figuras de 27 a 30), en estos casos el fósforo no se encuentra muy disponible debido a que en el compuesto fosfato de calcio es poco soluble y para el caso de la fitina éste se encuentra en forma orgánica.

Observamos en todos los casos que al suministrar una fuente de fósforo la Ac-FA disminuye (a los 22 y 29 días) y que en etapas posteriores en algunos casos vuelve a incrementarse (a los 36 días), como en el caso de la variedad Stier, al aplicar SFT; la variedad Alamos, al aplicar fitina; la variedad S-030 y Tarasca, al aplicar fosfato de calcio.

Tadano y Sakai (1991), al evaluar la Ac-FA en la raíz de diversas especies y suministrando diferentes dosis de fósforo presentan en su primera evaluación (a los 13 días) una secreción de fosfatasa ácida muy elevada, la cual disminuye en periodos posteriores (a los 36 y 50 días) y se incrementa en sus últimas evaluaciones (a los 79 días). Por otra parte, dichos autores, al suministrar diferentes fuentes de fósforo, aplicadas en ppm, obtuvieron el mayor decremento de Ac-FA en aquellas muestras donde la dosis fue de 10 ppm, y el menor decremento

de la Ac-FA se registró en las plantas tratadas con una dosis de 0.02 ppm.

Barrett-Lennard, et al, (1981), mencionan que la Ac-FA que presentan las plantas es mayor en etapas jóvenes que en etapas maduras en algunas especies, mientras que en otras puede aumentar conforme crecen.

Cada variedad responde de forma particular en su actividad fosfatásica ante la deficiencia de fósforo, en este caso la variedad que respondió con mayor eficiencia al activar la enzima fosfatasa ácida, fue el triticale variedad Alamos, la cual disminuyó de 85.816 a 63.203 $\mu\text{mol p-NPP/gr mat. fresca/hr}$, en las plantas utilizadas como testigos (Cuadro 9), y la que respondió con menor eficiencia fue el trigo variedad S-029, disminuyendo la Ac-FA de 69.168 a 57.913 $\mu\text{mol p-NPP/gr mat. fresca/hr}$, en las plantas utilizadas como testigos (figura 9), por otro lado, el triticale variedad Tarasca aumentó su Ac-FA en el segundo periodo de crecimiento, de 64.362 a 80.743 $\mu\text{mol p-NPP/gr mat. fresca/hr}$, en los testigos (Cuadro 9).

CUADRO 9. Actividad fosfatásica de trigo y triticale con diferente fuente de fósforo y a distintas edades (Mmol p-NPP/gr de mat. fresca/hr).

SIN TRATAMIENTO		TRATAMIENTOS			
EDAD	15 DIAS	22 DIAS	29 DIAS	36 DIAS	
TRIGO S-029	69.168	SFT	57.077	21.243	17.295
		ROCA FOSF.	49.560	37.994	33.403
		Ca ₃ (PO ₄) ₂	56.520	24.745	25.294
		FITINA	43.991	19.994	19.024
		TESTIGO	57.913	32.493	30.105
TRIGO S-030	80.667	SFT	47.889	24.243	21.402
		ROCA FOSF.	33.968	31.242	30.914
		Ca ₃ (PO ₄) ₂	63.203	25.994	30.050
		FITINA	49.003	25.492	26.375
		TESTIGO	38.701	34.989	25.726
TRITICALE ALAMOS	85.816	SFT	24.144	23.493	12.539
		ROCA FOSF.	64.595	40.993	38.349
		Ca ₃ (PO ₄) ₂	38.144	23.994	25.889
		FITINA	42.042	24.742	25.077
		TESTIGO	63.203	47.491	52.164
TRITICALE ERONGA	83.241	SFT	25.093	22.743	19.024
		ROCA FOSF.	40.372	26.742	28.619
		Ca ₃ (PO ₄) ₂	38.144	22.993	25.077
		FITINA	43.434	26.992	26.375
		TESTIGO	62.646	41.491	40.727
TRITICALE STIER	75.175	SFT	30.811	22.493	31.347
		ROCA FOSF.	62.924	43.487	13.403
		Ca ₃ (PO ₄) ₂	37.309	32.490	31.131
		FITINA	42.599	45.236	27.672
		TESTIGO	56.242	42.487	43.916
TRITICALE TARASCA	64.362	SFT	23.372	24.992	12.323
		ROCA FOSF.	32.297	27.492	30.755
		Ca ₃ (PO ₄) ₂	44.548	18.744	21.835
		FITINA	49.281	39.738	20.754
		TESTIGO	80.743	60.741	55.323

