

UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA VEGETAL



Sistemas de refrigeración en un invernadero de malla: efectos sobre el microclima, productividad y respuestas de las plantas de un cultivo de tomate

ROCÍO LEYVA JIMÉNEZ

TESIS DOCTORAL

GRANADA, 2014



UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA VEGETAL



Sistemas de refrigeración en un invernadero de malla: efectos sobre el microclima, productividad y respuestas de las plantas de un cultivo de tomate

Memoria de Tesis Doctoral presentada por la licenciada en Biología Rocío Leyva Jiménez para aspirar al grado de doctor:

Fdo. Rocío Leyva Jiménez

VºBº Directoras del trabajo:

Fdo.: Dra. Teresa Soriano Vallejo

Fdo.: Dra. Mercedes Romero Gámez

Investigador titular del IFAPA

Investigador contratado del IFAPA

Granada, 2014

El trabajo que se presenta en esta memoria de Tesis Doctoral ha sido realizado en el IFAPA Centro Camino de Purchil en colaboración con el Grupo de Investigación “Diagnóstico Nutricional de las Plantas Cultivadas en Condiciones Adversas” (AGR-161, Plan Andaluz de Investigación, Junta de Andalucía), del Departamento de Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Granada (España). Este trabajo ha sido co-financiado por el Proyecto I+D+I INIA-RTA 2009-00005-00-00 (Desarrollo de la alternativa de cultivo protegido: invernadero bajo plástico en el litoral-estival bajo malla en el interior para una producción sostenible, rentable y de calidad). Además, este trabajo ha sido cofinanciado por dicho grupo y por una beca predoctoral correspondiente al programa de Formación de Personal Investigador (FPI) a Rocío Leyva Jiménez.

El doctorando Rocío Leyva Jiménez y los directores de la tesis Teresa Soriano Vallejo y Mercedes Romero Gámez garantizamos, al firmar esta tesis doctoral, que el trabajo ha sido realizado por el doctorando bajo la dirección de los directores de la tesis y hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización del trabajo, se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Granada a Octubre de 2014

Directoras de la Tesis

Fdo.: Teresa Soriano Vallejo

Fdo.: Mercedes Romero Gámez

Doctorando

Fdo.: Rocío Leyva Jiménez

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría que estas líneas sirvieran para expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a todas aquellas personas que con su ayuda han colaborado en la realización del presente trabajo. Desde las que me orientaron y enseñaron, hasta las que me apoyaron y dieron su amistad.

A la Dra. Teresa Soriano por brindarme la oportunidad de formar parte de este equipo, del que me llevo grandes experiencias profesionales y personales. Por tu dedicación y paciencia, ha sido un placer realizar este trabajo bajo tu supervisión y saber hacer.

A la Dra. Mercedes Romero Gámez por ser la referencia siempre citada, dada su contribución a la investigación y por estar ahí siempre que lo he necesitado de forma incondicional.

Al Dr. Juan M. Ruíz por su confianza en mi trabajo y su capacidad para guiar mis ideas, has sido un aporte invaluable, no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también en mi formación investigadora. Juanma, gracias a ti me encuentro hoy aquí y nunca dejaré de estar agradecida por ello.

También quiero dar las gracias al Dr. Luis Romero y al Dr. Nicolás Castilla, siempre es un privilegio aprender de la experiencia de dos eminencias en sus respectivos campos.

Especial reconocimiento merece el interés mostrado por mi trabajo y las sugerencias recibidas de todo el equipo del IFAPA en especial de la Dra. Elisa M. Suárez Rey, gracias por tu seriedad científica, tu tiempo e inestimable colaboración.

A José María, Lorena y Javi por vuestra labor, entrega y sacrificio en el trabajo de campo. Quizás el trabajo más obviado, pero gracias al cual hoy estoy aquí. Me alegro el haber compartido con vosotros esos largos días de verano, sembrando, podando y luchando contra la *Tuta*. Dieron sus frutos.

Gracias a Araceli por su inestimable ayuda en el laboratorio y por ser partícipe junto a Elena y Eugenio de esos momentos de confianzas y risas que siempre me alegraban las mañanas y de los que siempre recordaré con mucho cariño.

Quisiera hacer extensiva mi gratitud a mis compañeros del Departamento de Fisiología Vegetal empezando por Bego, Luismi, Migue y Juanjo, sentiros orgullosos por crear escuela, de la que siempre me sentiré orgullosa de haber pertenecido.

A Eva, mi gratitud hacia ti no tiene palabras. Gracias por tu profesionalidad, pero sobretodo por tu amistad, consejos y apoyo.

A María del Mar por su amistad y hospitalidad en tierras lejanas, no podía haber elegido a nadie mejor para vivir esa experiencia, la cual siempre recordaré como una de las más bonitas de mi vida. Gracias por darme el último empujón.

A Christian por esos momentos de WTF que siempre me preocuparon hasta que comprendí que formaban parte de tu locura “divina”, los echaré de menos.

A David y Yurena, por ser el soplo de aire fresco tan necesario en esos momentos de desesperación y aparecer siempre con una sonrisa dispuestos a colaborar. De vosotros depende continuar inculcando los valores y compartir los momentos de amargura y alegría que ofrece la carrera investigadora a las nuevas generaciones que lleguen al laboratorio.

A Ana y Julio, de vosotros me llevo dos grandes amigos. Gracias por vuestra preocupación y apoyo constantes, que aunque sean en la distancia se sienten muy cercanos. Espero volver a veros pronto en otra de esas. Voy contando los días.

Un agradecimiento muy especial merecen mis mejores amigas María e Inma por la comprensión, paciencia y el ánimo que siempre me han infundido en los momentos más difíciles y por ser una vía de escape que me ha permitido coger impulso.

A mi abuelo Manuel, por inculcarme el amor por la naturaleza de forma tan sutil, que apenas ahora soy consciente de donde proviene mi vena investigadora en el campo de la Biología.

A mi madre y mi tía Conchi, sois un espejo en el que me encantaría reflejarme algún día. Gracias por la fe ciega que depositáis en mí, espero cumplir todas vuestras expectativas.

A mi padre, mis hermanos Alberto y Javi, mi primo David, y en general a toda mi familia porque donde quiera que vaya me siento orgullosa de donde vengo, gracias a los valores y la educación que he recibido y aún recibo de vosotros.

*A mi familia y
amigos*

No hay malas hierbas ni hombres malos; sólo hay malos cultivadores.

Victor Hugo.

ÍNDICE GENERAL



ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	25
I. INTRODUCCIÓN	31
1. Distribución geográfica de la producción mundial de tomate.....	33
2. Importancia económica del cultivo de tomate.....	34
3. Estado actual del problema y estrategias de producción en cultivos hortícolas	37
3.1. Invernaderos de malla	37
3.2. Sistemas de refrigeración	38
4. Impacto ambiental del invernadero de malla	42
5. Efecto de los sistemas de refrigeración sobre los parámetros climáticos.....	43
5.1. Invernadero de malla.....	43
5.2. Sistemas de refrigeración: sombreado y sistemas de nebulización.....	44
6. Efecto de los sistemas de refrigeración sobre el crecimiento y producción de cultivos hortícolas.....	46
7. Eficiencia en el uso de agua de los sistemas de refrigeración.....	49
8. Estrés ambiental y respuesta antioxidante en plantas.....	50
9. Estrés ambiental y calidad nutricional en frutos de tomate.....	54
II. OBJETIVOS	59
III. MATERIAL Y MÉTODOS	63
1. Descripción general de los tratamientos climáticos	65
1.1. Invernadero de malla.....	65
1.2. Sistema de nebulización.....	67
1.3. Sistema de pantalla plástica	69
2. Agronomía del cultivo de tomate <i>cherry</i>	71
2.1. Material vegetal.....	71
2.2. Características del suelo y del agua de riego	71
2.3. Labores culturales	73
2.3.1. Trasplante	74
2.3.2. Control integrado de plagas	74
2.3.3. Riego y abonado	78

2.3.4. Poda y entutorado	79
3. Estudio microclimático del cultivo de tomate <i>cherry</i>	79
4. Análisis de crecimiento del cultivo de tomate <i>cherry</i>	80
4.1. Índices de crecimiento.....	81
4.2. Contenido de clorofila.....	82
4.3. Nutrientes	82
4.4. Temperatura foliar.....	83
4.5. Evapotranspiración del cultivo (ET _c).....	83
5. Análisis de producción del cultivo de tomate <i>cherry</i>	84
6. Eficiencia en el uso del agua	84
7. Análisis de la respuesta antioxidante en fruto	85
7.1. Muestreo de frutos.....	85
7.2. Concentración de MDA	85
7.3. Concentración de H ₂ O ₂	85
7.4. Actividades enzimáticas: SOD, CAT y GPX.....	86
7.5. Ciclo AsA-GSH	88
7.5.1. Enzimas: APX, MDHAR, DHAR y GR.....	88
7.5.2. Concentración de AsA.....	89
7.5.3. Concentración de GSH	90
7.6. Ensayos de capacidad antioxidante.....	90
7.6.1. Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) y Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC).....	90
7.6.2. Efecto detoxificadora de radicales libres 2,2-diphenyl-1- picrylhydrazyl (DPPH) y Poder Reductor	91
7.7. Metabolismo de prolina.....	92
7.7.1. Concentración de prolina.....	92
7.7.2. Enzimas: GDH, P5CS,OAT y PDH	92
7.8. Concentración de poliaminas libres	93
8. Análisis de la calidad nutricional en fruto.....	94
8.1. Concentración de vitamina C	94
8.2. Concentración de carotenoides	94
8.3. Concentración de compuestos fenólicos	95
8.4. Determinación de azúcares y ácidos orgánicos.....	95
8.5. Relación azúcar: ácido	95

8.6. Índice de dulzor.....	96
8.7. Nutrientes	96
9. Análisis de costes de producción.....	96
10. Análisis estadístico	97
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	99
1. Estudio microclimático de un cultivo de tomate <i>cherry</i> sometido a distintos dispositivos de control climático en un invernadero de malla	101
1.1. Radiación.....	102
1.1.1. Radiación global	102
1.1.2. Radiación PAR	104
1.2. Temperatura del aire	105
1.3. Déficit de presión de vapor (DPV).....	109
1.4. Evolución diaria de los parámetros climáticos.....	111
1.5. Evolución de los parámetros climáticos durante el período de funcionamiento de los distintos sistemas de control climático	113
2. Análisis de crecimiento de un cultivo de tomate <i>cherry</i> sometido a distintos dispositivos de control climático en un invernadero de malla	115
2.1. Distribución de peso seco.....	115
2.2. Producción de frutos	119
2.3. Índices de crecimiento.....	122
2.4. Desarrollo foliar	127
2.4.1. Nutrientes.....	129
2.4.2. Temperatura foliar	133
2.4.3. Evapotranspiración del cultivo (ET _c).....	135
3. Análisis de la producción de un cultivo de tomate <i>cherry</i> sometido a distintos dispositivos de control climático en un invernadero de malla	136
3.1. Producción total, comercial y no comercial.....	136
3.2. Calibres de frutos	138
3.3. Distribución relativa de calibres.....	139
4. Eficiencia del uso del agua de un cultivo de tomate <i>cherry</i> bajo distintos sistemas de control climático en un invernadero de malla.....	140
5. Análisis de la respuesta antioxidante de frutos de tomate <i>cherry</i> sometidos a distintos sistemas de control climático en un invernadero de malla.....	144
5.1. Concentración de MDA y H ₂ O ₂	145

5.2. Actividades enzimáticas: SOD, CAT y GPX.....	147
5.3. Ciclo AsA-GSH	149
5.3.1. Enzimas: APX, MDHAR, DHAR y GR.....	149
5.3.2. Concentración de AsA	152
5.3.3. Concentración de GSH	155
5.3.4. Capacidad antioxidante.....	157
5.4. Metabolismo de prolina y poliaminas libres	159
6. Análisis de la calidad nutricional en frutos de tomate <i>cherry</i> sometidos a distintos sistemas de control climático en un invernadero de malla.....	166
6.1. Concentración de vitamina C y carotenoides.....	167
6.2. Concentración de compuestos fenólicos	169
6.3. Concentración de azúcares	171
6.4. Concentración de ácidos orgánicos	173
6.5. Relación azúcar: ácido e índice de dulzor.....	174
6.6. Nutrientes	175
7. Análisis de los costes de producción de un cultivo de tomate <i>cherry</i> sometidos a distintos sistemas de control climático en un invernadero de malla	179
V. CONCLUSIONES	185
VI. BIBLIOGRAFÍA	189
Anexo (Publicaciones preliminares).....	223

RESUMEN



La introducción del invernadero de malla como alternativa al cultivo protegido bajo plástico durante la época estival en zonas de clima templado está siendo ampliamente extendida en países como por ejemplo: México, Italia, Israel o España. En zonas de interior en el área Mediterránea, el uso de invernaderos de malla durante los meses de Mayo a Octubre, ha demostrado ser un sistema viable y complementario a la producción de hortalizas bajo invernadero de plástico en la costa Mediterránea (Octubre-Junio). Sin embargo, los cultivos de tomate durante el ciclo estival en invernaderos Mediterráneos, a menudo no logran sus óptimos de temperatura (21-27 °C) y humedad relativa (HR) (alrededor del 60%), al estar sometidos a valores de 40 °C de temperatura y de 10% de HR durante el mediodía solar. Recientemente se ha iniciado la incorporación de sistemas de nebulización bajo malla en zonas semiáridas y del Mediterráneo, como técnicas para reducir la temperatura, al convertir el calor sensible en latente. Sin embargo, el sistema adolece del aislamiento suficiente durante su funcionamiento, que hace que una gran parte del agua dispersada se pierda hacia el exterior de la estructura, donde las condiciones de temperatura y sequedad son extremas. La introducción de una pantalla plástica podría evitar dichas pérdidas y mantener las condiciones higrométricas proporcionadas por el sistema de nebulización.

Para comprobar la eficacia de estos sistemas refrigerativos complementarios a la cubierta de malla se desarrolló este estudio en el Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera, IFAPA Centro Camino de Purchil, ubicado en la Vega de Granada, dentro del término municipal de Granada (Latitud: 37° 10' 21''N; Longitud: 3° 38' 10''O; Altitud: 600 m), en cuyas instalaciones se construyó el invernadero de malla. La cubierta estaba constituida por malla mono-filamento de polietileno natural blanca-negra de 9 x 6 hilos cm⁻² (58% de porosidad). Las bandas de la estructura del invernadero se realizaron con malla negra de 16 x 10 hilos cm⁻² en todo el perímetro y rafia plastificada impermeable al aire.

En el sistema de nebulización, la frecuencia de los pulsos se fijó en 90 segundos y el déficit de presión de vapor (DPV) de consigna fue de 2,5 kPa, con un intervalo de funcionamiento durante el día de 6 horas alrededor del mediodía solar (entre las 10:00h y las 16:00h GMT). La instalación de una pantalla extensible de plástico tricapa de alta transparencia se realizó con el fin de evitar la pérdida de las gotas de agua dispersadas a través de la malla de cubierta porosa y, de esta forma, mejorar el efecto refrigerante conseguido por la nebulización.

Para la evaluación de los tres tratamientos propuestos (cultivo bajo invernadero de malla (M), cultivo bajo invernadero de malla con un sistema de nebulización (MN) y cultivo bajo invernadero de malla con un sistema de nebulización y una pantalla plástica sobre él (MNP)), se llevaron a cabo dos ciclos de cultivo durante Mayo-Octubre de 2010 y 2011, con plantas de tomate *cherry* (*Solanum lycopersicum* L. cv Alina) injertadas sobre Maxifort.

Por tanto, los principales objetivos de esta tesis doctoral estuvieron dirigidos hacia el estudio de los parámetros microclimáticos generados en un invernadero de malla por un sistema de nebulización con y sin una pantalla plástica complementaria y su efecto sobre el desarrollo de la planta, el rendimiento productivo, la respuesta antioxidante y la calidad nutricional de los frutos del cultivo de tomate *cherry*. Otro punto de vista a tener en cuenta para la tecnificación del invernadero es el aspecto económico, pues sería necesario realizar un balance de los costes añadidos que supondrían la adquisición de estos sistemas refrigerativos y la demanda de recursos hídricos, materiales y técnicos que conllevan.

En ambos ciclos, la integral de radiación global sobre el cultivo disminuyó con la incorporación del sistema de refrigeración y la incorporación de la pantalla plástica bajo el invernadero de malla (MN/ MNP; 14%/ 34% y 14%/ 36%, en el primer y segundo ciclo). De la misma manera, la radiación PAR fue un 19% y 23% menor en MNP durante 2010 y 2011, respectivamente, frente a los valores obtenidos en M. Los valores medios de temperatura máxima durante el período de funcionamiento del sistema de nebulización más altos se registraron en MNP y los más bajos en MN, aunque esta reducción fue más atenuada en 2011. Sin embargo, el DPV máximo de MNP fue similar al registrado en MN debido a que en este tratamiento, la pantalla plástica mantuvo la humedad relativa en valores en torno al 54% y 55% en ambos ciclos.

El aumento de temperatura junto con la reducción de la radiación incidente sobre las plantas bajo MNP, fueron las principales causas por las que disminuyó el número de frutos, permitiendo el aumento de su peso fresco medio. Este hecho conllevó que la producción comercial de tomate *cherry* no se viera afectada por la adopción de las distintas estrategias de control climático, aunque al alterar la carga de frutos en la planta, también se vio afectada la distribución de peso seco que se dirigió hacia ellos, mostrando los niveles más bajos del índice de cosecha. En estas plantas se favoreció el

crecimiento vegetativo frente al generativo, incrementando la superficie foliar y todos los índices relacionados con el desarrollo foliar como el índice de área foliar (*LAI*), el área foliar específica (*SLA*) y la razón de área foliar (*LAR*). Sin embargo, el desarrollo del *LAI* en MNP repercutió negativamente sobre la tasa de asimilación neta (*NAR*) y, por tanto, afectó a la tasa media del crecimiento del cultivo (*CGR*). No obstante, un menor valor de *CGR* en condiciones adversas podría suponer una ventaja adaptativa para este tratamiento, ya que el mantenimiento de biomasa tendría un menor coste energético para la planta. Una de las ventajas adaptativas de un bajo *CGR* en condiciones estresantes para la planta, sería la absorción y transporte de agua y nutrientes. MNP mejoró el estado fisiológico del cultivo, teniendo un efecto positivo sobre la concentración de N en hoja. Los valores de DPV máximo en M, junto con los mayores valores alcanzados de temperatura foliar y ET_c , pudieron propiciar un posible cierre estomático como consecuencia del estrés hídrico, que perjudicó la absorción de agua y este nutriente por la planta.

Otra de las posibles ventajas adaptativas, sería la inversión en otros mecanismos de respuesta frente al estrés, que en este estudio se analizaron a través de la respuesta antioxidante y su repercusión sobre la calidad nutricional del fruto. Los tratamientos con nebulización, MN y MNP, presentaron menor peroxidación lipídica puesto que la formación de H_2O_2 a través de la actividad superóxido dismutasa (SOD) fue menor durante los dos ciclos. El efecto de los sistemas de refrigeración en MN y MNP sobre las enzimas del metabolismo oxidativo: guaiacol peroxidasa (GPX), ascorbato peroxidasa (APX) y dehidroascorbato reductasa (DHAR) no fue estable, ya que dependió del tratamiento nebulizado y el ciclo analizados. Sin embargo, la reducción de la radiación solar proporcionada por la pantalla durante las horas de mayor insolación, pudo ser suficiente para la reducción en la concentración de estos indicadores de estrés, evitando la necesidad de la activación de la respuesta antioxidante.

El aumento de humedad relativa en MNP afectó negativamente a la calidad organoléptica de los frutos de tomate *cherry*, al reducir los parámetros de relación azúcar: ácido e índice de dulzor. Sin embargo, la reducción de la radiación proporcionada por la pantalla no afectó a los compuestos que definen la calidad nutricional del fruto como la concentración de licopeno y β -caroteno, manifestando resultados similares a MN.

En conclusión, MN y MNP no mostraron diferencias significativas en la producción comercial de tomate *cherry*, ni en la concentración de antioxidantes en sus frutos, por lo que otro punto a tener en cuenta para la tecnificación del invernadero es el económico. En este aspecto, la adquisición de una pantalla plástica sobre el sistema de nebulización supondría un aumento de los costes de producción, llegando a superar el umbral de rentabilidad del cultivo.

Finalmente y considerando todos los datos obtenidos en este trabajo de investigación se propone el uso de sistemas de refrigeración del tipo nebulización, sin la adquisición de una pantalla plástica durante su funcionamiento, debido a su alto umbral de rentabilidad, para obtener producciones de tomate *cherry* de mayor rentabilidad y calidad nutricional bajo un invernadero de malla durante los meses de Mayo a Octubre en zonas de la región Mediterránea.

I. INTRODUCCIÓN



1. Distribución geográfica de la producción mundial de tomate

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2012), el tomate es una de las hortalizas más cultivadas en el mundo, con un área cultivada total de 4,8 millones de hectáreas y con una producción de 162 millones de toneladas. El mayor productor de tomate es China, representando el 21% de la superficie mundial cultivada y con una producción del 31% respecto a la producción mundial. Los países del Mediterráneo constituidos por Egipto, España, Italia y Turquía suponen el 14% de la superficie total cultivada y el 17% de la producción mundial de tomate (Figura 1).

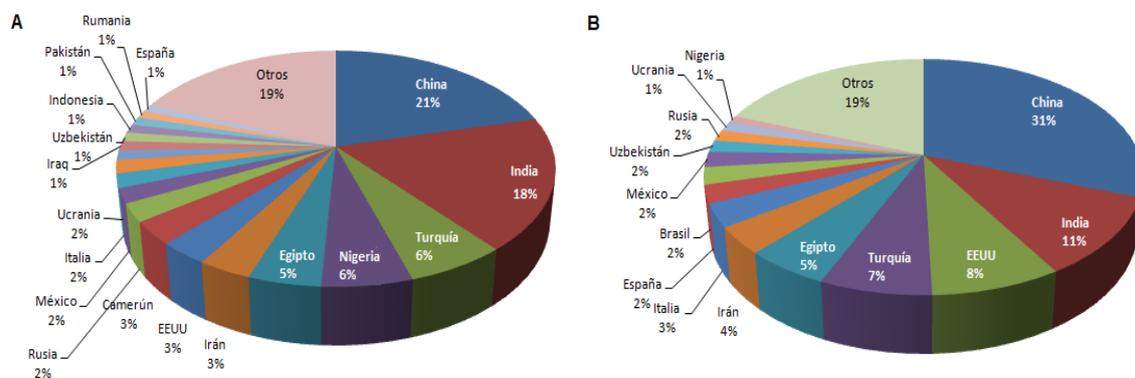


Figura 1. Distribución mundial relativa de A) la superficie cultivada y B) la producción de los principales países productores de tomate. Fuente: FAO, 2012.

Dentro de la Unión Europea, Italia, Rumanía y España suman más del 70% de la distribución de la superficie cultivada, por encima de países como Grecia, Francia o Países Bajos. Sin embargo, a nivel de producción, Italia y España son los mejores productores con el 60% del total en la producción de esta hortaliza (Figura 2). El incremento anual de la producción de tomate en los últimos años, se debe principalmente al aumento en el rendimiento.

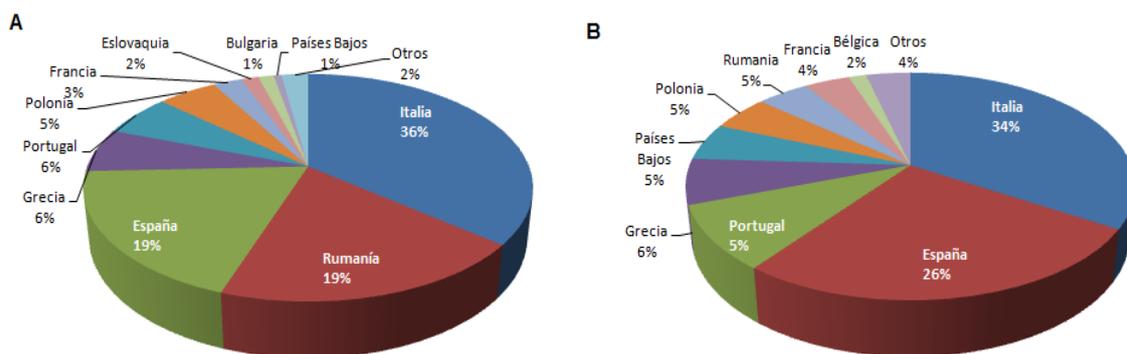


Figura 2. Distribución en la Unión Europea relativa de (A) la superficie cultivada y (B) la producción de los principales países productores de tomate. *Fuente:* FAO, 2012.

España ocupa los primeros puestos en Europa, gracias a poseer uno de los mejores rendimientos del cultivo de tomate (82 t ha^{-1}). No obstante, países europeos como Países Bajos, Bélgica, Islandia, Reino Unido o Irlanda, ocupan las principales posiciones en el rendimiento a nivel mundial del cultivo con valores de 400 t ha^{-1} . Esto es debido al aumento progresivo en la protección de cultivos frente a su producción al aire libre, entendiéndose como superficies protegidas tanto aquellas superficies bajo estructuras permanentes (invernaderos y macrotúneles), y no permanentes (acolchados y pequeños túneles) (García, 2007). En 2012, la superficie cultivada de tomate en España fue de 48.617 ha, de las cuáles el uso de invernadero supuso el 38% frente al 61% de superficie al aire libre y el 1% destinado a seco (MAGRAMA, 2012). Entre los principales factores que propician esta progresiva expansión de invernaderos en España y en toda la región Mediterránea están el clima con temperaturas medias cálidas durante los meses de invierno, gran número de días soleados y alta intensidad radiativa, el uso de materiales de bajo coste para su construcción y el encarecimiento que supone la implementación de sistemas de calefacción en los países del norte de Europa (Gruda, 2005).

2. Importancia económica del cultivo de tomate

Los principales países exportadores de tomate son: México con el 20% de las exportaciones mundiales, Países Bajos con el 14% y ocupando el tercer puesto, el primer país de la cuenca Mediterránea, España, con una exportación anual en 2011 de 964 mil toneladas con valor de 860 millones de euros (Figura 3) (FAO, 2012). Sin embargo, los países del Mediterráneo (España, Italia, Turquía, Jordania, Marruecos y

Francia, entre otros) suman el 38% de las exportaciones mundiales de tomate. Esto hace tener en cuenta cada vez más el sistema de producción de estos países, conocido por Castilla (2005) como ‘agrosistema mediterráneo’, un sistema de bajo nivel tecnológico, poco equipado y más barato, que ha permitido un enorme crecimiento de su superficie en los últimos decenios. En contraposición, el ‘agrosistema invernadero holandés’ se caracteriza por un elevado nivel tecnológico (invernaderos de vidrio) propio del norte de Europa. Los rendimientos son mayores en el ‘agrosistema invernadero holandés’ gracias a una gran inversión con altos costes de producción (0,5 y 0,3 € kg⁻¹ de tomate para los agrosistemas ‘holandés’ y ‘mediterráneo’, respectivamente. (Castilla, 2007). Sin embargo, los costes de transporte a los mercados europeos son menores que los de origen mediterráneo, lo que permite que ambas producciones estén presentes en los mercados de manera similar (Figura 3).

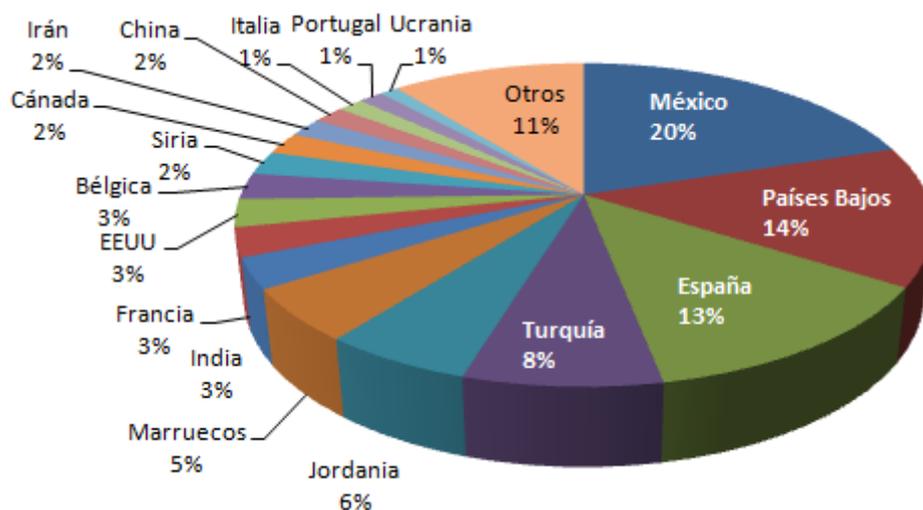


Figura 3. Distribución relativa de las exportaciones mundiales de tomate. Fuente: FAO, 2012.

Andalucía produce 1,5 millones de toneladas, el 40% de la producción nacional de tomate. Principalmente las provincias orientales de Almería, Jaén y Granada aportan más del 70% de la producción de la comunidad autónoma (892.000, 11.550 y 211.245 toneladas, respectivamente) (MAGRAMA, 2012). Pérez *et al.* (2002) indican que esto es debido a la alta rentabilidad que ofrece la protección de cultivos respecto a otros sistemas productivos, ya que el cultivo protegido supuso el 99%, 75% y 60% de la superficie total destinada al cultivo de tomate en dichas provincias, respectivamente (MAGRAMA, 2012).

Durante la campaña 2011/ 2012, el 33% de la producción de tomate estuvo destinada a la exportación, con un valor próximo a 544 millones de euros, el valor más alto alcanzado en las últimas campañas (Tabla 1).

Tabla 1. Evolución de las exportaciones andaluzas de tomate durante las campañas comprendidas entre 2008-2012.

Exportaciones de tomate				
	2008/ 2009	2009/ 2010	2010/ 2011	2011/ 2012
Volumen (t)	428.989	421.616	493.286	518.190
Valor (miles €)	448.180	470.319	502.005	544.026
Valor (€ kg ⁻¹)	1,04	1,12	1,02	1,05

Fuente DATACOMEX. El valor en de (€ kg⁻¹) de las exportaciones ha sido calculado como el cociente entre el valor y el volumen

La tendencia general en las campañas comprendidas entre 2009 a 2012 de la exportación de tomate, es la existencia de una carencia en la exportación en el período de Mayo a Octubre. Esta carencia es mínima en los primeros meses del año, principalmente en los meses de Enero, Febrero y Marzo, y máxima durante los meses de Septiembre y Octubre, presentando un ligero incremento hacia finales del año (Consejería de Agricultura y Pesca, 2013) (Figura 4).

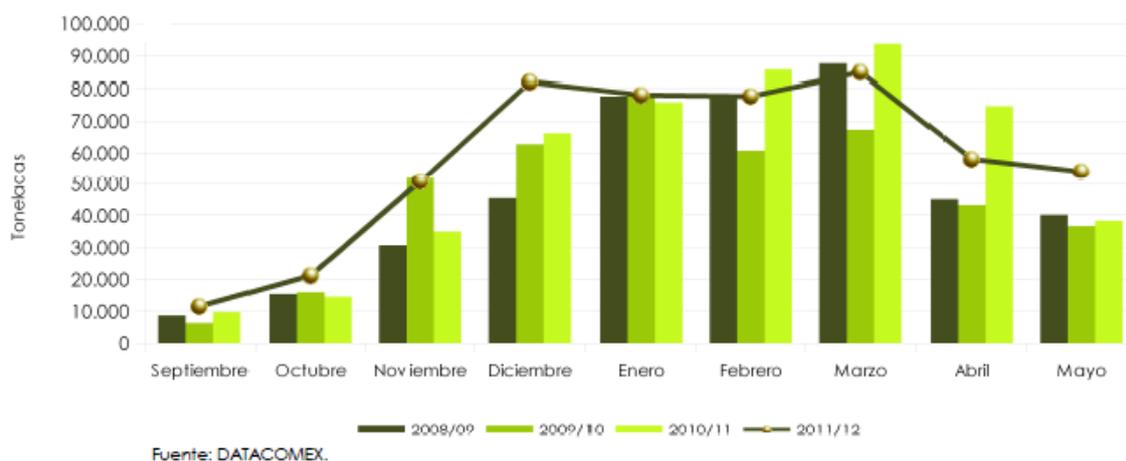


Figura 4. Evolución mensual de las exportaciones durante las campañas comprendidas entre 2009-2012.

3. Estado actual del problema y estrategias de producción en cultivos hortícolas

La producción de hortalizas durante todo el año puede abordarse básicamente mediante dos estrategias: a) la producción en invernadero de alta tecnología o b) producir en dos o más ubicaciones, cuyas épocas de recolección se complementen en el año. La primera alternativa ha sido adoptada con el ‘agrosistema invernadero holandés’, sin embargo, es una opción inviable desde el punto de vista económico en condiciones mediterráneas. Al igual que puede llevarse a cabo una combinación de ambos agrosistemas, produciendo en invernaderos sofisticados de vidrio en Países Bajos y en invernaderos de plástico en la costa sureste española (Castilla y Hernández, 2007), también se puede complementar la producción de invernaderos plásticos de la costa andaluza de otoño a primavera, con la producción procedente de invernaderos de malla en verano en comarcas de interior.

En España, más de la mitad de la producción de hortalizas de calidad de los invernaderos plásticos costeros se destina al mercado exterior, habiéndose creado en los últimos años una importante infraestructura de manipulación y comercialización de hortalizas para consumo en fresco en las zonas litorales productoras. Esta infraestructura, sin embargo, queda infrutilizada durante los meses estivales, cuando la producción en los invernaderos plásticos costeros de la península se interrumpe (Figura 4). En los últimos años se utilizan en numerosas comarcas de interior y de clima continental, estructuras de sombreado para el cultivo de hortalizas bajo malla en verano. El empleo de mallas para cubrir estructuras, tradicionalmente empleadas como umbráculos en viveros, se está extendiendo para cultivos convencionales de hortalizas. En las comarcas del interior peninsular, a cotas altas, el cultivo en invernaderos de malla constituye una opción de interés (Soriano *et al.*, 2006), pudiendo ser este sistema de cultivo una buena estrategia de recuperación económica y social de estas áreas.

3.1. Invernaderos de malla

La introducción del invernadero de malla como complemento al cultivo protegido bajo plástico en zonas de clima templado, está siendo ampliamente extendida en países como por ejemplo: México, Italia, Israel o España (Tanny *et al.*, 2010; Romero-Gómez *et al.*, 2012a). En zonas de interior en el área Mediterránea, el uso de invernadero de malla durante Mayo-Octubre, ha demostrado ser un sistema viable y complementario a la

producción de hortalizas bajo invernadero de cubierta plástica en la costa Mediterránea durante Octubre-Junio (Romero-Gámez *et al.*, 2009).

Actualmente existen en el mercado gran variedad de materiales de cerramiento de estructuras para el cultivo protegido. La transmisividad a la radiación solar de las mallas depende tanto de sus características (color, calibre, diámetro del hilo y porosidad), como del ángulo de incidencia de los rayos solares sobre ellas. Así, a medida que disminuye la porosidad y/o aumenta el ángulo de incidencia, van disminuyendo los valores de transmisividad (Romero-Gámez *et al.*, 2012a).

El empleo de mallas de colores provoca una diferenciación espectral en la radiación solar incidente a fin de modificar la productividad, el nivel de estrés, mejorar la vitalidad del dosel vegetal, de la maduración y color del fruto, su tamaño y calidad (Shahak, 2007). Las mallas de hilo blanco son las más adecuadas para maximizar la transmisión de la radiación difusa aumentando la uniformidad de la distribución espacial de la radiación dentro del invernadero y mejorando así la eficiencia del uso de la radiación por el cultivo (Mermier y Baille, 1980). La radiación difusa es parte de la radiación incidente que procede de todas las direcciones del conjunto de la bóveda celeste, debido a las reflexiones, desviaciones y dispersiones provocadas por las nubes, gases y aerosoles de la atmósfera (Hanan, 1998). Sin embargo, la transmisividad de mallas blancas a la radiación solar global y a la radiación fotosintéticamente activa (PAR) es muy elevada, ya que al ser translúcidas dejan pasar parte de la radiación a través de los hilos. Esto podría ser un inconveniente en épocas de máxima insolación, como ocurre durante el verano en los países del Mediterráneo. Por el contrario, las mallas negras absorben todas las longitudes de onda reflejando menos radiación tanto hacia el exterior como bajo la malla. Por esta razón, las mallas de hilo blanco-negro al tener un comportamiento intermedio a las mallas blancas y/o negras frente a la radiación global y al enriquecimiento en radiación solar difusa, son el tipo de malla con mayor difusión en el ámbito agrario para estructuras de sombreado (Romero-Gámez, 2011).

3.2. Sistemas de refrigeración

Los cultivos de tomate durante los ciclos estivales en invernaderos Mediterráneos, a menudo no logran sus óptimos de temperatura (21-27 °C) y humedad relativa (HR) (alrededor del 60%), al alcanzarse valores de 40 °C de temperatura y del 10% de

humedad relativa durante el mediodía solar (Sato *et al.*, 2000; Peet *et al.*, 2003; Abdel-Ghany *et al.*, 2012). Como consecuencia del estrés originado por estas condiciones, las plantas reducen los procesos de transpiración y fotosíntesis, disminuyendo la producción de biomasa y afectando severamente al crecimiento y la producción (Morales *et al.*, 2003). Por esta razón, la introducción de sistemas de refrigeración, basados principalmente en el enfriamiento evaporativo (nebulización y pantallas evaporativas) han sido acogidos como técnicas para reducir la temperatura al convertir el calor sensible en latente, en zonas semiáridas y del Mediterráneo (Arbel *et al.*, 2003; Kittas *et al.*, 2003) (Foto 1). A continuación se describen los principales sistemas de refrigeración en los invernaderos mediterráneos:

Ventilación natural

La ventilación natural del invernadero es el mecanismo mediante el cual se produce el intercambio entre el aire interior (más caliente y húmedo) y el aire exterior (más frío y seco) debido a las diferencias de presión que se generan a ambos lados de las ventanas (Baeza *et al.*, 2010). Este hecho es fundamental en invernaderos con hermeticidad, ya que la falta de ventilación puede incidir negativamente sobre el rendimiento de los cultivos al producirse un déficit en la concentración de CO₂, al verse reducida la entrada de aire externo.

Ventilación forzada

Los sistemas de ventilación forzada consisten en establecer una corriente de aire mediante ventiladores extractores, desalojando el aire caliente del invernadero para que el volumen extraído sea ocupado inmediatamente por aire de la atmósfera exterior. Con este sistema se puede conseguir una temperatura idéntica a la del exterior, y su control es más preciso que el que se logra con la ventilación natural.

Sombreo

El sombreado es la solución definitiva para el enfriamiento del invernadero por sus efectos en la productividad (Kittas *et al.*, 2009). Es necesario conocer la intensidad óptima de sombreado para maximizar su acción sobre el rendimiento y calidad de la cosecha (Cockshull *et al.*, 1992). Existen dos tipos de sistemas de sombreado:

- Sistemas pasivos: basados en la aplicación de un porcentaje fijo de reducción de transmisión de luz sobre el cultivo, con independencia de la variación de la intensidad de radiación durante el ciclo diario (Lorenzo *et al.*, 2010), como son el blanqueado o encalado y el uso de mallas de sombreo fijas instaladas en el interior o exterior de la cubierta del invernadero.

- Sistemas activos o dinámicos: basados en la aplicación de un porcentaje variable de reducción de transmisión de luz sobre el cultivo en relación a la variación de la intensidad de radiación y de temperatura durante el ciclo diario. Estos sistemas se accionan mediante consignas de intensidad de radiación y temperatura (Lorenzo *et al.*, 2010).

Sistemas de refrigeración por evaporación de agua

El uso de enfriamiento por evaporación también está asociado con un aumento de la humedad relativa en el interior del invernadero, siendo deseable en zonas de clima seco (Arbel *et al.*, 1999; Willits, 1999; Katsoulas *et al.*, 2001; Gonzalez-Real y Baille, 2006). La refrigeración evaporativa puede ser obtenida por la pulverización de agua en un volumen ventilado (nebulización) o forzando aire a través de uno o más paneles evaporadores (pantallas evaporativas). Ambos combinan la caída de la temperatura con un aumento de la humedad absoluta, contribuyendo al descenso del déficit de saturación y moderando la demanda de transpiración climática (Kittas *et al.*, 2000).

- Pantallas evaporativas: consisten en colocar una pantalla de material poroso que se satura de agua por medio de un equipo de riego. La pantalla se sitúa a lo largo de todo un lateral o un frontal del invernadero. Las pantallas suelen estar confeccionadas con fibras orgánicas o con materiales celulósicos en láminas corrugadas y pegadas con aditivos (Gázquez *et al.*, 2010).

- Nebulización: consiste en distribuir en el aire un gran número de gotas de agua de pequeño tamaño (mayor superficie de contacto con el aire), que al evaporarse, absorben el calor latente del aire (Gázquez *et al.*, 2010). La reducción en la temperatura e incremento de la humedad relativa, hace que los sistemas de nebulización sean más eficientes que otro tipo de sistemas de refrigeración, como el sombreo y/o sistemas de

ventilación forzada (Katsoulas *et al.*, 2009). Los sistemas de nebulización son menos eficientes que las pantallas evaporativas, sin embargo, su menor coste de instalación los hace más atractivos para su uso en invernadero (Katsoulas *et al.*, 2009). Se distinguen varios tipos de sistemas de nebulización:

Nebulización de alta presión

Estos sistemas necesitan agua de muy buena calidad y trabajan a una presión entre 40 y 70 Kg m⁻² por lo que requieren tuberías de acero o cobre. El 95% de las gotas dispersas son menores de 10 micras de diámetro. El caudal de agua evaporada por la boquilla es de unos 5 L h⁻¹ (Gázquez *et al.*, 2010).

Nebulización de baja presión

Este sistema trabaja entre 3 y 6 kg m⁻² de presión. El diámetro de gota es mucho mayor que en los sistemas de alta presión, por lo que es necesario emplear tiempos de funcionamiento más cortos para evitar el mojado de la planta. Esto hace que la evaporación sea menor con el mismo consumo de agua. Sin embargo, presenta la ventaja de poder emplear agua de peor calidad y tuberías de plástico para la distribución de agua, disminuyendo los costes de instalación y de funcionamiento (Gázquez *et al.*, 2010).

Nebulización mediante sistema aire-agua

Este es un sistema en el que la nebulización es ocasionada por aire a alta presión que rompe las gotas de agua. En estos sistemas hay dos circuitos, uno para el aire comprimido (6-8 Kg cm⁻²) y otro para el agua (2-6 Kg cm⁻²). La mezcla entre el aire y el agua se produce en el interior del cuerpo de la boquilla. Al permitir regular las presiones de trabajo tanto del aire como de agua, se puede modificar el tamaño de la gota (de 5 a 100 micras), el alcance de la boquilla y el consumo de agua (Gázquez *et al.*, 2010).

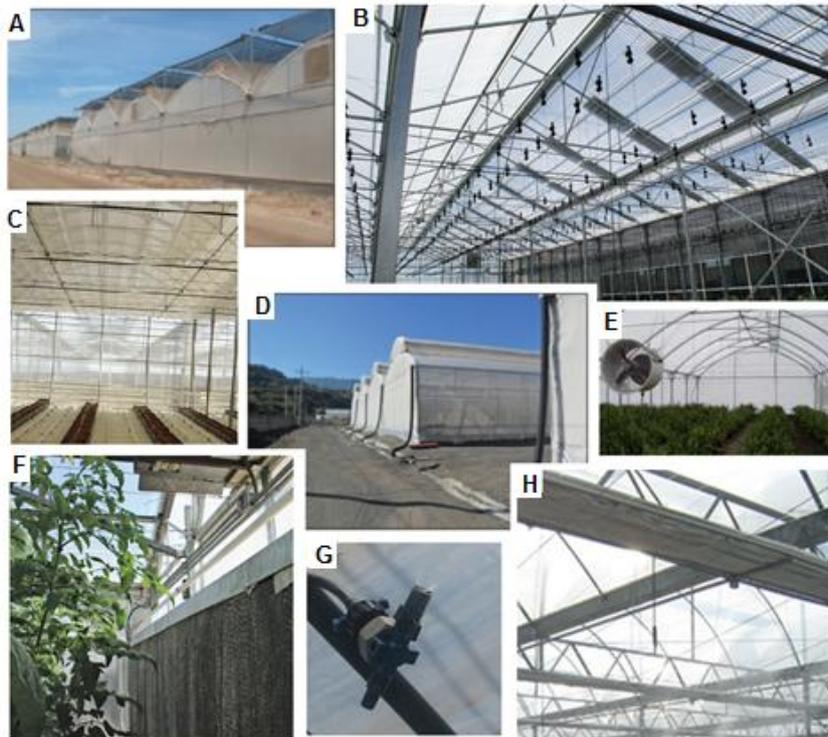


Foto 1. Sistemas de refrigeración usados en invernaderos Mediterráneos: **(A)** sombreado exterior fijo, **(B)** y **(C)** sombreado móvil interior, **(D)** ventilación natural mediante ventanas cenitales, **(E)** desestratificador, **(F)** pantalla evaporativa, **(G)** nebulizador, **(H)** sistema de nebulización y sombreado interior móvil. *Fuente: Tecnologías de Horticultura Mediterránea (THM), Semillero Laimunal S.L. y Trinog-xs greenhouse Tech Co; Ltd.*

4. Impacto ambiental del invernadero de malla

Un factor a tener en cuenta es la implicación de los diferentes sistemas de cultivo en la explotación del medio natural. Tanto en la práctica de la agricultura intensiva bajo plástico como en los cultivos y plantaciones al aire libre, se producen agresiones de mayor o menor intensidad al medio y sobre los recursos del mismo, principalmente, por el uso y manejo de estructuras, equipamientos y técnicas de cultivo. En el cultivo bajo invernadero tienen lugar procesos que forman parte del ciclo de vida del producto, capaces de producir daños al entorno. Se requiere, por tanto, un conocimiento más profundo sobre los impactos ambientales de las actividades agrícolas habituales (Mourad *et al.*, 2007) y valorar la calidad ambiental del producto agrícola. Es necesario evaluar los respectivos procesos productivos e impactos ambientales potenciales que éstos ocasionan y realizar un análisis objetivo mediante procesos como el Análisis del Ciclo de Vida (ACV). El ACV es una técnica para determinar los aspectos ambientales

e impactos potenciales asociados a un producto, lo cual se efectúa recopilando un inventario de las entradas y salidas relevantes del sistema, evaluando los impactos ambientales potenciales asociados a esas entradas y salidas, e interpretando los resultados de las fases de inventario e impacto en relación con los objetivos del estudio (ISO 14040, 2006). De esta forma, se pretende conseguir una selección y mejora de las estructuras, sus equipamientos y de las técnicas de cultivo más respetuosas con el entorno y los recursos naturales.

Los primeros estudios de análisis de impacto ambiental mediante ACV en invernaderos de malla son muy recientes (Romero-Gómez *et al.*, 2012b). Estos autores, analizaron las cargas ambientales asociadas al cultivo de judía verde, a lo largo de su ciclo de vida, desde las materias primas inicialmente empleadas hasta el final de los residuos generados. Se compararon tres sistemas de producción: invernadero de malla, invernadero de malla equipado con un sistema de nebulización y un cultivo tradicional al aire libre, en dos ciclos de cultivo de primavera-verano. Fue el sistema de cultivo al aire libre el que mostró un mayor impacto ambiental debido a la mayor producción obtenida en el cultivo bajo invernadero de malla.

5. Efecto de los sistemas de refrigeración sobre los parámetros climáticos

5.1. Invernadero de malla

El efecto más notable de la malla sobre el microclima, es la reducción en la transmisividad a la radiación solar, entendiéndose ésta como el cociente entre la radiación interior y exterior del invernadero de malla (Tanny, 2013). Waggoner *et al.* (1959) consiguieron una reducción del 20% en la radiación de onda corta o global donde se incluye también la radiación PAR (400-700 nm) en un día soleado con una malla del 56% de porosidad. Datos similares fueron obtenidos por Allen (1975) sobre un cultivo de soja con una reducción en la transmisividad del 30% para ambas radiaciones, global y PAR.

Mientras que los efectos de la malla en la radiación solar incidente son conocidos, su efecto en la temperatura es más complejo (Tanny, 2013). Se presume que al reducir la radiación solar directa disminuye la temperatura del aire, sin embargo varios estudios demuestran el aumento de la temperatura ambiental bajo invernaderos de malla (2-3 m

de altura) en 1,0 °C hasta 3,5 °C respecto a la temperatura exterior durante el día (Waggoner, 1959; Desmarais *et al.*, 1999; Möller y Assouline, 2007). Este gradiente positivo en la temperatura interior se debió principalmente a la evaporación procedente de la superficie del suelo que es inversa al incremento en el nivel de sombreado proporcionado con la malla. Esto ocurre gracias a que la malla impide la ventilación y generalmente inhibe el intercambio de vapor de agua en el interior del invernadero de malla (Tanny *et al.*, 2013). No obstante, Tanny (2013) consiguió un aumento en la humedad relativa ambiental del 8% frente a las condiciones externas en un cultivo de banana.

También se han observado variaciones en el microclima generado bajo la malla, por la altura de la estructura. Un ensayo con umbráculos de 2 y 4 m de altura mostró como, aunque la radiación neta transmitida fue casi idéntica, la temperatura y el déficit de presión de vapor (DPV) del aire cerca de las plantas y las temperaturas de hoja eran mayores para el invernadero de menor altura, con diferencias durante el mediodía de 1,5 °C en la temperatura de aire y 2 °C en la de hoja. También la humedad del invernadero de mayor altura fue más próxima a la exterior, lo que indica una mayor ventilación (Picuno *et al.*, 2008).

Un aspecto muy importante, desde el punto de vista de la optimización del uso de recursos, va a ser el aumento en la eficiencia en el uso del agua por los cultivos bajo malla. La reducción de la radiación provoca un descenso significativo de la evapotranspiración (Medrano *et al.*, 2005) y por tanto de las necesidades de riego con respecto al aire libre (Romero-Gómez *et al.*, 2009).

5.2. Sistemas de refrigeración: sombreado y sistemas de nebulización

Los mejores sistemas de refrigeración en invernadero bajo un clima seco y soleado, propio del verano en el área Mediterránea, son el sombreado (Bailey *et al.*, 2000; Baille *et al.*, 2001; Castilla, 2001) y el enfriamiento evaporativo (Arbel *et al.*, 1999; Kittas *et al.*, 2001; Montero *et al.*, 2001; Katsoulas *et al.*, 2009).

García *et al.* (2011) postularon que el método de refrigeración más apropiado para mejorar las condiciones climáticas durante el verano en invernaderos Mediterráneos, era el sombreado móvil exterior, regulado por consignas de radiación y temperatura (accionado cuando se superaban los 27 °C y/o la radiación solar se encontraba alrededor

de 600-700 W m⁻²), acoplado a un sistema de nebulización (con una consigna de DPV de 1,5 kPa). Tras la comparación de ambos sistemas de refrigeración, el sombreado redujo un 21% la radiación incidente mientras que esta reducción fue menor a la registrada en el invernadero bajo nebulización, aunque los datos obtenidos siempre estuvieron por encima de los valores establecidos para un crecimiento adecuado de plantas de alta saturación lumínica, como es el cultivo de tomate (8,5 MJ m⁻² d⁻¹) (FAO, 1990). No se redujeron las temperaturas máximas, manteniéndose muy similares (en torno a los 30 °C) en ambas condiciones de refrigeración. Sin embargo, la nebulización mostró ser más eficaz en el control del DPV ambiental, consiguiendo valores de 2,3 kPa frente a los 3,0 kPa del sombreado, pero aún muy lejos del valor de consigna impuesto, aunque el aporte de agua por el sistema fue de aproximadamente 2 L m⁻² d⁻¹. Muchos autores compararon la eficiencia de sistemas evaporativos en la reducción de DPV en invernaderos plásticos de climas semiáridos (Romero-Aranda *et al.*, 2002; Montero, 2006). Katsoulas *et al.* (2006) consiguió una reducción de 1,4 kPa en el DPV en invernaderos sombreados y provisto de nebulización, frente a condiciones desprovistas de nebulización durante el verano.

La instalación de sistemas de nebulización de baja presión en invernaderos, es considerada como una opción interesante para el cultivo de hortalizas durante el verano, debido principalmente, a su coste de instalación al utilizar tuberías plásticas y que no requieren agua de alta calidad, contrario al sistema de alta presión (Gázquez *et al.*, 2010). Romero-Gómez *et al.* (2012) estudió el efecto de un sistema de nebulización de baja presión sobre el microclima en un invernadero de malla con un cultivo de judía. El efecto de dicho sistema sobre la radiación incidente fue una reducción de 140 MJ m⁻² en la integral de radiación del ciclo y de 150 μmol m⁻² s⁻¹ en la radiación PAR frente al invernadero de malla sin nebulización. De acuerdo con Urban y Langelez (1992) esta reducción no supone ningún efecto negativo en plantas de baja o alta saturación lumínica. La mejora en los parámetros de temperatura y DPV fue sustancialmente significativa (3,5 °C y 1,5 kPa frente a condiciones no refrigeradas), cuando el valor de consigna del sistema de nebulización fue de 2,5 kPa, y para ello el sistema de refrigeración requirió un aporte aproximado de 1,4 L m⁻² d⁻¹ de agua. La actuación comparativa de un sistema de baja y alta presión (0,4 MPa y 6,9 MPa, respectivamente) fue estudiado por Li y Willits (2008) en invernaderos con ventilación natural en los meses de Junio hasta Agosto. La máxima diferencia alcanzada bajo el sistema de

nebulización de baja presión frente a condiciones no nebulizadas fue de 7 °C. Igual de significativo fue el incremento en la HR ambiental del 25% (del 42% al 67%, respectivamente). Cuando la eficiencia del sistema se encontraba al 57% se incrementó aún más dicha diferencia (9 °C), gracias a la contribución de un aumento de HR del 31%. Sin embargo, el sistema de alta presión produjo los mejores resultados tras alcanzar eficiencias evaporativas de un 64% mayor a las registradas por el sistema de baja presión, lo que se tradujo en reducciones aproximadas de 14 °C en las temperaturas máximas.

La eficiencia del uso de sistemas de refrigeración ha sido ampliamente estudiada en invernaderos con ventilación mecanizada (Arbel *et al.*, 2003; Sabeh *et al.*, 2006; Max *et al.*, 2009), al igual que existen estudios comparativos entre el efecto combinado de estos sistemas con el sombreado fijo (Gázquez *et al.*, 2006) o móvil (García *et al.*, 2011) sobre el clima del invernadero en zonas del Mediterráneo. La instalación de pantallas de sombreado, tanto fijas como móviles en el interior del invernadero suponen un obstáculo para el paso natural de la corriente de aire, lo que no solucionaría la problemática generada por las altas temperaturas y DPV propias de los invernaderos mediterráneos durante los ciclos de verano (García *et al.*, 2011). Esta desventaja estaría compensada por la instalación de un sistema de nebulización, al mitigar los daños provocados por niveles de temperatura excesivos supliendo la falta de ventilación por el enfriamiento evaporativo (Montero *et al.*, 2003).

6. Efecto de los sistemas de refrigeración sobre el crecimiento y producción de cultivos hortícolas

La productividad de las plantas depende del microclima por su influencia directa sobre los procesos fisiológicos de fotosíntesis, respiración, transpiración y transporte de nutrientes (Jones, 1985). Las condiciones microclimáticas que se crean están influidas por el conjunto de intercambios que ponen en juego procesos físicos como la evaporación de agua del suelo o la condensación en la cubierta, al igual que procesos fisiológicos como la transpiración y/o la respiración del dosel vegetal (García, 2007).

El exceso de radiación y las altas temperaturas propias del periodo estival en el clima Mediterráneo, son a menudo los factores más limitantes que afectan al crecimiento de la planta y/o al rendimiento del cultivo (Wahid *et al.*, 2007). Como consecuencia del estrés

originado por estas condiciones, las plantas reducen los procesos de transpiración (al proceder al cierre estomático para evitar pérdidas de agua) y de fotosíntesis (al disminuir el intercambio gaseoso), en contraposición a los procesos de respiración que se potencian (única vía de obtención de energía). Consecuentemente, la producción de biomasa y el transporte vía xilema de nutrientes disminuyen, viéndose el crecimiento y producción severamente afectados (Adams y Ho, 1993; Morales *et al.*, 2003), además del efecto negativo que estas condiciones ambientales adversas tienen sobre la floración del tomate (Dane *et al.*, 1991), la polinización (Adams *et al.*, 2001) y el cuajado (Peet *et al.*, 1997). A nivel de fruto, una alta intensidad de la radiación solar, altas temperaturas y bajos niveles de HR (características del clima mediterráneo durante el verano) generan desórdenes fisiológicos relacionados con su nutrición (Savvas *et al.*, 2008). Dos de los desórdenes con más prevalencia que ocurren en fruto como consecuencia de la exposición a estas condiciones estresantes son: podredumbre apical (conocido por sus siglas en inglés BER, Blossom-end rot) y agrietado (Foto 2A y 2C). Ambos pueden constituir pérdidas de producción del 50 al 95% (Dorais *et al.*, 2004; Taylor y Locascio, 2004). La podredumbre apical está producida por el escaso transporte de Ca^{2+} al fruto manifestando un necrosamiento en su parte apical (Ho y White, 2005). El agrietado ocurre predominantemente en la mitad proximal del fruto de tomate en avanzado estado de maduración (Peet y Willits, 1995).

