



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

Facultade de Ciencias  
Departamento de Biología Animal, Biología Vegetal y Ecología  
Área de Fisiología Vegetal

**Efecto de *Manvert Sulphos*<sup>®</sup> sobre el  
crecimiento de la lechuga**

***Manvert Sulphos*<sup>®</sup> effect on the growth of  
lettuce**

**Efecto de *Manvert Sulphos*<sup>®</sup> sobre o crecemento  
da leituga**

Trabajo de fin de grado presentado por:

**Sara Sánchez Rama**

Dirigido por:

**Dr. Federico Pomar Barbeito y Dña. Alba García Ulloa**

Fecha de defensa:

**19 de Septiembre del 2016**

Curso Académico 2015/2016

## ÍNDICE

<b>RESUMEN .....</b>	<b>2</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>3</b>
El azufre en el suelo .....	3
Captación del azufre en la planta .....	3
Papel del azufre como nutriente.....	3
Déficit de azufre en la planta .....	4
Los fitofortificantes.....	4-5
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>6</b>
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>7</b>
Material vegetal .....	7
Aplicación de <i>Manvert Sulphos</i> <sup>®</sup> .....	7
Evaluación del efecto de <i>Manvert Sulphos</i> <sup>®</sup> en el crecimiento de la lechuga .....	7
Crecimiento vegetativo .....	7
Medida de la actividad fotosintética .....	7-8
Determinación de clorofilas y carotenoides.....	8-9
Determinación de proteínas .....	9
Análisis elemental .....	9-10
Análisis estadístico .....	10
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>11</b>
Evaluación del efecto de <i>Manvert Sulphos</i> <sup>®</sup> en el crecimiento de la lechuga.....	11
Crecimiento vegetativo .....	11-12
Medida de la actividad fotosintética .....	12-16
Determinación de clorofilas y carotenoides.....	16-17
Determinación de proteínas .....	18
Análisis elemental.....	19
<b>5. CONCLUSIONES.....</b>	<b>20</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>21</b>

## **RESUMEN**

En este ensayo se ha evaluado el efecto del producto comercial *Manvert Sulphos*<sup>®</sup> de la empresa BIOVERT S.A., sobre el cultivo de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Manvert Sulphos*<sup>®</sup> es una solución líquida de azufre reducido que se incorpora rápidamente a la estructura proteica de la planta protegiéndola de ataques externos. Este producto está indicado para favorecer el crecimiento vegetativo de la planta y fortalecerla contra condiciones adversas como estrés, ataques de hongos, etc.

Después de realizar su aplicación en la planta, hemos determinado su eficacia estudiando diferentes parámetros: peso fresco, peso seco y peso de cenizas, actividad fotosintética, concentración de pigmentos fotosintéticos, contenido proteico y composición elemental en las plantas. Todos los parámetros citados anteriormente se midieron en plantas tratadas con *Manvert Sulphos*<sup>®</sup> y en plantas control en las que se empleó agua. Se tomaron medidas a dos tiempos tras el tratamiento.

Finalmente, pudimos observar que existían diferencias significativas en el apagamiento no fotoquímico y en la concentración de pigmentos fotosintéticos (clorofila b y carotenoides) en las plantas tratadas tras cuatro días del tratamiento. Además se produjo un aumento en los niveles de azufre en las plantas tratadas tras once días. Con estos resultados podríamos decir que en nuestro ensayo, la aplicación del *Manvert Sulphos*<sup>®</sup> tuvo efecto a corto plazo.

**Palabras Clave:** Azufre, fitofortificante, Manvert, lechuga, crecimiento vegetativo, fotosíntesis

## **SUMMARY**

In this study it has been evaluated the effect of the commercial product of the company BIOVERT S.A., on the culture of plants of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Manvert Sulphos*<sup>®</sup> is a liquid solution of reduced sulfur that joins rapidly to the proteic structure of the plant protecting it from external assaults. This product is indicated to improve the vegetative growth of the plant and to strengthen it against adverse conditions as stress, fungi attacks, etc.

After its application in the plant, we have determined his efficiency studying different parameters: fresh weight, dry weight and weight of ashes, photosynthetic activity, photosynthetic pigments concentration, protein concentration and elementary composition in the plants. All the mentioned parameters were measured in plants treated with *Manvert Sulphos*<sup>®</sup> and in control plants using water. Measurements were made two times after the treatment.

Finally, we could observe that significant differences existed in the not-photochemical quenching and in the concentration of photosynthetic pigments (chlorophyll b and carotenes) in the plants four days after the treatment. In addition, an increase in sulfur levels took place in the plants after eleven days. With these results we might say that in our test, the application of the *Manvert Sulphos*<sup>®</sup> had short-term effect.

**Key words:** Sulfur, phytostrengthenener, Manvert, lettuce, vegetative growth, photosynthesis

# **INTRODUCCIÓN**

## **1. El azufre en el suelo**

Entre los nutrientes más importantes de la planta, el azufre se conoce como uno de los elementos esenciales para el crecimiento, desarrollo y diversas funciones fisiológicas en las plantas (Anjum et *al.*, 2012)

El requerimiento de azufre de las plantas varía con la etapa del desarrollo y con la especie mientras que su concentración varía entre el 0,1 y el 1,5 % de peso seco. (Anjum et *al.*, 2012)

Las fuentes principales de azufre para los suelos las constituyen los sulfatos como yeso y la anhidrita, así como algunos sulfuros tales como piritita, pirofita, esfalerita y calcopiritita. (Abreu, 1974)

El azufre total del suelo indica la reserva de este elemento que puede ser convertida por acción química o bacteriana a las formas más rápidamente aprovechables por las plantas, y su ámbito en la mayoría de los suelos está entre 0,012 y 0,05 por ciento (Beaton y Burns, 1965).

La materia orgánica del suelo y los materiales piroclásticos constituyen las reservas más importantes de este nutrimento, y proporcionan en muchos casos la cantidad suficiente para suplir la necesidad de los cultivos. No obstante, los procesos erosivos, la extracción por cultivos y la lixiviación a través del perfil del suelo han incrementado la posibilidad de encontrar zonas deficientes en este elemento, lo que hace necesario su inclusión en los planes de fertilización (González y Sadeghian, 2006).

## **2. Captación del azufre en la planta**

El azufre es uno de los elementos esenciales en plantas superiores, quienes lo obtienen principalmente del suelo en forma de sulfato, aunque también son capaces de captarlo de la atmósfera, como dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>) (Till, 2010).

El sulfato obtenido del suelo, es donde es transportado hasta las hojas y reducido a sulfito. En las hojas las plantas tienen un sistema de transporte y reducción de azufre muy eficiente, específicamente en los cloroplastos, donde se realiza la reducción del sulfato a la forma de sulfuro (Buchner et *al.*, 2004)

El azufre es absorbido en forma de ion sulfato (S<sup>+6</sup>) y de este modo se transporta en el xilema. El ion sulfato forma parte de la estructura de sulfolípidos y polisacáridos, pero en otros componentes, como aminoácidos, proteínas y coenzimas, el azufre se encuentra en el estado de oxidación (S<sup>-2</sup>). Parte del sulfato absorbido es, por tanto, reducido, proceso que tiene lugar fundamentalmente en los cloroplastos (Guardiola y García Luis, 1990).

El azufre es esencial para la síntesis de aminoácidos como la cisteína y metionina y es constituyente de diversas coenzimas y vitaminas esenciales para el metabolismo. La forma principal de azufre empleado por las plantas es el sulfato, imprescindible para el correcto funcionamiento de numerosas reacciones en el metabolismo de la planta (Gigolashvili y Kopriva, 2015).

## **3. Papel del azufre como nutriente**

La suficiencia de azufre en la planta mantiene la productividad de ésta, al coadyuvar en el uso eficiente de otros nutrimentos esenciales como lo son el N, P y K (Amâncio et *al.*, 2009;

Messick et *al.*, 2005), también mejora la defensa contra el ataque de patógenos (Kruse et *al.*, 2005; Williams et *al.*, 2002) e incluso es importante para mantener la calidad de los cultivos (Till, 2010; Malhi et *al.*, 2005).

Los fertilizantes azufrados comúnmente utilizados en la agricultura incluyen dentro de sus formulaciones S en forma sulfatada o en forma elemental y su efectividad agronómica es determinada con base en la capacidad para suministrar sulfatos aprovechables por las plantas. (González y Sadeghian, 2006)

### **3. Déficit de azufre en la planta**

La falta de azufre en las plantas, ocasiona un desequilibrio a nivel fisiológico, que se ve reflejado a nivel agronómico (Malhi et *al.*, 2005; Soaud et *al.*, 2011).