TRIGOS TRATADOS CON SFT

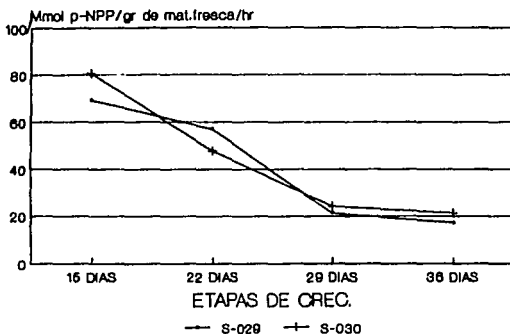


Figura 23. Comparación de la respuesta de los trigos al tratamiento SFT, en cuatro etapas de crecimiento.

TRITICALES TRATADOS CON SFT

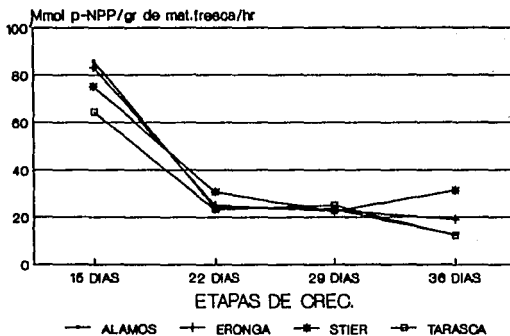


Figura 24. Comparación de la respuesta de los triticales al tratamiento SFT, en cuatro etapas de crecimiento.

TRIGOS TRATADOS CON ROCA FOSF.

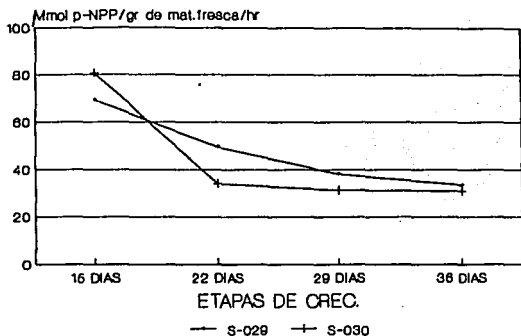


Figura 25. Comparación de la respuesta de los trigos al tratamiento roca fosfórica, en cuatro etapas de crecimiento.

TRITICALES TRATADOS CON ROCA FOSF.

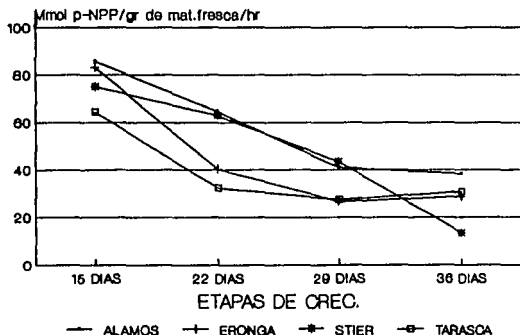


Figura 26. Comparación de la respuesta de los triticales al tratamiento roca fosfórica, en cuatro etapas de crecimiento.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

TRIGOS TRATADOS CON $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$

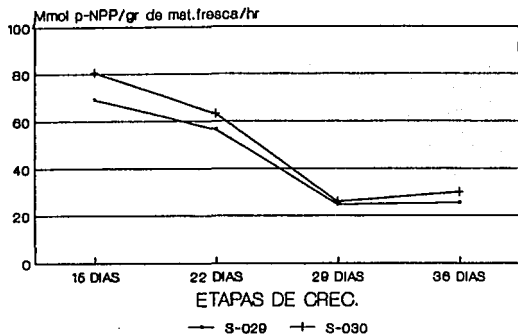


Figura 27. Comparación de la respuesta de los trigos al tratamiento fosfato de calcio, en cuatro etapas de crecimiento.

TRITICALES TRATADOS CON $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$

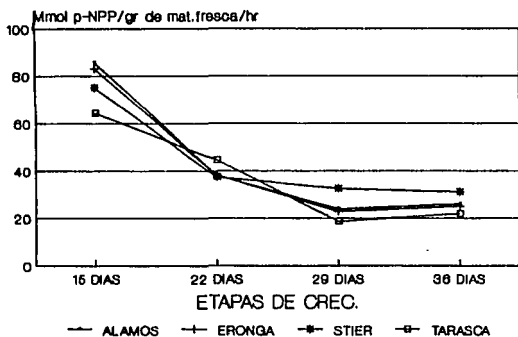


Figura 28. Comparación de la respuesta de los triticales al tratamiento fosfato de calcio, en cuatro etapas de crecimiento.