La temperatura máxima del invernadero no debería exceder los 30-35 °C durante períodos prolongados para cualquier cultivo (Kittas *et al.*, 2011), pues es el parámetro más importante del clima en invernadero que necesita ser controlado, al influir directamente sobre la distribución de asimilados. Durante la fase de crecimiento vegetativo, una temperatura alta (25 °C) favorece el crecimiento foliar a expensas del ápice, en contraposición a una temperatura baja (15 °C). Al existir una interrelación entre el estrés por altas temperaturas y el estrés hídrico, las principales adaptaciones de la planta estarán dirigidas a evitar la pérdida de agua, disminuyendo el tamaño celular, cerrando estomas, incrementando la densidad estomática y aumentando los vasos xilemáticos en raíz y tallo (Añon *et al.*, 2004).

El segundo parámetro que necesita ser controlado en el clima del invernadero es la humedad (expresada en términos de HR) (Kittas *et al.*, 2011). Los rangos de HR de 60-90% no tienen efectos significativos en plantas (Grange y Hand, 1987). Valores por debajo del 60%, pueden ser alcanzados durante la ventilación en climas áridos, o

cuando las plantas presentan poca densidad foliar y pueden causar episodios de estrés hídrico. Valores por encima del 95% durante largos períodos, favorecen el crecimiento y rápido desarrollo de enfermedades fúngicas como por ejemplo *Botrytis cinerea* (O'Neal *et al.*, 2002). El mantenimiento de niveles adecuados de DPV para favorecer una adecuada transpiración evitando problemas asociados con la deficiencia de calcio, está siendo de sumo interés en cultivos donde el órgano cosechable es el fruto, debido a que es un nutriente con baja movilidad dentro de la planta. El mantenimiento del DPV por encima del mínimo además de asegurar una adecuada transpiración, evita la proliferación de enfermedades (Kittas *et al.*, 2011).

Las diferentes respuestas de las plantas al uso de sombreo como técnica de refrigeración, van a depender de las propiedades físicas que la malla de sombreo muestre a la transmisión de radiación, del comportamiento de la planta frente a la acumulación y distribución de materia seca a los frutos, del estado de desarrollo de la planta y de la densidad de plantación (Papadopoulos y Pararajasingham, 1997; Cohen *et al.*, 2005). Varios autores comprobaron que reducir la radiación incidente provocaba aumentos en la superficie foliar, lo que normalmente repercute en un mayor índice de área foliar (LAI) en el cultivo de tomate y del área foliar específica (SLA) (Cockshull *et al.*, 1992; Schwarz *et al.*, 2002; Sandri *et al.*, 2003), permitiendo contrarrestar esa reducción de la radiación, con un aumento de su interceptación y eficiencia en su uso (García, 2007). Muchas de las adaptaciones morfo-fisiológicas de las plantas con el fin de protegerse de una alta radiación, están relacionados con reducción en el SLA, aumento de grosor de la hoja debido a la cantidad de capas o al crecimiento del tejido en empalizada y/o a un desarrollo profundo de la capa esponjosa (Fan *et al.*, 2013). Smith *et al.* (1984) obtuvo un aumento de la tasa de asimilación neta (NAR) en un cultivo de pepino sin sombrear respecto a otros cultivos bajo sombreado del 15-40%.

En relación a los sistemas de nebulización, existen cambios entre valores medios de NAR con la HR cambiante diurna, lo que haría pensar en un posible efecto sobre el CGR del cultivo. Bakker (1991) observó que los valores medios de NAR eran inversos a los valores de DPV, en cambio en la relación de LAR no observó ningún efecto por parte de la humedad. Esto provocó que el RGR (influenciado sólo por el NAR) también disminuyera por el cambio en la HR ambiental. El efecto del DPV mayor de 1,0 kPa y menor a 2,5 kPa, hizo que al disminuir la demanda hídrica del ambiente, aumentara la

superficie foliar y el SLA (Gautier *et al.*, 1999; Romero-Aranda *et al.*, 2002). Esta reducción en la demanda hídrica del ambiente gracias al uso de la nebulización podría ayudar a combatir diversos estreses secundarios derivados del estrés hídrico, como es el estrés salino. Numerosos autores han investigado la posibilidad de mejorar el rendimiento y la calidad de la producción al intervenir sobre el balance hídrico de la planta, mediante la manipulación de las pérdidas por transpiración, modulando el efecto de la salinidad sobre la zona radicular (Bertín *et al.*, 2000; Romero-Aranda *et al.*, 2002; Abdel-Mawgould *et al.*, 2004). Así, con el uso de métodos de evaporación de agua, se redujo el estrés hídrico como consecuencia del estrés salino y consiguieron aumentar el peso de la producción, aunque no en todos los casos fue acompañado por una mejora en la calidad (García *et al.*, 2007).

7. Eficiencia en el uso del agua de los sistemas de refrigeración

La eficiencia en el uso del agua se define como la relación entre los gramos de producción fresca comercial y los litros de agua consumidos (Gázquez *et al.*, 2010). El análisis de la eficiencia en el uso del agua es un aspecto clave para la gestión de los recursos naturales de los cultivos hortícolas protegidos (Fernández y Camacho, 2005). Numerosos autores apuntan a un aumento en la eficiencia en el uso del agua en invernadero de malla frente al aire libre (Möller *et al.*, 2004; Möller y Assouline, 2007; Romero-Gómez *et al.*, 2012a) debido principalmente a la reducción en el consumo de agua de riego (Tanny, 2010), causado por la disminución de la radiación incidente sobre el dosel vegetal y de la transpiración del cultivo, permitiendo un aumento en el rendimiento del mismo (Medrano *et al.*, 2004). La reducción en el consumo de agua de riego en invernadero de malla frente al aire libre, sin que se viera comprometida la producción, fue un 50% en un cultivo de pimiento (Tanny, 2010) y un 29% en un cultivo de judía (Romero-Gómez *et al.*, 2012a).

Se deberían conseguir mejoras significativas de la eficiencia en el uso del agua implementando un manejo ambiental. Sin embargo, la incorporación de sistemas de refrigeración como la nebulización y/o la ventilación forzada no contribuyen a un incremento del uso eficiente del agua frente al blanqueo (Gázquez *et al.*, 2010). Esto es debido a que existe una relación lineal entre la radiación incidente y la transpiración foliar, por tanto, el sombreado disminuye la transpiración del dosel vegetal (Medrano *et*

al., 2004) y en consecuencia reduce las necesidades hídricas del cultivo. La reducción en la transpiración conseguida por la nebulización, aunque supone un menor consumo de agua, no logra un ahorro de agua si se considera el volumen de agua utilizada por el propio sistema de nebulización (Medrano *et al.*, 2005; Montero, 2006). Katsoulas *et al.* (2009) consiguió una reducción en el consumo de agua del 30%, representando el agua usada por el sistema de nebulización el 60% del agua total requerida por un cultivo de berenjena. Según Lorenzo *et al.* (2004) la nebulización supuso el 30% del agua consumida por el cultivo de tomate.

8. Estrés ambiental y respuesta antioxidante en plantas

El clima Mediterráneo está caracterizado por largos y calurosos veranos (alcanzando los 40 °C en el mediodía solar), alta radiación solar (integral de radiación diaria de 30 MJ m⁻²), sequedad ambiental (humedad ambiental por debajo del 10%) y recursos hídricos limitados (Abdel-Ghany *et al.*, 2012). Estas condiciones ambientales extremas inducen numerosas respuestas bioquímicas, incluyendo proliferación de especies reactivas de oxígeno (ROS) que alteran el normal funcionamiento del metabolismo en las plantas, causando peroxidación lipídica, desnaturalización de proteínas y daños a nivel de ADN (Alselmani *et al.*, 2006). El contenido de ROS está controlado por un sistema antioxidante que está constituido por compuestos de bajo peso molecular (ascorbato y glutatión) y enzimas antioxidantes como superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), guaiacol peroxidasa (GPX) y enzimas implicadas en el denominado ciclo ascorbato-glutatión (conocido como ciclo AsA-GSH o ciclo Halliwell-Asada): ascorbato peroxidasa (APX), dehidroascorbato reductasa (DHAR), monodehidroascorbato reductasa (MDHAR) y glutatión reductasa (GR) (Turhan *et al.*, 2008) (Figura 5).

La SOD es una metaloenzima que lleva a cabo la eliminación del O₂⁻ mediante una reacción de dismutación, generando H₂O₂ y oxígeno molecular en el proceso (Rubio *et al.*, 2007). Este H₂O₂ puede ser sustrato de numerosas enzimas como la CAT, que se encuentra localizada en los peroxisomas donde la concentración de H₂O₂ es muy alta, sin embargo está ausente en el citosol y cloroplastos, por lo que la eliminación de H₂O₂ es llevada a cabo por la APX y otras peroxidasas (Feierabend, 2005). El objetivo principal del ciclo AsA-GSH es eliminar H₂O₂ utilizando el poder reductor del NAD(P)H, cuya reacción inicial está catalizada por la APX. Así, el H₂O₂ es reducido a

H₂O utilizando AsA y generando monodehidroascorbato (MDHA), que puede oxidarse espontáneamente a dehidroascorbato (DHA). El AsA puede ser regenerado, bien a partir del MDHA por la MDHAR con oxidación de NADH, o a partir del dehidroascorbato (DHA) por la DHAR utilizando GSH como poder reductor. A su vez, el GSH consumido puede regenerarse desde su forma oxidada (GSSG) por la reacción de la GR (Foyer y Noctor, 2009).

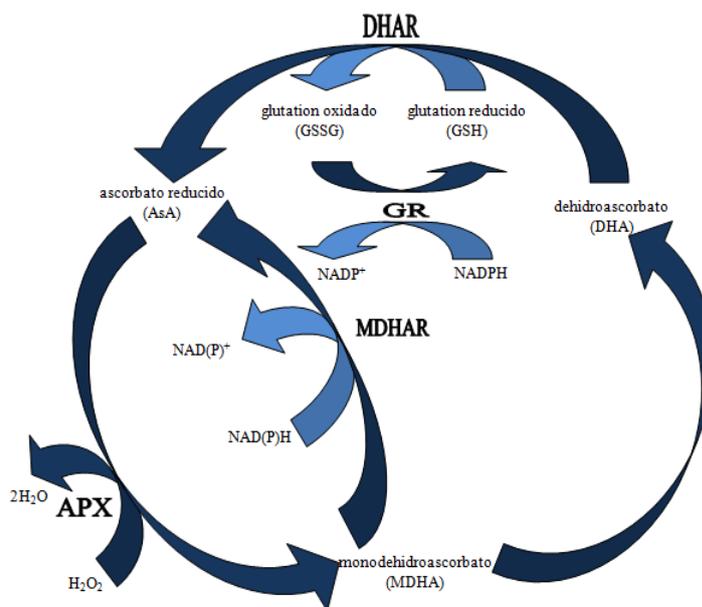


Figura 5. Ciclo ascorbato-glutation. APX, ascorbato peroxidasa; DHAR, dehidroascorbato reductasa; GR, glutatión reductasa; MDHAR, monodehidroascorbato reductasa; NAD, nicotin adenin dinucleótido; NADH, nicotinamida adenin dinucleótido reducido; NADP, nicotinamida adenin dinucleótido fosfato; NADPH, nicotinamida adenin dinucleótido fosfato reducido.

El incremento de estas actividades enzimáticas mejoran la tolerancia y han sido analizadas en diversos estreses abióticos como el estrés hídrico, (Sánchez-Rodríguez *et al.*, 2010) o el estrés por altas temperaturas (Rosales *et al.*, 2011), entre otros. Para un cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*), la exposición a una radiación de 1000 a 1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ estuvo asociada a un incremento en la capacidad antioxidante manifestada por un aumento en los niveles de ascorbato y glutatión (Zhou *et al.*, 2009). El aumento de la actividad SOD y una disminución en las actividades CAT y APX produjo una gran acumulación de H₂O₂ impidiendo la adaptación de plantas de tomate en condiciones de alta temperatura (35 °C) (Rivero *et al.*, 2004).

En relación al efecto del metabolismo oxidativo en frutos de tomate ante un ambiente cambiante (cultivo de tomate de ciclo largo desde Septiembre a Junio), Rosales *et al.*

(2006) observaron un aumento en el nivel de H₂O₂ y DHA, debido a la reducción en la regeneración de AsA por las actividades DHAR y MDHAR, al exceder los parámetros óptimos para el crecimiento de tomate (con temperaturas alrededor de 30-40 °C y una intensidad luminosa de 1000-2000 μmol m⁻²s⁻¹) en un invernadero de tipo parral, generando pérdidas en la producción comercial frente a un invernadero multitúnel. Estas pérdidas se debieron a un incremento en la peroxidación lipídica y por tanto, de estrés oxidativo a pesar de que sus frutos presentaron una mejor, aunque no suficiente, respuesta antioxidante basada en las actividades APX y CAT. Sin embargo, la acumulación de fitonutrientes con alta capacidad antioxidante y azúcares bajo esas condiciones de estrés potenció el valor nutricional y comercial de sus frutos (Rosales *et al.*, 2011)

Por otro lado, la acumulación de compuestos como prolina (Pro) y poliaminas (PAs) también mejoran la respuesta antioxidante en plantas ante diversos estreses abióticos y por lo tanto pueden ser buenos indicadores presencia o no de un estrés ambiental (Serraj y Sinclair, 2002). En plantas, la Pro puede ser sintetizada a partir de glutamato o de ornitina (Bryan, 1990), siendo este compuesto común a la ruta de síntesis de PAs tras la adición sucesiva de grupos amino a través de S-adenosinmetionina (SAM) (Figura 6). En la ruta biosintética en la que interviene el glutamato, la Pro está catalizada mediante una enzima bifuncional, la Δ¹-pirrolina-5-carboxylato sintetasa (P5CS). Por otro lado, la principal enzima encargada de la síntesis de Pro a partir de ornitina es la ornitina aminotransferasa (OAT; Delauney y Verma, 1993). Además del proceso biosintético, la acumulación de la Pro depende también de su degradación, la cual está catalizada por la enzima mitocondrial Pro deshidrogenasa (PDH; Hare *et al.*, 1999). Un incremento en la acumulación de Pro en plantas sometidas a estrés podría ser causado por: una degradación de proteínas (Becker y Fock, 1986), una inhibición de la síntesis proteica (Dhindsa y Cleland, 1975), un descenso en el transporte de amidas y aminoácidos a los sumideros (Tully *et al.*, 1979) o una inhibición del desarrollo foliar (Davies y van Volkenburg, 1983). La síntesis de Pro se vio inducida durante la exposición de las plantas a altas temperaturas (Kaul *et al.*, 2008), ya que este compuesto ayuda a proteger la estructura de membranas y proteínas al reducir el nivel de ROS.

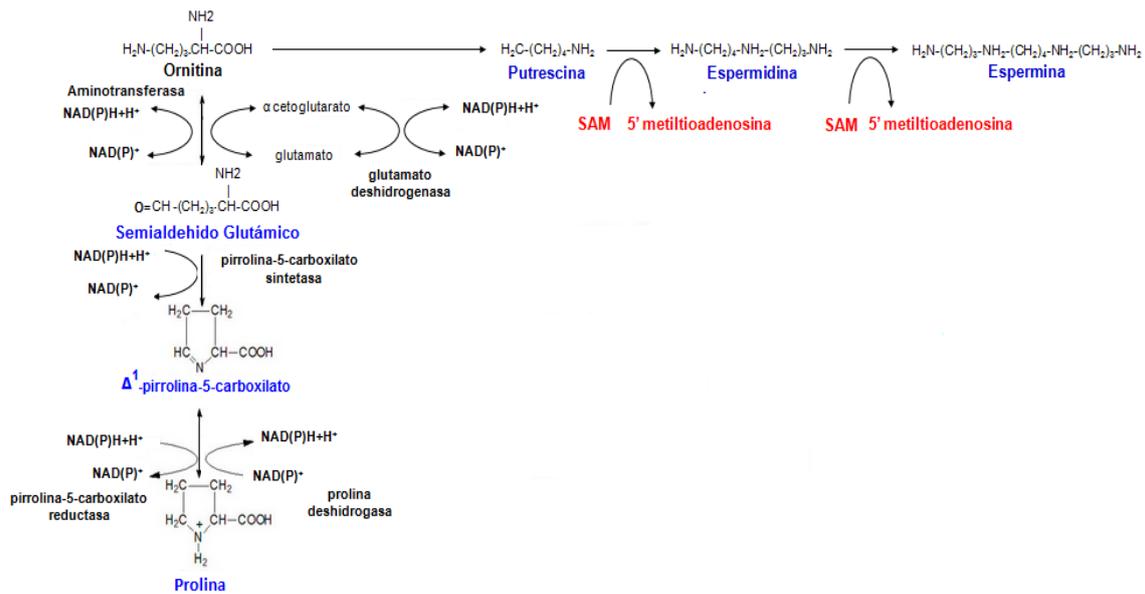


Figura 6. Rutas biosintéticas de prolina y poliaminas.

Rosales *et al.* (2007) observó en frutos de tomate *cherry* sometidos a altas temperaturas y alta radiación, una acumulación de Pro como resultado de la disminución en la síntesis de proteínas y/o aumento de la hidrólisis de aminoácidos, coincidiendo con altos contenidos de malondialdehído (MDA) y la actividad lipooxigenasa. La acumulación de este aminoácido favoreció la actividad PDH, que actuó como un mecanismo eficaz de respuesta al estrés oxidativo participando activamente en la detoxificación de O_2 , al transferir electrones a la cadena respiratoria imposibilitando la formación de ROS (Nanjo *et al.*, 1999).

Las PAs, putrescina, espermidina y espermina, por otra parte actúan sobre las actividades enzimáticas, y son consideradas buenos sustratos para la acción de peroxidasas eliminando H_2O_2 en el apoplasto, y podrían tener un efecto beneficioso en la estabilización de membranas al interactuar con Ca^{2+} (Bouchereau *et al.*, 1999; Asthir *et al.*, 2012). Cheng *et al.* (2009) describieron un aumento en las actividades SOD, APX, GPX y CAT en plantas de tomate que sobreexpresaban el gen de S-adenosilmetionina descarboxilasa (enzima que aporta los grupos amilopropil para formar las PAs: espermidina (Spd) y espermina (Spm)) cuando eran sometidas a altas temperaturas (30-38 °C) desencadenando un descenso en el nivel de peroxidación lipídica al impedir la acumulación de MDA en sus hojas.

9. Estrés ambiental y calidad nutricional en frutos de tomate

El tomate es el mejor componente de la dieta Mediterránea tradicional y se asocia con una baja tasa de mortalidad debido a su acción sobre enfermedades vasculares, cáncer y enfermedades relacionadas con la edad (Dumas *et al.*, 2003). Estos efectos se deben principalmente a su composición rica en compuestos beneficiosos con actividad antioxidante como: vitamina C, carotenoides (licopeno, β -carotenoy luteína) y compuestos fenólicos (flavonoides y ácidos fenólicos) al eliminar éstos los radicales libres, inhibir la proliferación celular, modular la actividad enzimática y vías de transducción (Crozier *et al.*, 2009; Pieper y Barret, 2009) (Tabla 2). Actualmente, la demanda de su consumo se ha visto incrementada enormemente por su alto contenido en minerales, vitaminas y compuestos beneficiosos (George *et al.*, 2004).

Tabla 2. Composición del tomate maduro.

En 100 g de peso seco		En 100 g de peso seco	
Glucosa	22 g	Vitamina A (β caroteno)	540-760 μ g
Fructosa	25g	Vitamina B1 (tiamina)	50-60 μ g
Sacarosa	1 g	Vitamina B2 (riboflavina)	20-50 μ g
Proteínas	8 g	Vitamina B3 (ác. Pantoténico)	50-750 μ g
Pectinas	7 g	Vitamina B6 (complejo)	80-110 μ g
Celulosa y hemicelulosa	10 g	Niacina	500-700 μ g
Ácido cítrico	9 g	Ácido fólico	6-20 μ g
Ácido málico	4 g	Biotin	1-4 μ g
Minerales (K, Ca, Mg, P)	8 g	Vitamina C (ascorbato)	15-23 μ g
Lípidos	2 g	Vitamina E (α tocoferol)	40-1200 μ g

Fuente: Cuartero (2010)

La vitamina C (también conocida como ácido ascórbico; AsA), además de ser el antioxidante más efectivo de las plantas (Figura 5), también es un importante fitonutriente en fruto de tomate. Al igual que la vitamina C, el licopeno es un efectivo componente de la actividad antioxidante y es el principal factor que proporciona el color rojo al fruto, ya que constituye más del 80% de su composición (Stevens y Rick, 1986).

El fruto de tomate también contiene α -caroteno, β -carotenoy luteína pero en menor medida que los anteriores. El β -caroteno aunque es un importante compuesto por ser un precursor de la vitamina A, es sustituido por el licopeno en orden de importancia, ya que constituye sólo el 7% del contenido total del fruto (Rao y Agarwa, 2000). Estudios previos, revelan que el papel antioxidante de estos carotenoides en animales supone un

efecto hipocolesterolémico, sugiriendo que el consumo de tomate disminuye el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares al reducir la síntesis de colesterol (Sesso, 2006). El efecto beneficioso de esos compuestos sobre el cáncer radica en la inducción de apoptosis y la inhibición del crecimiento de células cancerosas (Engelmann *et al.*, 2011). El nivel de estos compuestos beneficiosos para la salud en tomate son dependientes del cultivar, del momento de cosecha, de las condiciones de crecimiento y del nivel de exposición a estreses ambientales. Los dos factores ambientales mejor conocidos que tienen efecto sobre la calidad nutricional en tomate, y que suelen estar muy relacionados, son la luz y la temperatura (Dorais *et al.*, 2008) (Tabla 3).

Tabla 3. Principales efectos de los factores ambientales sobre los parámetros de calidad en fruto.

	Luz						Temperatura		DPV
	PPFD ^a	UV-B	B	R	FR	IF	Media	Δ	
Carotenoides	↑* ↓°	= ↑* ↓°	↑*	↑	↓		↑ ↓*	↓	
Licopeno	↑ ↓°	↓	↑		↓	=	= ↑ ↓*°	↓	↑
β caroteno	↑		↑				= ↑ ↓*		
Vitamina C	↑ ↓°	↑* ↓°				↑			
Fenoles	↑	↑							
Antocianinas	↑	↑	↑	↑	↓				
Flavonoides	↑	= ↑							
Kaempferol	↑	=							
Quercetina	↑	=							
Actividad antioxidante		= ↑ ↓*							↓

= Sin efecto; ↑ incremento del contenido; ↓ descenso del contenido; * dependencia del cultivar/especie; ° en condiciones extremas;
^a Radiación del espectro visible (400-700 nm); UV-B (280-320 nm); B (400-500 nm); R, FR y IF (700-800 nm)

Fuente: Dorais *et al.* (2008).

La luz no es esencial para la síntesis de ascorbato (o vitamina C), sin embargo, la cantidad y duración de este factor durante el ciclo del cultivo será proporcional al contenido de este antioxidante, ya que existe una relación positiva entre el contenido de azúcares en fruto con los contenidos de ascorbato y licopeno (Gautier *et al.*, 2005) (Figura 7). El contenido de carotenoides puede verse afectado por el nivel de luz interceptada por el cultivo, al igual que puede ocurrir con altas temperaturas. El licopeno es el carotenoide más sensible a la exposición solar. Los frutos de tomate expuestos a una alta radiación solar (650 W m^{-2} en cámaras de cultivo) no desarrollan un color homogéneo tras una reducción en el contenido de licopeno (McCollum, 1954). Además la síntesis de fenoles es particularmente sensible a varios tipos de estreses abióticos (Dixon y Piva, 1995). De hecho, el contenido de flavonoides puede potenciarse tras la exposición a luz, y en particular, a la radiación UV-B (Brandt *et al.*, 1995).

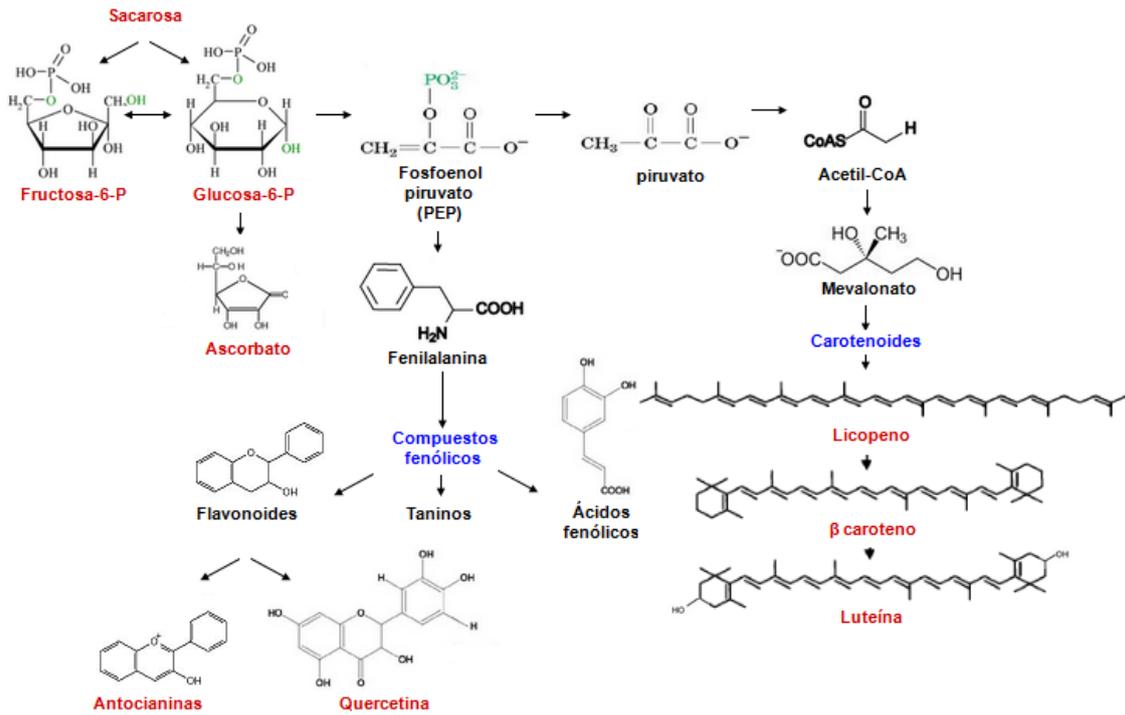


Figura 7. Rutas metabólicas de algunos antioxidantes a partir de los esqueletos carbonados proporcionados por azúcares (Modificado de Ferreti *et al.*, 2010).

La acumulación de vitamina C está directamente correlacionada con la temperatura, ya que temperaturas relativamente altas influyen negativamente en el contenido de vitamina C al propiciar su oxidación (Liptay *et al.*, 1986). De esta manera, los cultivos protegidos contienen un alto nivel de vitamina C frente a cultivos al aire libre, y más si son cosechados al final del verano frente a otras estaciones del año (López-Andreu *et al.*, 1986). De igual forma, la síntesis y acumulación de licopeno está condicionada por las altas temperaturas (> 32 °C) (Davey *et al.*, 2000). Sin embargo, Dumas *et al.* (2003) indican que bajo altas radiaciones la acumulación de licopeno se reduce tras su rápida conversión a β caroteno. En un cultivo protegido en el área Mediterránea, el contenido de licopeno disminuyó cuando las condiciones de temperatura, radiación solar y DPV fueron altas (Rosales *et al.*, 2011). Frente a estas condiciones también se vieron afectados los niveles de otros antioxidantes como ácidos fenólicos y flavonoides, aumentado la capacidad antioxidante en frutos de tomate *cherry* (Rosales *et al.*, 2011).

Las propiedades organolépticas de los frutos de tomate dependen principalmente de su nivel de azúcares solubles (sacarosa, glucosa y fructosa) y ácidos orgánicos (ácido cítrico y ácido málico) que son importantes para la configuración del sabor (Migliori *et al.*, 2012). La temperatura tiene una influencia directa sobre el metabolismo de la

planta, afectando al desarrollo del fruto de tomate y a su valor nutricional (Dorais *et al.*, 2001; Heuvelink y Dorais, 2005). Un aumento en la temperatura incrementa el consumo de azúcares como consecuencia del proceso respiratorio. Esto conlleva a una reducción en el aporte de esqueletos carbonados y consecuentemente de la síntesis de carotenoides, ascorbato y compuestos fenólicos (Dorais *et al.*, 2008). Para un cultivo de tomate en verano sometido a altas temperaturas, la calidad está caracterizada por una baja concentración de azúcares en contraposición a los ácidos orgánicos que aumentan su contenido (Wada *et al.*, 2006).

Los frutos sometidos a condiciones adversas suelen presentar desórdenes fisiológicos que se manifiestan en su apariencia exterior y tienen una alta incidencia en pérdidas económicas para el cultivo. Las principales fisiopatías desarrolladas por el fruto durante la exposición a un estrés ambiental son: mancha solar, agrietado, ahuecado, podredumbre apical y el desarrollo de tejido blanco interno (Foto 2). La mancha solar se caracteriza por la formación de un anillo amarillo anaranjado que rodea la zona de abscisión del fruto, producido por una disminución en la síntesis de licopeno u oxidación de éste a β caroteno, debido a una alta radiación y/o elevada temperatura (Adegoroye y Jolliffe, 1983). El agrietado consiste en grietas concéntricas o radiales a partir de la cicatriz peduncular del tomate. Está relacionado con la fuerza y la capacidad de estiramiento de la epidermis del fruto, siendo producido por un aumento en la HR y la exposición al sol. La podredumbre apical es una fisiopatía que se debe a la deficiencia de Ca^{2+} en el extremo apical del fruto, causada por una HR baja. Por otra parte, el ahuecado es reconocido por la presencia de zonas aplastadas que corresponden a la hinchazón de los lóculos. Las posibles causas son una polinización, fecundación o desarrollo seminal incorrecto, luz insuficiente y temperaturas extremas.

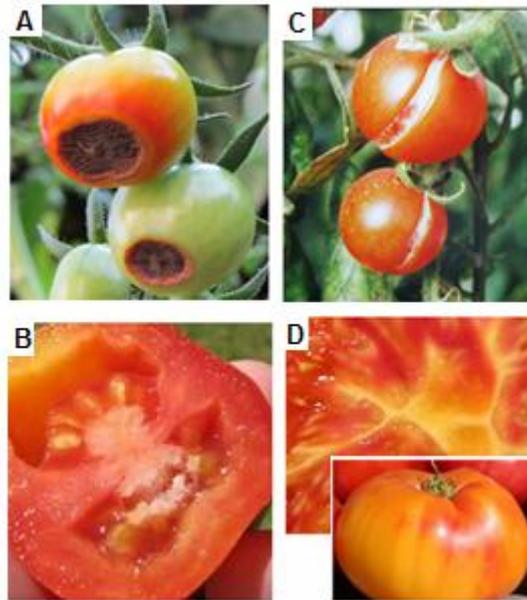


Foto 2. Fisiopatías del fruto de tomate. **(A)** Podredumbre apical, **(B)** agrietado, **(C)** ahuecado y **(D)** aparición de tejido blanco interno.

II. OBJETIVOS



La introducción del invernadero de malla como alternativa al cultivo protegido bajo plástico, en zonas de clima templado está siendo ampliamente distribuida. En zonas de interior en el área Mediterránea, el uso de invernaderos de malla durante los meses de Mayo a Octubre, ha demostrado ser un sistema viable y complementario a la producción de hortalizas bajo invernadero de plástico en la costa Mediterránea (Octubre-Junio). Sin embargo, la fuerte competitividad, derivada de la creciente globalización de los mercados y de las producciones, ha provocado la aparición de nuevas estructuras y paquetes tecnológicos, y cada vez es mayor el interés en la incorporación a los invernaderos del área Mediterránea de equipos de control más sofisticados, cuyo uso permita mejorar las condiciones microclimáticas y, en consecuencia, la calidad de los frutos obtenidos.

Recientemente, se ha iniciado la incorporación de sistemas de nebulización para mitigar las temperaturas extremas bajo malla desarrollando también aparatos para el control automático del mismo. Romero-Gómez *et al.* (2012a) desarrollaron un estudio entre los años 2008 y 2009, dirigido a la mejora microclimática bajo malla utilizando un sistema de nebulización controlado por DPV (Modelo de Utilidad N° 200700970(6), Casadesús *et al.*, 2008). Es un controlador proporcional integrado, es decir, que integra las medidas de un periodo de tiempo que establece y calcula la duración del siguiente pulso de nebulización que va a producir. Su característica esencial es que se rige por el déficit de presión de vapor, el cual engloba temperatura y humedad y, por tanto, es más representativo del estado fisiológico de la planta. Romero-Gómez *et al.* (2012a) concluyeron que el funcionamiento del controlador fue adecuado pero el sistema adoleció de aislamiento insuficiente durante la nebulización, que hacía que una gran parte del agua dispersada se perdiera hacia el exterior de la estructura, donde las condiciones de temperatura y sequedad eran extremas. En consecuencia, en este trabajo se propuso la introducción de una pantalla plástica sobre el sistema de nebulización para evitar dichas pérdidas y mantener las condiciones higrométricas proporcionadas por el sistema de nebulización. Aunque muchos autores han estudiado el efecto aislado del sombreado y la refrigeración por evaporación de agua, son escasos los estudios que sobre el efecto conjunto de ambos sistemas de refrigeración y su influencia en la respuesta de las plantas, y especialmente en la respuesta de los frutos y la calidad nutricional de éstos en invernaderos de cubierta plástica, siendo prácticamente nula en invernaderos de malla.

Por lo tanto, los principales objetivos de esta tesis doctoral estuvieron dirigidos hacia:

1. Caracterización microclimática de un invernadero de malla generado por un sistema de nebulización y una pantalla plástica complementaria, determinando radiación global y fotosintéticamente activa, déficit de presión del aire, temperatura foliar de un cultivo de tomate *cherry* y su influencia sobre el desarrollo de la planta, durante dos ciclos estivales en un área del interior del sudeste español.
2. Evaluación del efecto del sistema de nebulización y la pantalla plástica complementaria sobre el rendimiento y la influencia sobre el uso eficiente de agua de un cultivo de tomate *cherry* en un invernadero de malla durante dos ciclos estivales en un área del interior del sudeste español.
3. Estudio del efecto que produce las diferentes estrategias de refrigeración bajo malla (sistema de nebulización y sistema de nebulización con pantalla plástica), sobre la respuesta antioxidante en frutos de tomate *cherry* cultivados durante dos ciclos estivales en un área del interior del sudeste español.
4. Estudio del efecto que producen las diferentes estrategias de refrigeración bajo malla (sistema de nebulización y sistema de nebulización con pantalla plástica), sobre la calidad de fruto en plantas de tomate *cherry* cultivadas durante dos ciclos estivales en un área del interior del sudeste español.
5. Evaluación económica de los costes de producción derivados de la adquisición de diferentes estrategias de refrigeración (sistema de nebulización y sistema de nebulización con pantalla plástica), para un cultivo de tomate *cherry* bajo un invernadero de malla durante dos ciclos estivales en un área del interior del sudeste español.

III. MATERIAL Y MÉTODOS



1. Descripción general de los tratamientos climáticos

El estudio se desarrolló en el Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera, IFAPA Camino de Purchil, en cuyas instalaciones se construyó el invernadero de malla ubicado en la Vega de Granada, dentro del término municipal de Granada (Latitud: 37° 10' 21''N; Longitud: 3° 38' 10''O; Altitud: 600 m).

Los tratamientos estudiados fueron:

- Cultivo bajo invernadero de malla (M)
- Cultivo bajo invernadero de malla provisto de un sistema de nebulización (MN)
- Cultivo bajo invernadero de malla provisto de un sistema de nebulización y una pantalla plástica complementaria (MNP).

1.1. Invernadero de malla

Se utilizó un invernadero con cubierta de malla de 960 m² de superficie, de estructura similar a los invernaderos existentes en las comarcas del interior granadino. Se trata de una estructura metálica de acero galvanizado, trimodular, con módulos de 8 m de ancho y 40 m de longitud. La distancia entre cumbreras era de 8 m y entre postes de 5 m, en sentido longitudinal. Las dimensiones totales eran de 24 x 40 m², con la orientación del eje principal en dirección norte-sur. La altura de la cumbrera era de 4 m y la del canalón de 3,5 m. La estructura vertical interna estaba formada por postes metálicos redondos sobre los que se apoyaba el material de cubierta. El tejido de cubierta del techo y la cubierta frontal y lateral quedaban sujetos por una red de alambres de 3 mm de diámetro. En el interior del invernadero, entre los postes, había además alambres tensores tanto simples como trenzados, ya que sobre esta estructura se apoyaba también el sistema de entutorado que soportaba el peso de las plantas de tomate.

La cubierta se hizo con malla mono-filamento de polietileno natural blanca-negra de 9 x 6 hilos cm⁻² (58% de porosidad). Las bandas de la estructura del invernadero se realizaron con malla negra de 16 x 10 hilos cm⁻² en todo el perímetro y rafia plastificada impermeable al aire. El suelo fue acolchado con rafia negra de polietileno para evitar la nascencia de malas hierbas y la pérdida de humedad del suelo.

El invernadero se dividió en 3 sectores. El sector 1 carecía de sistema de nebulización (M), en el sector 2 se incorporó un sistema de nebulización de baja presión (MN) y en el

sector 3 se acopló, además, una pantalla plástica (MNP). Todo ello, para caracterizar el efecto refrigerante que el sistema de nebulización y la pantalla tienen sobre el microclima y el desarrollo del cultivo de tomate *cherry*. Todos los sectores estaban separados por una cortina plástica colocada a lo largo del pasillo central del invernadero de malla y otra transversal que aislaba los sectores 2 y 3.

En la Figura 1 se puede apreciar el diseño de las parcelas experimentales correspondientes a los tres tratamientos bajo malla.

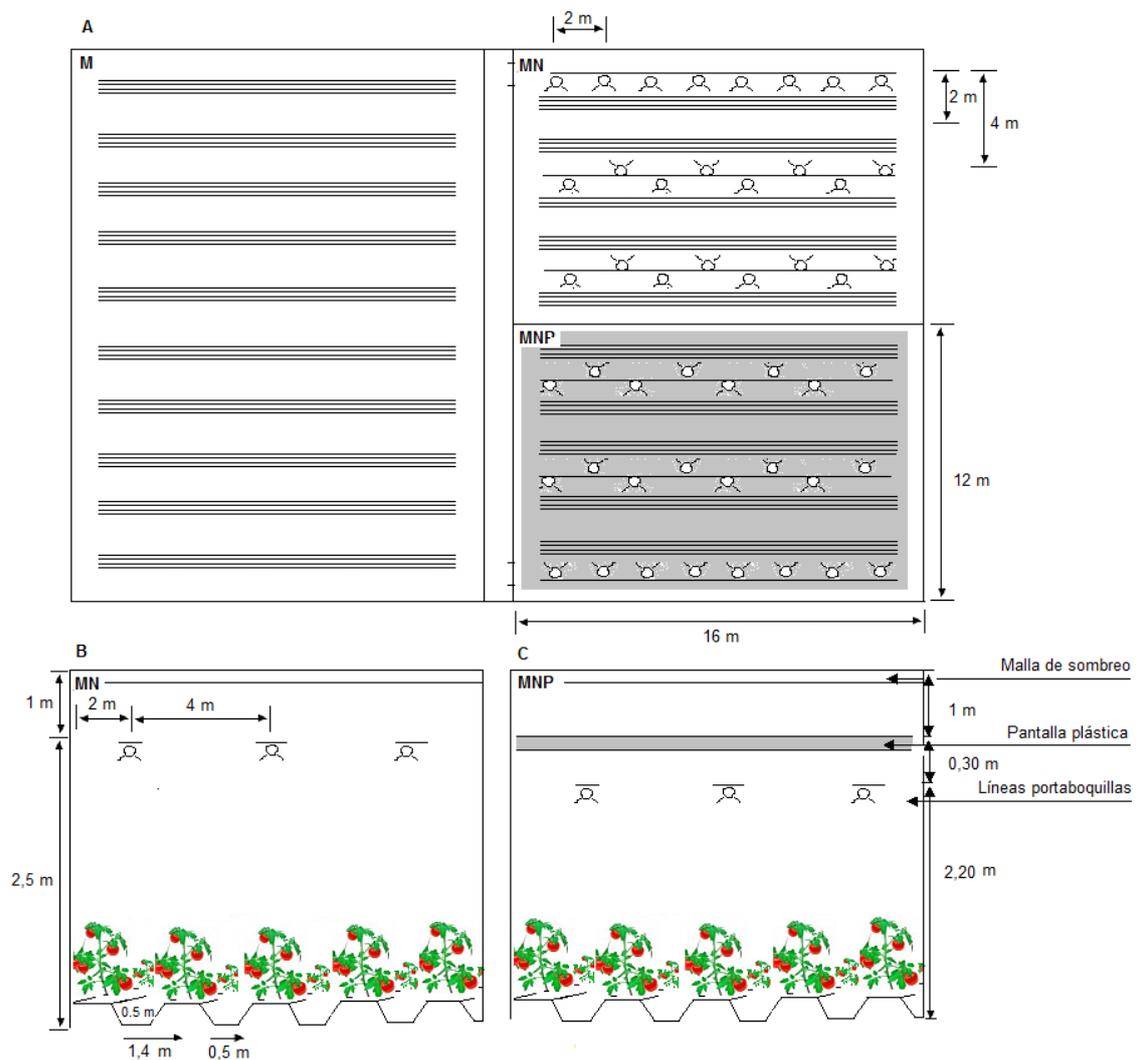


Figura 1. (A) Vista superior del invernadero de malla (M), del invernadero de malla provisto de un sistema de nebulización (MN) y del invernadero de malla provisto de sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) (B) vista lateral del invernadero de malla provisto de sistema de nebulización (MN), y (C) vista lateral del invernadero de malla provisto de sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP).

1.2. Sistema de nebulización

En los sectores 2 y 3 se incorporó un sistema de nebulización de baja presión. La presión de trabajo de la nebulización fue de 450 KPa. Se instalaron dos líneas portaboquillas separadas 4 m entre sí y a 2 metros del canalón. La altura de instalación fue de 3,5 m (altura de canalón). Las boquillas eran de 7 L h^{-1} y estaban separadas 2 m entre sí al tresbolillo, con una densidad final de $0,13 \text{ boquillas m}^{-2}$.

Para controlar la nebulización se utilizó un equipo (Controlador IRTA-IFAPA[®], Modelo de Utilidad nº U200700970) diseñado en colaboración con el IRTA (Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries, Centro de Cabrils), que controlaba el funcionamiento de las boquillas en función de un valor preestablecido de DPV y que actuaba en ciclos cortos para minimizar posibles problemas derivados del exceso de humedad en hojas (Casadesús *et al.*, 2008). Este controlador mide y regula el DPV, de modo que la nebulización se produce en respuesta a la capacidad de evaporación del agua en las condiciones ambientales en que se encuentra el invernadero en cada momento. Para ello, el equipo efectúa pulsos de nebulización a una frecuencia preestablecida con una duración del pulso ajustada por el controlador. Este ajuste se realiza en respuesta a la diferencia entre el DPV medido y el DPV programado en el periodo inmediatamente anterior y en los dos ciclos anteriores. La elevada frecuencia de los pulsos dosifica el aporte de agua evitando que se produzcan ciclos de valores extremos de DPV entre el momento en que se pone en funcionamiento la nebulización y el momento en que ésta hace su efecto (Casadesús *et al.*, 2008).

Para poder manejar el control por DPV de manera independiente durante las horas diurnas y durante las nocturnas, este controlador permite fijar consignas de DPV distintas, o activar la regulación solamente en uno de estos dos intervalos horarios o en subintervalos horarios dentro de ellos. El mismo controlador registra cada minuto los valores medidos de temperatura del aire y humedad relativa, mediante una sonda de humedad y temperatura (HMP45YC, Vaisala, con valores en °C y %) colgada a la altura del cultivo, calculando el DPV a partir de éstos, determinando la duración del pulso de nebulización siguiente. Esta se calcula según la siguiente ecuación (Casadesús *et al.*, 2008):

$$H = \frac{PID_P(s + PID_D \cdot ds + PID_I \cdot I_s)}{s + PID_C} \quad (\text{Ecuación 1})$$

donde H es la intensidad de la respuesta (entre 0-100), s es la diferencia entre el DPV promedio medido del ciclo y el valor consignado, ds es el incremento de s respecto al ciclo anterior, I_s es la media de s en los 3 ciclos anteriores (incluido el actual), y PID_P , PID_D , PID_I y PID_C son parámetros de ajuste de la respuesta. Una vez calculada H , se convierte a segundos de duración de los pulsos de nebulización mediante:

$$fog = \frac{H \cdot t_{\text{ciclo}}}{100} \quad (\text{Ecuación 2})$$

donde fog es la duración real de los pulsos de nebulización (en segundos) y t_{ciclo} es la frecuencia preestablecida de pulsos de nebulización (en segundos).

En este ensayo, la frecuencia establecida de los pulsos se fijó en 90 segundos y el DPV de consigna para la nebulización fue de 2,5 kPa con un intervalo de funcionamiento durante el día de 6 horas alrededor del mediodía solar (entre las 10:00h y las 16:00h GMT). El resto del tiempo el controlador se mantuvo desactivado, intentando reducir al mínimo el consumo de agua. La cuantificación de este consumo se realizó en función de las horas de funcionamiento real dentro del intervalo y del caudal de las boquillas.

El cabezal para la nebulización (Figura 2) incluía una bomba para llenado del depósito, un filtro de malla, un descalcificador, un depósito con dosificador con tres sensores de nivel para detectar la bajada del agua y activar el motor de llenado, una bomba de impulsión de agua a las líneas portaboquillas, un filtro Arkal de 2", una válvula de presión, una válvula solenoide y otros elementos menores.

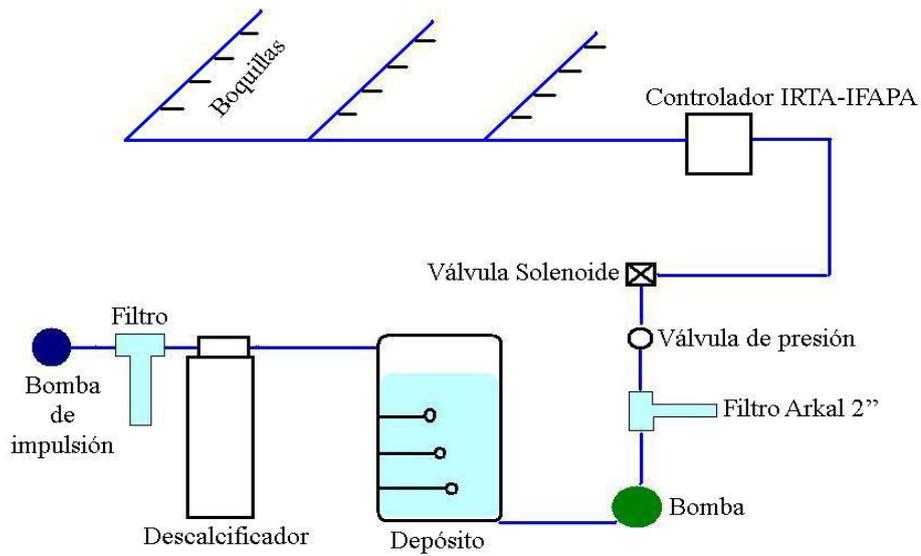


Figura 2. Esquema del sistema de nebulización.

La automatización del sistema de nebulización permitía que el controlador activara el relé del cuadro para abrir y cerrar la válvula, gobernando el arranque y parada de la bomba de nebulización.

1.3. Sistema de pantalla plástica

En el tercer tratamiento propuesto se instaló una pantalla extensible de plástico tricapa de alta transparencia para tratar de evitar la pérdida de las gotas de agua dispersada a través de la malla de cubierta porosa y, de esta forma, mejorar el efecto refrigerante conseguido por la nebulización (Foto 1).



Foto 1. Disposición de la pantalla plástica sobre el cultivo de tomate *cherry*.

La instalación consta de tramos de plástico y elementos necesarios para su fijación, soporte, motores, el equipo de transmisión para la apertura y/o cierre y elementos eléctricos necesarios para su funcionamiento (Tabla 1; Tabla 2).

Tabla 1. Características y propiedades de la pantalla plástica.

Material				
Lámina de LDPE fabricada en tricapa (coextrusión) de color blanco translúcido				
Capa exterior: resistente y antiadherente, posee aditivos frente a radiación UV				
Capa intermedia: alto contenido en EVA, aportando termicidad				
Capa interior: aporta difusión de la luz y posee coestabilizantes resistentes a pesticidas				
Propiedades		Valor	Unidad	Norma
Espesor medio		200	Micras	ISO 4591
Propiedades mecánicas				
Tracción en el punto de rotura	D.M. ^a	21	MPa	EN-ISO 527-3
	D.T.	20	MPa	
Elongación final	D.M.	600	%	EN-ISO 527-3
	D.T.	800	%	
Resistencia al rasgado	D.M.	9	N	ASTM D-1922
	D.T.	14	N	
Resistencia al impacto (F ₅₀)		700	g	ISO 7765-1
Propiedades ópticas				
Transmisión global luz visible		84	%	EN 2155-5
Efecto térmico (termicidad)		13	%	EN 13206
Dispersión luz visible		60	%	EN 2155-9

^aD.M. (dirección máquina); D.T. (dirección transversal).

Tabla 2. Principales elementos de instalación necesarios para el funcionamiento de la pantalla plástica.

Elementos de soporte	
Soporte frontal	Perfil en tubo galvanizado cuadrado de 50 x 50
Guía	Hilo de poliéster de Ø 2,5 mm y alambre 3 mm
Perfil de arrastre	Tubo galvanizado redondo Ø 19 mm conificado
Elementos de transmisión	
Conjunto eje-motor	Motorreductor con finales de carrera, modelo GW30
Transmisión	Eje en tubo galvanizado
Fijación plástico	Mediante pinzas de plástico
Instalación eléctrica	
Selectores por agrupación de motorreductores para la apertura y cierre manual de motores	
Inversores de giro por motorreductor, formados por interruptor de intensidad regulable	
Cableado de fuerza y mando a motores en manguera de cable de cobre RVK 0,6/1 KV.	

2. Agronomía del cultivo de tomate cherry

2.1. Material vegetal

Para la evaluación de los sistemas propuestos se llevaron a cabo dos ciclos de cultivo durante el verano de 2010 y de 2011 con plantas de tomate *cherry* (*Solanum lycopersicum* L. cv Alina) injertadas sobre Maxifort. Esta variedad de porta-injerto se caracteriza por su potente sistema radicular, su buen comportamiento a bajas temperaturas y en condiciones de salinidad, induciendo también un mayor vigor, producción y calibre de la fruta. Además, presenta resistencia a: ToMV (*tomato mosaic virus*), *fusarium 2*, *fusarium radici*, *verticillum*, corky-root y nematodos.

2.2. Características del suelo y del agua de riego

El suelo del área experimental se clasificó como Typic Xerofluvent (Soil Survey Staff, 1992) con una densidad aparente de $1,43 \text{ g m}^{-3}$. Este suelo es característico de llanuras aluviales muy permeables, muy calcáreas y con materia orgánica moderada en las capas inferiores.

Se tomaron tres muestras en el invernadero y se realizó el análisis de suelo según la metodología descrita por el Método Oficial de Análisis del MAPA (1994) de cada tratamiento a inicios del ciclo a 60 cm de profundidad (Tabla 3).

Tabla 3. Composición media de muestras de suelo a 0-60 cm de profundidad extraídas de las distintas parcelas de ensayo.

Características del suelo	Valor
Arena (%)	35,5
Limo (%)	47,6
Arcilla (%)	16,9
pH (en solución acuosa)	8,8
N total (%)	0,6
P ₂ O ₅ asimilable (mg Kg ⁻¹)	9,0
K ₂ O asimilable (mg Kg ⁻¹)	100,0
Carbonatos (%)	17,8
Materia orgánica (%)	0,6

El agua que se empleó para el riego del cultivo en ambos ciclos en todos los tratamientos es bombeada de un pozo situado en la zona de estudio. Se analizaron muestras de agua y los análisis fueron realizados según la metodología descrita por el Método Oficial de Análisis del MAPA (1994). Las características fisicoquímicas del agua de riego se dan en la Tabla 4. El agua se clasifica como C3-S1 (Cuenca, 1989).

Tabla 4. Composición de agua para el riego extraída de los distintos tratamientos.

Características del agua	Valor
CaCO ₃ (mg L ⁻¹)	492,0
HCO ₃ ⁻ (mg L ⁻¹)	456,0
B ³⁺ (mg L ⁻¹)	0,2
Ca ²⁺ (mg L ⁻¹)	63,0
CO ₃ ²⁻ (mg L ⁻¹)	3,0
Cl ⁻ (mg L ⁻¹)	2,07
Mg ²⁺ (mg L ⁻¹)	81,0
NO ₃ ⁻ (mg L ⁻¹)	42,0
K ⁺ (mg L ⁻¹)	4,3
Na ⁺ (mg L ⁻¹)	25,0
SO ₄ ²⁻ (mg L ⁻¹)	129,0
CE (dS m ⁻¹)	1,15
pH (en solución acuosa)	7,5
Índice R.A.S.	0,5

2.3. Labores culturales

En el mes de Febrero se dio un pase de cultivador para airear el terreno y eliminar las malas hierbas antes de su semillado y se aplicó un abonado de fondo con estiércol granulado.

En la semana del trasplante se dio un nuevo pase de cultivador y se formaron las mesas de cultivo de 1,8 m de anchura con surcos intermedios para evacuar el agua de posibles tormentas (Figura1).

Las líneas portagotos se extendieron por la parte interior de las mesas para evitar la pérdida del agua de riego por los surcos y se cubrió toda la superficie del suelo con polifibril negro para eliminar la necesidad de escardas y evitar las pérdidas por evaporación, manteniendo la humedad aportada por el riego. Las perforaciones para el trasplante se hicieron aplicando calor para que el tejido quedara soldado y evitar así su rajado.

En general las labores culturales que se han llevado a cabo durante los dos ciclos que duró el ensayo han sido las habituales de la zona, con los siguientes calendarios:

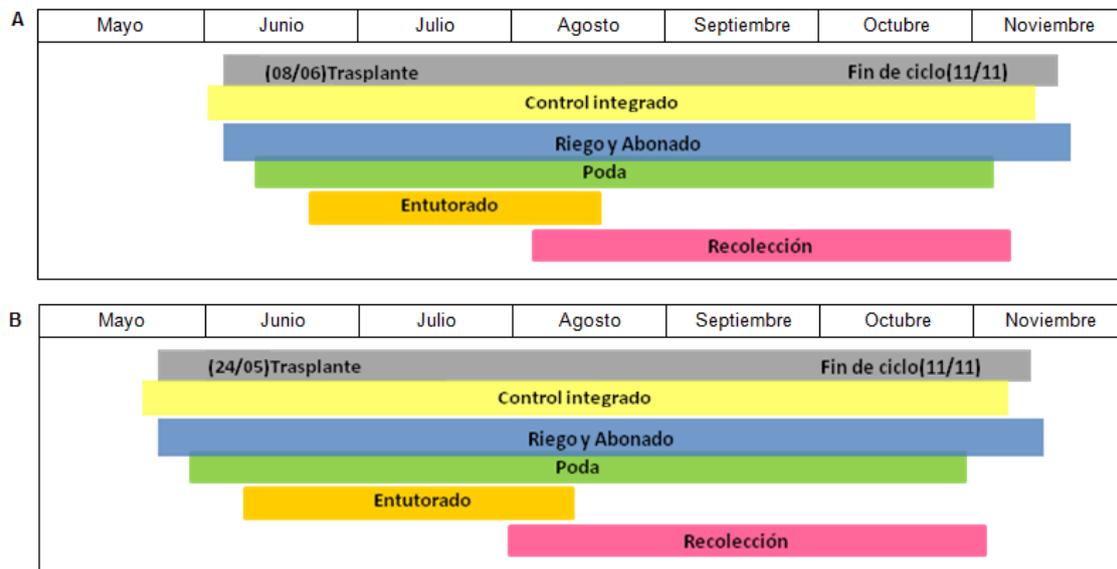


Figura 3. Calendario de las labores culturales durante los ciclos (A) 2010 y (B) 2011 del cultivo de tomate *cherry* bajo los distintos tratamientos climáticos bajo el invernadero de malla.

2.3.1. Trasplante

Las plántulas a los 30-35 días de la siembra en semillero, con 3 ó 4 hojas verdaderas y unos 12 cm de altura, fueron trasplantadas en suelo a capacidad de campo (8 de Junio en 2010 y 24 de Mayo en 2011), con una densidad de plantación de 2,2 plantas m⁻². Tras el trasplante se dio un riego a fin de conseguir una buena humedad en el entorno radicular y un buen contacto del cepellón trasplantado con el suelo.



Foto 2. Trasplante de plántulas de tomate *Solanum lycopersicum* L. cv. Alina injertada sobre Maxifort.

2.3.2. Control integrado de plagas

El control integrado es una de las principales técnicas alternativas al uso exclusivo de productos químicos en el manejo de especies perjudiciales para los cultivos. Son técnicas que combinan el control biológico con el uso equilibrado de insecticidas químicos, procurando que las dosis de aplicación de los mismos no afecten a los enemigos naturales y siempre por encima de un valor tolerable de presencia de la plaga o enfermedad. El control o lucha integrada regula las poblaciones de plagas teniendo en cuenta el medio ambiente y la dinámica de poblaciones, utilizando para ello todas las técnicas y métodos apropiados y manteniendo los niveles de plagas en valores que no causen perjuicios económicos (Cuadrado y García, 2004).