Algunos de los síntomas provocados por la deficiencia de azufre son la clorosis, la acumulación de antocianina o la atrofia del crecimiento. Esto se debe a que es uno de los constituyentes principales de las proteínas (Taiz y Zeiger, 2002).

La deficiencia de azufre es la responsable del descenso del contenido en clorofila, con la consiguiente aparición de clorosis, porque este elemento químico forma parte una enzima clave para la síntesis de este pigmento. Por ello, si no se encuentra en las concentraciones adecuadas observaremos una disminución de esta ruta metabólica y de igual modo, detectaremos pérdidas en la eficiencia fotosintética (Terry, 1976; Song et *al.*, 2013).

## **2. Los fitofortificantes**

### *Concepto*

Los fitofortificantes son compuestos elaborados a partir de sustancias naturales como bacterias, hongos, virus o minerales. Se trata de productos no fitosanitarios que ayudan a que los cultivos se vuelvan más vigorosos y posean resistencia frente a patógenos. La protección frente a los organismos nocivos la llevan a cabo mediante la activación de las defensas de la planta (AEFA, 2016).

### *Mecanismo de acción*

Los fitofortificantes en plantas proporcionan protección a la vez que no suponen ningún riesgo para la supervivencia de las mismas. Poseen una elevada eficacia porque estimulan la resistencia y los mecanismos de defensa de la planta.

Otras funciones que poseen este tipo de productos son las siguientes:

- Protegen a la planta frente a situaciones de estrés.
- Activan las defensas naturales de la planta: interactúan con la planta, desencadenando en ella respuestas de defensa.
- Crean barreras físicas y biológicas frente a patógenos.
- Desarrollan la resistencia inducida en los vegetales.

Son efectivos si se aplican antes de que haya ocurrido la infección de la planta, es decir, se emplean como tratamientos preventivos, por lo que no son efectivos como medio de control de una plaga o enfermedad cuando la planta ya se encuentra afectada (AEFA, 2016).

*Fitofortificante empleado en este ensayo: Manvert Sulphos®*

Este producto es una solución líquida de azufre reducido que se incorpora rápidamente a la estructura proteica de la planta protegiéndola de ataques externos. Dentro de sus características, cabe destacar que es un compuesto nitrogenado con elevado contenido de azufre reducido indicado para favorecer el crecimiento vegetativo de la planta y fortalecerla contra condiciones adversas como estrés, ataques de hongos, etc. (Manvert croptology, 2016).

*Manvert Sulphos®* (Figura 1) es una excelente fuente de nitrógeno amoniacal, fácilmente absorbible por la planta, que contribuye a la formación de aminoácidos, ácidos nucleicos, clorofila y hormonas del crecimiento. Facilita la síntesis de aminoácidos, especialmente aquellos que contienen grupos funcionales tipo tiol, como metionina y cisteína, así como facilita la biosíntesis del ácido glutámico.

Posee una doble función: nutricional y fungistática.

Mejora la absorción del manganeso disponible en el suelo y es compatible con la mayoría de pesticidas utilizados habitualmente.

Este producto se puede aplicar tanto por vía foliar como por vía radicular en cualquier momento del ciclo de la planta. Tiene la gran ventaja de ser compatible con cualquier otro fertilizante.



**Figura 1:** Envase de *Manvert Sulphos®*, fitofortificante con elevado contenido de azufre reducido

## **OBJETIVOS**

En este estudio pretendemos evaluar si el producto *Manvert Sulphos*<sup>®</sup> es eficaz en su papel como fitofortificante de la lechuga (*L. sativa*). Los parámetros que vamos a evaluar son los siguientes:

- Crecimiento vegetativo: peso fresco, peso seco y peso de cenizas.
- Tasa fotosintética de la planta
- Contenido en clorofilas y carotenoides
- Contenido en proteínas
- Composición elemental

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **1. Material vegetal**

Para realizar los ensayos de laboratorio se emplearon semillas de lechuga (*L. sativa*) *Attrazione* (*Vilmorin*) que sembramos en pocillos con una mezcla de *Vermiculita Projar n°2* ( $\text{SiO}_2$  39,5%,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  12%,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  y  $\text{FeO}$  7%,  $\text{TiO}_2$  1%,  $\text{MgO}$  23%,  $\text{CaO}$  1,5%,  $\text{K}_2\text{O}$  2%, agua libre o combinada 12%) y turba (TOPF Substrat, mezcla de turbas de diferentes grados de descomposición con fertilizante NPK) en una proporción 1:2.

Para favorecer el crecimiento de las plantas, éstas se mantuvieron en una cámara de cultivo con unas condiciones concretas: 16 horas de luz a una temperatura de 25°C y 8 horas de oscuridad a una temperatura de 18°C. Se regaron diariamente para mantener un estado hídrico óptimo.

### **2. Aplicación de *Manvert Sulphos*<sup>®</sup>**

Transcurridos 20 días tras la siembra se aplicó *Manvert Sulphos*<sup>®</sup> por pulverización a una concentración de 3 mL/L. Se utilizaron 100 mL de esta solución para pulverizar las plantas tratadas, mientras que las plantas control fueron únicamente pulverizadas con 100 mL de agua. La composición del *Manvert Sulphos*<sup>®</sup> puede consultarse en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Composición del producto comercial *Manvert Sulphos*<sup>®</sup>

	<b>%p/p</b>	<b>%p/v</b>
<b>Nitrógeno total (N)</b>	9,0	12,6
<b>Nitrógeno amoniacal (N)</b>	9,0	12,6
<b>Azufre (<math>\text{SO}_3</math>)</b>	48,0	67,0
<b>Óxido de Potasio (<math>\text{K}_2\text{O}</math>) soluble en agua</b>	5,0	7,0

### **3. Determinación del crecimiento vegetativo**

A los cuatro y once días después de la aplicación del producto se recogieron seis plantas de cada tratamiento y se determinó su peso fresco (PF). Se hizo un lavado con agua destilada para retirar posibles restos del producto adheridos a la superficie foliar y se introdujeron en la estufa a 65°C durante 48 horas para poder calcular el peso seco (PS). Tras obtener estos datos, se trituraron las hojas en un mortero y se introdujeron en una mufla a 550°C durante dos días para obtener las cenizas, que finalmente fueron pesadas.

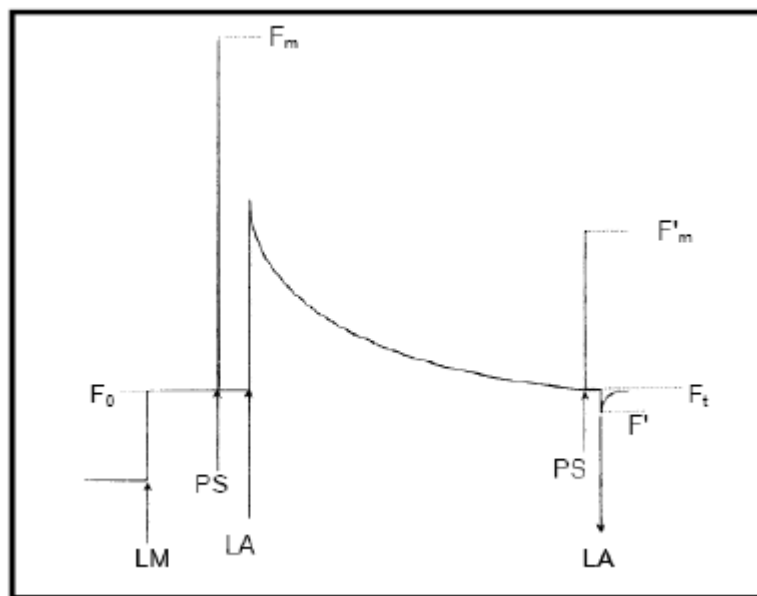
### **4. Medida de la actividad fotosintética**

Para evaluar el efecto del tratamiento sobre la fotosíntesis se realizó un estudio del comportamiento de las fluorescencias de las clorofilas.

Para ello, y al igual que en las determinaciones anteriores se analizaron las muestras a dos tiempos (a los cuatro y once días tras aplicar el tratamiento). Las plantas permanecieron el día anterior a la medición en oscuridad. Las hojas de estas plantas se introdujeron en el fluorímetro *PAM-210* (*Walz*) y se expusieron a diferentes intensidades de radiación incidente (PAR), de acuerdo con el siguiente esquema experimental (Figura 2).