TRIGOS TRATADOS CON FITINA

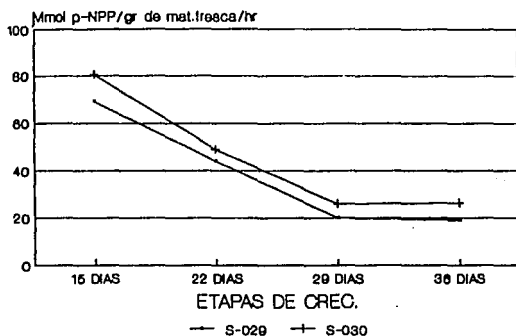


Figura 29. Comparación de la respuesta de los trigos al tratamiento con fitina, en cuatro etapas de crecimiento.

TRITICALES TRATADOS CON FITINA

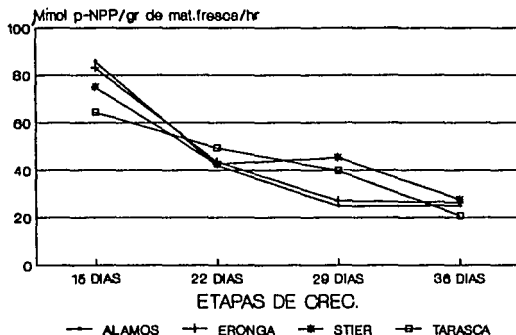


Figura 30. Comparación de la respuesta de los triticales al tratamiento con fitina, en cuatro etapas de crecimiento.

TRIGOS TESTIGOS

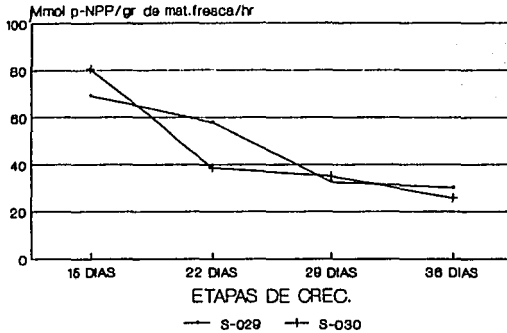


Figura 31. Comparación de la respuesta de los trigos al tratamiento testigo (sin fósforo), en cuatro etapas de crecimiento.

TRITICALES TESTIGOS

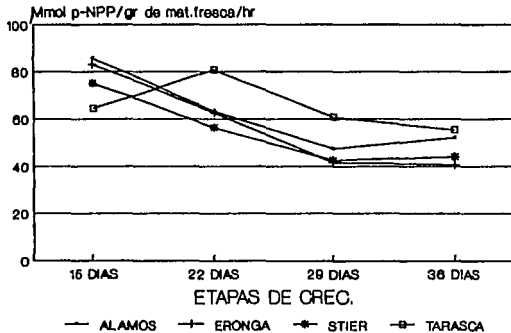


Figura 32. Comparación de la respuesta de los triticales al tratamiento testigo, en cuatro etapas de crecimiento.

RESULTADOS Y DISCUSION (Tercera parte).

TRATAMIENTO ESTADISTICO

Los resultados obtenidos en el experimento fueron tratados estadísticamente mediante el programa Statistical Analysis System (S.A.S.), en base al cual hacemos las siguientes interpretaciones:

Del análisis de varianza se puede observar que los resultados obtenidos reflejan un elevado porcentaje de confiabilidad en las pruebas realizadas entre tratamientos, genotipos (y por tanto especies), diferentes edades y las interacciones entre tratamientos con genotipos, tratamiento-edad, genotipo-edad y tratamiento-genotipo-edad, con una $P > F$ de 0.0001 en todos los casos. La media global de la Actividad Fosfatásica en todo el experimento fué de 45.6193722 μmol de p-NPP/de mat. fresca/hr (Ver Anexo 1).

Otra prueba estadística realizada fué la Prueba de Significancia de Tukey, tanto en tratamientos como en genotipos y edades.

