

ACTIVIDAD FOLIAR DE NITRATO REDUCTASA (aNR), COMO INDICADOR DE LA CONCENTRACIÓN DE Mg²⁺, K⁺ y Ca²⁺ EN HOJAS DE CAFÉ¹

Miguel Eugenio Cadena-Romero*; Jaime Arcila-Pulgarín**

RESUMEN

CADENA R., M.E.; ARCILA P., J. Actividad foliar de nitrato reductasa (aNR), como indicador de la concentración de Mg²⁺, K⁺ y Ca²⁺ en hojas de café. Cenicafé 51(2): 85-96. 2000.

En Cenicafé, utilizando plantas de café de la variedad Colombia en el medio hidropónico Luwasa® Hydroculture y bajo cubierta de plástico transparente con espacios laterales abiertos, se evaluó la actividad de la enzima nitrato reductasa (aNR) (NR EC 1.6.6.1) como indicadora del estado de concentración de los cationes Mg²⁺, K⁺ y Ca²⁺ en el tejido foliar. Se simularon condiciones de desbalance de los tres cationes mediante el empleo de soluciones nutritivas con concentraciones: baja (12mg L⁻¹), media (40mg L⁻¹) y alta (84mg L⁻¹) para el Mg²⁺; baja (40mg L⁻¹) y alta (428mg L⁻¹) para el K⁺; y tanto baja (40mg L⁻¹) como alta (360mg L⁻¹) para el Ca²⁺. El control tuvo concentraciones medias de los tres bioelementos (48, 234 y 200mg L⁻¹). Se empleó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3x2x2. A los 240 días se evidenció el máximo valor promedio de la aNR de 1,75µmol N-NO₂⁻ g pf⁻¹ h⁻¹, correspondiente al tratamiento BBA (bajas concentraciones tanto de Mg como de K y alta concentración de Ca). El testigo registró actividad de 1,16µmol N-NO₂⁻ g pf⁻¹ h⁻¹. El alto registro de la aNR en el tratamiento BBA coincidió con una concentración foliar baja de Mg²⁺ (0,30% MS), baja de K⁺ (3,23% MS) y alta de Ca²⁺ (2,28% MS). La concentración de Mg²⁺, K⁺ y Ca²⁺ en el control fue de 0,49; 4,10 y 1,38% MS, respectivamente. Los tratamientos MAB y AAB, por el contrario registraron las actividades más bajas de la aNR con 0,91 y 0,92µmol N-NO₂⁻ g pf⁻¹ h⁻¹, respectivamente.

Palabras claves: Enzimas, nitrato reductasa, magnesio, potasio, calcio, *Coffea arabica* var. Colombia, soluciones nutritivas.

ABSTRACT

Plants of Colombia coffee variety were grown in Luwasa® Hydroculture (hydroponic medium) and covered with transparent plastic with lateral sides open. Activity of nitrate reductase enzyme (NR EC 1.6.6.1), a concentration indicator of cations Mg²⁺, K⁺, and Ca²⁺, was evaluated in leaf tissue. A state of cation imbalance was simulated in nutrient solutions prepared as follows: low (L, 12mg L⁻¹); medium (M, 40mg L⁻¹), and high (H, 84mg L⁻¹) for Mg²⁺; low (L, 40mg L⁻¹) and high (H, 428mg L⁻¹) for K⁺; and low (L, 40mg L⁻¹) and high (H, 360mg L⁻¹) for Ca²⁺. A check was included with medium levels of the three bioelements (48mg L⁻¹ for Mg²⁺, 234mg L⁻¹ for K⁺, and 200mg L⁻¹ for Ca²⁺). A completely randomized design with a 3x2x2 factorial arrangement was used. After 240 days, the maximum average value of NRa was 1.75µmol NO₂⁻-N g f.wt⁻¹ h⁻¹, corresponding to the LLH treatment (low Mg²⁺, low K⁺, and high Ca²⁺ in the nutrient solution). The check had a concentration of 1.16µmol NO₂⁻-N g f.wt⁻¹ h⁻¹. The high NRa value (LLH treatment) corresponded to leaf concentrations of the three cations (measured as DM percentages with respect to the check) and reflected treatment concentrations of these same cations: low for Mg²⁺ (0.30%), low for K⁺ (3.23%), and high for Ca²⁺ (2.28%). Corresponding leaf concentrations (measured as percent DM) of Mg²⁺, K⁺, and Ca²⁺ in the check were 0.49%, 4.10%, and 1.38%. The MHL and HHL treatments, as opposed to the LLH treatment, showed the lowest NRa: 0.91 and 0.92µmol NO₂⁻-N g f.wt⁻¹ h⁻¹, respectively.

Keywords: *Coffea arabica*, Colombia variety, nitrate reductase activity, NRa, magnesium, potassium, calcium, nutrient solutions.

¹ Adaptación de un fragmento de la tesis "Absorción y translocación del magnesio en presencia del potasio y del calcio en plantas de café (*Coffea arabica*) variedad Colombia" presentada por el primer autor a la Universidad Nacional de Colombia, como requisito parcial para optar al título de Magister en Suelos. Santafé de Bogotá. 1997.

* Profesor Titular. Facultad del Medio Ambiente y de los Recursos Naturales. Universidad Distrital "Francisco José de Caldas". Santafé de Bogotá. Colombia.

** Investigador Principal I. Fisiología Vegetal. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia.

Con el fin de mantener la neutralidad eléctrica en la interfase suelo-raíz, la raíz secreta iones H^+ u OH^- en cantidades que son estequiométricamente iguales al respectivo exceso de absorción catiónica o aniónica (7, 14, 31, 32, 33). Los contenidos de nitrógeno en los tejidos de las plantas son mayores que los de otros elementos minerales, lo cual implica que el desbalance iónico en la absorción de nutrimentos depende de la presencia o no del nitrógeno en el medio, como catión o como anión (30).