- Inicialmente se encendía una luz de fondo o de medida (LM), lo que proporcionaba el valor de fluorescencia mínimo en hojas adaptadas a oscuridad ( $F_0$ ).
- A continuación se aplicaba un pulso de saturación corto e intenso (PS) que provocó que los fotosistemas devolvieran la fluorescencia máxima en hojas adaptadas a la oscuridad ( $F_m$ )
- Seguidamente, se aplicó una luz actínica (LA) que imita a la luz solar. Al principio la fluorescencia alcanzaba un pico pero a medida que los fotosistemas se adaptaron, su valor disminuía.
- Tras un tiempo fijo de 15 segundos se estimulaba la hoja con un nuevo pulso de saturación (PS), lo que permitía determinar la fluorescencia máxima en hojas adaptadas a la luz ( $F'_m$ ).
- Por último, apagábamos la luz actínica y aplicamos luz roja lejana para drenar los fotosistemas. Así obtuvimos la fluorescencia mínima en hojas adaptadas a la luz ( $F_0'$ ).



**Figura 2:** Esquema del ciclo de intensidades de luz aplicadas en el experimento y los parámetros de fluorescencia que se obtienen en cada caso

A partir de los parámetros de fluorescencia así obtenidos, se pueden calcular tres parámetros directamente relacionados con la fotosíntesis, a través de las siguientes ecuaciones (George et al., 2010):

- Rendimiento cuántico del fotosistema II ( $\Phi_{PSII} = (F'_m - F_t) / F'_m$ ), que es indicativo del porcentaje de la luz absorbida que es utilizado para fotoquímica.
- Tasa de transporte de electrones ( $ETR = \Phi_{PSII} \times PAR \times F \times A$ ), que refleja el número de electrones por unidad de tiempo que se incorporan al NADP al final de la cadena de transporte electrónico.
- Apagamiento no fotoquímico ( $qN = (F_m - F'_m) / (F_m - F_0)$ ), que es proporcional a la disipación de energía en forma de calor.

## 5. Determinación de clorofilas y carotenoides

Para la cuantificación de clorofilas, también a los cuatro y once días tras la aplicación del producto, se recogieron las hojas de 3 plantas de cada tratamiento y se pesaron.

Las hojas se homogenizaron en un mortero con acetona al 80% en una proporción peso:volumen de 1:10 y se filtraron a través de un embudo Büchner con papel de filtro. Para facilitar el filtrado, el matraz Kitasato estaba conectado a una bomba de vacío. Una vez finalizado el filtrado, se midió el volumen resultante en una probeta.

Por último, se determinaron las absorbancias de las muestras a diferentes longitudes de onda (460, 645 y 663 nm) usando un espectofotómetro Thermo Helios.

La cuantificación de las clorofilas y carotenoides, se obtuvo al aplicar a estos valores de absorbancia las siguientes ecuaciones (Lichtenthaler, 1987):

$$\text{Concentración de clorofila a (g/l)} = 0.0127 (\text{Abs}_{663}) - 0.00269 (\text{Abs}_{645})$$

$$\text{Concentración de clorofila b (g/l)} = 0.0229 (\text{Abs}_{645}) - 0.00468 (\text{Abs}_{663})$$

$$\text{Carotenoides} = \frac{\text{Abs}_{460} [ (\text{clorofila a}) \cdot 3,69 + ((\text{clorofila b}) \cdot 130,3)]}{200}$$

## 6. Determinación de proteínas

Para la determinación del contenido en proteínas, se recogieron tres plantas de cada bandeja a los cuatro y once días de aplicar el tratamiento. Tras determinar su peso, las hojas se homogenizaron con tampón Tris HCl 50 mM pH 7,5 en proporción (1:4) peso:volumen. A continuación las muestras se centrifugaron en una centrífuga refrigerada Eppendorf 5810R durante 30 minutos a 4°C y tras finalizar ese tiempo se recogió el sobrenadante.

Para determinar las absorbancias de las muestras, se retiraron 50 µl del sobrenadante y se depositaron en tubos eppendorf. Posteriormente se añadieron 450 µl de agua destilada y 500 µl de reactivo de *Bradford*. Para el blanco empleamos 500 µl de agua y 500 µl de reactivo de *Bradford*.

Tras incubar las muestras 30 minutos en la oscuridad se procedió a medir la absorbancia a una longitud de onda de 590 nm.

Paralelamente, y para poder calcular el contenido de proteínas elaboramos una recta de calibrado con distintas concentraciones de seroalbúmina bovina (BSA) que se ajustó a la ecuación:

$$y = 22,965x + 0,1371$$

$$R^2 = 0,88$$

El valor “y” corresponde a la absorbancia y el valor “x” a los mg de proteína.

## 7. Análisis elemental

El análisis del contenido de C, H, N, S se llevó a cabo en los Servicios de Apoyo a la Investigación (SAI) de la Universidad de A Coruña, en el Campus de Elviña mediante un analizador elemental de combustión (FlashEA1112, *ThermoFinnigan*).

Las cenizas obtenidas por carbonización en la mufla se pesaron en una balanza (*MX5, Mettler Toledo*) en una cápsula de estaño para analizarse mediante combustión instantánea en un tubo de cuarzo relleno de WO<sub>3</sub> y cobre, mantenido a 1020 °C. Tras la combustión de la

muestra, los gases generados fueron transportados por una corriente de helio a través del  $WO_3$  donde se completa la oxidación y, a continuación, a través del cobre donde se redujeron los óxidos de nitrógeno a  $N_2$ , los óxidos de azufre a  $SO_2$ , y se retuvo el exceso de oxígeno. Posteriormente la mezcla de gases generada ( $N_2$ ,  $CO_2$ ,  $H_2O$  y  $SO_2$ ) pasó a una columna donde sus componentes se separaron cromatográficamente (columna *Porapak 2 m*) y finalmente se detectaron en un detector de conductividad térmica. Las señales resultantes se procesaron con el software para obtener los porcentajes elementales.

### **8. Análisis estadístico**

El análisis estadístico se realizó mediante Microsoft Excel 2013, empleando un T-test de comparación de medias de dos colas, de muestras apareadas. La representación de los resultados se proporcionó como una media de las réplicas empleadas y una desviación estándar (SD).

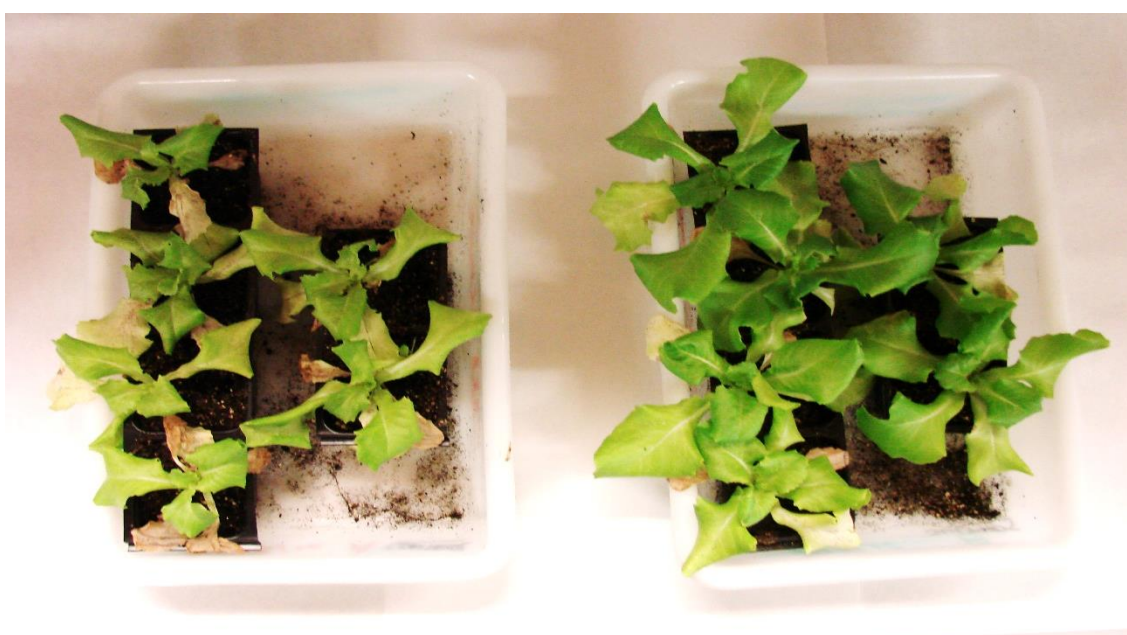
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 1. DESARROLLO VEGETATIVO

#### 1.1 Evaluación de los efectos externos

Desde la aplicación del tratamiento con *Manvert Sulphos*<sup>®</sup> a las plántulas de lechuga (*L. sativa*) se les realizó un seguimiento a lo largo de los 11 días que se mantuvieron en una cámara de cultivo.

