

~~T-1000 21/106~~

T 9/57

UNIVERSIDAD DE GRANADA

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA
GRANADA
N.º Documento 613386955
N.º Copia 16272493



UNIVERSIDAD DE GRANADA
Facultad de Ciencias
Fecha 12-6-97
ENTRADA NUM. 1823

**FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA VEGETAL**

**BIORREMEDIACIÓN EN PLANTAS DE BERENJENA
(*Solanum melongena* L. cv. Bonica)
ANTE EL EXCESO DE N, P Y K**

TESIS DOCTORAL

Mª GEMMA VÍLLORA GÓMEZ

GRANADA, 1997

UNIVERSIDAD DE GRANADA
21 FEB 1997
COMISIONE DE CONTROL



ÍNDICE

	Pág.
1.- Objetivos.....	3
2.- Introducción.....	7
2.1.- Aspectos generales.....	7
2.2.- Diagnósis por síntomas visuales.....	7
2.3.- Análisis de la planta.....	8
2.3.1.- Órganos o tejidos analizados.....	9
2.3.1.1.- Análisis de la hoja.....	9
2.3.1.2.- Análisis del peciolo.....	11
2.3.1.3.- Análisis del fruto.....	13
2.4.- Factores que afectan a la concentración de nutrientes.....	14
2.4.1.- Edad de la hoja.....	14
2.4.2.- Interacciones iónicas.....	18
2.4.3.- Factores endógenos.....	21
2.4.4.- Factores exógenos.....	23
2.5.- Fertilización diferenciada.....	28
2.5.1.- Efecto del Nitrógeno.....	28
2.5.2.- Efecto del Fosforo.....	32
2.5.3.- Efecto del Potasio.....	33
2.6.- Resumen.....	35
3.- Material y Métodos.....	39
3.1.- Características del invernadero.....	39
3.2.- Especie estudiada.....	39
3.2.1.- Generalidades.....	39
3.2.2.- Encuadramiento taxonómico y descripción botánica.....	39
3.3.- Características de las parcelas.....	40
3.3.1.- Tratamientos.....	40

	Pág.
3.4.- Parámetros ambientales.....	41
3.4.1.- Suelo.....	41
3.4.1.1.- Preparación de las muestras.....	41
3.4.1.2.- Análisis físico de las muestras.....	41
3.4.1.3.- Análisis químico.....	42
3.4.2.- Agua.....	43
3.4.2.1.- Análisis de las muestras.....	43
3.5.- Material vegetal.....	44
3.5.1.- Toma de muestras.....	44
3.5.2.- Material fresco.....	44
3.5.2.1.- Pigmentos foliares.....	45
3.5.2.1.1.- Pigmentos clorofílicos.....	45
3.5.2.1.2.- Pigmentos accesorios.....	46
3.5.2.1.2.1.- Antocianinas.....	46
3.5.2.1.2.2.- Carotenos.....	46
3.5.2.1.2.3.- Licopenos.....	46
3.5.2.2.- Actividad Nitrato Reductasa (ANR).....	46
3.5.2.2.1.- Actividad Nitrato Reductasa Endógena.....	46
3.5.2.2.2.- Actividad Nitrato Reductasa Inducida.....	47
3.5.2.2.3.- Actividad Nitrato Reductasa Infiltrada.....	47
3.5.2.3.- Actividad Fosfatasa Ácida Foliar Endógena.....	47
3.5.3.- Material seco.....	48
3.5.3.1.- Digestión sulfúrica.....	48
3.5.3.2.- Determinaciones.....	48
3.5.3.2.1.- N Orgánico.....	48
3.5.3.2.2.- Calcio y Magnesio totales.....	48
3.5.3.2.3.- Sodio y Potasio totales.....	49
3.5.3.2.4.- Fósforo total.....	49