Mediante la mineralización el nitrógeno se hace disponible para las plantas en forma estable, expresado como ion nitrato (NO_3^-). En la planta, la reducción del ion nitrato se inicia por su conversión a nitrito (NO_2^-) a través de la reacción catalizada por la enzima nitrato reductasa. La actividad de nitrato reductasa (aNR) (NR EC 1.6.6.1) en los tejidos vegetales está determinada por factores genéticos, el balance hormonal y los factores ambientales, tales como la nutrición mineral, la intensidad de la luz, la temperatura ambiente y la disponibilidad de agua para la planta (19). Con relación al cafeto existen indicios de que esta especie presenta potencial para la reducción de nitrato, tanto en la raíz como en la parte aérea (2, 3, 10, 22, 23, 24, 25). Otros estudios relacionados con la enzima nitrato reductasa en café incluyen la medición de su actividad asociada a la fertilización nitrogenada (6), a la variación estacional en dos regiones climáticas diferentes, en Costa Rica (29) y a tratamientos de luz asociados con la fertilización nitrogenada (12).

Estudios sobre nutrición mineral relacionados con las deficiencias de elementos tales como el nitrógeno, el azufre y el molibdeno, han demostrado su efecto sobre la actividad de la enzima nitrato reductasa (4, 13, 21, 28). En hojas de plantas de trigo la aNR decreció cuando las plantas se sometieron a tratamientos de -K y -Ca. Así mismo, se obtuvo la mayor actividad de la enzima al momento de aplicar K al tratamien-

to -K, más aún que en plantas sometidas permanentemente a un nivel adecuado de K (1). En el mismo estudio se detectó que la asimilación de $N-NH_4^+$ y $N-NO_3^-$ decreció por efecto de los tratamientos -K y -Mg. En un experimento donde se evaluó el efecto de la nutrición con potasio sobre la concentración de proteína foliar en plantas de tomate se encontró que la concentración de proteína en las yemas apicales y en hojas expandidas se incrementó significativamente como resultado del decrecimiento en el suministro de potasio a las plantas (5). De igual forma que en las plantas de tomate, plántulas de maíz deficientes en potasio incrementaron el nivel de proteína concluyéndose que la síntesis de proteína no fue el factor primario limitativo del desarrollo de plantas deficientes en potasio (16).

Las deficiencias minerales de Mg, K y Ca en plantas de café afectan la actividad de la enzima nitrato reductasa. En plantas de café deficientes en potasio y en calcio se presentó acumulación de $N-NO_3^-$ en hojas, de forma equivalente al tratamiento control; mientras las plantas deficientes en magnesio registraron una reducción de $N-NO_3^-$ inferior al tratamiento control (11).

El objetivo de la presente investigación consistió en evaluar la influencia que ejercen las concentraciones bajas (B) y altas (A) de los cationes Mg^{2+} , K^+ y Ca^{2+} en solución nutritiva (incluyendo la concentración media, M, del Mg^{2+}), sobre la actividad de la enzima nitrato reductasa (NR EC 1.6.6.1) en el tejido foliar de plantas de café.

MATERIALES Y MÉTODOS

Instalación. Se utilizaron plántulas de café (*Coffea arabica* L.) var. Colombia de 200 días de edad las cuales se instalaron en el sistema hidropónico Luwasa® Hydroculture (8). Se ubicaron seis plantas por cada materia y permanecieron allí durante 59 días en condiciones de invernadero, en una solución nutritiva balanceada que

contenía: 303mg L⁻¹ de N, 30mg L⁻¹ de P, 234mg L⁻¹ de K, 200mg L⁻¹ de Ca, 48mg L⁻¹ de Mg, 63,4mg L⁻¹ de S, 5,6mg L⁻¹ de Fe, 0,5mg L⁻¹ de B, 0,02 mg L⁻¹ de Cu, 0,05 mg L⁻¹ de Zn, 0,01mg L⁻¹ de Mo y 0,5mg L⁻¹ de Mn.

Diseño experimental. Se empleó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3x2x2, donde los factores correspondieron a las fuentes, sulfato de magnesio (MgSO₄·7H₂O), nitrato de potasio (KNO₃) y nitrato de calcio [Ca(NO₃)₂·4H₂O] para Mg, K y Ca, respectivamente. Los niveles para Mg fueron bajo (B, 12mg L⁻¹), medio (M, 48mg L⁻¹) y alto (A, 84mg L⁻¹). Para el K los niveles fueron bajo (B, 40mg L⁻¹) y alto (A, 428mg L⁻¹) y para el Ca igualmente niveles bajo (B, 40mg L⁻¹) y alto (A, 360mg L⁻¹). El experimento se ejecutó con 12 tratamientos (B_{Mg}B_KB_{Ca}, B_{Mg}B_KA_{Ca}, B_{Mg}A_KB_{Ca}, B_{Mg}A_KA_{Ca}, M_{Mg}B_KB_{Ca}, M_{Mg}B_KA_{Ca}, M_{Mg}A_KB_{Ca}, M_{Mg}A_KA_{Ca}, A_{Mg}B_KB_{Ca}, A_{Mg}B_KA_{Ca}, A_{Mg}A_KB_{Ca}) y un tratamiento como testigo absoluto (M_{Mg}M_KM_{Ca}) y tres repeticiones. La unidad experimental estuvo conformada por una matera hidropónica y la unidad de muestreo por una planta de café. Las bases de datos se analizaron con el paquete SAS (27).

Determinación de la aNR. Se realizaron dos mediciones de la actividad de la enzima nitrato reductasa (NR EC 1.6.6.1) correspondientes a los 161 y los 240 días de inducidos los tratamientos. En el ensayo se evaluó la absorción de nitrato por el tejido foliar en cada uno de los trece tratamientos, mediante la liberación de nitrito en el medio de incubación. La determinación de la aNR se efectuó mediante la modificación de la técnica de Bar-akiva y Sternbaum, citado por Cavallini y Carvajal (11).