A los once días se observaban diferencias notables entre las plántulas control y las tratadas (a las que se les aplicó el fitofortificante). Las plántulas tratadas presentaban mayor tamaño y un color más intenso, mientras que en las control se observaba un menor tamaño y alguna hoja clorótica (Figura 3). No obstante, esta diferencia no fue tan evidente en todas las réplicas.



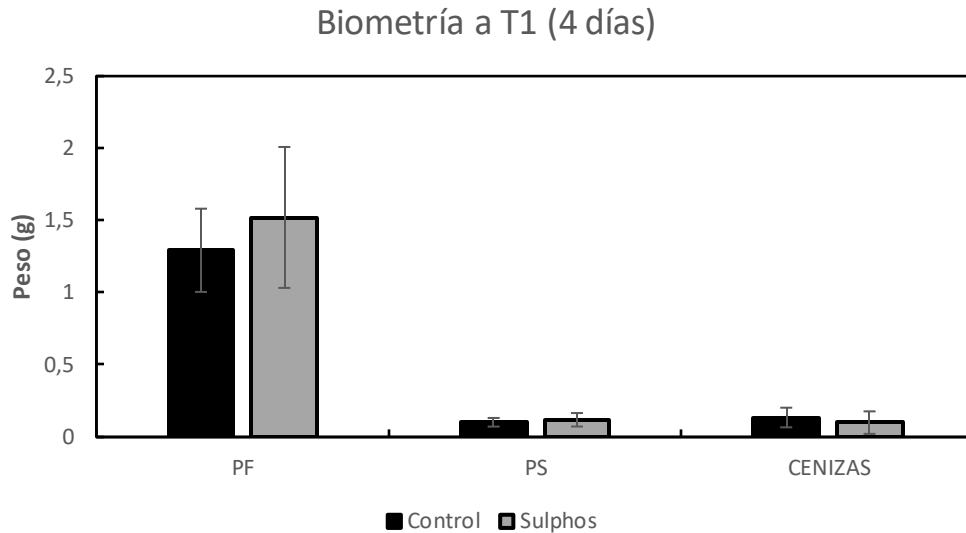
**Figura 3:** Plántulas de lechuga once días después de haber realizado el tratamiento con *Manvert Sulphos*<sup>®</sup>. A la **izquierda** las plántulas control. A la **derecha** las plántulas tratadas con el fitofortificante.

#### 1.2 Peso fresco, peso seco y peso de cenizas

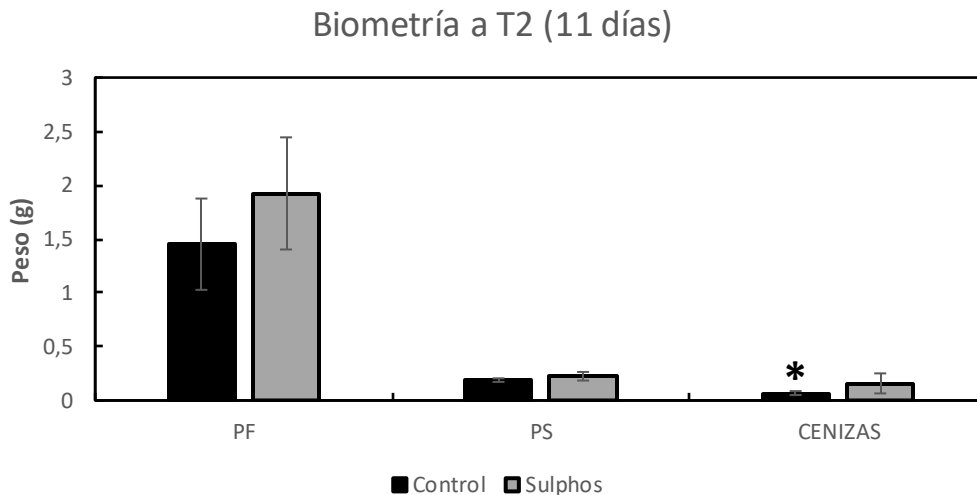
Los valores de peso fresco (PF), peso seco (PS) y peso de cenizas fueron superiores en las plantas tratadas con *Sulphos* que en las control, con la salvedad del peso de las cenizas en las plantas de cuatro días, en las que se invierte la tendencia (Figuras 4 y 5). No obstante, solo se encontraron diferencias significativas en el caso del peso de cenizas a los once días. Este parámetro tuvo un valor mayor para las plantas tratadas con *Sulphos* que en las control. Esto sugiere que, aunque el producto podría tener un efecto sobre el contenido de la planta en los distintos nutrientes, aumentándolo, este no es suficiente como para que la planta crezca más y, por ello, no se encuentran diferencias significativas en peso fresco y peso seco.

Esto se debe a que el azufre es un elemento esencial para el desarrollo y crecimiento de la planta, y al aplicarlo de forma exógena, aumenta el metabolismo de la planta y la síntesis de diferentes compuestos que provocan un aumento en el tamaño de la planta (Anjum et al., 2011).

La tendencia observada en nuestro ensayo (peso mayor en las plantas tratadas, aunque no estadísticamente significativo) se asemeja a los resultados obtenidos por otros autores que observaban un incremento del peso seco de plantas de pacana fertilizadas (Sparks et al., 1991) al igual que ocurría con la soja (Ferraris et al., 1998) y en el trigo (Tysko y Rodríguez, 2006).



**Figura 4:** Determinación de peso fresco (PF), peso seco (PS) y peso de cenizas a los cuatro días de aplicar el tratamiento.



**Figura 5:** Determinación de peso fresco (PF), peso seco (PS) y peso de cenizas a los once días de aplicar el tratamiento. (\*) Indica diferencias significativas entre las plantas control y el tratamiento.

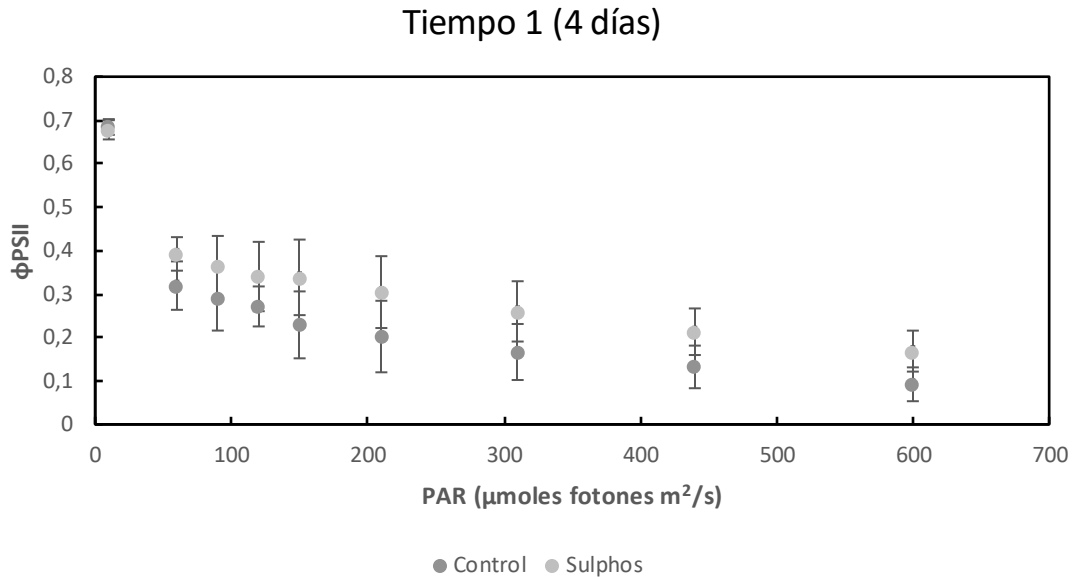
## 2. MEDIDA DE LA ACTIVIDAD FOTOSINTÉTICA

El rendimiento cuántico del fotosistema II mide la proporción de luz absorbida por la clorofila asociada al fotosistema II y que se emplea en procesos fotoquímicos.

