

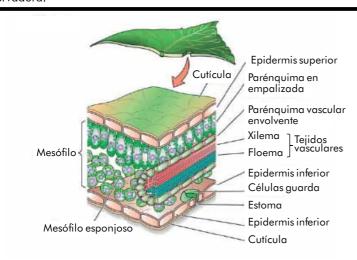


ción a la planta en su conjunto. Esta confusión e imprecisión complica enormemente la interpretación tanto en ambientes controlados de experimentos de laboratorio como de campo y, sin duda, ha dado lugar a respuestas inconsistentes y una incertidumbre general para predecir la eficacia de los tratamientos foliares. Por lo tanto los desafíos que enfrentan tanto los que practican la fertilización foliar como los investigadores que tratan de entender los factores que determinan la eficacia de los fertilizantes foliares son grandes.

La superficie externa de la hojas se caracteriza por una compleja y diversa variedad de adaptaciones especializadas, de orden físico y quími-

Figura 1.

Estructura típica de una hoja incluyendo los tejidos vasculares de una nervadura.



co, que sirven para mejorar la tolerancia de las plantas a una extensa lista de factores estresantes, que incluyen la irradiación desfavorable, temperaturas, déficit hídricos, vientos, daño físico, polvo, lluvia, contaminantes, productos químicos antropogénicos, insectos y patógenos. Las estructuras y superficies aéreas de la planta también están bien adaptadas para controlar el paso del agua y gases, y limitar así la pérdida de nutrientes, metabolitos y agua interna desde la planta al medio ambiente en condiciones desfavorables. Estas mismas características que protegen a la planta del estrés ambiental y regulan el intercambio de agua, gases y nutrientes son los mismos que afectan la absorción foliar de los nutrientes aplicados. Mejorar la eficacia y la reproducibilidad de la fertilización foliar requiere conocer los atributos físicos y químicos de la superficie de las plantas así como los procesos de penetración en la planta.

Las superficies externas de las plantas generalmente están cubiertas por una cutícula hidrofóbica. Poseen, además, células epidérmicas modificadas como tricomas (pelos) y estomas. Los estomas son poros rodeados de dos células guardianas que regulan su apertura y cierre; están presentes en altas densidades en las hojas y son responsables del control del intercambio gaseoso y transpiración de la planta.

La superficie externa de la cutícula está cubierta por ceras que confieren un carácter hidrofóbico a la superficie de la planta. El grado de hidrofobicidad y polaridad de la superficie de la planta depende de la especie, su química y topografía específica, las que también son influidas por la estructura microscópica de la célula epidérmica. Como las hojas, los frutos también están protegidos por una cutícula y pueden contener estructuras epidérmicas como estomas o tricomas que influyen en la transpiración y contribuyen a conducir agua y nutrientes, que son críticos para el crecimiento y calidad de los frutos.

El corte de una hoja típica consta de una cutícula que cubre la parte superior e inferior de las células epidérmicas, las que encierran el mesófilo (Figura 1) Las hojas difieren en su estructura entre especies pero generalmente consisten en parénquima en empalizada en la parte superior y parénquima esponjoso en la parte inferior. En este último hay grandes espacios entre las células del mesófilo. La epidermis es una capa compacta con dos o más capas de células y las estructuras principales de la epidermis relacionadas con el transporte de nutrientes y

agua son la cutícula y los estomas.

Las hojas representan la mayor parte de la superficie total de la parte aérea y por lo tanto capturarán la mayor parte de lo que se aplique con un pulverizador. También interactúa con el agua de lluvia, la niebla o el rocío. Si bien la principal función de la superficie es proteger la planta contra la deshidratación, la permeabilidad de estas superficies al agua y a los solutos puede desempeñar un papel eco-fisiológico crucial para absorber agua bajo condiciones hídricas limitantes.

•Todas las partes aéreas de la planta están cubiertas por una cutícula hidrofóbica que limita el intercambio bidireccional de agua, solutos y gases entre la planta y el entorno.