Efecto de la fuente de fósforo (tratamiento) en la Ac-FA.- En esta fase del experimento se observó que las plantas utilizadas como testigos fueron las que presentaron la respuesta más alta a la actividad enzimática, presentando la media más elevada (55.416 expresada en μmol de p-NPP/gr de mat. fresca/hr) debido a lo cual se desprende que los tratamientos tienen un efecto significativo en la actividad de la enzima. En cuanto a respuesta enzimática ocupa el segundo lugar el tratamiento con roca fosfórica (con una media de 46.902 μmol de p-NPP/gr de mat. fresca/hr), esto se explica porque esta fuente de fósforo es insoluble y requiere en mayor medida de este mecanismo de adaptación para poder obtener fósforo del medio. Las plantas tratadas con fitina y fosfato de calcio no presentan

diferencia importante entre sí e incluso estadísticamente responden de igual forma en su actividad enzimática al tratamiento aplicado (con medias de 44.000 y 43.480 respectivamente), por tanto, la asimilación del fósforo orgánico se da con lentitud, debido a que éste debe pasar de una forma no asimilable a una forma asimilable por la planta.

El $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ es insoluble, por lo cual no hay asimilación rápida de fósforo por parte de las raíces de las plantas y es debido a ello que la Ac-FA es relativamente alta. Finalmente las plantas que presentaron menor Ac-FA fueron las tratadas con Super fosfato de calcio triple (con una media de 38.298), esto es debido a que la fuente de fósforo aplicada es altamente soluble y por tanto disponible, por lo que la Ac-FA decrece casi instantáneamente, ya que no se necesita del mecanismo de activación de la enzima para la obtención de fósforo (Ver Anexo 2).

Efecto del Genotipo y de la especie sobre la Ac-FA.— Mediante el análisis estadístico pudimos observar que el genotipo que mejor responde al estrés de fósforo activando el mecanismo enzimático fue el genotipo Alamos para el Triticale mismo que presentó el valor más alto de Ac-FA (con una media de 48.771), siguiéndole en segundo término el genotipo Stier (con una media de 46.972), los genotipos S-030 para el trigo y Eronga para el Triticale no presentaron una diferencia importante entre sí en cuanto a respuesta enzimática (con medias de 45.564 y 45.287 respectivamente) y finalmente los genotipos con menor actividad fosfatásica fueron S-029 (trigo) y Tarasca (Triticale) los cuales estadísticamente tuvieron una misma respuesta

al estres de fósforo (con una media de 43.636 y 43.487 respectivamente) .

Efecto de la Edad en la Ac-FA.- Analizando los resultados obtenidos de las pruebas realizadas a los 15, 22, 29 y 36 días obtuvimos que la mayor Ac-FA se presenta en la primera evaluación, es decir, a los 15 días (con una media de 76.405), lo cual creemos que se debe a que las reservas de la semilla se agotan antes de esta primera determinación y son activados todos los mecanismos para poder obtener los nutrimentos necesarios para el crecimiento y desarrollo de la planta, (Barrett - Lennard, 1981). A los 22 días se presenta un decremento muy significativo (con una media de 46.634), el cual continúa hasta los 29 días (31.359), para finalizar a los 36 días (con una media de 28.080); estadísticamente no hay una diferencia importante en el último período de crecimiento, es decir, entre los 29 y 36 días, por lo cual creemos que la Ac-FA se ve atenuada o estabilizada en el último período, y esto se explica mediante la edad de la planta, es decir, a mayor edad de ésta menor será su capacidad de respuesta enzimática (Barrett - Lennard, 1981), (Ver Anexo 3).

Basandonos en el análisis estadístico observamos que la Ac-FA fue significativamente diferente entre genotipos y por ende entre especies. La mayor respuesta enzimática se presentó en la variedad Alamos, siguiendola la variedad Stier (ambas triticales), el Trigo variedad S-030 y el triticales variedad Eronga tuvieron una respuesta muy semejante a la activación del mecanismo enzimático. Las variedades que presentaron una menor Ac-FA fueron el Trigo variedad S-029 y el Triticales variedad Tarasca, sin embargo, la respuesta entre los distintos genotipos fué muy parecida.

La mayor Ac-FA se dió en los primeros 15 días de crecimiento y decreció la actividad conforme la planta crecía, esto quiere decir que en la última evaluación a los 36 días, se registró la menor Ac-FA, sin embargo, estadísticamente la Ac-FA presentada en los dos últimos periodos de crecimiento (29 y 36 días), no es significativamente diferente, de lo cual concluimos que a medida que crece el organismo la respuesta enzimática se atenúa o estabiliza.