Muestras de 250mg de hojas por tratamiento en forma de discos de 6,0mm de diámetro provenientes del segundo par de la parte distal de cuatro ramas opuestas y pertenecientes al tercio superior de la planta se llevaron a incubación en un medio preparado con 1ml de solución 0,25M de KNO₃, 1ml de solución buffer Tris-HCl 0,05M

a pH 7,4 y 3ml de agua destilada. El medio de incubación con cada una de las muestras se vertió sucesivamente en tubos de ensayo recubiertos con papel negro y se agitaron durante 30 segundos. Las muestras se incubaron por tres horas a 32°C y se filtraron 15 minutos después de la adición de 0,5ml de una solución de 1mg de Al₂O₃ + 100ml de H₂SO₄ 1M. La cantidad de nitrito presente después del proceso de incubación y filtración se determinó por colorimetría empleando 1ml de dimetil α-naftilamina + 1ml de una solución de ácido sulfanílico. La intensidad del color rosa desarrollado se midió en un espectrofotómetro UV - Visible (Perkin-Elmer, modelo Lambda 3 con bomba de vacío) a una longitud de onda de 520nm. La curva patrón se preparó a partir de los patrones 0,0; 0,25; 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0mg L⁻¹ de Na₂NO₂.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Relación entre la aNR y el contenido de nitrógeno foliar. Si se tiene en cuenta que la fuente de nitrógeno aplicada a la solución nutritiva corresponde a la forma nitrato, la acumulación de éste en el tejido foliar es proporcional a la aNR, medida como la concentración de nitrito obtenida en cada uno de los tratamientos.

En la medición practicada a los 161 días (Figura 1), la mayor concentración de nitrato (expresada en el proceso de reducción como concentración de nitrito) se presentó en el tejido foliar de plantas de café expuestas al tratamiento MAA (2,18μmol N-NO₂⁻ g pf⁻¹ h⁻¹). En el tratamiento opuesto, es decir, alta concentración de Mg, baja concentración de K y baja concentración de Ca en la solución nutritiva (ABB), se obtuvo la menor concentración (1,02μmol N-NO₂⁻ g pf⁻¹ h⁻¹).

A los 240 días (Figura 2) el máximo valor de la aNR correspondió al tratamiento BBA (1,75μmol N-NO₂⁻ g pf⁻¹ h⁻¹) que coincidió con

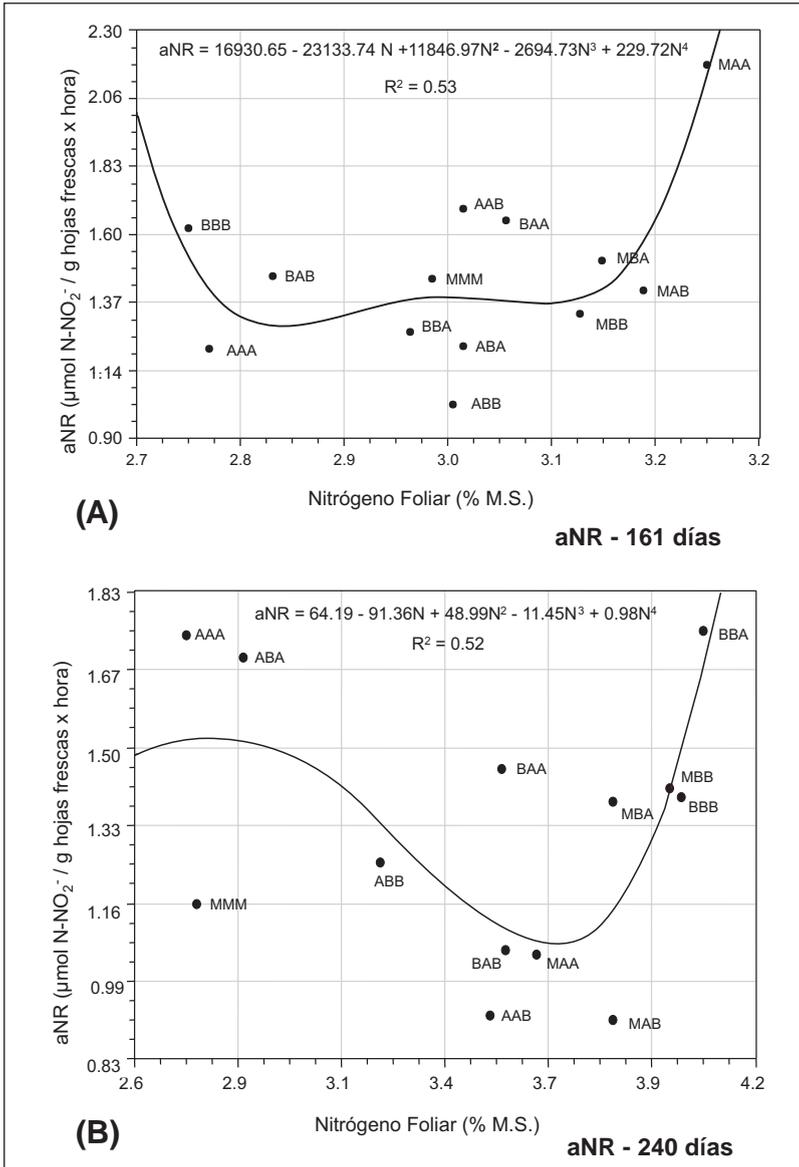


Figura 1. Relación entre el contenido de nitrógeno foliar en plantas de café y la actividad de la enzima nitrato reductasa (aNR). Contenido de nitrógeno foliar medido a los 120 días (A) y 240 días (B). Las letras A, M y B corresponden (de izquierda a derecha) respectivamente a los niveles alto, medio y bajo de los iones Mg^{2+} , K^+ y Ca^{2+} en la solución nutritiva.

la máxima concentración de nitrógeno foliar tomada a los 180 días en el mismo tratamiento (4,08 % MS). Un valor cercano a la mínima aNR ($0,91 \mu\text{mol N-NO}_2^- \text{ g pf}^{-1} \text{ h}^{-1}$) se registró en el tratamiento opuesto (AAB) con una concentración de $0,92 \mu\text{mol N-NO}_2^- \text{ g pf}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y una concentración media de nitrógeno foliar (3,52% MS) en la medición practicada a los 180 días.