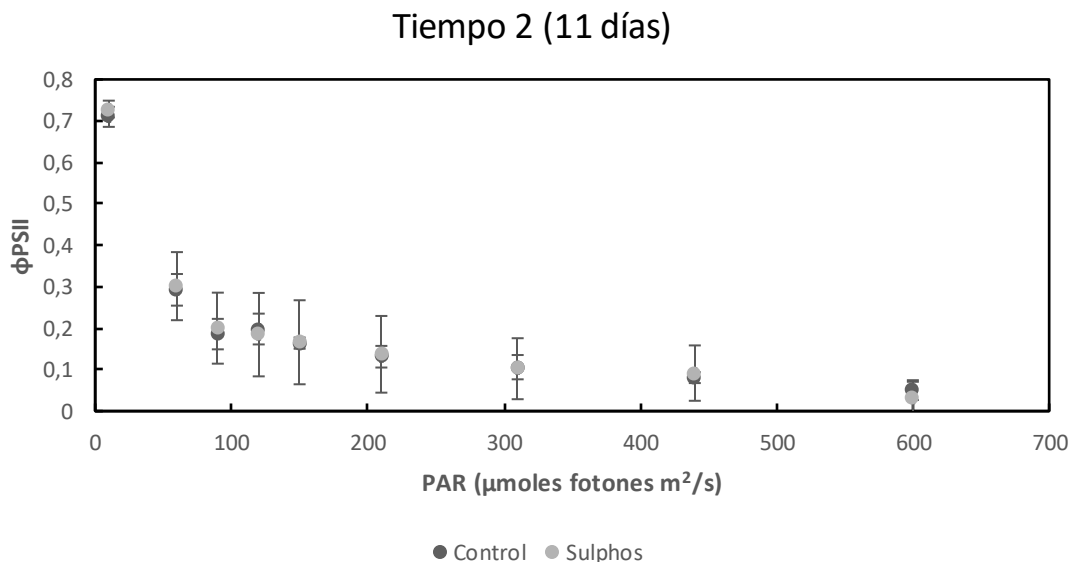
Al enfrentar el rendimiento cuántico del fotosistema II frente a PAR se observó que a tiempo 1 (cuatro días) menos la primera PAR, el rendimiento siempre es mayor en *Sulphos* que en las

control (Figura 6). En cambio, a los once días de tratamiento (tiempo 2) (Figura 7) no se observa ninguna tendencia clara.

Como se citó anteriormente, al enfrentar el rendimiento cuántico del fotosistema II frente a PAR observamos que dicho rendimiento es menor en las plantas control. Esta disminución se podría deber a procesos de fotoinhibición, un aumento de la presión de excitación, a un disminución de la fijación de CO<sub>2</sub>...



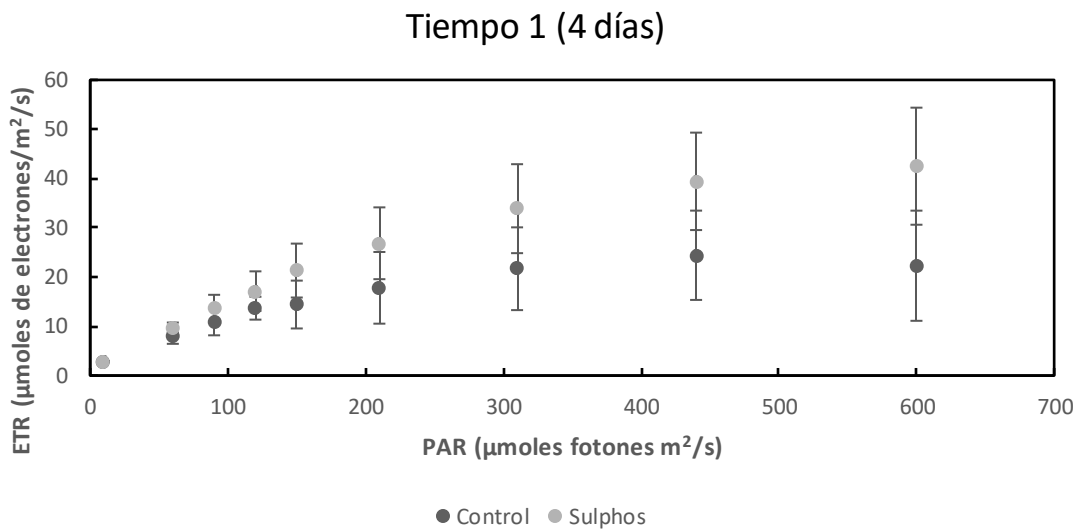
**Figura 6:** Valores de rendimiento cuántico del fotosistema II frente a diferentes intensidades de radiación fotosintéticamente activa (PAR) en plantas control y tratadas con *Manvert Sulphos*<sup>®</sup> cuatro días después del tratamiento.



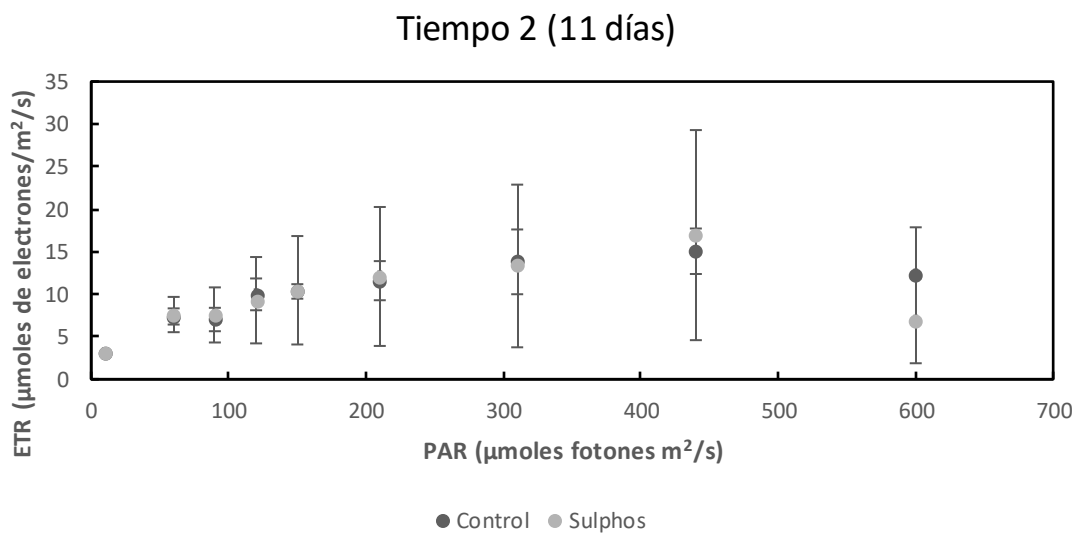
**Figura 7:** Valores de rendimiento cuántico del fotosistema II frente a diferentes intensidades de radiación fotosintéticamente activa en plantas control y tratadas con *Manvert Sulphos*<sup>®</sup> once días después del tratamiento.

Toda la energía que recibió la planta no fue empleada en la emisión de fluorescencia, sino que una parte fue reflejada, otra transmitida y otra absorbida. De esta última, el porcentaje destinado a la transferencia de electrones fue mayor en las plantas de cuatro días (Figura 8) que tras once días (Figuras 9 y 10). Se observó que este descenso en las plantas de once días no se compensa con la energía que se disipa como calor, ya que no se observó un aumento el *quenching* no fotoquímico (Figuras 11 y 12).

Pudimos observar que la tasa de transferencia de electrones aumentó en las plantas tratadas con respecto al control (Figuras 6 y 7). Esto se puede explicar porque el azufre forma parte de la estructura de los transportadores que participan en esta vía como es el caso de la ferredoxina (Taiz y Zeiger, 2002).