Por lo anteriormente expuesto podemos decir que el Triticale activa de manera más eficaz la enzima fosfatasa ácida como un mecanismo de adaptación ante la deficiencia de fósforo.

CONCLUSIONES.

Las plantas empleadas como testigos presentaron invariablemente mayor actividad fosfatásica (Ac-FA), sobre las diferentes fuentes de fósforo aplicadas en el experimento.

Las diferentes especies empleadas, así como los genotipos utilizados y la etapa de crecimiento de las plantas en las cuales se evaluó la Ac-FA, influyeron significativamente en la actividad de la enzima.

La mayor respuesta enzimática se presentó en los genotipos Alamos y Stier ambos Triticales.

Los genotipos con menor actividad enzimática fueron, la variedad Tarasca en Triticales y la variedad S-029 para el caso de los Trigos.

Las plantas tratadas con Roca Fosfórica presentaron una Ac-FA más elevada que en los restantes tratamientos, pero no superior a la de los testigos.

En el caso de las plantas tratadas con Fitina y con Fosfato de Calcio respondieron de igual forma a la aplicación del tratamiento, de lo que concluimos que no hubo diferencias significativas en la Activación de la enzima fosfatasa ácida.

A las plantas que se les aplicó Super Fosfato de Calcio Triple, de inmediato respondieron con un decremento en la Ac-FA, este hecho se atribuye a que es fósforo soluble y por lo tanto, disponible para la planta.

La mayor Actividad enzimática en las plantas, se observó a los 15 días y la menor a los 36 días de crecimiento.

Es recomendable enfatizar que dado lo amplio del tema queda todavía campo por explorar en cuanto a uno de los mecanismos de adaptación a la deficiencia de fósforo, que es la Actividad de la enzima fosfatasa ácida.

Creemos que resultaría de gran importancia investigar que sucede en etapas previas de crecimiento, es decir, antes de los 15 días de edad de la planta, así como en etapas posteriores, esto es, después de los 36 días de edad.

BIBLIOGRAFIA

- Barrett-Lennard et al, 1981. "Effect of Phosphorus Deficiency and Water Deficit on Phosphatase Activities from Wheat Leaves". Institute of Agriculture, University of Western, Neadlands, W.A. 6009, Australia.
- Barrett-Lennard E.G. and Greenway H., 1982. "Partial separation and characterization of soluble Phosphatases from Leaves of wheat grown under phosphorus deficiency and water deficit". Institute of Agriculture, University of Western, Neadlands, W.A. 6009, Australia.
- Browman, M. G. and Tabatabai, M. A. 1978. "Phosphodiesterase activity of soil". Journal Paper. J-8933 of the Iowa Agric. Vol. 42, p. 284- 289. Los Angeles, California.
- Bushuk, W. y Later, E. N., 1980. "Triticale: Production Chemistry and Technology. Advances in Cereal Science and Technology. Vol III. Ed. by Panoram. American Association of Cereal Chemist Incorporated. S.T. Poul, Minnesota.
- Brow, A. R. y Almodares A., 1976. "Quantity and Quality of Triticale Forraje Compared to other Small Grains". Agronomy J. pp 68,264 y 266
- CIMMYT, 1981; "Informe del Centro Internacional del Mejoramiento del Maiz y el Trigo " . El Batán, México.
- CIMMYT, 1987-1988. "Hechos y Tendencias Mundiales Relacionados con el Trigo". El Batán, México.
- Conn, E.E. y Stumpf, P.K. 1982. "Bioquímica Fundamental". 3a. Ed. Editorial Limusa, S.A. México, D.F.
- Cruz F. G., 1994; "Evaluación de la absorción de fósforo por diferentes genotipos de Triticale (X Triticosecale Wittmack) y Trigo

(Triticum aestivum) en suelos con diferente capacidad de fijación de fósforo"; Colegio de Postgraduados. Tesis de Maestría en Ciencias; Montecillo, México.

- Dick, W. A. and Tabatabai, M. A., 1984. "Kinetic parameters of phosphatases in soils and organic waste materials". Soil Science. January 1984. Vol. 137, No. 1. U. S. A.

- Donahue R. L. 1981. "Introducción a los suelos y al crecimiento de las plantas". Ed. Prentice/Hall Internacional. Colombia.

