

Efectos de la deficiencia de nutrientes en el crecimiento de las raíces principales y laterales de la planta *Arabidopsis thaliana*

Blanca Torija, Alexia Sánchez, Daniel Jiménez

Resumen

Se evaluó el crecimiento de la raíz principal y de las raíces laterales (arquitectura radicular) de la planta *Arabidopsis thaliana* al plantarlas en 5 medios de nutrientes esenciales pero con una variación de cantidades de fosfato o nitrato. El análisis se hizo con 3 diferentes ecotipos de la planta (WS, Ler y Col) y se sembraron 15 de cada uno de ellos para cada medio. Las semillas se dejaron crecer en un incubadora con luz y temperatura adecuada. A los 14 días se midió la longitud de su raíz principal y de dos raíces laterales de cada planta. Medimos dos raíces laterales en todas ya que variaba la cantidad de éstas que presentaba cada planta y al usar un par se agilizaba el trabajo al mismo tiempo permitiéndonos obtener un promedio entre ellas para usar éste como la medida de las raíces laterales de cada planta al llevar a cabo la estadística. Al llevar a cabo el análisis de la estadística llegamos a la conclusión de que aún en los medios con una menor cantidad de nitrato y fosfato que la que usamos en nuestro medio con cantidad máxima de éstos viéndolos comparativamente la diferencia no fue considerablemente mayor. Es decir, la gran diferencia en cantidad de nutrientes entre los medios no fue estadísticamente notable en el crecimiento de las raíces de las plantas.

Introducción

México, así como la mayoría de los países del mundo, carece de suelos aptos para el crecimiento óptimo de plantas para consumo humano. Es por esto que el uso de fertilizantes se ha ido incrementando cada vez más. Sin embargo, a pesar de ser muy efectivos para el desarrollo de las plantas en un lapso corto de tiempo, a la larga el suelo será inservible en términos de agricultura. Esto se debe a que los químicos presentes en los fertilizantes para lograr la absorción de los nutrientes a la tierra van dañando los suelos cada vez más con el paso del tiempo. También debemos tomar en cuenta que los fertilizantes son una importante causa de contaminación en suelos y agua, que afectan a los seres vivos, por lo cual el exceso de éstos es muy dañino. Actualmente, los científicos están buscando una manera de disminuir el consumo de fertilizantes para evitar los efectos negativos de su uso. Por medio de la biotecnología se busca encontrar una mayor eficiencia en el consumo o absorción de nutrimentos del suelo por las plantas. Así se espera que la planta obtenga la mayor absorción y aprovechamiento de nutrientes con la menor cantidad de fertilizantes posibles. Nuestro proyecto es un primer paso hacia la comprensión de los efectos de la falta de nutrientes en determinada planta. Buscamos demostrar que la cantidad de nutrientes presentes en los fertilizantes es excesiva y que al

reducir la cantidad de éstos quizás podamos evitar el daño innecesario a los suelos de México y otros países alrededor del mundo.

Antecedentes

Investigaciones de la carencia de nutrientes en raíces de la planta

Actualmente sabemos de dos grupos independientes que están haciendo experimentos con la deficiencia de PO_4 en la planta *Arabidopsis thaliana*: el de España (Madrid), representado por el Dr. Javier Pazares y el del Centro de Investigación y Estudios Avanzados (Unidad Irapuato), representado por el Dr. Luis Herrera Estrella.

En el grupo del Dr. Pazares se han caracterizado algunos genes que inducen en las plantas con bajo nivel de PO_4 o en estrés. Observaron que entre ellos inducen los transportadores de alta afinidad y cuando hay mucho fosfato se activan los transportadores de baja afinidad. Estos canales son como nuestros sentidos, los sensibilizadores de un estrés ambiental. (García, 2004)

El Dr. Luis Herrera Estrella llevó a cabo un proyecto estudiando la adaptabilidad de las raíces de la planta *Arabidopsis thaliana* a los cambios en cantidades de fosfato. De realizaron tratamientos con auxinas para observar a que se deben estos cambios en la longitud y profundidad de las raíces y se logró averiguar que la sensibilidad, estudiada con ayuda de la auxina, es de suma importancia al variar en cantidades de fosfato. (Howard Hughes, 2004)