Un desbalance en la solución nutritiva entre los iones Mg^{2+} , K^+ y Ca^{2+} en plantas de café, muestra un comportamiento diferencial del contenido de nitrógeno foliar que a su vez permite evidenciar a través del tiempo la reducción de la actividad de la enzima nitrato reductasa. Niveles de baja y alta concentración foliar de nitrógeno muestran en la Figura 1, mayor actividad de la

enzima nitrato reductasa, en especial, a los 240 días cuando el rango de variación del contenido de nitrógeno foliar es mayor.

Transcurridos 240 días el contenido de nitrógeno foliar aumentó con respecto a los 161 días (Figura 1). La aNR muestra claramente dos picos de mayor producción: el primero, cuando el contenido de nitrógeno foliar es de 2,7% MS ($1,74\mu\text{mol N-NO}_2^- \text{ g pf}^{-1} \text{ h}^{-1}$) y el segundo, cuando el contenido foliar es de 4,1% MS ($1,75\mu\text{mol N-NO}_2^- \text{ g pf}^{-1} \text{ h}^{-1}$).

Las variaciones amplias de los contenidos de nitratos en la solución del suelo tienen origen, entre otras razones, en las pérdidas graduales que se dan en el proceso de mineralización (volatilización y desnitrificación) y en la lixiviación de fuentes nitrogenadas (especialmente úrea); o como producto del desbalance nutritivo entre los iones Mg^{2+} , K^+ y Ca^{2+} , que inducen una mayor o menor translocación del nitrato a las hojas. En suelos ácidos, donde se cultiva café, el desbalance entre los tres cationes proviene principalmente de las altas dosis tanto de cloruro de potasio (fuente de potasio) como de cal, los cuales reducen la disponibilidad del magnesio.

Interacciones entre los elementos Mg, K y Ca con relación a la aNR. Se efectuaron para cada una de las mediciones de la aNR análisis de varianza (ANAVA), pertenecientes al diseño

experimental completamente al azar con arreglo factorial $3 \times 2 \times 2$ y tres repeticiones, empleado en el experimento central.

En la medición practicada a los 161 días se evidencia que la cantidad de nitrito producida en los tratamientos es significativamente diferente ($\text{Pr} > f = 0,080$) entre los niveles alto y bajo del factor potasio (Tabla 1). No se observaron diferencias significativas entre los niveles de los factores magnesio y calcio, así como entre los efectos simples de las interacciones.

El potasio ($\text{Pr} > f = 0,021$) y el calcio ($\text{Pr} > f = 0,0062$) muestran diferencias significativas a los 240 días (Tabla 1). Sin embargo, al igual que en la primera medición, el factor magnesio y los efectos simples de las interacciones mostraron niveles de confiabilidad inferiores al 84%.

Aún observando que en el análisis de varianza de la segunda medición no hay diferencia significativa con el factor magnesio ($\text{Pr} > f = 0,20$), los tres niveles (alto, medio y bajo) muestran diferencias en la actividad de la enzima nitrato reductasa en hojas (Tabla 2). Las diferencias se registran especialmente en el nivel medio (0,40% MS en el tejido foliar), donde se obtiene una actividad de 1,19 con respecto a 1,33 (nivel alto, 0,42% MS) y $1,41 \text{ mmol N-NO}_2^- \text{ g pf}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (nivel bajo, 0,29% MS).

TABLA 1. Niveles de significancia del ANAVA para un diseño completamente al azar con arreglo factorial $3 \times 2 \times 2$. Mediciones realizadas a los 161 y 240 días. Variable de respuesta: actividad de la enzima nitrato reductasa (aNR).

FUENTES DE VARIACIÓN	aNR - 161 días Pr > f	aNR - 240 días Pr > f
Mg	0,24	0,20
K	0,080	0,021
Ca	0,58	0,0062
Mg * K	0,74	0,65
Mg * Ca	0,19	0,16
K * Ca	0,60	0,40
Mg * K * Ca	0,19	0,84
C, V,	29,10	24,76

TABLA 2. Valores medios de la aNR, correspondientes a los niveles de los factores (Mg, K y Ca) de un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3x2x2. Actividad expresada en $\mu\text{mol N-NO}_2^- \text{ g pf}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Medición a los 240 días.

Niveles de Factores	FACTOR Mg			FACTOR K			FACTOR Ca		
	Nº	Media	DE	Nº	Media	DE	Nº	Media	DE
B	12	1,41	0,40	18	1,48	0,38	18	1,16	0,27
M	12	1,19	0,30	-	-	-	-	-	-
A	12	1,33	0,46	18	1,12	0,31	18	1,48	0,44

DE= Desviación estándar

Una concentración alta de K en el tejido foliar (6,22% MS), proveniente de una alta concentración de K en la solución nutritiva (428mg.L^{-1}), incidió en una baja aNR foliar ($1,12\mu\text{mol N-NO}_2^- \text{ g pf}^{-1} \text{ h}^{-1}$), (Tabla 2).

