

Establecimiento de cultivos hidropónicos para la investigación de la toxicidad por aluminio en palma de aceite

Yurany D, Rivera¹, Jhonathan Camperos¹, Leonardo Moreno¹,
Hernán Mauricio Romero^{1,2,*}

Introducción

El suelo es el principal medio mineral para el crecimiento de las plantas, pero en ocasiones cuando se quiere realizar algún tipo de estudio minucioso sobre nutrición mineral, las grandes variaciones, químicas, físicas y/o biológicas que puede presentar imposibilita su uso. La alternativa más empleada es el cultivo en medio hidropónico, cuya técnica hace crecer plantas en una solución de nutrientes con o sin sustrato. El sustrato puede ser turba, arena, cascarilla de coco o de arroz, gomaespuma, etc. y solo sirve de sostén para las raíces, las cuales se mantienen sumergidas en la solución nutritiva estándar.

Las soluciones con los elementos nutritivos son el medio ideal para regular la cantidad y la proporción relativa de las sales minerales suministradas a las plantas en cualquier investigación. Es necesario que se mantengan con una cantidad adecuada de oxígeno disuelto lo cual se logra mediante burbujeo de aire, los nutrientes y el pH de la solución dentro de niveles adecuados y otras condiciones como luminosidad, humedad relativa y temperatura (Chaparro de Barrer et ál., 2002).

Desde mediados del siglo XX, la solución nutritiva propuesta por Hoagland y Arnon (solución de Hoagland), basada en las proporciones de macro y micronutrientes absorbidas por plantas de tomate, es la formulación más aceptada y empleada en cultivos hidropónicos. Suministra tres macronutrientes en forma de cationes: potasio, calcio y magnesio, otros tres en forma aniónica: nitrato, fosfato y sulfato, y los micronutrientes (Chaparro de Barrer et ál., 2002).

Dicha solución nutritiva enriquecida con diferentes dosis de aluminio ha sido empleada en la fase hidropónica del proyecto "Identificación de materiales de palma de aceite tolerantes a la toxicidad por aluminio, adecuados para las zonas palmeras Central y Oriental mediante la determinación de indicadores fisiológicos y bioquímicos"

Es importante señalar que el aluminio es un factor limitante

para la producción de los cultivos en suelos ácidos, y se encuentra disponible en el 50% de las tierras potencialmente arables (Tang et ál., 2002), lo cual lo convierte en el factor limitante primario de la producción en cerca de 60% de la superficie agrícola en Colombia (Casierra y Cárdenas, 2009). Es probable que esta cifra haya aumentado, teniendo en cuenta que en los últimos años la palmicultura ha crecido a un ritmo cercano al 10% anual; entonces, es posible el uso de áreas con altas concentraciones de aluminio en sus suelos, característica que predomina en los Llanos Orientales y en el Magdalena Medio. Por lo anterior, se hace necesario identificar materiales que toleren esas condiciones y la solución genética parece la más apropiada y prometedora. Para ello, en el año 2008, Cenipalma inició la identificación de genotipos tolerantes al aluminio mediante la determinación de los mecanismos fisiológicos y bioquímicos de tolerancia de 30 materiales bajo condiciones de toxicidad por el metal en suelo y solución. Gracias a esto, se pudo adecuar la técnica de hidroponía en palma de aceite y los avances más sobresalientes se citan a continuación.

Metodología

El proyecto en fase hidropónica se lleva a cabo en una casa de mallas del Campo Experimental Palmar de La Vizcaína en Barrancabermeja, Santander. Se evalúan dos periodos de exposición (dos y cuatro meses) de las plantas al aluminio. Hasta el momento 30 materiales comerciales de palma de aceite (16 del tipo DxP de *Elaeis guineensis* y 14 de material híbrido interespecíficos *E. oleifera* x *E. guineensis*) han sido sometidos a los tratamientos de aluminio. Se emplea solución Hoagland a un medio de la concentración original (Tabla 1) y tres niveles de aluminio en solución (0, 100 y 200 μM), añadido en forma de cloruro de aluminio ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$). El pH de la solución se monitorea cada dos días y se mantiene constante ($3,9 \pm 0,1$) mediante la adición de hidróxido de sodio - NaOH 1% o ácido clorhídrico - HCl 0,05 M y 0,1 M, cuando es necesario.

1 Programa de Biología y Mejoramiento de la Palma, Cenipalma.

2 Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia.