Aunque este estudio trata con la deficiencia de nutrientes, se encuentran en un campo de Biología molecular mientras que nuestro proyecto más bien pertenecería a Biología estructural. Hasta ahora, no ha habido gran investigación sobre los efectos de la deficiencia de NO_3 en las raíces de las plantas. La investigación sobre el nitrato ha sido más bien a nivel de la agricultura. (García, 2004)

Carencia de nutrientes en una planta

Las plantas, al verse limitadas en nutrientes, hacen crecer sus raíces muy rápidamente para absorber todos los nutrientes que tengan cerca en ese momento, aunque eventualmente el desarrollo de la planta será mínimo. La deficiencia de fósforo es una de las enfermedades nutrimentales más comunes en las plantas. Los suelos, por lo común, contienen suficiente cantidad de fósforo, pero pueden no estar en las formas iónicas solubles en agua de $H_2PO_4^-$ o HPO_4^- . Una planta con deficiencia de fósforo puede tener las hojas verdes, pero su tasa de crecimiento es reducida y su desarrollo nuevo es frágil en el envés de las hojas (Alexander *et al*, 1992). De igual manera, el almacenamiento del nitrógeno es otro de los problemas nutricionales más comunes en las plantas. Por lo general, los suelos no presentan deficiencias de nitrógeno, pero con frecuencia si lo son en los compuestos nitrogenados que las plantas pueden utilizar como los iones nitrato NO_3^- y los iones amonio NH_4^+ . Las hojas amarillo-verdosas son signos de deficiencia. Las hojas grandes son por lo general las primeras en presentar los signos (Alexander *et al*, 1992).

Arquitectura radicular de una planta

La arquitectura radicular es la estructura tridimensional en la que se arreglan las raíces; la cual es de una manera específica para cada especie. Está determinada tanto por la genética como por las condiciones del su hábitat (García, 2004). Las raíces crecen en dirección del H_2O y minerales, para tener un buen acceso a éstos. En el intercambio

catiónico, los pelos radiculares de las plantas toman ciertos iones con carga positiva, los cuales se adhieren a superficies con carga negativa, uniendo los nutrientes a la planta para evitar que éstos se laven con la lluvia o por irrigación intensa (Campbell *et al*, 2000). Las raíces cumplen con diversas funciones, tales como absorber el agua de la tierra, afianzar la planta, almacenar el alimento producido durante el periodo de crecimiento y absorber los nutrientes que le permiten desarrollarse. Éstas también tienen pelos radiculares que aumentan la superficie de absorción de la raíz (Enciclopedia de las Ciencias, 1990).

Planta *Arabidopsis thaliana* (TAIR, 2004)

Los principales ecotipos de esta planta utilizados en laboratorio son:

Columbia, que es la utilizada mayormente para el estudio del genoma y su abreviación es Col-n o C₂₄ (N₉₀₆). Es una planta muy fértil y vigorosa que responde muy fácilmente a cualquier cambio que afecta su fotosíntesis. Fue descubierta por George Redei.

Wassilewskija o también conocida como Ws o Feldmann, la cual fue de las primeras exportadas a Estados Unidos y ahora, la mayoría se encuentran ahí.

Landsberg, descubierta y llamada así por Will Feenstra. Fue experimentada por George Redei. Él descubrió que su composición no era homogénea, pero era la mezcla de diferentes tipos de la planta *Arabidopsis thaliana*; mediante experimentos de rayos-X.

Hipótesis

Al disminuir los niveles de nitrato y fosfato, (macronutrientes), en el medio, la planta *Arabidopsis thaliana*, ésta mostrará un cambio en su arquitectura radicular.

Materiales y Métodos

Para observar el cambio en la arquitectura radicular de las planta *Arabidopsis thaliana* al presentar una deficiencia de nutrientes en su desarrollo, utilizamos los tres ecotipos de ésta: Landsberg (Ler), Wassewskija (Ws) y Columbia (Col). Preparamos cinco medios para cada ecotipo con diferentes concentraciones de nitrato y fosfato como lo muestra la siguiente tabla:

Medios	KNO ₃ (mM)	KH ₂ PO ₄ (mM)
1	0	1
2	1	1
3	10	0
4	100	.001
5	10	1

Tabla 1. Concentraciones de nitrato y fosfato en los medios experimentales

Para los medios se usaron como macronutrientes: magnesio (Mg) y azufre (S) y dentro de los micronutrientes se encuentran el Hierro (Fe), Manganeseo (Mg), Zinc (Zn), Cobre (Cu) y Boro (B). Llevamos a cabo 15 cultivos, 5 medios por ecotipo.