	Pág.
3.5.3.3.- Digestión nítrico-perclórica.....	49
3.5.3.3.1.- Azufre total.....	49
3.5.3.4.- Extracción de las formas solubles iónicas en medio acuoso..	50
3.5.3.4.1.- Calcio y Magnesio solubles.....	50
3.5.3.4.2.- Sodio y Potasio solubles.....	50
3.5.3.4.3.- Amonio.....	50
3.5.3.4.4.- Nitratos.....	50
3.5.3.4.5.- Cloruros.....	50
3.5.3.4.6.- Sulfatos.....	51
3.5.3.4.7.- Fósforo inorgánico.....	51
3.5.3.4.8.- Fósforo orgánico soluble.....	51
3.5.3.5.- Prolina.....	51
3.5.3.6.- Azúcares totales y solubles.....	51
3.5.3.6.1.- Glucosa, Fructosa y Sacarosa.....	51
3.5.3.6.2.- Almidón.....	52
3.5.3.7.- Producción.....	52
3.5.3.8.- Tratamiento estadístico.....	52
4.- Resultados y Discusión.....	55
4.1.- Parámetros Ambientales.....	55
4.1.1.- Temperatura.....	55
4.1.2.- Humedad y Radiación.....	57
4.2.- Análisis del Suelo.....	58
4.2.1.- Análisis químico.....	58
4.2.2.- Análisis físico.....	60
4.3.- Agua de riego.....	62

	Pág.
4.4.- Efecto de la Fertilización Nitrogenada.....	66
4.4.1.- Producción de materia seca.....	66
4.4.2.- Productividad.....	67
4.4.2.1.- Producción total.....	68
4.4.2.2.- Producción de estrío.....	69
4.4.2.3.- Producción comercial.....	69
4.4.3.- Parámetros nitrogenados.....	70
4.4.3.1.- Actividad Nitrato-Reductasa.....	70
4.4.3.2.- Nitratos.....	72
4.4.3.3.- Amoió.....	74
4.4.3.4.- Formas nitrogenadas.....	76
4.4.3.5.- Prolina.....	80
4.4.3.6.- Cloruros y Sulfatos.....	81
4.4.3.7.- Azufre total.....	84
4.4.4.- Parámetros de P.....	85
4.4.5.- Contenido catiónico.....	89
4.4.5.1.- Cationes divalentes.....	89
4.4.5.2.- Cationes monovalentes.....	94
4.4.6.- Pigmentos.....	98
4.4.6.1.- Pigmentos clorofílicos.....	98
4.4.6.2.- Pigmentos accesorios.....	99
4.4.7.- Azúcares solubles y totales.....	100
4.5.- Efecto de la fertilización fosfórica.....	106
4.5.1.- Producción de materia seca.....	106
4.5.2.- Productividad.....	108
4.5.2.1.- Producción total.....	108
4.5.2.2.- Producción de estrío.....	109
4.5.2.3.- Producción comercial.....	110

	Pág.
4.5.3.- Parámetros nitrogenados.....	110
4.5.3.1.- Actividad Nitrato-Reductasa.....	110
4.5.3.2.- Nitratos.....	112
4.5.3.3.- Amonio.....	113
4.5.3.4.- Formas nitrogenadas.....	115
4.5.3.5.- Prolina.....	120
4.5.3.6.- Cloruros y Sulfatos.....	122
4.5.3.7.- Azufre total.....	125
4.5.4.- Parámetros de P.....	126
4.5.5.- Cotenido Catiónico.....	130
4.5.5.1.- Cationes Divalentes.....	130
4.5.5.2.- Cationes monovalentes.....	136
4.5.6.- Pigmentos.....	140
4.5.6.1.- Pigmentos clorofilicos.....	140
4.5.6.2.- Pigmentos accesorios.....	141
4.5.7.- Azúcares totales y solubles.....	142
5.- Conclusiones.....	151
6.- Bibliografía.....	156

OBJETIVOS

1.- Objetivos

El uso excesivo de fertilizantes por parte de algunos agricultores cuando llevan a cabo técnicas avanzadas de cultivo intensivo, como es el caso de la producción hortícola en invernadero, inciden no sólo en la producción, sino también en el medioambiente.

En estos invernaderos, la utilización de fertilizantes de nitrógeno, fósforo y potasio, es una práctica muy común, en dosis agronómicas tales que con el tiempo y con las altas concentraciones de sales disueltas en el agua de riego y en el suelo de cultivo, hacen que en determinadas circunstancias las plantas presenten alteraciones funcionales a nivel fisiológico, lo que conlleva la subsecuente reducción de la producción.