•Las estructuras epidérmicas como estomas o pelos pueden aparecer en la superficie de los distintos órganos de la planta y desempeñar importantes funciones fisiológicas.

EL ROL DE LA ESTRUCTURA Y LA MORFOLOGÍA VEGETAL

El requisito fundamental para una pulverización foliar eficaz de nutrientes es que el ingrediente activo penetre en la superficie de la planta para que pueda convertirse metabólicamente activo en las células objetivo en donde se necesitan los nutrientes. Un producto aplicado por vía foliar puede cruzar la superficie de la hoja a través de la cutícula per se, a lo largo de grietas o imperfecciones de la cutícula, o a través de estructuras epidérmicas modificadas como los estomas y pelos. La cutícula es una barrera eficaz contra la pérdida de agua y sin embargo, al mismo tiempo, resulta igualmente eficaz contra la absorción de productos de las aplicaciones foliares. La presencia de grietas cuticulares o la aparición de estructuras epidérmicas modificadas puede contribuir significativamente a aumentar la tasa de absorción de las aplicaciones foliares de nutrientes. La estructura y composición de la superficie de la hoja se describirán brevemente como base para entender su papel en la captación y absorción de aplicaciones foliares de nutrientes aplicados.

La cutícula y estructuras especializadas de la epidermis

La cutícula que cubre las partes aéreas de la planta es una capa extracelular compuesta de una matriz de biopolímeros con ceras impregnadas dentro de la cutícula, o depositados en la superficie. Del lado interno, una sustancia cerosa llamada cutina se mezcla con polisacáridos de la pared celular de la epidermis: celulosas, hemicelulosas y pectinas en proporción similar a la de las paredes celulares. Por lo tanto, la cutícula puede considerarse una pared celular 'cutinizada'.

La matriz de la cutícula está hecha de cutina (un bio-poliéster), y su composición puede variar según el órgano, especie y genotipo, etapa de desarrollo y las condiciones de cultivo. Mientras que cutina se despolimeriza y solubiliza en la saponificación, la cutícula de algunas especies pueden contener un polímero no saponificable y no extraíble alternativo, conocido como cutan, presente en las especies más tolerantes a la sequía xeromórficas que almacenan agua como el Agave.

La composición de las ceras de la cutícula, sea depositado en la superficie o impregnadas en ésta, varían entre diferentes especies, entre distintos órganos de la planta, la etapa de desarrollo y las condiciones ambientales reinantes.

Así como la cutina o matriz de cutan y las ceras, en la cutícula pueden estar presentes cantidades y tipos variables de resinas fenólicas en forma libre incrustados en la matriz o químicamente unidos a la cutina o ceras. Además del importante papel de los fenoles en la protección contra factores de estrés bióticos (microbios o herbívoros) y abióticos (radiación ultravioleta, contaminantes), también están implicados en la atracción de insectos polinizadores.

Muchas superficies de las plantas son pubescentes en mayor o menor grado, como se muestra en la figura 2 para soja, maíz y cereza (superficie de arriba de la hoja). Los tricomas son apéndices unicelulares o multicelulares que se originan solo de las células epidérmicas, y se proyectan hacia fuera de la superficie de varios órganos de las plantas. Los tricomas pueden crecer en todas partes de la planta y se clasifican como "glandulares" o "no glandulares". Mientras que estos últimos se distinguen por su morfología, los diferentes tipos de tricomas "glandulares" se definen por los materiales que excretan, acumulan o absorben. Los tricomas "No glandulares" presentan una gran variabilidad en tamaño,

FERTILIZAR

Figura 2.

Superficie adaxial (superior) de: (A) soja; (B) maíz; y (C) cerezo (Micrografías de V. Fernández, 2010).



Análisis de micrografías electrónicas de estomas presentes en la superficie de: (A) fruto de durazno; (B) fruto de cereza; (C) superficie abaxial de hoja de rosal; y (D) superficie abaxial de hoja de brócoli (micrografías de V. Fernández, 2010).