Para preparar los medios primero preparamos la solución con las concentraciones exactas de nutrientes y la agitamos con ayuda de un agitador magnético. Después ajustamos su pH a 5.6 con ayuda de un potenciómetro debido a que éste es el pH donde se desarrolla mejor esta planta. Le agregamos agua destilada mili-q a los medios al igual que agar para lograr su solidificación. Los insertamos en el autoclave por aproximadamente un periodo de una hora y los dejamos enfriar para después verterlos en las cajas petri. Este proceso se llevó a cabo en las campanas de flujo laminar ya que el desarrollo de las plantas debe llevarse a cabo en un ambiente estéril.

Al solidificarse éstas pudimos llevar a cabo el cultivo de semillas. Colocamos 20 semillas por caja, en una cierta colocación que permita que crezcan sus raíces sin que choquen demasiado unas contra otras. Al terminar este proceso las colocamos en una incubadora a 22°C, con 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad; condiciones aptas para el crecimiento de la planta *Arabidopsis thaliana*. A los 14 días, se sacaban las placas para poder medir la longitud de las raíces con ayuda de reglas, plumones y pinzas para estirarlas y poder apreciarlas más fácilmente. Para cada planta, medimos, en milímetros, la longitud de su raíz principal y dos de sus raíces laterales. Medimos dos de sus raíces laterales para poder obtener un promedio entre éstas y usar éste al hacer las gráficas y resultados. Este experimento fue repetido otras tres veces aunque el primero resultó un experimento fallido por condiciones que salieron de nuestro control. Así fue como en total, al graficar y redactar los resultados, usamos la medición de 15 de las 20 raíces principales y 30 de las raíces laterales, dos por planta, por cada placa. Utilizando 15 placas por experimento, los 5 medios de desarrollo por los tres ecotipos de la planta.

Todos los materiales nos fueron facilitados por nuestra asesora, la Dra. Berenice García Ponce de León, y el Instituto de Biotecnología en la UNAM.

Resultados y Discusiones

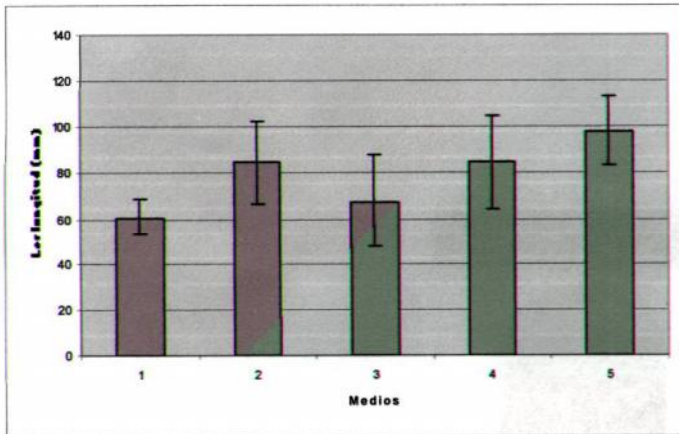


Fig. 1.1 Raíces principales de Ler con respecto a los medios

Medios	KNO ₃	KH ₂ PO ₄
1	Sin	Con
2	Bajo	Bajo
3	Con	Sin
4	Bajo	Con
5	Con	Con

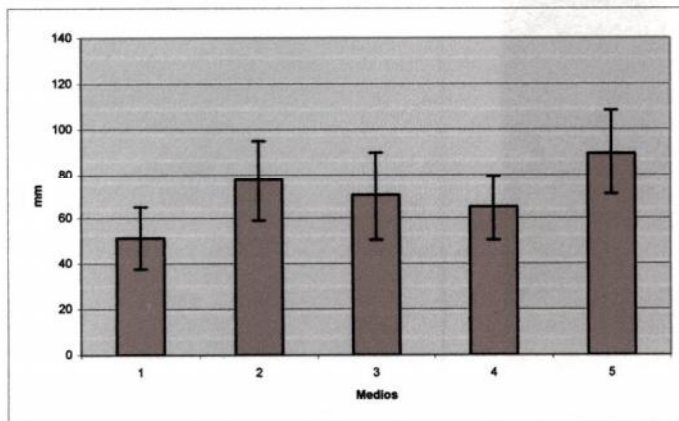


Fig. 1.2 Raíces principales de Col con respecto a los medios

En las Fig 1.1 a la Fig 1.3 podemos observar como es que la longitud más corta de raíces principales se presenta en el medio 1, medio sin nitrato presente.