* Autor para correspondencia. E-mail: hromero@cenipalma.org

Resultados

Semillero

Las semillas en punto blanco fueron llevadas a los semilleros con sustrato de arena de río bajo una polisombra de 60% (Figura 1), donde las plántulas fueron regadas constantemente (2 o 3 veces al día), y crecieron, durante 10 días, sin presentar ningún tipo de necrosamiento en las hojas ni enrollamiento de las raíces (Figura 2).



Figura 1. Semillero: (a) Distribución de las semillas en bancos de arena; (b) Riego.



Figura 2. Apariencia de la lámina foliar y las raíces de las plántulas germinadas en arena. (A los 10 días ya ha abierto la primera hoja y la raíz primaria puede alcanzar los 14 cm).

Infraestructura

La estructura de la casa de mallas de 144 m² (8 x 18 m) es de aluminio con techo de policarbonato alveolar con un filtro del 20% y las paredes son paneles de angeo (Figura 3). Además, una capa de polisombra 60% protege las plántulas del 80% de la radiación directa que pasa, evitando que se estresen o mueran en el transplante o en el crecimiento en medio hidropónico. De esta forma se controlaron las condiciones de temperatura y humedad al interior (Tabla 1).

Tabla 1. Condiciones microclimáticas al interior de la casa de mallas (registradas con sensor WatchDog 2000).

	Humedad relativa (%)	Temperatura (°C)
Máxima	96,20	40,17
Mínima	20,70	21,72
Promedio	70,49	27,55

Sobre 20 mesas metálicas de 1 x 2,8 m, se ubicaron 288 neveras de icopor de ocho litros de capacidad y en cada una se sembraron cuatro plántulas. En cada mesa se instaló una

bomba de aire (AIR PUMP modelo AC-9906) para oxigenar y homogenizar la solución en los recipientes (Figura 3). Un timer mecánico (modelo PD60-U1) gobierna el encendido de cada hora durante 15 minutos.



Figura 3. Casa de mallas donde se desarrolla el proyecto.

Establecimiento en casa de mallas

Plántulas de diez (10) días con tamaños de plúmula y radícula similares se seleccionaron y llevaron a la casa de malla, donde estuvieron bajo el sombreado de una polisombra de 60% en neveras de icopor de 8 L de capacidad (Figura 4), con agua inicialmente (2 días), luego en adaptación con solución Hoagland (7 días) y finalmente con una solución AlCl₃ + Hoagland (60 y 120 días).



Figura 4. Montaje al interior de la casa de mallas.

La tapa de las neveras fue remplazada por una lámina de icopor de 1 cm de espesor. En cada una se hicieron cuatro aberturas rectangulares de 10 x 5 cm, en las que se colocaron las plántulas ajustadas con una espumilla de 2 cm de grosor (Figura 5). La razón de emplear una espumilla de baja densidad (18) es evitar el ahorcamiento (maltrato) de la plúmula.



Figura 5. Trasplante de las plántulas en los recipientes de icopor. Nótese la acomodación en la espumilla.

Para evitar la interferencia de la dureza y el alto contenido de Manganeso del agua que llega a la casa de mallas, se pasó primero por el equipo de ósmosis inversa (450 GPD) y la descarga alimentó los tanques en los que se preparan las soluciones AlCl₃ + Hoagland. El equipo estuvo protegido de la

intemperie por una construcción de ladrillo, y sus cuatro filtros, cubiertos con papel aluminio para evitar la proliferación de algas en su interior. La distribución de las soluciones Hoagland + $[Al^{+3}]$ desde los tanques hasta los recipientes correspondientes se llevó a cabo mediante un sistema de tuberías de PVC y mangueras de poliuretano (Figura 6).



Figura 6. Elementos del sistema de alimentación de la solución nutritiva.

Pruebas de solubilidad

Teniendo en cuenta que:

- El pH en las soluciones nutritivas ejerce una influencia considerable en la solubilidad de varios componentes.
- A un pH inferior a 4,6 predomina la forma soluble, intercambiable y tóxica para las plantas de aluminio (Al^{3+}) en solución (Figura 7).

Se realizaron pruebas de solubilidad del aluminio a diferentes pH (4,0 – 4,5) y concentraciones en agua (10, 25, 50, 100, 125, 150, 200 μM), a fin de determinar el rango de pH óptimo que, en solución, permite la disponibilidad de los nutrientes y evita la precipitación del aluminio y de los otros cationes y aniones presentes en la solución nutritiva.