Los enemigos naturales empleados para combatir la reproducción de pulgón, trips, mosca blanca y araña roja bajo la malla han sido *Trichogramma achaeae* y *Nesidiocoris tenuis* (Foto 3D). Los tratamientos y sueltas de enemigos naturales se llevaron a cabo en función de los diagnósticos que se realizaban cada 10 ó 15 días aproximadamente.

Las aplicaciones de productos fitosanitarios en los cultivos hortícolas protegidos en los que se utilizan programas de control integrado se realizan procurando que sus efectos secundarios sobre la fauna auxiliar fueran mínimos. Para ello, los tratamientos con insecticidas y acaricidas se limitaron a las semanas previas a la suelta de organismos de control biológico y con productos fitosanitarios que respetan los ciclos biológicos de las especies implantadas como enemigos naturales de los organismos plaga (Cuadrado y García, 2004).

Se colocaron trampas eléctricas (Foto 3C) y trampas cromotrópicas amarillas (para pulgón y mosca blanca) (Foto 3A) y azules (para trips) en las bandas del invernadero y junto a las puertas y se eliminaron malas hierbas en el perímetro exterior del invernadero como medida preventiva ante el ataque de estas plagas. También se usaron trampas con hormonas para la confusión sexual de *Tuta absoluta* (Foto 3B) en el interior del invernadero de malla durante los ciclos de producción. Además, se colocó una malla *antitrip* en la puerta del invernadero que limitaba la entrada de insectos al abrir y cerrar la misma.

Para la polinización de las flores se han empleado abejorros (*Bombus terrestris*), usándose una colmena por tratamiento y ciclo (Foto 3E).

Se combinaron medidas preventivas y culturales, control biotecnológico, control químico con materias activas específicas y compatibles con los enemigos naturales (Tabla 5) y cualquier otra medida que permita corregir los desequilibrios que aparezcan.



Foto 3. (A) Trampas cromotrópicas, (B) hormonas de confusión sexual para *Tuta absoluta*, (C) trampa eléctrica, (D) ejemplar adulto de *Nesidiocoris tenuis* y (E) detalle polinización a través de *Bombus terrestris*.

Tabla 5. Calendario de aplicación de los tratamientos fitosanitarios durante los dos ciclos del cultivo de tomate *cherry*.

FECHA DE APLICACION	NOMBRE COMERCIAL	MATERIA ACTIVA	CARACTER	PLAGA
08/06/2010	DURSBAN 48	Clorpirifos 48% (p/v)	Curativo	<i>Agriotes spp.</i> (gusano del alambre)
10/06/2010	HEROCUPER- 70	Oxicloruro de cobre-70% (p/v)	Preventivo	
15/06/2010	PEARZE	Fosetil AL 35% + Mancozeb 35%	Preventivo	<i>Mildiu spp.</i> <i>Alternaria spp.</i>
25/06/2010	POLYRAM DF	Metyran 80 %	Preventivo	<i>Mildiu spp.</i> <i>Alternaria spp.</i>
09/07/2010	KUMULUS DF GRAULADO DISPERSA BLE EN AGUA (WG)	Azufre 80% p/p	Preventivo	<i>Tetranychus urticae</i> (Araña roja) <i>Oidium spp.</i>
14/07/2010	KUMULUS DF GRAULADO DISPERSA BLE EN AGUA (WG)	Azufre 80% p/p	Preventivo	<i>Tetranychus urticae</i> (Araña roja) <i>Oidium spp.</i>
21/07/2010	PEARZE	Fosetil AL 35% + Mancozeb 35%	Preventivo	<i>Mildiu spp.</i> <i>Alternaria spp.</i>
08/10/2010	GRANULADO DISPERSABLE EN AGUA	Azufre 80% (p/p)	Preventivo	<i>Oidium spp.</i>
02/06/2011	PEARZE	Fosetil AL 35% + Mancozeb 35%	Preventivo	<i>Mildiu spp.</i> <i>Alternaria spp.</i>
10/06/2011	THIOVIT	Azufre 80% (p/p) Azufre mojable	Preventivo	<i>Tetranychus urticae</i> (Araña roja) <i>Oidium spp.</i>
17/06/2011	POLYRAM DF	Metyran 80 %	Curativo	<i>Bemisia tabaci</i> (mosca blanca) <i>Aphis spp.</i> (pulgón)
08/07/2011	TEPPEKI THIOVIT	Fonicamid Azufre 80% (p/p) Azufre mojable	Preventivo Preventivo	<i>Mildiu spp.</i> <i>Alternaria spp.</i> <i>Tetranychus urticae</i> (Araña roja)
15/07/2011	BACTUR 2X WP HEROCUPER 70 AZUL	<i>Bacillus Thuringiensis</i> Oxicloruro de cobre-70% (p/v)	Preventivo	<i>Tuta absoluta</i> <i>Mildiu spp.</i>
29/07/2011	BACTUR 2X WP HEROCUPER 70 AZUL	<i>Bacillus Thuringiensis</i> Oxicloruro de cobre-70% (p/v)	Preventivo	<i>Tuta absoluta</i> <i>Oidium spp.</i>
	PEARZE	Fosetil AL 35% + Mancozeb 35%	Preventivo	<i>Mildiu spp.</i> <i>Alternaria spp.</i>
16/08/2011	NEEMOIL BIOSFER THIOVIT	Aceites vegetales Azufre 80% p/p - Azufre mojable	Preventivo	<i>Tetranychus urticae</i> (Araña roja) <i>Oidium spp.</i>
19/08/2011	APACHE	Abamectina	Preventivo	<i>Tetranychus urticae</i> (Araña roja) <i>Oidium spp.</i>
	PEARZE	Fosetil AL 35% + Mancozeb 35%	Curativo	<i>Mildiu spp.</i>
29/08/2011	THIOVIT	Azufre 80% (p/p) Azufre mojable	Preventivo	<i>Tetranychus urticae</i> (Araña roja) <i>Oidium spp.</i> <i>Alternaria spp.</i>
	POLYRAM DF	Metyran 80 % WG	Curativo	<i>Mildiu spp.</i>

2.3.3. Riego y abonado

El riego en todos los tratamientos fue por goteo automatizado. Se instalaron dos ramales portagoteros en cada línea de cultivo, con emisores en línea de 3 L h⁻¹ cada 0,25 m (4,44 emisores m⁻²). La presión de trabajo fue de 1,8 atm. La programación del riego se hizo mediante sensores de humedad (ECH2O EC-5, Decagon devices) manteniendo valores entre 20-30% de cantidad volumétrica de agua en la zona radicular, permitiendo un agotamiento de agua del suelo del 30% como criterio de riego (Cuenca, 1989).

Las dosis de fertilizante aplicadas se calcularon según las características de cada fórmula comercial, las aportaciones del agua de riego y las necesidades del cultivo (Casas, 1999). En la Tabla 6 se indica el cálculo de la solución nutritiva de tomate.

El fertirriego se realizó mediante un equipo automatizado controlado por un programador de riego, con capacidad para ajustar el pH y la conductividad eléctrica de la solución nutritiva, así como la proporción de los distintos abonos, según los valores preestablecidos. La solución nutritiva distribuida tenía una conductividad eléctrica de 2,1 dS m⁻¹. El pH de la solución nutritiva se midió diariamente y, cuando fue necesario se corrigió con 2 mM de ácido fosfórico para mantener el pH a 6,2-7. El programa de fertirrigación comenzó a los 15 días después de la siembra en ambos ciclos y en todos los tratamientos.

Tabla 6. Cálculo de la solución nutritiva propuesta para tomate *cherry* (Casas, 1999).

	Aniones (mM)					Cationes (mM)				
	NO ₃ ²⁻	H ₂ PO ₄ ⁻	SO ₄ ²⁻	HCO ₃ ⁻	Cl ⁻	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺
Agua de riego	0,7	0,0	1,3	8,1	1,8	0,0	0,1	1,6	3,3	1,1
Solución ideal	8,0	0,0	0,0	0,5	0,6	0,0	4,0	4,0	1,8	0,7
Diferencia	-7,3	0,0	1,3	7,6	1,2	0,0	-3,9	-2,4	1,6	0,4
2 H ₃ PO ₄				-2,0						
2,5 HNO ₃	2,5			-2,5						
2,4 Ca(NO ₃) ₂	4,8							2,4		
2 K ₂ SO ₄			2,0				4,0			
mM	7,9	0,0	1,3	3,6	1,8	0,0	4,0	4,0	3,3	1,1

Las plantas de tomate necesitan altos niveles de potasio durante el desarrollo de los frutos. Por tanto, se realizó una modificación en el abonado, aproximadamente 20 días antes del comienzo de la recolección en cada ciclo. Se aumentó los niveles de potasio (en forma de KCl), subiendo el pH hasta 6,2 y la conductividad eléctrica a 2,3 dS m⁻¹.

2.3.4. Poda y entutorado

El tipo de poda principal que se ha practicado ha sido “poda a dos tallos”. Consiste en eliminar todos los brotes auxiliares de los tallos principales disponiendo de dos guías, la principal y la nacida del brote axilar por encima del primer racimo. El tiempo entre destalles fue entre 12 y 15 días, permitiendo el crecimiento indefinido de las guías hasta su eventual despunte en la etapa final del cultivo.

El despunte o ‘pinzamiento’ consistió en el corte de yemas o brotes terminales de los tallos guía tras haber conseguido el número de inflorescencias deseado que permitiera su maduración antes de la finalización del ciclo productivo.

El deshojado se ha realizado manteniendo solo con hojas la porción de tallo correspondiente a 4 ó 5 ramos cuajados, siendo la parte de la planta con mayor incidencia de radiación solar. Además, se han ido suprimiendo las hojas senescentes o enfermas para mejorar la aireación y la sanidad del cultivo.

El entutorado se realizó con hilos de rafia de polietileno colgados verticalmente desde una red de alambres soportada por la estructura del invernadero. Para la sujeción del tallo a la rafia tutor se utilizaron abrazaderas de plástico.

3. Estudio microclimático del cultivo de tomate cherry

Para la caracterización microclimática se instalaron sensores de radiación global (SKS1110, Sky Instruments, con valores en $W m^{-2}$) y de radiación fotosintéticamente activa (SKP215/S, Sky Instruments, con valores en $\mu mol m^{-2} s^{-1}$) y sondas de temperatura y humedad del aire (HMP45C, Vaisala, con valores en $^{\circ}C$ y %, respetivamente) en cada uno de los tratamientos bajo malla. El cálculo del DPV se realizó según Ojeda (2004).

$$DPV = \left(1 - \frac{HR}{100}\right) \cdot 0,61078 \cdot e^{(17,269T)/(237,3+T)} \quad (\text{Ecuación 3})$$

Se instaló un sensor de cada tipo por cada tratamiento, ubicados en la parte central de cada sector y en el exterior del invernadero de malla. Los sensores se conectaron a un datalogger (CR10X de Campbell Sci.) programado para registrar medidas simultáneas

cada cinco minutos y registrar el promedio de 30 minutos. Todos los datos se registraron durante 21 semanas en 2010 y durante 23 semanas en 2011, para todos los tratamientos.

A partir de los datos de radiación global exterior e interior registrados en el invernadero de malla, se calculó la integral media diaria para períodos de siete días para todos los tratamientos. Para el estudio de la radiación PAR, se obtuvieron los valores medios semanales de los valores máximos diarios en el exterior y en los tratamientos bajo el invernadero de malla.

El clima generado en cada tratamiento se describió a partir de los datos almacenados de temperatura del aire, humedad relativa y DPV mediante el cálculo de los valores medios y máximos diarios en períodos de siete días, desde la fecha de trasplante.

4. Análisis de crecimiento del cultivo de tomate cherry

Para realizar el análisis de crecimiento se tomaron periódicamente (Tabla 7) plantas de tomate *cherry* de cada tratamiento, que no presentaran efecto borde por pasillos adyacentes o por plantas ya extraídas en muestreos anteriores.

Tabla 7. Distribución de las determinaciones de biomasa aérea realizadas durante los ciclos de cultivo 2010 y 2011 según los días después del trasplante (DDT).

Ciclo	DDT						
2010	0	23	43	61	83	104	128
2011	0	27	48	64	79	105	133

Las plantas se llevaron inmediatamente al laboratorio para la determinación por planta de los siguientes parámetros:

- Peso fresco total de la parte aérea (g)
- Longitud del tallo principal (cm)
- Número de hojas
- Peso fresco y seco hojas (g)
- Peso fresco y seco tallos (g)
- Peso fresco y seco frutos (g)
- Superficie foliar (m²)
- Número y calibre (mm) de frutos

Para obtener el peso seco de hojas, tallos y frutos, se secaron las muestras en una estufa de aire forzado a 65 °C hasta alcanzar peso constante. La superficie foliar se determinó mediante un medidor de área foliar (LI-3100, Li-Cor Inc.).

4.1. Índices de crecimiento

En base a los datos obtenidos en los muestreos se calcularon los siguientes índices de crecimiento.

- Índice de Área Foliar (LAI: Leaf Area Index, $\text{m}^2 \text{m}^{-2}$).

Se define como la distribución del dosel vegetal en el espacio de suelo que ocupa.

$$LAI = \frac{SF}{AS} \quad (\text{Ecuación 4})$$

donde SF y AS es la superficie foliar de las plantas y el área del terreno que ocupa, respectivamente.

- Área Foliar Específica (SLA: Specific Leaf Area, $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$)

Índice morfológico que da una medida del grosor de las hojas en función de su peso.

$$SLA = \frac{SF}{PS_{hojas}} \quad (\text{Ecuación 5})$$

donde SF y PS es la superficie foliar de las plantas y el peso seco de las hojas, respectivamente.

-Razón de área foliar (LAR, Leaf Area Ratio) ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$).

Indica la inversión realizada en área foliar respecto del total de materia seca acumulada y refleja la interacción de factores ontogénicos con el ambiente.

$$LAR = \frac{SF}{PS_{total}} \quad (\text{Ecuación 6})$$

-Tasa de asimilación neta (NAR, Net Assimilation Rate) ($\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$).

Indica el balance entre la fotosíntesis y la respiración.

$$NAR = \frac{(PS_2 - PS_1)(LnSF_2 - LnSF_1)}{(SF_2 - SF_1)(t_2 - t_1)} \quad (\text{Ecuación 7})$$

donde PS_1 , PS_2 , SF_1 y SF_2 son el peso seco y la superficie foliar de las plantas al principio y final del intervalo de tiempo t_2-t_1 .

-Tasa de crecimiento del cultivo (CGR, Crop Growth Rate) ($\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$)

Indica la producción de materia seca por superficie de cultivo en un intervalo de tiempo, por lo que expresa la eficacia productiva del cultivo (Monte *et al.*, 2013).

$$CGR = \frac{1}{AS} \times \frac{PS_2 - PS_1}{t_2 - t_1} \quad (\text{Ecuación 8})$$

donde AS es el área de terreno y PS_1 , PS_2 , es el peso seco al principio y final del intervalo de tiempo t_2-t_1 .

4.2. Contenido relativo de clorofila

Se realizaron muestreos semanales del contenido relativo de clorofila en hojas de tomate con un medidor SPAD 502 (Soil Plant Analysis Development, Minolta). Las medidas se realizaban semanalmente en las hojas de la parte central de la planta sobre las 08:00 GMT.

4.3. Nutrientes

Para la extracción de nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg), hierro (Fe), cobre (Cu), manganeso (Mn), zinc (Zn) y boro (B), muestras de hoja y fruto de plantas de tomate *cherry* fueron secadas y trituradas para posteriormente ser sometidas a un proceso de mineralización según la metodología descrita por el Método Oficial de Análisis del MAPA (1994).

4.4. Temperatura foliar

Se realizaron medidas semanales de temperatura de hoja (a media altura de la planta) en el haz a mediodía (12:00 GMT). Para ello, se empleó un termómetro de infrarrojos (PCE-889, PCE GROUP) dotado de un visor láser para indicar el punto de medida.

El índice hídrico del cultivo (CWSI; Crop Water Stress Index) fue calculado según Idso *et al.* (1981) como la diferencia entre la temperatura foliar (T_c) y la temperatura del aire (T_a).

$$CWSI = \frac{(T_c - T_a) - (T_c - T_a)_{\min}}{(T_c - T_a)_{\max} - (T_c - T_a)_{\min}} \quad (\text{Ecuación 9})$$

siendo $(T_c - T_a)$ la diferencia de temperatura en el momento de la medida y $(T_c - T_a)_{\max}$ y $(T_c - T_a)_{\min}$ los valores máximo y mínimo de esta diferencia. La mínima diferencia corresponde a un cultivo sin estrés hídrico (recién regado) y la máxima a un cultivo con máximo estrés (las plantas no transpiran). Si $CWSI=0$ no existe estrés hídrico, mientras que si $CWSI=1$ el estrés será máximo. (Gallardo y Thompson, 2003).

4.5. Evapotranspiración del cultivo (ET_c)

La transpiración del cultivo de tomate *cherry* fue estimada usando la fórmula derivada de la ecuación de Penman-Monteith (Baille *et al.*, 1994a).

$$ET_c = A \cdot \left(1 - e^{(-K \cdot LAI)}\right) \cdot G + B \cdot LAI \cdot DPV \quad (\text{Ecuación 10})$$

donde G es la radiación solar incidente ($W m^{-2}$), DPV es el déficit de presión de vapor (kPa), LAI es el índice de área foliar ($m^2 m^{-2}$), K es el coeficiente de extinción de la radiación (0,64; Stanghellini, 1987) y A , B son coeficientes de la regresión empírica con G y DPV (A , 0,59 adimensional y B , $8,6 W m^{-2} kPa^{-1}$ (Antón *et al.*, 2002)).

5. Análisis de producción del cultivo de tomate cherry

La producción total y comercial se evaluó en todos los tratamientos en las parcelas de cosecha durante los dos ciclos de cultivo (Tabla 8). Los frutos fueron cosechados manualmente, pesados en fresco y clasificados por calibres. Los calibres propuestos, < 20 mm, 20-22 mm y > 22 mm fueron los utilizados como categorías comerciales tipo (Romacho *et al.*, 2006).

Tabla 8. Distribución de las cosechas realizadas durante los ciclos de cultivo 2010 y 2011 según los días después del trasplante (DDT).

Ciclo	DDT									
2010	66	87	93	98	100	111	119	132	142	152
2011	71	78	85	91	100	112	119	136	150	167

6. Eficiencia en el uso del agua

Al final de cada ciclo de cultivo se calculó la eficiencia en el uso del agua (EUA, g L⁻¹), calculada de diferentes maneras según Patanè *et al.* (2011) en función del peso seco total de la planta (EUA), de la producción total (UEAt) y comercial (UEAc) y de la cantidad de agua aportada por el riego y por el sistema de nebulización (L m⁻²), en su caso.

$$EUA = \frac{\text{peso seco}_{total}}{\text{agua}_{total}} \quad (\text{Ecuación 11})$$

La productividad del agua de riego (IWP; Index Water Production) representa dicha productividad en relación al rendimiento del cultivo. Este parámetro fue calculado como la relación existente entre la producción comercial de fruto (en peso fresco) y el volumen de agua de riego aplicado (Harmanto *et al.*, 2005).

$$IWP = \frac{\text{producción comercial}_{PF}}{\text{agua}_{riego}} \quad (\text{Ecuación 12})$$

7. Análisis de la respuesta antioxidante en fruto

7.1. Muestreo de los frutos

El ciclo de producción de tomate *cherry* duró 152 días en 2010 y 167 días en 2011. Los frutos se muestrearon tres veces a lo largo de todo el ciclo de producción del cultivo: en el ciclo 2010, los meses de Septiembre (87 DDT y 106 DDT) y Octubre (125 DDT). En el ciclo 2011, durante Agosto (90 DDT) y Septiembre (108 DDT y 129 DDT). La selección de frutos fue realizada de forma aleatoria sobre las líneas de plantas destinadas a cosecha, recogiendo los frutos con calidad comercial y con el mismo estado de maduración, descartando los frutos dañados y los verdes del final del racimo. Posteriormente, los frutos fueron llevados al laboratorio de Nutrición Vegetal del Departamento de Fisiología Vegetal de la Universidad de Granada, donde fueron lavados tres veces con agua destilada después de una desinfección con Decon 90 (Merck) al 1% (Wolf, 1982) y secados con papel de filtro. Los tomates enteros fueron homogenizados y almacenados a -30 °C, los cuáles se usaron para analizar los parámetros que serán descritos a continuación. Los resultados mostrados en los análisis de respuesta antioxidante y calidad nutricional en frutos son los valores medios de todos los muestreos realizados durante ambos ciclos de cultivo.

7.2. Concentración de MDA

Para el ensayo del malondialdehído (MDA), 1,5 g de tomate *cherry* se homogenizó en 5 mL de una solución de ácido tiobarbitúrico (TBA) al 0,25% en ácido tricloroacético (TCA) al 10%. El extracto vegetal resultante se calentó a 100 °C durante 30 min y rápidamente se enfrió en un baño de hielo. Después de esto, las muestras se centrifugaron a 9500 rpm durante 10 min (4 °C) y se registró la absorbancia del sobrenadante a 532 nm y a 600 nm. El valor de la absorción no específica a 600 nm se restó a la lectura de 532 nm (Cervilla *et al.*, 2007).

7.3. Concentración de H₂O₂

El ensayo está basado en el complejo que forma el H₂O₂ al reaccionar con el titanio (Ti⁴⁺). Este complejo desarrolla un color amarillo, el cual, tras la precipitación con hidróxido de amonio (NH₄OH aq), separa el H₂O₂ del resto de hidroperóxidos. Por

último, el complejo formado (precipitado), al resuspenderse en una solución de ácido sulfúrico [$\text{TiO}_2(\text{SO}_4)_2^{2-}$], puede medirse por colorimetría (Brennan y Frenkel, 1977).

Para la extracción, una cantidad aproximada de 2 g de material vegetal se homogenizó en 7,5 mL de acetona fría. El extracto fue filtrado y centrifugado a 3500 rpm durante 5 min a 4 °C y el sobrenadante resultante fue utilizado para la determinación de la concentración en H_2O_2 .

Para la determinación, 1,5 mL del sobrenadante se mezcló con 0,2 mL de TiCl_4 al 20% (v/v) en 2 M HCl, agitándose enérgicamente, y posteriormente con 1 mL de NH_4OH al 20% (p/v), mezclándose minuciosamente gota a gota. La mezcla resultante se centrifugó a 3500 rpm durante 5 min a 4°C. El sobrenadante se desechó y el precipitado se lavó varias veces con acetona fría (empleando un volumen aproximado de 5 mL), hasta que el nuevo sobrenadante formado quedaba decolorado. El precipitado se resuspendió en 4 mL de H_2SO_4 2 M. A los 15 min, se adicionaron 3 mL de H_2O desionizada y la solución obtenida se filtró en embudos de papel. Por último, se procedió a la lectura de las muestras a una longitud de onda de 415 nm frente a una curva patrón de H_2O_2 . La concentración obtenida fue expresada en $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ PF}$.

7.4. Actividades enzimáticas: SOD, CAT y GPX

La actividad superóxido dismutasa (SOD; EC 1.15.1.1) fue determinada mediante la inhibición de la reducción fotoquímica del azul de nitrotetrazolio (NBT). La extracción y cuantificación de la enzima SOD se realizó siguiendo el método de Giannopolitis y Ries (1977) y Beyer y Fridovich (1987) con algunas modificaciones (Yu *et al.*, 1998), optimizado para nuestras condiciones. La extracción se realizó homogenizando 1,5 g de tomate *cherry* en 5 mL de un tampón Heppes-HCl 50 mM pH 7,6 que contenía 0,1 mM EDTA- Na_2 . Seguidamente, el homogeneizado se centrifugó a 11000 rpm a 4 °C durante 10 min. Para la determinación de la actividad SOD se realizó un tampón de reacción 50 mM $\text{Na}_2\text{CO}_3\text{-NaHCO}_3$ a pH 10,2 que contenía 0,1 mM EDTA- Na_2 , 12 mM L-metionina, 0,075 mM NBT y 0,002 mM riboflavina. Posteriormente, el ensayo de las muestras se realizó de la siguiente manera:

1. Blanco: 0,2 mL de tampón de extracción y 5 mL de tampón de reacción.
2. Controles y muestras: 0,2 mL de extracto enzimático y 5 mL de tampón de reacción.

Seguidamente, todos los tubos se agitaron y se guardaron en oscuridad. A continuación, se procedió a la lectura de los tubos a una longitud de onda de 560 nm (T_0) en el siguiente orden: blanco, controles y muestras. Posteriormente, los controles se guardaron en oscuridad, y el blanco y las muestras fueron iluminados durante 15 min con una intensidad lumínica de $380 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, mediante una lámpara de luz azul (OSRAM, 40 watios). Transcurridos los 15 min, se midieron de nuevo el blanco, los controles y las muestras, en el mismo orden y a la misma longitud de onda (T_{15}). El contenido de proteínas del extracto se midió de acuerdo con el método de Bradford (1976) utilizando albúmina de suero bobino (BSA) como estándar. La actividad SOD fue expresada como $\text{U mg}^{-1} \text{proteína min}^{-1}$, donde 1 U se define como la cantidad de enzima requerida para causar el 50% de la inhibición de la reducción de NBT monitorizado a 560 nm.

La determinación de la actividad catalasa (CAT; EC 1.11.1.6) está basada en la capacidad de oxidación del H_2O_2 por la CAT en el tiempo, y se realizó siguiendo el método de Kalir *et al.* (1984) y Badiani *et al.* (1990) modificado y optimizado para nuestras condiciones. Para la extracción de esta enzima se tomó una cantidad aproximada de 1,5 g de material vegetal y se homogeneizó con 5 mL de tampón Heppes-HCl 25 mM pH 7,8. El extracto vegetal resultante fue filtrado y centrifugado a 11500 rpm a 4°C durante 20 min. El sobrenadante obtenido fue utilizado para medir la actividad CAT. La mezcla de reacción para la determinación de la actividad CAT consistió en: 0,75 mL de tampón fosfato sódico 25 mM ($\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$) pH 7, 0,75 mL de EDTA- Na_2 0,8 mM, 1 mL de H_2O_2 20 mM y 0,5 mL de extracto enzimático. Seguidamente, y tras agitar los tubos, se procedió a la lectura de las muestras a una longitud de onda de 240 nm, siguiendo la variación de la absorbancia en el tiempo. El contenido de proteínas del extracto se midió de acuerdo con el método de Bradford (1976) utilizando BSA como estándar. La actividad fue expresada como $\Delta\text{Abs}_{240} \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ proteína}$.

Para la extracción de la enzima gualiacol peroxidasa (GPX; EC 1.11.1.7) se tomó una cantidad aproximada de 1,5 g de material vegetal y se homogeneizó con 5 mL de tampón Heppes-HCl 25 mM pH 7,8. El extracto vegetal resultante fue filtrado y centrifugado a 11500 rpm a 4 °C durante 20 min. El sobrenadante obtenido fue utilizado para medir la actividad GPX. La mezcla de reacción para la determinación de la actividad GPX consistió en: 0,75 mL de tampón fosfato sódico 25 mM ($\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-}$

NaH₂PO₄) pH 7, 0,75 mL de EDTA-Na₂ 0,8 mM, 1 mL de H₂O₂ 20 mM y 0,5 mL de extracto enzimático. Seguidamente, y tras agitar los tubos, se procedió a la lectura de las muestras a una longitud de onda de 240 nm, siguiendo la variación de la absorbancia en el tiempo. El contenido de proteínas del extracto se midió de acuerdo con el método de Bradford (1976) utilizando BSA como estándar. La actividad fue expresada como $\Delta\text{Abs}_{240} \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína.

7.5. Ciclo AsA-GSH

7.5.1. Actividades enzimáticas: APX, MDHAR, DHAR y GR

El ensayo de la actividad ascorbato peroxidasa (APX; EC 1.11.1.11) se realizó siguiendo el método de Gosset *et al.* (1994) con algunas modificaciones. Para la extracción de la enzima, 1,5 g de tomate *cherry* fue homogeneizado con 5 mL de tampón fosfato potásico (K₂HPO₄-KH₂PO₄) 100 mM pH 7,5 que contenía 1 mM de EDTA-Na₂. El extracto resultante fue filtrado y centrifugado a 12000 rpm durante 20 min. La determinación de la actividad APX se estimó siguiendo la oxidación del ascorbato debida a la actividad de esta enzima a lo largo del tiempo. La mezcla de reacción para la determinación de esta actividad fue la siguiente: 1,5 mL de tampón fosfato sódico (Na₂HPO₄-NaH₂PO₄) 100 mM pH 7,5, 0,75 mL de H₂O₂ 0,2 mM, 0,75 mL de ascorbato sódico 0,5 mM y 0,75 mL de extracto enzimático para iniciar la reacción. Seguidamente, y tras agitar los tubos, se procedió a la lectura de los mismos a una longitud de onda de 290 nm, siguiendo la variación de la absorbancia en el tiempo. El contenido de proteínas del extracto se midió de acuerdo con el método de Bradford (1976) utilizando BSA como estándar. La actividad se expresó como $\Delta\text{Abs}_{290} \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína.

La actividad monodehidroascorbato reductasa (MDHAR; EC 1.6.5.4) fue determinada tras el cambio de absorbancia a una longitud de onda de 340 nm (Foyer *et al.*, 1989).

La actividad dehidroascorbato reductasa (DHAR; EC 1.8.5.1) fue medida a 265 nm durante 3 min siguiendo el cambio de absorbancia producido a consecuencia de la formación de ascorbato (Nakano y Asada, 1981). La mezcla de reacción contenía 25 mM de tampón fosfato sódico (pH 7), 2,5 mM de glutatión (GSH), 0,4 mM de dehidroascorbato (DHA) y 0,1 mL de extracto enzimático.

La actividad glutatión reductasa (GR; EC 1.6.4.1) se midió siguiendo la oxidación de NADPH a 340 nm durante 3min en una mezcla de reacción que contenía: 100 mM de Tris-HCl (pH 7,8), 2 mM de Na₂-EDTA, 0,2 de NADPH, 0,5 mM de GSSG y 0,75 mL de extracto enzimático.

7.5.2. Concentración de AsA

La cuantificación del contenido de ascorbato reducido (AsA) se realizó gracias a la capacidad de reducción del Fe³⁺ a Fe²⁺ por este compuesto en un medio ácido. El ensayo del ascorbato total (AsA+DHA) se determinó mediante el mismo procedimiento, mediante una reducción previa del dehidroascorbato (DHA) hacia AsA con dithiothreitol (DTT). El contenido de DHA se obtuvo de la diferencia de ambos ensayos (Gossett *et al.*, 1994).

Para la extracción, 1,5 g de tomate *cherry* se homogeneizó con 5 mL de ácido metafosfórico al 5% (p/v), el cual se centrifugó a 13500 rpm durante 15 min a 4°C. La determinación del ascorbato total se realizó mediante la siguiente mezcla de reacción: 0,2 mL de sobrenadante, 0,5 mL de buffer fosfato sódico 150 mM a pH 7,5 y 0,1 mL de DTT 25 mM. A continuación, los tubos se agitaron e incubaron a temperatura ambiente y en oscuridad durante 10 min. Pasado este tiempo, se adicionaron 0,1 mL de N-etilmaleimida al 0,5% (p/v), 0,4 mL de ácido trifluoroacético al 10% (v/v), 0,4 mL de ácido ortofosfórico al 44% (v/v), 0,4 mL de 2,2'-bipiridil al 4% (p/v) en etanol al 70% y 0,2 mL de FeCl₃ al 3% (p/v). A continuación, los tubos de ensayo se agitaron e incubaron a 40 °C y en oscuridad durante 40 min. Por último, se procedió a la lectura de las muestras a una longitud de onda de 525 nm frente a una curva patrón de AsA (0,1-1,5 mM), la cual siguió la misma metodología que las muestras vegetales. Para determinar la concentración de AsA, el procedimiento a seguir fue idéntico al descrito anteriormente para el ascorbato total, con la única salvedad de que en la mezcla de reacción inicial no se adicionaron 0,1 mL de DTT 25 mM. La concentración de DHA se obtuvo de la diferencia entre la concentración de AsA y ascorbato total. Las concentraciones de ASA, DHA y ascorbato total fueron expresadas en mmol g⁻¹ PF.

7.5.3. Concentración de GSH

La determinación de la concentración de GSH total, GSH y GSSG fue por el método de Noctor y Foyer (1998), basado en la reducción de 5,5-ditiobis (2-nitro-benzoic acid) (DTNB) dependiente de glutation reductasa y monitorizado a 412 nm frente a una curva patrón de GSH. Para su análisis se procedió a la homogeneización de material fresco en 1 mL de HCl 0,2 N. Este extracto fue centrifugado a 12000 rpm durante 10 min. Posteriormente se neutralizó 500 µL del sobrenadante con buffer fosfato sódico 0,2 M a un pH 5,6 y NaOH a una concentración de 0,2 M. Tras su neutralización se le añadió al extracto una mezcla de reacción consistente en: buffer fosfato sódico 0,2 M y pH 7,5, EDTA 10 mM, NADPH 10Mm, DTNB 12 mM y la enzima GR fue adicionada en una concentración de 20U/ mL. Por último, la cuantificación de GSH se obtuvo de la diferencia entre la concentración de GSH total y GSSG. Los resultados fueron expresados como µmoles g⁻¹ PF.

7.6. Ensayos de capacidad antioxidante

7.6.1. “Ferric Reducing Ability of Plasma” (FRAP) y “Trolox Equivalent Antioxidant Capacity” (TEAC)

La extracción vegetal para los ensayos FRAP y TEAC se realizó según el método descrito por Wold *et al.* (2004), con algunas modificaciones, donde 1 g de tomate *cherry* se homogenizó en 5 mL de metanol, y posteriormente se centrifugó a 10200 rpm durante 2 minutos.

El ensayo FRAP se llevó a cabo mediante el reactivo FRAP, compuesto por 1 mM 2,4,6-tripiridil-2-triazina (TPTZ) y 20 mM FeCl₃ en 0,25 M acetato sódico (pH 3,6). Una alícuota de 100 µL del extracto obtenido de la homogenización de 1 g de tomate en 10 mL de metanol fue añadido a 2 mL de reactivo FRAP. Posteriormente la mezcla fue incubada a temperatura ambiente (20 °C) durante 5 min. La absorbancia fue medida a 593 nm frente a una curva patrón de 25–1600 µM Fe³⁺ preparada usando una solución madre 25 mM de sulfato ferroso (Benzie y Strain, 1996). Los resultados fueron expresados como µmol FeSO₄ g⁻¹ PF.

El ensayo TEAC se realizó siguiendo el método de Re *et al.* (1999) y Cai *et al.* (2004). En primer lugar, se mezcló 7 mM de 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido

sulfónico) (ABTS) con 2,45 mM de persulfato potásico para producir el catión $ABTS^{+\cdot}$, para lo cual la mezcla resultante fue incubada durante 16 horas en oscuridad a temperatura ambiente. Posteriormente, la solución de $ABTS^{+\cdot}$ resultante se diluyó en metanol y se ajustó su absorbancia (usando metanol como blanco) hasta que registró un valor de $0,7 \pm 0,02$ a una longitud de onda de 734 nm. Una alícuota de 100 μ L de extracto se mezcló vigorosamente con 3,9 mL de solución de $ABTS^{+\cdot}$ diluido, y se dejó en oscuridad a temperatura ambiente durante 6 minutos e inmediatamente después se registró la absorbancia a 734 nm. Las muestras fueron medidas frente a una curva patrón de 0-15 μ M de trolox que siguió el mismo procedimiento que las muestras vegetales. Los resultados fueron expresados como μ mol equivalentes trolox g^{-1} PF.

7.6.2. Efecto detoxificador de radicales libres 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) y Poder Reductor.

Para la determinación de los ensayos DPPH y Poder Reductor, la extracción se realizó homogenizando 1 g de tomate *cherry* en 5 mL de metanol al 80% y centrifugando posteriormente a 6000 rpm durante 10 min (Zhang y Hamazu, 2004).

El ensayo DPPH se realizó según el método descrito por Hsu *et al.* (2003), con algunas modificaciones. Para ello, se mezclaron meticulosamente una alícuota de 0,5 mL del extracto metanólico de tomate y 2,5 mL de la solución metanólica fría que contenía 0,1 M de DPPH, manteniéndose después durante 60 min en oscuridad a 4 °C. La absorbancia de la mezcla de reacción fue medida a una longitud de onda de 517 nm en un espectrofotómetro. Como blanco se reemplazó el extracto por 0,5 mL de metanol al 80%. El efecto detoxificador de radicales libres DPPH se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$DPPH = \left(1 - \left(\frac{A_{517}}{A_{517Blanco}} \right) \right) \times 100 \quad (\text{Ecuación 13})$$

El ensayo de Poder Reductor de los frutos de tomate *cherry* fue medido de acuerdo con el método descrito por Hsu *et al.* (2003). A 1 mL de extracto de tomate se le añadió 0,5 mL de buffer fosfato (0,2 M, pH 6,6) y 2,5 mL de $K_3Fe(CN)_6$ (1% v/w) y la mezcla fue incubada durante 20 min a 50 °C. Posteriormente, los tubos fueron enfriados inmediatamente sumergiéndolos en hielo y se les añadió 0,5 mL de ácido tricloroacético

al 10%. A continuación, fueron centrifugados a 5000 rpm durante 10 min Finalmente, se tomo 1 mL del sobrenadante y se mezcló con 1 mL de H₂O y 0,1 mL de FeCl₃ (0,1%), la mezcla se incubó durante 10 min y se midió la absorbancia a 700 nm en el espectrofotómetro. La cantidad de poder reductor se da directamente en absorbancia.

7.7. Metabolismo de prolina

7.7.1. Concentración de prolina

La determinación de prolina se realizó siguiendo el método propuesto por Irigoyen *et al.* (1992), optimizado para nuestras condiciones. Una cantidad de aproximadamente 1,5 g de tomate *cherry* fue homogeneizado con 5 mL de etanol absoluto y, posteriormente, se lavó dos veces con 2,5 mL de etanol al 70%, hasta alcanzar un volumen final de extracción de 10 mL. El homogeneizado fue centrifugado a 5500 rpm durante 10 min y el sobrenadante resultante se utilizó para la determinación de la concentración de prolina. Para la cuantificación de este aminoácido, se realizó una mezcla de reacción compuesta por: 2 mL del extracto vegetal, 3 mL de agua desionizada, 2,5 mL de reactivo de ninhidrina (6,25 g ninhidrina + 100 mL ácido fosfórico 6 M + 150 mL ácido acético glacial) y 2,5 mL de ácido acético glacial. Posteriormente, los tubos fueron agitados e introducidos en un baño de agua termostetizado a 100 °C durante 45 min. Transcurrido este tiempo, los tubos se introdujeron en un baño de hielo y se le añadió a cada uno de ellos 5 mL de benceno. Los tubos fueron agitados vigorosamente durante 1 min cada uno. Tras 15 min, se procedió a la lectura espectrofotométrica a 515 nm de la fase líquida más elevada en el tubo frente a un patrón de prolina. La concentración de prolina fue expresada como $\mu\text{g g}^{-1}$ PF.

7.7.2. Actividades enzimáticas: GDH, P5CS, OAT y PDH

La actividad glutamato dehidrogenasa (GDH; EC1.4.1.2.4) se midió tras el descenso en la absorbancia debido al consumo de NADH a 340 nm (Groat y Vance, 1986; Sing y Srivastava, 1986). La mezcla de reacción estaba compuesta por tampón 50 mM KH₂PO₄ (pH 7,5) con 200 mM (NH₄⁺)₂ SO₄, 0,15 mM de NADH y 2,5 mM de 2-oxoglutarato. Dos controles, sin α -cetoglutarato y (NH₄⁺)₂ SO₄, respectivamente, fueron utilizados

para corregir la oxidación de NADH endógena. Los resultados fueron expresados como $\Delta\text{Abs}_{340} \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína.

Para la extracción y el ensayo de las actividades P5CS, OAT y PDH se homogenizó 1 g de fruto de tomate *cherry* en un tampón Tris-HCl 50 mM con pH 7,4 que contenía MgCl_2 7 mM, KCl 0,6 M, EDTA 3 mM, 1 mM DTT y PVPP 5% (p/v). El homogenizado fue filtrado y centrifugado a 10000 rpm durante 20 min a 4°C. El sobrenadante se usó para la determinación de las actividades P5CS, OAT y PDH.

El ensayo de la actividad pirrolina-5-carboxilato sintetasa (P5CS; EC 1.2.1.41) se realizó de acuerdo con el método propuesto por Zhang *et al.* (1995). La mezcla de reacción (con un volumen final de 0,5 mL) contenía 50 mM L-glutamato, 20 mM MgCl_2 , 10 mM ATP, 100 mM hidroxamato-HCl y 50 mM Tris. La reacción se inició por la adición de 0,5 mL del extracto enzimático. Después de 5 min de incubación a 37 °C, la reacción se paró por la adición de 0,5 mL de una solución que contenía FeCl_3 2,5% y ácido tricloroacético 6%, en 100 mL de 2,5 M HCl. La concentración de P se determinó usando el método de verde malaquita (Geladopoulos *et al.*, 1991). Los resultados obtenidos se expresaron como $\Delta\text{Abs}_{340} \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína.

El ensayo de la actividad prolina deshidrogenasa (PDH; EC 1.5.1.2) se llevó a cabo mediante la reducción de NAD^+ a 340 nm. La mezcla de reacción contenía tampón 0,15 M $\text{Na}_2\text{CO}_3\text{-HCl}$ (pH 10,3), 15 mM L-prolina y 1,5 mM NAD^+ (Miller y Stewart, 1976). Los valores resultantes se expresaron como $\Delta\text{Abs}_{340} \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína.

La actividad ornitina aminotransferasa (OAT; EC 2.6.1.13) se ensayó siguiendo el método propuesto por Charest y Phan (1990), donde la mezcla de reacción contenía tampón 0,2 M Tris-KOH pH 8,0, 5 mM ornitina, 10 mM α -cetoglutarato y 0,25 mM NADH, todo en un volumen final de 2 mL. La actividad OAT se calculó siguiendo el descenso de la absorbancia a 340 nm después del inicio de la reacción por la adición de 0,4 mL de extracto enzimático. Los resultados fueron expresados como $\Delta\text{Abs}_{340} \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína.

7.8. Concentración de poliaminas libres

Para la extracción de poliaminas se homogeneizó 0,7 g de fruto en 1 mL de ácido perclórico (PCA) al 6% (v/v) y se mantuvo en hielo durante 1 h, para centrifugar con

posterioridad a 1000 rpm durante 30 min. El pellet fue resuspendido dos veces con 1 mL de PCA al 5% y centrifugado de nuevo. El pellet resuspendido fue hidrolizado y benzolado según el método de Aziz y Larher (1995). La alícuota benzolada fue analizada por HPLC (Agilent 1100 system, United States). Las muestras fueron eluidas con 40 % de acetonitrilo (ACN) a 1 mL min⁻¹. Las poliaminas fueron detectadas con un detector de UV a 254 nm.

8. Análisis de la calidad nutricional en fruto

8.1. Concentración de vitamina C

El ensayo se llevó a cabo usando un equipo de HPLC-UV-DAD (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) con una columna de fase reserva: Phenomenex Luna, 250 mm × 4,6 mm i.d., 5 µm, Li-Chrospher 100 RP-18, with a 4 mm × 4 mm i.d. (Phenomenex, Utrecht, Belgium) a 28 °C. La determinación de vitamina C (ascorbato) estuvo basada en el método de Hejtmánková *et al.* (2009) con algunas modificaciones. 0,2 g de material congelado fue homogeneizado con 1 mL de ácido metafosfórico al 3 %. La mezcla resultante fue centrifugada durante 10 min, filtrada con membrana de 0,45 µm y analizada por HPLC-UV-DAD. La fase móvil consistió en 2,5 mmol L⁻¹ de ácido sulfúrico a un flujo de 1 mL min⁻¹. La elución estuvo monitoreada a 250 nm. Se usó como estándar L- ácido ascórbico eluido a 4,1 min.

8.2. Concentración de carotenoides

La extracción de carotenoides se realizó en un tubo eppendorf de 2 mL con 400 mg de muestra liofilizada conseguida tras la alternancia de períodos de agitación y centrifugación (500 rpm) en el siguiente orden: se adicionaron 100 µl de solución saturada de NaCl y 50 µl de hexano. Se agitaron durante 30 s y centrifugado durante 2 min; adición de 200 µl de diclorometano Después de una nueva agitaron de 30 s y centrifugación durante 2 min, se adicionó 1 mL de etilacetato para posteriormente centrifugar durante 5 min. Una alícuota de la fracción orgánica (fracción superior) fue filtrada y analizada en HPLC-UV-DAD (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) con una columna de fase reserva: Phenomenex Luna, 250 mm × 4,6 mm i.d., 5 µm, Li-Chrospher 100 RP-18, de 4 mm × 4 mm i.d. (Phenomenex, Utrecht, Belgium) a 28 °C. La fase móvil estuvo compuesta por ACN:agua:etilacetato (53:7:40 (v/v/v)) con un flujo

de 1 mL min⁻¹ y un volumen de inyección de 10 µl (Sánchez-Rodríguez *et al.*, 2012a). Se trabajó con un rango de longitud de onda de 200-750 nm. La identificación de licopeno, β-carotenoy luteína se determinó a 474, 454 y 448 nm, respectivamente.

8.3 Concentración de compuestos fenólicos

Para la identificación y caracterización de fenoles, se maceró 0,1 g de material liofilizado durante 24 h con 1 mL de agua:metanol (1:1). Posteriormente se sonificó durante 2 h, metodología que se repitió en el día posterior. El extracto se centrifugó y filtró con una membrana PVDF de 0,45 µm. El análisis cromatográfico se llevo a cabo en HPLC-UV-DAD (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) con una columna de fase reserva: Phenomenex Luna, 250 mm × 4,6 mm i.d., 5 µm, Li-Chrospher 100 RP-18, de 4 mm × 4 mm i.d. (Phenomenex, Utrecht, Belgium) a 28 °C. La fase móvil consistió en una mezcla de solventes (A y B): (A) ácido acético al 1 % y B) ACN. El gradiente comenzó con B al 5 % para alcanzar el 50 % de B a los 30 min y el 80 % a los 37 min. El flujo fue de 1 mL min⁻¹ con un volumen de inyección de 20 µl (Sánchez-Rodríguez *et al.*, 2012b). Los picos se acumularon en el rango de 200-400 nm, y los cromatogramas fueron obtenidos a 280, 320 y 360 nm.

8.4 Determinación de azúcares y ácidos orgánicos

Los contenidos en sacarosa, D-glucosa, D-fructosa, ácido cítrico y ácido málico se determinaron mediante el uso de ensayos enzimáticos comerciales (R-Biopharm, Francia), en los cuáles se midió la formación u oxidación de NADH o NADPH a 340 nm, de acuerdo a lo descrito en el protocolo de cada ensayo. Los resultados fueron expresados como mg g⁻¹ PF.

8.5 Relación azúcar: ácido

El cociente azúcares/ácidos se calculó considerando la concentración molar de cada compuesto individual. Así, el valor de los azúcares corresponde a la suma de la concentración de glucosa, fructosa y sacarosa, y el valor de los ácidos corresponde a la suma de la concentración de ácido cítrico y ácido málico (Mencarely y Salveit, 1988).

8.6. Índice de dulzor

El índice de dulzor de los frutos de tomate *cherry*, una estimación de la percepción total del dulzor, se calculó en base a la cantidad y las propiedades de dulzor de los carbohidratos individuales (Keutgen y Pawelzik, 2008). La contribución de cada carbohidrato fue calculada en base al hecho de que la fructosa y la sacarosa son respectivamente 2,30 y 1,35 veces más dulces que la glucosa y, por lo tanto, el índice de dulzor se expresó usando la concentración molar de cada azúcar de la siguiente manera:

$$\text{Índice de dulzor} = \left[(1,00_{\text{glucosa}}) + (2,30_{\text{fructosa}}) + (1,35_{\text{sacarosa}}) \right] \quad (\text{Ecuación 14})$$

9. Análisis de costes de producción

Para la obtención de costes se ha empleado el modelo de costes totales que integra los capítulos de: costes variables y costes fijos siguiendo el procedimiento de Alonso y Serrano (2000).

Se denominan costes variables (CV), en general, a aquellos costes que varían proporcionalmente con el volumen de la producción. Se incluyen en CV todos los insumos necesarios, como el conjunto de materias primas y mano de obra. Entre las materias primas destacan: las plantas injertadas, productos fitosanitarios y lucha biológica, abono, material de entutorado y gastos de energía relacionados con el laboreo, riego y nebulización (puesto que la apertura y el cierre de la pantalla plástica se presumen despreciables). El precio de la mano de obra se ha tomado del Convenio del Campo de la provincia de Granada, siendo actualmente de 7,5 €/ hora.

Se denominan costes fijos (CF) a aquellos costes que permanecen relativamente constantes independientemente del nivel de producción o de la actividad del sistema de cultivo. Para el cálculo de CF se ha considerado una amortización constante con un horizonte temporal de 5 a 25 años de vida útil según la naturaleza de los elementos y unos valores residuales nulos para el cómputo del coste de cada uno de los elementos integrantes de los equipamientos en cada tratamiento (Caballero *et al.*, 2004). Se ha incluido en el precio de los impuestos y cánones, una concesión de agua como una tasa anual a la Comunidad de Regantes de la Vega de Granada, para el mantenimiento de las

instalaciones de distribución del agua.

En el cálculo de costes se introduce el precio de la venta o de liquidación al agricultor según el Observatorio de Precios y Mercados de la Consejería de Agricultura y Pesca para las campañas en las que se desarrolló el cultivo 2010/2011 y 2011/2012.

Los resultados económicos de los tres tratamientos se evaluaron en función de las siguientes variables: margen bruto (MB), diferencia entre los ingresos y CV (Serrano *et al.*, 2008) y ganancia (G), como diferencia entre los ingresos producidos y la suma de CV y CF (Caballero *et al.*, 2009).

El umbral de rentabilidad (UR) cuantifica el número de kg de género que han de producirse para cubrir los CF, así como los CV de producción y de comercialización correspondientes a ese volumen de producción (Muñiz, 2012).

$$UR = \frac{CF}{P - (CV/Q)} \quad (\text{Ecuación 15})$$

donde *CF* son los costes fijos, *P* es el precio medio unitario del producto, *CV* son los costes variables y *Q* es la producción. Así, el UR es el nivel de *Q* necesario para cubrir *CF* con un margen unitario (*M*) igual a $P - (CV/Q)$ (Muñiz, 2012).

10. Análisis estadístico

Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza multifactorial mixto en un diseño en bloques con tres tratamientos (factor fijo) y tres repeticiones (n=3) durante dos ciclos (factor aleatorio). Las diferencias entre las medias se compararon mediante el test de las mínimas diferencias de Fisher (LSD) a un nivel de probabilidad del 95%. Los niveles de significación se expresaron como * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, y ns (no significativo), $P > 0,05$.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



1. Estudio microclimático de un cultivo de tomate cherry sometido a distintos dispositivos de control climático en un invernadero de malla

El cultivo de tomate durante el ciclo estival en invernaderos Mediterráneos está lejos de sus valores óptimos de temperatura (21-27 °C) y humedad relativa (alrededor del 60%), al alcanzarse valores de 40 °C de temperatura y el 10% de humedad relativa durante el mediodía solar (Sato *et al.*, 2000; Peet *et al.*, 2003; Abdel-Ghany *et al.*, 2012).

El efecto más notable de la malla es la reducción en la transmisión a la radiación solar (Tanny, 2013). Waggoner *et al.* (1959) consiguieron en un día soleado una reducción del 20% en la radiación global donde se incluye también la radiación PAR (400-700 nm), con una malla del 56% en porosidad. Datos similares fueron obtenidos por Allen (1975) sobre un cultivo de soja con una reducción en la transmisividad (cociente entre la radiación interior y exterior del invernadero de malla), obteniéndose valores del 70% para ambas radiaciones, global y PAR. En nuestro caso, una malla blanca-negra con un 58% de porosidad ofreció una transmisividad entre el 60% y 70% para la radiación global (Figura 1; Tabla 3) y del 60% en la radiación PAR en ambos ciclos (Figura 2; Tabla 3). La transmisividad de la malla puede disminuir con el tiempo debido a la acumulación de polvo y suciedad del orden del 0,1% al día tras largos períodos sin precipitaciones (Tanny, 2013). Romero-Gámez *et al.* (2012) con el mismo tipo de malla (malla blanca-negra de 9 x 6 hilos cm⁻² y 58% de porosidad) consiguieron una transmisión de la radiación global del 60% y del 40% en años sucesivos para un cultivo de judía, al igual que una reducción en la radiación PAR del 33% cuando en el exterior se alcanzaron los 1800 μmol m⁻² s⁻¹ durante la franja horaria de mayor incidencia radiativa (12:00 GMT).

1.1. Radiación

1.1.2. Radiación global

La evolución de la media semanal de la integral diaria de radiación global medida en el exterior y en los tratamientos estudiados se representa en la Figura 1.

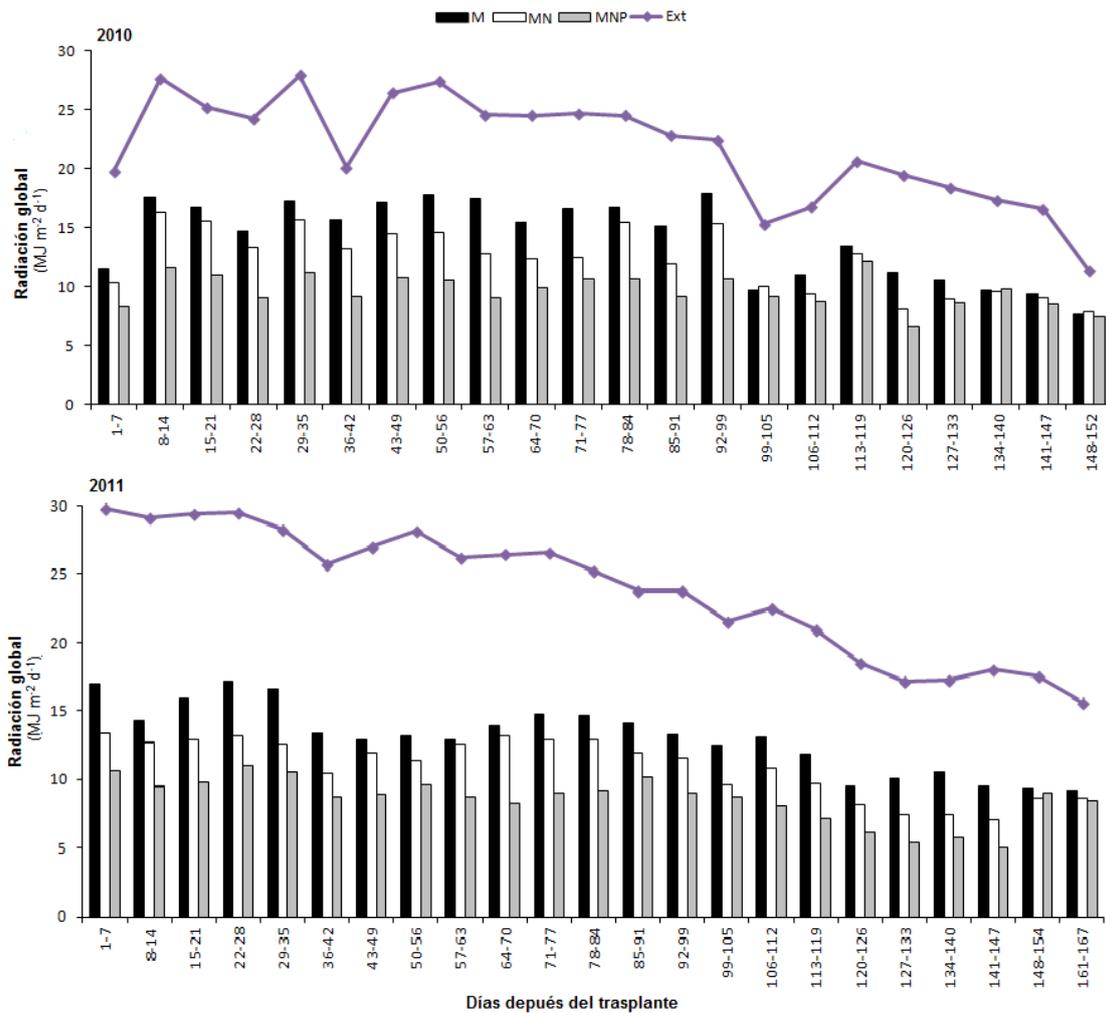


Figura 1. Evolución de la media semanal de la integral diaria de radiación global incidente en el exterior (Ext) y bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) durante los ciclos de cultivo 2010 y 2011.

La integral de radiación global media exterior del ciclo fue de $21,7 \text{ MJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ en 2010 y de $24,1 \text{ MJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ en 2011, lo que supuso un aumento de la radiación global del 10% entre ciclos. Esta tendencia no se manifestó en los tratamientos bajo malla, al presentar reducciones del 7%, 7% y 11% en M, MN y MNP en 2011 respecto a 2010. Esta reducción pudo deberse a una mayor acumulación de polvo sobre la malla afectando a M y MN, incrementándose en el caso de MNP debido al deterioro del material plástico de la pantalla durante 2011.