De otra parte, una concentración baja de Ca en el tejido foliar (0,64% MS), como resultado de la baja concentración en la solución nutritiva (40mg L^{-1}), produjo una baja concentración de NO_2^- foliar ($1,16\mu\text{mol N-NO}_2^- \text{ g pf}^{-1} \text{ h}^{-1}$), (Tabla 2).

En las interacciones del análisis de varianza correspondiente a la segunda medición de aNR, no se encontraron diferencias significativas; sin embargo, es posible observar diferencias apreciables entre las interacciones de primer orden representadas en la Figura 2.

La interacción alto Mg (84mg L^{-1}) y bajo Ca (40mg L^{-1}) en la solución nutritiva, que genera una alta concentración de Mg (0,42% MS) y baja de Ca (0,64% MS) en el tejido foliar; influye sobre el valor promedio más bajo de la aNR ($1,09\mu\text{mol N-NO}_2^- \text{ g pf}^{-1} \text{ h}^{-1}$).

Los valores de la actividad de la enzima nitrato reductasa más bajos ($0,98\mu\text{mol N-NO}_2^- \text{ g pf}^{-1} \text{ h}^{-1}$) en la interacción Mg*K, se obtuvieron por efecto de una concentración alta de K (6,32% MS) y media de Mg (0,37% MS) en el tejido foliar. Con respecto a la interacción Ca*K, se regis-

tró la menor aNR, ($0,96\mu\text{mol N-NO}_2^- \text{ g pf}^{-1} \text{ h}^{-1}$), en aquellas plantas donde se observó una baja concentración foliar de Ca (0,59% MS) y alta de K (6,50% MS).

De los anteriores resultados se deduce que la aNR mantuvo una relación directamente proporcional a la concentración foliar de Ca e inversamente proporcional a las concentraciones foliares de Mg y K. Con relación a la acción del K sobre la acumulación foliar de N-NO_3^- , se observaron comportamientos similares a los obtenidos en plantas de café (11), de tomate (5) y de maíz (16).

Efecto del tiempo y los elementos Mg, K y Ca sobre la aNR.

En un análisis de medidas repetidas se observó que al considerar el efecto correspondiente al intervalo de tiempo dentro de muestreos (grupo de muestreos), la interacción tiempo x K resultó significativa tanto en el análisis de varianza univariado como multivariado (Tabla 3). De esta forma se confirma que la actividad de la enzima nitrato reductasa (aNR) únicamente varía significativamente a través del tiempo por acción de una concentración alta o baja de K en el tejido foliar ($\text{Pr} > \text{f} = 0,013$). La relación entre la aNR y el K correspondió a una función lineal, como se deduce del cálculo de los contrastes por polinomios ortogonales cuyas respuestas fueron iguales a las obtenidas en la Tabla 4.

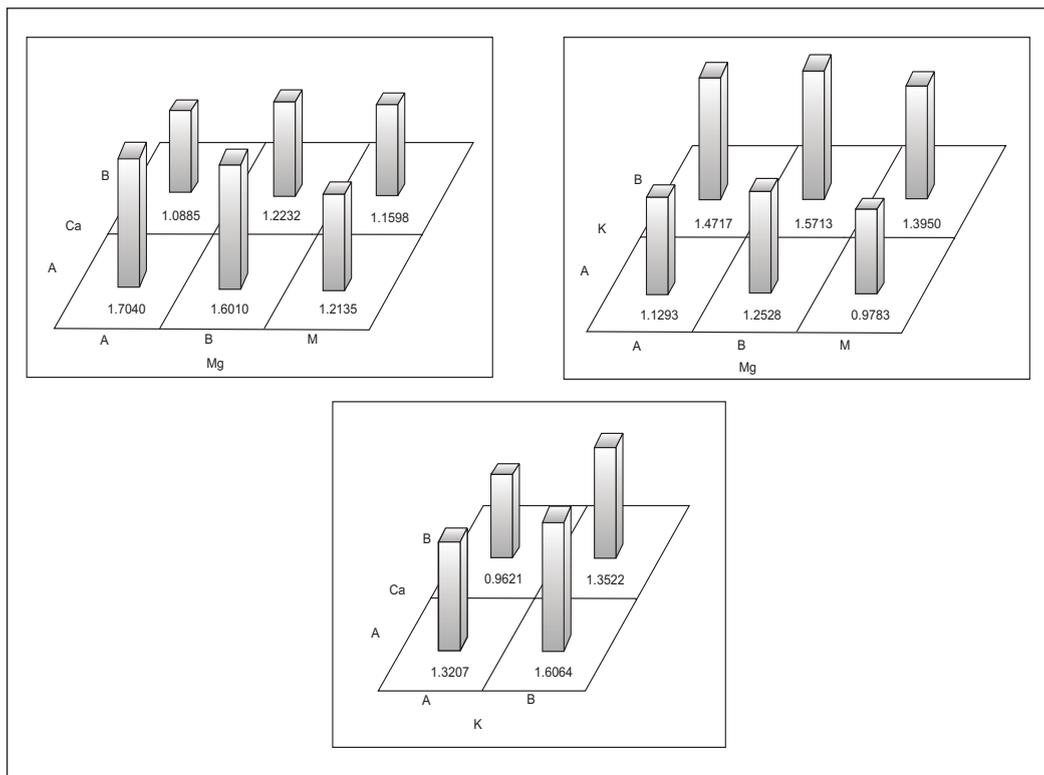


Figura 2. Promedios de los valores de la actividad foliar de la enzima nitrato reductasa ($\mu\text{mol N-NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$), como resultado de las interacciones Mg^*Ca , Mg^*K y K^*Ca en la solución nutritiva. Medición de la aNR a los 240 días de inducidos los tratamientos. Niveles alto (A), medio (M) y bajo (B).

TABLA 3. Niveles de significancia del ANAVA y el MANAVA en medidas repetidas (grupo de intervalos de tiempo). Actividad de la enzima nitrato reductasa (aNR).