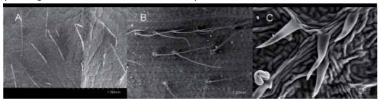
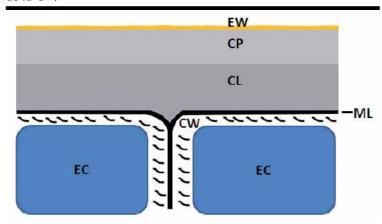


Figura 5.

Representación esquemática de la estructura general de la cutícula de la planta que cubre dos células epidérmicas adyacentes (EC) separados entre sí por laminillas intermedias y una capa pectinosa (ML) y la pared celular (CW). Las ceras epicuticulares (EW) se depositan en la cutícula propiamente dicha (CP) que se compone principalmente de una matriz de biopolímero y ceras intra cuticulares. La capa cuticular (CL) contiene principalmente cutina y/o cutan y polisacáridos de la CW.



morfología y función y su presencia es más prominente en las plantas que prosperan en hábitats secos y por lo general en los órganos de la planta jóvenes.

Los estomas son células epidérmicas modificadas que controlan el intercambio gaseoso y las pérdidas de agua por transpiración. Están en general en el lado de abajo de la hoja, pero en algunas especies incluyendo maíz y soja, también están en la parte superior. Los estomas también están en la epidermis de muchos frutos como duraznos, nectarinas, ciruelas o cerezas aunque a menor densidad que en las hojas. La funcionalidad, morfología y densidad de los estomas varían entre

Figura 4.

Ángulo de contacto promedio con gotas de agua pura en el lado superior (adaxial) de hojas de Eucalyptus globulus (A) y Ficus elastica (B); y superficies de frutos de durazno (C) y manzana (D) (V.A. Fernandez, 2011).

Órgano vegetal y especie	Ángulo promedio de contacto con agua pura (°)	lmagen de la gota
Lado Superior (adaxial) de una hoja deEucalyptus globulus	140	0
Lado Superior (adaxial) de una hoja de Ficus elastica	83	•
Durazno 'Calanda' (Prunus persica L. Batsch)	130	0
Superficie de fruta de manzana (Malus doméstica L. Borkh)	84	

especies y órganos (Figura 3) y pueden verse afectados por factores de estrés como deficiencias de nutrientes o condiciones ambientales, como intensidad y calidad de la luz.

Otro ejemplo de las estructuras epidérmicas que se producen en la superficies de las plantas son las lenticelas, estructuras macroscópicas que pueden producirse en los tallos, pedicelos o superficies de los frutos (por ejemplo, están presentes en la cáscara de frutas de manzana, pera o mango) una vez que se ha formado la peridermis (corcho).

La absorción de soluciones nutritivas por la superficie de la planta puede ocurrir a través de:

- La cutícula
- Grietas e imperfecciones de la cutícula.
- Estomas, tricomas, lenticelas.

Efecto de la topografía: micro - y nano-estructura de la superficie de la planta

La topografía de la superficie de la planta, según lo determinado por la composición y estructura de las ceras cuticulares en áreas lisas o en superficies pubescentes, determinará sus propiedades y las interacciones con el agua, soluciones nutritivas, contaminantes, microorganismos, agroquímicos, etc.

Las superficies de la planta tienen diferentes grados de mojabilidad en contacto con las gotas de agua como se muestra en la figura 4 para hojas y frutos de cuatro especies.

La presencia de estructuras con micro y nanos relieves relacionados con las superficies en las células epidérmicas y las propiedades químicas de las ceras depositadas en la superficie de la hoja, puede aumentar notablemente su aspereza y el área de la superficie, y en última instancia determinará el grado de polaridad e hidrofobicidad. Pueden



esperarse diferencias en polaridad superficial e hidrofobicidad en relación con la condiciones variables de crecimiento, especies, variedades y órganos, y éstos influirán en la efectividad de las aplicaciones foliares.