Los niveles máximos de la integral diaria exterior en los tratamientos M, MN y MNP ($17,2$, $15,6$, $11,1 \text{ MJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ respectivamente) se alcanzaron coincidiendo con el principio de cada ciclo, mientras la integral exterior fue de $27,9 \text{ MJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ en 2010 y $15,8$, $13,2$ y $11,0 \text{ MJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ cuando la integral exterior fue de $29,4 \text{ MJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ en 2011, en el período comprendido entre 22-35 DDT para ambos ciclos. La reducción de los valores máximos de la integral por parte de la malla pasó de un 38% a un 46% en 2011 respecto al ciclo anterior para dicho período de estudio. El uso de la nebulización en MN redujo un 9% el valor máximo de la integral de radiación en 2010 llegando a alcanzar el 16% frente a los datos registrados en M en 2011 para dicho periodo de estudio. La máxima reducción de los valores máximos de la integral de radiación para ese período se alcanzó en MNP.

Los valores mínimos de la integral diaria se alcanzaron al final de cada ciclo desde el 113 DDT hasta el final de ambos ciclos ($7,7$, $6,7$ y $5,4 \text{ MJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$; $8,4$, $7,4$, $5,4 \text{ MJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ en 2010 y 2011 para M, MN y MNP, respectivamente). Esto conllevó un escaso funcionamiento de los sistemas de refrigeración en dicho periodo, al desaparecer las condiciones climáticas extremas de la primera parte de ambos ciclos. Esta reducción en la integral de radiación global al final de cada ciclo, por debajo del valor umbral establecido para cultivos de tomate ($8,5 \text{ MJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$), pudo favorecer el incremento de la producción no comercial al originarse problemas asociados a la maduración y desarrollo de frutos.

1.1.2. Radiación PAR

La evolución de la media semanal de la radiación PAR máxima diaria incidente del exterior e interior del invernadero de malla se muestra en la Figura 2.

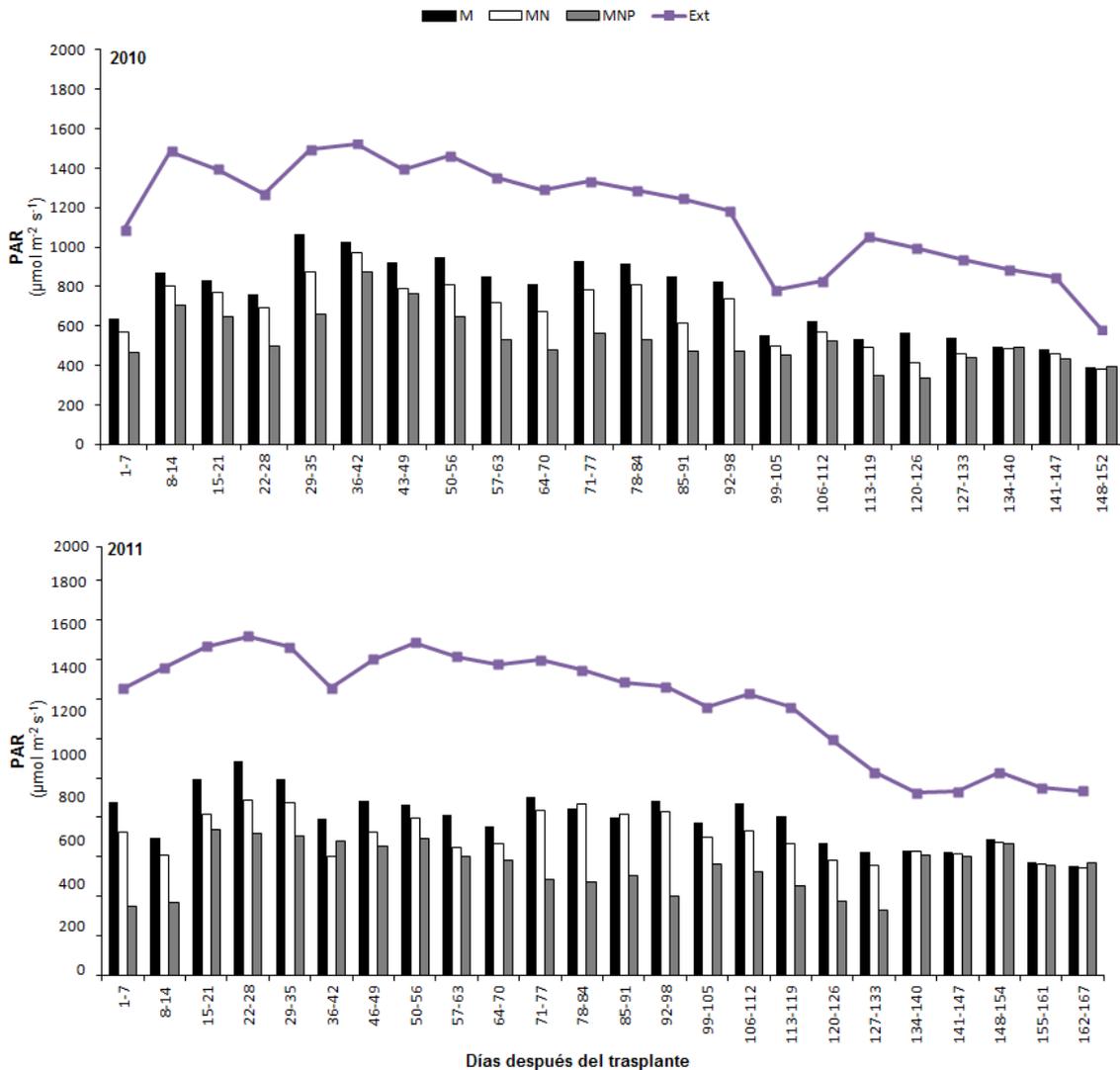


Figura 2. Evolución de la media semanal de la radiación PAR máxima en el exterior (Ext) y bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) durante los ciclos de cultivo 2010 y 2011.

El valor medio del ciclo de la radiación PAR máxima diaria exterior fue de 1168,5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en 2010 y de 1424,8 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en 2011, lo que supuso un aumento del 18% entre ciclos. Las diferencias en los valores medios de radiación entre tratamientos en el invernadero de malla se mantuvieron constantes en ambos ciclos: reducciones del 13% entre M y MN debido al uso de la nebulización y del 30% y del 37% entre MNP y M debido al uso de la pantalla plástica acoplada al funcionamiento de la nebulización en 2010 y 2011, respectivamente.

Los niveles máximos de radiación PAR diaria se alcanzaron coincidiendo con el principio de cada ciclo: 1062,6, 970,3, 874,3 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en M, MN y MNP, respectivamente, mientras la radiación exterior fue de 1522,9 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en 2010 y 1087,6, 884,3 y 720,0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ cuando la radiación máxima exterior fue de 1720,0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en 2011, en el período comprendido entre 22-35 DDT para ambos ciclos.

La reducción de los valores medios semanales de la radiación por parte de la malla pasó de un 30% a un 37% en 2010 y 2011, respectivamente, como ya ocurriera con la integral de radiación global. El uso de la nebulización en MN redujo un 9% y un 19% el valor máximo de radiación PAR en este período frente a M en 2010 y 2011, respectivamente. MNP redujo los valores máximos en un 18% y 34% frente a los datos registrados en M, durante 2010 y 2011, respectivamente para el periodo analizado.

Los valores mínimos de la radiación PAR máxima diaria se alcanzaron al final de cada ciclo desde 113 DDT hasta su finalización (393,0, 341,8, 275,8 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; 623,0, 528,6, 327,3 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para M, MN y MNP en 2010 y 2011, respectivamente).

1.2. Temperatura del aire

La evolución de las temperaturas media y máxima alcanzadas durante los ciclos 2010 y 2011 en el exterior y en los diferentes tratamientos bajo malla, se representa en la Figura 3.

Las temperaturas máximas se alcanzaron durante la primera etapa de cada ciclo, 22-35 DDT, con temperaturas exteriores de 28,6 y 26,6 °C en 2010 y 2011, respectivamente, coincidiendo con los máximos valores de la integral de radiación (Figura 1). Las temperaturas mínimas fueron similares en ambos ciclos y coincidieron con el período comprendido entre 113 DDT hasta el final de cada ciclo. El control climático provisto

de nebulización y el uso acoplado de una pantalla plástica a su funcionamiento no tuvo efecto significativo sobre la temperatura media en ambos ciclos (Figura 3A, 3B), pero sí lo tuvo sobre las temperaturas máximas (Figura 3C, 3D). El tratamiento M no redujo los valores máximos de temperatura, siendo similares a los registrados en el exterior (Figura 3C, 3D). El uso de la nebulización (MN) supuso un descenso de 1 °C de media, mientras que la pantalla plástica (MNP) produjo un incremento de al menos 2 °C respecto a los valores medios registrados en el exterior.

Mientras que el efecto de la malla sobre la radiación solar incidente y la velocidad del viento es de sobra conocido, su efecto sobre la temperatura es más complejo (Tanny, 2013), pues al reducir la radiación solar directa no siempre disminuye la temperatura del aire en el interior del invernadero. Varios estudios demuestran el aumento de la temperatura ambiental bajo invernaderos de malla en 1,0 °C y hasta 3,5 °C respecto a la temperatura exterior durante el día (Waggoner, 1959; Desmarais *et al.*, 1999; Möller y Assouline, 2007). Estos autores explicaron que el gradiente positivo en la temperatura interior se debió principalmente a la evaporación procedente de la superficie del suelo que es inversa al incremento en el nivel de sombreado proporcionado con la malla (Tanny, 2013).

En nuestro estudio, aunque la diferencia entre la temperatura máxima exterior y dentro del invernadero de malla no fue significativa, sí fue positiva (0,4 y 0,2 °C para 2010 y 2011, respectivamente). Esta diferencia en la temperatura máxima se incrementó tras la introducción de un sistema de refrigeración (MN) en 2,1 y 0,5 °C respecto a la temperatura máxima exterior para 2010 y 2011, respectivamente (Tabla 3). Esta reducción de los valores de temperatura máxima lograda por sistemas evaporativos respecto a la exterior fue mucho menor a la conseguida en climas subtropicales bajo invernadero plástico, donde las reducciones fueron superiores a 10 °C (Kittas *et al.*, 2003; Max *et al.*, 2009). La variación térmica diaria creada tras la activación de la nebulización de alta presión en verano bajo un invernadero de cubierta plástica en el área Mediterránea, fue de 2,5-3,5 °C manteniendo la temperatura por debajo de 32 °C, frente a condiciones no climatizadas en un cultivo de berenjena (Max *et al.*, 2009).

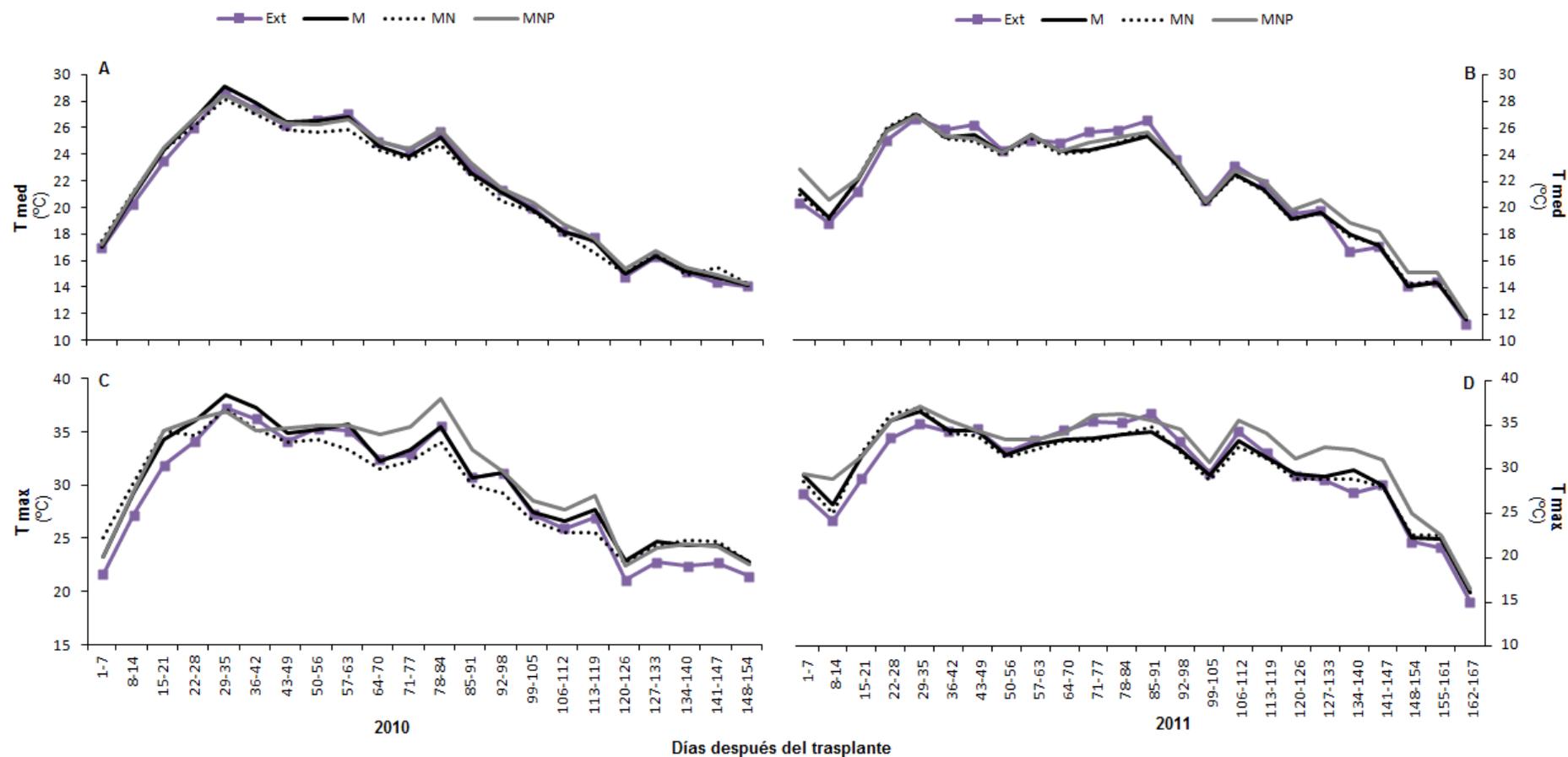


Figura 3. Evolución de la media semanal de los valores de temperatura del aire medios (A, B) y máximos diarios (C, D) registrados en el exterior (Ext), bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) durante los ciclos de cultivo 2010 y 2011.

Muchos autores promueven que el enfriamiento por evaporación de agua es el método más efectivo para el control de las condiciones ambientales generadas en el invernadero, por encima de la ventilación natural o forzada (Arbel *et al.*, 2003; Kittas *et al.*, 2003; Perret *et al.*, 2005), ya que puede aumentar la diferencia térmica en 2,6 °C respecto a ésta hasta llegar a 3,2 °C frente a las condiciones ambientales del exterior (Max *et al.*, 2009).

La disminución de la radiación llevada a cabo por estos sistemas de control climático puede contribuir de manera parcial a disminuir la temperatura ambiental en el invernadero respecto al exterior (González-Real y Baille, 2006). Sin embargo, esta reducción se debe principalmente a la alteración de la transpiración del cultivo. Según Fuchs *et al.* (2006) la transpiración juega un papel fundamental en la disipación de calor. La nebulización puede reducir la transpiración entre un 12% y un 51% dependiendo del índice de área foliar (LAI), ya que al aumentar este parámetro la contribución del sistema de refrigeración sobre la transpiración disminuye (Montero, 2006). García *et al.* (2011) observaron que la diferencia de temperaturas máximas entre el interior del invernadero y el exterior se veían reducidas gradualmente a medida que el LAI se incrementaba con una linealidad de 0,78. Es decir, los sistemas de refrigeración serán más eficientes durante los períodos en los que la cubierta vegetal sea escasa (LAI bajo), ya que un cultivo plenamente desarrollado contribuye de manera más activa a aumentar el nivel de humedad al ser mayor su tasa transpirativa, disminuyendo la necesidad de evaporar agua artificialmente (Montero *et al.*, 2005). En nuestro estudio, el incremento del LAI coincidió con el período en que las condiciones extremas se suavizaron al avanzar el ciclo, por lo que la contribución del sistema de refrigeración se redujo por ambas condiciones.

Romero-Gómez *et al.* (2012) lograron con un sistema de nebulización de baja presión bajo un invernadero de malla, reducciones de hasta 3 °C, los días de temperaturas exteriores superiores a los 38 °C. Estas diferencias se vieron atenuadas por la pérdida de agua nebulizada como consecuencia de la porosidad de la malla (Romero-Gómez *et al.*, 2012a), quedando la temperatura por encima de los valores óptimos del cultivo. En nuestro estudio, la pantalla plástica acoplada al sistema de nebulización, pudo evitar dichas pérdidas de agua a través de los poros de la malla. Sin embargo, mostró incrementos de 2,6 y 1,8 °C en las temperaturas máximas, aún con reducciones del 30%

en la radiación solar incidente (Tabla 3), pudiendo ser provocado por la falta de ventilación y por una mayor transmisión del plástico utilizado en la longitud del infrarrojo.

1.3. Déficit de presión de vapor (DPV)

La evolución del DPV medio y máximo alcanzado durante los ciclos 2010 y 2011 en el exterior y en los tratamientos bajo malla se representa en la Figura 4.

El DPV medio fue mayor al inicio del primer ciclo con valores próximos a los 3 kPa y fue bajando progresivamente hasta los 0,5-1,0 kPa al final del ciclo. En 2011 no se alcanzaron valores medios tan elevados, y la reducción de este parámetro no fue tan pronunciada como la del ciclo 2010, manteniéndose en valores entre 1,0-2,5 kPa la mayor parte del ciclo. El DPV medio fue siempre menor en los tratamientos MN y MNP para ambos ciclos (Figura 4A, 4B).

Sin embargo, como ya pasara con la temperatura del aire, el mayor efecto logrado por dichos sistemas de refrigeración se alcanzó en los valores máximos registrados (Figura 4C, 4D). Los valores máximos medios del ciclo fueron 3,6, 3,3, 2,9 y 3,3 en 2010 y 3,8, 3,5, 3,4 y 3,3 kPa en 2011 en el exterior, M, MN y MNP, respectivamente. El DPV máximo en 2011 disminuyó respecto al año anterior, alcanzando reducciones de 0,2 kPa en MNP respecto a M y de 0,6 kPa respecto del exterior.

Los niveles máximos de DPV en los tratamientos bajo malla se alcanzaron coincidiendo con el principio de cada ciclo: 5,4, 5,0 y 4,9 kPa en M, MN y MNP, respectivamente, mientras que el DPV máximo exterior fue de 5,6 kPa en 2010. Durante 2011, los niveles máximos de DPV fueron de 4,7, 4,8 y 4,7 kPa en M, MN y MNP, respectivamente, cuando el DPV máximo exterior fue de 5,3 kPa, para dicho período de estudio.

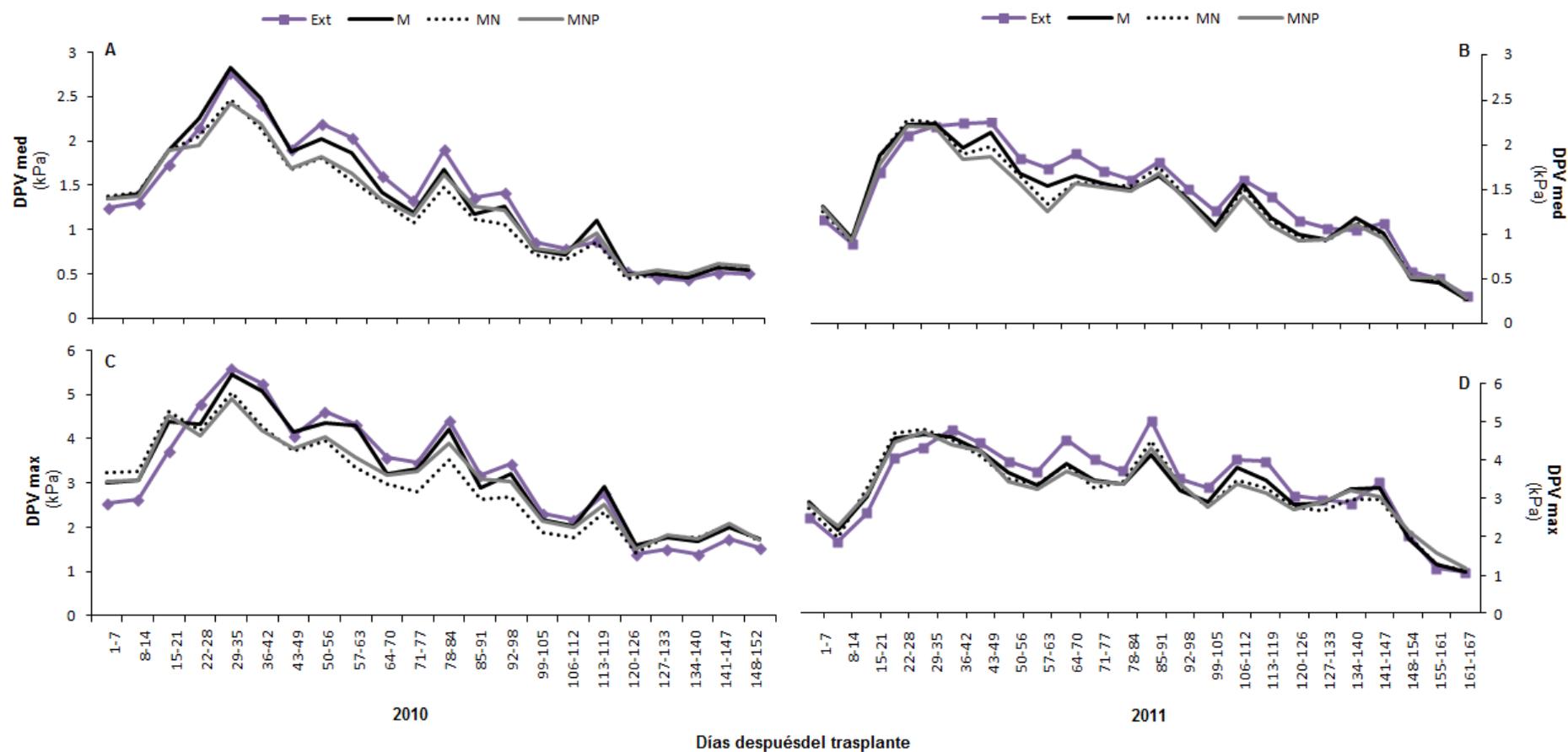


Figura 4. Evolución de la media semanal de los valores de DPV medios (A, B) y máximos diarios (C, D) registrados en el exterior (Ext) y bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) durante los ciclos de cultivo 2010 y 2011.

La malla impide la ventilación y generalmente inhibe el intercambio de vapor de agua en el invernadero de malla (Tanny *et al.*, 2013). No obstante, Tanny (2013) consiguió un aumento en la humedad relativa ambiental en un invernadero de malla del 8% frente a las condiciones externas en un cultivo de banana. En nuestro caso, en M se obtuvo un incremento en la humedad relativa del 15% y 10% en 2010 y 2011, respectivamente, que junto a una disminución ligera de la temperatura máxima, supuso en ambos ciclos una diferencia de 300 Pa respecto al exterior, presumiblemente por la reducción en la radiación (Tabla 1). En MN, la nebulización no tuvo un efecto constante en ambos ciclos, lo que hizo que el DPV máximo no se redujera en el segundo ciclo (Tabla 1). Perdigones *et al.* (2008) obtuvieron una diferencia de 2,5 °C en la temperatura máxima cuando se usó un dispositivo de nebulización de alta presión bajo una malla de sombreo. Por tanto, estos sistemas evaporativos mejoran sustancialmente el clima en el invernadero, reduciendo la temperatura e incrementando la humedad relativa y como consecuencia ayudando a reducir el DPV y moderar la demanda en la transpiración (Katsoulas *et al.*, 2001).

El DPV al ser un parámetro en el que se integra temperatura y humedad relativa, no sólo disminuye por un descenso en la temperatura, sino que también puede hacerlo tras un aumento de la humedad relativa (Rojano *et al.* 2011). Por eso, el despliegue de la pantalla durante la nebulización en MNP, al incrementar la humedad relativa máxima en un 11% y un 13%, mantuvo el DPV máximo en 2010 y lo redujo en 2011, aún incrementando la temperatura máxima entre 1,0 y 1,5 °C durante ambos ciclos del cultivo frente a las condiciones registradas en M (Tabla 1).

1.4. Evolución diaria de los parámetros climáticos

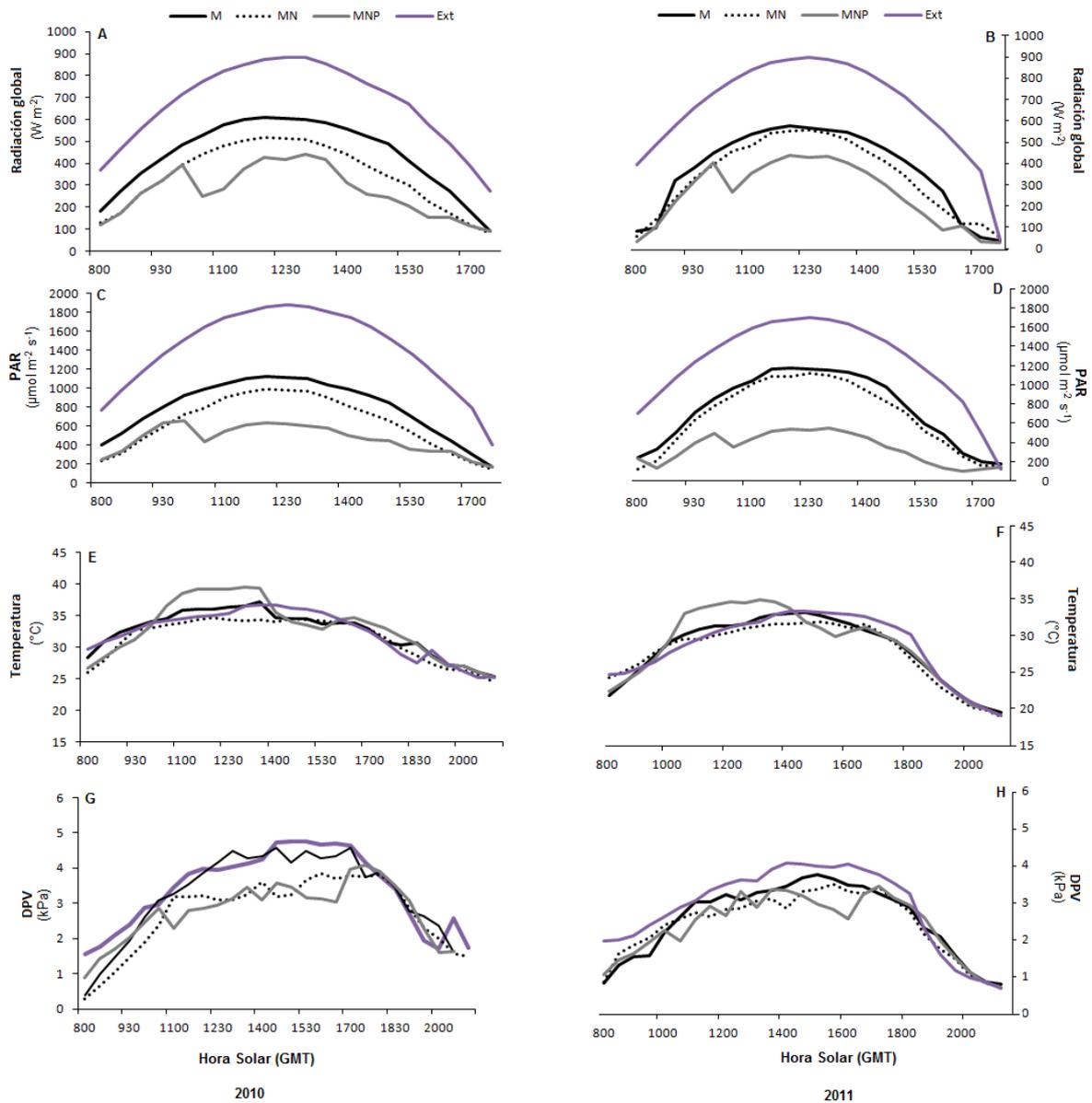


Figura 5. Evolución diaria de la radiación global (A, B), la radiación PAR (C, D), la temperatura del aire (E, F) y DPV (G, H) registrados en el exterior (Ext) bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) a los 64 DDT y 70 DDT (cuando el LAI fue de 3,3, 3,2 y 3,0 $m^2 m^{-2}$; 4,5, 2,8 y 3,8 $m^2 m^{-2}$ para M, MN y MNP) en 2010 y 2011, respectivamente.

Entre 10:00-16:00 GMT, periodo central de funcionamiento de los sistemas de refrigeración, se manifestaron las máximas diferencias entre tratamientos.

La radiación global se vio reducida en un 16% y un 5% tras la incorporación del sistema de nebulización al invernadero de malla y un 35% y un 25% al incorporar además la pantalla, respecto a M en ambos ciclos. Esto supuso la diferencia de 117 y 112 W m⁻² en el valor máximo diario por el uso de la pantalla de sombreado en MNP respecto a MN en 2010 y 2011, respectivamente (Figura 5A y 5B).

En cuanto a la radiación PAR, durante ambos ciclos se obtuvieron datos máximos similares bajo M (1100-1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), con reducciones del 12% y del 7% bajo MN en 2010 y 2011, respectivamente y próximas al 50% en MNP con respecto a M (Figura 5C, 5D).

La incorporación del sistema de nebulización bajo el invernadero de malla mejoró la temperatura del aire en la franja horaria de funcionamiento en 2 °C y 1 °C durante 2010 y 2011. Sin embargo, MNP manifestó un aumento en la temperatura ambiental del invernadero en 1 °C y 3 °C, para ambos días respecto a la alcanzada en M (4 °C y 3 °C superior a la de MN) (Figura 5E, 5F).

MN redujo el DPV en 1,1 kPa respecto a M, y fue mejorado con la incorporación de la pantalla en MNP, con una diferencia de 1,3 kPa en 2010. Esta reducción fue mínima en 2011 con descensos de 0,3 y 0,2 kPa en MN y MNP, respectivamente frente a M (Figura 5G, 5H).

1.5. Evolución de los parámetros climáticos durante el funcionamiento de los distintos sistemas de control climático

Debido a que las diferencias significativas entre los distintos tratamientos climáticos se evidencian sobre los valores máximos registrados durante el período de funcionamiento de la nebulización y de la acción conjunta de ésta con la pantalla plástica, a partir de ahora nos centraremos en la recopilación de estos datos a lo largo de ambos ciclos de cultivo (salvo para la integral de radiación global que es considerada diaria) (Tabla 1).

En ambos ciclos, la integral incidente de radiación sobre el cultivo disminuyó con la incorporación del sistema de refrigeración y la incorporación de la pantalla plástica bajo el invernadero de malla (MN/ MNP: 14%/ 34% y 14%/ 36%, en el primer y segundo ciclo, respectivamente). La media de los valores máximos de la radiación global en los tratamientos MN y MNP, se redujo en un 18% y un 37% en 2010, mientras que durante 2011 fue menos pronunciada. De la misma manera, la radiación PAR fue un 19% y 23% menor en MNP frente a los valores obtenidos en M (Tabla 1). El microclima generado en MN redujo la radiación global y PAR, debido a las gotas dispersas en el aire por la nebulización, que reflejó parte de esa radiación. No obstante, la diferencia fue mínima dentro del invernadero de malla y con valores próximos a los alcanzados por Romero-Gómez *et al.* (2012). La incorporación de la pantalla plástica durante el funcionamiento de la nebulización supuso una reducción de la radiación global máxima de 253 y 174 W m⁻², y en la radiación PAR de 225 y 241 μmol m⁻² s⁻¹ en las horas de máxima incidencia 12:00-14:00 (GMT), en 2010 y 2011 respectivamente, frente a las condiciones del invernadero sin refrigerar (M). A pesar de esta reducción proporcionada tras la incorporación de la pantalla plástica en MNP, la media de la integral de radiación global quedó en el límite del punto de compensación lumínica establecido en 8,5 MJ m⁻² d⁻¹ para cultivos de alta saturación lumínica (García *et al.*, 2011), lo que hizo que no fuera un factor limitante para el cultivo de tomate *cherry* en ninguno de los ciclos de su cultivo. Por otro lado, es conocido que el uso de materiales plásticos como cubierta de invernaderos favorece el aumento de radiación difusa frente a la radiación total incidente (Helyes *et al.*, 2006).

Los valores medios más altos de temperatura máxima durante el período de funcionamiento del sistema de nebulización, se registraron en MNP y los más bajos en MN, aunque esta reducción fue más atenuada en 2011. Por el contrario, el DPV máximo de MNP fue similar al del resto debido a que en este tratamiento, la HR fue mayor que en MN, manteniendo los valores en torno al 54% y 55% en ambos ciclos (Tabla 1).

Tabla 1. Media de la integral de radiación diaria y de los valores máximos de los principales parámetros climáticos durante el período de funcionamiento de la nebulización (10:00-16:00 GMT) registrados en el exterior (Ext), bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP).

Ciclo	Parámetros climáticos	Ext	M	MN	MNP
2010	Integral de radiación (MJ m ⁻² d ⁻¹)	21,7	14,1	12,1	9,3
	Radiación global (W m ⁻²)	828,3	673,7	554,1	421,0
	PAR (μmol m ⁻² s ⁻¹)	1842,2	1177,9	1078,4	953,1
	T _{max} (°C)	32,2	31,8	30,1	32,7
	HR _{max} (%)	42,4	48,8	51,2	54,1
	DPV _{max} (kPa)	3,6	3,3	2,9	3,3
2011	Integral de radiación (MJ m ⁻² d ⁻¹)	24,1	13,2	11,3	8,4
	Radiación global (W m ⁻²)	884,1	570,0	548,4	396,3
	PAR (μmol m ⁻² s ⁻¹)	1736,3	1032,8	943,1	791,8
	T _{max} (°C)	32,3	32,1	31,8	33,6
	HR _{max} (%)	44,3	48,9	48,5	55,5
	DPV _{max} (kPa)	3,8	3,5	3,4	3,3

2. Análisis de crecimiento de un cultivo de tomate cherry sometido a distintos sistemas de control climático en un invernadero de malla

2.1. Distribución de peso seco

La planta invierte sus recursos de forma diferente entre los órganos con función de captación de luz y asimilación de CO₂ (hojas), de sostén (tallos) y órganos reproductivos (frutos). La asignación de biomasa a esos diferentes órganos de la planta varía mucho con el desarrollo ontogenético y/o para la adaptación a diferentes condiciones ambientales, entre otros.

La producción de peso seco acumulado determinada para los distintos tratamientos y su distribución relativa en las diferentes fracciones vegetales durante los dos ciclos de cultivo se muestra en la Figura 6.

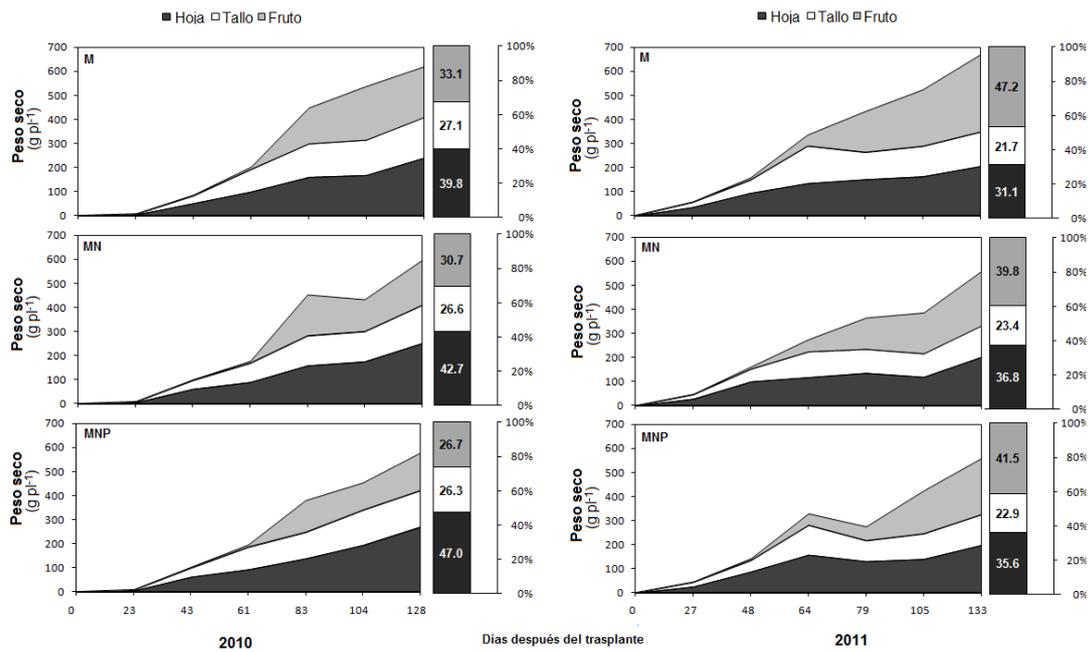


Figura 6. Evolución del peso seco acumulado en las fracciones de hoja, tallo, fruto y exportados de las plantas de tomate *cherry* bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) durante los ciclos 2010 y 2011.

El peso seco relativo acumulado en hojas supuso una inversión próxima al 40% (M) y superior en algunos tratamientos (MN y MNP) durante 2010. Sin embargo, el crecimiento de esta fracción se vio ralentizado durante las primeras etapas del desarrollo (0-23 DDT) frente a 2011 (0-27 DDT) para todos los tratamientos bajo malla, lo que podría haber provocado el retraso en la aparición de frutos respecto al ciclo posterior (61 DDT y 43 DDT en 2010 y 2011, respectivamente). Dicha etapa coincide con las condiciones más extremas en 2010 (DPV medio de 4 kPa; HR del 35% y T^a de 36 °C durante las horas de máxima insolación). Este estrés térmico induce a un cierre estomático, reduciendo la transpiración y fotosíntesis, consiguiendo una alteración en la producción de biomasa y como consecuencia influyendo negativamente sobre el rendimiento del cultivo (Adams y Ho, 1993; Morales *et al.*, 2003; Max *et al.*, 2009).

El peso seco relativo acumulado en tallos se mantuvo constante durante ambos ciclos en todos los tratamientos, suponiendo menos del 30% del peso seco total en todos los casos. Sin embargo, el peso seco relativo acumulado hacia las partes vegetativas (hojas

y tallos) se vio reducido en un 21%, 13% y 25% en M, MN y MNP durante 2011 respecto al ciclo anterior. Esto influyó en que la distribución de peso seco relativa hacia los frutos en 2010 fuera menor que en 2011 (33% y 47% en M, 31% y 40% en MN y 27% y 41% en MNP, respectivamente del peso seco total acumulado).

MNP fue el tratamiento con más inversión en la parte vegetativa de la planta (un 9% y 11% mayor que en M, durante 2010 y 2011, respectivamente) en detrimento de la parte generativa (una reducción del 19% y del 12% frente a M en 2010 y 2011, respectivamente), durante ambos ciclos. En MN registró la menor inversión en frutos durante 2011 (sin superar el 40% del peso seco total acumulado por la planta). Es decir, el sistema de nebulización tuvo el mismo efecto en los tratamientos MN y MNP, favoreció la distribución de asimilados hacia las partes vegetativas, gracias a la mejora de las condiciones ambientales proporcionadas por el sistema de refrigeración.

El contenido de peso seco es un importante criterio relacionado con la calidad (Leonardi *et al.*, 2000) y su distribución hacia los distintos órganos en relación a los factores ambientales, ha sido ampliamente estudiado. La distribución del peso seco final hacia las distintas partes de la planta durante ambos ciclos se detalla en la Tabla 2.

Al considerar los tratamientos climáticos, se observó que los valores obtenidos en 2011 respecto al peso final de frutos, fueron significativamente mayores a los obtenidos en 2010, siendo el tratamiento MNP manifestó los valores más bajos de este parámetro, un 27% menor a los registrados en M de media en ambos ciclos de producción. En nuestro estudio, una de las posibles causas de tal disminución pudo ser debida al estrés generado por las elevadas temperaturas que se registraron en ese tratamiento (Tabla 1). Apoyando esta hipótesis se encuentran los resultados proporcionados por Marcelis y Hofman-Eijer (1993), que describieron un acortamiento en el período productivo propiciado por una mayor aceleración del crecimiento general de la planta en un cultivo de calabacín. Mitwawa *et al.* (2006) corroboró esta teoría en un cultivo de tomate donde el crecimiento se evidenció en la altura de la planta, afectando negativamente a su rendimiento. Por otra parte, el peso final de la planta destinado hacia las hojas fue mayor en MNP (un 13% superior a la distribuida por la planta en M durante 2010). Varios autores comprobaron que reducir la radiación incidente generaba el aumento de la superficie foliar para incrementar la fotorrecepción incrementando la eficiencia en el

uso de la radiación (Cockshull *et al.*, 1992; Schwarz *et al.*, 2002; Sandri *et al.*, 2003; García, 2007). Finalmente, las diferencias en la acumulación de peso seco final destinado hacia los tallos no fueron significativas para ninguno de los ciclos analizados bajo cualquiera de los tratamientos estudiados. El peso seco total final no manifestó diferencias significativas para ninguno de los tratamientos estudiados durante ambos ciclos.

El índice de cosecha (IC) expresa el rendimiento de un cultivo al estar definido por la capacidad de acumular biomasa en los órganos que se destinan a la cosecha, siendo dichos órganos los principales sumideros que compiten entre ellos y con los órganos vegetativos (fuente) por los asimilados disponibles (Pail y Gálvez, 2005). El balance apropiado entre el aporte y la demanda de asimilados de una planta tiene una gran importancia para optimizar la producción y la calidad, y se puede obtener a través de una adecuada relación fuente/sumidero (Pail y Galvez, 2005). En invernaderos mediterráneos, el IC fue de 0,3 en plantas de tomate bajo condiciones subóptimas (Castilla *et al.*, 1990). Los resultados obtenidos en el primer ciclo del cultivo correspondieron con este valor, sin embargo, existió un incremento medio del 42%. MNP manifestó los índices más bajos con reducciones del 18% y del 13% frente a M en 2010 y 2011, respectivamente, denotando la influencia que ejerció la distribución de peso seco hacia las partes vegetativas en este índice para este tratamiento (Figura 6). Las temperaturas elevadas en plantas de tomate (temperaturas día/noche superiores a 26/20 °C y extremas a 35/26 °C) incrementan el aborto de flores y/o frutos, viéndose las partes vegetativas beneficiadas en la distribución del peso seco total de la planta (Van den Boogaart y Schellekens, 1990). El aumento de la temperatura generado en MNP pudo alterar la carga de frutos en la planta y la distribución de peso seco que dirigió ésta hacia ellos. Sin embargo, esta distribución diferencial del peso seco favoreciendo la parte vegetativa frente a la reproductiva, se vio compensada al no mostrar diferencias significativas en el peso seco total entre tratamientos durante ambos ciclos de producción.

Tabla 2. Distribución del peso seco final de fruto, hoja, tallo, peso seco total e índice de cosecha (IC) en un cultivo de tomate *cherry* bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) a los 128 y 133 días después del trasplante en 2010 y 2011, respectivamente.

Tratamiento	Peso seco (g pl ⁻¹)				IC
	Fruto	Hoja	Tallo	Total	
Ciclo 2010					
M	212,12±38,47 a ^a	239,88±12,77 b	168,81±17,45	620,81±42,47	0,33±0,01 a
MN	186,44±12,45 ab	252,53±11,15 ab	157,90±7,49	596,87±32,27	0,31±0,02 ab
MNP	155,46±16,02 b	270,69±15,17 a	151,68±9,90	577,84±27,14	0,27±0,02 b
P valor ^b	*	*	ns	ns	*
LSD _{0,05}	54,46	30,04	36,81	105,57	0,05
Ciclo 2011					
M	321,32±41,39 a	205,84±29,52	142,42±9,46	669,58±64,65	0,47±0,02 a
MN	226,31±34,60 b	200,85±11,27	129,69±6,82	557,35±31,40	0,40±0,04 b
MNP	233,07±18,77 ab	198,47±10,57	126,97±4,41	558,51±27,32	0,41±0,02 ab
P valor	**	ns	ns	ns	*
LSD _{0,05}	89,96	39,09	22,21	126,15	0,07
Análisis de varianza					
Tratamiento (T)	*	ns	*	*	*
Ciclo (C)	**	***	***	ns	**
T X C	ns	ns	ns	ns	ns

^aLas diferencias entre medias se compararon usando el test de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) seguidas por \pm SE.

^bLos niveles de significación se expresaron como * P <0,05, ** P <0,01, *** P <0,001, y ns (no significativo), P > 0,05.

2.2. Producción de frutos

Es primordial conseguir un desarrollo foliar rápido, para asegurar un óptimo desarrollo de las futuras fuentes de asimilados (hojas) que atiendan a la futura demanda de asimilados de los frutos (Castilla, 2007). La competencia entre órganos que actúan como sumideros influye en el crecimiento y desarrollo y por tanto, en la producción (Urban, 1997).

Los parámetros relacionados con la producción de frutos a nivel de planta para los diferentes tratamientos bajo malla durante los dos ciclos de producción se representan en la Tabla 3.

MNP alcanzó los valores más bajos en el peso final de frutos por planta con una disminución del 17% y 19% respecto a M, para ambos ciclos. El peso de frutos comerciales no se vio afectado por ningún tratamiento climático durante ambos ciclos de estudio. MNP obtuvo el menor número de frutos por planta con una reducción del 28% y un 24% respecto a M en 2010 y 2011, respectivamente. La fuerza del sumidero parece ser proporcional al número de frutos por racimo en plantas de tomate y disminuye con la intensidad de luz, así como con el aumento de la competencia por asimilados de otros órganos sumidero (Marcelis, 1994). La baja carga de frutos en 2010 respecto a 2011, pudo deberse al retraso en la plantación (8 de Junio frente a 24 de Mayo, respectivamente), cuando el estadio de desarrollo de la planta era más sensible al estrés ambiental (Wahid *et al.*, 2007) y/o a la reducción en la liberación del polen en estrés térmico, que es un factor fundamental que determina la carga de frutos (Wahid *et al.*, 2007).

Existió un aumento del peso medio del fruto en MNP del 45% y 20% respecto a los frutos de M en 2010 y 2011, respectivamente. El DPV conseguido en los tratamientos nebulizados respecto a M, pudo alterar los mecanismos relacionados con el balance hídrico en la planta. Este efecto ha sido descrito también por Katsoulas *et al.* (2009) en un cultivo de berenjena con un sistema de nebulización bajo un invernadero de cubierta plástica, donde el uso de este dispositivo incrementó el peso medio del fruto en un 18% disminuyendo el número de frutos por planta en un 14%, frente a condiciones no climatizadas. El aumento del peso medio se pudo deber al aumento del contenido en agua del fruto en los tratamientos nebulizados, MN y MNP, y no al contenido de asimilados a nivel de fruto. Varios autores proponen que la reducción del DPV en 0,6 kPa (diferencia similar a la alcanzada en MNP respecto al DPV exterior) causa un incremento significativo en el peso fresco del fruto asociado a un aumento significativo de su contenido en agua y a un descenso de sólidos solubles (Leonardi *et al.*, 2000; Leyva *et al.*, 2013). El flujo de agua hacia el fruto está gobernado por el gradiente de potencial hídrico entre el tallo y el fruto, gradiente a su vez influenciado por la corriente transpiratoria. El alto DPV en M reduciría el contenido hídrico en fruto debido a un incremento en la transpiración en el mismo y al almacenamiento de agua a nivel de la planta, porque los recursos hídricos en la planta competirían por aliviar la transpiración foliar, como describieron Jolliet y Bailey (1992) o bien se verían limitados tras el cierre estomático. Por esta razón, la mejora de las condiciones adversas sería un prerequisite

indispensable para la producción sostenible y de calidad de tomate en invernaderos Mediterráneos. Por esta razón, la mayoría de las especies hortícolas en la zona Mediterránea necesitan de un sistema de nebulización, especialmente durante el inicio de la campaña de cultivo y después del trasplante (Julio y Agosto) para prevenir el estrés de la planta y obtener una producción de calidad (Montero *et al.*, 2001).

Tabla 3. Peso fresco final de frutos de tomate *cherry* bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) a los 128 y 133 días después del trasplante en 2010 y 2011, respectivamente.

Tratamiento	Peso total fruto (kg planta ⁻¹)	Peso fruto comercial (kg planta ⁻¹)	Nº total de frutos (n planta ⁻¹)	Peso medio fruto (g)	Contenido PS (%)
Ciclo 2010					
M	2,48±0,11 a ^a	1,63±0,26 a	330,67±42,50 a	6,87±0,70 b	9,22±0,40 a
MN	2,40±0,12 a	1,60±0,30 a	260,33±32,91 ab	8,85±0,54 a	8,14±0,19 b
MNP	2,06±0,08 b	1,44±0,25 a	211,00±28,80 b	10,00±0,71 a	8,30±0,21 b
Pvalor ^b	*	ns	*	*	*
LSD _{0,05}	0,30	0,65	92,03	1,85	0,75
Ciclo 2011					
M	4,27±0,28 a	2,88±0,41 a	450,67±28,18 a	9,69±0,56 b	7,55±0,26 a
MN	3,33±0,32 b	1,98±0,33 a	379,17±48,37 ab	9,56±0,47 b	6,97±0,22 ab
MNP	3,47±0,21 ab	2,28±0,24 a	301,83±16,23 b	11,59±0,75 a	6,69±0,15 b
Pvalor	*	ns	*	*	*
LSD _{0,05}	0,85	0,91	113,28	1,95	0,71
Análisis de varianza					
Tratamiento (T)	ns	ns	***	**	***
Ciclo (C)	***	**	***	**	***
T X C	ns	ns	ns	ns	ns

^aLas diferencias entre medias se compararon usando el test de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) seguidas por ± SE.

^bLos niveles de significación se expresaron como * P <0,05, ** P <0,01, *** P <0,001, y ns (no significativo), P > 0,05.

MNP redujo el contenido relativo de peso seco por fruto en un 23% y 11% respecto a M para ambos ciclos de cultivo. MN manifestó un comportamiento intermedio entre M y MNP para todos los parámetros mencionados. La distribución de peso seco está fuertemente influenciada por el número de frutos por planta (Heuvelink, 1996), siendo éste el parámetro más determinante y con una correlación positiva entre la distribución de peso seco hacia el fruto y la radiación. Marcelis (1993) propuso la existencia de una relación entre el número medio de frutos en la planta y su biomasa. De acuerdo con

Cockshull (1992), la reducción de la radiación sobre las plantas de tomate en nuestro estudio, fue una de las principales causas por las que disminuyó el número de frutos.

2.3. Índices de crecimiento

La evolución de los índices de crecimiento para los distintos tratamientos durante los ciclos de 2010 y 2011 se representa en la Figura 7.

El análisis de crecimiento ha sido usado para el estudio de los factores que influyen en el desarrollo de la planta y el rendimiento, a través del seguimiento de la acumulación de peso seco durante el tiempo (Gardner *et al.*, 1985). Una alta radiación acompañada de altas temperaturas y la relación fuente-sumidero, afectan al desarrollo del cultivo, manifestando cambios en los índices de crecimiento (Harssema, 1977; Bruggink, 1992; Heuvelink y Buiskool, 1995).

El índice de área foliar (LAI) presentó una distribución sigmoidea característica durante la evolución anual en los distintos ciclos, salvo por el crecimiento exponencial en la última fase del primer ciclo (104-128 DDT), denotando la inversión de la planta en superficie foliar durante este ciclo productivo. Sin embargo, durante 2011 este índice llegó a su máximo nivel de desarrollo a los 64 DDT y se mantuvo constante hasta el final del ciclo de cultivo (Figura 7A y 7B).

El área foliar específica (SLA) tiene una marcada influencia en la capacidad fotosintética durante la fase de crecimiento exponencial y es un mecanismo de adaptación determinante, sin embargo, pierde importancia cuando el dosel vegetal está desarrollado (Lorenzo *et al.*, 2003). La evolución de este índice fue descendente a medida que se avanzaba en el ciclo desde valores iniciales de 0,02 hasta 0,01 m² g⁻¹. Los valores más altos de SLA se produjeron en 2010 a los 61 DDT, mientras que en 2011 este período se desplazó hasta los 79 DDT, con un incremento significativo en MN y MNP, respectivamente y que sólo fue constante en el caso de MNP hasta el final de ese ciclo.

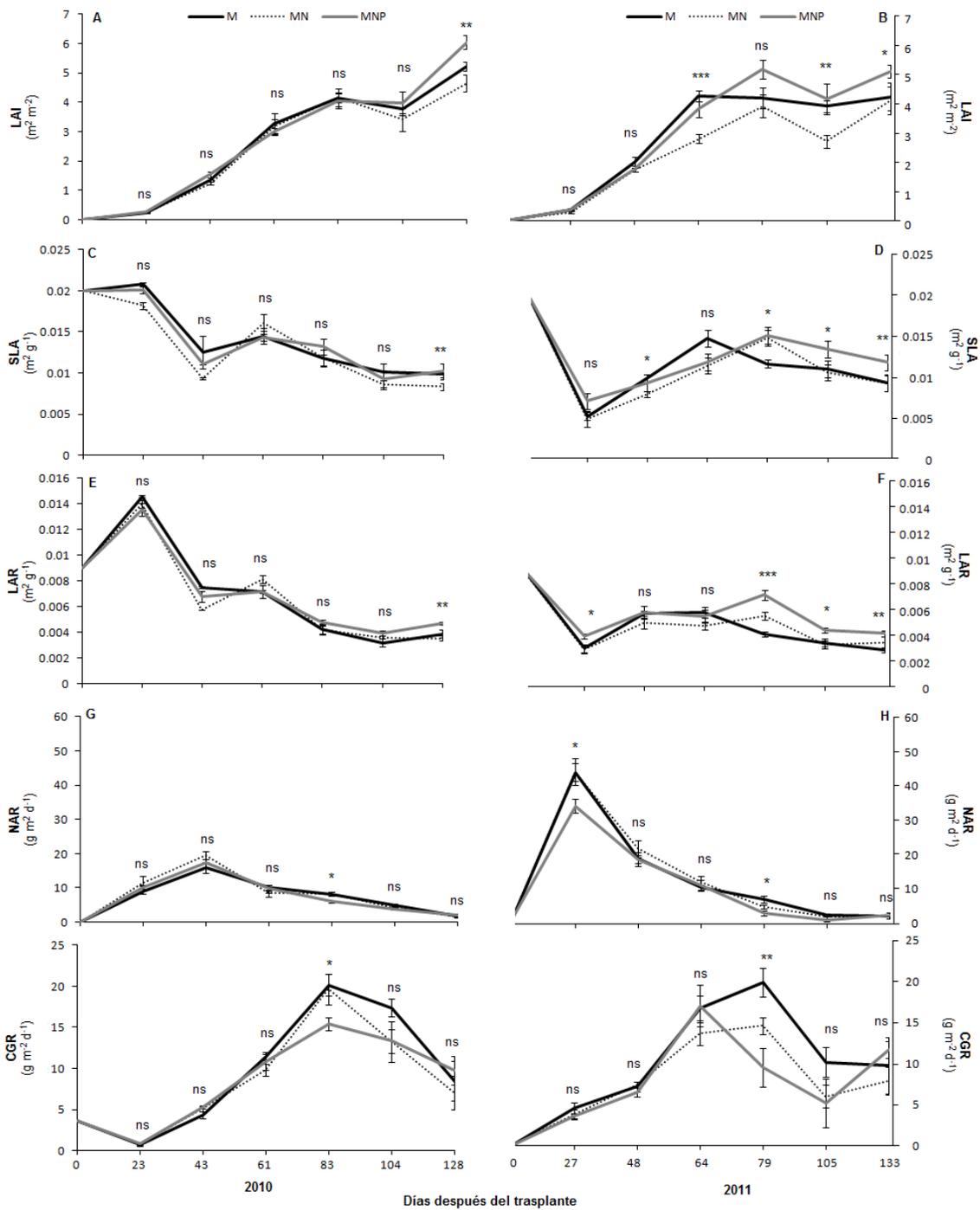


Figura 7. Evolución de los índices de crecimiento: LAI (A, B), SLA (C, D), LAR (E, F), NAR (G, H) y CGR (I, J) en las plantas de tomate *cherry* bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) durante los ciclos de 2010 y 2011. Las barras verticales indican \pm SE de los valores medios. Diferencias entre medias se compararon usando el test de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD). Los niveles de significación se expresaron como * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, y ns (no significativo), $P > 0,05$.

El aumento de SLA en MNP en los periodos finales de ambos ciclos, se debió tanto a la disminución del peso seco de hoja respecto al resto de tratamientos (Figura 6) como al aumento de la superficie foliar, por lo que las hojas fueron más delgadas y de mayor superficie en las plantas (Tabla 5), efecto atribuido principalmente a las plantas sombreadas (García, 2007). La alta radiación a menudo se asocia con cambios morfo-fisiológicos involucrados en el proceso adaptativo como una reducción de SLA para la protección frente a la radiación, así como incrementar el espesor de la hoja, debido a la cantidad de capas o al crecimiento del tejido en empalizada (desarrollo en profundidad de la capa esponjosa) (Fan *et al.*, 2013).

La razón de área foliar (LAR) siguió una tendencia descendente a medida que avanzaba el ciclo de cultivo pero más pronunciada en 2010 respecto a 2011. En 2010, este índice al igual que ocurriera con el SLA, manifestó un incremento durante la etapa inicial del ciclo debido a su retraso en el crecimiento representado por una baja distribución de peso seco a las hojas (SLA) y del peso seco total (LAR). El sombreado conseguido por MNP aumentó el LAR en las plantas por el aumento de la superficie foliar, unido a un aumento en el número de hojas (Tabla 5).