La utilización de la berenjena como cultivo en estudio se debe a la gran extensión de éste en la zona del poniente almeriense, lugar donde se llevaron a cabo las experiencias, además de la buena disposición de la planta frente a la contaminación iónica reconocida en amplios estudios.

Con todo ello, y mediante índices iónicos, enzimáticos y fisiológicos adecuados, además de ciertos indicadores bioquímicos de la planta, enfocamos el presente trabajo de investigación bajo las siguientes premisas:

Explicar como la planta reduce los niveles de contaminación iónica del suelo (Biorremediación) o los efectos nocivos de dicha toxicidad sobre la fisiología del cultivo así como la influencia de elevados niveles de fertilización diferenciada N, P y K, en la producción del cultivo, en su rendimiento económico y en el impacto medioambiental de este exceso de fertilización.



INTRODUCCIÓN

2.- Introducción

2.1.- Aspectos Generales

La entrada de nutrientes en la planta se efectúa desde la solución del suelo. Sólo un porcentaje relativamente pequeño de éstos se encuentran disponibles para la planta en cualquier momento y la velocidad de aporte de nutrientes a la solución del suelo, conforme son absorbidos radicalmente, es el factor principal que determina si la concentración de iones es adecuada o no para el crecimiento de la planta (Yanai et al., 1995).

El aporte de estos nutrientes a la solución del suelo se puede producir por parte de dos fuentes principales: materia orgánica y fertilizantes inorgánicos. La materia orgánica es una fuente importante de N, S, P, etc.. Para la liberación de nutrientes desde ella hacia la solución del suelo, tras una fase de descomposición biológica, se necesitan una temperatura edáfica y concentración de oxígeno determinados (Tabatabai, 1996). Así, la saturación de agua y las bajas temperaturas edáficas suelen inducir la carencia de nutrientes en el suelo (Markhart et al., 1979). Por otra parte, los fertilizantes inorgánicos aplicados provocan un aumento considerable de los niveles de nutrientes tanto en hojas de plantas cultivadas en ese suelo como en la propia solución del suelo (Mead y Gadgil, 1978) . El uso excesivo o innecesario de estos fertilizantes induce un desequilibrio tanto en la solución del suelo como en la propia planta, que tiende a equilibrarlos expulsando H^+ o OH^- mediante las raíces. Además el abuso en la fertilización implica un aumento de los costos y también una grave contaminación de aguas freáticas, ríos o lagos (Mapp et al., 1994).

La alteración iónica, tanto si es deficiencia como toxicidad, puede provocar, cuando tratamos con plantas de uso comercial, una reducción del rendimiento óptimo. Evidentemente, corregir esta alteración es vital para conseguir un rendimiento y una calidad de cosecha óptimos. Este diagnóstico implica la determinación del nivel de nutrientes de la solución del suelo y de las plantas, lo que se puede llevar a cabo por diversos métodos: síntomas visuales, análisis químico y bioquímico del tejido vegetal.

2.2.- Dignosis por síntomas visuales

Las alteraciones provocadas por deficiencias o toxicidades de algunos iones, inducen en la mayoría de los casos síntomas visuales concretos para cada ion. Sin embargo, el diagnóstico sólo se puede llevar a cabo cuando el desequilibrio se expresa como una reducción del crecimiento (en el caso de deficiencia de N y P) o una malformación (por alteración en Cu, Zn o B), es decir, cuando el daño a la planta puede ser ya irreversible. En el caso de N, P o K, una deficiencia puede provocar una caída prematura de las hojas más viejas, con lo que se retrasaría la recuperación de la planta.

Sin embargo, la utilización de los síntomas visuales para el diagnóstico exacto de alteraciones no es fiable, ya que las deficiencias incipientes de muchos nutrientes son similares y además estos síntomas pueden variar en intensidad con la especie o quedar enmascarados detrás de otros múltiples.