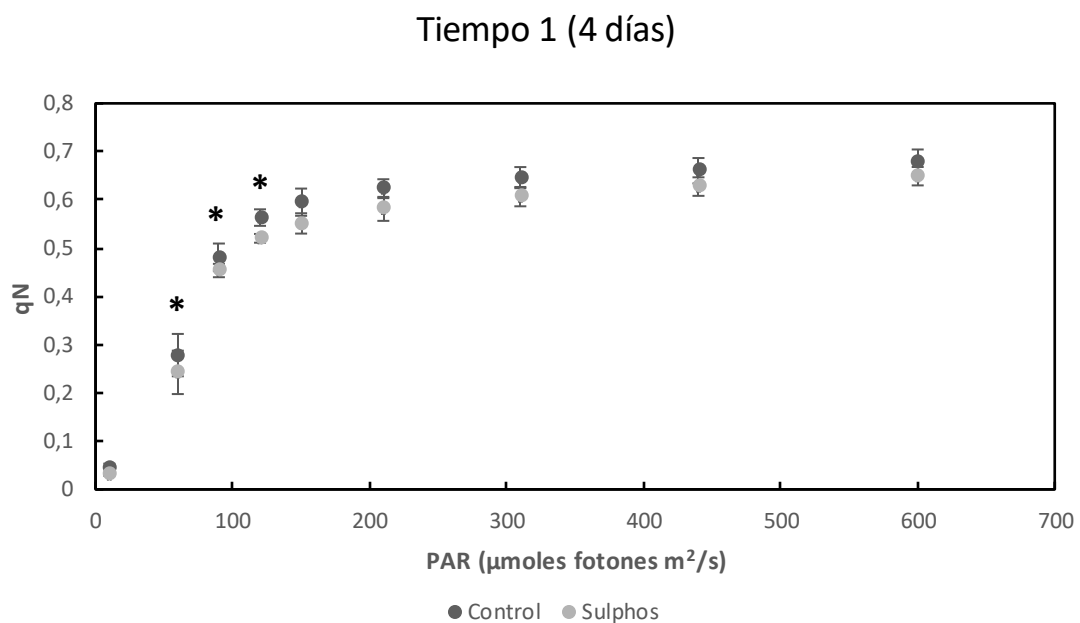
**Figura 8:** Valores de la tasa de transferencia de electrones (ETR) frente a diferentes intensidades de radiación fotosintéticamente activa (PAR) en plantas control y tratadas con *Manvert Sulphos*<sup>®</sup> cuatro días después de realizar el tratamiento.



**Figura 9:** Valores de la tasa de transferencia de electrones (ETR) frente a diferentes intensidades de radiación fotosintéticamente activa (PAR) en plantas control y tratadas con *Manvert Sulphos*<sup>®</sup> once días después de realizar el tratamiento.

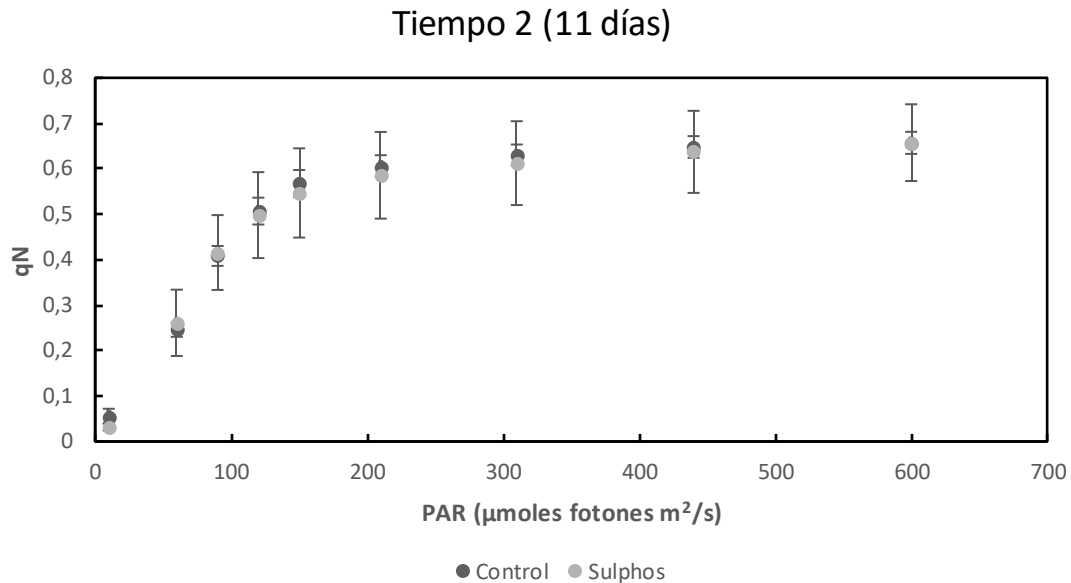
Al enfrentar los valores de apagamiento no fotoquímico (qN) frente a PAR se observó que el apagamiento no fotoquímico fue mayor en las plantas control que en las tratadas a medida que aumentaba la radiación fotosintéticamente activa (Figura 10). Sin embargo, en el segundo tiempo (once días), observamos que qN fue mayor en las plantas tratadas con *Manvert Sulphos*<sup>®</sup> que en las plantas control a niveles bajos de radiación fotosintéticamente activa y que disminuyó a medida que la PAR aumentaba (Figura 11). Existen diferencias significativas entre las plantas control y las plantas tratadas a tiempo 1 (cuatro días) en los niveles de intensidad más bajos de PAR (60, 90 y 120  $\mu\text{moles fotones m}^2/\text{s}$ )

Que las plantas control tengan un apagamiento fotoquímico más elevado se puede explicar porque no tienen tanto azufre, que es necesario para la síntesis de los pigmentos fotosintéticos (carotenoides y clorofilas) que destinan su energía a la ETR y a la emisión de fluorescencia respectivamente.



**Figura 10:** Valores qN (apagamiento no fotoquímico) frente a diferentes intensidades de PAR (radiación fotosintéticamente activa) de plantas control y tratadas con *Manvert Sulphos*<sup>®</sup> cuatro días después de realizar el tratamiento. (\*) Indica diferencias significativas entre las plantas tratadas y las control.





**Figura 11:** Valores qN (apagamiento no fotoquímico) frente a diferentes intensidades de PAR (radiación fotosintéticamente activa) de plantas control y tratadas con *Manvert Sulphos*® once días después de realizar el tratamiento.

### 3. DETERMINACIÓN DE CLOROFILAS Y CAROTENOIDES

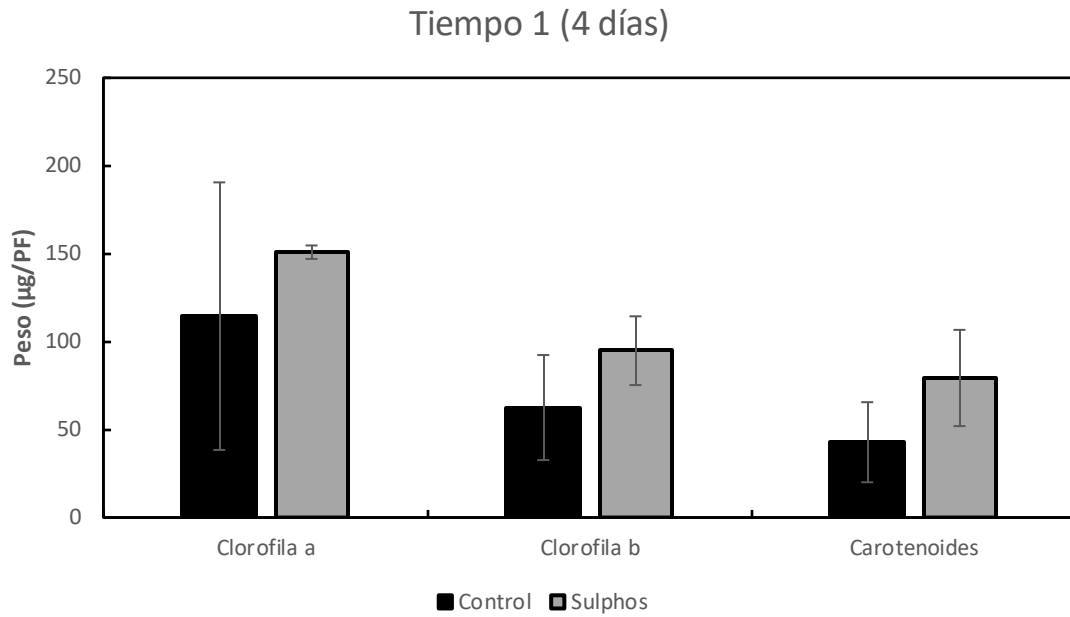
Al comparar las plantas control con las tratadas pudimos observar tanto a tiempo 1 (Figura 13) como a tiempo 2 (Figura 14) que el contenido en pigmentos fotosintéticos fue mayor en las plantas a las que se les aplicó el tratamiento que a las plantas control. El contenido de clorofila a fue superior al de clorofila b, que a su vez fue superior al de carotenoides.

Además existen diferencias significativas en el contenido en clorofila b y carotenoides de las plantas tratadas y control a tiempo 2 (once días).