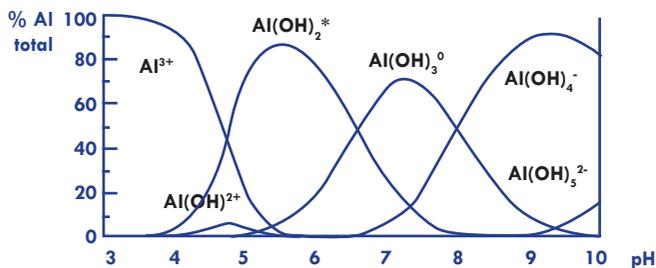


Figura 7. Distribución porcentual de las especies de aluminio en una solución de acuerdo con el pH (Porta et ál., 2003).

En tubos de reacción de 50 mL se tomaron 20 mL de solución Hoagland 50%, se adicionó el volumen respectivo de aluminio, se ajustó el pH en el rango indicado y se agitó. Al cabo de 5 minutos se verificó la presencia de precipitados o suspensiones coloidales en los tubos. El mismo procedimiento se realizó después de centrifugar la muestra a 8.000 rpm durante 30 minutos a 20 °C. Los resultados (Tabla 2) indican que se debe trabajar a pH por debajo de 4,1 para obtener una adecuada solubilidad de Al^{+3} en el rango de concentraciones evaluadas, con solución Hoagland al 50% como máxi-

mo. Igualmente, de acuerdo con Crisancho et ál., (2010) las concentraciones de Al^{+3} en solución que permiten determinar el efecto significativamente diferencial en la morfología y fisiología de las palmas, son 100 y 200 μM , de modo que se evaluaron las concentraciones 0 (testigo), 100 y 200 μM Al^{+3} .

Tabla 2. Pruebas de solubilidad del aluminio a diferentes concentraciones y pH en solución.

$[Al^{+3}]$ μM	Rango de pH	+ 5 minutos		+ Centrifugado		¿Trabajar rango de pH?
		Precipitado	Coloides	Precipitado	Coloides	
10	4,0 - 4,5	No	No	No	No	Si
	4,0 - 4,3	No	No	No	No	Si
25	4,4 - 4,5	Si	Si	Si*	Si*	No
	4,0 - 4,3	No	No	No	No	Si
50	4,4 - 4,5	Si	Si	Si	Si	No
	4,0 - 4,3	No	No	No	No	Si
100	4,4 - 4,5	Si	Si	Si	Si	No
	4,0 - 4,2	No	No	No	No	Si
125	4,3 - 4,5	Si	Si	Si	Si	No
	4,0 - 4,2	No	No	No	No	Si
150	4,3 - 4,5	Si	Si	Si	Si	No
	4,0 - 4,1	No	No	No	No	Si
200	4,2 - 4,5	Si	Si	Si	Si	No

* imperceptible

Soluciones de crecimiento

Se empleó solución Hoagland a un medio de la concentración recomendada (Tabla 3) y se renovó cada ocho días. Así, semanalmente, 2.700 litros de solución nutritiva se prepararon y distribuyeron en los tanques de 900 litros a los que se adicionaban las dosis de aluminio correspondientes (Figura 8). Con este volumen se llenaron los 288 contenedores de icopor trabajados.

Se prepararon soluciones stock 1 M, y a partir de estas se prepararon las soluciones. Para algunos elementos, en los que la fuente fue diferente a la original, se realizaron las modificaciones respectivas. En los tanques se adicionaron separadamente los macronutrientes y micronutrientes, agitando constantemente y controlando el pH. La preparación de las soluciones nutritivas se efectuó de la siguiente manera:

1. Adición de todos los macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg).
2. Adición del compuesto con molibdeno.
3. Adición del compuesto con hierro.
4. Ajuste de pH (3,8 - 4,0).
5. Agitación hasta que no hayan precipitados y todo se haya solubilizado.
6. Adición del resto de los micronutrientes (Zn, Cu, B, Mn).
7. Ajuste de pH (3,8 - 4,0).
8. Agitación hasta que no hayan precipitados y todo se haya solubilizado.

Tabla 3. Composición y preparación de la solución Hoagland empleada.