La aparición de síntomas visuales de deficiencia o toxicidad no siempre señala una alteración iónica en la planta. Así, malas condiciones del suelo, efectos estacionales y climáticos, daños por hongos o animales, etc, pueden provocar estos síntomas, por lo que se hace necesario la utilización de otras técnicas de diagnóstico (Faust, 1981)

2.3.- Análisis de la planta

El empleo del análisis químico de una planta como método de diagnóstico no es nada nuevo. Fue usado por el químico alemán Liebig hace más de un siglo, para evaluar la fertilidad del suelo. Desde entonces, se ha venido usando ampliamente para evaluar el estado nutricional de los vegetales (Lundergårdh, 1951; Chapman, 1966; Bergman y Neubert, 1976; Molina, 1982; Jones et al., 1991; Valenzuela et al., 1993). Los investigadores más antiguos emplearon la planta completa para realizar sus análisis, en tanto que los investigadores actuales prefieren, generalmente, determinadas o sólo algunas partes de la planta para obtener información referente a su actividad metabólica, como por ejemplo hojas, peciolo, cortezas, raíces, frutos, yemas, todo ello muestreado en etapas muy concretas y estableciendo escalas o niveles de actividad y concentración de iones en dichas partes de la planta.

Tras el análisis del tejido vegetal, el fundamento existente es que la concentración o contenido de nutrientes, fracciones de éstos, y la actividad enzimática de una parte u órgano específico de la planta, refleja el estado nutricional de ésta y por lo tanto su capacidad de crecimiento. Las técnicas utilizadas están orientadas a dar una medida directa de los nutrientes que la planta ha absorbido desde la solución del suelo o el cultivo hidropónico más que a valorar el aporte de iones en el medio de cultivo. Sin embargo el análisis de la planta y del medio de crecimiento están, a veces, relacionados entre sí.

Es importante comprender lo que implica la expresión "estado nutricional de la planta". Como los elementos esenciales, y algunos que no lo son estrictamente, pueden influir en los procesos específicos del crecimiento, el estado nutricional debería abarcar la consideración de una amplia escala de nutrientes y la manera en que se relacionan entre sí. Además, los valores obtenidos también están influidos por la forma en la que se recogen las muestras y por las interacciones con los factores ambientales (Leaf, 1973; Guzmán et al., 1984).

2.3.1.- Órganos o tejidos analizados

Cuando los científicos del siglo pasado comenzaron a darse cuenta de que los elementos minerales existentes en la planta eran captados del suelo en el que ésta crecía, creyeron lógico suponer que el análisis químico del vegetal podría usarse como método para valorar el aporte de nutrientes que necesitaba el suelo para soportar a la planta. La mayoría de los trabajos referentes al análisis químico de las plantas fue potenciado por el deseo de desarrollar técnicas que pudieran suplantar o incluso sustituir al análisis del suelo.

La idea de usar el análisis de las plantas para determinar las necesidades de nutrientes del suelo ha dominado el área de la nutrición vegetal durante mucho tiempo. En los dos últimos decenios han aparecido gran cantidad de trabajos experimentales que han provocado un cambio gradual pero fundamental, en la forma de pensar, ya que se ha puesto de manifiesto que en muchas situaciones, y para una gran variedad de especies vegetales, la composición química de sus órganos o de sus tejidos puede reflejar directamente el estado de los nutrientes o las necesidades por parte de las plantas (Heinen et al., 1991).

En la elección de un órgano para su análisis pueden usarse distintos criterios, pero generalmente los más importantes son la sensibilidad de la respuesta y la estabilidad hacia los factores que no sean el abastecimiento del nutriente en cuestión que se esté tratando. Un cambio en el abastecimiento de los nutrientes puede afectar de forma acentuada la morfología de la planta, y por lo tanto, alterar la proporción de la materia seca distribuida en los diferentes órganos. Es importante que ésto no deteriore la correlación entre el contenido de nutrientes y el crecimiento o producción (Jones et al., 1991).

Recientemente, y quizás como resultado de los avances en el conocimiento y entendimiento de los papeles y funciones que ejercen los elementos minerales, se están desarrollando nuevas metodologías que difieren, en principio, de las técnicas analíticas. Éstas se basan en cambios fisiológicos o bioquímicos específicos, provocados por deficiencias o, alternativamente, en respuestas específicas inducidas en las plantas o en sus tejidos mediante la adición de los elementos deficientes (Usuda y Shimogawara, 1991).