Fuentes de Variación	ANAVA Pr > f	MANAVA (wilk's- lambda) Pr > f
TIEMPO	0,16	0,16
TIEMPO*Mg	0,25	0,25
TIEMPO*K	0,013	0,013
TIEMPO*Ca	0,30	0,30
TIEMPO*Mg*K	0,77	0,77
TIEMPO*Mg*Ca	0,12	0,12
TIEMPO*K*Ca	0,89	0,89
TIEMPO*Mg*K*Ca	0,52	0,52

MANAVA = Análisis de varianza multivariado

La prueba de hipótesis que evalúa la aNR durante el intervalo de tiempo entre muestreos (Tabla 4), registra una respuesta significativa entre ellos por efecto de la influencia que ejerce el calcio sobre la actividad foliar de la enzima nitrato reductasa. La incidencia del calcio se aprecia en el cambio de significancia de la medición 1 ($Pr > f = 0,58$) a la medición 2 ($Pr > f = 0,0062$), a diferencia del Mg y el K que mantienen un nivel de significancia similar en las dos mediciones (Tabla 1).

Relación entre la aNR y el contenido foliar de los cationes Mg^{2+} , K^+ y Ca^{2+} . En la Tabla 5 se relacionan la aNR foliar a los 240 días y la concentración foliar de los cationes Mg^{2+} , K^+ y Ca^{2+} a los 180 días. Inicialmente se aprecia una clara correspondencia entre las concentraciones altas (A), medias (M) o bajas (B) de los tres cationes en soluciones nutritivas, y las altas o bajas concentraciones de los mismos cationes en el tejido foliar.

El mayor registro de aNR en el tratamiento BBA ($1,75 \mu\text{mol N-NO}_2^- \text{ g pf}^{-1} \text{ h}^{-1}$), coincidió con

TABLA 4. Niveles de significancia en medidas repetidas (intervalo de tiempo entre muestreos). Actividad de la enzima nitrato reductasa (aNR).

Fuentes de variación	Pr > f
Mg	0,74
K	0,86
Ca	0,016
Mg^*K	0,53
Mg^*Ca	0,72
K^*Ca	0,25
Mg^*K^*Ca	0,72

una concentración foliar baja de Mg^{2+} (0,30% MS), baja de K^+ (3,23% MS) y alta de Ca^{2+} (2,28% MS) respecto al tratamiento control (MMM). El tratamiento MAB (opuesto a BBA), por el contrario registró la actividad más baja de la aNR con $0,91 \mu\text{mol N-NO}_2^- \text{ g pf}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

Al emplear los cuatro modelos posibles de regresión múltiple (Tabla 6) con las combinaciones de las concentraciones foliares de los cationes Mg, K y Ca (variables independientes) y su influencia sobre la actividad foliar de la

TABLA 5. Actividad foliar de la enzima nitrato reductasa (aNR) y los correspondientes valores de concentración foliar de los elementos Mg, K y Ca para cada uno de los tratamientos. Las letras A, M y B corresponden (de izquierda a derecha) respectivamente a los niveles alto, medio y bajo de los iones Mg^{2+} , K^+ y Ca^{2+} .

Tratamientos	aNR – 240 días ($\mu\text{mol N-NO}_2^- \text{ g pf}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	Medición 180 días (%MS)		
		Mg	K	Ca
BBB	1,39	0,31	3,72	0,50
BBA	1,75	0,30	3,23	2,28
BAB	1,06	0,27	6,38	0,5
BAA	1,45	0,27	6,11	1,28
MBB	1,41	0,39	3,16	0,70
MBA	1,38	0,46	2,75	2,47
MAB	0,91	0,40	6,65	0,63
MAA	1,05	0,34	5,98	1,62
ABB	1,25	0,43	3,07	0,86
ABA	1,69	0,48	2,68	1,87
AAB	0,92	0,48	6,46	0,67
AAA	1,74	0,32	5,84	0,67
MMM	1,16	0,49	4,10	1,38

TABLA 6. Análisis de regresión lineal múltiple con la variable aNR (variable respuesta) y las combinaciones de Mg, K y Ca (variables independientes). Estimaciones (EST.) y Pr > |T| para cada uno de los parámetros.

Parámetro	aNR = f(Mg,K,Ca)		ANR = f(Mg,K)		aNR = f(Mg,Ca)		aNR = f(Ca,K)	
	EST.	Pr> T	EST.	Pr> T	EST.	Pr> T	EST.	Pr> T
INTERCEPTO	2,426	0,0009	2,600	0,0001	1,522	0,0023	1,621	0,0012
Mg	-1,768	0,069	-1,742	0,064	-1,172	0,259	-	-
K	-0,115	0,046	-0,133	0,012	-	-	-0,075	0,155
Ca	0,084	0,468	-	-	0,205	0,112	0,075	0,571
R ²	0,54		0,51		0,27		0,33	

enzima nitrato reductasa (variable de respuesta) se apreció que el mejor modelo correspondió a la acción que ejercieron los bioelementos Mg y K sobre la aNR, con un R²=0,51 y un nivel de significancia en sus tres parámetros inferior al 6,4%.

La superficie de respuesta (Figura 3) conformada por la variable aNR (variable respuesta) y las variables K y Mg (variables independientes)

muestra que la concentración foliar de Mg y K es inversamente proporcional a la concentración foliar de nitrato (aNR).