El crecimiento de las raíces laterales en el medio 2, con poco nitrato y fosfato, no fue estadísticamente diferente al que presentaron en el medio 5, con el máximo de ambos nutrientes.

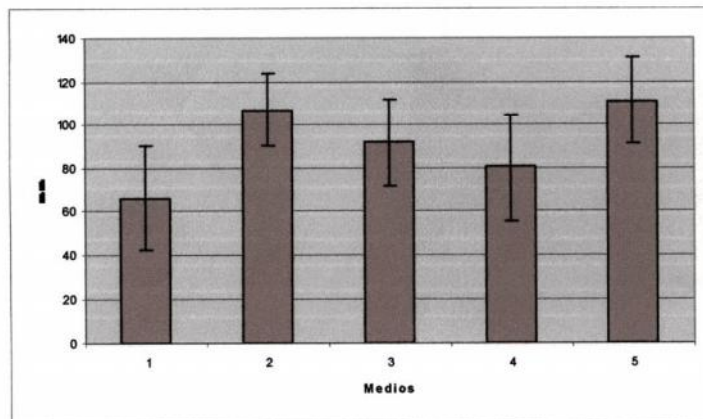


Fig. 1.3 Raíces principales de Ws con respecto a los medios

No tomamos en cuenta la desviación estándar del crecimiento en raíces laterales de las plantas desarrolladas debido a que algunas se desarrollaron después que otras y no podíamos tener una base estable para realizar las desviaciones.