Se ha demostrado que el análisis foliar, aplicado a árboles, es sensible para detectar deficiencias o toxicidades y también presenta la ventaja de estar directamente relacionado con la productividad (Robinson, 1980), pues la hoja es el lugar donde se realiza el proceso fotosintético. Los factores que influyen en su precisión han sido estudiados en profundidad.

2.3.1.1.- Análisis de la hoja

Los elementos nutritivos minerales reaccionan unos con otros, tanto en la biosfera como después de ser absorbidos por la planta, produciendo complejos fenómenos de sinergismo y antagonismo.

De todo ésto se deduce que es necesario conocer, como primera medida, el gradiente nutritivo de un cultivo y lograr posteriormente un estado óptimo de nutrición, de acuerdo con los fines de calidad y rendimiento perseguidos. En este sentido, el análisis químico de tejidos juega un papel fundamental ya que, entre otros aspectos, se pueden lograr mejores conocimientos sobre los elementos nutritivos, las cantidades y especies químicas que se encuentran en la planta y en el suelo, su absorción y movilización, su distribución a lo largo del ciclo vegetativo y reproductivo, así como el papel que desempeña cada elemento y su utilización final.

El análisis de tejidos, basado en un método apropiado de recolección de muestras y una correcta interpretación de los datos analíticos, es útil, además, para confirmar los síntomas de deficiencia o exceso de elementos esenciales para la planta y evaluar los existentes en el suelo. Según Lunderghårdh (1951), las bases fisiológicas del análisis dependen de dos procesos generales, como son la absorción y distribución de minerales por la planta y la relación cuantitativa entre elementos absorbidos y crecimiento. Además, este sistema de trabajo debe basarse en unas consideraciones fundamentales (Fernández, 1966). Un ejemplo de ellas sería que en un medio homogéneo y bajo iguales factores externos, hojas fisiológicamente homogéneas (de la misma edad) dan los mismos resultados analíticos. Sin embargo, hojas de plantas de la misma especie, cultivadas en medios desiguales o sometidas a factores externos distintos, tendrán, en general, diagnósticos foliares distintos. Si las plantas muestran respuestas a diferentes medios, factores o tratamientos con fertilizantes (usando como criterio, por ejemplo, el desarrollo o rendimiento), dichas respuestas se verán reflejadas automáticamente en la composición química de la hoja. Por tanto, como los diagnósticos foliares están sujetos a variaciones de origen externo, como clima, suelo u otros, no es posible utilizar, en sentido absoluto, los valores obtenidos. Estos valores podrán tener utilización práctica cuando se usen hojas del mismo tipo, de la misma ubicación en la planta, de la misma especie y cultivadas en condiciones similares en cuanto a factores externos.

Las concentraciones de nutrientes en hoja, y en etapas específicas del crecimiento, se usan como índice del nivel nutricional en planta. El análisis se basa en la opinión de que la hoja es el laboratorio donde transcurre la mayor parte de la actividad metabólica, que los cambios en el suministro de iones se reflejan en la composición de nutrientes de la hoja, que estos cambios son más pronunciados en algunas etapas del crecimiento que en otras y que las concentraciones de nutrientes de la hoja, en ciertas etapas del crecimiento, están relacionadas con el rendimiento o desarrollo de la planta y el rendimiento de la cosecha. Trabajando en base a estos principios, es posible determinar, de manera experimental, la fase óptima de desarrollo de la planta y la posición de la hoja que refleje el nivel nutricional de la planta para luego cuantificar las escalas o niveles nutricionales de la hoja que estén asociados a deficiencias (síntomas presentes), deficiencias sub-clínicas o deficiencias ocultas (ausencia de síntomas), niveles críticos (cerca de la suficiencia) y toxicidad (Guzmán, 1987).