- Feldman, M. y Sears, E. R., 1981. "Los Recursos Genéticos del Trigo Silvestre". Investigación y Ciencia. Septiembre No. 61.

- Gallardo, J. F., 1980. "El Humus". Investigación y Ciencia. Noviembre No. 46.

- Gaucher, G., 1971; "Tratado de Pedagogía Agrícola, El suelo y sus características agronómicas". Ediciones Omega, S. A. Barcelona, España.

- Hernández M. A., 1978; "Potencial Forrajero del Triticale en el Valle de Zapopan". Universidad de Guadalajara. Tesis Licenciatura. Guadalajara, Jal., México.

- Horst M., 1991. "Mechanisms of adaptation of plants to acid soil". Plant and soil, 134. 1-20, 1990. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.

- (INIA), 1984; "Logros y Aportaciones de la Investigación Agrícola en Fertilidad de Suelos". México, D.F.

- Jasso, I. R., 1984. "Influencia del medio ambiente sobre el desarrollo, rendimiento y calidad del forraje y grano de Triticale, modelo de producción de forraje y grano en función de la humedad del

suelo y unidad térmica en Buenavista, Coahuila. Tesis para Ing. Agrónomo.

- Mc Lachlan, K.D., 1980. "Acid Phosphatase Activity of Intact Roots and Phosphorus Nutrition in Plants". I. Assay conditions and Phosphatase Activity. Aust. J. Agric. Res., 1980, 31, 429-440.

- Miller E. V., 1981. "Fisiología Vegetal". UTEHA, México, D.F..

- Monsivais, L. R., 1989. " Evaluación de la fertilización nitrogenada y fosforada en el cultivo del Trigo (Triticum aestivum L.) bajo riego en Marín, N.L., México.

- O'Connell, A. M. and Grove, T. S., 1985. " Acid phosphatase Activity in karri (Eucalyptus diversicolor F. Muell.) in relation to soil phosphate and Nitrogen supply". CSIRO Division of Forest Research. Wembley, Australia.

- Press, M. C. and Lee, J. A., 1982. "Acid phosphatase activity in Sphagnum species in relation to phosphatase nutrition". New Phytol. (1993) 93, 567- 573. Manchester, U.K.

- Robles S. R., 1978. "Producción de granos y forrajes". 2a. Edición. Ed. Limusa, Mexico, D.F.

- Nakas et al, 1986. "Origin and Expression of Phosphatase activity in a semi-arid Grassland soil". College of Environmental Science and Forestry , Syracuse, NY 13209, U.S.A.

- Rodríguez Suppo Florencio, 1982. "Fertilizantes y Nutrición Vegetal". AGT Editor. México D.F.

- Sánchez de J. E. 1987. "Las enzimas como catalizadores biológicos". En Tecnología enzimática. Compilación Universidad Nacional Autónoma de México.

- S.A.R.H. 1989, "Comportamiento físico-químico del suelo y el agua" Tomo II. Dirección de Distritos de Riego. El Carrizo, Sinaloa, México.
- S.A.R.H. 1992. "Sistema Producto-Trigo (Datos Básicos)". Dirección General de Política Agrícola. México, D.F.
- Strasburger, 1974. "Tratado de Botánica". Editorial Marín S.A., España.
- Soldano, R. O., 1978. "Trigo- Cultivo" Ed. Albatros. Buenos Aires.
- Solano, H. S. 1986. "Relación Raíz- Parte aérea del Trigo (Triticum aestivum L.)". Tesis para Ing. Agronomo, (Especialidad Fitotecnia). U.A.Ch., Chapingo, Edo. de México.
- Svoboda, L. H., 1982. "Relatorio dos resultados obtidos com triticales no Cep- Fecotrigo". Trigo e Soja, Enero-Febrero. Boletín técnico. Edicoes- Fecotrigo. Porto Alegre, Brasil. pp 2- 19.
- Tabatabai, M. A., 1982. Soil Enzymes. In Methods of soils analysis, part 2. Chemical and Microbiological Properties. Agronomy Monograph no. 9 (2nd. Ed.) ASA-SSSA.
- Tadano y Sakai, 1991. "Secretion of Acid Phosphatase by the Roots of Several Crop Species under Phosphorus-Deficient Conditions". Soil Sci. Plant Nutr., 37 (1), 129- 140.
- Thompson, 1982. "El suelo y su fertilidad". Ed. Reverté S. A., España.
- Trasar-Cepeda M. y Gil-Sotres F., 1986; "Phosphatase activity in acid high organic matter in Galicia (NW Spain)". Soil Biol. Biochem. Vol. 19, No. 3, pp. 281-287, 1987. Printed in Great Britain.