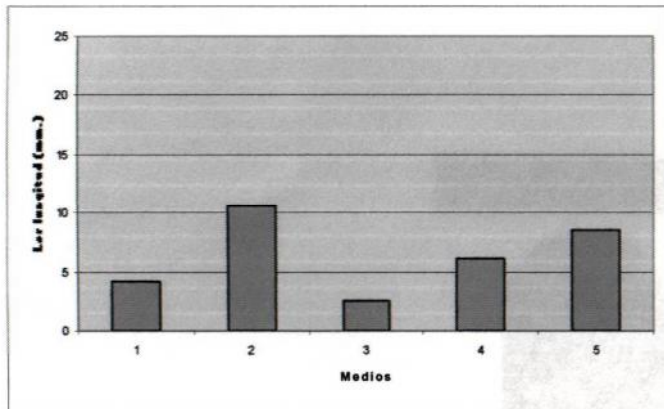


Fig. 2.1 Raíces laterales de Ler con respecto a los medios

Medios	KNO ₃	KH ₂ PO ₄
1	Sin	Con
2	Bajo	Bajo
3	Con	Sin
4	Bajo	Con
5	Con	Con

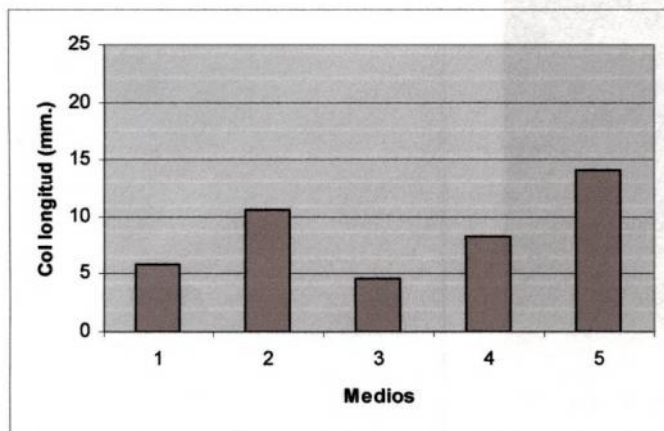


Fig. 2.2 Raíces laterales de Col con respecto a los medios

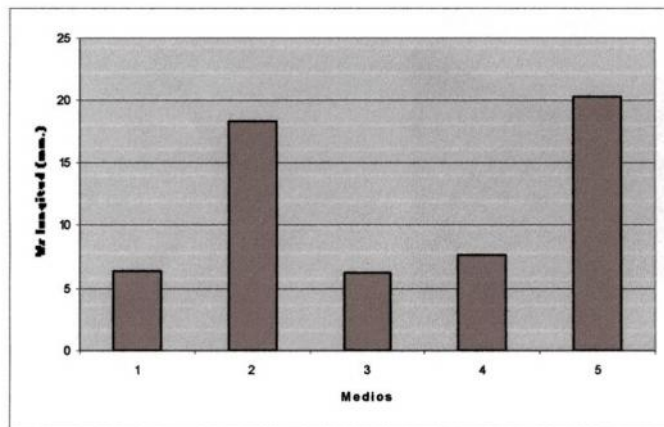


Fig. 2.3 Raíces laterales de Ws con respecto a los medios

En las Fig 2.1 a la Fig 2.3 podemos observar como es que la longitud más corta de raíces principales se presenta en el medio 3, medio sin nitrato presente.

El crecimiento de las raíces principales en el medio 2, con poco nitrato y fosfato, no fue estadísticamente diferente al que presentaron en el medio 5, con el máximo de ambos nutrientes.

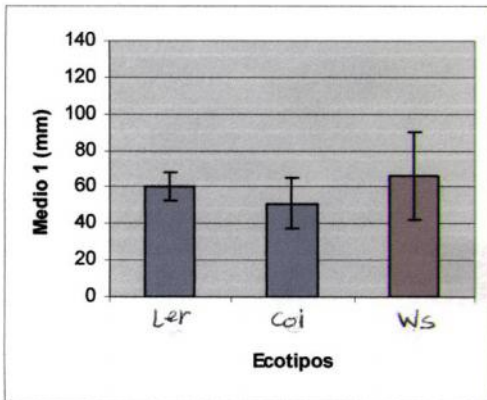


Fig. 3.1 Raíces principales en medio 1 con respecto a los ecotipos

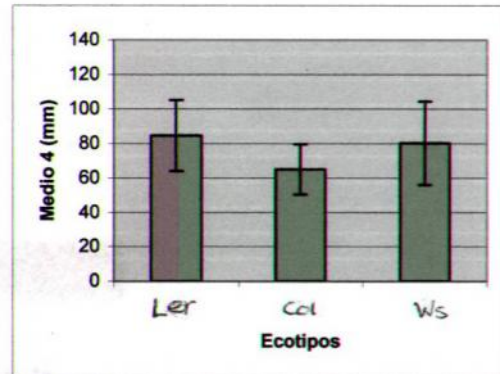


Fig. 3.4 Raíces principales en medio 4 con respecto a los ecotipos

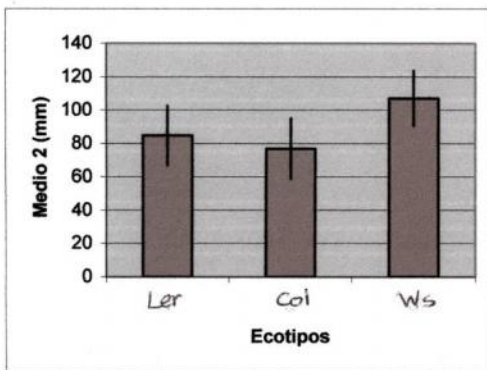


Fig. 3.2 Raíces principales en medio 2 con respecto a los ecotipos

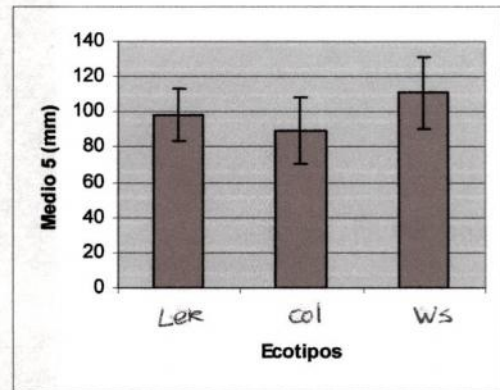


Fig. 3.5 Raíces principales en medio 5 con respecto a los ecotipos

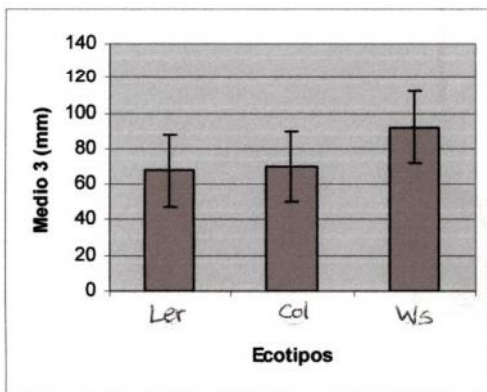


Fig. 3.3 Raíces principales en medio 3 con respecto a los ecotipos

Las raíces principales de Ler presentaron un menor crecimiento en el medio 4, con máximo de nitrato y poco fosfato, que los otros dos ecotipos.