Los niveles críticos de nutrientes en hoja, como los definió Ulrich (1948) son "la escala de concentraciones a la cual el crecimiento de la planta es restringido en comparación con el de las plantas a un nivel superior". Más tarde, el mismo autor (Ulrich, 1952) redefinió la concentración crítica como "la concentración de nutriente a la cual es justo deficiente para el crecimiento máximo". Los valores críticos de nutrientes en hoja y los niveles de deficiencia establecidos por Ulrich y Hills (1967), se cuantificaron para la remolacha azucarera. Partiendo de dicho trabajo, se puede ver que la escala de concentraciones normales de nutrientes foliares en la remolacha es muy amplia. La experiencia muestra que plantas con una composición de nutrientes muy diferente dan rendimientos similares, si los nutrientes de la hoja están por encima de sus niveles críticos pero por debajo de sus niveles de toxicidad (Davis et al., 1978). Trabajos recientes han demostrado que los niveles críticos, y por lo tanto el rendimiento, difieren entre variedades, mostrando una gran diferencia de concentración entre las distintas variedades de melón (Sánchez et al., 1989), sandía (Vargas et al., 1989) o en otras hortalizas (Guzmán et al., 1990).

Loneragan y Snowball (1969) propusieron el término "necesidades funcionales de nutriente" para indicar la concentración mínima de iones dentro de la planta que puede sustentar sus necesidades metabólicas a tasas que no limiten el crecimiento. Usando soluciones nutritivas que fluían constantemente, encontraron que la necesidad funcional media de Ca presente en las partes vegetativas de las gramíneas y de las leguminosas oscilaban desde 1 a 2 mg/g en peso seco y que las praderas y cereales iban desde 0.5 a 1 mg/g de Ca en peso seco. Estos valores son mucho más bajos que los valores críticos del ion de lo que se dijo para el Ca (Guzmán, 1987), diferencia que los autores atribuyen a las condiciones de suministro del Ca.

2.3.1.2.- Análisis del peciolo

El análisis de nutrientes en material vegetal, a veces fresco, denominado "test de tejidos", se basa en el cálculo de los nutrientes extraídos de las hojas, tallos, peciolo, etc... Cuando a los vegetales se les suministran iones en gran cantidad, una proporción de éstos no queda totalmente integrada en el tejido y suele estar en forma soluble. Por ejemplo, muchas plantas acumulan NO en el tejido conductor y asimilador (Valenzuela et al., 1993) si el suministro de dicha forma nitrogenada excede a la capacidad de la planta para reducir NO (Schrader et al., 1968; Maynard et al., 1976; Smirnov y Stewart, 1985), si el Mo es el factor limitante (Notley y Wilson, 1960), o en plantas con deficiencias de Ca, Fe, Mn u otros nutrientes. De manera similar se acumula el P inorgánico si el aporte de P excede a la demanda (Valenzuela et al., 1993). Por el contrario, si el suministro de nutrientes es restringido, la concentración de iones solubles en el tejido conductor decaerá (Guzmán, 1987). Estos cambios pueden ser controlados mediante el análisis de los tejidos o de la savia, y las concentraciones pueden ser comparadas con los valores establecidos para la parte apropiada de la planta y su correspondiente etapa de crecimiento.

En el análisis del tejido vegetal se han usado y se usan muchos disolventes para la extracción de nutrientes. Los extractantes empleados pueden ser: agua, ácidos minerales u orgánicos diluidos, compuestos reguladores o tampones como es el caso del "reactivo de Morgan". Estos análisis, o tests rápidos de tejidos, se llevan a cabo sobre extractos de pequeñas porciones de tejido conductor recolectadas de numerosas hojas. Sobre el extracto depurado se realizan las determinaciones analíticas correspondientes y los resultados se comparan con los valores previamente establecidos para cada cultivo, a diferentes etapas de crecimiento y asociados a síntomas visuales de deficiencia o toxicidad (Nicholas, 1953).

Nicholas (1957) indica que la aparente simplicidad de los test de tejidos puede dar lugar a confusiones, y es solamente mediante el estudio intensivo de cosechas cultivadas bajo condiciones de suministro iónico experimental como se pueden determinar los valores generales para el nivel normal y el de deficiencia o toxicidad. Esta labor requiere frecuentes tomas de muestras de diversas partes de la planta durante su ciclo biológico. Sólo entonces, se pueden usar los test de tejidos de manera satisfactoria para determinar el estado nutricional de las cosechas.