HOAGLAND y ARNON, 100% (original)		HOAGLAND y ARNON, 50% (Trabajada)			STOCK 1 M (1 L)	CAMBIO DE SOLUCIÓN
Fuente	Concentración (mM)	Fuente	Concentración (mM)	PM (g/mol)	Adicionar (g/L)	Volumen (mL) de Stock a Tanque 900 L
KNO ₃	6	KNO ₃	3	101	101	2700,0
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	4	Ca(NO ₃) ₂	2	164	164	1800,0
MgSO ₄ ·7H ₂ O	2	MgSO ₄ ·7H ₂ O	1	246	246	900,0
NH ₄ H ₂ PO ₄	1	NH ₄ H ₂ PO ₄	0,5	115	115	450,0
MnCl ₂ ·4H ₂ O	0,009	MnSO ₄ ·H ₂ O	0,0045	169	169	4,1
Kelatex (Fe)	0,0769	Kelatex (Fe)	0,0512*	390		
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,0008	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,0004	287	287	0,360
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,0003	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,00015	250	250	0,135
H ₃ BO ₃	0,0460	H ₃ BO ₃	0,023	62	62	20,7
H ₂ MoO ₄ ·4H ₂ O	0,0001	H ₂ MoO ₄ ·4H ₂ O	0,00005	242	242	0,045

Es importante tener en cuenta que el stock de hierro debe protegerse de la luz y prepararse la cantidad necesaria a usar por cada cambio. Se hace una solución stock 5g/L, luego se adicionan 2 mL de esta a cada litro de solución nutritiva, dos veces por semana. Esta concentración de hierro en solución (2/3 Hoagland original) evita posibles interferencias o antagonismos con el aluminio soluble (Al⁺³).

El volumen sobrante de las soluciones stock puede conservarse refrigerado a 4°C por largos periodos de tiempo.

Conclusiones

- Los cultivos hidropónicos son la mejor alternativa a la hora de evaluar el efecto real sobre el crecimiento y desarrollo vegetal de cualquier condición nutricional en solución, sin la interferencia o ruido que pudiera presentarse per se la heterogeneidad de los suelos. Con este proyecto además se pudo comprobar que los 'cultivos sin suelo', no requieren grandes espacios para el establecimiento y el crecimiento de las plantas depende principalmente de la calidad del la solución.
- Al establecer un estudio de deficiencias, niveles óptimos o toxicidades de algún(os) elemento(s) en solución, previamente deben realizarse pruebas de solubilidad de los compuestos a diferentes pH y concentraciones a fin de determinar los rangos o valores que permiten la mayor disponibilidad de las especies de interés y evitar su precipitación, ya que originalmente el pH de todas las soluciones nutritivas oscila entre 5 y 7.
- El proyecto permitió definir la técnica de hidroponía en palma de aceite, de modo que se establecieron las condiciones, materiales y duración de los procesos de germinación de semillas, preparación de soluciones nutritivas, transplante y adaptación, ajuste de pH, control de condiciones ambientales, etc.

Aspectos a considerar en los cultivos hidropónicos de palma de aceite

Solución	<ul style="list-style-type: none"> • Aireación (oxígeno disuelto suficiente) • Concentración de los nutrientes • pH • Preparación
Ambiente	<ul style="list-style-type: none"> • Luz, ventilación y temperatura. • Calidad del agua

Agradecimientos

Esta investigación es cofinanciada por el Fondo de Fomento Palmero (FFP) administrado por Fedepalma y por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR) proyecto 2007R7557-195.

Bibliografía

- Casierra, F. y J. Cárdenas. 2009. Growth of maize seedlings (*Zea mays* L. var. Porva) in nutrient solution with low (Ca+Mg+K)/Al ratio. *Rev.udcaactual.divulg.cient*, 12(2), 91-100.
- Chaparro de Barrer, A., M. Orozco y J. Cogua. 2002. Fisiología Vegetal. Libro digital. En: http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/ciencias/2000051/docs_curso/descripcion.html, consultada abril de 2011.
- Cristancho, J.A., M. Hanafi, R. Syed y M. Rafii. 2010. Variations in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) progeny response to high aluminum concentrations in solution culture. *Plant Biology*, 13(2), 33-42.
- Porta, J., M. López-Acevedo y C. Roquero. 2003. Edafología para la agricultura y el medio ambiente. Ed. Mundi-Prensa, 3ª edición. Madrid. 960 p.
- Tang, Y., D. Garvin, M.Sorrells y B. Carver. 2002. Physiological genetics of aluminum tolerance in the wheat cultivar Atlas 66. *Crop Science*, 42(5): 1541 – 1555.

Director: José Ignacio Sanz Scovino, Ph.D.
 Revisión de textos: Comité de Publicaciones de Cenipalma
 Coordinación editorial: Yolanda Moreno Muñoz
 Diseño y diagramación: Area 51 Publicidad y Comunicaciones S.A.S
 Impresión: Javegraf

Esta publicación contó con el apoyo de Fedepalma - Fondo de Fomento Palmero