No tomamos en cuenta la desviación estándar del crecimiento en raíces laterales de las plantas desarrolladas debido a que algunas se desarrollaron después que otras y no podíamos tener una base estable para realizar las desviaciones.

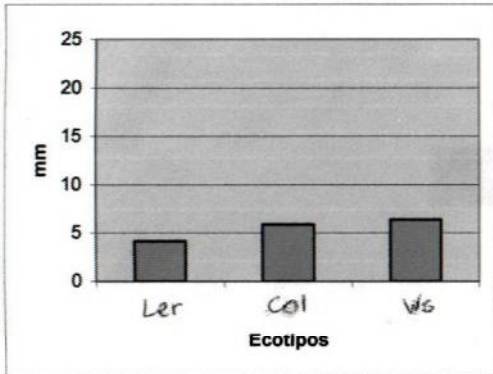


Fig. 4.1 Raíces laterales en medio 1 con respecto a los ecotipos

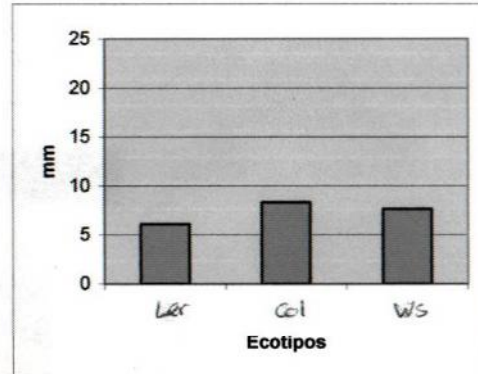


Fig. 4.4 Raíces laterales en medio 4 con respecto a los ecotipos

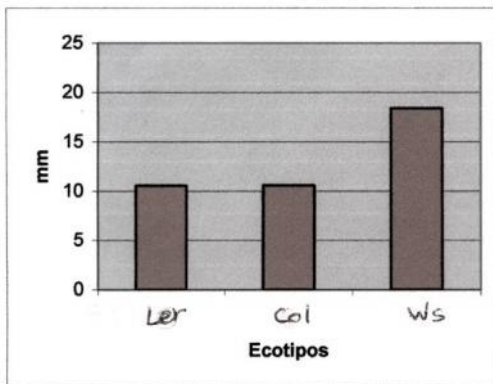


Fig. 4.2 Raíces laterales en medio 2 con respecto a los ecotipos

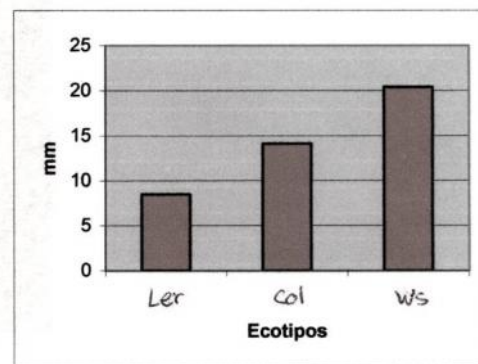


Fig. 4.5 Raíces laterales en medio 5 con respecto a los ecotipos

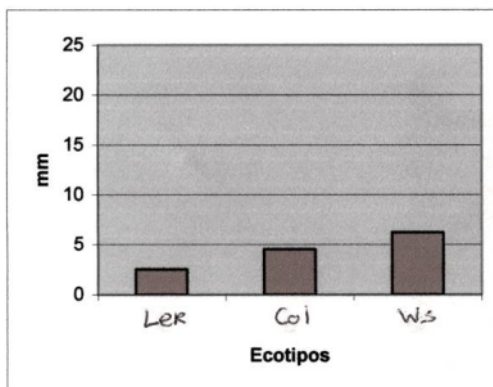


Fig. 4.3 Raíces laterales en medio 3 con respecto a los ecotipos

Las raíces laterales de Ler presentaron un menor crecimiento en el medio 4, con máximo de nitrato y poco fósforo, que los otros dos ecotipos.