Vías y mecanismos de penetración

La estructura y química de la superficie de la planta afectará la difusión de las sustancias entre la superficie foliar y el entorno y por lo tanto la velocidad de absorción de los fertilizantes foliares. En las secciones siguientes se describen las vías de penetración superficial más importantes de las pulverizaciones con químicos, con énfasis en los mecanismos de permeabilidad cuticular y absorción estomática.

Permeabilidad cuticular

La cutícula consiste en tres capas desde el exterior hacia el interior: Capa cerosa epicuticular (EW), la cutícula propiamente dicha (CP) y la capa cuticular (CL) (Figura 5). La capa cerosa EW es el componente más externo y más hidrofóbico de la cutícula. La cutícula propiamente dicha CP que se encuentra debajo contiene principalmente cutina y/o cutan y está libre de polisacáridos. La capa cuticular CL se encuentra en el CP y consta de cutina/cutan, pectina y hemicelulosas que aumentan la polaridad de esta capa debido a la presencia de grupos funcionales hidroxilo y carboxílicos. La laminillas media y la capa de pectina (ML) se encuentran por debajo de la capa cuticular CL. Cantidades variables de fibrillas de polisacárido y laminillas de pectina pueden extenderse desde la pared celular (CW), enlazando la cutícula con el tejido subyacente.

Un aumento gradual de la carga negativa desde la cera epicuticular a la capa de pectina crea un gradiente electroquímico que puede aumentar el movimiento de cationes y moléculas de agua. Las ceras intra cuticulares limitan el intercambio de agua y solutos entre la planta y el entorno mientras que las ceras epicuticulares influyen en la mojabilidad, luz reflejada y las propiedades de la superficie.

La naturaleza lipofílica e hidrofóbica de los componentes estructurales de la cutícula hacen una eficaz barrera contra la difusión de compuestos hidrofílicos polares. Sin embargo, los compuestos lipofílicos y polares pueden penetrar la membrana cuticular hidrofóbica a tasas elevadas en comparación con soluciones de electrolitos polares que no tienen agentes tensioactivos. De hecho, varios estudios proporcionan evidencias de la penetración de solutos polares a través de cutículas sin estomas intactas por medios directos e indirectos.

La evidencia experimental ha demostrado que las cutículas son membranas asimétricas con un gradiente de estructura fina y ceras desde el exterior hacia la superficie interna. Las cutículas de la planta tienen un

compartimiento de gran absorción interna que consiste principalmente en una matriz de bio-polímeros (cutina y/o cutan) y un compartimiento exterior comparablemente más pequeño (= 10% del volumen total) en donde predominan los ceras.

El estado actual del conocimiento acerca de los mecanismos de penetración de sustancias solutas polares y apolares lipofílicas a través de la cutícula se discutirá brevemente en los párrafos siguientes.

La cutícula es una membrana asimétrica compuesta principalmente por 3 capas:

- · La capa de cera epicuticular.
- La cutícula propiamente dicha, principalmente compuesta de cutina/cutan y ceras intracuticulares.
- La capa cuticular contiene cutina/cutan y polisacáridos.

Permeabilidad de compuestos lipofílicos apolares (solubles en solventes orgánicos, aceites y grasas)

La penetración de sustancias apolares lipofílicas a través de la cutícula sigue un proceso de disolución-difusión. Este modelo supone que el movimiento de una molécula apolar lipofílica, de una solución que se deposita en la superficie de la planta sobre la cutícula precede a la difusión de la molécula a través de la cutícula. La difusión de una molécula lipofílica se rige por su partición, y la velocidad de penetración será proporcional a la solubilidad y la movilidad del compuesto en la cutícula.