Por su parte, el componente fisiológico del crecimiento o tasa de asimilación neta (NAR), es el resultado del balance neto entre las ganancias por la tasa de fotosíntesis y las pérdidas por las tasas de respiración de hojas y tallos. No obstante, también intervienen otros factores en NAR, como la distribución de biomasa a diferentes órganos, la composición química y la formación de área foliar (Poorter, 2005). La baja inversión de las plantas en peso seco durante 2010 en la fase inicial de crecimiento hizo que esta tasa no incrementara significativamente, mientras que en 2011 se produjera la mayor tasa de asimilación propia de la fase de crecimiento exponencial del cultivo. Esta disminución en el NAR durante el inicio del cultivo (0-43 DDT) en 2010 fue debido posiblemente a las condiciones ambientales extremas acontecidas durante ese período (Figura 3C; Figura 4C)

La tasa de crecimiento del cultivo (CGR) es una variable fisiológica que indica la cantidad de biomasa por unidad de área del cultivo durante un período de tiempo (Monte *et al.*, 2013). El CGR máximo se alcanzó a los 83 DDT en 2010 y 79 DDT en 2011, salvo para el tratamiento MNP, que en el último ciclo durante ese periodo ya experimentaba su fase de decrecimiento. La inversión en la superficie foliar que se

desarrolla en MNP alcanzada a los 79 DDT en 2011, demostrada por altos valores de LAI, SLA y LAR (y siendo menos evidente a los 83 DDT en 2010) supuso un efecto negativo en ambas tasas de crecimiento NAR y CGR, al manifestar los valores más bajos de peso seco en la planta durante ambos ciclos.

El análisis de crecimiento de las plantas se ha desarrollado durante las últimas décadas como una disciplina relacionada con la ecofisiología y la agronomía, siendo una herramienta útil en la descripción de especies vegetales con mayor capacidad de adaptación frente a condiciones ambientales cambiantes (Poorter, 2005). El efecto de diferentes condiciones ambientales sobre los índices de crecimiento medios *LAI*, *SLA*, *LAR*, *NAR* y *CGR* de cada ciclo se presenta en la Tabla 4.

Existió un aumento significativo en 2010 respecto a 2011 para *LAI*, ocasionado principalmente por la inversión que realiza la planta en la fracción vegetativa durante este ciclo, siendo M y MNP los tratamientos que mostraron los niveles más altos en dicho parámetro. A menudo, un alto *LAI* está asociado con un adecuado abastecimiento de agua, y por tanto, está considerado como un buen índice para evitar estrés durante períodos de verano en invernadero, incluso cuando no se dispone de un sistema de refrigeración (Katsoulas *et al.*, 2011). *SLA* y *LAR* considerados como los componentes morfológicos del crecimiento (Villar *et al.*, 2004), también presentaron los valores más altos en MNP durante ambos ciclos. Aunque estos parámetros muestren valores finales similares, su dinámica fue muy distinta a lo largo del ciclo productivo, especialmente durante 2011 (Figura 7C, 7D). Estos aumentos en los índices relacionados con la fracción foliar se debieron al incremento del área foliar y su posterior mantenimiento en las etapas finales del ciclo, especialmente en 2011. El descenso en la incidencia de la radiación en este tratamiento evitó que las plantas tuvieran que desarrollar un descenso en el grosor de la hoja, adaptación fisiológica habitual de las plantas con el fin de protegerse de una alta radiación (Fan *et al.*, 2013), siendo de gran trascendencia funcional al mejorar el balance hídrico de la hoja. Por su parte, el componente fisiológico del crecimiento *NAR*, aumentó un 40% de media entre ambos ciclos y se debió a la alta inversión de las plantas en peso seco durante 2011 en la fase inicial del crecimiento del cultivo (Figura 7G; Figura 7H). El tratamiento MNP fue el que presentó los valores más bajos en ambos ciclos, con reducciones del 8% y del 18% frente a MN que presentó los valores más elevados de este parámetro en 2010 y 2011, respectivamente. Esta reducción del *NAR* en MNP estuvo promovida por la reducción

en la radiación solar, además de por un rápido desarrollo de la superficie foliar que favoreció la disminución de los valores en esta tasa de crecimiento (García, 2007).

El índice *CGR* presenta la productividad total de materia seca de la planta por unidad de superficie y fue menor en MNP durante ambos ciclos, con una reducción del 18% y 22% frente a M, en 2010 y 2011, respectivamente. El *CGR* puede interpretarse también como el producto entre *NAR* y *LAI* (Monte *et al.*, 2013), así, el desarrollo del *LAI* en MNP repercutiría negativamente sobre el *NAR* y por tanto afectaría a la tasa media del crecimiento del cultivo (Figura 7J).

Tabla 4. Índices de crecimiento medios de un cultivo de tomate *cherry* bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) en ambos ciclos de cultivo.

Tratamiento	<i>LAI</i> (m ² m ⁻²)	<i>SLA</i> (m ² g ⁻¹)	<i>LAR</i> (m ² g ⁻¹)	<i>NAR</i> (g m ⁻² d ⁻¹)	<i>CGR</i> (g m ⁻² d ⁻¹)
Ciclo 2010					
M	2,93±0,08 ab ^a	0,013±0,000 a	0,007±0,00 ab	7,18±0,22 ab	10,32±0,71 a
MN	2,82±0,09 b	0,012±0,000 b	0,006±0,00 b	7,62±0,21 a	8,47±0,33 b
MNP	3,15±0,11 a	0,013±0,000 a	0,007±0,00 a	7,00±0,29 b	8,45±0,27 b
Pvalor ^b	*	*	ns	*	*
LSD _{0,05}	0,30	0,001	0,001	0,52	1,59
Ciclo 2011					
M	2,67±0,11 a	0,012±0,000 ab	0,005±0,00 b	12,55±0,40 a	9,76±0,51 a
MN	2,29±0,14 b	0,011±0,000 b	0,005±0,00 b	12,82±0,67 a	7,63±0,58 b
MNP	2,79±0,16 a	0,012±0,000 a	0,006±0,00 a	10,47±0,43 b	7,66±0,62 b
Pvalor	*	*	**	*	**
LSD _{0,05}	0,36	0,001	0,001	1,75	1,35
Análisis de la varianza					
Tratamiento (T)	***	*	*	ns	***
Ciclo (C)	***	***	***	***	ns
T X C	ns	ns	ns	*	ns

^aLas diferencias entre medias se compararon usando el test de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) seguidas por ± SE.

^bLos niveles de significación se expresaron como * P <0,05, ** P <0,01, *** P <0,001, y ns (no significativo), P > 0,05.

Una tasa de crecimiento rápida implica una mayor adquisición de biomasa por unidad de tiempo, que le permitiría a su vez captar más recursos (agua y nutrientes). Sin embargo, bajo condiciones adversas como las que se reflejan en este estudio, lo importante es la capacidad de tolerar el estrés, y un menor *CGR* posibilitaría una mejor tolerancia al suponer un menor coste energético para la planta (Villar *et al.*, 2004), pudiendo invertir en otros mecanismos para solventar el estrés.

2.4. Desarrollo foliar

Los factores ambientales a menudo repercuten sobre la planta alterando la disposición, tamaño y/o número de hojas, en definitiva, modificando la arquitectura foliar. Así, Dannehl *et al.* (2012), describió un crecimiento acelerado de la planta al producir mayor número de hojas de menor superficie, disminuyendo la longitud de los entrenudos como consecuencia de una exposición continuada a alta radiación. En este trabajo se estudiaron los parámetros relacionados con el desarrollo foliar como número de hojas, superficie foliar de la planta, distancia entre nudos y concentración relativa de clorofila se representan en la Tabla 5.

MNP (junto a M) presentó los valores más altos para el número de hojas con incrementos del 28% y del 20% respecto a MN que mostró el menor número de hojas por planta en ambos ciclos. De igual manera, el efecto de la pantalla en MNP mejoró la superficie foliar de la planta con incrementos del 16% y del 20% respecto a M, en ambos ciclos del cultivo. Comparando M y MNP, a pesar de presentar una distancia internodal similar, MNP obtuvo una mayor capacidad fotosintética, interpretada como el conjunto de número de hojas y de superficie foliar durante ambos ciclos de producción. Según Van den Boogaart y Schellekens (1990), las temperaturas elevadas (35 °C) en plantas de tomate incrementan el aborto de flores y/o frutos, lo que permitiría que las partes vegetativas se vieran beneficiadas en la distribución del peso seco total de la planta (Tabla 2) y que estaría apoyado por la alteración de la carga de frutos en este tratamiento (Tabla 3). Por otra parte, cuando la radiación disminuye también lo hace el NAR de los cultivos (Papadopoulus *et al.*, 1997), pero las plantas reaccionan aumentando LAR, por lo que el índice relativo de crecimiento no se altera ante las modificaciones de las integrales de radiación (García, 2007). Así, en ciclos de otoño-invierno (integral de radiación media de 15 MJ m⁻² d⁻¹ y temperatura media de 18 °C)

umentan los valores de SLA respecto al ciclo de primavera-verano (integral de radiación media de 29 MJ m⁻² d⁻¹ y temperatura media de 23 °C) manteniendo CGR en torno a 20 g m⁻² d⁻¹ (Heuvelink, 1996). Sin embargo, a pesar de no mostrar diferencias entre MN y MNP en ambos ciclos en CGR, su comportamiento fue muy distinto, pues los datos más bajos relacionados con el desarrollo foliar, tales como el número de hojas y superficie foliar (Tabla 5), estuvieron apoyados por los datos obtenidos en los índices de crecimiento LAI, SLA y LAR (Tabla 4) y fueron registrados en MN. Esta menor inversión en la fracción vegetativa ocasionada por el sistema de nebulización en MN, hizo que pudiera competir con M en el peso total de frutos por planta durante 2010 (Tabla 3). Sin embargo, el menor peso medio del fruto fue determinante para que no se repitiera durante el segundo ciclo (Tabla 3).

Tabla 5. Número de hojas, superficie foliar, distancia internodal y contenido relativo de clorofila en un cultivo de tomate *cherry* bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) a los 128 y 133 días después del trasplante en 2010 y 2011, respectivamente.

Tratamiento	Nº hojas (n pl ⁻¹)	Superficie foliar (m ²)	Distancia internodal (cm)	SPAD (unidades SPAD)
Ciclo 2010				
M	74,46±5,76 a ^a	2,35±0,07 b	6,40±0,46 b	55,30±0,40 a
MN	61,60±2,59 b	2,09±0,12 b	7,42±6,21 a	53,70±0,43 b
MNP	78,89±2,84 a	2,72±0,11 a	5,88±0,19 b	52,57±0,39 c
Pvalor ^b	*	**	*	***
LSD _{0,05}	11,04	0,32	0,94	0,73
Ciclo 2011				
M	59,94±2,30 a	1,90±0,21 b	8,61±0,55	54,85±0,37 a
MN	49,36±5,74 b	1,84±0,22 b	8,55±0,82	53,84±0,39 b
MNP	59,15±2,43 a	2,29±0,10 a	7,28±0,70	47,97±0,36 c
Pvalor	*	*	ns	***
LSD _{0,05}	7,06	0,37	2,17	0,86
Análisis de varianza				
Tratamiento (T)	***	***	**	***
Ciclo (C)	***	**	**	ns
T X C	ns	ns	ns	ns

^aLas diferencias entre medias se compararon usando el test de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) seguidas por ± SE.

^bLos niveles de significación se expresaron como * P <0,05, ** P <0,01, *** P <0,001, y ns (no significativo), P > 0,05.

SPAD es un índice indirecto que representa la densidad relativa de clorofila en una hoja (Hiyama *et al.*, 2005). En nuestro estudio, las hojas de plantas bajo MNP presentaron un valor más bajo de SPAD coincidiendo con las plantas que estuvieron expuestas a una menor radiación global y PAR. No hay que olvidar que el SPAD es un sistema que estima de manera indirecta la concentración de clorofila basándose en la diferencia de la medición de transmitancia a través de la hoja evaluada. La metodología SPAD no mostró una buena correlación entre la concentración de clorofila y la concentración de nitrógeno de la hoja (Figura 9), contrario a lo expuesto por Peng *et al.* (1996) en plantas de arroz. A menudo, el valor de SPAD se relaciona con la concentración de nitrógeno de la hoja, sin embargo, las clorofilas constituyen sólo el 2% del nitrógeno total (Lemaire *et al.*, 2007), por este motivo la determinación de la composición de pigmentos requiere de valores de calibración con mediciones reales de pigmentos usando métodos destructivos. De acuerdo con Antón *et al.* (2006), los sistemas de refrigeración no siempre mejoran el rendimiento bajo el clima Mediterráneo. Kapotis *et al.* (2003) establecieron una relación positiva entre el valor de SPAD con las tasas fotosintética y transpiratoria, además de la conductancia estomática, que normalmente coincide con una eficiencia hídrica en *Amaranthus vitus*. Los resultados de este estudio concuerdan con los ofrecidos por Dingkuhn *et al.* (1998), quienes encontraron una relación negativa entre los índices de crecimiento SLA y LAI con la concentración de clorofila en un cultivo de arroz, afirmando que un alto valor en SLA supone directamente un descenso en dicho contenido, e indirectamente causa un alto nivel de LAI. El SLA se ve afectado por la temperatura (Kropff y Lozt, 1992), y de acuerdo con esto, los máximos valores de temperatura se alcanzaron en MNP; de igual manera, las plantas bajo este tratamiento mostraron un alto SLA y LAI, y un menor contenido en los niveles de SPAD.

2.4.1. Nutrientes

Este estudio analiza las variaciones en la concentración foliar de macro y micronutrientes en plantas de tomate *cherry* bajo un invernadero de malla equipado con nebulización y otros sistemas de refrigeración durante los meses de verano (Figura 8; Figura 9). El estudio de la composición mineral de la planta y los cambios producidos en su composición en respuesta a estímulos fisiológicos y ambientales, el estadio de desarrollo de la planta y/o modificaciones genéticas ha sido definido como ionoma (Salt

et al., 2008). El ionoma puede proporcionar información acerca del estado funcional de la planta en diferentes condiciones de crecimiento (Sánchez-Rodríguez *et al.*, 2010). A menudo un estrés ambiental termina desembocando en un estrés hídrico que reduce la absorción de nutrientes por la raíz hacia la parte aérea de la planta, ya sea debido a una restricción en la transpiración, el transporte activo y/o la permeabilidad de membrana (Kramer y Boyer, 1995). A medida que el estrés se intensifica la absorción de nutrientes por parte de la planta también se ve disminuida, como es el caso de plantas de arroz, soja, maíz o trigo en estrés hídrico (Hu *et al.*, 2006). En plantas de tomate, factores como la salinidad o intensidad lumínica afectan al contenido de nutrientes (Fernández-García *et al.*, 2004; Gent y Ma, 1998).

El nitrógeno (N) es requerido por la planta en grandes cantidades y es esencial en la bioquímica vegetal al formar parte de compuestos no enzimáticos como coenzimas, pigmentos fotosintéticos y metabolitos secundarios, como por ejemplo poliaminas (Maathius, 2009). El menor contenido de N en hoja se observó en el tratamiento M durante ambos ciclos (Figura 8). Este descenso en su concentración pudo ser atribuido a una menor tasa de transpiración tras el cierre estomático y por tanto, un menor transporte de este macronutriente desde la raíz a la parte aérea (Alam, 1999). En estrés hídrico la absorción de N se reduce en plantas de arroz y soja (Tanguilig *et al.*, 1987), trigo (Hu *et al.*, 2006) y judía (Zayed y Zeid, 1997).

El fósforo (P) es esencial para el crecimiento vegetal, homeostasis energética celular (ATP), formación de ácido nucléicos y la activación de numerosas proteínas por fosforilación (Maathius, 2009). Los efectos positivos del fósforo en la planta se atribuyen al incremento en la eficiencia del uso del agua, la conductancia estomática, fotosíntesis, estabilidad de las membranas celulares y las relaciones hídricas (Ackerson, 1985; Brück *et al.*, 2000; Sawwan *et al.*, 2000). En nuestro estudio los contenidos de P durante ambos ciclos de producción no mostraron diferencias significativas en ningún tratamiento climático (Figura 8).

La acumulación de potasio (K) mejora la conductancia estomática, siendo uno de los principales compuestos que ayudan a mantener el turgor celular en el proceso adaptativo de cualquier estrés que culmine en un estrés osmótico secundario (Kafkaiy Xu, 1999). La concentración foliar de K sólo fue significativa en 2011 y fue mayor en los tratamientos MN y MNP (Figura 8), pudiendo ser estos tratamientos más efectivos en

la apertura y cierre de estomas para evitar la pérdida de agua en la planta, viéndose también beneficiado el intercambio gaseoso.

El calcio (Ca) además de tener funciones estructurales, actúa como un segundo mensajero en las cascadas de señalización celular (Maathius, 2009). La concentración de Ca no estuvo afectada por el empleo de sistemas de refrigeración bajo el invernadero de malla, al no existir diferencias significativas en ambos ciclos de cultivo analizados (Figura 8). El magnesio (Mg) ocupa una posición central en la molécula de clorofila e interviene como cofactor enzimático en muchas rutas metabólicas (Hu y Shmidhalter 2005). Existieron diferencias significativas en el factor bloque para la concentración de Mg en hoja. Los tratamientos climáticos de nuestro estudio no influyeron sobre su concentración foliar en ninguno de los años de cultivo (Figura 8).

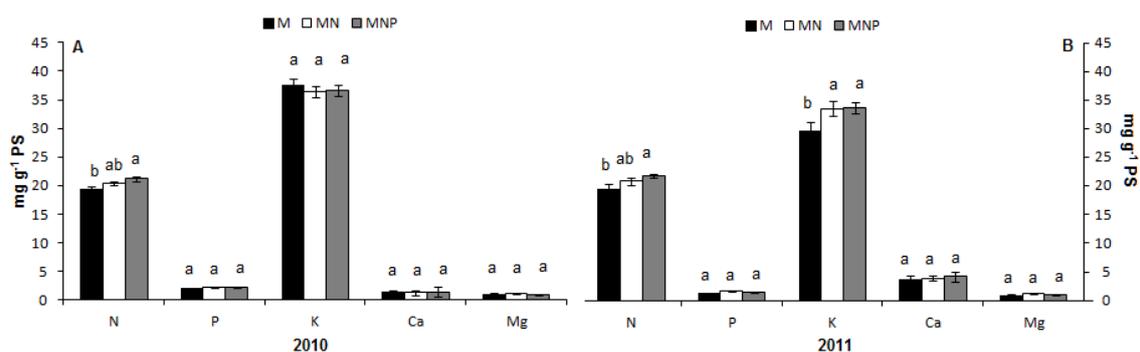


Figura 8. Concentraciones de macronutrientes (N, P, K, Ca y Mg) en hoja de tomate bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) durante los ciclos de cultivo 2010 y 2011. Las barras verticales indican \pm SE de los valores medios. Diferencias entre medias se compararon usando el test de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) para $P = 0,05$. Medias seguidas por la misma letra no tienen diferencia significativa.

Los resultados obtenidos en la concentración de macronutrientes en relación a las condiciones ambientales en las que se desarrollaron ambos ciclos del cultivo, desvelaron que en 2011, en el tratamiento MNP se consiguieron condiciones menos estresantes que permitieron minimizar el cierre estomático, reflejándose en los niveles más altos de N y K en hoja (Figura 8). Según Adams y Ho (1992), una baja HR propicia un incremento de la transpiración, provocando además de un mayor movimiento de nutrientes hacia las hojas en detrimento de los frutos. Esto no ocurre en M, que a pesar de presentar la HR

más baja de todos los tratamientos climáticos (Tabla 1), se presume un mayor cierre estomático (temperatura foliar próxima a la ambiental) conllevando a una reducción de la llegada de nutrientes a la hoja.

Existen nutrientes que se encuentran en menor proporción que los macronutrientes (<0,01% del peso seco) pero son esenciales para el crecimiento vegetal como: hierro (Fe), cobre (Cu), manganeso (Mn), zinc (Zn) y boro (B) (Williams y Salt, 2009).

El Fe es uno de ellos, y está involucrado en la respiración, la asimilación de N y la osmoprotección (Hänsch y Mendel, 2009). Sólo existieron diferencias significativas en el segundo ciclo, donde el tratamiento MN presentó la mayor concentración foliar de este elemento (Figura 9).

El Cu, además de participar en procesos tan fundamentales como la fotosíntesis o respiración, también es requerido frente al daño oxidativo y la síntesis de la pared celular. En 2010, la concentración de este nutriente fue mayor en el tratamiento MNP duplicando la concentración lograda en M, que fue la más baja (Figura 9).

Por otra parte, el Mn, actúa como cofactor de algunas enzimas (Hänsch y Mendel, 2009). En nuestro estudio, el tratamiento MNP mostró los valores más elevados de este micronutriente en hoja (Figura 9).

El Zn es un importante constituyente de enzimas vinculadas en la síntesis proteica, producción de energía y contribuye al mantenimiento de la integridad de biomembranas (Hänsch y Mendel, 2009). Para la concentración de este compuesto, los tratamientos MN y MNP mostraron los valores más bajos durante ambos ciclos de producción (Figura 9).

Por último, el B interviene en numerosos procesos como la síntesis de proteínas, el transporte de azúcares y la respiración (Hänsch y Mendel, 2009). En ambos ciclos MNP presentó los niveles más bajos en la concentración de este compuesto (Figura 9).

La concentración de micronutrientes como Cu (sólo en el primer ciclo) y Mn mostró los valores más altos en MNP, mientras que los contenidos de Fe (sólo en el segundo ciclo), Zn y B fueron más bajos (Figura 9).

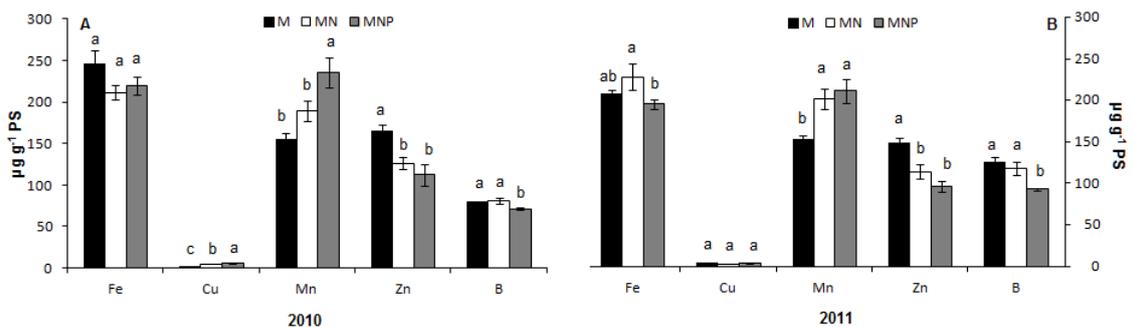


Figura 9. Concentraciones de micronutrientes (Fe, Cu, Mn, Zn y B) en hoja de tomate bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) durante los ciclos de cultivo 2010 y 2011. Las barras verticales indican \pm SE de los valores medios. Diferencias entre medias se compararon usando el test de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) para $P = 0,05$. Medias seguidas por la misma letra no tienen diferencia significativa.

2.4.2. Temperatura foliar

El efecto directo de la alta radiación es el aumento en la temperatura del aire y pérdidas de agua por evaporación. Esto repercute a nivel fisiológico de la planta provocando modificaciones en la fotosíntesis (Medina *et al.*, 2002) al actuar negativamente sobre el intercambio de gases prevaleciendo el cierre estomático para evitar la pérdida de la disponibilidad de agua por transpiración. En consecuencia, el efecto final sobre la planta será un aumento en la temperatura foliar como consecuencia de la no refrigeración, siendo el conocimiento de este parámetro de gran utilidad para revelar el nivel de estrés sufrido por el cultivo (Montero, 2006). Por eso, la temperatura foliar está directamente relacionada con la respuesta fisiológica de los cultivos a la temperatura ambiental, por eso este parámetro es un buen indicador del microclima de invernadero (Montero, 2006). Una ventilación apropiada del invernadero propicia una reducción de la temperatura del dosel foliar respecto a la temperatura del invernadero, y suelen ser mayores en un régimen de baja HR. En climas húmedos (valores de DPV próximos a 1,0-1,2 kPa), la temperatura del dosel vegetal aumenta por encima de la ambiental dentro y fuera del invernadero (alcanzando temperaturas de 45 °C, 40 °C y 35 °C, respectivamente). Aún mostrando los peores resultados en la temperatura ambiental (incrementos de 3 °C y 2 °C durante ambos años frente a los registrados en MN), la temperatura foliar en plantas bajo MNP se redujo en 5 °C y 8 °C con respecto a la temperatura foliar en M, con incrementos en la HR del 26 y 41% en 2010 y 2011,

respectivamente. Esto hizo que los valores de transpiración foliar, interpretada a través de la variación entre la temperatura ambiental y la temperatura foliar, fueran mejores en plantas bajo MNP, denotando que la presencia de la pantalla plástica sobre la nebulización estabilizara este comportamiento. Sin embargo, MN manifestó una variación entre dichas temperaturas dependiente del ciclo de estudio respecto a la lograda en M.

Tabla 6. Valores medios de radiación global, DPV, humedad relativa, temperatura del aire y temperatura foliar a las 12:00 (GMT) en un cultivo de de tomate *cherry* bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP).

Tratamiento	Radiación global (W m ⁻²)	DPV (kPa)	HR (%)	T^a aire (°C)	T^a foliar (°C)
Ciclo 2010					
M	577,1	3,4	33,6	33,6	32,4
MN	494,4	2,8	39,2	31,1	30,1
MNP	358,3	3,1	42,4	34,1	28,9
Ciclo 2011					
M	514,5	3,1	34,6	31,9	29,4
MN	440,9	2,9	36,7	31,6	26,7
MNP	307,9	2,7	48,8	34,0	25,6

La temperatura de la hoja es un indicador indirecto de su estado hídrico. Para determinar el nivel de estrés, Katsoulas *et al.* (2009) se basaron en el índice de estrés hídrico del cultivo (CWSI; Crop Water Stress Index) calculado a partir de las diferencias de temperaturas ambiental y del cultivo. De acuerdo con CWSI, la cubierta vegetal estuvo más estresada cuando no se disponía de un sistema de refrigeración (M) (0,50 en 2010 y 0,54 en 2011), mientras que en los tratamientos provistos de nebulización, MN y MNP, este índice fue ligeramente menor (no excedió de 0,46 en cada ciclo). La temperatura de la hoja o de la cubierta, se ve afectada, además de por el estado hídrico del suelo por los factores ambientales que determinan la demanda evaporativa. Pero tal y como manifiesta Gallardo y Thompson (2003), la temperatura foliar es un indicador tardío del estrés hídrico ya que el aumento de temperatura sucede tras un cierre parcial de estomas y ello tiene lugar mucho más tarde que la reducción en otros procesos más sensibles como el crecimiento expansivo. Romero-Gámez *et al.* (2012) demostró que el sistema de enfriamiento por evaporación bajo invernadero de

mallas fue efectivo al reducir la temperatura de hoja de plantas de judía, mostrando una proporcionalidad en relación a los niveles medios de radiación solar incidente y/o temperatura del aire. Otros autores postulan que la diferencia de temperatura foliar y temperatura ambiental está en función del DPV o la transpiración (Pallas *et al.*, 1967). Montero *et al.* (2001) propusieron que el comportamiento de la hoja en referencia a la resistencia estomática puede ser expresado en relación a la radiación solar incidente sin ninguna correlación con el DPV o la temperatura ambiental. De acuerdo con Montero *et al.* (2001), nuestros resultados revelaron una relación positiva de la radiación solar sobre la temperatura foliar, siendo la reducción de la incidencia de luz en MNP, el factor más influente sobre la disminución de la temperatura de hoja por encima del DPV y/o temperatura ambiental (Tabla 6).

2.4.3. Evapotranspiración del cultivo (ET_c)

Montero (2006) determinó que la temperatura foliar constituye un importante indicador de la planta respecto a la temperatura ambiente, al estar asociado directamente con la respuesta fisiológica de los cultivos, la temperatura del aire y su acción recíproca, ya que el microclima generado en el invernadero de malla, repercute en los procesos transpiratorios de la planta y éstos a su vez sobre el microclima interior del invernadero. Así, según Montero (2006) esta interacción debe ser evaluada para un correcto abastecimiento de agua al cultivo. Así, la evapotranspiración del cultivo fue calculada según Montero *et al.* (2001), a partir de datos climáticos como radiación global incidente y DPV máximo diario, y parámetros que reflejan el desarrollo fenológico del cultivo, como el LAI, para el período de estudio comprendido entre las 10:00 y 16:00 GMT. En 2011, aumentó este parámetro respecto al ciclo anterior y siempre mostró los niveles más altos en M (2010: 5,5, 4,4 y 3,9 mm d⁻¹ y 2011: 5,8, 5,0 y 4,5 mm d⁻¹ para M, MN y MNP, respectivamente). La alta demanda evaporativa en plantas bajo M, pudo incrementar la distribución de peso seco hacia el componente generativo, como es el fruto en plantas de tomate (Tabla 2). Por otra parte, elevadas temperaturas inducen un cierre estomático, reduciendo la transpiración y fotosíntesis, consiguiendo una alteración en la producción de biomasa al reducirse la absorción de nutrientes, y como consecuencia, influyendo negativamente sobre la calidad del cultivo (Adams y Ho, 1993; Morales *et al.*, 2003; Max *et al.*, 2009).

3. Análisis de la producción de un cultivo de tomate cherry sometido a distintos sistemas de control climático en un invernadero de malla

3.1. Producción total, comercial y no comercial

La producción total, comercial y no comercial acumuladas en los distintos ciclos de cultivo en plantas de tomate bajo invernadero de malla y con distintas estrategias de refrigeración se muestran en la Figura 10.

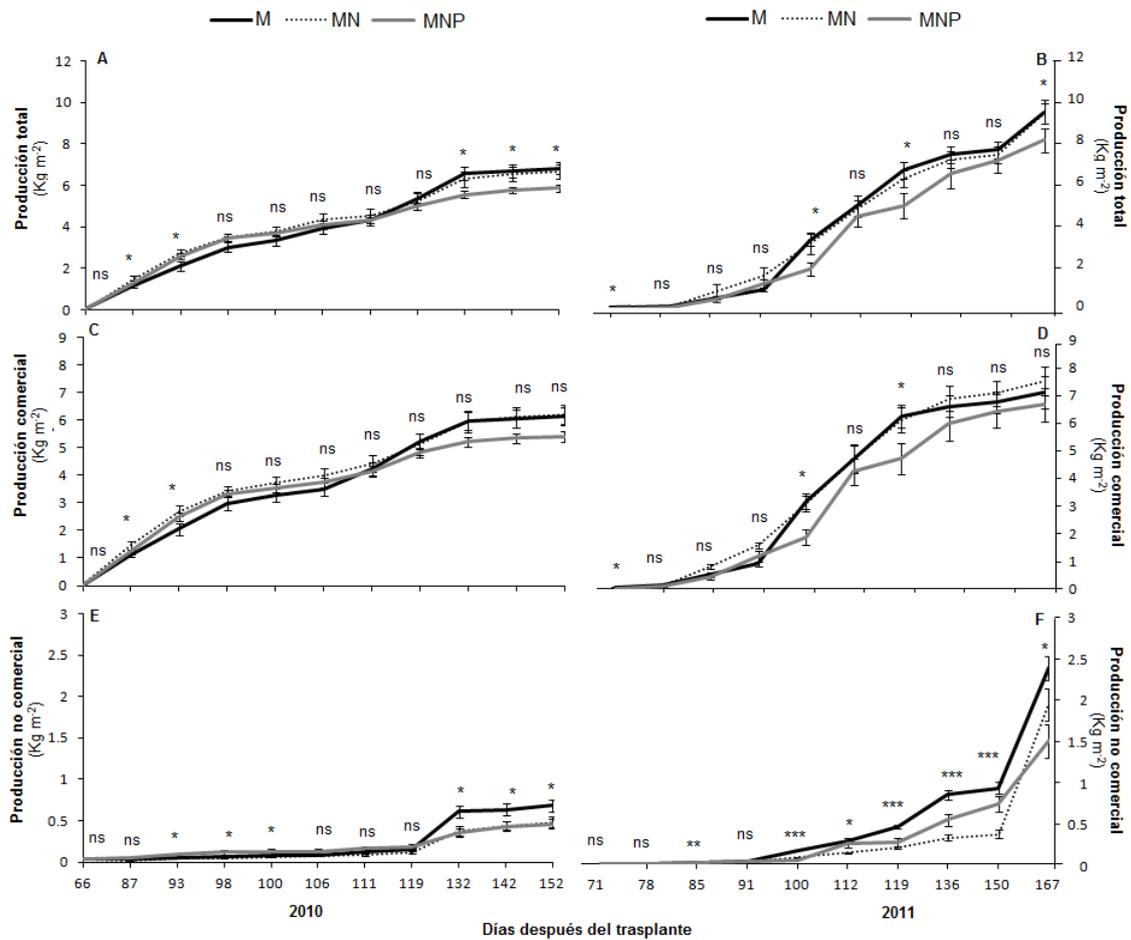


Figura 10. Producción total (A, B), comercial (C, D) y no comercial (E, F) acumuladas en un cultivo de tomate *cherry* bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) en 2010 y 2011, respectivamente. Las barras verticales indican \pm SE de los valores medios. Diferencias entre medias se compararon usando el test de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD). Los niveles de significación se expresaron como * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, y ns (no significativo), $P > 0,05$.

La producción total acumulada incrementó en 2011 en torno al 40% en todos los tratamientos analizados respecto al año anterior (Figura 10A y 10B). A pesar de ser un año con un mayor nivel de estrés ambiental (Tabla 1), la plantación más temprana y el correcto funcionamiento de los sistemas de refrigeración en las etapas iniciales del ciclo pudieron ser una de las principales causas que respondan a estos resultados. La producción comercial supuso más del 92% en 2010 y el 80% en 2011 de la producción total acumulada en los tratamientos nebulizados (Figura 10C y 10D). A pesar de que en 2011 la planta asignó más biomasa al fruto frente a los órganos vegetativos en MN y MNP (Figura 6), esta diferencia en la producción comercial entre ciclos se debió a un aumento de la producción no comercial que se vio incrementada de forma exponencial al final de este ciclo (Figura 10F).

No obstante, no existieron diferencias significativas en la producción comercial entre los distintos tratamientos durante los ciclos estudiados. Esto pudo deberse al aumento de peso medio de los frutos en los tratamientos MN y MNP, ligado a la reducción de la carga de frutos por planta (Tabla 3). Katsoulas *et al.* (2009) obtuvo resultados similares en relación al aumento de peso medio de frutos y disminución en el número de ellos sin afectar al cómputo productivo total, aunque sí comercial, de un cultivo de berenjena bajo un sistema de nebulización durante el verano bajo un clima Mediterráneo. Este hecho también está respaldado por los estudios que hicieron Leonardi *et al.* (2000) en un cultivo de tomate sometido a diferentes niveles de DPV, demostrando que la disminución de este parámetro en 0,8 kPa favorecía el aumento del peso fresco medio del fruto, tanto en su contenido de sólidos solubles como al contenido relativo de agua en fruto.

La producción no comercial acumulada final fue del orden de cuatro veces superior en todos los tratamientos analizados durante 2011 respecto al año anterior durante el periodo final del ciclo (150-167 DDT) siendo muy similar en las cosechas previas (119-152 DDT en 2010 y 119-150 DDT en 2011) (Figura 10E y 10F). Este aumento de la producción no comercial en 2011, pudo ser ocasionado como consecuencia del brusco descenso en las condiciones ambientales de temperaturas media y máxima (Figura 3B; Figura 3D) y DPV medio y máximo (Figura 4B; Figura 4D) respecto al ciclo anterior para dicho periodo. En lo referente a la comparación entre tratamientos, MNP manifestó una reducción del 32% y 37% en la producción no comercial en ambos ciclos respecto a M. El menor porcentaje de destrío en MNP, conllevó la no significancia de la

producción comercial entre tratamientos, siendo más determinante el peso medio del fruto que el número de frutos cosechados en este tratamiento. De acuerdo con Romero-Aranda *et al.* (2002) y Montero (2006), el aumento de la HR y mantenimiento de los valores de DPV en niveles moderados conseguidos por sistemas de nebulización, mejoraron el rendimiento del un cultivo de pimiento y/o disminuyeron la tasa de reducción de rendimiento de un cultivo de tomate respectivamente, como consecuencia de una exposición prolongada a un estrés salino.

3.2. Calibres de frutos

Los calibres propuestos de < 20 mm, 20-22 mm y > 22 mm fueron los determinados por Romacho *et al.* (2006) en tomate *cherry*.

MNP presentó la menor producción comercial acumulada para los calibres < 20 y de 20-22 mm próximos al 8% y 17% respectivamente, de la producción total acumulada para ambos ciclos. Los calibres de fruto > 22 mm, se encontraron en los tratamientos nebulizados MN y MNP con incrementos del 34 y 29% para ambos ciclos frente a M (Figura 11). En dichos tratamientos los frutos de calibre > 22 mm supusieron entre el 40% y el 60% para MN, superados en MNP al obtenerse el 57% y el 71% para 2010 y 2011, respectivamente de la producción total acumulada de frutos de tomate *cherry*.

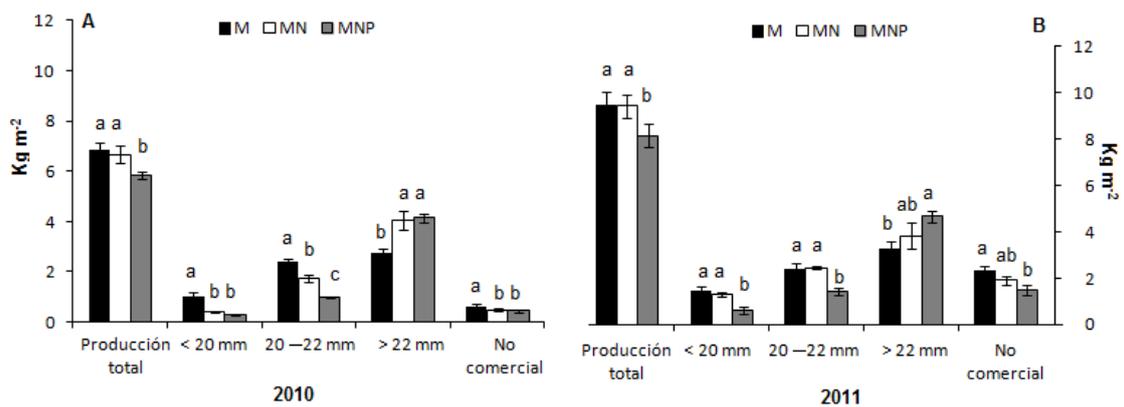


Figura 11. Producción final acumulada por calibres y producción no comercial en un cultivo de tomate *cherry* bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) en 2010 y 2011. Las barras verticales indican \pm SE de los valores medios. Diferencias entre medias se compararon usando el test de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) para $P = 0,05$. Medias seguidas por la misma letra no tienen diferencia significativa.

De acuerdo con Katsoulas et al. (2009) el sistema de nebulización en tratamientos favoreció un aumento en el contenido relativo de agua en fruto en detrimento de su número por planta, puesto que el peso seco del fruto fue menor que en M (Tabla 3).

3.3. Distribución relativa de calibres

La distribución relativa de la producción comercial por calibres para los distintos tratamientos y ciclos está representada en la Figura 12.

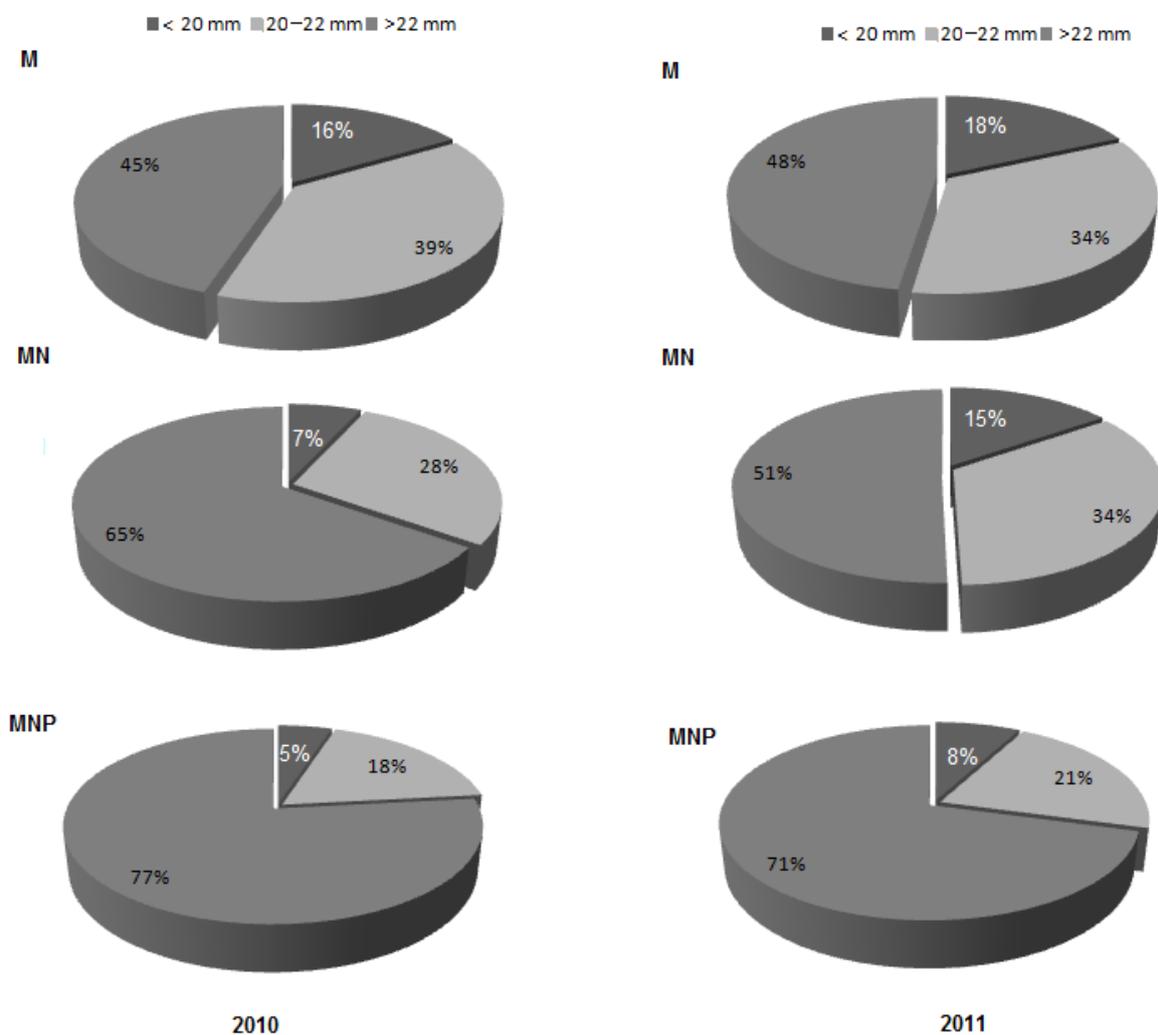


Figura 12. Distribución relativa de la producción comercial por calibres en un cultivo de tomate *cherry* bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) en 2010 y 2011.

La producción comercial en M fue la producción más homogénea en relación a los calibres de 20-22 mm y calibre > 22 mm, al mostrar una cantidad similar, sólo alterada en 2011 tras un leve aumento en los frutos con un calibre < 20 mm, (16% y 18% en 2010 y 2011), respectivamente, que restó proporción a los de calibre de 20-22 mm. Los frutos de MN manifestaron un comportamiento distinto en función del año de cultivo, ya que en 2011 se redujo de forma importante la proporción de frutos con mayor calibre. La inversión de la planta en obtener frutos de mayor calibre (> 22 mm) se realizó cuando fue sometida al tratamiento MNP, representando más del 70% de la producción comercial total del cultivo en ambos ciclos de producción.

El aumento de calibre de frutos que proporciona MNP podría tener repercusiones sobre el precio en mercado, especialmente en esta temporada del año, cuando su oferta se ve mermada ante la reducción de la producción bajo estas condiciones ambientales y el género ofertado es de frutos de pequeño calibre, debido al descenso de acumulación de agua por parte del fruto (aunque no de su contenido de materia seca).

4. Eficiencia en el uso del agua de un cultivo de tomate cherry bajo distintos sistemas de control climático en un invernadero de malla sobre

El gasto medio de agua del sistema de nebulización del invernadero de malla fue de 1,5 L m⁻² d⁻¹ y de 2,0 L m⁻² d⁻¹ en 2010 y 2011, respectivamente, llegándose a consumir 125 y 228 L m⁻² por cada ciclo completo (Figura 13). El consumo total de agua por parte del sistema en 2010 fue un 47% menor debido a dos causas principales: el sistema de refrigeración no estuvo operativo hasta 29 DDT (período crítico) y por presentar DPV máximos muy próximos al valor de consigna del controlador a partir de los primeros días de Septiembre (Figura 4C).

Para el período de funcionamiento del sistema de nebulización comprendido entre 29 DDT- 133 DDT en ambos ciclos, el consumo de agua fue un 17% mayor en el segundo ciclo por mostrar DPV máximos superiores a los de 2010 y más alejados del valor de consigna (2,5 kPa) exceptuando el periodo comprendido entre 36-42 DDT donde se registraron valores máximos de DPV próximos a 5 kPa en 2010 (Figura 4C). Esto supondría un consumo de 151 L m⁻² en 2011 frente a 125 L m⁻² de 2010.

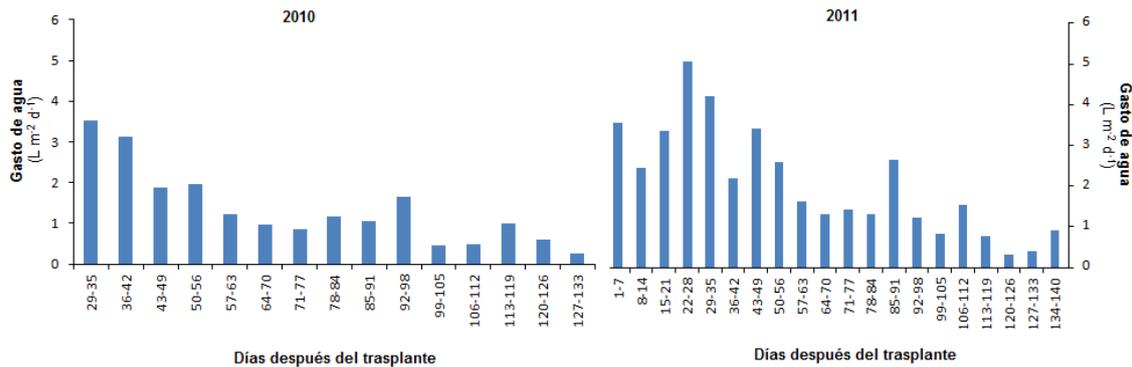


Figura 13. Evolución del promedio semanal del consumo medio diario del sistema de nebulización del invernadero de malla durante los ciclos 2010 y 2011.

Según Fuchs *et al.* (2006) la transpiración juega un papel fundamental en la disipación de calor. La nebulización puede reducir la transpiración entre un 12% y un 51% dependiendo del LAI, ya que al aumentar este parámetro la contribución del sistema de refrigeración sobre la transpiración disminuye (Montero, 2006). Por eso, García *et al.* (2011) observaron que la diferencia de temperaturas máximas entre el interior del invernadero con el exterior se veían reducidas gradualmente a medida que el índice de área foliar incrementaba con una linealidad de 0,78. Es decir, los sistemas de refrigeración serán más eficientes durante los períodos en los que la cubierta vegetal sea escasa (LAI bajo), ya que un cultivo plenamente desarrollado contribuye de manera más activa en aumentar el nivel de humedad al ser mayor su tasa transpirativa, disminuyendo la necesidad de evaporar agua artificialmente (Montero *et al.*, 2005). Según Romero-Gómez *et al.* (2012), la mejora en los parámetros de temperatura y DPV fue sustancialmente significativa (3,5 °C frente a condiciones no refrigeradas en dos ciclos de cultivo), requiriendo el aporte de aproximadamente 1,4 L m⁻² d⁻¹ de agua por el sistema de refrigeración. En nuestro caso, el aporte de 1,5 L m⁻² d⁻¹ y de 2,0 L m⁻² d⁻¹ en 2010 y 2011, respectivamente, tuvo un mejor efecto sobre el microclima bajo el invernadero de malla en el primer ciclo, al presentar DPV máximos próximos al valor de consigna del controlador de la nebulización durante todo el ciclo, con un consumo del 30% y 57% del total del agua aportada al cultivo (Figura 4; Figura 6).

Según Stanghellini *et al.* (2003), los cultivos transpiran al menos diez veces más agua de la que fijan en su biomasa (peso fresco). El requerimiento diario de agua para el cultivo de tomate fluctúa de acuerdo con el microclima y del estado fenológico del cultivo. La evapotranspiración fue medida en función de los parámetros climáticos y del

estado fenológico en el que se encontraba el cultivo a través del LAI (Montero *et al.*, 2001), obteniéndose los valores más altos en M (5,5 y 5,8 mm d⁻¹), seguidos por MN (4,4 y 5,0 mm d⁻¹) y MNP (3,9 y 4,5 mm d⁻¹), en 2010 y 2011, respectivamente. El producto de la eficiencia transpirativa y el índice de cosecha es la eficiencia en el uso del agua del cultivo.

Las necesidades hídricas óptimas para maximizar el rendimiento de un cultivo de tomate han sido descritas por Harmanto *et al.* (2005) en 0,5 L pl⁻¹ d⁻¹ cuando los datos diarios de radiación solar, temperatura del aire y ET_c fueron 187 W m⁻²; 35 °C y 4 mm d⁻¹, respectivamente). El objetivo de proteger los cultivos con mallas es aumentar la eficiencia en el uso de agua a través de una mejora en el microclima (Tanny, 2013).

El agua aplicada en fertirrigación en M fue similar en ambos ciclos (1,0 L pl⁻¹ d⁻¹). Por el contrario, el riego aportado en los tratamientos MN y MNP, alcanzó valores medios de 0,8 L pl⁻¹ d⁻¹ y 0,5 L pl⁻¹ d⁻¹ en 2010 y 2011, respectivamente. Esta diferencia entre ciclos en el agua aportada por el riego en MN y MNP fue debida a un mayor funcionamiento del sistema de nebulización y por tanto, un mayor aporte de agua a través de la misma (0,7 L pl⁻¹ d⁻¹ y 0,9 L pl⁻¹ d⁻¹ en los respectivos ciclos).

En este estudio, la eficiencia en el uso del agua fue calculada de diferentes maneras según Patanè *et al.* (2011) en función del peso seco total de la planta (EUA), y de las producciones total (UEAt) y comercial (UEAc) respecto a la planta de tomate *cherry* sometida a diferentes condiciones ambientales y descrita en la Tabla 7.

En todas las categorías de eficiencia hídrica analizadas, M presentó los valores más altos, con valores aproximados del 20-30% superior a los alcanzados por los tratamientos nebulizados, que no presentaron diferencias entre ellos. Coincidiendo con Medrano *et al.* (2005), la reducción en la transpiración conseguida por la nebulización, aunque supone un menor consumo de agua de riego, no es un ahorro en el consumo total al considerar el volumen de agua utilizada por el propio sistema de nebulización.

La productividad del agua de riego (IWP), definida como la relación del rendimiento del cultivo con el agua de riego, se detalla en la Tabla 7.

La cantidad de agua consumida por la nebulización en MN y MNP supuso un 30% en 2010 y un 57% en 2011 del agua total aportada al cultivo. Esto afectó al IWP, que incrementó en un 18% durante 2010 en MN comparado con M, incluso la diferencia

entre estos tratamientos llegó a duplicarse en 2011. Este descenso en el suministro de agua de riego al cultivo en los tratamientos nebulizados fue debido a la mejora en las condiciones higrométricas generadas por el sistema de refrigeración. Sin embargo, este sistema no supuso un ahorro en el cómputo total del agua aplicada al cultivo (Montero *et al.*, 2003; Romero-Gámez *et al.*, 2012a).

Tabla 7. Uso eficiente de agua (UEA), eficiencia en el uso del agua respecto a la producción total (UEAt), eficiencia en el uso del agua respecto a la producción comercial (UEAc) y productividad del agua de riego (IWP, irrigation water productivity) en un cultivo de tomate *cherry* bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) en ambos ciclos de cultivo.

Tratamiento	UEA (kg PS m ⁻³)	UEAt (kg PF m ⁻³)	UEAc (kg PF m ⁻³)	IWP (kg PF m ⁻³)
Ciclo 2010				
M	4,11±0,28 a	20,34±0,89 a	18,31±0,95 a	18,31±0,95 b
MN	3,23±0,17 b	16,27±0,81 b	15,09±0,84 b	21,71±1,21 a
MNP	3,13±0,15 b	14,30±0,37 b	13,17±0,47 b	18,95±0,67 b
Pvalor ^b	**	***	***	*
LSD _{0,05}	0,62	2,10	2,20	2,70
Ciclo 2011				
M	3,78±0,24 a	24,09±1,62 a	18,08±1,32	18,08±1,32 b
MN	3,07±0,17 b	23,47±1,24 ab	18,69±1,21	43,11±2,80 a
MNP	3,08±0,15 b	20,26±0,83 b	16,57±1,51	38,21±3,49 a
Pvalor	*	*	ns	***
LSD _{0,05}	0,56	3,60	3,85	7,15
Análisis de varianza				
Tratamiento (T)	***	**	ns	ns
Ciclo (C)	ns	***	**	***
T X C	ns	ns	ns	***

^aLas diferencias entre medias se compararon usando el test de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) seguidas por \pm SE.

^bLos niveles de significación se expresaron como * P <0,05, ** P <0,01, *** P <0,001, y ns (no significativo), P > 0,05.

5. Análisis de la respuesta antioxidante de frutos de tomate cherry sometidos a distintos sistemas de control climático en un invernadero de malla

Muchos estudios tratan de explicar como el sombreo, ventilación y refrigeración por evaporación de agua son efectivos para la liberación de calor durante los largos y secos veranos del área Mediterránea (Baille *et al.*, 2001; Kittas *et al.*, 2001; Katsoulas *et al.*, 2009). Es conocido que bajo estas condiciones ambientales el metabolismo del fruto de tomate *cherry* queda alterado (Leyva *et al.*, 2013) induciéndose numerosas respuestas bioquímicas como proliferación de especies reactivas de oxígeno (ROS) que alteran el normal funcionamiento del metabolismo en fruto (Alselmani *et al.*, 2006). Para evitar la proliferación de ROS, el fruto dispone de un sistema antioxidante constituido por compuestos de bajo peso molecular (ascorbato y glutatión) y por enzimas antioxidantes como superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), guaiacol peroxidasa (GPX) y enzimas envueltas en el ciclo ascorbato-glutatión (ciclo Halliwell-Asada): ascorbato peroxidasa (APX), dehidroascorbato reductasa (DHAR), monodehidroascorbato reductasa (MDHAR) y glutatión reductasa (GR) (Turhan *et al.*, 2008).

Para mejorar la comprensión de los datos referidos a la respuesta antioxidante de frutos sometidos a diferentes condiciones ambientales, en la Tabla 8 se presentan los parámetros registrados durante el período de funcionamiento del sistema de nebulización, al igual que el uso de la pantalla plástica registrados durante los dos ciclos de cultivo.

Tabla 8. Resumen de las condiciones climáticas dentro del invernadero de malla durante el período de funcionamiento de la nebulización (10:00-16:00 GMT) durante los dos ciclos de cultivo registrados desde el inicio del ciclo hasta el último muestreo de frutos destinados al análisis de la respuesta antioxidante y calidad (125 DDT en 2010 y 129 DDT en 2011).

	Radiación global_{max} (W m ⁻²)	HR_{max} (%)	T_{max} (°C)	DPV_{max} (kPa)
Ciclo 2010				
M	717,2	40,4	31,1	3,4
MN	579,5	44,0	29,9	2,9
MNP	427,1	50,4	31,8	3,2
Ciclo 2011				
M	580,3	46,7	32,9	3,6
MN	562,7	45,8	32,7	3,5
MNP	407,1	53,4	34,1	3,4

El uso de la pantalla plástica durante el periodo de funcionamiento de la nebulización supuso una reducción en la radiación global máxima incidente del 40% y del 30% respecto a M durante ambos ciclos de cultivo y mantuvo los niveles de HR_{max} por encima del 40% (con incrementos del 22% y 14% respecto a las condiciones no nebulizadas en 2010 y 2011, respectivamente). Debido a este aumento de HR_{max} , el DPV_{max} se situó por debajo del alcanzado en M, a pesar de que aumentaron los valores de T_{max} debidos a la falta de ventilación y/o incremento del efecto invernadero. Las condiciones climáticas registradas en el tratamiento MN mejoraron los parámetros de radiación, HR_{max} , T_{max} y DPV_{max} durante 2010 respecto a las condiciones de M, sin embargo no se mantuvieron constantes durante 2011, manifestando un comportamiento similar al mostrado en el tratamiento carente de control climático.

Las plantas sometidas a estrés abiótico tienden a acumular ROS en los distintos tejidos celulares (Pinheiro *et al.*, 2004). En nuestro estudio, la peroxidación lipídica fue evaluada por la concentración de malondialdehído (MDA), comportándose como un indicador de estrés en plantas frente a los efectos generados por la acción de ROS como el H_2O_2 .