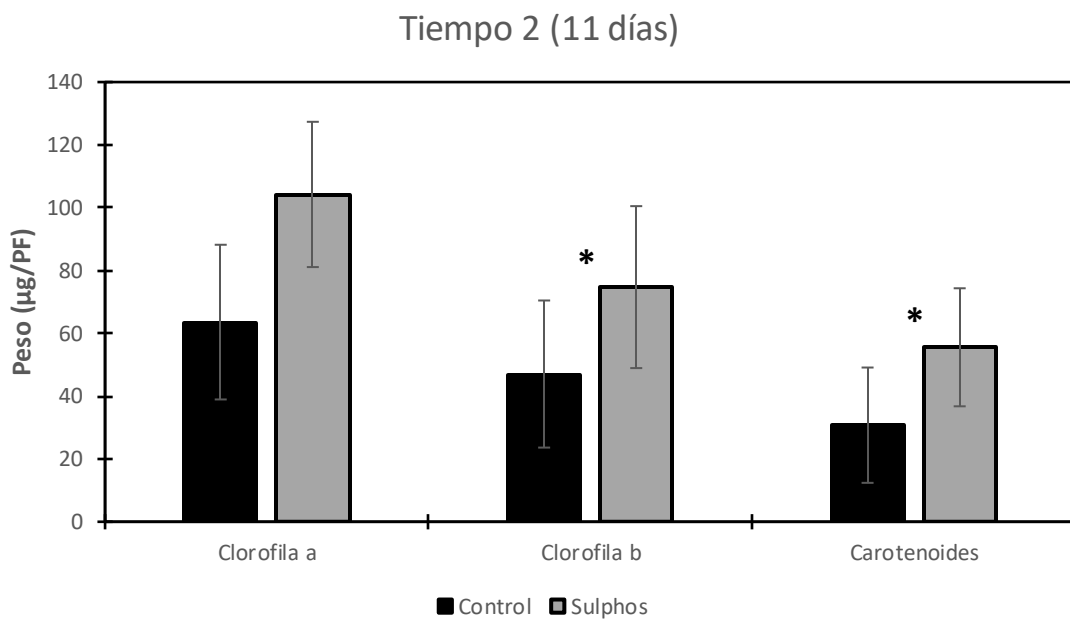
Se observa que los resultados se mantienen en las 3 réplicas, la tendencia a que es mayor el contenido en clorofilas en las tratadas que en las control, pero sí se observa una variación considerable entre experimentos. Al hacer la media la desviación es grande, por lo que el problema puede estar al cuantificar clorofilas o algún otro factor.

En plantas con exceso de azufre hay un descenso de la tasa fotosintética porque este elemento químico se une con el hierro del cloroplasto en forma de ferredoxinas y citocromos e inactiva a estos transportadores inhibiendo la fotosíntesis (Malhotra y Hocking, 1976).

El azufre es necesario para la síntesis de clorofila, ya que forma parte del complejo enzimático que la sintetiza. La deficiencia de azufre afecta de forma acusada a la fotosíntesis, de forma que aunque se añada de forma exógena, la eficiencia fotosintética tiene una recuperación muy lenta y sólo recupera su nivel al sintetizar nuevas proteínas y clorofilas.



**Figura 13:** Cuantificación de los diferentes tipos de pigmentos fotosintéticos cuatro días después de realizar el tratamiento.

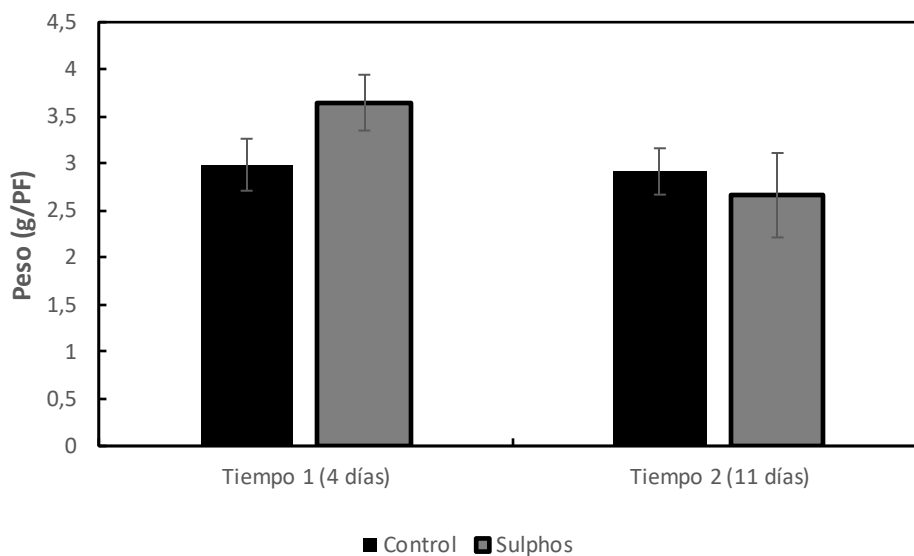


**Figura 14:** Cuantificación de los diferentes tipos de pigmentos fotosintéticos once días después de realizar el tratamiento. (\*) Indica diferencias significativas entre las plantas tratadas y las control.

#### 4. DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS

El azufre es un elemento químico esencial para la biosíntesis de proteínas, ya que fortalece el enlace peptídico entre sus residuos de metionina y cisteína.

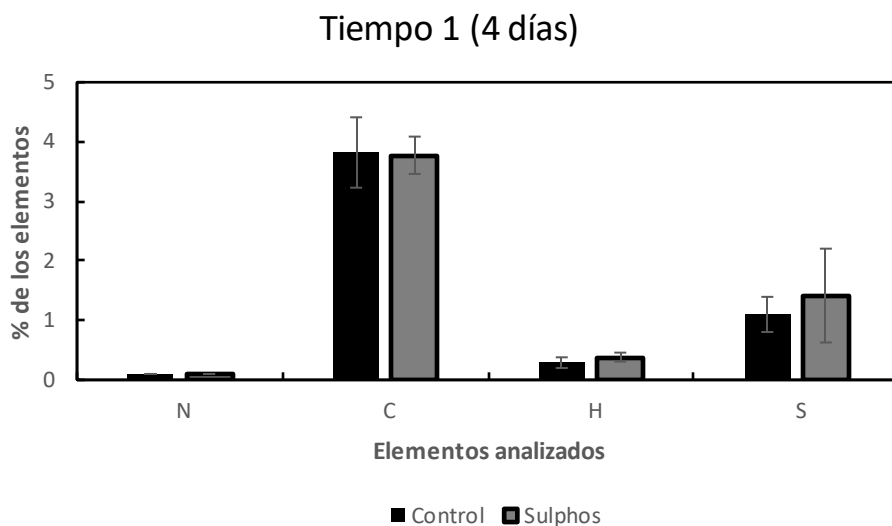
Se observó (Figura 12) que en ninguno de los casos evaluados encontramos diferencias significativas. A tiempo a cuatro días tras el tratamiento las plantas control poseían menos contenido de proteínas que las plantas tratadas, pero a tiempo 2 ocurrió a la inversa, y el contenido proteico fue mayor en las plantas control.



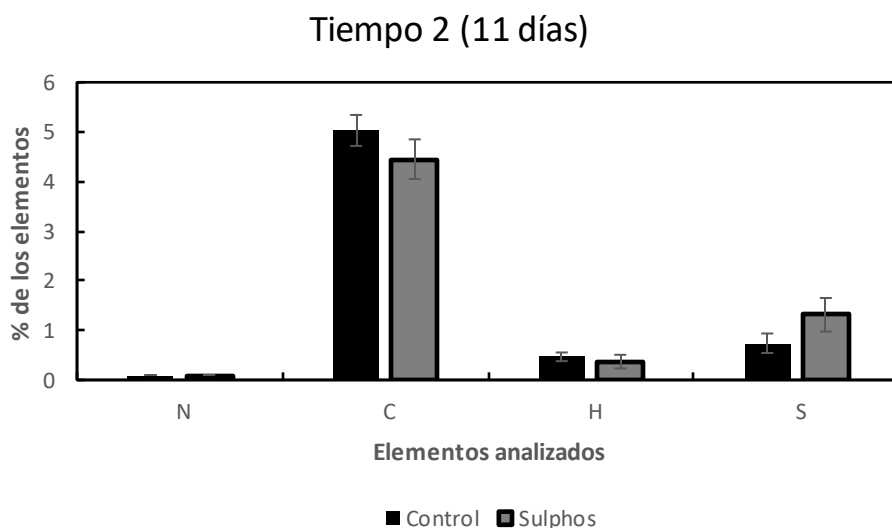
**Figura 12:** Cuantificación de proteínas a los cuatro y once días de haber realizado el tratamiento con *Manvert Sulphos*.