Considerando las leyes de difusión el flujo (J; molm-2s-1) se relaciona con el gradiente de concentración, con solutos que pasan de regiones de alta a baja concentración a una magnitud proporcional al gradiente de concentración. En el modelo de difusión cuticular, el flujo que difunde es proporcional al coeficiente de permeabilidad de la membrana multiplicado por la diferencia de concentración entre el interior y las paredes exteriores de la cutícula:

J = P * (Ci-Co)

Donde: Ci $\,$ y Co $\,$ son las concentraciones en la parte interior y exterior de la cutícula.

La evidencia experimental demuestra que la cutícula puede actuar como un tamiz molecular, debido a que es selectiva para el tamaño de las moléculas. El tamaño de los poros sigue una distribución normal y, como en el caso de algunos agroquímicos, puede limitar la difusión a través de la cutícula.



Permeabilidad de electrolitos hidrofílicos (compuestos miscibles/solubles en agua, como sales minerales, quelatos o complejos).

La permeabilidad de la cutícula a los solutos se investiga en cutículas aisladas sin estomas. En ausencia de soluciones iónicos tensoactivas, los compuestos hidrofílicos en general penetran la cutícula a menor velocidad que los compuestos apolares lipofílicos. Esto se explica por el carácter lipofílico de los constituyentes de la cutícula, así como la facilidad con la cual se difunden los compuestos lipofílicos por la mayor solubilidad en ese medio en comparación con los compuestos hidrofílicos. Sin embargo, algunos autores han sugerido mecanismos alternativos a la simple disolución y difusión en la cutícula y han propuesto que los solutos hidrofílicos pueden penetrar a través de la cutícula a través de un camino físicamente distinto, que han sido llamados "poros polares, acuosos o lleno de agua"

Se presume que estos poros pueden surgir de la absorción de moléculas de agua en partes polares situados en la capa cuticular, como grupos carboxilos sin esterificar en la red de cutina; y grupos carboxílicos de material péctico de la pared celular. Sin embargo, no hay evidencia experimental concluyente de estos "poros acuosos" en las cutículas, ya que no son visibles o identificables con las tecnologías microscópicas actuales.

Sin embargo, el tamaño de los "poros acuosos" de algunas especies de plantas se ha estimado indirectamente por ensayos de permeabilidad con cutículas sin estomas. Se calcularon diámetros de alrededor de 1 nm en cutículas de citrus sin cera. Además, se calcularon diámetros de poros entre 4 y 5 nm en ensayos de permeabilidad realizados en hojas intactas de café y de álamo.

- La penetración de compuestos lipofílicos apolares penetran las cutículas por un proceso de disolución y difusión.
- Los mecanismos de penetración por compuestos hidrofílicos, polares no están completamente aclarados todavía.

 $Permeabilidad\ de\ los\ estomas\ y\ otras\ estructuras\ de\ la\ superficie\ de\ la\ planta$

La contribución potencial de estomas a la penetración de los productos químicos aplicados por la hoja ha sido un motivo de controversia por muchas décadas y aún no está completamente entendida. Los primeros estudios destinados a evaluar el proceso de absorción por los estomas sugieren que ocurre por infiltración es decir, el flujo de masa de la soluciones foliar aplicada al interior de la hoja a través de los estomas abiertos. Sin embargo, se demuestra que la infiltración espontánea a través de un estoma abierto de una aplicación foliar de una solución acuosa no puede ocurrir sin una presión externa o un agente tensioactivo que reduzca la tensión superficial de la solución por debajo de cierto umbral. Posteriormente, muchos estudios han demostrado mayores velocidades de absorción en las superficies foliares donde hay estomas y, en especial, cuando las condiciones experimentales favorecen su apertura. Investigaciones llevadas a cabo en hojas que contienen estomas solo del lado de abajo demostraron tasas de penetración foliar mayores por el envés en comparación con el lado superior adaxial. La contribución directa de estomas en el proceso de penetración de soluciones acuosas aplicadas por vía foliar en ausencia de agentes tensioactivos ha sido posteriormente confirmada con técnicas y metodologías mejoradas.