Syltje et al., (1972) emplearon los test de tejidos para identificar el nivel de NO, P, K, Mg y Mn en plantas de maíz y soja cultivadas en campo. Para cada determinación, se obtenía una cantidad de savia y jugo celular, procedentes de la maceración del nervio central (maíz) y peciolo (soja), que se depositó sobre tiras de papel de filtro previamente impregnadas con el reactivo identificador del nutriente correspondiente. El color desarrollado se comparó con el color óptimo apropiado. De esta forma se establecieron las concentraciones críticas de nutrientes presentes en el tejido conductor con respecto al NO, P, K y Mn, no siendo posible con el otro nutriente. Este método de campo demostró que eran factibles, con buenos resultados de utilidad práctica para el K en ambos tipos de cultivos.

Scaifer, en 1978, demostró que el método anterior era útil para mediciones rápidas de NO, K y Ca presentes en el tejido conductor, bien en el peciolo o en la base del tallo. El procedimiento puede realizarse en pocos minutos y en casi todas las especies vegetales.

Aunque para la determinación de nutrientes se emplee, generalmente, toda la hoja, la concentración en la materia seca del peciolo puede ser, ocasionalmente, muy diferente a la del limbo, por lo que la inclusión de los peciolos de diferente longitud puede dar resultados diferentes (Bould, 1961). A veces, el peciolo puede dar una mejor indicación del estado de nutrientes que el limbo. Ésto, sin embargo, puede ser cierto para unos elementos y no para otros. Así, por ejemplo, los peciolos dan un índice mejor del estado de K que el limbo foliar en uvas (Shaulis, 1961), lo que también se encontró para el K en moras, mientras que el N se comportaba de forma inversa (Bould, 1964). En la remolacha, los peciolos dan la mejor indicación del estado del N mientras que el limbo foliar es preferible para indicar el estado del S (Ulrich, 1961).

2.3.1.3.- Análisis del fruto

Una correcta interpretación del estado nutricional de la planta implica recurrir al análisis del fruto. Un desarrollo normal del fruto necesita un equilibrio entre los elementos minerales, ya que un suministro elevado de fertilizantes puede alterar tanto calidad como conservación (Herrero y Guardia, 1992)..

En manzana y pera, un exceso de N provoca un aumento de tamaño en el fruto, pero conlleva una pérdida de coloración y un incremento en la sensibilidad a las enfermedades además de una dilución de los niveles de Ca, lo que en pera la hace más sensible al empardecimiento interno (Herrero y Guardia, 1992).

En manzana, una dilución de los niveles de Ca produce el moteado de la manzana, caracterizado por depresiones en la piel, que se asocian áreas necróticas de la piel (Wills et al., 1976). En el caso del tomate, la deficiencia de Ca provoca la aparición de necrosis en el extremo de las flores cuando se está formando el fruto (Lyon et al., 1942).

Está claro que un bajo contenido en Ca en el fruto provoca empardecimientos y podredumbres, altera la senescencia y el fruto se ablanda y amarillea después de la recolección. Sin embargo, un exceso de Ca produce una acentuada pérdida del aroma y aumenta la presión osmótica celular, confiriendo una marcada dureza al fruto.

En cuanto al P, su deficiencia, aunque rara, provoca en el fruto una textura harinosa, cambios en la senescencia y una mayor sensibilidad a las bajas temperaturas, lo que unido a una deficiencia de Ca, favorece el empardecimiento y disminuye el tiempo de conservación tras la recolección, mientras que un exceso de P provoca alteraciones en la epidermis en el caso de manzanas.

Por lo que respecta al K, éste mejora la asimilación de clorofilas y la síntesis de azúcares, lo que incrementa el color y sabor del fruto, compensando, además el efecto negativo que puede ejercer el N. Un exceso de K provoca, en manzanas, un color rosado en el mesocarpio y altera el sabor, mientras que tiene un efecto antagónico con el Ca, ya que disminuye la concentración de sacarosa y almidón en fruto (Herrero y Guardia, 1992).

En manzanas, la deficiencia de B produce la suberificación del fruto, un acorchamiento del corazón y graves distorsiones en el fruto (Demetriades et al., 1963), mientras que en peras provoca depresiones superficiales del fruto, que se extienden a la pulpa junto con una suberificación de dicho tejido. Además, se produce un agrietamiento en los frutos afectados (Johnson et al., 1955). Sin embargo existe un virus (virus del hueso pétreo) que provoca efectos similares, con lo que una deficiencia de B sólo se puede confirmar mediante el análisis del fruto (Johnson et al., 1955).