## 5. ANÁLISIS ELEMENTAL

El contenido en nitrógeno tanto en las muestras de control como en las tratadas a cuatro y once días fue menor al 1% y el contenido en carbono e hidrógeno fue ligeramente superior en las plantas control que en las de tratamiento, pero en ningún caso se encontraron diferencias significativas. En cambio, el contenido en azufre aumentó en las plantas tratadas con *Manvert Sulphos*<sup>®</sup>, ya que este posee un elevado contenido en azufre que se añade de forma exógena y que es captada por la planta. El contenido en azufre es levemente superior a tiempo 1 (cuatro días) que a tiempo 2 (once días) (Figuras 16 y 17).



**Figura 16:** Cuantificación de diferentes elementos químicos en la composición de las plantas tratadas y las control 4 días después de realizar el tratamiento.



**Figura 17:** Cuantificación de diferentes elementos químicos en la composición de las plantas tratadas y las control 11 días después de realizar el tratamiento.

## CONCLUSIONES

La aplicación de *Manvert Sulphos*<sup>®</sup> no favoreció el crecimiento vegetativo, ya que la tasa fotosintética tampoco aumentó ni se sintetizó un mayor número de macromoléculas.

Se produjo una síntesis mayor de pigmentos fotosintéticos (clorofila b y carotenoides) pero esto no se tradujo en un aumento de la fotosíntesis.

El análisis elemental nos muestra que el azufre no tiene influencia sobre el contenido de hidrógeno, carbono y nitrógeno, pero si provocó un aumento del contenido de azufre, ya que el fitofortificante que se aplicó a la planta se lo proporciona de forma exógena.

Por último, la tendencia observada en nuestros resultados fue que todos los parámetros medidos aumentaron en las plantas tratadas de cuatro días, lo que nos puede indicar que *Manvert Sulphos*<sup>®</sup> tiene efecto a corto plazo.

## CONCLUSIONS

*Manvert Sulphos*<sup>®</sup>'s application did not favored the vegetative growth, since neither the photosynthetic rate increased either a major number of macromolecules nor was synthesized.

There took place a major synthesis of photosynthetic pigments (chlorophyll b and carotenes) but this was not translated in an increase of the photosynthesis.

The elementary analysis shows us that the sulfur does not have influence on the content of hydrogen, carbon and nitrogen, but if it provoked an increase of the content of sulfur, since the phytostrengthener that was applied to the plant provides it to it in an exogenous way.

Finally, the trend observed in our results was that all the measured parameters increased in the plants treated about four days, which can indicate us that *Manvert Sulphos*<sup>®</sup> has short-term effect.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- Abreu, P.A. (1974)**, Evaluación del azufre disponible en algunos suelos agrícolas de Costa Rica. *Tesis de Grado de Magister Scientiae*, 1-68
- Amâncio S., Tavares S., Fernandes J.C., Sousa C. (2009)**, Grapevine and sulfur: old partners, new achievement. *Molecular Physiology & Biotechnology of the Grapevine*, 2: 31-52
- Anjum, N. A., Gill, S. S., Umar, S., Ahmad, I., Duarte, A. C., & Pereira, E. (2012)**. Improving Growth and Productivity of Oleiferous Brassicas under Changing Environment: Significance of Nitrogen and Sulphur Nutrition, and Underlying Mechanisms. *The Scientific World Journal*, 12: 1-4
- Beaton, J. & Burns, G. (1965)**, Determination of sulphur in soils and plant material. *Washington, Sulphur Institute, Technical Bulletin nº 11*, 16
- Buchner P., Stuiver, E., Westerman, S., Wirtz, M., Hell, R., Hawskerford, M. y De Kok, L. (2004)**, Regulation of sulfate uptake and expression of sulfate transporter genes in *Brassica oleracea* as affected by atmospheric H<sub>2</sub>S and pedospheric sulfate nutrition. *Plant Physiology*, 136: 3396-3408
- Ferraris, G., Boem, G. F., & Echevarría, H. (1998)**, Respuesta a la fertilización en el cultivo de soja de Primera. *Proyecto Fertilizar-INTA de investigación, desarrollo e innovación de Aragón (IDIA)*, 21: 52-58.
- George C.P. & Govindjee (Eds.) (2010)**, Chlorophyll a Fluorescence: A signature of Photosynthesis, *University of Illinois*, 19: 430-443.
- Gigolashvili, T., & Kopriva, S. (2014)**, Transporters in plant sulfur metabolism. *Frontiers in Plant Science*, 5: 442
- González O. H., & Sadeghian K.H. (2006)**, Efecto de corto plazo de distintas fuentes de azufre sobre la acidez y la disponibilidad de este elemento en la zona radical del café (*Coffea arabica* L.). *Cenicafé*, 57(2): 132-145.
- Guardiola, J.L. & García Luis, A. (1990)**, Fisiología Vegetal I: Nutrición y Transporte. *Ciencias de la vida*, 2: 216-217
- Kruse, C., Jost, R., Hillebrand, H. & Hell, R. (2005)**, Sulfur rich proteins and their agrobiotechnological potential for resistance to plant pathogens. *FAL-Agric*, 283: 73-80
- Lichtenthaler H. K. (1987)** Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic membranes, *Method Enzymol.*, 148: 350–382.
- Malhi, S. S., Schoenau, J. J. & Grant, C. A. (2005)**, A review of sulphur fertilizer management for optimum yield and quality of canola in the Canadian Great Plains. *Canadian Journal of Plant Science*, 85: 297-307
- Malhotra, S. S & Hockin, D. (1976)**, Biochemical and cytological effects of sulphur dioxide on plant metabolism. *New Phytologist*, 76: 227-237.
- Messick, D. L., Fan, M.X. & Brey, C. (2005)**, Global sulfur requirement and sulfur fertilizer. *FAL-Agric*, 283: 97-104

**Soaud, A.A., Al Darwish, F.H., Saleh, M.E., El-Tarabily, K.A., Arizum, M.S. & Rahman, M.M. (2011)**, Effects of elemental sulfur, phosphorous micronutrients and *Paraccocus versutus* on nutrient availability of calcareous soils. *Australian Journal of Crop Science*, 5(5): 554-561

**Song, R., Zhao, Y. C., Liu, J., Zhang, J., Du, X. Y., Li, Z. J., Sun, Z.H., Zhao, B.H., & Zhao, Z.Q. (2013)**, Effect of sulphate nutrition on arsenic translocation and photosynthesis of rice seedlings. *Plant Physiology*, 35: 3237–3243

**Sparks, D., Hu, H., & Evans, J. J. (1991)**, Sulfur deficiency influences vegetative growth, chlorophyll and element concentrations, and amino acids of pecan. *Department of Horticulture, University of Georgia*, 116(6): 974-980

**Taiz, L. & Zeiger, E. (2002)**, Plant Physiology. *Sunderland: Sinauer*, 92-111

**Terry, N. (1976)**, Effects of sulfur on the photosynthesis of intact leaves and isolated chloroplasts of sugar beets. *University of California, Berkeley. Plant physiology*, 57: 477- 479

**Till, A.R. (2010)**, Sulphur and sustainable agriculture. *Intenational Fertilizer Industry Association*, 70

**Tysko, B.M. & Rodriguez, B. M. (2006)**, Respuesta de trigo soja en doble cultivo a la fertilización con azufre elemental pretratado. *Ciencia del suelo*, 24(2): 139-146

**Williams, J.S., Hall, S.A., Hawkesford, M.J., Beale, M.H. & Cooper, R. M. (2002)**, Elemental Sulfur and Thiol Accumulation in Tomato and Defense against a Fungal Vascular Pathogen. *Plant Physiology*, 128: 150-159.

#### Páginas web

AEFA (Asociación Española de Fabricantes de Agronutrientes), *Bioestimulantes* (2016), recuperado el 19 de julio de 2016, de <http://aeфа-agronutrientes.org/fitofortificantes-en-cultivos-menores>

Manvert croptology (BIOVERTS.A.), *Productos (Bioestimulantes de azufre)* (2016), recuperado el 18 de Julio de 2016, de <http://www.manvert.com/es/productos>