- Treviño, G. R. "Ensayo de rendimiento en 8 variedades de Triticale bajo la aplicación de un fertilizante nitrogenado durante el ciclo de invierno 70- 79 en Apodaca, N.L." Tesis de Licenciatura.
- Varughese G., Barker T. y E. Saari, 1987. "Triticale".. CIMMYT. México.
- Worthen Edmund L., 1980. "Suelos Agrícolas. su conservación y fertilización"; Unión Tipográfica Internacional. México.
- Zavala Munguía B., 1993; "Influencia del fósforo en la actividad fosfatásica de raíz entre variedades de Trigo (Triticum aestivum) y Triticale (X Triticosecale Wittmack)".U.N.A.M., Tesis Licenciatura en Biología.
- Zillinsky, F. J. 1974. "The Triticale Improvement Program at CIMMYT, pp 81-85. In Triticale: Proceedings of and International Symposium. El Batán, México, 1-3 October 1973. Int. Develop. Res. Centre Monogr . IDRC- 024e.

ANEXO 1

ANALISIS ESTADISTICO DE DATOS MEDIANTE EL PROGRAMA STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM (S.A.S.).

ANALISIS DE VARIANZA

CLASE NIVEL E INFORMACION

CLASE	NIVEL	VALORES
Tratamiento	5	1.2.3.4.5
Genotipo	6	1.2.3.4.5.6
Edad	4	1.2.3.4

ANALISIS DE VARIANZA

VARIABLE DEPENDIENTE

ACT. FOSFATASICA

FUENTE	D F	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	Pr > F
Modelo	119	172318.8785	1448.0578	236.17	0.0001
Error	240	1471.5489	6.1315		
Correlación total	359	173790.4273			
	R-Cuadrados	C V	Root MSE		Media
	0.991533	5.427907	2.476177		Act. Fosf. 45.6193722

Modelo	D F	Anova SS	Media de Cuadrados	F Calculada	Pr > F
TRAT	4	11406.4367	2851.6092	465.08	0.0001
GEN	5	1221.5509	244.3102	39.85	0.0001
TRA*GEN	20	7896.1893	394.8095	64.39	0.0001
EDAD	3	131377.826	43792.6087	7142.29	0.0001
TRAT*EDAD	12	4519.4226	376.6185	61.42	0.0001
GEN*EDAD	15	6645.9284	443.0619	72.26	0.0001
TRA*GEN*EDAD	60	9251.5246	154.1921	25.15	0.0001

ANEXO 2
PRUEBA DE SIGNIFICANCIA DE TUKEY EN TRATAMIENTOS

Alfa = 0.05 D F = 240 MSE= 6.1314
 Valor critico de rango estandarizado = 4.063
 Diferencia minima de significancia = 1.1344

Grupos de medias que no son significativamente diferentes

GRUPO	MEDIA	NUMERO DE DATOS	TRATAMIENTOS
A	55.416	72	Testigo
B	46.902	72	Roca Fosfórica
C	44.000	72	Fitina
C	43.480	72	Fosfato de Ca
D	38.298	72	S F T

PRUEBA DE SIGNIFICANCIA DE TUKEY EN GENOTIPOS

Alfa = 0.05 D F = 240 MSE= 6.131454
 Valor critico de rango estandarizado = 4.063
 Diferencia minima de significancia = 1.2988

Grupos de medias que no son significativamente diferentes

GRUPO	MEDIA	NUMERO DE DATOS	GENOTIPOS
A	48.771	60	Alamos
B	46.972	60	Stier
C	45.564	60	S-030
C	45.287	60	Eranga
D	43.636	60	S-029
D	43.487	60	Tarasca

ANEXO 3

PRUEBA DE SIGNIFICANCIA DE TUKEY EN DIFERENTES EDADES

Alfa = 0.05 D F = 240 MSE=6.131454
Valor critico de rango estandarizado = 3.659
Diferencia minima de significancia = 0.955

Grupos de medias que no son significativamente diferentes

GRUPO	MEDIA	NUMERO DE DATOS	EDAD
A	76.405	90	15 dias
B	46.634	90	22 dias
C	31.359	90	29 dias
C	28.080	90	36 dias