Conclusiones

Observamos que hay cambios en la arquitectura radicular de estos ecotipos de la planta de *Arabidopsis* en carencia de nutrientes.

La carencia de NO_3 afecta drásticamente el crecimiento de la raíz principal. La carencia de PO_4 inhibe el crecimiento de las raíces laterales.

El ecotipo de Columbia mostró un crecimiento menor en todos los medios, con todas las condiciones, comparado con *Wassewlskija*.

Landsberg en el medio 4 mostró mayor resistencia, presentó un menor crecimiento, comparado con los ecotipos de *Wassewlskija* y Columbia.

Observamos que en el medio con menor concentración de ambos nutrientes (1mM de KNO_3 y KH_2PO_4) hubo un crecimiento muy parecido en las raíces principales y laterales.

Reconocimientos

Agradecemos el apoyo y las facilidades brindadas por el Instituto de Biotecnología de la UNAM. En especial a nuestra asesora, la Dra. Berenice García Ponce de León.

Referencias

1. Alexander, P., Bahret, M., Chaves, J., Courts, G. & D'Alessio, N. *Biología*. Prentice Hall Ed. Englewood, New Jersey. 1992, p. 295-296, 298-299
2. Campbell, N., Mitchell, L. y Reece, J. *Biología conceptos y relaciones*. Ed. Pearson Education. 3ª edición. México. 2000, p. 642, 649- 650.
3. *Enciclopedia de las Ciencias*. 1990. Editorial Cumbre, S.A. 8ª edición. México, D.F. Vol. 6, p. 19- 20.
4. García, B. 2004. Comunicación Personal. Dra. Berenice García Ponce de León. Investigadora del Instituto de Biotecnología, UNAM.
5. Howard Hughes Medical Institute. (2004). *Physiology and genetics from Arabidopsis response to phosphate availability*. <http://www.hhmi.org/grants/awards/individ/scholars/herr.html>
6. Infojardin. (2004) Carencias de Nutrientes. http://www.infojardin.com/rosales/Trastornos_3_Carencias.htm (23 de febrero de 2004)
7. ITIS (Integrated Taxonomic Information). (2002) *Arabidopsis thaliana*. <http://www.itis.usda.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt> (21 de febrero de 2004)
8. TAIR (The Arabidopsis Information Resource). (2004) About *Arabidopsis thaliana*. <http://arabidopsis.org/info/aboutarabidopsis.jsp> (23 de febrero de 2004)

Anexo 1

1. Fotos de las plantas *Arabidopsis thaliana* a los 14 días de crecimiento.

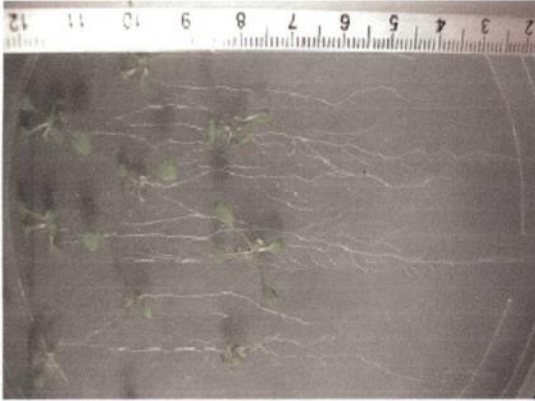


Fig. 3.1- Una muestra de Columbine para la segunda medición (29 de marzo)

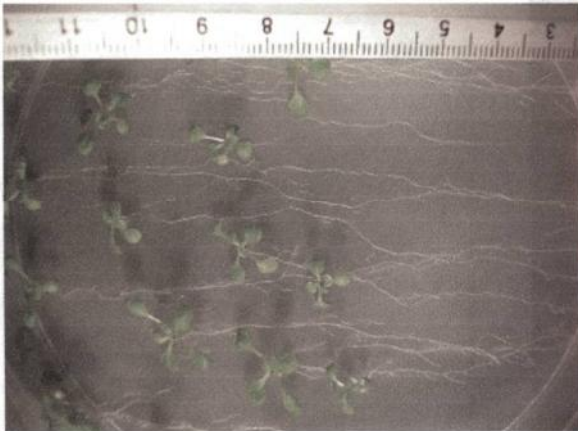


Fig. 3.2- Muestra de Ler para la segunda medición (29 de marzo)



Fig. 3.3- Muestra de WS para la segunda medición (29 de marzo)