La influencia del potasio en el proceso de translocación de NO₃⁻ a través del xilema lo hace originalmente como contraión acompañante para el movimiento descendente del malato proveniente de los primordios foliares. Posteriormente el malato llega a la raíz donde participa en el

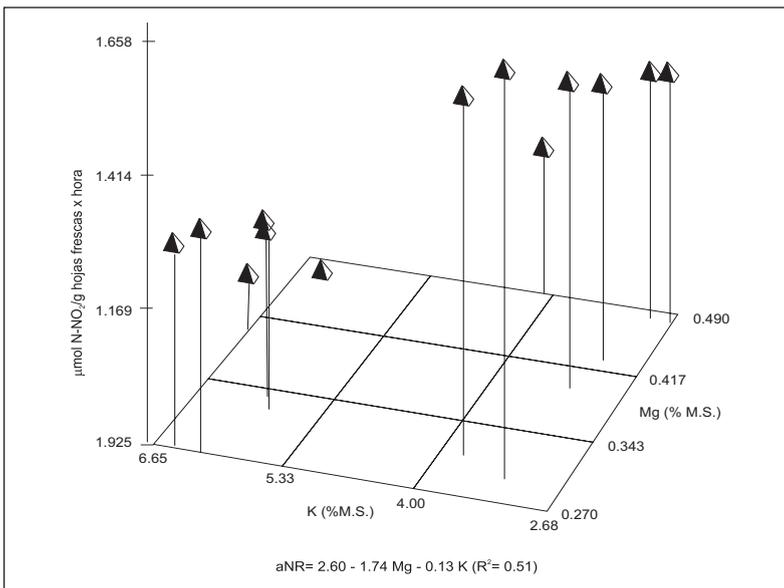


Figura 3. Superficie de respuesta para el análisis de regresión lineal múltiple correspondiente al modelo foliar aNR = f (Mg, K).

proceso respiratorio, transfiriéndose a HCO_3^- , el cual es liberado de las raíces al medio nutritivo. La cantidad de nitrato reducido es proporcional a la cantidad de malato acumulado en el citoplasma y en las vacuolas (18, 20).

A diferencia de la absorción del potasio (a través de la membrana plasmática) en el tejido foliar, que según Salisbury y Ross (26) se lleva a cabo por un mecanismo de difusión facilitada (uniporte), la quelación de Mg^{2+} y Ca^{2+} por varios ligandos en el citoplasma hace menos influyente su contribución en el transporte de NO_3^- , proceso conocido como antiporte (transporte de intercambio).

Kirkby *et al.* (17) en plantas de tomate alimentadas con N-NO_3^- y tres niveles de K^+ , encontró que para el tratamiento con un nivel alto de K^+ , cerca de toda la carga aniónica fue dirigida hacia la acumulación de ácido orgánico ($\Sigma\text{A} \approx \Sigma\text{C}$) con una salida de OH^- de, únicamente 3 % del total de carga aniónica generada. Por el contrario, en plantas alimentadas con un nivel bajo de K^+ ($\Sigma\text{A} > \Sigma\text{C}$), una apreciable proporción (32%) de carga aniónica fue excretada como OH^- . Esta última condición predispone una alta absorción como contraión de N-NO_3^- a través del plasmalema.

En suelos derivados de cenizas volcánicas de la zona cafetera central de Colombia se observan periódicamente deficiencias de magnesio en diferentes estados vegetativos de la planta de café. Las altas aplicaciones de fuentes fertilizantes potásicas en café reducen la disponibilidad del magnesio en la solución del suelo (15), y por tanto, se evoluciona progresivamente a una sintomatología de deficiencia foliar de magnesio. Con un modelo como el que se observa en la Figura 3, la medición periódica de las concentraciones foliares de Mg y K, puede registrar oportunamente cambios en la aNR foliar que permitirían advertir la insuficiencia foliar de magnesio, antes de la aparición de los síntomas visuales. Como consecuencia, el registro de la aNR foliar

facilitaría una adecuada planeación de la fertilización con magnesio en plantaciones de café.

LITERATURA CITADA

1. ALI, A. A.; IKEDA, M.; YAMADA, Y. Effect of the supply of potassium, calcium and magnesium on the absorption, translocation, and assimilation of ammonium-and nitrate-nitrogen in wheat plants. *Soil Science and Plant Nutrition* 33 (4), 585-594. 1987.
2. ALVES, J. D. Relação entre a redução do nitrato e a fotossíntese no cafeeiro (*Coffea arabica* L.). Viçosa. Universidade Federal de Viçosa. 1985. 38 p. (Tese de Mestrado).
3. ALVES, J. D.; CORDEIRO, A.T.; RENA, A.B. Relação entre fotossíntese, resistência difusiva e variação circadiana da redução do nitrato em *Coffea arabica* L. In: Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, 12. Caxambu. 28-31 Outubro, 1985. Anais. Rio de Janeiro, MIC/IBC. 1985. p. 142-145.
4. BEEVERS, L.; SCHRADER, L.E.; FLESHER, D.; HAGEMAN, R.H. The role of light and nitrate in the induction of nitrate reductase in radish cotyledons and maize seedlings. *Plant Physiology* 40: 691-698. 1965.
5. BESFORD, R. T. Effect of potassium nutrition on leaf protein concentrations and growth of young tomato plants. *Plant and Soil* 42: 441-451. 1975.
6. BREALLY, O.; CARVAJAL, J.F. La actividad de la reductasa del nitrato como guía de la fertilización nitrogenada del café. In: Simposio Latinoamericano de Fisiología Vegetal, 4. Lima. 1971. Resúmenes. p. 44-45.
7. BRETELIER, H. A comparison between ammonium and nitrate nutrition of young sugar-beet plants grown in nutrient solutions at constant acidity. 1. Production of dry matter, ionic balance and chemical composition. *Netherlands Journal of Agricultural Science* 21: 227-244. 1973.
8. CADENA, M. E. Análisis nutricional de la especie *Cordia alliodora* (Ruiz et Pavón) Oken asociado a hidroponía. Santafé de Bogotá. Universidad Distrital "Francisco José de Caldas". Facultad de Ingeniería Forestal. 1987. 293 p. (Tesis: Ingeniero Forestal)