Los mecanismos de movimientos de solutos en frutas han recibido menos atención, excepto evaluaciones de la permeabilidad de manzanas a soluciones de Ca. Se reportó una importante contribución de los estomas y tricomas en la captación de soluciones de Ca aplicadas durante las primeras etapas del desarrollo de los frutos. Sin embargo, la posterior desaparición de estomas y tricomas seguida por el sellado de las cicatrices restantes por cutina y ceras reducen significativamente la permeabilidad de las superficies de la fruta.

- •Los estomas desempeñan un papel importante en la absorción de soluciones de nutrientes aplicadas al follaje.
- Los mecanismos de penetración estomática por agua pura no están todavía completamente aclarados, pero recientes evidencias demuestran el proceso de difusión a lo largo de las paredes del poro estomático.

• El agregado de tensioactivos en la formulación de la solución nutritiva mejora la infiltración de los estomas (capítulo 3).

CONCLUSIONES

Se describe en este capítulo el estado actual de conocimiento del proceso de absorción de soluciones por las superficies de la planta. Las plantas están cubiertas por una cutícula hidrofóbica que controla la pérdida de agua y solutos de gases al medio ambiente externo, y a la inversa también impide su libre entrada al interior de la planta. Las características estructurales y químicas de la superficie de la planta hacen difícil el mojado y por lo tanto la impregnación por una solución nutritiva polar aplicada en la superficie. Teniendo en cuenta el estado actual del conocimiento, pueden abordarse las siguientes certezas, incertidumbres y oportunidades para la aplicación de fertilizantes foliares.

Certezas

- Las superficies de la planta son permeables a las soluciones nutritivas.
- La facilidad por el cual una solución nutritiva puede penetrar en el interior de la planta dependerá de las características de la superficie de la planta, que puede variar con el órgano, especie, variedad y las condiciones de crecimiento, y en las propiedades de la formulación aplicada por aspersión foliar.
- Las superficies de la planta poseen normalmente una capa hidrofóbica de cera epicuticular.
- El micro y nano relieve asociado con la estructura de las células epidérmicas y las ceras epicuticulares depositadas en la superficie, junto con la composición química de estas ceras, determinará la polaridad y la hidrofobicidad de la superficie de cada planta en particular.
- Las estructuras epidérmicas como los estomas y lenticelas, que están presentes en las superficies de hojas y frutos, son permeables a las soluciones aplicadas a la superficie y pueden desempeñar un papel significativo en su absorción.
- Las sustancias apolares lipofilicos atraviesan la cutícula mediante un proceso de disolución difusión.

Incertidumbres

- Los mecanismos de penetración cuticular de compuestos polares, hidrófilos (es decir, la incorporación de fertilizantes foliares en solución acuosa) no están totalmente entendidos por el momento.
- La contribución de la vía estomática al proceso de absorción foliar debe ser aun mejor esclarecido, así como el papel de otras estructuras epidérmicas como los tricomas (pelos) y lenticelas.
- Mejorar la eficacia de los fertilizantes foliares requerirá una mejor comprensión de los fenómenos de contactos en la interface entre el líquido (es decir, la formulación de fertilizantes foliares) y el sólido (es decir, la superficie de la planta).
- La efectividad de los tratamientos con nutrientes foliares mejorará una vez que los mecanismos de absorción foliar sean mejor entendidos.

Oportunidades

- Múltiples experimentos científicos y estudios aplicados llevados a cabo en el siglo pasado han demostrado que las superficies de la planta son permeables a los fertilizantes foliares.
- Esta permeabilidad presenta la oportunidad de suministrar nutrientes a los tejidos y órganos de la planta, obviando la absorción radicular y los mecanismos de desplazamiento que pueden limitar el suministro de nutrientes a las plantas bajo ciertas condiciones de crecimiento.
- La fertilización foliar tiene un gran potencial y debe ser más explorada y explotada en el futuro.