5.1. Concentración de MDA y H_2O_2

Las plantas sometidas a estrés abiótico tienden a acumular ROS en los distintos tejidos celulares (Pinheiro *et al.*, 2004). En nuestro estudio, la peroxidación lipídica fue evaluada por la concentración de malondialdehído (MDA), comportándose como un indicador de estrés en plantas frente a los efectos generados por la acción de ROS como el H_2O_2 .

La sobreproducción de ROS es el común denominador de todas las condiciones adversas y se produce al romperse el equilibrio existente entre su producción y su propia detoxificación. De este modo, se desencadena un incremento de radicales que generan daños a distintos niveles celulares como la desnaturalización de proteínas, daños a nivel de ADN o la peroxidación lipídica de membranas (Alselmani *et al.*, 2006). Una forma fiable para el análisis de la peroxidación lipídica, es a través del contenido de MDA que se genera tras la oxidación de ácidos poliinsaturados principalmente, encargados de dar fluidez a las membranas, afectando de esta manera a la estructura y funcionalidad de éstas (Smirnoff, 1995). Existen numerosos estudios que relacionan una alta

concentración de este compuesto con la superproducción de H_2O_2 en los tejidos, como consecuencia del estrés oxidativo derivado de cualquier estrés abiótico (Rosales *et al.*, 2006; Cervilla *et al.* 2007; Sánchez-Rodríguez *et al.* 2010).

Las concentraciones de MDA y H_2O_2 para los distintos tratamientos climáticos durante los ciclos de producción se representan en la Figura 14.

MN y MNP mostraron los valores más bajos en la concentración de MDA y H_2O_2 frente a M que obtuvo la concentración más alta para estos parámetros en ambos ciclos. De acuerdo con Rosales *et al.* (2006), el incremento de las temperaturas, radiación solar y DPV en un cultivo protegido de tomate *cherry* fue la principal causa del aumento en las concentraciones de MDA y H_2O_2 de los frutos, indicando un aumento en la actividad oxidativa de éstos. Así, posiblemente la mejora de las condiciones ambientales extremas propiciada por los dispositivos refrigerativos en MN y MNP (Tabla 8), disminuyó la concentración de MDA y H_2O_2 , hecho que aunque no influyó sobre la producción comercial, sí lo hizo sobre la reducción de la producción no comercial del cultivo de tomate *cherry* en ambos años de producción frente a la obtenida en M (Figura 10).

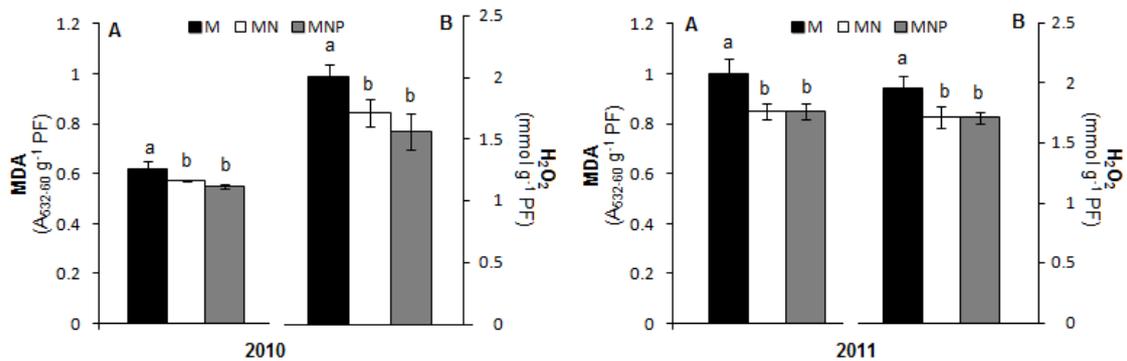


Figura 14. Contenidos de MDA (A) y H_2O_2 (B) en fruto de tomate bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) durante los ciclos de cultivo 2010 y 2011. Las barras verticales indican \pm SE de los valores medios. Diferencias entre medias se compararon usando el test de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) para $P = 0,05$. Medias seguidas por la misma letra no tienen diferencia significativa.

5.2. Actividades enzimáticas: SOD, CAT y GPX

Para evitar todos estos daños producidos por el estrés oxidativo, las plantas han desarrollado numerosos sistemas antioxidantes, entre los enzimáticos, la SOD constituye la primera línea de defensa frente al estrés al producir la dismutación del radical $O_2^{\cdot -}$ en H_2O_2 . Este H_2O_2 puede ser sustrato de numerosas enzimas como la CAT, GPX y/o APX.

SOD elimina $O_2^{\cdot -}$ catalizando su dismutación hacia H_2O_2 y O_2 . Existen varias isoformas de SOD que son clasificadas en función de los cofactores metálicos alojados en sus centros activos, distinguiéndose Cu/ Zn-SOD, Mn-SOD y Fe-SOD. Estas isoformas se localizan en diferentes compartimentos celulares y poseen distinta predisposición hacia diversos estreses (Mitler, 2002). Pan *et al.* (2006) estudiaron el efecto del estrés salino sobre *Glycyrrhiza uralensis* observando un aumento significativo de la actividad de SOD, en especial de la isoenzima MnSOD. El papel fundamental de SOD en la supervivencia de las plantas bajo condiciones adversas, ha hecho que numerosos estudios estén basados en su sobreexpresión, al ofrecer tolerancia frente al daño fotooxidativo (Melchiorre *et al.*, 2009), estrés salino (Badawi *et al.*, 2004) y/o estrés hídrico (Prashanth *et al.*, 2008). Esta enzima, al actuar en primer lugar frente a los efectos tóxicos originados por los elevados niveles de ROS, ha sido propuesta como una de las actividades enzimáticas más importantes en la tolerancia a diversos estreses (Gill y Tuteja, 2010). Sin embargo en nuestro estudio, esta actividad enzimática se redujo en los tratamientos nebulizados MN y MNP respecto a M en ambos ciclos de cultivo (Tabla 9). Esto podría explicar que, gracias a las condiciones proporcionadas por los dispositivos de control climático en estos tratamientos, se redujera el nivel de estrés, implicando una menor actividad SOD que coincidiría con los valores más bajos de H_2O_2 y MDA (Figura 14) en los frutos de tomate *cherry* analizados.

CAT es una enzima tetramérica con un grupo hemo que cataliza la eliminación de H_2O_2 produciendo H_2O y O_2 . Es la única enzima implicada en la eliminación de H_2O_2 generada en los peroxisomas por oxidasas implicadas en β -oxidación de ácidos grasos, fotorrespiración y catabolismo de las purinas (Gill y Tuteja, 2010). Su función es indispensable en la detoxificación de ROS en condiciones adversas (Garg y Manchanda, 2009). Sin embargo, su actividad no sólo depende de la especie vegetal, sino que también está reñida con el tipo de estrés abiótico, pues mientras que el estrés UV-B

potencia su actividad en plántulas de *Cassia auriculata* (Agawal, 2007), el efecto combinado del estrés salino e hídrico disminuyó su actividad en *Glycyrrhiza uralensis* (Pan *et al.*, 2006). Nuestros datos revelaron que en 2010, MN y MNP redujeron la actividad CAT en un 38% respecto a M que presentó los niveles más altos (Tabla 9). Posiblemente, la disminución en la concentración de H_2O_2 (Figura 14B) como consecuencia de la baja formación por la actividad SOD (Tabla 9), pudo dar lugar a esta reducción en la actividad CAT en MN y MNP (Tabla 9). Sin embargo, en 2011, no hubo diferencias significativas entre tratamientos para esta enzima, pudiendo ser reemplazada por otras enzimas con actividad peroxidasa como GPX o APX.

GPX juega un papel similar al desempeñado por CAT en la conversión de H_2O_2 a H_2O y O_2 y su actividad está localizada en el citoplasma, las biomembranas, y la pared celular (Apel y Hirt, 2004). Sin embargo, GPX utiliza el guayacol, un compuesto aromático, como donador de electrones y su actividad varía considerablemente dependiendo la especie y/o el tipo de estrés (Gill y Tuteja, 2010). En nuestro estudio, la actividad GPX tuvo un carácter indefinido por el tratamiento y ciclo analizados, ya que durante 2010, el tratamiento MNP registró la mínima actividad en esta enzima con una disminución del 35% respecto a M (Tabla 9). Mientras que en 2011, MNP fue el tratamiento con mayor actividad mostrando un incremento del 39% frente al resto de tratamientos (Tabla 9), con un comportamiento antagónico al registrado por MN en ambos ciclos (Tabla 9).

Respecto al tratamiento M, éste presentó los máximos valores en las actividades CAT y GPX durante 2010, aunque no fue suficiente para eliminar las altas concentraciones de H_2O_2 generado (Tabla 8; Figura 14; Tabla 9). Em general, estos resultados sugieren que las condiciones ambientales favorables que se producen en MN y MNP respecto al invernadero sin ningún tipo de control climático, especialmente atribuidas a la radiación solar, DPV y HR, impidieron la formación de H_2O_2 . Esto podría deberse a una baja actividad SOD, que parece ser una de las claves para una menor peroxidación lipídica en fruto de tomate *cherry*, ya que la eliminación de H_2O_2 por las actividades CAT y GPX estuvo determinada por el ciclo de producción.

Tabla 9. Superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y guaiacol peroxidasa (GPX) en fruto de tomate bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) durante los ciclos de cultivo 2010 y 2011.

Tratamiento	SOD (U mg ⁻¹ prot.)	CAT (A ₂₄₀ min ⁻¹ mg ⁻¹ prot.)	GPX (A ₃₇₅ min ⁻¹ mg ⁻¹ prot.)
Ciclo 2010			
M	1,43±0,07 a	0,50±0,06 a	0,34±0,05 a
MN	1,24±0,05 b	0,32±0,03 b	0,33±0,04 a
MNP	1,27±0,07 b	0,31±0,03 b	0,22±0,02 b
Pvalor	*	***	*
LSD _{0,05}	0,14	0,07	0,08
Ciclo 2011			
M	0,90±0,07 a	0,03±0,00	0,40±0,04 b
MN	0,72±0,05 b	0,03±0,00	0,45±0,04 b
MNP	0,75±0,06 b	0,03±0,00	0,66±0,04 a
Pvalor	*	ns	***
LSD _{0,05}	0,14	0,01	0,09
Análisis de la varianza			
Tratamiento (T)	***	***	ns
Ciclo (C)	***	***	***
T X C	ns	***	***

^aLas diferencias entre medias se compararon usando el test de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) seguidas por ± SE.

^bLos niveles de significación se expresaron como * P <0,05, ** P <0,01, *** P <0,001, y ns (no significativo), P > 0,05.

5.3. Ciclo AsA-GSH

5.3.1. Actividades enzimáticas: APX, MDHAR, DHAR y GR

El ciclo AsA-GSH constituye una importante ruta para la disipación de H₂O₂ y otras especies reactivas de oxígeno en cloroplastos, además de las mencionadas anteriormente (Sgherri *et al.*, 2003). La actividad APX confiere una resistencia general para combatir estreses, pero debe estar acoplada a la demanda de la regeneración de AsA, suponiendo un incremento en los diferentes componentes del sistema antioxidante, como las enzimas MDHAR, DHAR y GR (Mitler, 2002).

APX cataliza la eliminación de H₂O₂ utilizando AsA como donador de electrones. El papel desempeñado por APX es considerado como el más importante en la detoxificación de ROS en plantas superiores, al poseer una mayor afinidad por el H₂O₂

(μM) que CAT y/o GPX (rango mM) (Gill y Tuteja, 2010). De ahí, que el gen que codifica esta enzima sea objeto de numerosos estudios de sobreexpresión en plantas transgénicas al conferir tolerancia a ciertos estreses abióticos. Es el caso de la sobreexpresión de APX de *Pisum sativum* en plantas transgénicas de tomate, que confirió resistencia frente a alta radiación UV B, estrés térmico o sequía (Wang *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2006), o la sobreexpresión de APX en cloroplastos de *Nicotiana tabacum*, que potenció su tolerancia a la sal o déficit de agua (Bodawai *et al.*, 2004). En 2010, los tratamientos M y MNP registraron las actividades más altas de esta enzima superando en un 32% la actividad registrada en MN (Tabla 10). Sin embargo, durante el segundo ciclo, MNP mostró los valores más bajos de APX en las muestras analizadas (Tabla 10). Es decir, que existió un comportamiento antagónico durante ambos ciclos productivos en las actividades APX y GPX en los tratamientos nebulizados MN y MNP. Dichas actividades, aunque parecieron ser excluyentes entre sí, fueron efectivas en la reducción de la concentración de H_2O_2 indistintamente de la actividad peroxidasa dominante durante el ciclo (Figura 14; Tabla 11; Tabla 10).

MDHAR es un flavin adenin dinucleótido (FAD) con presencia cloroplastidial y citosólica y al igual que APX, también se localiza en peroxisomas y mitocondrias (Del Río *et al.*, 2002). Posee una alta afinidad por MDHA como aceptor de electrones, siendo NADH en lugar de NADPH el donante de electrones preferente (Gill y Tuteja, 2010). La actividad MDHAR analizada no presentó una interacción significativa entre los factores tratamiento y ciclo y no mostró diferencias significativas entre tratamientos en ninguno de los ciclos estudiados (Tabla 10).

DHAR regula el estado redox de ascorbato recuperando su estado reducido como AsA, que es crucial por su papel antioxidante en la tolerancia a diversos estreses abióticos tras la producción de ROS derivada de éstos. La actividad DHAR presentó un comportamiento dependiente del tratamiento y ciclo analizado. Así, en 2010, MN mostró los niveles mínimos de actividad para esta enzima (Tabla 10). Y sin embargo, en 2011, MN presentó los niveles máximos de actividad superando en un 50% la actividad registrada en M y MNP (Tabla 10). Atendiendo a estos resultados, el rango óptimo de funcionamiento de esta enzima en nuestro estudio, se estableció a partir de los valores máximos medios de 30 °C (valor mínimo registrado en MN durante 2010) e inferior a 34 °C (valor máximo registrado en MNP durante 2011), margen más estrecho al conseguido por Rosales *et al.* (2006) que quedó establecido en 27-36 °C.

GR es una flavo-proteína con actividad oxidorreductasa perteneciente al ciclo AsA-GSH. Juega un papel esencial en el sistema de defensa contra ROS por mantener el estado reducido de GSH (Gill y Tuteja, 2010), ayudando al mantenimiento del *pool* de GSH celular. Esta molécula está implicada en muchos procesos de regulación de antioxidantes metabólicos en las plantas, por esta razón, la acción de GR es fundamental al catalizar su reducción a partir de GSSG y NADPH (Yoon *et al.*, 2005). Se localiza predominantemente en cloroplastos, pero también que se encuentra en mitocondria y citosol aunque con menos representación (Edwards *et al.*, 1990). Esta actividad enzimática no mostró diferencias significativas entre los tratamientos para los dos ciclos de producción analizados (Tabla 10). Al igual que la actividad MDHAR, la actividad GR parece encontrarse de manera constitutiva en fruto, ya que dichas enzimas no se ven inducidas ante ningún cambio en los parámetros ambientales ofrecidos por ningún tratamiento durante ninguno de los ciclos estudiados.

Las condiciones climáticas registradas en M indujeron una gran activación de las enzimas del ciclo AsA-GSH como APX y DHAR, especialmente en 2010. Sin embargo, en el ciclo posterior de 2011, el agravamiento de las condiciones ambientales durante el período de funcionamiento del equipamiento climático con DPV máximos de 3,6 kPa, supuso la inhibición de la actividad DHAR en las muestras de fruto analizadas. Este hecho, pudo contribuir en la baja regeneración de AsA y en su capacidad antioxidante frente a la detoxificación de ROS, que unido a la alta actividad SOD, produjo el aumento de la peroxidación lipídica durante 2011 frente al ciclo anterior (Figura 14A) (Rosales *et al.*, 2006).

Los tratamientos nebulizados MN y MNP, a pesar de mostrar una mejora en los parámetros climáticos del invernadero de malla, manifestaron un comportamiento distinto dependiente del ciclo de producción analizado respecto a las enzimas del ciclo APX y DHAR, aunque con idéntico resultado, una menor peroxidación lipídica (Figura 14A). En 2010, dichas actividades enzimáticas en el tratamiento MNP mostraron un comportamiento análogo, pero con una mayor eficiencia en la detoxificación de H₂O₂ al manifestado por M (Figura 14B). Al contrario ocurrió durante 2011, donde MNP mostró los valores más bajos de estas enzimas, y sin embargo no existió un aumento en la concentración de H₂O₂, que pudo ser debido a la baja actividad SOD que participa en su formación y/o a su eliminación por la alta actividad GPX que sobresalió en dicho ciclo (Tabla 9).

Tabla 10. Ascorbato peroxidasa (APX), monodehidroascorbato reductasa (MDHAR), dehidroascorbato reductasa (DHAR) y glutatión reductasa (GR) en fruto de tomate bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) durante los ciclos de cultivo 2010 y 2011.

Tratamiento	APX (A ₂₉₀ min ⁻¹ mg ⁻¹ prot.)	MDHAR (A ₃₄₀ h ⁻¹ mg ⁻¹ prot.)	DHAR (A ₂₆₀ min ⁻¹ mg ⁻¹ prot.)	GR (A ₂₄₀ min ⁻¹ mg ⁻¹ prot.)
Ciclo 2010				
M	0,87±0,08 a	0,60±0,05 a	0,47±0,02 a	0,18±0,01 a
MN	0,62±0,03 b	0,66±0,05 a	0,38±0,00 b	0,14±0,01 a
MNP	0,82±0,06 a	0,60±0,06 a	0,49±0,01 a	0,15±0,01 a
Pvalor	***	ns	***	ns
LSD _{0,05}	0,11	0,10	0,05	0,03
Ciclo 2011				
M	0,13±0,01 a	0,22±0,02 a	0,04±0,00 b	0,02±0,00 a
MN	0,14±0,01 a	0,24±0,02 a	0,06±0,00 a	0,02±0,00 a
MNP	0,08±0,00 b	0,25±0,02 a	0,04±0,00 b	0,02±0,00 a
Pvalor	***	ns	***	ns
LSD _{0,05}	0,01	0,05	0,004	0,003
Análisis de la varianza				
Tratamiento (T)	ns	ns	ns	ns
Ciclo (C)	***	***	***	***
T X C	**	ns	***	ns

^aLas diferencias entre medias se compararon usando el test de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) seguidas por ± SE.

^bLos niveles de significación se expresaron como * P <0,05, ** P <0,01, *** P <0,001, y ns (no significativo), P > 0,05.

5.3.2. Concentración de AsA

En relación a los sustratos del ciclo, AsA y GSH, también actúan como antioxidantes de forma aislada al estar envueltos en la reducción directa de ROS durante diversos estreses tomando parte en el control de los niveles de H₂O₂ (Del Río *et al.*, 2006).

AsA es el antioxidante soluble más abundante y eficaz que previene y/o reduce los daños causados por ROS en plantas, gracias a su capacidad para donar electrones en multitud de reacciones enzimáticas y no enzimáticas (Smirnoff, 2005). La concentración de AsA total en MNP mostró los niveles más bajos de este compuesto frente a M y MN durante ambos ciclos de producción (Tabla 11). Coincidiendo con estos resultados, Yang *et al.* (2008) determinaron la existencia de una estimulación en la concentración de AsA bajo condiciones de alta radiación sobre plantas de *Picea asperata*. Así, la

reducción de la radiación conseguida por la disposición de la pantalla plástica sobre el cultivo de tomate *cherry*, afectaría negativamente a la acumulación de este antioxidante en sus frutos durante ambos ciclos. Además de la radiación solar, otro factor a tener en cuenta en la acumulación de AsA en fruto, es la temperatura. Gautier *et al.* (2008) estableció el límite de 32 °C, superior al cual, la síntesis de AsA fue inhibida y/o su degradación favorecida en frutos de tomate. Este valor fue igualado y superado bajo MNP en ambos ciclos de producción (Tabla 8). La concentración de AsA reducido alcanzó su nivel mínimo en MNP con una reducción del 29% y del 52% respecto a MN durante 2010 y 2011, respectivamente (Tabla 11). La obtención de AsA reducido mediante la actividad DHAR, puede ser fundamental en la respuesta frente a una elevada radiación u otros estreses ambientales (Gallie, 2013). En nuestro estudio, el aumento de este antioxidante en su forma reducida en MN durante 2010, no se debió a una potenciación de todas las enzimas pertenecientes al ciclo, especialmente APX y DHAR (ya que MDHAR y GR se encontraron de forma constitutiva en todos los tratamientos) como ocurrió en 2011 (Tabla 10), sino que pudo inducirse la síntesis *de novo* de AsA a partir de su precursor (D-glucosa-6-P) (Weeler *et al.*, 1998; Rosales *et al.*, 2006). A menudo una alta concentración de DHA ha sido asociada con un daño oxidativo medido a través de una peroxidación lipídica, en numerosos estreses abióticos (Rosales *et al.*, 2006; Cervilla *et al.*, 2007; Sánchez-Rodríguez *et al.*, 2010; Blasco *et al.*, 2010). En 2010, concentración de DHA se manifestó máxima en M y mínima en los tratamientos nebulizados MN y MNP (Tabla 11), coincidiendo con los menores valores de MDA y H₂O₂ registrados en ese ciclo (Figura 14). Sin embargo, en 2011, la concentración más alta de este compuesto se obtuvo en MNP con un incremento del 21% respecto a M, que registró los valores más bajos (Tabla 11), debido principalmente a la inhibición sufrida por la enzima DHAR tras superarse ampliamente su rango térmico óptimo (Tabla 10).

Existe una gran controversia en cuanto al contenido de AsA bajo condiciones de estrés ambiental. El incremento en la concentración de AsA en tomates expuestos a temperaturas elevadas y fuerte radiación solar, produjo una mejor aclimatación y/o tolerancia al estrés oxidativo (Dumas *et al.*, 2003). Sin embargo, Torres *et al.* (2006) describe una reducción en la concentración de AsA en tomates crecidos bajo condiciones similares. La clave para determinar la funcionalidad del AsA es el estado en el que se encuentre, por eso, una alta concentración de AsA reducido es esencial para

eliminar ROS en las células (Mitler, 2002). Nuestros resultados mostraron que MN obtuvo los valores más elevados en el estado redox de AsA durante ambos ciclos, llegando a poseer el 71% de su AsA total en forma reducida en 2011. Este aumento de AsA reducido en MN frente a 2010, fue gracias a la inducción del ciclo debido principalmente al aumento en las actividades APX y DHAR que pudieron ser potenciadas al favorecerse la oxidación espontánea de MDHA hasta DHA en los frutos de este tratamiento (Foyer y Noctor, 2009) (Tabla 10; Tabla 11).

Tabla 11. Contenidos de AsA total (AsA total), AsA reducido (AsA), dehidroascorbato (DHA) y estado redox [AsA/(AsA+DHA)] en fruto de tomate bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) durante los ciclos de cultivo 2010 y 2011.

Tratamiento	AsA total (mmol g ⁻¹ PF)	AsA reducido (mmol g ⁻¹ PF)	DHA (mmol g ⁻¹ PF)	AsA/(AsA+DHA)
Ciclo 2010				
M	4,55±0,26 a ^a	1,68±0,10 b	2,87±0,19 a	0,37±0,01 b
MN	4,35±0,13 a	1,83±0,10 a	2,53±0,11 b	0,42±0,02 a
MNP	3,48±0,17 b	1,32±0,07 c	2,21±0,14 b	0,38±0,02 ab
Pvalor	***	***	***	*
LSD _{0,05} ^b	0,31	0,13	0,32	0,04
Ciclo 2011				
M	1,00±0,07 b	0,68±0,07 b	0,38±0,02 c	0,59±0,03 b
MN	1,41±0,04 a	1,00±0,05 a	0,42±0,02 b	0,70±0,02 a
MNP	0,94±0,04 c	0,48±0,04 c	0,46±0,03 a	0,50±0,03 c
Pvalor	***	***	***	***
LSD _{0,05}	0,04	0,04	0,03	0,02
Análisis de la varianza				
Tratamiento (T)	ns	***	ns	***
Ciclo (C)	***	***	***	***
T X C	***	***	**	***

^aLas diferencias entre medias se compararon usando el test de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) seguidas por ± SE.

^bLos niveles de significación se expresaron como * P <0,05, ** P <0,01, *** P <0,001, y ns (no significativo), P > 0,05.

5.3.3. Concentración de GSH

Otro de los principales metabolitos con actividad antioxidante que forma parte del ciclo, es el glutatión (GSH). Este compuesto de bajo peso molecular actúa como un reductor protegiendo los grupos tiol de las enzimas, regenera el AsA y reacciona frente a ROS como el oxígeno singlete (1O_2) y/o los radicales hidroxilo (OH) (Arora *et al.*, 2002). Además, desempeña un papel central en varios procesos fisiológicos como la regulación del transporte de sulfato, la transducción de señales, la conjugación de metabolitos, la desintoxicación de xenobióticos (Xiang *et al.*, 2001) y la expresión de genes de respuesta al estrés (Mullineaux, Rausch, 2005). En nuestro trabajo, MNP mostró los niveles más bajos de este antioxidante respecto a M en 2011, ya que durante 2010 no hubo diferencias significativas entre los distintos tratamientos (Tabla 12).

GSH es necesario para mantener el estado redox de las células a fin de contrarrestar los efectos inhibitorios inducidos por ROS durante el estrés oxidativo, ya que participa en el en la regeneración de otro potencial antioxidante como AsA, a través de DHAR que cataliza la reducción de DHA a AsA usando GSH como reductor. El control climático no influyó sobre la concentración de este compuesto durante 2010, al no existir diferencias significativas para ningún tratamiento (Tabla 12). Sólo existieron diferencias significativas en la concentración de GSH durante 2011, siendo el tratamiento MN el que mostró una concentración más baja (un 50% menor que M) (Tabla 12), coincidiendo con una mayor actividad DHAR y concentración de AsA reducido, como resultado de la reacción en el ciclo AsA-GSH (Tabla 10; Tabla 11). Cuando la intensidad y duración del estrés aumenta, las concentración de GSH suele declinarse hacia su forma más oxidada (GSSG), lo que lleva desequilibrio del balance redox y deterioro del sistema antioxidante (Tausz *et al.*, 20004). Los tratamientos climáticos no tuvieron ningún tipo de influencia sobre la concentración de GSSG al no demostrar diferencias significativas durante ningún ciclo del cultivo (Tabla 12), probablemente debido a la actividad constitutiva de GR en las muestras de tomate analizadas durante ambos ciclos productivos (Tabla 10).

En cuanto al estado redox de GSH, la combinación de su forma reducida frente al total de este compuesto sólo manifestó diferencias en 2011, siendo menor en MN al mostrar un descenso en el GSH reducido en muestras de tomate *cherry* del 31% frente a M, que evidenció el mejor estado redox de este antioxidante (Tabla 12). A diferencia de lo

postulado por Agarwal (2007), que definió un incremento en la relación GSH-GSSG ante un estrés por radiación UV-B en plántulas de *Cassia auriculata*, el aumento del estado redox de GSH en frutos de tomate bajo M durante 2011, no se debió al incremento en la radiación solar, pero si pudo ser adquirida como mecanismo adaptativo para suplir la deficiencia del estado redox de AsA que sucedió en este tratamiento durante ambos ciclos (Tabla 11).

Tabla 12. Contenidos de glutatión total (GSH total), glutatión reducido (GSH), glutatión oxidado (GSSG) y estado redox [GSH/(GSH+GSSG)] en fruto de tomate bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) durante los ciclos de cultivo 2010 y 2011.

Tratamiento	GSH total ($\mu\text{mol g}^{-1}$ PF)	GSH reducido ($\mu\text{mol g}^{-1}$ PF)	GSSG ($\mu\text{mol g}^{-1}$ PF)	GSH/(GSH+GSSG)
Ciclo 2010				
M	3,91 \pm 0,17 a ^a	2,25 \pm 0,16 a	1,66 \pm 0,05 a	0,56 \pm 0,02 a
MN	3,98 \pm 0,09 a	2,30 \pm 0,08 a	1,68 \pm 0,04 a	0,57 \pm 0,01 a
MNP	4,12 \pm 0,14 a	2,43 \pm 0,13 a	1,70 \pm 0,06 a	0,57 \pm 0,02 a
Pvalor	ns	ns	ns	ns
LSD _{0,05} ^b	0,33	0,31	0,15	0,05
Ciclo 2011				
M	0,22 \pm 0,00 a	0,04 \pm 0,00 a	0,18 \pm 0,00 a	0,16 \pm 0,01 a
MNP	0,21 \pm 0,00 ab	0,02 \pm 0,00 b	0,19 \pm 0,00 a	0,11 \pm 0,01 b
MNP	0,20 \pm 0,00 b	0,03 \pm 0,00 ab	0,18 \pm 0,00 a	0,15 \pm 0,02 ab
Pvalor	*	*	ns	*
LSD _{0,05}	0,01	0,01	0,01	0,04
Análisis de la varianza				
Tratamiento (T)	ns	ns	ns	ns
Ciclo (C)	***	***	***	***
T X C	ns	ns	ns	ns

^aLas diferencias entre medias se compararon usando el test de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) seguidas por \pm SE.

^bLos niveles de significación se expresaron como * P <0,05, ** P <0,01, *** P <0,001, y ns (no significativo), P > 0,05.

5.3.4. Capacidad antioxidante

Varios métodos son usados para la determinación de la capacidad antioxidante en frutos por estar relacionados con la captación de radicales libres y así, proteger a las macromoléculas biológicas del daño oxidativo. Para cuantificar la capacidad antioxidante, se procedió al estudio de diferentes test antioxidantes basados en la habilidad de inhibir la oxidación de un sustrato diana por parte de los radicales libres o en la capacidad de quelar metales y/o detoxificar radicales sintéticos y representados mediante los test antioxidantes FRAP, TEAC, Poder Reductor y DPPH durante los dos ciclos de cultivo (Figura 16). En primer lugar, se realizó el análisis FRAP, considerado uno de los test más rápidos y eficaces en la determinación de la capacidad antioxidante (Rice-Evans, 2000). Basado en la reducción del complejo TPTZ por sustancias donadoras de electrones en condiciones ácidas. También se realizó el test TEAC, cuya capacidad antioxidante es análoga a la concentración de otro antioxidante, α -tocoferol, mediante la reducción del radical ABTS⁺ (Becker *et al.*, 2004). Otro ensayo llevado a cabo con el fin de la determinación de la actividad antioxidante fue el test Poder Reductor. Cuya medida representa la actividad equivalente al AsA obtenida tras la reducción del complejo ferricianida tras un viraje colorimétrico (Meir *et al.*, 1995). Finalmente, el test DPPH cuantificó la capacidad de detoxificación de ROS tras la reducción de este radical al mezclarse con una sustancia donadora de electrones (Martínez *et al.*, 2006). La actividad antioxidante medida a través de los test TEAC, Poder Reductor y DPPH mostró una tendencia similar entre los tratamientos climáticos, aunque dicha capacidad fue significativamente menor durante 2011. En este ciclo, las concentraciones de AsA y GSH fueron más bajas (Tabla 11; Tabla 12), coincidiendo con una disminución en la actividad de las enzimas pertenecientes al ciclo AsA-GSH (Tabla 10). Sin embargo, el test FRAP mostró una relación lineal con el estado redox de AsA, pero no con su concentración en frutos de tomate *cherry*, indicando un bajo contenido de DHA frente a su forma reducida (Tabla 11). Además, estos resultados mostraron una mayor capacidad antioxidante en los frutos cultivados bajo el tratamiento MN en ambos ciclos, que ayudó a conseguir una menor peroxidación lipídica de sus frutos (Figura 14). Coincidiendo con nuestros resultados, numerosos autores no correlacionan un aumento de la concentración de AsA, repercutiendo así sobre la capacidad antioxidante, bajo condiciones de estrés ambiental (Adegoye y Jolliffe, 1983; Hamazu *et al.*, 1994; Torres *et al.*, 2006). Por consiguiente, la capacidad

antioxidante en nuestro estudio no fue consecuencia del estrés ambiental, pues la fuerte radiación solar y elevados DPV obtenidos en M, no estuvieron acompañados por un aumento de los test antioxidantes, y sí por un aumento de MDA y H₂O₂, contrario a lo manifestado por Rosales *et al.* (2006) en un cultivo protegido de tomate *cherry* bajo condiciones similares.

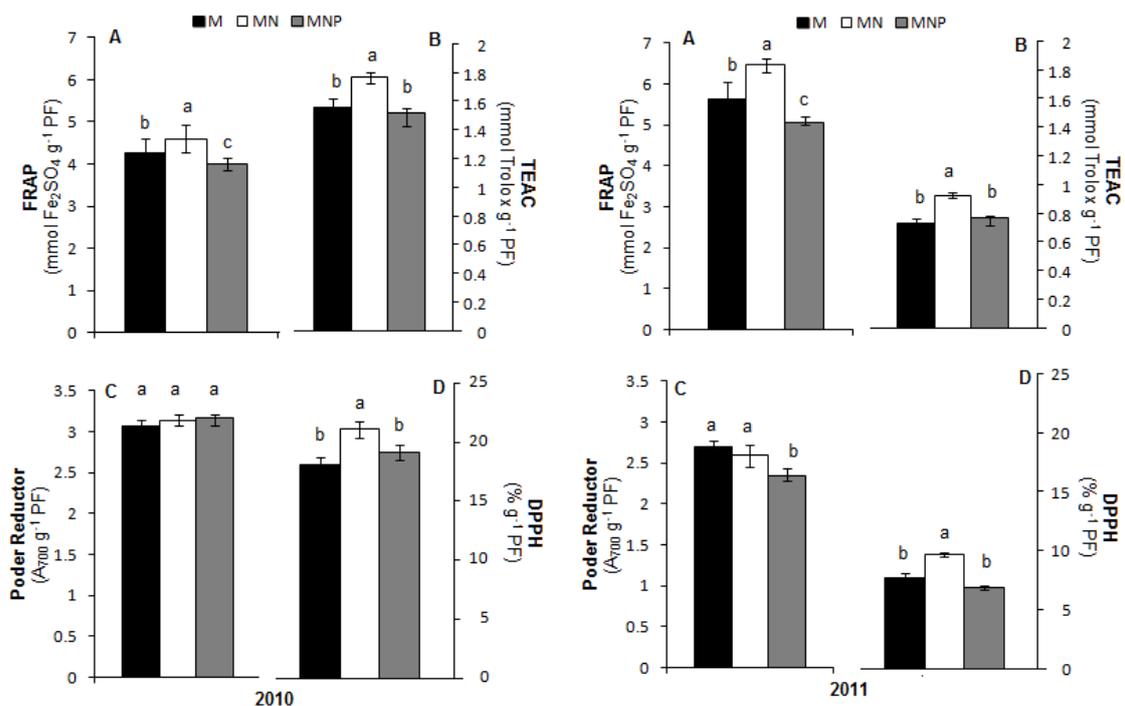


Figura 15. FRAP (A), TEAC (B), Poder Reductor (C) y DPPH (D) en fruto de tomate bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) durante los ciclos de cultivo 2010 y 2011. Las barras verticales indican \pm SE de los valores medios. Diferencias entre medias se compararon usando el test de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) para $P = 0,05$. Medias seguidas por la misma letra no tienen diferencia significativa.

En resumen, la disposición de la pantalla plástica sobre la nebulización hizo que se desencadenara un comportamiento antagónico (dependiente del ciclo de producción) en la respuesta antioxidante en fruto analizada a través de las actividades antioxidantes GPX, APX y DHAR, al igual que una menor concentración de determinadas formas de AsA y GSH y una capacidad antioxidante de sus frutos inferior al resto de tratamientos durante ambos ciclos. Sin embargo, la ausencia de variación en las concentraciones de MDA y H₂O₂ respecto a MN, hace pensar que gracias a la mejora microclimática no se están produciendo estos compuestos, o que han de estar desarrollándose otros mecanismos adaptativos diferentes al metabolismo oxidativo en esta respuesta

antioxidante, que estén contrarrestando los aspectos negativos derivados del estrés oxidativo y que están siendo proporcionados por la reducción en la radiación solar, el aumento de HR y/o temperatura en MNP (Tabla 8).

5.4. Metabolismo de prolina y concentración de poliaminas libres

La acumulación de compuestos de bajo peso molecular ricos en nitrógeno como prolina (Pro) y poliaminas (PAs) (putrescina (Put), espermidina (Spd) y espermina (Spm)), tiene una correlación positiva con la tolerancia de las plantas a diversos estrés abióticos (Serraj y Sinclair, 2002). Constituye otra de las estrategias llevadas a cabo para la adaptación frente al daño generado en tejidos vegetales por los factores abióticos (Radyukina *et al.*, 2010). En las plantas superiores, la síntesis de Pro puede ser realizada a partir de glutamato o de ornitina (Bryan, 1990), siendo este compuesto común a la ruta de síntesis de PAs tras la adición sucesiva de grupos amino a través de S-adenosinmetionina (SAM). Numerosos estudios apuntan a que la síntesis de Pro a través de la ruta de glutamato es dominante en condiciones de estrés (Kavi y Kishor *et al.*, 2005).

Pro procura protección frente a ROS que causan daño celular, como OH^- y $^1\text{O}_2$ (Matysik *et al.*, 2002). Pero muchos autores han observado la acumulación de Pro como un síntoma de estrés en lugar de un mecanismo de resistencia (Sánchez-Rodríguez *et al.*, 2010). En 2010, frutos bajo el tratamiento M mostraron la concentración más elevada de Pro, que coincidió con un aumento en los niveles de H_2O_2 y MDA (Figura 14; Tabla 13), mientras que MN y MNP mostraron un descenso en el nivel de este aminoácido del 24% y 28% respectivamente. (Tabla 13). En 2011, M mostró los valores más altos de este aminoácido y mínimo en MN con una disminución en la concentración de Pro del 41% respecto a M (Tabla 13).

La acumulación de Pro depende del balance existente entre su síntesis, llevada a cabo por las enzimas GDH, P5CS y OAT y su degradación por parte de la actividad PDH. Por ejemplo, en plantas sometidas a salinidad la acumulación de Pro está relacionada con su síntesis *de novo* y acompañada por un descenso en su degradación (Hien *et al.*, 2003; Parida y Das, 2005).

Tabla 13. Contenidos de prolina (Pro) y actividades enzimáticas glutamato deshidrogenasa (GDH), pirrolina-5-carboxilato sintetasa, ornitina aminotransferasa (OAT) y prolina deshidrogenasa (PDH) en fruto de tomate bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) durante los ciclos de cultivo 2010 y 2011.

Tratamiento	Prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ PF)	GDH ($A_{340} \text{ h}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ prot.)	P5CS ($A_{340} \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ prot.)	OAT ($A_{340} \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ prot.)	PDH ($A_{340} \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ prot.)
Ciclo 2010					
M	65,99 \pm 4,62 a ^a	0,88 \pm 0,10 a	1,24 \pm 0,13 a	1,12 \pm 0,08 ab	2,07 \pm 0,27 b
MN	50,17 \pm 4,81 b	0,40 \pm 0,03 c	1,15 \pm 0,09 a	0,92 \pm 0,08 b	3,48 \pm 0,50 a
MNP	47,49 \pm 2,59 b	0,64 \pm 0,05 b	0,67 \pm 0,07 b	1,17 \pm 0,67 a	3,43 \pm 0,34 a
Pvalor	**	***	***	*	*
LSD _{0,05} ^b	11,59	0,19	0,28	0,22	1,08
Ciclo 2011					
M	31,18 \pm 2,12 a	0,66 \pm 0,08 a	0,06 \pm 0,01 a	2,02 \pm 0,25 a	1,17 \pm 0,10 b
MN	18,41 \pm 1,75 c	0,63 \pm 0,08 a	0,05 \pm 0,01 a	1,64 \pm 0,15 a	1,59 \pm 0,14 a
MNP	26,45 \pm 2,32 b	0,71 \pm 0,09 a	0,04 \pm 0,01 a	1,84 \pm 0,19 a	1,59 \pm 0,16 a
Pvalor	***	ns	ns	ns	*
LSD _{0,05}	2,83	0,24	0,02	0,44	0,38
Análisis de la varianza					
Tratamiento (T)	***	**	***	ns	**
Ciclo (C)	*	ns	***	***	***
T X C	***	*	***	ns	ns

^aLas diferencias entre medias se compararon usando el test de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) seguidas por \pm SE.

^bLos niveles de significación se expresaron como * P <0,05, ** P <0,01, *** P <0,001, y ns (no significativo), P > 0,05.

Nuestros resultados mostraron que la actividad mínima de GDH se obtuvo en MN con un descenso del 55% frente a M durante 2010 (Tabla 13). Sin embargo, ninguno de los tratamientos climáticos influyó sobre esta enzima, al no existir diferencias significativas entre tratamientos durante 2011 (Tabla 13). La actividad P5CS, por el contrario, fue MNP el tratamiento nebulizado que mostró un descenso del 46% respecto al tratamiento M (Tabla 13). En 2011 al igual que ocurriera con la enzima GDH, no hubo diferencias significativas entre ninguno de los tratamientos estudiados para la actividad P5CS (Tabla 13). Finalmente, y respecto a las enzimas de síntesis, la actividad OAT fue mínima en el tratamiento MN frente al resto de tratamientos bajo malla en ambos ciclos del cultivo (Tabla 13).

Respecto a la degradación de Pro, el control climático conseguido en MN y MNP incrementó la actividad PDH, coincidiendo con una menor concentración de Pro en dichos tratamientos frente a M durante los dos años de cultivo (Tabla 13).

En resumen, la acumulación de Pro fue menor en MNP debido a una disminución en las enzimas encargadas de su síntesis, principalmente GDH y P5CS y/o una mayor actividad en su degradación por parte de PDH (actividades superiores al 50% alcanzando el 70% en 2010) (Tabla 13). Por otra parte, la degradación de Pro puede mejorar el estado energético al estar directamente ligada con la cadena transportadora de electrones y la producción de adenosin-5-trifosfato (ATP) (Lawlor *et al.*, 1995). Además, la actividad PDH podría actuar en este tratamiento como un mecanismo de respuesta eficaz frente al estrés, al participar en la disipación de ROS y evitando su formación (Rosales *et al.*, 2007).

La tolerancia de las plantas a diversos estreses abióticos a menudo está correlacionada con la acumulación de PAs como Put y/o Spd y Spm (Alcázar *et al.*, 2010). La acumulación de estos compuestos se produce en respuesta a diversas condiciones ambientales adversas, incluyendo estrés hídrico, térmico, por radiación UV-B y UV-C, entre otros (Bouchereau *et al.*, 1999; Alcázar *et al.*, 2006; Groppa y Benavides, 2008). Uno de los principales papeles atribuidos a la acumulación de estos compuestos durante el estrés, es proceder como un mecanismo para mejora del estrés osmótico derivado en tejidos, regulando la pérdida de agua al incrementar su osmolaridad intracelular (Flores y Galston, 1982). No obstante, Bais y Ravishankar (2002) definieron la acumulación de Put como un mecanismo de defensa de la planta, gracias al efecto detoxificador de ROS que posee este compuesto al paliar el daño inducido por el estrés (Todorov *et al.*, 1998; Ashir *et al.*, 2010). Los datos revelaron que durante 2010, MNP mostró los niveles más bajos para esta amina con una reducción en su contenido del 26% en frutos de tomate frente a las condiciones no nebulizadas de M (Tabla 14). Por el contrario, en 2011, MNP mostró la concentración más alta con un incremento del 31% frente a M, probablemente debido a que se esté inhibiendo la conversión de Put a Spd, siendo esta última el compuesto aminado con menor contracción de todos los tratamientos analizados (Tabla 14). Fue en 2010 donde se manifestaron diferencias significativas entre tratamientos para la concentración de Spm, siendo MNP el tratamiento que mostró un menor nivel al no favorecerse la formación de Spm a partir de Spd (Tabla 14).

La PA más representada fue la Put con una proporción superior al 60% en todos los tratamientos y de manera similar durante los dos años de cultivo, siendo MN el tratamiento con mayor concentración de este compuesto aminado en frutos de tomate *cherry* en ambos ciclos. La concentración de Spd fue la segunda PA más abundante, con una concentración relativa del 20-30% en 2010 que cambió durante el segundo ciclo a favor de la formación de Spm en frutos de tomate *cherry* bajo MNP, obteniendo una concentración cuatro veces superior al resto de los tratamientos desde 2010 a 2011.

Tabla 14. Contenidos de poliaminas (PAs): putrescina (Put), espermidina (Spd), espermina (Spm) y razón prolina y poliaminas en fruto de tomate bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) durante los ciclos de cultivo 2010 y 2011.

Tratamiento	Put ($\mu\text{mol g}^{-1}$ PF)	Spd ($\mu\text{mol g}^{-1}$ PF)	Spm ($\mu\text{mol g}^{-1}$ PF)
Ciclo 2010			
M	41,31 \pm 4,15 a ^a	10,68 \pm 3,50 a	2,32 \pm 0,70 a
MN	42,24 \pm 3,62 a	17,02 \pm 2,55 a	2,30 \pm 0,70 a
MNP	30,40 \pm 2,09 b	13,47 \pm 4,05 a	1,52 \pm 0,65 b
Pvalor	**	ns	***
LSD _{0,05} ^b	6,33	7,00	0,07
Ciclo 2011			
M	31,50 \pm 2,89 b	14,77 \pm 1,04 b	4,81 \pm 0,15 a
MN	43,95 \pm 4,58 a	19,74 \pm 2,55 a	5,20 \pm 0,11 a
MNP	41,15 \pm 2,60 a	6,87 \pm 1,53 c	4,85 \pm 0,18 a
Pvalor	**	***	ns
LSD _{0,05}	6,70	2,64	0,41

Análisis de la varianza

Tratamiento (T)	ns	ns	ns
Ciclo (C)	ns	ns	***
T X C	**	ns	ns

^aLas diferencias entre medias se compararon usando el test de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) seguidas por \pm SE.

^bLos niveles de significación se expresaron como * P <0,05, ** P <0,01, *** P <0,001, y ns (no significativo), P > 0,05.

Es decir, mientras que durante 2010 en MNP se incrementó la conversión de Put a Spd, durante 2011, se potenció hasta Spm. El incremento en los niveles de Spd y Spm en condiciones de estrés han sido descritos como mecanismo de tolerancia a condiciones adversas a través de la acción directa sobre ROS o indirecta mediante la inducción de

genes relacionados con el metabolismo oxidativo o compuestos antioxidantes (Lester, 2006; Jiménez-Bremont *et al.*, 2007). De acuerdo con Cheng *et al.* (2009), plantas de tomate sometidas a un estrés térmico con altos niveles de Spd y Spm fueron acompañadas por un descenso en la concentración de MDA, y procuraron una mejor respuesta al estrés osmótico secundario. Aziz y Larher (1995) describieron una alta acumulación de Put y mantenimiento de altos niveles de Spd en hojas de colza (*Brassica napus*) mejorando la respuesta al bajo potencial de agua mostrado bajo estrés osmótico.

La síntesis de PAs y Pro comparte el glutamato como precursor común en la síntesis de ambos compuestos aminados (Tonon *et al.*, 2004). Zhao *et al.* (2001) mostraron que hay un incremento en Pro y un descenso de PAs cuando plantas de cebada (*Hordeum vulgare*) fueron sometidas a un estrés salino. Esta hipótesis está apoyada por Santa-Cruz *et al.* (1999), quienes informaron de una alternancia de Pro por Put cuando plantas de tomate fueron expuestas a un estrés salino. De manera similar, Delauney y Verna (1993) demostraron un flujo a través de esta ruta compartida a favor de la formación de Pro, especialmente a través de γ -glutamil-fosfato, glutamato semialdehído y pirrolina-5-carboxilato (productos de las actividades GDH y P5CS, respectivamente) en frijol (*Vigna acotifolia*) en estrés salino. En algunas especies de plantas de tomate y soja sometidas a salinidad se promueve la degradación de PAs (Aziz *et al.*, 1998; Su y Bai 2008) y el aumento de la concentración de Pro (Tonon *et al.*, 2004). La relación Pro: Put ha sido definida como un parámetro que puede describir el nivel de estrés en frutos de tomate *cherry* sometidos a diferentes condiciones ambientales (Leyva *et al.*, 2013). En nuestro estudio, la relación Pro: Put no manifestó interacción entre los distintos factores del estudio (Figura 16). Esta relación disminuyó significativamente en MN con un 25% y un 57% en 2010 y 2011 respectivamente frente a M, que registró el mayor cociente entre estos compuestos aminados, denotando la acumulación preferente de PAs a la de Pro durante ambos ciclos, como resultado de la alta actividad P5CS (y baja actividad PDH) en ambos ciclos de cultivo. Sin embargo, los frutos sometidos a control climático (MN y MNP) mostraron una relación baja especialmente durante el último ciclo de cultivo. Esta baja relación Pro: Put en MN y MNP, no solo evitó la acumulación de Pro sino que favoreció la formación y acumulación de otras PAs como Spm a partir de Spd al pasar de concentraciones relativas de Put: Spd: Spm de 65:30:5 a 60:10:30 en 2011. Su y Bai (2008) también observaron una relación negativa entre las concentraciones de

Pro y Put atribuidas a la conversión a Put a través de la degradación de Pro originando α cetoglutarato, ATP y nicotinamida dinucleótido necesarios para la síntesis de Pro (Mutlu y Bozcuk, 2007).

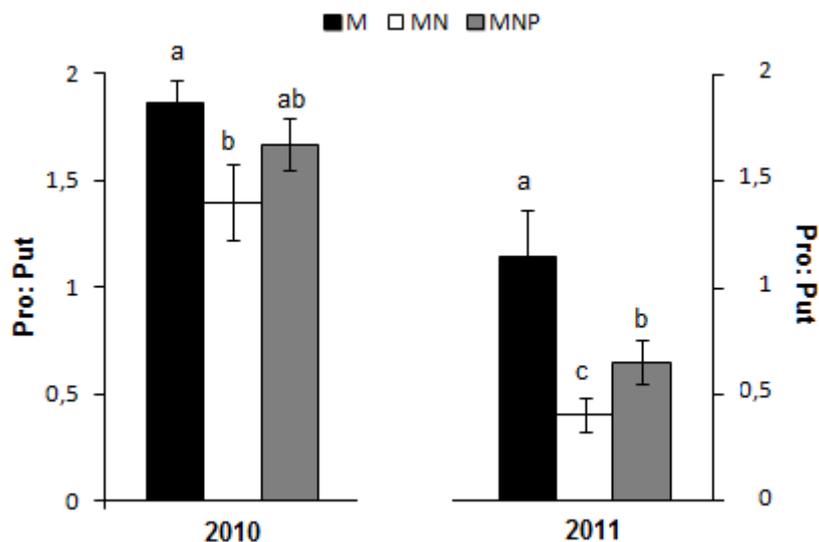


Figura 16. Relación prolina: putrescina en fruto de tomate bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) durante los ciclos de cultivo 2010 y 2011. Las barras verticales indican \pm SE de los valores medios. Diferencias entre medias se compararon usando el test de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) para $P = 0,05$. Medias seguidas por la misma letra no tienen diferencia significativa.

En resumen, los frutos de tomate *cherry* bajo el tratamiento M estuvieron sometidos a elevadas temperaturas, radiación solar y DPV (Tabla 8) y sufrieron un incremento de la peroxidación lipídica (Figura 14A) y por tanto de estrés oxidativo en ambos ciclos de producción. Al igual que en el trabajo de Rosales *et al.* (2006), estas condiciones de estrés en nuestro trabajo desencadenaron una respuesta antioxidante basada en la inducción de las enzimas antioxidantes SOD (Tabla 9) y APX (Tabla 10) (constantes en ambos ciclos y con la alternancia de CAT y GPX en 2010 y 2011 (Tabla 9), respectivamente). En este tratamiento, el aumento en las concentraciones de AsA (GSH en 2011) y Pro podrían ser consideradas como indicadores de estrés en lugar de mecanismos de adaptación frente a él (Rosales *et al.*, 2006; Sánchez-Rodríguez *et al.*, 2010), pues su acumulación estuvo relacionada con el incremento de H_2O_2 y MDA, siendo una posible causa del aumento de la producción no comercial del cultivo en este tratamiento (Figura 10; Figura 14). Por el contrario, la disposición de equipamientos de

control climático en los tratamientos MN y MNP mejoraron las condiciones ambientales durante su funcionamiento (Tabla 8). Esto permitió que el nivel del daño oxidativo, medido a través de los indicadores de estrés MDA (Figura 14A), H₂O₂ (Figura 14B) y Pro (Tabla 15) en fruto, fuera menor que en condiciones no refrigeradas. La menor formación de H₂O₂ en estos tratamientos (Figura 14B), causado por una baja actividad SOD (Tabla 9), parece ser una de las claves para una menor peroxidación lipídica en fruto de tomate *cherry*. No obstante, las actividades GPX, APX y DHAR tuvieron un papel relevante aunque su acción no estuvo definida, pues la actividad de estas enzimas varió en función del tratamiento nebulizado y ciclo analizados (Tabla 9; Tabla 10). Por otra parte, la disminución de la temperatura y radiación solar conseguidas por MN y MNP respectivamente, propició la formación y acumulación de otros compuestos con gran actividad antioxidante como las PAs (Tabla 14) evitando la acumulación de Pro, tras favorecer su degradación por la actividad PDH (Tabla 13). Por esta razón, la baja relación Pro: Put describió un menor nivel de estrés en frutos de tomate *cherry* que pudo explicar el aumento del contenido hídrico y peso medio de frutos (Figura 16), gracias a lo cual, presentaron una producción comercial similar al tratamiento M, a pesar de que los dispositivos de control climático favorecieron la reducción de la carga de frutos por planta (Tabla 3; Figura 10).

Es difícil considerar hasta qué punto el efecto combinado de ambos dispositivos climáticos sobre el cambio de las variables climáticas bajo el invernadero de malla, actúa de manera sinérgica o no, para desencadenar una respuesta fisiológica distinta con el mismo resultado en la respuesta antioxidante, una menor peroxidación lipídica de sus frutos. Es decir, el uso de la pantalla plástica sobre el sistema de nebulización reduce la radiación durante las horas de mayor insolación y mantiene la HR ambiental (Tabla 8). Por otro lado, su uso acarrea un aumento de la temperatura máxima superando ampliamente el rango óptimo de desarrollo para el cultivo de tomate (23-26 °C), a partir del cual, según algunos autores, el cultivo presenta pérdidas de rendimiento (Maroto, 1995; Adams *et al.*, 2001). Podría considerarse que los frutos sometidos a MNP evitan la exposición a un estrés por alta radiación, pero a su vez deben desencadenar una respuesta adaptativa al estrés térmico generado. De manera análoga sucede con los frutos sometidos a MN, donde su respuesta debe ser más efectiva sobre el estrés luminoso frente al térmico. De acuerdo con los datos arrojados por M cuyos frutos fueron sometidos a estrés por calor y fuerte radiación (Tabla 8), podríamos concluir que

el parámetro que tuvo más incidencia sobre la respuesta antioxidante del fruto fue la radiación, participando en el aumento de las actividades antioxidantes SOD (Tabla 9), CAT (Tabla 9), GPX (Tabla 9) y APX (Tabla 10) en M, o al mejorar el estado redox del AsA, potenciando la capacidad antioxidante y favoreciendo la acumulación de PAs en MN (Tabla 13; Figura 15). Sin embargo, esta inducción de la respuesta antioxidante frente a las condiciones de alta luminosidad fue más eficiente en MN que en M coincidiendo con los menores valores de MDA (Figura 14A), H₂O₂ (Figura 14B) y Pro (Tabla 13). De acuerdo con Rosales *et al.* (2006), la reducción de la radiación el tratamiento MNP, no supuso un aumento en los parámetros de respuesta antioxidante, al igual que tampoco se vio incrementada la concentración de indicadores de estrés.

La respuesta antioxidante analizada mediante la actividad de enzimas como SOD y CAT (Tabla 9), ciclo AsA-GSH (Tablas 12-14), capacidad antioxidante (Figura 15) y la acumulación de osmolitos como la prolina (Tabla 13), fue significativamente menor en 2011 respecto al ciclo anterior en todos los tratamientos. Sin embargo, la concentración de H₂O₂ se mantuvo constante entre ciclos (Figura 14). Esto pudo ser debido a que durante ese ciclo, a pesar de presentar las condiciones ambientales más adversas (Tabla 8), las plantas optaron por otra estrategia de adaptación frente al estrés, que pudo estar relacionada con la concentración de otros antioxidantes que influyen sobre la calidad nutricional de los frutos.

6. Análisis de la calidad nutricional de frutos de tomate cherry sometidos a distintos sistemas de control climático en un invernadero de malla

La calidad nutricional de verduras y particularmente de frutos que se consumen frescos es un parámetro altamente complejo. El valor comercial de frutos tienden a basarse principalmente en cualidades externas como el tamaño, forma y color, mientras que la textura, el aroma, sabor y propiedades nutricionales a menudo no son consideradas con la importancia que debieran (Gruda *et al.*, 2005).