9. CADENA, M. E. Absorción y translocación del magnesio en presencia del potasio y del calcio en plantas de café (*Coffea arabica* L.) variedad Colombia. Santafé de Bogotá. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía. 1997. 221 p. (Tesis: Magister Science).
10. CARELLI, M.L.C.; FAHL, D.I.; MAGALHAES, A.C. Atividade da redutase de nitrato em folhas e raízes de plantas de café (*Coffea arabica* L.). Revista Brasileira de Botânica 13: 119-123. 1990.
11. CAVALLINI, J.A.; CARVAJAL, J.F. Mineral nutrition and nitrate reductase activity in coffee trees affected by mineral deficiency. Turrialba 28 (1): 61-66. 1978.
12. FALEIROS, R.R.S.; MELO, W.J.; CARVALHO, F.; MIRANDA NETO, A.T. Atividade da nitrate reductase e desenvolvimento de mudas de *Coffea arabica* L. (Café). Científica 3 (2): 277-283. 1975.
13. FRIEDRICH, J.W.; SCHRADER, L.E. Nitrate reductase, glutamine synthetase, glutamate dehydrogenases, and chlorophyll in young maize leaf blades as affected by sulfur deficiency. Plant Physiology 59 (6): 127 p. No 692. 1977. (Supplement)
14. HEDLEY, M.J.; NYE, P.H.; WHITE, R.E. Plant induced changes in the rhizosphere of rape (*Brassica napus* var. Emerald) seedlings. II. The origin of the pH change. New Phytologist 91, 31-44. 1982.
15. HENAO, M.C. Dinámica y disponibilidad del magnesio en dos suelos de la zona cafetera central. Santafé de Bogotá. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía. 1995. 180 p. (Tesis: Magister of Science.)
16. HSIAO, T.C.; HAGEMAN, R.H.; TYNER, E.H. Effects of potassium nutrition on protein and total free amino acids in *Zea mays*. Crop Science 10: 78-82. 1970.
17. KIRKBY, E.A.; ARMSTRONG, M.J.; LEGGETT, J.E. Potassium recirculation in tomato plants in relation to potassium supply. Journal of Plant Nutrition 3: 955-966. 1981.
18. MARSHNER, H. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2. Ed. London. Academic Press, 1995. 889 p.
19. MEGURO, N.E.; MAGALHAES, A.C. Atividade da redutase de nitrato em cultivares de café. Pesquisa Agropecuaria Brasileira 17(12): 1725-1731. 1982.
20. MENGEL, K.; KIRKBY, E.A. Principles of Plant Nutrition. 3. ed. Worblaufen-Bern. International Potash Institute, 1982. 655 p.
21. MULDER, E.G.; BOXMA, R.; VAN VEEN, W.L. The effect of molybdenum and nitrogen deficiencies on nitrate reduction in plant tissues. Plant and Soil 10: 335-355. 1959.
22. QUEIROS, C.G.S. Distribuição e regulação da atividade da redutase do nitrato no cafeeiro (*Coffea arabica* L.). Viçosa. Universidade Federal de Viçosa. 1986. 51 p. (Tese de Mestrado).
23. QUEIROS, C.G.S.; ALVES, J.D.; RENA, A.B.; CORDEIRO, A.T. Efeito do cloranfenicol, propanol, pH e temperatura sobre a atividade *in vivo* da redutase do nitrato em cafeeiros jovens. Revista brasileira de Botânica 14: 73-77. 1991.
24. QUEIROS, C.G.S.; RENA, A.B.; CORDEIRO, A.T.; ALVES, J.D. Efeitos da excisão da parte aérea, remoção de folhas e anelamento do caule sobre a atividade da redutase do nitrato nas raízes do cafeeiro. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal 4 (1) 55-57. 1992.
25. QUEIROS, C.G.S.; RENA, A.B.; CORDEIRO, A.T.; ALVES, J.D. Distribuição da atividade da redutase do nitrato no cafeeiro: a importância da raiz. Revista Brasileira de Botânica 16 (1): 31-35. 1993.
26. SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. Fisiologia Vegetal. Versión en español de la obra Plant Physiology, 4. ed. México. Grupo Editorial Iberoamericana, S.A. 1994. 759 p.
27. SAS INSTITUTE INC. SAS/STAT Guide for personal computers. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. Version 6 Ed. 1987. 1028 p.
28. SHAKED, A.; BAR- AKIVA, A. Nitrate reductase activity as an indication of molybdenum level and requirement of citrus plants. Phytochemistry 6: 347-350. 1966.
29. TALEISNIK, E.; BRICEÑO, J.A.; CARVAJAL, J.F. Variación estacional de la reductasa de nitrato en el cafeto. Turrialba 30 (3): 330-336. 1980.
30. TOURAINÉ, B.; GRIGNON, N.; GRIGNON, C. Charge balance in NO₃⁻ fed soybean: Estimation of K⁺ and carboxylate recirculation. Plant Physiology 88: 605-612. 1988.

31. VANBEUSICHEM, M.L.; BAAS, R.; KIRKBY, E.A.; NELEMANS, J.A. Intracellular pH regulation during NO_3^- assimilation in shoot and roots of *Ricinus communis*. *Plant Physiology* 78: 768-773. 1985.
32. VAN BEUSICHEM, M.L.; NELEMANS, J.A.; BIENFAIT, H.F. Interrelationship between trans-plasma membrane electron/proton transfer stoichiometry, organic acid metabolism, and nitrate reduction in dwarf beans (*Phaseolus vulgaris*). *Plant Physiology* 87:269-273. 1988.
33. VAN BEUSICHEM, M.L.; KIRKBY, E.A.; BAAS, R. Influence of nitrate and ammonium nutrition on the uptake assimilation, and distribution of nutrients in *Ricinus communis*. *Plant Physiology* 86: 914-921. 1988b.