El tomate es el mejor componente de la dieta Mediterránea tradicional. Actualmente, la demanda en su consumo se ha visto incrementada enormemente por su alto contenido de minerales, vitaminas y compuestos beneficiosos (George *et al.*, 2004). Estos compuestos beneficiosos (antioxidantes en su mayor parte) están asociados con una baja

tasa de mortalidad debido a su acción sobre enfermedades vasculares, cáncer y enfermedades relacionadas con la edad (Dumas *et al.*, 2003). Estos efectos se deben principalmente a su composición rica en vitamina C, carotenoides (licopeno, β -caroteno y luteína) y compuestos fenólicos (flavonoides y ácidos fenólicos) (Pieper y Barret, 2009). Esto ha implicado que la calidad nutricional venga asignada al contenido de antioxidantes que se encuentren presentes en el fruto. La concentración de estos antioxidantes depende de la variedad, prácticas agronómicas realizadas sobre el cultivo y de los factores ambientales a los que esté expuesto (Rosales *et al.*, 2006) por lo que la calidad está fuertemente ligada al componente genético y a las condiciones de crecimiento (Viškelis *et al.*, 2008).

Dumas *et al.* (2003) postularon que los factores ambientales con mayor influencia sobre la calidad nutricional en fruto de tomate son la luz y temperatura. En la región Mediterránea, los ciclos vegetativo y reproductivo, principalmente en los cultivos de verano están afectados por episodios recurrentes de estrés debió a la alta radiación y elevadas temperaturas. Por eso, para la producción de cultivos de alta calidad se requiere del control de los principales factores ambientales, como la intensidad lumínica, temperatura y DPV. Los sistemas de nebulización a menudo son usados en el área Mediterránea para aliviar a las plantas de las altas temperaturas y fuerte radiación solar propias del periodo estival en esta zona, gracias al aumento de la humedad relativa ambiental (Romero-Gómez *et al.*, 2012a).

6.1. Concentración de vitamina C y carotenoides

Las concentraciones de los compuestos antioxidantes como vitamina C y carotenoides (luteína, licopeno y β caroteno) fueron analizadas en muestras de tomate sometidas a diferente control climático y se detallan en la Figura 17.

La vitamina C tiene un papel fisiológico muy importante al poseer numerosas funciones en las que destacan la eliminación de ROS y regeneración de vitamina E en plantas (Asada, 1994), o la participación en numerosas reacciones del metabolismo celular implicadas en el control del crecimiento o en la expansión celular (Kerk y Feldman, 1995). Nuestros resultados mostraron que la concentración de vitamina C no estuvo influenciada por cambios en los parámetros ambientales proporcionados por el control climático que se llevó a cabo bajo el invernadero de malla, incluso cuando fueron

expuestos a una reducción de radiación del 25 % en MNP (Tabla 8; Figura 17A). En contraposición a lo expuesto por El-Gizawy *et al.* (1993) al demostrar que la concentración de esta vitamina se reducía tras la exposición de frutos de tomate a sombreado.

La luteína es otro de los fitonutrientes característico del tomate y una de sus principales funciones es la prevención de la formación de ROS (Dall' Osto *et al.*, 2006). En nuestro estudio la concentración de este carotenoide no mostró diferencias significativas entre bloques. No existió una interacción significativa entre los factores tratamiento y ciclo. Los máximos valores de este compuesto se dieron en los tratamientos nebulizados, MN y MNP (Figura 17B).

Uno de los carotenoides más presentes en tomate (representa el 80% de los carotenoides totales) es el licopeno (Rao *et al.*, 1998), cuya concentración está intrínsecamente asociada a la calidad nutricional del tomate por su papel en la supresión de la proliferación de células cancerígenas (Gautier *et al.*, 2005). En nuestro estudio, la concentración de licopeno fue la forma más representada de todos los carotenoides analizados, suponiendo un 85-90% del total de estos compuestos con valores máximos en MN y MNP durante ambos años de cultivo (Tabla 8; Figura 17D).

Otro de los carotenoides importante en fruto de tomate pero relegado por el licopeno en orden de importancia es el β -caroteno (Rao y Agawa, 2000). Los niveles más altos de β -caroteno acontecieron en los tratamientos MN y MNP con incrementos del 28% y del 50% frente a M en 2010 y 2011, respectivamente (Figura 17B).

Los efectos beneficiosos sobre la salud del fruto de tomate y de los productos derivados de éste, han sido atribuidos a su contenido en licopeno (Ilić *et al.*, 2012), al ser catalogado como el fitonutriente fundamental en la calidad nutricional final y valor comercial en fruto de tomate (Dumas *et al.*, 2003). Resultados obtenidos por Raffo *et al.* (2006) indicaron que altas temperaturas en zonas del área Mediterránea durante el verano (superiores a 30 °C) tienen un efecto negativo en la acumulación de licopeno. Rosales *et al.* (2006) postularon que esta reducción de licopeno estuvo asociada a un incremento en la peroxidación lipídica en frutos de tomate *cherry* sometidos a altas temperaturas. Sin embargo, Dumas *et al.* (2003) demostraron que esta reducción de licopeno se debió a la exposición de temperaturas supraóptimas de su síntesis (30-35 °C) y/o una fuerte radiación solar que estimularon su oxidación a β -caroteno. En nuestro

trabajo, la acción de los factores ambientales luz y temperatura superaron dichos rangos durante todo el período de estudio (Tabla 8), sin embargo, la concentración de licopeno y β -caroteno se vieron beneficiadas por la reducción de la integral de radiación diaria (del 37% en 2010 y del 28% en 2011) y/o del DPV (en 0,3 kPa en ambos ciclos) tras el uso de la pantalla plástica junto con la nebulización en un cultivo de tomate *cherry* durante el verano en el área Mediterránea.

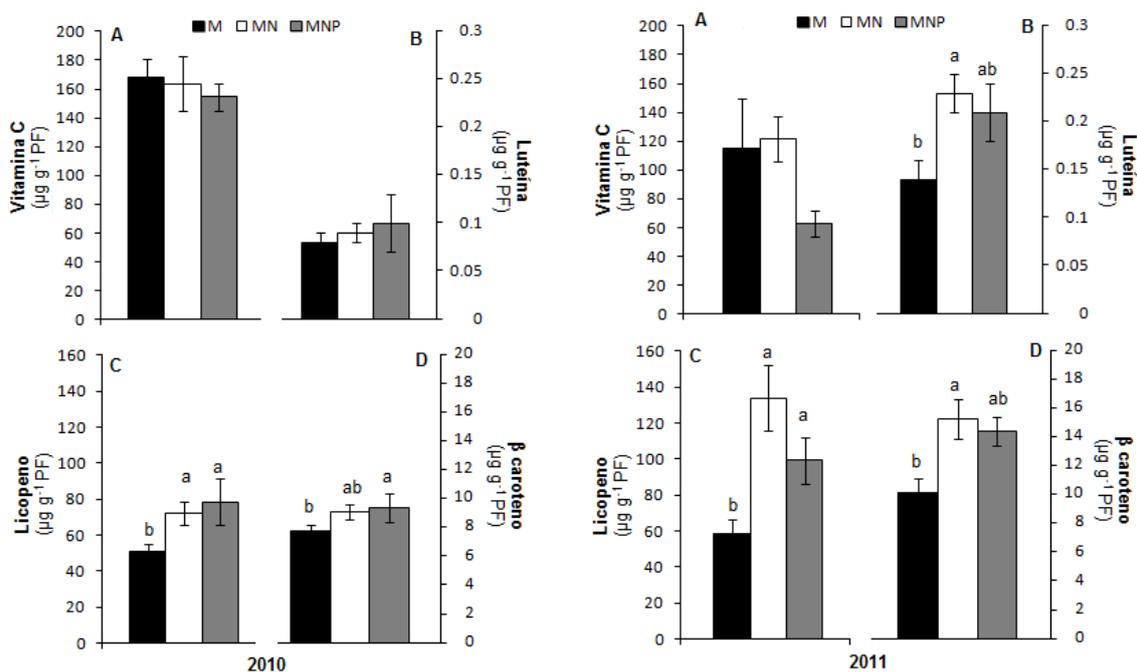


Figura 17. Concentraciones de vitamina C (A), luteína (B), licopeno (C) y β -caroteno (D) en fruto de tomate bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) durante los ciclos de cultivo 2010 y 2011. Las barras verticales indican \pm SE de los valores medios. Diferencias entre medias se compararon usando el test de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) para $P = 0,05$. Medias seguidas por la misma letra no tienen diferencia significativa.

6.2. Concentración de compuestos fenólicos

Fitonutrientes como vitamina C, carotenoides (luteína, licopeno y β caroteno) y compuestos fenólicos en tomate están fuertemente condicionados por la intensidad, duración y calidad de la luz (Dorais *et al.*, 2008). De esta forma, la producción y acumulación de flavonoides y otros fenilpropanoides se ve estimulada por la radiación

UV para proteger a los tejidos celulares del daño derivado de ésta (Dixon y Paiva, 1995).

Debido a la alta diversidad de compuestos de naturaleza fenólica, en este estudio los compuestos fenólicos analizados fueron definidos por la concentración de flavonoides y glicósidos, derivados del ácido hidroxicinámico y otros y se representa en la Tabla 17.

Tabla 15. Flavonoides y glicósidos, derivados del ácido hidroxicinámico, otros derivados fenólicos y el total de compuestos fenólicos en fruto de tomate bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) durante los ciclos de cultivo 2010 y 2011.

Tratamiento	Flavonoides y glicósidos	Derivados del ácido hidroxicinámico		Total
	(mg g ⁻¹ PS)	hidroxicinámico	Otros	
Ciclo 201				
M	2,06±0,15 a ^a	2,47±0,05 b	0,24±0,02 a	4,78±0,23 a
MN	2,14±0,15 a	2,67±0,08 a	0,23±0,02 a	5,01±0,28 a
MNP	2,19±0,18 a	2,48±0,05 b	0,23±0,02 a	4,88±0,20 a
Pvalor ^b	ns	*	ns	ns
LSD _{0,05}	0,32	0,13	0,02	0,69
Ciclo 2011				
M	2,81±0,25 a	2,86±0,11 a	1,25±0,07 a	6,92±0,31 a
MN	2,38±0,13 a	2,98±0,11 a	1,19±0,03 a	6,55±0,24 a
MNP	1,88±0,09 b	2,44±0,05 b	1,04±0,05 b	5,37±0,12 b
Pvalor	***	***	**	***
LSD _{0,05}	0,13	0,13	0,11	0,15
Análisis de la varianza				
Tratamiento (T)	ns	**	***	***
Ciclo (C)	ns	**	*	**
T X C	**	*	*	***

^aLas diferencias entre medias se compararon usando el test de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) seguidas por ± SE.

^bLos niveles de significación se expresaron como * P <0,05, ** P <0,01, *** P <0,001, y ns (no significativo), P > 0,05.

La concentración de flavonoides y glicósidos en 2010 no fue significativa en ninguno de los tratamientos estudiados. Sin embargo, durante 2011, dicha concentración mostró mínimos en MNP (reducción del 33% respecto a M). En ambos ciclos la acumulación de compuestos fenólicos derivados del ácido hidroxinámico presentaron los niveles más

bajos en MNP, donde los valores máximos de radiación global diaria durante el período de funcionamiento del sistema de refrigeración fue reducida en un 40% y 30%, en 2010 y 2011, respectivamente (Tabla 8). La existencia de otros compuestos fenólicos no caracterizados pero definidos como ácidos fenólicos en este estudio, tuvieron una mayor concentración en los tratamientos M y MN de estos compuestos frente a MNP. La suma total de compuestos fenólicos sólo mostró diferencias significativas en 2011 con valores mínimos en MNP, con reducciones próximas al 20% respecto al resto de tratamientos climáticos. Los derivados del ácido hidroxicinámico fueron los compuestos fenólicos más representados de todos los fenoles analizados en muestras de tomate.

La pantalla plástica en el tratamiento MNP proporciona una cubierta que, además de reducir la radiación solar incidente, procuró una mejor distribución de la radiación difusa dentro del invernadero de malla (Healey *et al.*, 1998). Esto podría explicar por qué los valores de la concentración de antioxidantes (vitamina C, luteína, licopeno, β -caroteno y compuestos fenólicos) fueron más altos bajo condiciones sombreadas frente a las que no lo fueron (M y MN) (Tabla 8; Figura 17; Tabla 15).

6.3. Concentración de azúcares

Los azúcares reductores, fructosa y glucosa, representan un alto porcentaje de la materia seca y junto con sacarosa suponen más del 95% de los azúcares totales en el tomate (Ciruelos *et al.*, 2007). Por esta razón, la concentración de azúcares solubles fue analizada tras la determinación de sacarosa, glucosa y fructosa en fruto de tomate para ambos ciclos y se representa en la Figura 18.

MNP mostró las concentraciones más bajas de sacarosa con reducciones en torno al 10% durante ambos ciclos del cultivo. De igual manera, las concentraciones de los monosacáridos glucosa y fructosa volvieron a mostrar las concentraciones más bajas en MNP con reducciones entre el 11%-14% respecto a M, en ambos ciclos en el caso de glucosa y del 31% y 13% en 2010 y 2011, respectivamente para la concentración de fructosa.

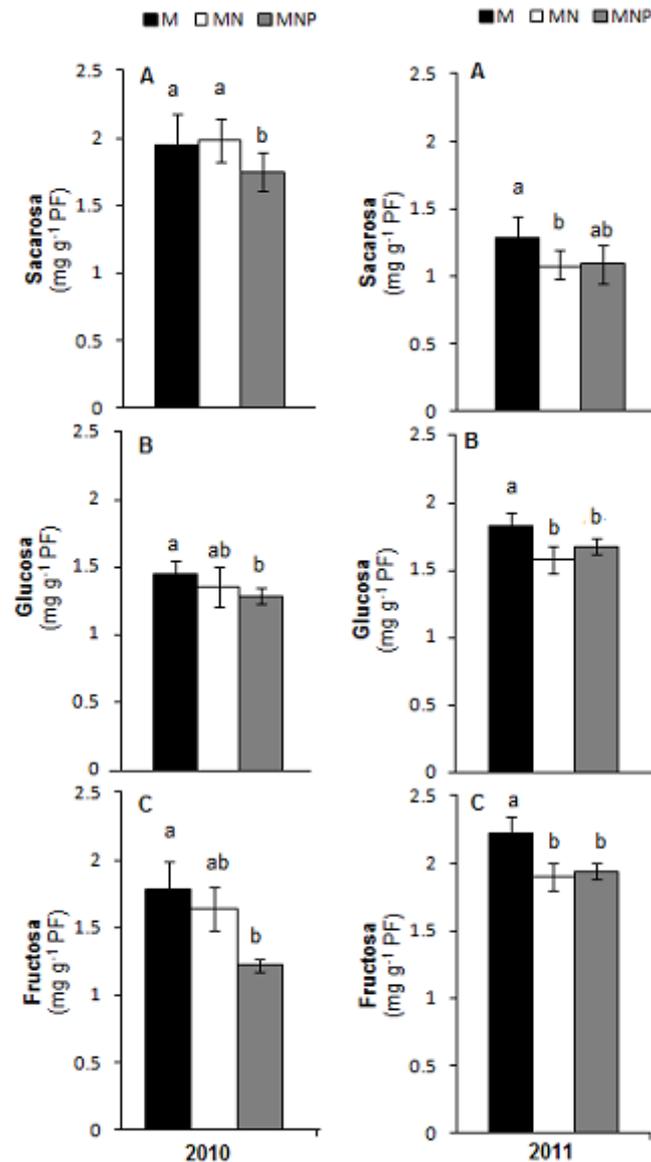


Figura 18. Concentración de sacarosa (A), glucosa (B) y fructosa (C) en fruto de tomate bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) durante los ciclos de cultivo 2010 y 2011. Las barras verticales indican \pm SE de los valores medios. Diferencias entre medias se compararon usando el test de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) para $P = 0,05$. Medias seguidas por la misma letra no tienen diferencia significativa.

Existió una mayor actividad sucrolítica en 2011 hacia la acumulación de azúcares simples. La concentración de sacarosa se redujo a la mitad respecto a la concentración relativa de azúcares totales analizados desde 2010 a 2011 pasando de un 40% a un 20% respectivamente, esto hizo que el balance de glucosa: fructosa, pasara de un 30:30 en 2010 a un 45:35 en 2011 (Figura 18B, 18C). De esta manera la concentración de las hexosas, glucosa y fructosa aumentó en todos los tratamientos mostrando picos de

concentración en M, denotando una mayor degradación de este disacárido hacia sus polialcoholes constituyentes (Figura 18B, 18C). La cantidad e intensidad de luz durante el período de crecimiento afecta al contenido de azúcares en fruto, al igual que vitamina C y flavonoides entre otros compuestos, ya que su síntesis depende de su formación a través del proceso fotosintético (Dorais *et al.*, 2008). La degradación de este disacárido pudo deberse a que la reducción de la radiación en MN y MNP respecto a las condiciones no climatizadas supuso un factor limitante en la fotosíntesis y por tanto, en la generación de estos azúcares, o por el contrario, podría considerarse como un proceso adaptativo de los frutos bajo condiciones no nebulizadas con el fin de favorecer la retención de agua en condiciones de estrés hídrico debido al papel osmorregulador de éstos (DPV_{max} de 3,6 kPa) (Tabla 8; Figura 18). Esto explicaría el porqué es característico un aumento en la concentración de azúcares durante los meses de verano en los invernaderos mediterráneos.

6.4. Concentración de ácidos orgánicos

La acumulación de ácidos orgánicos como el ácido cítrico o málico, es importante en la respuesta metabólica y determinan las propiedades organolépticas de los frutos. La respuesta de ambos ácidos orgánicos ante los distintos tratamientos climáticos se encuentra reflejada en la Tabla 16.

La concentración de ácido cítrico fue menor en MNP durante ambos ciclos de cultivo en las muestras de tomate analizadas, con una disminución del 9% y 13% respecto a M en 2010 y 2011, respectivamente (Tabla 16). Sin embargo, la concentración de ácido málico no estuvo influenciada por los tratamientos climáticos estudiados, al no presentar diferencias significativas entre ellos durante ambos ciclos.

En condiciones normales, la concentración de ácido cítrico se encuentra en mayor concentración que la de ácido málico (Krumbein y Schwarz, 2013), sin embargo, es este último el que confiere un sabor más ácido que el anterior (De Bryun *et al.*, 1971). Aunque no existen diferencias en la concentración de ácido málico, sí existe un aumento de éste respecto al ácido cítrico en sus concentraciones relativas en su composición general, lo que podría causar que la calidad de frutos cosechados durante el verano estén caracterizados por una alta acidez en su composición (Tabla 16) (Serino *et al.*, 2009).

Tabla 16. Concentraciones de ácido málico y ácido cítrico en fruto de tomate bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) durante los ciclos de cultivo 2010 y 2011.

Tratamiento	Ácido cítrico (mg g ⁻¹ PF)	Ácido málico (mg g ⁻¹ PF)
Ciclo 2010		
M	0,73±0,03 a	0,82±0,02
MN	0,73±0,03 a	0,80±0,02
MNP	0,66±0,03 b	0,77±0,02
Pvalor	*	ns
LSD _{0,05}	0,06	0,04
Ciclo 2011		
M	0,67±0,05 a	0,58±0,05
MN	0,69±0,03 a	0,69±0,03
MNP	0,58±0,03 b	0,58±0,03
Pvalor	*	ns
LSD _{0,05}	0,09	0,10
Análisis de la varianza		
Tratamiento (T)	***	ns
Ciclo (C)	*	***
T X C	ns	ns

^aLas diferencias entre medias se compararon usando el test de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) seguidas por ± SE.

^bLos niveles de significación se expresaron como * P <0,05, ** P <0,01, *** P <0,001, y ns (no significativo), P > 0,05.

6.5. Relación azúcar: ácido e índice de dulzor

El parámetro más importante en la calidad organoléptica de los frutos de tomate es el sabor, producido principalmente por una combinación de azúcares y ácidos orgánicos, que determinan los sabores dulce y ácido respectivamente (Salles *et al.*, 2003). En el sabor dulce, la fructosa tiene una mayor importancia que la glucosa, y en la acidez es el ácido cítrico el que destaca en relación al ácido málico (Rosales *et al.*, 2011). La Figura 19 muestra la influencia de los cambios en las condiciones ambientales generadas por las distintas estrategias de control climático en la relación azúcar: ácido y el índice de dulzor en frutos de tomate *cherry*.

Los valores más altos para la relación azúcar: ácido en frutos de tomate *cherry* correspondieron al tratamiento M durante ambos ciclos de cultivo. En cuanto al índice

de dulzor disminuyó en un 24% y 12% en frutos cultivados en MNP respecto al máximo registrado en frutos bajo M durante 2010 y 2011, respectivamente.

De los resultados obtenidos en este estudio se podría concluir que el aumento en los ácidos debe estar acompañado por un incremento en la concentración de azúcares (preferiblemente fructosa), para obtener frutos con una mayor calidad organoléptica.

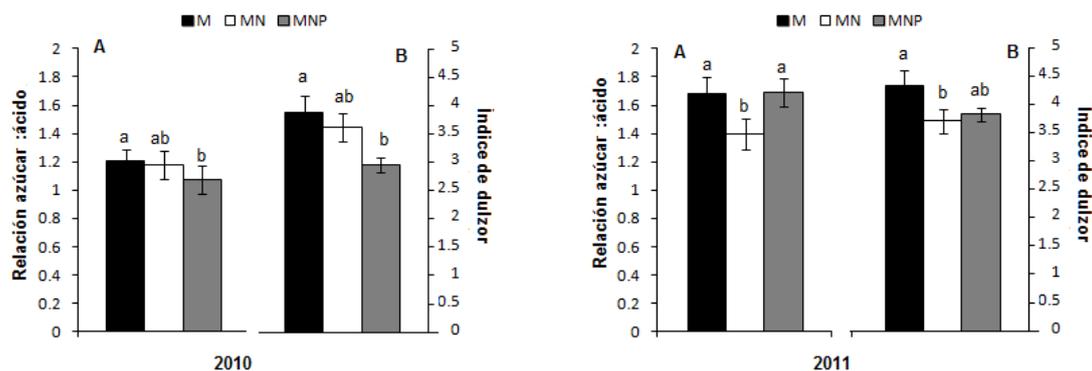


Figura 19. Relación azúcar: ácido (A) e índice de dulzor (B) en fruto de tomate bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) durante los ciclos de cultivo 2010 y 2011. Las barras verticales indican \pm SE de los valores medios. Diferencias entre medias se compararon usando el test de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) para $P = 0,05$. Medias seguidas por la misma letra no tienen diferencia significativa.

6.6. Nutrientes

Otros elementos importantes en el valor nutritivo del fruto de tomate y esenciales para la salud humana son los minerales (Levander, 1990). Entre las que destacan el correcto funcionamiento muscular, por parte del K, o la formación y mantenimiento de los huesos y dientes, así como en la transmisión del impulso nervioso, excitabilidad neuronal y la coagulación sanguínea, por parte del Ca que también forma parte en el control de los procesos de transporte en las membranas celulares. Otro de los minerales es el Mg, que entre sus principales funciones destacan la activación de vitaminas, enzimas, la formación de estructuras óseas y dentales, proteínas y anticuerpos, el mantenimiento de la viscosidad del líquido sinovial y la ayuda en el metabolismo de síntesis de los lípidos.

La Tabla 17 muestra las concentraciones de macronutrientes y micronutrientes, más importantes en la composición nutricional de frutos de tomate *cherry* sometidos a distintas condiciones ambientales.

Tabla 17. Concentraciones de macronutrientes (N, P, K, Ca y Mg) y micronutrientes (Fe, Mn y Zn) en fruto de tomate bajo invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) durante los ciclos de cultivo 2010 y 2011. Las barras verticales indican \pm SE de los valores medios. Diferencias entre medias se compararon usando el test de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) para $P = 0,05$. Medias seguidas por la misma letra no tienen diferencia significativa.

Tratamiento	K (mg g ⁻¹ PS)	Ca (mg g ⁻¹ PS)	Mg (mg g ⁻¹ PS)	Fe (μg g ⁻¹ PS)	Mn (μg g ⁻¹ PS)	Zn (μg g ⁻¹ PS)
Ciclo 2010						
M	37,66±1,01 a ^a	1,36±0,26 a	1,07±0,05 a	24,83±2,50 a	5,28±0,21 a	15,11±0,72 a
MN	36,42±0,87 a	1,22±0,43 a	1,05±0,05 a	24,00±3,05 a	5,83±0,26 a	12,17±0,46 b
MNP	36,70±1,16 a	1,42±0,44 a	0,95±0,03 a	20,56±0,93 a	5,83±0,30 a	14,06±0,76 a
Pvalor	ns	ns	ns	ns	ns	**
LSD _{0,05} ^b	2,90	1,09	0,13	6,64	0,74	1,88
Ciclo 2011						
M	29,84±1,42 b	3,89±0,54 a	1,10±0,07 a	32,44±2,84 a	9,78±0,94 a	14,17±1,92 a
MN	33,70±1,36 a	3,95±0,45 a	1,25±0,14 a	29,89±2,35 a	10,50±0,75 a	14,56±1,59 a
MNP	33,83±1,00 a	4,27±0,79 a	1,10±0,10 a	26,50±3,00 a	10,28±1,46 a	12,17±1,11 a
Pvalor	*	ns	ns	ns	ns	ns
LSD _{0,05}	3,61	1,73	0,30	7,79	4,47	4,47
Análisis de la varianza						
Tratamiento (T)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Ciclo (C)	***	***	ns	**	**	ns
T x C	*	ns	ns	ns	ns	ns

^aLas diferencias entre medias se compararon usando el test de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) seguidas por \pm SE.

^bLos niveles de significación se expresaron como * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, y ns (no significativo), $P > 0,05$.

Ninguno de los tratamientos analizados durante los dos ciclos de cultivo tuvo ningún efecto sobre la concentración de estos nutrientes en muestras de tomate *cherry*, salvo la concentración de K que durante 2011, los tratamientos MN y MNP mostraron las máximas concentraciones, superiores en un 13% a las alcanzadas por M. En este tratamiento y especialmente en 2011, cuando el cultivo estuvo expuesto a altos valores de DPV_{max} , ET_c y $CWSI$, se produjo una reducción en el transporte de agua junto con

nutrientes al fruto, como consecuencia del estrés generado bajo el invernadero desprovisto de control climático (Leonardi *et al.*, 2000; Rosales *et al.*, 2011).

Una de las fisiopatías más documentadas en fruto es la podredumbre apical, debida que se debe a la deficiencia de Ca y a su bajo transporte desde la hoja al fruto, manifestándose necrosis en su extremo más apical, favorecida por una humedad relativa elevada y por tanto muy atribuida al uso de sistemas de nebulización (Montero, 2006). La concentración de este nutriente en fruto va ligada al flujo de agua desde la raíz, por eso esta fisiopatía aparece normalmente en verano, coincidiendo con la producción de frutos pequeños y con un alto porcentaje de peso seco (Bertin *et al.*, 2000). Así, Max *et al.* (2009) coincide que el aumento en HR por el uso de un sistema de evaporación de agua, mejora tanto el contenido hídrico del fruto, como su composición en Ca frente a condiciones de ventilación natural. Por el contrario, según Bradfield y Guttridge (1984) es la HR durante la noche (más que la diurna), el parámetro ambiental decisivo para el incremento en el transporte de Ca hacia el fruto. No se observaron pérdidas debidas a la aparición de esta alteración en frutos de tomate durante ambos ciclos, porque el uso de sistemas de nebulización no modificó el patrón de distribución de este nutriente al fruto, al no existir diferencias entre tratamientos.

La calidad del tomate y sus propiedades para la salud no sólo se ven afectadas por la composición de compuestos como vitamina C, licopeno, β -caroteno y polifenoles, o por la composición de macronutrientes K, Ca y Mg, sino también por la de micronutrientes tales como Fe, Mn y Zn (Lavelli *et al.*, 2000; Tyssandier *et al.*, 2004). Estos micronutrientes al ser cofactores de enzimas antioxidantes, juegan un papel clave en los mecanismos de protección al eliminar los radicales libres. Por esta razón, tienen una función muy importante en la prevención de enfermedades crónicas, incluyendo el cáncer, las enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares, el asma, y también intervienen en la mejora de la respuesta inmune (McDermontt, 2000). En nuestro trabajo, ninguno de los tratamientos analizados durante los dos ciclos de cultivo tuvo algún tipo de influencia sobre la concentración de estos nutrientes en muestras de tomate *cherry*, salvo en 2010, en la concentración de Zn, donde M y MNP alcanzaron las máximas concentraciones para este nutriente frente a MN que fueron mínimas.

Taiz y Zeiger (2002) y Katsoulas *et al.* (2009) describieron que una reducción en el DPV en el invernadero disminuye la traslocación de nutrientes al fruto. Esto puede

explicar que a pesar de partir con los valores más altos de K, Ca y Mn en hoja, los frutos bajo MNP no reflejaron un aumento en la concentración final de estos nutrientes en ambos ciclos (excepto para K en 2010 que no mostraron diferencias significativas entre tratamientos) (Tabla 8; Figura 8; Figura 9; Tabla 17). Existió una diferencia en la concentración de K y Ca entre ciclos, con un aumento significativo en 2011. Gracias al papel osmorregulador desempeñado por estos compuestos (Zhu, 2003; Munns y Tester, 2008), su incremento en la composición del fruto, ayudó a mejorar el balance hídrico y por tanto, el peso medio del fruto en un 17% más respecto a 2010, siendo otra posible explicación, además de el número de frutos por planta (Tabla 3), del aumento del rendimiento del cultivo durante el último ciclo de producción (Figura 10).

Los factores ambientales pueden afectar al contenido de antioxidantes en fruto de tomate (Raffo *et al.*, 2006). Dannehl *et al.* (2012) demostraron que el metabolismo secundario era potenciado en fruto de tomate a través de diferentes estrategias de control climático. No obstante, no pudo detallar qué parámetro ambiental del microclima generado por el sistema de refrigeración tenía mayor influencia en el aumento de la biosíntesis de carotenoides y compuestos fenólicos. En este estudio, parece ser que la HR y T^a máximas tuvieron un efecto sinérgico entre ambas y antagónico con la radiación solar en relación a la concentración para la mayor parte de los compuestos analizados en las muestras de tomate *cherry* y su comportamiento siguió la misma tendencia en los dos ciclos. Así, la concentración de compuestos antioxidantes como luteína, licopeno y β -caroteno disminuyó tras la exposición a una radiación solar mayor. Es decir, la reducción en la radiación solar incidente fue el factor determinante en la mejora de la concentración de antioxidantes en frutos de tomate aumentando su calidad nutricional (Tabla 8; Figura 17), quizás porque aunque la radiación solar incidente se viera reducida, pudo ser la radiación difusa la que favorecida por el uso de una cubierta plástica, tuviera este efecto positivo sobre la acumulación de vitamina C, luteína, licopeno y β -caroteno (Leyva *et al.*, 2014). Numerosos estudios corroboran que la intensidad, duración y calidad de la radiación tiene un fuerte efecto sobre la concentración de fitonutrientes como vitamina C, carotenoides y fenoles en fruto de tomate (Dorais *et al.*, 2008; Ilić *et al.*, 2012). Rosales *et al.* (2006) obtuvieron una menor concentración de carotenoides como el licopeno, en respuesta a un aumento de la peroxidación lipídica como consecuencia del aumento de la radiación bajo un cultivo protegido de tomate en verano en áreas del Mediterráneo. Por otra parte, la HR tuvo un

importante papel en la disminución en la concentración de azúcares como la glucosa y fructosa, y en la concentración de ácidos cítrico y málico a media que aumentaba este parámetro climático de manera más pronunciada en 2010 (Tabla 8; Tabla 16; Figura 18). De acuerdo con Leonardi *et al.* (2000) pudo deberse al aumento en el contenido hídrico medio del fruto, que hizo que las concentraciones de estos azúcares así como su contenido en peso seco disminuyera en condiciones de bajo DPV (alta HR) (Leyva *et al.*, 2014) (Tabla 3; Figura 18B, 18C). La HR también pudo beneficiar el patrón de distribución y movilidad de algunos micronutrientes como el Fe, Zn y Mn viéndose favorecida su traslocación hacia el fruto, presentando una menor concentración de estos minerales en hoja (Figura 9; Tabla 17).

En resumen, el uso de la pantalla plástica sobre el sistema de nebulización aumentó la humedad relativa ambiental, que afectó negativamente a la calidad organoléptica de los frutos de tomate *cherry*, contribuyendo a la reducción de los parámetros de relación azúcar: ácido e índice de dulzor, a pesar de influir negativamente sobre el contenido de ácido cítrico. Por otra parte, la pantalla pudo incrementar el uso eficiente de la radiación al enriquecer la radiación difusa sobre la radiación directa favoreciendo la concentración de antioxidantes en oposición a numerosos estudios que describen a la exposición a una mayor radiación solar como causa potencial de la concentración de vitamina C (Lee y Kader, 2000; Dumas *et al.*, 2003), carotenoides (Dorais *et al.*, 2008) o compuestos fenólicos (Dixon y Piva, 1995; Dorais *et al.*, 2008). Este hecho pudo contribuir a que la concentración de la mayoría de fitonutrientes analizados no difiriera significativamente entre los tratamientos nebulizados MN y MNP, presentando ambos tratamientos climáticos un comportamiento muy similar en relación a la calidad nutricional y organoléptica de los frutos de tomate *cherry*.

7. Análisis de los costes de producción de un cultivo de tomate cherry sometido a distintos sistemas de control climático en un invernadero de malla

El sector hortícola disfruta de numerosos avances tecnológicos como la adquisición de sistemas para el control climático. Esta evolución ha de ser analizada desde el punto de vista económico, con el fin de posicionar el nivel óptimo en el que se ha de situar la tecnología de cultivo para garantizar su viabilidad (de-Miguel *et al.*, 2009).

En este trabajo se evalúa la viabilidad económica de una explotación de cultivo de tomate *cherry* bajo malla con diferentes sistemas de control climático durante los meses de Mayo a Octubre en la Vega de Granada.

Para el estudio de viabilidad económica de una explotación tipo, se cuantifican todos los costes de los insumos del proceso productivo: inversión inicial, costes variables anuales y costes fijos anuales (Alonso y Serrano, 2000).

En la inversión inicial se tuvieron en cuenta la adquisición de la tierra, la construcción del invernadero y de los equipamientos complementarios y la instalación de riego con un cabezal automatizado (Tabla 18). Al asumir que la tierra es propiedad del agricultor, la inversión inicial descendería un 43%, un 37% y un 30% para M, MN y MNP, respectivamente (Tabla 20). La innovación tecnológica que supuso la adquisición de un sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) fue un 47% superior a la inversión en un invernadero de malla sin equipamiento de control climático.

Tabla 18. Inversión inicial en € ha⁻¹ para cada uno de los tratamientos.

INVERSIÓN	M (€ ha ⁻¹)	MN (€ ha ⁻¹)	MNP (€ ha ⁻¹)
Terreno	70.000	70.000	70.000
Invernadero de malla	50.000	50.000	50.000
Instalación de riego	40.000	40.000	40.000
Instalación de nebulización		25.000	25.000
Pantalla plástica			50.000
TOTAL	160.000	185.000	235.000

El coste total asociado a cada tratamiento fue más elevado en MNP, debido principalmente a un aumento en los costes derivados de la instalación del equipamiento climático, incrementando un 53% los costes fijos del invernadero de malla sin ningún tipo de control climático.

Dentro de los costes variables, la mano de obra supuso más del 50%, constituyendo la partida más importante de costes, seguidos por la planta injertada que se contabilizó alrededor del 29-30% de dichos costes. Por ello, en el cultivo de tomate, tiene especial importancia la mano de obra familiar, que incluye al propietario y familiares, alcanzando el 40% de la mano de obra total, frente a un 60% de mano de obra

asalariada, según el análisis de rentabilidad elaborado por la Consejería de Agricultura y Pesca (2013). En este estudio la viabilidad de la explotación va a depender en gran medida de la disponibilidad de mano de obra familiar.

Como queda reflejado en MNP, un mayor nivel tecnológico supuso un mayor coste final, que no se tradujo en un mayor grado en la intensificación del cultivo. Así, un desembolso en los costes totales del 24% frente al invernadero de malla sin ningún equipamiento climático, no se convirtió en un aumento de producción de tomate *cherry*, y por tanto, de los ingresos en la explotación.

Tabla 19. Costes variables (sin costes de oportunidad) de un invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) referidos a una hectárea de superficie para un cultivo de tomate *cherry*.

	M	MN	MNP
	(€ ha ⁻¹)	(€ ha ⁻¹)	(€ ha ⁻¹)
1. COSTES VARIABLES	59.011	58.682	57.182
1.1. Materias primas	29.386	28.307	28.307
1.1.1. Semillas y plantas	17.000	17.000	17.000
1.1.2. Productos fitosanitarios	2.029	2.029	2.029
1.1.3. Lucha biológica	2.090	2.090	2.090
1.1.4. Fertilizaciones	2.252	1.308	1.308
1.1.5. Otros (rafia, polifibril)	1.690	1.690	1.690
1.1.6. Gastos de energía	4.325	4.190	4.190
1.2. Mano de obra	29.625	30.375	28.875
1.2.1. Aplicación de fitosanitarios	2.625	2.625	2.625
1.2.2. Labores, eliminar plantas y otros	2.400	2.400	2.400
1.2.3. Poda y entutorar	16.650	16.650	16.650
1.2.4. Plantación	450	450	450
1.2.5. Recolección	7.500	8.250	6.750
2. COSTES FIJOS	10.700	13.200	16.400
2.1. Amortizaciones invernadero	2.000	2.000	2.000
2.2. Amortiz. recubrimiento de la malla/plástico	200	200	900
2.3. Amortización cabezal de riego	8.000	8.000	8.000
2.4. Amortización nebulización		2.500	2.500
2.5. Amortización de la pantalla			2.500
2.6. Impuestos y seguros	500	500	500
3. TOTAL DE COSTES (sin c.o.)	69.711	71.882	73.582

Para el cálculo de los ingresos percibidos, se han tenido en cuenta las producciones comerciales medias de ambos ciclos en los tres tratamientos estudiados (Figura 10C; Figura 10D). Los precios de origen utilizados son los valores medios de las campañas 2010/ 2011 y 2011/ 2012 (Figura 20). Para las campañas en las que se desarrolló el cultivo, el precio medio del kg de tomate *cherry* se estimó en 1,18 y 1,05 euros, respectivamente, atendiendo a los períodos de producción que se comprenden entre los meses de Septiembre y Julio (Consejería de Agricultura y Desarrollo Rural, 2013).

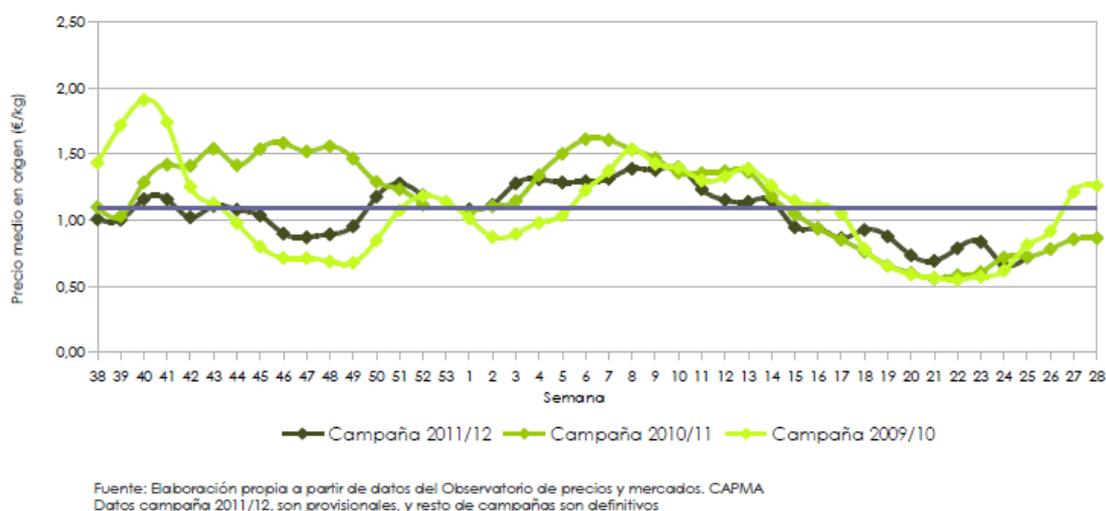


Figura 20. Evolución semanal de los precios medios en origen del tomate *cherry*. Fuente: *Consejería de Agricultura y Desarrollo Rural, 2013.*

Actualmente, el aumento medio de las temperaturas en gran parte de Centroeuropa durante el verano, ha acelerado la producción de los cultivos y se está adelantando el final de la campaña hortícola. Los Países Bajos y Reino Unido por ejemplo, han reducido de forma considerable su producción propia en estas fechas y está demandando producto español con mayor precocidad de lo habitual, situación que unida a los reducidos volúmenes ofertados desde Almería y Granada, propios de inicio de campaña hortícola intensiva del litoral, ha favorecido un incremento considerable de los precios respecto a la campaña 2009/ 2010 (Consejería de Agricultura y Desarrollo Rural, 2013). Este hecho posibilitaría que el uso de invernaderos de malla, equipados o no con sistemas de refrigeración (estos últimos ayudarían a la reducción de la producción no comercial del cultivo de tomate *cherry*), fuera una alternativa viable para la comercialización de tomate *cherry* durante los meses donde la carencia del producto es máxima en el mercado.

Tras el cálculo de los costes totales de los tres tratamientos se determinó el análisis de rentabilidad que figura en la Tabla 20.

Tabla 20. Ingresos, costes, margen unitario y umbral de rentabilidad (UR) de un invernadero de malla (M), invernadero de malla con sistema de nebulización (MN) e invernadero de malla con sistema de nebulización y pantalla plástica (MNP) referidos a una hectárea de superficie para un cultivo de tomate *cherry*.

	M	MN	MNP
Producción media (Kg ha ⁻¹)*	66.270	68.527	60.296
Precio medio (€ Kg ⁻¹)*	1,11	1,11	1,11
Ingresos totales (€ ha ⁻¹)*	74.205	75.974	66.820
Costes variables (€ ha ⁻¹)	59.011	58.682	57.182
Costes fijos (€ ha ⁻¹)	10.700	13.200	16.400
Costes totales (€ ha ⁻¹)	69.711	71.882	73.582
Inversión invernadero y complementos (€ ha ⁻¹)	90.000	115.000	165.000
Margen bruto (€ ha ⁻¹)	15.194	17.292	9.638
Ganancia (€ ha ⁻¹)	4.494	4.092	-6.792
Coste medio variable (€ kg ⁻¹)	0,89	0,85	0,95
Margen unitario (€ kg ⁻¹)	0,22	0,26	0,16
UR (kg ha ⁻¹)	48.636	50.769	102.500

* Valores medios de los ciclos productivos en los que se desarrolló el estudio.

La diferencia que se observa entre margen bruto y ganancia para los distintos tratamientos pone de manifiesto los altos costes fijos, especialmente en MNP, cuyos valores llegan a ser negativos.

El coste medio variable es la inversión realizada por el agricultor por kg de tomate *cherry* producido. MNP presentó el mayor coste de producción por kg de género (un 7% y un 12% superior a M y MN, respectivamente), presumiéndose el menor margen de beneficio (Tabla 20).

El margen unitario se calcula como la diferencia entre el precio medio ponderado del período productivo y el coste medio variable (Muñiz, 2012). En los tratamientos M y MN obtendrían unos beneficios de 0,22 y 0,26 € por kg de tomate *cherry* producido por los 0,16 € kg⁻¹ de MNP. Los beneficios de todos los tratamientos son superiores a los logrados en un cultivo de tomate de larga vida cuyo beneficio oscila entre 0,15 € kg⁻¹ para la campaña 2012/ 2013 (Consejería de Agricultura y Pesca, 2013).

Cuando se alcanza el umbral de rentabilidad, es decir, una vez obtenido el nivel de producción en el que se igualan costes e ingresos, el beneficio es nulo; por debajo de dicho nivel de producción, el sistema de cultivo incurriría en pérdidas (Muñiz, 2012). Es el caso del tratamiento MNP, donde sería necesaria obtener una producción de 102.500 kg ha⁻¹ para poder empezar a conseguir beneficio, sin embargo, la producción media del ciclo se estableció en 60.296 kg ha⁻¹, de ahí que exista un valor negativo de ganancia. Por el contrario, los tratamientos M y MN presentan una producción por encima de este umbral.

Para el cultivo de tomate *cherry* cultivado en los meses de Mayo a Octubre en la Vega de Granada, el tratamiento M, resultó aconsejable desde un punto de vista económico, por presentar un inversión inicial menor y, gracias a una producción intermedia (sólo superada por MN), generar una mayor ganancia por un menor umbral de rentabilidad. Sin embargo, el tratamiento MN, además de presentar un nivel de rentabilidad similar a M, obtuvo una producción mayor (Tabla 20) y de mejor calidad nutricional (Tabla 15; Figura 16; Figura 18). Según Romero-Gómez *et al.* (2012), MN podría ser un sistema de cultivo más sostenible desde el punto de vista ambiental presentando un menor impacto al mostrar un determinado aumento de producción respecto al resto de tratamientos (Tabla 20). Por el contrario, el tratamiento MNP se consideró el sistema de cultivo menos rentable de los estudiados al obtener un umbral de rentabilidad superior a la producción del cultivo (Tabla 20). Esto fue debido principalmente al coste de inversión del 83% superior al invernadero de malla sin equipar y al desembolso del 53% en costes fijos. Además, pese a ser el tratamiento más tecnificado, no se manifestó un aumento de la producción de tomate *cherry*.

V. CONCLUSIONES



1. La disposición de la pantalla plástica durante el funcionamiento del sistema de nebulización mejoró el microclima bajo el invernadero de malla al reducir la integral de radiación, mantener las condiciones higrométricas proporcionadas por el sistema de evaporación de agua y permitir la reducción del DPV máximo, aunque debido a su falta de ventilación, se produjeran incrementos en la temperatura máxima. Bajo estas condiciones, la planta sufrió una alteración de la carga de frutos, afectando a su número y peso medio. El aumento del peso fresco de los frutos, fue consecuencia de un mayor contenido hídrico y no de su materia seca, definido por bajos niveles en el índice de cosecha (IC). Esto le permitió a la planta favorecer el crecimiento vegetativo frente al generativo incrementando la superficie foliar y todos los índices relacionados con el desarrollo foliar como el índice de área foliar (*LAI*), el área foliar específica (*SLA*) y la razón de área foliar (*LAR*), repercutiendo negativamente sobre la tasa de asimilación neta (*NAR*) y por tanto a la tasa media del crecimiento del cultivo (*CGR*). Un *CGR* bajo, unido a una menor temperatura foliar y una menor evapotranspiración del cultivo mejoró el estado fisiológico, tras lograr una mayor absorción y transporte de N a la hoja.
2. El sistema de nebulización (MN) y el sistema de nebulización con pantalla plástica complementaria (MNP) no mejoraron el rendimiento del cultivo de tomate *cherry* bajo el invernadero de malla. Sin embargo, el uso de estos sistemas de refrigeración disminuyó la producción no comercial y aumentó el calibre medio del fruto. Aunque MN mejoró la productividad del agua de riego (IWP), el uso del sistema de nebulización (con y sin la extensión de la pantalla plástica durante su funcionamiento), no mostró un ahorro en el cómputo global del agua aplicada al cultivo, por lo que dichos sistemas no contribuyeron a mejorar el uso eficiente del agua (UEA) en ninguna de las categorías de eficiencia hídrica analizadas.
3. El efecto de los sistemas de refrigeración en MN y MNP sobre las enzimas del metabolismo oxidativo guaiacol peroxidasa (GPX), ascorbato peroxidasa (APX) y dehidroascorbato reductasa (DHAR) no fue estable, ya que dependió del tratamiento nebulizado y el ciclo analizados. Sin embargo, ambos tratamientos fueron eficaces frente a la peroxidación lipídica por la ausencia de variación en las concentraciones de MDA y H_2O_2 de sus frutos. La actividad superóxido dismutasa (SOD), el estado redox de ascorbato y por tanto de la capacidad antioxidante, además de la degradación de prolina hacia poliaminas libres parece ser la clave para una menor formación de H_2O_2 y daño oxidativo en MN. Sin embargo, la reducción de la radiación solar proporcionada

por la pantalla durante las horas de mayor insolación, pudo ser suficiente para la reducción en la concentración de estos indicadores de estrés, evitando la necesidad de la activación de la respuesta antioxidante.

4. La reducción en la radiación proporcionada por la pantalla en MNP, no afectó a la concentración de antioxidantes como luteína, licopeno y β -caroteno que lejos de disminuir mostró resultados similares al tratamiento MN. Esto pudo ser atribuido al enriquecimiento en radiación difusa favorecida por el uso de una cubierta plástica, que generó este efecto positivo sobre la acumulación de estos compuestos. Sin embargo, el incremento de la humedad relativa ambiental en MNP afectó negativamente a la calidad organoléptica de los frutos de tomate *cherry*, al reducir los parámetros de relación azúcar: ácido e índice de dulzor.

5. El aumento de los costes de producción que supondría la adquisición de una pantalla plástica sobre el sistema de nebulización en un invernadero de malla, superaría el umbral de rentabilidad del cultivo al no ir acompañado por un aumento productivo, haciendo que este sistema sea inviable económicamente para el agricultor.

Considerando todos los datos obtenidos en este trabajo de investigación se propone el uso de sistemas de refrigeración del tipo nebulización, sin la adquisición de una pantalla plástica durante su funcionamiento debido a su alto umbral de rentabilidad, para obtener producciones de tomate *cherry* de mayor rentabilidad y calidad nutricional bajo un invernadero de malla durante los meses de Mayo a Octubre en zonas de la región Mediterránea.

VI. BIBLIOGRAFÍA



-
- Abdel-Ghany AM, Al-Helal IM, Alzahrani SM, Alsadon AA, Ali IM, Elleithy RM.** 2012. Covering materials incorporating radiation-preventing techniques to meet greenhouse cooling challenges in arid regions. A review. *Scientific World J.* DOI: 101100/ 2012/906360.
- Abdel-Mawgould AMR, El-Abd SO, Stanghellini C, Böhme M, Abou-Hadid AF.** 2004. Sweet pepper crop responses to greenhouse climate manipulation under saline conditions. *Act. Hort.* 659: 431-437.
- Ackerson RC.** 1985. Osmoregulation in cotton in response to water stress Effects of phosphorus fertility. *Plant Physiol.* 77:309–312.
- Adams P, Ho LC.** 1992. The susceptibility of the modern tomato cultivars to blossom end rot in relation to salinity. *J. Hort. Sci.* 67: 827-839.
- Adams P, Ho LC.** 1993. Effects of environment on the uptake and distribution of calcium in tomato and on the incidence of blossom-end rot. *Plant Soil* 154: 127-132.
- Adams SR, Valdes VM, Cave CRJ, Fenlon JS.** 2001. The impact of changing light levels and fruit load on the pattern of tomato yield. *J. Hortic. Biotechnol.* 76: 368-374.
- Adegoroye AS, Jolliffe PA.** 1983. Some inhibitory effects of radiation stress on tomato fruit ripening. *J. Sci. Food Agric.* 39: 297-302.
- Alam SM.** 1999. Nutrient uptake by plants under stress conditions In: Pessarakli M (ed) Handbook of plant and crop stress. Marcel Dekker Incorporated, New York, pp 285–313.
- Alcázar R, Cuevas JC, Planas J, Zarza X, Bortolotti C, Carrasco P, Salina J, Tiburcio AF, Altabella T.** 2010. Integration of polyamines in the cold acclimation response. *Plant Sci.* 180: 31-38.
- Alcázar R, Marco F, Cuevas JC, Patrón M, Ferrando A, Carrasco P, Tiburcio AF, Altabella T.** 2006. Involvement of polyamines in plant response to abiotic stress. *Biotechnol. Lett.* 28: 1867–1876.
- Allen LH.** 1975. Shade-Cloth microclimate of soybeans. *Agron. J.* 67: 175-181.

- Almeselmani, M, Deshmukh PS, Sairam RK, Kushwaha SR, Singh TP.** 2006. Protective role of antioxidant enzymes under high temperature stress. *Plant Sci.* 171: 382-388.
- Alonso R, Serrano A.** 2000. Economía de la empresa agroalimentaria. Mundi-Prensa, Madrid.
- Añon S, Fernandez JA, Franco JA, Torrecillas A, Alarcón JJ, Sánchez-Blanco MJ.** 2004. Effects of water and night temperature preconditioning on water relations and morphological and anatomical changes of *Lotus creticus* plants. *Sci. Hortic.* 101: 333-342.
- Antón A, Montero JI, Muñoz P.** (2002). Necesidades de agua del cultivo de tomate en invernadero. Comparación con el cultivo al aire libre. In: Guijarro, J.A., Grimalt, M., Laita Ruiz M., Alonso, S. (Eds). *El agua y el clima*. pp 369-374. (ISBN: 84-7632-757-9).
- Antón A, Montero JI, Muñoz P, Pérez-Parra J, Baeza E, Soriano T, Escobar I, Hernández J, Castilla N.** 2006. Environmental and economic evaluation of greenhouse cooling systems in southern Spain. *Act. Hort.* 719: 211-214.
- Anza M, Riga P, Garbisu C.** 2006. Effects of variety and growth season on the organoleptic and nutritional quality of hydroponically grown tomato. *J. Food Quality* 29: 16-37.
- Apel K, Hirt H.** 2004. Reactive oxygen species: metabolism oxidative stress and signaling transduction. *Ann Rev Plant Biol.* 55: 373-399.
- Arbel A, Barak M, Shklyar A.** 2003. Combination of forced ventilation and fogging systems for cooling greenhouses. *J. Agric. Eng. Res.* 84: 45-55.
- Arbel A, Yekutieli O, Barak M.** 1999. Performance of a fog system for cooling greenhouses. *J. Agric. Eng. Res.* 72: 129-136.
- Arora A, Sairam RK, Srivastava GC.** 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Cur. Sci.* 82: 1227-1238.

-
- Asada K.** 1994. Mechanisms for scavenging reactive molecules generated in chloroplasts under light stress. En: Barber NR, Bower JR, Photoinhibition of Photosynthesis. Oxford: Biological Scientific Publishers, pp 129-142.
- Asthir B, Koundal A, Bains NS, Mann SK.** 2010. Stimulation of antioxidative enzymes and polyamines during stripe rust disease of wheat. *Biol. Plant.* 54: 329-333.
- Asthir B, Koundal A, Bains NS.** 2012. Putrescine modulates antioxidant defense response in wheat under high temperature stress. *Biol. Plant.* 56: 757-761.
- Aziz A, Larher F.** 1995. Changes in polyamines titers associated with the proline response and osmotic adjustment of rape leaf disc submitted to osmotic stress. *Plant Sci.* 112:175-186.
- Aziz A, Martin-Tanguy J, Larher F.** 1998. Stress-induced changes in polyamine and tyramine levels can regulate proline accumulation in tomato leaf discs treated with sodium chloride. *Physiol. Plant.* 104:195–202.
- Badawi GH, Yamauchi Y, Shimada E, Sasaki R, Kawano N, Tanaka K, Tanaka K.** 2004. Enhanced tolerance to salt stress and water deficit by overexpressing superoxide dismutase in tobacco (*Nicotiana tabacum*) chloroplasts. *Plant Sci.* 166: 919-928.
- Badiani M, De Bassi MG, Fellici M.** 1990. Soluble peroxidase from Winter wheat seedlings with phenoloxidase-like activity. *Plant Physiol.* 93: 489-494.
- Baeza E, Pérez-Parra J, López JC, Gázquez JC.** 2010. Ventilación natural En: Manejo del clima en el invernadero Mediterráneo (Eds) MC Sánchez-Guerrero, FJ Alonso, P Lorenzo, E Medrano pp 11-29.
- Bailey BJ.** 2000. Wind driven leeward ventilation in a large greenhouse. *Act. Hort.* 534: 309-317.
- Baille A, Kittas C, Katsoulas N.** 2001. Influence of whitening on greenhouse microclimate and crop energy partitioning. *Agric. Forest Meteorol.* 107: 293-306.
- Baille M, Baille A, Delmon D.** 1994a. Microclimate and transpiration of greenhouse rose crops. *Agric. Forest Meteorol.* 71: 83-97.

- Baille M, Baille A, Laury JC.** 1994b. A simplified model for predicting evapotranspiration rate of nine ornamental species vs climate factors and leaf area. *Sci. Hort.* 59: 217-232.
- Bais HP, Ravishankar GA.** 2002. Role of polyamines in the ontogeny of plants and their biotechnological application. *Plant Cell Tissue Organ. Cult.* 69:1-34.
- Bakker JC.** 1991. Analysis of humidity effects on growth and production of glasshouse fruit vegetables. PhD thesis, Wageningen Agricultural University, Wageningen. p155.
- Becker EM, Niessen LR, Skibsted LH.** 2004. Antioxidant evaluation protocols: food quality or health effects. *Eur. Food Res. Technol.* 219: 561-571.
- Becker TW, Fock HP.** 1986. The activity of nitrate reductase and pool size of some amino acids and some sugars in water-stressed maize leaves. *Photosynthesis Res.* 8: 267-274.
- Benzei IEF, Strain JJ.** 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Ann. Biochem.* 239: 70-76.
- Bertin N, Guichard S, Leonardi C, Longuenesse JJ, Langlois D, Navez V.** 2000. Seasonal evolution of the quality of fresh glasshouse tomatoes under Mediterranean conditions, as affected by air vapour pressure deficit and plant fruit load. *Ann. Bot.* 86: 741-750.
- Beyer WF, Fridovitch I.** 1987. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Anal. Biochem.* 161: 559-566.
- Blasco B, Ríos JJ, Leyva R, Cervilla LM, Sánchez-Rodríguez E, Rubio-Wilhelmi MM, Rosales MA, Ruiz JM, Romero L.** 2010. Does iodine biofortification affect oxidative metabolism in lettuce plants? *Biol Trace Elem Res* 142: 831-842.
- Bouchereau A, Aziz A, Lahrer F, Martin-Tanguy J.** 1999. Polyamines and environmental challenges: recent development. *Plant Sci.* 140:103–125.
- Bradfield EG, Guttridge CG.** 1984. Effects of night-time humidity and nutrient solution concentration on the calcium content of tomato fruit. *Sci. Hort.* 22: 207-217.

- Bradford MM.** 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- Brandt K, Giannini A, Lercari B.** 1995. Photomorphogenic responses to UV radiation III: a comparative study of UVB effects on anthocyanin and flavonoid accumulation in wild type 1081–1087.
- Brennan T, Frenkel C.** 1977. Involvement of hydrogen peroxide in the regulation of senescence in pear. *Plant Physiol.* 59:411-416.
- Brück H, Payne W, Sattelmacher B.** 2000. Effects of phosphorus and water supply on yield, transpirational water-use efficiency and carbon isotope discrimination of pearl millet. *Crop Sci.* 40:120–125.
- Bruggink GT.** 1992. A comparative analysis of the influence of light on growth of young tomato and carnation plants. *Sci. Hort.* 51: 71-81.
- Bryan JK.** 1990. The biochemistry of plants: a comprehensive treatise En: Intermediary nitrogen metabolism (Mifflin BJ, Jea PJ, Eds) Academic Press, San Diego, EEUU Vol 16: 161-195.
- Caballero P, de Miguel MD, Fernández-Zamudio MA.** 2004. Técnicas de gestión empresarial de la producción agraria. Ed. SPUPV-1440 pp 161.
- Caballero P, García-Martínez MD, de Miguel MD, Alcón F, Fernández-Zamudio MA.** 2009. Rentabilidad de la producción ecológica del pimieno en invernadero. *Act. Hort.* 54: 994-999.
- Cai Y, Luo M, Sun HC, Corke H.** 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medical plants associated with anticancer. *Life Sci.* 74: 2157-2184.
- Casadesús J, Montero JI, Soriano T, Muñoz P, Antón A, Hernández J, Escobar I, Castilla N.** 2008. Disposición para el control del clima en invernaderos y estructura similares de protección de cultivos. Boletín Oficial de la propiedad industrial 01-01-2008, pp 288.

- Casas A.** 1999. Cultivos sin suelo II Curso superior de Especialización Editores: Fernández M, Cuadrado IM. Volumen 5: 527-266.
- Castilla N, Elias F, Fereres E.** 1990. Caracterización de condiciones climáticas y de relaciones suelo-agua-raíz en el cultivo enarenado del tomate en invernadero en Almería. *Investigación agraria: Producción y Protección Vegetal* 5: 259-271.
- Castilla N, Hernández J.** 2007. Greenhouse technological packages for high-quality production. *Act. Hort.* 716: 285-297.
- Castilla N.** 2001. Effect of aluminized shading screens vs whitewash on tomato photochemical efficiency under a non heated greenhouse. *Act. Hort.* 559: 279-284.
- Castilla N.** 2005. Invernaderos de plástico: tecnología y manejo. 2ª Ed, Mundi-Prensa Madrid.
- Cervilla LM, Blasco B, Ríos JJ, Romero L, Ruiz JM.** 2007. Oxidative stress and antioxidants in tomato (*Solanum lycopersicum*) plants subjected to boron toxicity. *Ann. Bot.* 100: 747-756.
- Charest C, Phan CT.** 1990. Cold acclimation of wheat: properties of enzymes involved in proline metabolism. *Physiol Plant.* 80: 159-168.
- Cheng L, Zou Y, Ding S, Zhang J, Yu X, Cao J, Lu G.** 2009. Polyamine accumulation in transgenic tomato enhances the tolerance to high temperature stress. *J. Integrative Plant Biol.* 51:489-499.
- Ciruelos A, de la Torre R, González C.** 2007. Parámetros de calidad en el tomate para la industria. *Rev. Agric.* pp 157-170.
- Cockshull KE, Graves CJ, Carol RJ.** 1992. The influence of shading on yield of glasshouse tomatoes. *J. Hort. Sci.* 67: 11-24.
- Cohen S, Raveh E, Li Y, Grava A, Goldschmidh, EE.** 2005. Physiological response of leaves, tree Growth and fruit yield of grapefruit trees under reflective shading screens. *Sci Hort.* 107: 15-35.

- Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural.** 2013. Observatorio de precios y mercados.
- Crozier A, Jaganath IB, Clifford MN.** 2009. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Nat. Prod. Rep.* 26: 1001–1043.
- Cuadrado IM, García MC.** 2004. La protección fitosanitaria en agricultura ecológica. Estudio e identificación de plagas, enfermedades, desórdenes y organismos beneficiosos de hortícolas en invernadero FIAPA-CIFA ISBN: 84-882-4623-4.
- Cuartero J.** 2001. Tomate para consumo en fresco. En: La horticultura española. Ed. Mundi-Prensa.
- Cuenca RH.** 1989. Irrigation system design: An engineering approach. Prentice Hall, New Jersey, 552 pp.
- Dall’Osto L, Lico C, Alric J, Giuliano G, Havaux M, Bassi R.** 2006. Lutein is needed for efficient chlorophyll triplet quenching in the major LHCII antenna complex of higher plants and effective photoprotection in vivo under strong light. *BMC Plant Biol.* 6: 32.
- Dannehl, D, Huber, C, Rocksch, T, Huyskens-Keil, S, Schmidt, U.** 2012. Interactions between changing climate conditions in a semi-closed greenhouse and plant development, fruit yield, and health-promoting plant compounds of tomatoes. *Sci. Hort.* 138: 235-243.
- Davey MW, Montagu, MV, Inze D, Sanmartin M, Kanellis A, Smirnoff N, Benzi IJJ, Strain JJ, Favell D, Fletcher.** 2000. L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *J. Sci. Food Agric.* 80: 825-860.
- Davies WJ, van Volkenburg E.** 1983. The influence of water deficit on the factors controlling the daily pattern of growth of *Phaseolus trifoliates*. *J. Exp. Bot.* 34: 987-999.
- De Bryun JW, Garretsen F, Kooistra E.** 1971. Variation in taste and chemical composition of the tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Euphytica.* 20: 214-227.

- Del Río LA, Corpas FJ, Sandalio LM, Palma JM, Gómez M, Barroso JB.** 2002. Reactive oxygen species, antioxidant systems and nitric oxide in peroxisomes. *J. Exp. Bot.* 53: 1255-1272
- Del Río LA, Sandalio LM, Corpas FJ.** 2006. Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes: Production, scavenging, and role in cell signaling. *Plant Physiol.* 141: 330-335.
- Delauney AJ, Verma DPS.** 1993. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant J.* 4: 215-223.
- De-Miguel MD, Alcón F, Fernández-Zamudio MA, García-Martínez MC, Caballero P.** 2009. Análisis económico del cultivo de tomate según tipos tecnológicos de invernaderos mediterráneos. *Act. Hort.* 54: 983-987.
- Desmarais G, Ratti C, & Raghavan GSV.** 1999. Heat transfer modeling of screenhouses. *Solar Energy.* 65: 271-284.
- Dhindsa RS, Cleland RB.** 1975. Water stress and protein synthesis. *Plant Physiol.* 55: 781-788.
- Dingkuhn, M, Jones MP, Johnson DE, Sow A.** 1998. Growth and yield potential of *Oryza sativa* and *O. glaberrima* upland rice cultivars and their interspecific progenies. *Field Crops Res.* 57: 57-69.
- Dixon RA, Paiva NL.** 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell* 7: 1085-1097.
- Dorais M, Demers DA, Papadopoulos AP, Van Ieperen W.** 2004. Greenhouse tomato fruit cuticle cracking. *Hortic Rev.* 30: 163-184.
- Dorais M, Ehret DL, Papadopoulos AP.** 2008. Tomato (*Solanum lycopersicum*) health components: From the seed to the consumer. *Phytochem. Rev.* 7: 231-250.
- Dorais M, Papadopoulos A, Gosselin A.** 2001. Greenhouse tomato fruit quality. *Hortic Rev.* 26: 239-319.

-
- Dumas Y, Dadomo M, Di Lucca G, Grolier P.** 2003. Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes. *J. Sci. Food Agric.* 83: 369–382.
- Edwards EA, Rawsthorne S, Mullineaux PM.** 1990. Subcellular distribution of multiple forms of glutathione reductase in leaves of pea (*Pisum sativum* L.). *Planta* 180: 278-284
- El-Gizawi AM, Abdallah MMF, Gomaa HM Mohamed SS.** 1993. Effect of different shading levels on tomato plants 2 Yield and fruit quality. *Act. Hort.* 323: 349–354.
- Engelmann NJ, Clinton SK, Erdman Jr JW.** 2011. Nutritional Aspects of phytoene and phytofluene, carotenoid precursors to lycopene. *Am. Soc. Nutri. Adv. Nutr.* 2: 51–61.
- Fan XX, Xu ZG, Liu XY, Tang CM, Wang LW, Han XI.** 2013. Effects of light intensity on the growth and leaf development of young tomato plants grown under a combination of red and blue light. *Sci. Hort.* 153: 50-55.
- FAO,** Rome Plant Production and Protection Div. 1990. Protected cultivation in the Mediterranean climate FAO. Plant Production and Protection Paper, pp 90.
- Feierabend J.** 2005. Catalases in plants: molecular and functional properties and role in stress defense Antioxidants and Reactives Oxygen Species in Plants. Smirnoff N (ed), pp101-140, Blackwell Publishing, London, UK.
- Fernández-García N, Martínez V, Carvajal M.** 2004. Effect of salinity on growth, mineral composition, and water relations of grafted tomato plants. *J. Plant. Nutr. Soil Sci.* 167:616–622.
- Ferreti G, Bacchetti T, Belleggia A, Neri D.** 2010. Cherry antioxidants: from farm to table. *Molecules* 15: 6993-7005.
- Flores HE, Galston AW.** 1982. Polyamines and plant stress-activation of putrescine biosynthesis by osmotic shock. *Sci.* 217:1259–1261.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations.** 2012. FAOSTAT agriculture production database (acceso 12 Marzo 2014) Disponible en: <http://faostatfaoorg>.

- Foyer CH, Dujardyn M, Lemoine Y.** 1989. Responses of photosynthesis and the xanthophylls and ascorbate-glutathione cycle to changes in irradiances, photoinhibition and recovery. *Plant Physiol. Biochem.* 27: 751-760.
- Foyer CH, Noctor G.** 2009. Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation and practical implications. *Trends Plants Sci.* 6: 486-492.
- Fuchs M, Dayan E, Presnov E.** 2006. Evaporative cooling of a ventilated greenhouse rose crop. *Agric. Forest Meteorol. Sci. Hort.* 111: 56–62.
- Gallardo M, Thompson R.** 2003. Mejora de la eficiencia en el uso del agua en cultivos protegidos. Curso superior de especialización: Editores: Fernández M, Lorenzo P, Cuadrado IM.
- García ML.** 2007. Refrigeración de invernadero: influencia sobre la bioproduktividad y la eficiencia en el uso del agua en un cultivo de tomate en sustrato sometido a distintos niveles de salinidad. Tesis doctoral Universidad de Almería.
- García ML, Medrano E, Sánchez-Guerrero MC, Lorenzo P.** 2011. Climatic effects of two cooling system in greenhouses in the Mediterranean area: External mobile shading and fog system. *Biosys. Eng.* 108, 133-143.
- Gardner JM, Chandler JL, Feldman AW.** 1985. Growth responses and vascular plugging of citrus inoculated with *rhizobacteria* and xylem-resident bacteria. *Plant Soil* 86: 333-345.
- Garg N, Manchanda G.** 2009. ROS generation in plants: boon or bane? *Plant Biosys.* 143: 8-96.
- Gautier H, Diakou-Verdin V, Bénard C, Reich M, Buret M, Bourgaud F.** 2008. How does tomato quality (sugar, acid, and nutritional quality) vary with ripening stage, temperature, and irradiance? *J. Agr. Food Chem.* 56: 1241–1250.
- Gautier H, Rocci A, Buret M, Grasselly D, Causse M.** 2005. Fruit load or fruit position alters response to temperature and subsequently cherry tomato quality. *J. Sci. Food Agric.* 85: 1009-1016.

-
- Gautier H, Tchamichian M, Guichard, S.** 1999. Effects of decreasing VPD by misting on leaf area and leaf inclination in tomato and estimation of consequences on light absorption. *Act. Hort.* 507: 77-84.
- Gázquez JC, López JC, Baeza E, Perez-Parra J, Sáez M, Sánchez-Guerrero MC, Medrano E, Lorenzo P.** 2006. Yield response of sweet pepper crop to different methods of greenhouse cooling. *Act. Hort.* 719: 507–513.
- Gázquez JC, López JC, Pérez-Parra JJ, Baeza EJ.** 2010. Refrigeración por evaporación de agua En: Manejo del clima en el invernadero Mediterráneo (Eds) MC Sánchez-Guerrero, FJ Alonso, P Lorenzo, E Medrano. pp 55-72.
- Geladopoulos TP, Sortiroudis TG, Evagelopoulus AE.** 1991. A malachite green colometric assay for protein phosphatase activity. *Anal. Biochem.* 192: 112-116.
- Gent MPN, Ma YZ.** 1998. Diurnal temperature variation of the root and shoot affects yield of greenhouse tomato. *HortSci.* 33: 47–51.
- George B, Kaur C, Khurdiya DS, Kapoor HC.** 2004. Antioxidant in tomato (*Lycopersicon sculentum*) as a function of genotype. *Food Chem.* 84: 45-51.
- Giannopolitis CN, Ries SK.** 1977. Superoxide dismutase occurrence in higher plants. *Plant Physiol.* 59: 309-314.
- Gill SS, Tuteja N.** 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 48: 909-930.
- González-Real MM, Baille A.** 2006. Plant response to greenhouse cooling. *Act. Hort.* 719: 427–438.
- Gosset DR, Millhollon EP, Lucas MC.** 1994. Antioxidant responses to NaCl stress in salt-sensitive cultivars of cotton. *Crop. Sci.* 34: 706-714.
- Grange RI, Hand DW.** 1987. A review of the effects of atmospheric humidity on the growth of horticultural crops. *J. Hort. Sci.* 62: 125-134.
- Groat RG, Vance CP.** 1981. Root nodule enzymes of ammonia assimilation in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant Physiol.* 67: 1198-1203.

- Groppa MD, Benavides MP.** 2008. Polyamines and abiotic stress: recent advances. *Amino Acids* 34: 35–45.
- Gruda N.** 2005. Impact of environmental factor on product quality of greenhouse vegetables for fresh consumption. *Critic. Rev. Plant Sci.* 24: 227-247.
- Hamauzu Y, Miyamoto Y, Chachin K.** 1994. Effect of high-temperatures on the change of carotenoid contents in tomato fruit after harvest. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 63: 675-684.
- Hanan JJ.** 1998. Greenhouses. Advanced technology for protected horticulture. CRC Press 684.
- Hänsch R, Mendel RR.** 2009. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Curr. Opin. Plant Biol.* 12: 259–266.
- Hare PD, Cress WA, Van Standen J.** 1999. Proline synthesis and degradation: a model system for elucidating stress-related signal transduction. *J. Exp. Bot.* 50: 413-434.
- Harmanto, Salokhe VM, Babel MS, Tantau HJ.** 2005. Water requirement of drip irrigated tomatoes grown in greenhouse in tropical environment. *Agric. Water Management* 71: 225–242.
- Harssema H.** 1977. Room temperature and growth of young tomato plants. *Mededelingen Landbouwhogeschool* 77(19).
- Healey KD, Rickert KG, Hammer GL, Bange MP.** 1998. Radiation use efficiency increases when the diffuse component of inside radiation is enhanced by shading. *Aust. J. Agr. Res.* 49: 665–672.
- Helyes L, Dimény J, Pék Z, Lugas IA.** 2006. Effect of maturity stage on content, color and quality of tomato (*Lycopersicon lycopersicum* (L.) Karsten) fruit. *Iner. J. Hort. Sci.* 12: 41–44.
- Hettmánková K, Pivec V, Trnková E, Hamouz K, Lachman J.** 2009. Quality of coloured varieties of potatoes. *Czech J. Food Sci.* 27: S310-S313.

-
- Heuvelink E, Buiskool RPM.** 1995. Influence of sink-source interaction on dry matter production in tomato. *Ann. Bot.* 4: 381-389.
- Heuvelink E, Dorais M.** 2005. Crop growth and yield. In: Heuvelink E (Ed) Tomato crop production science in horticulture. series n° 13 CAB International, Wallingford, Oxon, UK, 352 pp.
- Heuvelink, E.** 1996. Dry matter partitioning in tomato: validation of a dynamic simulation model. *Ann. Bot.* 77: 71-80.
- Hien DT, Jacobs M, Angenona G, Hermans C, Thua TT, Sona LV, Roosens NH.** 2003. Proline accumulation and Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase gene properties in three rice cultivars differing in salinity and drought tolerance. *Plant Sci.* 165: 1059-1068.
- Hiyama T, Kochi K, Kobayashi N, Sirisampan S.** 2005. Seasonal variation in stomatal conductance and physiological factors observed in a secondary warm-temperate forest. *Ecol. Res.* 3: 333-346.
- Ho, LC, White, PJ.** 2005. A cellular hypothesis for the induction of blossom-end rot in tomato fruit. *Ann. Bot.* 95: 571–581.
- Hsu CL, Chen W, Weng YM, Tseng CY.** 2003. Chemical composition, physical properties, and antioxidant activities of yam flours as affected by different drying methods. *Food Chem.* 83: 85-92.
- Hu Y, Burucs Z, Schmidhalter U.** 2006. Short-term effect of drought and salinity on growth and mineral elements in wheat seedlings. *J. Plant Nutr.* 29: 2227–2243.
- Hu Y, Schmidhalter U.** 2005. Drought and salinity: a comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 168:541–549.
- Idso SB, Jackson RD, Pinter PJ, Reginato RJ, Hatfield JL.** 1981. Normalizing the stress-degree-day parameter for environmental variability. *Agric. Meteorol.* 24: 45-55.
- Ilić ZS, Milenković L, Stanojević L, Cvetković D, Fallik E.** 2012. Effects of the modification of light intensity by color shade nets on yield and quality of tomato fruits. *Sci. Hort.* 139: 90–95.

- Irigoyen JJ, Emerich DW, Sánchez-Díaz M.** 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiol. Plant.* 84: 55-60.
- ISO-14040.** 2006. Environmental management life cycle assessment principles and framework. International Organization for Standardization ISO, Geneva.
- Jiménez-Bremont JF, Ruiz OA, Rodríguez-Kessler M.** 2007. Modulation of spermidine and spermine levels in maize seedlings subjected to long-term salt stress. *Plant Physiol. Biochem.* 45: 812-821.
- Jolliet O, Bailey BJ.** 1992. The effect of climate on tomato transpiration in greenhouses: measurements and models comparison. *Agric. Forest Meteorol.* 1: 43-62.
- Jones MB.** 1985. Plant microclimate. In: Techniques in bioproductivity and photosynthesis Coombs; J Hall, DO Long, SP Scurlock JMO (Eds) Pergamon Press, Oxford, UK pp:26-39.
- Kafkafi U, Xu GH.** 1999. Potassium nutrition for high crop yields. In: Oosterhuis DM, Berkowitz GA (eds) *Frontiers in potassium nutrition*, pp 133–141.
- Kalir A, Omri G, Poljakoff-Mayber A.** 1984. Peroxidase and catalase activity in leaves of *Halimione portulacoides* L. exposed to salinity. *Physiol. Plant.* 62: 238-244.
- Kapotis G, Zervoudakis G, Veltsistas T, Salahas G.** 2003. Comparison of chlorophyll meter readings with leaf chlorophyll concentration in *Amaranthus vlitus*: correlation with physiological processes. *Russian J. Plant. Physiol.* 50: 395-397.
- Katsoulas N, Baille A, Kittas C.** 2001. Effect of misting on transpiration and conductances of a greenhouse rose canopy. *Agric. Forest Meteorol.* 106: 233–247.
- Katsoulas N, Savvas D, Tsirogiannis I, Merkouris O, Kittas C.** 2009. Response of an eggplant crop grown under Mediterranean summer conditions to greenhouse fog cooling. *Sci. Hort.* 123: 90-98.

-
- Katsoulas, N, Kittas, E, Kittas, C.** 2006. Greenhouse cooling by a fog system: effect on microclimate and on production and quality of a soilless pepper crop. *Act. Hort.* 719: 455-461.
- Katsoulas, N., Kittas, C., Fidaros, D.,Bartzanas, T., Baxevanou, K.** 2011. Study of a passive solar heating greenhouse crop grow gutter. *Act. Hort.* 893: 381-388.
- Kaul S, Sharma SS, Mehta IK.** 2008. Free radical scavenging potential of L-proline: evidence from in vitro assays. *Amino Acids* 34: 315–320.
- Kavi Kishor, PB, Sangam S, Amrutha RN, Sri Laxmi P, Naidu KR, Rao KRSS, Rao S, Reddy KJ, Theriappan P, Sreenivasulu N.** 2005. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake, and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Cur. Sci.* 88: 424–438.
- Kerk NM, Feldman LJ.** 1995. A biological model for initiation and maintenance of the quiescent centre: implications for organization of root meristems. *Plant Develop.* 121: 2825-2833.
- Keutgen AJ, Pawelzik E.** 2008. Quality and nutritional value of strawberry fruit under long term salt stress. *Food Chem.* 107: 1413-1420.
- Kittas C, Baille A, Giaglaras P.** 1999. Influence of covering material and shading on the spectral distribution of light in greenhouses. *J. Agric. Eng. Res.* 73: 341-351.
- Kittas C, Bartzanas T, Jaffrin A.** 2001. Greenhouse evaporative cooling: measurement and data analysis. *Trans. Amer. Soc. Agric. Eng.* 44: 683-689.
- Kittas C, Bartzanas T, Jaffrin A.** 2003. Temperature gradients in a partially shaded large greenhouse equipped with evaporative cooling pads. *Biosyst. Eng.* 85: 87-94.
- Kittas C, Bartzanas TH, Jaffrin A.** 2000. Greenhouse evaporative cooling: measurement and data analysis. *Act. Hort.* 534: 67-74.
- Kittas C, Katsoulas K, Bartzanas T.** 2011. Characterization and analysis of the effects of greenhouse climate control equipment on greenhouse microclimate and crop response. *Act. Hort.* 893: 117-132.

- Kittas C, Rigakis N, Katsoulas N Bartzanas T.** 2009. Influence of shading screens on microclimate, growth and productivity of tomato. *Act. Hort.* 807: 97–102.
- Kramer PJ, Boyer JS.** 1995. Water relations of plants and soils. Academic, San Diego, pp 495–524.
- Kropff MJ, Lotz LAP.** 1992. Optimization of weed management-systems - the role of ecological models of interplant competition. *Weed Tech.* 6: 462-470.
- Krumbein A, Schwarz D.** 2013. Grafting: A possibility to enhance health-promoting and flavour compounds in tomato fruits of shaded plants? *Sci. Hort.* 149: 97–107.
- Lavelli V, Peri C, Rizzolo A.** 2000. Antioxidant activity of tomato products as studied by model reactions using xanthine oxidase, myeloperoxidase and copper-induced lipid peroxidation. *J. Agric. Food Chem.* 48: 1442–1448.
- Lawlor DW.** 1995. The effects of water deficit on photosynthesis, In: N Smirnov (ed) Environment and plant metabolism: Flexibility and Acclimation Bios Scientific Oxford, UK p 129–160.
- Lee SK, Kader AA.** 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biol. Tech.* 20: 207-220.
- Lemaire G, van Oosterom E, Sheehy J, Jeuffroy MH, Massignam A, Rossato L.** 2007. Is crop demand more closely related to dry matter accumulation or leaf area expansion during vegetative growth? *Field Crops Res.* 100: 91–106.
- Leonardi C, Guichards S, Bertini N.** 2000. High vapor pressure deficit influences growth, transpiration and quality of tomato fruits. *Sci. Hort.* 84: 285-296.
- Lester GE.** 2006. Environmental regulation of human health nutrients (ascorbic acid, carotene, and folic acid) in fruits and vegetables. *HortSci.* 41: 59-64.
- Levander OA.** 1990. Fruit and vegetable contributions to dietary mineral intake in human health and disease. *HortSci.* 25: 1486-1488.
- Leyva R, Constán-Aguilar C, Blasco B, Sánchez-Rodríguez E, Romero L, Soriano T, Ruíz JM.** 2014. Effects of climatic control on tomato yield and nutritional quality in Mediterranean screenhouse. *J. Sci. Agric.* 94: 63-70.

- Leyva R, Constán-Aguilar C, Blasco B, Sánchez-Rodríguez E, Soriano T, Ruíz JM.** 2013. A fogging system improves antioxidative defense responses and productivity in tomato. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 138: 267–276.
- Li S, Willits DH.** 2008. Comparing low-pressure and high-pressure fogging systems in naturally ventilated greenhouses. *Biosys. Eng.* 101: 69–77.
- Liptay A, Papadopoulos AP, Bryan HH, Gull D.** 1986. Ascorbic acid levels in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) at low temperatures. *Agric. Biol. Chem.* 50: 3185–3187.
- López-Andreu FJ, Lamela A, Esteban RM, Collado JG.** 1986. Evolution of quality parameters in the maturation stage of tomato fruit. *Act. Hort.* 191: 387–394.
- Lorenzo P, Sánchez-Guerrero MC, Medrano E, Alonso J, García ML.** 2010. Sombreado En: Manejo del clima en el invernadero Mediterráneo (Eds) MC Sánchez-Guerrero, FJ Alonso, P Lorenzo, E Medrano. pp 37-51.
- Lorenzo P, Sánchez-Guerrero MC, Medrano E.** 2003. Effect of vapor deficit on growth, development and dry matter allocation of tomato plants. *Act. Hort.* 614: 863-867.
- Lorenzo P, Sánchez-Guerrero MC, Medrano E, García ML, Caparrós I, Coelho G, Giménez M.** 2004. Climate control in the summer season: A comparative study of external mobile shading and fog system. *Act. Hort.* 659: 189-194.
- Maathuis FJM.** 2009. Physiological functions of mineral macronutrients. *Curr. Opin. Plant Biol.* 12: 250–258.
- MAGRAMA, 2012.** Anuario de Estadística. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, 2012. pp 189.
- MAPA, 1994.** Métodos oficiales de análisis. Tomo II. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid.
- Marcelis LFM, Hofman-Eijer R.** 1993. Growth analysis of pepper fruits (*Capsicum annuum* L). *Act. Hort.* 412: 470-478.

- Marcelis LFM.** 1993. Fruit growth and biomass allocation to the fruits in cucumber 2. Effect of irradiance. *Sci. Hort.* 54: 123-130.
- Marcelis, LFM.** 1994. A simulation model for dry matter partitioning in cucumber. *Ann. Bot.* 74: 43-52.
- Maroto JV,** in *Horticultura Herbacea Especial*, 4th edn, ed by Maroto JV. Mundiprensa, Madrid, pp. 714–775 (1995).
- Martinez S, Valek L, Resestic DF.** 2006. Cyclic voltammetry study of plasma antioxidant capacity. Comparison with the DPPH and TAS spectrophotometric methods. *J. Electroanal. Chem.* 558: 68-73.
- Matysik J, Alia B, Bhalu P, Mohanty.** 2002. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. *Cur. Sci.* 82: 525-532.
- Max JFJ, Horst WJ, Mutwiwa UN, Tantau HJ.** 2009. Effects of greenhouse cooling method on growth, fruit yield and quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in a tropical climate. *Sci. Hort.* 122: 179–186.
- McCollum JP.** 1954. Effects of light on the formation of carotenoids in tomato fruit. *Food Res.* 19: 182-189.
- Medina CL, Souza RP, Machado EC, Ribeiro RV, Silva JAB.** 2002. Photosynthetic response of citrus grown under reflective aluminized polypropylene shading nets. *Sci. Hort.* 96: 115-125.
- Medrano E, Lorenzo P, Sánchez-Guerrero MC, García ML, Caparrós I, Giménez, M.** 2004. Influence of an external greenhouse mobile shading on tomato crop transpiration. *Act. Hort.* 659: 195-199.
- Medrano E, Lorenzo P, Sánchez-Guerrero MC, Montero JI.** 2005. Evaluation and modeling of greenhouse cucumber-crop transpiration under high and low radiation condition. *Sci. Hort.* 105: 163-175.
- Meir S, Kanner J, Akiri B, Hadas SP.** 1995. Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. *J. Agric. Food Chem.* 43: 1813-1817.
- Melchiorre M, Robert G, Trippi V, Racca R, Lascano HR.** 2009. Superoxide dismutase and glutathione reductase overexpression in wheat protoplast:

-
- photooxidative stress tolerance and changes in cellular redox state. *Plant Growth Regul.* 57: 57-68.
- Mencarely F, Salveit ME.** 1998. Ripening of mature-green tomato fruit slices. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 113: 742-745.
- Mermier M, Baille A.** 1980. The optical properties of plastic materials for greenhouse and screen *Plasticulture.* 77: 11-24.
- Migliori C, Di Cesare LF, Lo Scalzo L, Campanelli G, Ferrari V.** 2012. Effects of organic farming and genotype on alimentary and nutraceutical parameters in tomato fruits. *J. Sci. Food Agric.* DOI 101002/jsfa5602.
- Miller PM, Stewart CR.** 1976. Pyrroline-5-carboxylic acid reductasa from soybean leaves. *Phytochem.* 15: 1855-1857.
- Mittler R.** 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant*
- Möller M, Assouline S.** 2007. Effect of shading screen on microclimate and crop water requirements irrigation. *Sci.* 25: 171-181.
- Möller M, Tanny J, Li Y, Cohen.** 2004. Measuring and predicting evapotranspiration in a insect-proof screenhouse. *Agric. Forest Meteorol.* 127: 35-51.
- Monte JA, de Carvalho DF, Medici L, da Silva LDB, Pimentel C.** 2013. Growth analysis and yield of tomato crop under different irrigation depths. *Rev. Brasileira Eng. Agric. Amb.* 17: 926-931.
- Montero JI, Antón A, Muñoz P, Lorenzo P.** 2001. Transpiration from geranium grown under high temperatures and low humidities in greenhouses. *Agric. Forest Meteorol.* 107: 323-332.
- Montero JI, Antón A, Muñoz P.** 2003. Nebulización: Efectos sobre el microclima, producción eficiencia en el uso del agua. Mejora de la eficiencia en el uso del agua en cultivos protegidos Eds: Fernández M, Lorenzo P, Cuadrado IM. Curso Superior de Especialización Vol 7. Almería, 231-243.
- Montero JI.** 2006. Evaporative cooling in greenhouses: effect on microclimate, water use efficiency, and plant response. *Act. Hort.* 719: 373-384.

- Montero, JI, Antón, A, Muñoz P.** 2005. Fogging systems. In: M Fernández, PLorenzo, IM Cuadrado (Eds), Improvement of water use efficiency in protected crops. Effect on microclimate, yield and water use efficiency, Almería, España: DGIFA de la Junta de Andalucía, Hortimed, FIAPA y CAJAMAR. pp 231-243.
- Morales D, Rodriguez P, Dell'Amico, J, Nicolas E, Torrecillas A, Sánchez-Blanco MJ.** 2003. High-temperature preconditioning and thermal shock imposition affects water relations, gas exchange and root hydraulic conductivity in tomato. *Biol. Panta.* 4: 6-12.
- Mourad A, Coltro L, Oliveira P, Kletecke, RM, Baddini JPAO.** 2007. A simple methodology for Elaborating the Life Cycle Inventory of Agricultural Products. *Int J LCA* 12 (6) 408-413.
- Mullineaux PM, Rausch T.** 2005. Glutathione, photosynthesis and the redox regulation of stress-responsive gene expression. *Photosynthetic Res.* 86: 459-474.
- Munns R, Tester M.** 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant. Biol.* 59:651-681.
- Muñiz Gozález R.** 2012. Producto y precio.: Punto muerto y umbral de rentabilidad. En: Marketing en el siglo XXI. 3ªEdición. Ed. Centro de Estudios. ISBN 9788445416129.
- Mutlu F, Bozcuk S.** 2007. Salinity-induced changes of free and bound polyamine levels in sunflower (*Helianthus annuus* L) roots differing in salt tolerance. *Pakistan. J. Bot.* 39: 1097-1107.
- Mutwiwa UN, Tantau HJ, Salokhe VM.** 2006. Response of tomato plants to natural ventilation and evaporative cooling methods. *Act. Hort.* 719: 447-454.
- Nakano Y, Asada K.** 1981. Hydrogen-peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach-chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 22: 867-880.
- Nanjo T, Kobayashi M, Yoshiba Y, Yamaguchi-Shinozaki K.** 1999. Antisense suppression of proline degradation improves tolerance to freezing and salinity in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Letters.* 461: 205-210.
- Noctor G, Foyer CH.** 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49: 249-279.

- O'Neal T, Pettitt TR, McQuilken MP, Hamer PJC.** 2002 Integrated approaches to control of grey mould (*Botrytis cinerea*) in greenhouse crops container-grown ornamentals. Proc. British Crop Protection Conf. 2002. Pest and diseases 1: 213-218.
- Ojeda W.** 2004. Programación del riego bajo invernaderos, sección S1-S7, III International Course of greenhouses (Sánchez del Castillo *et al.* (Eds.), Book II), Chapingo, Mexico.
- Pail RM, Gálvez JL.** 2005. Dry-matter partitioning as a determinant of greenhouse fruit vegetable crops production. *Agrociencia* 11: 5-11.
- Pallas JE Jr, Michel BE, Harris DG.** 1967. Photosynthesis, transpiration, leaf temperature, and stomatal activity of cotton plants under varying water potentials. *Plant Physiol.* 42: 76-88.
- Pan Y, Wu LJ, Yu ZL.** 2006. Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch). *Plant Growth Regul.* 49: 157-165.
- Papadopoulos AP, Pararajasingham S.** 1997. The influence of plant spacing on light interception and use in greenhouse tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill): a review. *Sci. Hort.* 69: 1-29.
- Papadopoulos I.** 1997. Irrigation/fertigation modeling In: Proceedings of the International Conference on 'Water management, salinity and pollution control towards sustainable irrigation in the Mediterranean Region' Organized by CKHEAM, Bari, Italy Volumen VI: 79-90.
- Parida AK, Das AB.** 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotox Environ. Safe* 60: 324-349.
- Patanè C, Tringali S, Sortino O.** 2011. Effects of deficit irrigation on biomass, yield, water productivity and fruit quality of processing tomato under semi-arid Mediterranean climate conditions. *Sci. Hort.* 129: 590-596.
- Peet MM, Willits DH.** 1995. Role of excess water in tomato fruit cracking. *HortSci.* 30: 65-68.

- Peet MM, Sato S, Clémente C, Pressman E.** 2003. Heat stress increases sensitivity of pollen, fruit and seed production in tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill) to non-optimal vapor pressure deficits. *Act. Hort.* 618: 209-215.
- Peet MM, Willis DH, Gardner R.** 1997. Response of ovule development and post-pollen production process in male-sterile tomatoes to chronic, sub acute high temperature stress. *J. Exp. Bot.* 48: 101-111.
- Peng S, García FV, Laza RC, Sanico AL, Visperas RM, Cassman KG.** 1996. Increased N-use efficiency using a chlorophyll meter on high-yielding irrigated rice. *Field Crops Res.* 47: 243–252.
- Perdigones A, García JL, Romero A, Rodríguez A, Luna L, Raposo C, de la Plaza S.** 2008. Cooling strategies for greenhouses in summer: control of fogging by pulse width modulation. *Biosyst. Eng.* 99: 573-586.
- Pérez JJ, López JC, Fernández MD.** 2002. La agricultura del sureste: situación actual y tendencias de las estructuras de producción en la horticultura almeriense. En: La agricultura mediterránea en el siglo XXI. Colección estudios socioeconómicos Mediterráneo económico. Caja Rural Intermediterránea, Cajamar Almería. pp: 262-282.
- Perret JS, Al-Ismaili AM, Sablani SS.** 2005. Development of a humidification–dehumidification system in a quonset greenhouse for sustainable crop production in arid regions. *Biosyst. Eng.* 91: 349–359.
- Picuno P, Tortora A, Sica C.** 2008. Mechanical characterization of plastic nets for protected cultivation. *Act. Hort.* 801: 91-98.
- Pieper JR, Berret DM.** 2009. Effects of organic and conventional production systems on quality and nutritional parameters of processing tomatoes. *J. Sci. Agric.* 89: 177-194.
- Pinheiro, C, Passarinho JA, Ricardo CP.** 2004. Effect of drought and rewatering on the metabolism of *Lupinus albus* organs. *J. Plant Physiol.* 161:1203–1210.
- Poorter JR.** 2005. Rising temperatures are likely to reduce crop yields. *Nature* 436: 174.

-
- Prashanth SR, Sadhasivam V, Parida A.** 2008. Over expression of cytosolic copper/zinc superoxide dismutase from a mangrove plant *Avicennia marina* in indica Rice var Pusa Basmati-1 confers abiotic stress tolerance, *Transgenic Res.* 17: 281-291.
- Radyukina NL, Shashukova AV, Mapelli S, Shevyakova NI, Kuznetsov VV.** 2010. Proline controls the level of polyamines in common sage plants under normal conditions and at UV-B irradiation. *Russian J. Plant Physiol.* 54: 422-429.
- Raffo A, La Malfa G, Fogliano V, Maiani G, Quaglia G.** 2006. Seasonal variations in antioxidant components of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv Naomi F1). *J. Food Comp. Anal.* 19: 11–19.
- Re R, Pellegrini A, Prteggente A, Pannala M, Yang C, Rice-Evans C.** 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radiacal cation decolorization assay. *Free Radic. Bio. Med.* 26: 1231-1237.
- Rice Evans CA.** 2000. Measurement of total antioxidant activities a marker of antioxidant status in vivo: procedures and limitations. *Free Radic. Res.* 33: 559-566.
- Rivero RM, Ruiz JM, Romero L.** 2004. Importance of N source on heat stress tolerance due to the accumulation of proline and quaternary ammonium compounds in tomato plants. *Plant Biol.* 6: 702-707.
- Rojano-Aguilar A, Salazar-Moreno R, López I, Ojeda W, Schmidt U, Huber C.** 2011. Temperature and humidity as physical limiting factors for controlled agriculture. *Act. Hort.* 893: 503-508.
- Romacho I, Hita O, Soriano T, Escobar I, Suarez-Rey EM, Hernández J, Castilla N.** 2006. The growth and yield of cherry tomatoes in net covered greenhouses. *Act. Hort.* 719: 529-533.
- Romero-Aranda R, Soria T, Cuartero J.** 2002. Greenhouse mist improves yield of tomato plants grown under saline conditions. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 127: 644-648.

- Romero-Gómez M, Soriano T, Casadesús J, Suárez-Rey EM, Antón A, Montero JI, Castilla N.** 2009. Estudio de estrategias de refrigeración por nebulización de baja presión en el microclima de un invernadero de malla. *Act. Hort.* 54: 499-504.
- Romero-Gómez M, Suárez-Rey EM, Antón A, Castilla N, Soriano T.** 2012b. Environmental impact of greenhouse and open-field cultivation using a life cycle analysis: the case study of green bean production. *J Clean Prod.* 28: 63-69.
- Romero-Gómez M, Suárez-Rey EM, Castilla N, Soriano T.** 2012a. Evaluation of global, PAR and diffuse radiation transmission of agricultural screens. *Spanish J. Agric. Res.* 10: 360-313.
- Romero-Gómez M, Suárez-Rey EM, Soriano T.** 2012. Effects of misting used to improve the microclimate and productivity of a greenhouse crop. *Europ. J. Hort. Sci.* 77: 49–57.
- Rosales MA, Cervilla LM, Sánchez-Rodríguez E, Rubio-Wilhelmi MM, Blasco B, Rios JJ, Soriano T, Castilla N, Romero L, Ruiz JM.** 2011. The effect of environmental conditions on nutritional quality of cherry tomato fruits: evaluation of two experimental Mediterranean greenhouses. *J. Sci. Food Agric.* 91: 152–162.
- Rosales MA, Ruiz JM, Hernández, J, Soriano T, Castilla N, Romero L.** 2006. Antioxidant content and ascorbate metabolism in cherry tomato exocarp in relation to temperature and solar radiation. *J. Sci. Food Agric.* 86: 1545–1551.
- Rosales, MA, Rubio-Wilhelmi MM, Castellano R, Castilla N, Ruiz JM, Romero L.** 2007. Sucrolytic activities in cherry tomato fruit in relation to temperature and solar radiation. *Sci. Hort.* 113: 244-249.
- Rubio MC, Becana M, Sato S, James EK, Tabata S, Spaink HP.** 2007. Characterization of genomic clones and expression analysis of the three types of superoxide dismutases during nodule development in *Lotus japonicas*. *Mol. Plant-Microbe Interac.* 20: 262-275.
- Sabeh NC, Giacomelli GA, Kubota C.** 2006. Water use for pad and fan evaporative cooling of a greenhouse in semi-arid climate. *Act. Hort.* 719: 409-416.

-
- Salles C, Nicklaus S, Septier C.** 2003. Determination and gustatory properties of taste active compounds in tomato juice. *Food Chem.* 81: 395-402.
- Salt DE, Baxter I, Lahner B.** 2008. Ionomics and the study of the plant ionome. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59:709–733.
- Sánchez-Rodríguez E, Leyva R, Constan-Aguilar C, Romero, Romero L, Ruiz JM.** 2012a. Grafting under water stress in tomato cherry: improving the fruit yield and quality. *Ann. Appl. Biol.* 161: 302-312.
- Sánchez-Rodríguez E, Rubio-Wilhelmi MM, Cervilla LM, Blasco B, Rios JJ, Rosales MA, Romero L, Ruiz JM.** 2010. Genotypic differences in some physiological parameters symptomatic for oxidative stress under moderate drought in tomato plants. *Plant Sci.* 178:30–40.
- Sánchez-Rodríguez E, Ruiz JM, Ferreres F, Moreno DA.** 2012b. Phenolic profiles of cherry tomatoes as influenced by hydric stress and rootstock technique. *Food Chem.* 134: 775-782.
- Sandri MA, Andriolo JL, Witter M, Dal Ross T.** 2003. Effect of shading on tomato plants grow under greenhouse. *Hort. Brasileira* 21: 642-645.
- Santa-Cruz A, Acosta M, Rus A, Bolarin MC.** 1999. Short-term salt tolerance mechanisms in differentially salt tolerant tomato species. *Plant Physiol. Biochem.* 37:65-71.
- Sato S, Peet MM, Thomas JF.** 2000. Physiological factors limit fruit set of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) under chronic, mild heat stress. *Plant Cell Environ.* 23: 719-726.
- Savvas D, Chatzieustratiou E, Pervolaraki G, Gizas G, Sigrimis N.** 2008. Modelling Na and Cl concentrations in the recycling nutrient solution of a closed-cycle pepper cultivation. *Biosyst. Eng.* 99: 282– 291.
- Sawwan J, Shibli RA, Swaidat I, Tahat M.** 2000. Phosphorus regulates osmotic potencial and growth of African violet under in vitro-induced water deficit. *J. Plant Nutr.* 23:759–771.

- Schwarz D, Kläring HP, Van Lersel MW, Ingram KT.** 2002. Growth and photosynthetic response of tomato to nutrient solution concentration at two light levels. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 127: 984-990.
- Sci.* 7: 405-410.
- Sérino S, Gomez L, Costagliola G, Gautier H.** 2009. HPLC assay of tomato carotenoids: validation of a rapid microextraction technique. *J. Agric. Food Chem.* 57: 8753–8760.
- Serraj R, Sinclair TR.** 2002. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant Cell Environ.* 25:333–341.
- Serrano A, Suárez-de Cepeda M, Sánchez-Girón V.** 2008. Rentabilidad económica de explotaciones agrarias de secano según tamaño y tipo de laboreo. *Econom. Agr. Rec. Nat.* 8: 73-91.
- Sesso HD.** 2006. Carotenoids and cardiovascular disease: what research gaps remain? *Cur. Opin. Lipidol.* 17: 11–16.
- Sesták Z, Catsky J, Jarvis PG.** 1971. Methods for grow analysis En: Plant photosynthetic production Manual of methods Dr W Junk NV Publishers. The Hague. pp 343-391.
- Sgherri C, Cosi E, Navari-Izzo F.** 2003. Phenols and antioxidant status of *Raphanus sativus* grown in copper excess. *Physiol. Plant.* 118: 21–28.
- Shahak Y.** 2007. Photosensitive shade nets improve production of ornamental, fruit and vegetable crops: An overview. Book of abstracts GreenSys. pp 151-152.
- Singh RP, Srivastava HS.** 1986. Increase in glutamate synthase activity in maize seedlings in response to nitrate and ammonium nitrogen. *Physiol. Plant.* 66: 413-416.
- Smirnoff N.** 2005. Ascorbate, tocopherol and carotenoids: metabolism, pathway engineering and functions. in: N. Smirnoff (Ed.). Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK. pp. 53-86.
- Smith IE, Savage MJ, Mills P.** 1984. Shading effects on greenhouse tomatoes and cucumbers. *Act. Hort.* 148: 491-500.

-
- Soil Survey Staff.** 1992. Keys to soil taxonomy. 6th. USDA. Washington DC, USA.
- Soriano T, Morales MI, Suárez-Rey E, Escobar I, Hita O, Romacho I, Hernández J, Castilla N.** 2006. Comparación de dos paquetes tecnológicos para invernaderos mediterráneos con cultivo de tomate tipo cereza. *Act. Hort.* 46: 1-4.
- Stanghellini C, Kempkes F, Heuvelink E, Bonasia A, Karas A.** 2003. Water and nutrient uptake of sweet pepper and tomato as (un) affected by watering regime and salinity. *Act. Hort.* 614: 591-597.
- Stanghellini C.** 1987. Transpiration of greenhouse crops. An aid to climate management. PhD Dissertation, Landbouwuiversiteit.
- Su GX, Bai X.** 2008. Contribution of putrescine degradation to proline accumulation in soybean leaves under salinity. *Biol. Plant.* 52: 796-799.
- Taiz L, Zeiger E.** 2002. Plant Physiology 3rd Edition Sinauer Associates Sunderland (Massachussets) pp 690.
- Tanguilig VC, Yambao EB, Toole JCO, DeDatta SK.** 1987. Water stress effects on leaf elongation, leaf water potential, transpiration, and nutrient uptake of rice, maize and soybean. *Plant Soil* 103: 155–159.
- Tanny J, Dicken, U, Cohen S.** 2010. Vertical variation in turbulence statistics and energy balance in a banana greenhouse. *Biosyst. Eng.* 106: 175-187.
- Tanny J.** 2010. Screen constructions for environmentally sound crop production. 28th International Horticultural Congress.
- Tanny J.** 2013. Microclimate and evapotranspiration of crops covered by agricultural screens: A review. *Biosyst. Eng.* 114: 26-43.
- Tausz T, Sircelj H, Grill D.** 2004. The glutathione system as a stress marker in plant ecophysiology: is a stress response concept valid? *J. Exp. Bot.* 55: 1955-1962.
- Taylor MD, Locascio S.** 2004. Blossom-end rot: a calcium deficiency. *J. Plant Nutr.* 27: 123-139.
- Tignoni F.** 2003. El desarrollo de los sistemas de cultivo en horticultura protegida. En: Mejora de la eficiencia en el uso del agua en cultivos protegidos Eds: Fernández

- M, Lorenzo P, Cuadrado IM Curso Superior de Especialización Vol 7 Almería, pp 11-22.
- Todorov D, Alexieva V, Karanov E.** 1998. Effect of putrescine, and abscisic acid on maize plants grown under normal, drought and re watering conditions. *J. Plant Growth Regul.* 17: 197-203.
- Tonon G, Kever C, Faivre-Rampant O, Graziani M, Gaspar T.** 2004. Effect of NaCl and mannitol iso-osmotic stresses on proline and free polyamine levels in embryonic *Fraxinus angustifolia* callus. *J. Plant Physiol.* 161:701–708.
- Torres CA, Andrews PK, Davies NM.** 2006. Physiological and biochemical responses of fruit exocarp of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) mutants to natural photo-oxidative conditions. *J. Exp. Bot.* 57: 1933-1947.
- Tully RE, Hanson AD, Nelson CE.** 1979. Proline accumulation in water stressed barley leaves in relation to translocation and the nitrogen budget. *Plant Physiol.* 63: 518-523.
- Turhan E, Gulen H, Eris A.** 2008. The activity of antioxidative enzymes in three strawberry cultivars related to salt-stress tolerance. *Act. Physiol. Plant.* 30: 201-208.
- Tyssandier V, Feillet-Coudray C, Caris-Veyrat C, Guillard JC, Coudray C, Bureau S, Reich M, Amiot-Carlin MJ, Bouteloup-Demange C, Boirie Y, Borel P.** 2004. Effect of tomato product consumption on the plasma status of antioxidant microconstituents and on the plasma total antioxidant capacity in healthy subjects. *J. Am. Coll. Nutr.* 23: 148–156.
- Urban L, Langelez I.** 1992. Effect of high pressure mist on leaf water potential, leaf diffusive conductance, CO₂ fixation and production of ‘Sonia’ rose plants grown in rockwool. *Sci. Hort.* 50: 229-244.
- Urban L.** 1997. Introduction a la production sous serre: L’irrigation fertilisante en culture hors sol. (Tome 2). Ed. Tec-Doc. Paris.

- Van den Boogaart J, Schellekens F.** 1990. Inloed an temperatuur opontwikkeling, groei en produktie an tomaat: temperatuurproef voorjaar. Internal Report 44, Glasshouse Crops Research Station, Naaldwijk, The Netherlands, pp 30.
- Villar R, Ruiz-Robledo J, Quero JL, Poorter H, Valladares F, Marañón T.** 2004. Ed: Valladares, F. 2004. En: Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante. Páginas 191-227. Ministerio de Medio Ambiente, EGRAF, S. A., Madrid.
- Viškelis P , Rubinskiene M, Bobinas C.** 2008. Evaluation of strawberry and black currant berries intended for freezing and the methods of their preparation. *J. Food Agric. Environ.* 6: 151-154.
- Wada T, Ikeda H, Matsushita K, Kambara A, Hirai H and Abe K.** 2006. Effects of shading in summer on yield and quality of tomatoes grown on a single-truss system. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 75: 51-58.
- Waggoner P, Pack A, Reifsnyder W.** 1959. The climate of shade a tobacco tent and a forest tent compared to open fields. Connecticut Agricultural Experimental Station, Bulletin 626.
- Wahid A, Gelan S, Ashra M Foolad MR.** 2007. Heat tolerance in plants: An overview. *Environ. Exp. Bot.* 61: 199–223.
- Wang Y, Wisniewski M, Meilan R, Cui M, Webb R, Fuchigami L.** 2005. Overexpression of cytosolic ascorbate peroxidase in tomato confers tolerance to chilling and salt stress. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 130: 167-173.
- Wang Y, Wisniewski M, Meilan R, Cui M., Fuchigami L.** 2006. Transgenic tomato (*Lycopersicon esculentum*) overexpressing cAPX exhibits enhanced tolerance to UV-B and heat stress. *J. Appl. Horticult.* 8: 87-90.
- Wheeler GL, Jones MA, Smirnoff N.** 1998. The biosynthesis of vitamin C in higher plants. *Nature.* 393: 365-369.
- Williams L, Salt DE.** 2009. The plant ionome coming into focus. *Cur. Opin. Plant Biol* 12: 247– 249.
- Willits DH.** 1999. Constraints and limitations in greenhouse cooling: challenges for the next decade. *Act. Hot.* 534: 57-66.

- Wold AB, Rosenfeld HJ, Holte K, Blomhoff R, Haffner K.** 2004. Colour of post-harvest ripened and vine ripened tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.) as related to total antioxidant capacity and chemical composition. *Intl. J. Food Sci. Technol.* 39: 295-302.
- Wolf B.** 1982. A comprehensive system of leaf analysis and its use for diagnosing crop nutrients status. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 13: 1035-1059.
- Xiang C, Werner BL, Christensen EM, Oliver DJ.** 2001. The biological functions of glutathione revisited in *Arabidopsis* transgenic plants with altered glutathione levels. *Plant Physiol.* 126: 564-574.
- Yang Y, Han C, Liu Q, Lin B, Wang J, Wang.** 2008. Effect of drought and low light on growth and enzymatic antioxidant system of *Picea asperata* seedlings. *Acta Physiol. Plant.* 30: 433-440.
- Yoon HS, Lee IA, Lee H, Lee BH, Jo J.** 2005. Overexpression of a eukaryotic glutathione reductase gene from *Brassica campestris* improved resistance to oxidative stress in *Escherichia coli*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 326: 618-623.
- Yu Q, Osborne L, Rengel Z.** 1998. Micronutrient deficiency changes activities of superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in tobacco plants. *J. Plant Nutr.* 21: 1427-1437.
- Zayed MA, Zeid IM.** 1997. Effect of water and salt stresses on growth, chlorophyll, mineral ions and organic solutes contents, and enzymes activity in mug bean seedlings. *Biol. Plant.* 40: 351-356.
- Zhang CS, Lu Q, Verma DPS.** 1995. Removal of feedback inhibition of Δ^1 pyrroline-5-carboxylate synthetase, a bifunctional enzyme catalyzing the first two steps of proline biosynthesis in plants. *J. Biol. Chem.* 270: 20491-20496.
- Zhang D, Hamaizu Y.** 2004. Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chem.* 88: 503-509.

Zhao FG, Sun C, Liu, YL. 2001. Ornithine pathway in byosynthesis activated by salt stress in barley seedlings. *Act. Bot. Sinica* 43: 36-40.

Zhou YH, Zhang YY, Zhao X, Yu HJ, Shi K, Yu JG. 2009. Impact of light variation on development of photoprotection, antioxidants, and nutritional value in *Lactuca sativa* L. *J. Agric. Food Chem.* 57: 5494–5500.

Zhu JK. 2003. Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Current Opinion in Plant Biology.* 6:441-445.

Anexo

Publicaciones preliminares



Apellidos, nombre: Leyva Jiménez, Rocío

Formación académica

2004-2009: Licenciada en Biología. Universidad de Granada. Facultad de Ciencias.

2009-2010: Máster en Biología Agraria y Acuicultura. Universidad de Granada. Departamento de Fisiología Vegetal. (Supervisor: Dra. Begoña Blasco)

2010-2014: Estudiante predoctoral en Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural. Beca predoctoral Formación Personal Investigador (FPI) por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. Ministerio de Ciencia e Innovación.

Experiencia profesional

2007-2008: Beca de Iniciación a la Investigación. Departamento de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias. Universidad de Granada. Plan Propio de Universidad de Granada.

2008-2009: Beca de Colaboración Investigación. Departamento de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias. Universidad de Granada. Ministerio de Educación y Ciencia.

2013: Estancia de tres meses. Universidad UC Davis, College of Agricultural and Environmental Science. California. EEUU. Departamento de Postcosecha (Dr. C. Crisosto).

Parte de los resultados obtenidos en esta Tesis Doctoral han sido presentados en diversas revistas internacionales y congresos nacionales:

Publicaciones:

1. **Leyva R**, Constán-Aguilar C, Blasco B, Sánchez-Rodríguez E, Soriano T, Ruíz JM. A fogging system improves antioxidative defense responses and

- productivity in tomato. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 138: 267-276 (2013).
2. **Leyva R**, Constán-Aguilar C, Blasco B, Sánchez-Rodríguez E, Romero L, Soriano T, Ruíz JM. Effects of climatic control on tomato yield and nutritional quality in Mediterranean screenhouse. *Journal of Science and Food Agriculture* 90: 63-70 (2013).
 3. **Leyva R**, Suárez-Rey EM, López-Pérez L, Romero-Gámez M, Castilla N, Ruiz JM, Soriano T. Comparación microclimática, productiva y de calidad del cultivo estival de tomate cherry bajo malla con equipamientos complementarios del control de clima. Estudio preliminar. *Acta Horticultura* 60: 327-331 (2012).
 4. **Leyva R**, Constán-Aguilar C, Sánchez-Rodríguez E, Romero-Gámez M, Soriano T. Cooling systems in screenhouses: effect on microclimate, productivity and plant response in a tomato crop. *Biosystem Engineering*. DOI:10.1016/j.biosystemseng.2014.09.018 (2014).

Contribuciones a congresos:

1. Autores: **Leyva R**, Suárez-Rey EM, López-Pérez L, Romero-Gámez M, Castilla N, Ruiz JM, Soriano T.

Título: Comparación microclimática, productiva y de calidad del cultivo estival de tomate cherry bajo malla con equipamientos complementarios del control de clima. Estudio preliminar

Congreso: XIII Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas “Convergencia a las Tecnologías Hortofrutícolas”.

Tipo de participación: Póster

Lugar de celebración: Roquetas de Mar (Almería)

Fecha: 16-20 de abril 2012

2. Autores: **Leyva R**, Blasco B, Sánchez-Rodríguez E, Rubio-Wilhelmi MM, Constán-Aguilar C, Melgarejo R, Soriano T, Ruiz JM.

Título: Efecto de un sistema de nebulización de baja presión en invernadero de malla sobre la calidad de tomate cherry (*Solanum lycopersicum* L.) bajo clima mediterráneo.

Tipo de participación: Póster

Congreso: XIX Reunión de la Sociedad Española de Fisiología Vegetal (SEFV). - XII Congreso Hispano-Luso de Fisiología Vegetal

Lugar celebración: Castellón de la Plana (España)

Fecha: 2011