2.4.- Factores que afectan a la concentración de nutrientes

La concentración de nutrientes en hoja está influida por el medio ambiente, el suministro de iones (Valenzuela et al., 1993), la edad y posición de la hoja (Guzmán et al., 1991), así como el tamaño y calidad del fruto (Vargas, 1987; Del Río et al., 1992). El N foliar y las concentraciones de P y K, generalmente disminuyen, mientras que las concentraciones de Ca y hasta cierto punto las de Mg, aumentan con la edad de la hoja (Guzmán, 1987). Los efectos posicionales y de edad sobre el porcentaje de N y Ca en las hojas de *Ribes nigrum* fueron estudiados por Bould (1955) más intensamente. Los factores estacionales y de otro tipo que afectan a la concentración de nutrientes foliares deberían tenerse en cuenta a la hora de interpretar los datos del análisis foliar como método de diagnóstico (Bates, 1971).

2.4.1.- Edad de la hoja

Smith (1962) afirma que "junto al suministro de elementos, la edad fisiológica del tejido es, probablemente, el factor más importante que afecta a la composición mineral de una especie dada", afirmación sobre la que parece haber un acuerdo general. El efecto de la edad del tejido sobre la concentración de nutriente puede estar notablemente afectado por cambios en el suministro de nutrientes, como por ejemplo por el abonado nitrogenado y su influencia en el ápice terminal (Ulrich y Hills, 1967). Smith afirma que esta tendencia no está alterada fundamentalmente por el suelo, el clima o los factores de cultivo, pero puede ser alterada por el nivel de suministro. Obviamente, el clima y los factores de cultivo pueden cambiar el modelo si afectan al suministro de nutrientes.

El contenido de nutrientes, en función de la edad, varía según la especie y según el nutriente. Cualquier método de análisis de plantas tiene que tener en cuenta los grandes cambios que se producen en el contenido de nutrientes en función de la edad y tiene que ser útil para predecir la necesidad de nutrientes. Por consiguiente, es importante que la edad fisiológica del tejido sea la misma en cada planta, campo o parcela de la que se haya tomado la muestra, independientemente del grado de deficiencia. Si se tuvieran que analizar plantas enteras de maíz deficientes en P y otras que tuvieran el P adecuado, ambas sembradas al mismo tiempo, la edad fisiológica media del tejido en las dos podría ser muy diferente. Como la presencia del P afecta a la tasa de crecimiento y al desarrollo de la planta, la planta deficiente podría tener tres hojas, mientras que la no deficiente tendría cinco. Las hojas más viejas de las plantas de cinco hojas serían fisiológicamente más viejas que las de las plantas de tres hojas, dando como resultado una edad media diferente para plantas deficientes y no deficientes. Guzmán et al. (1991) demostraron que la concentración de P en plantas hortícolas disminuye con la edad. Así pues, aunque cabría esperar que la planta deficiente fuera inferior en P a causa de la deficiencia, esto se compensaría por su menor edad fisiológica. Este cambio en la concentración de un nutriente en función de la edad es debido, probablemente, tanto al contenido cambiante del nutriente en un tejido dado con la edad, las hojas por ejemplo, como al cambio de las proporciones de ciertos tejidos en función de la edad, como por ejemplo un incremento en la proporción del tallo y una disminución en la proporción de tejido de la hoja. Loneragan y Snowball (1969) destacan que la

edad fisiológica es particularmente importante para el Ca y otros nutrientes que no se desplazan fácilmente en el floema. Cuando se suministra en dosis superiores a las necesarias, el Ca se acumula en el tejido. Si entonces se reduce el suministro, el tejido nuevo puede ser deficiente y quedar reducido el crecimiento, en tanto que en el tejido más viejo permanezca alta la concentración de dicho ion. A menos que el suministro de Ca a la planta haya permanecido constante durante todo el crecimiento, el análisis será, por consiguiente, significativo solamente si se usa tejido joven de una edad fisiológica común.

Una técnica de muestreo muy corriente usada por cierto número de investigadores con experiencia en el análisis de plantas es tomar muestras de las últimas hojas plenamente expandidas. Esta es, probablemente, una manera tan efectiva como cualquier otra de suministrar tejido de la misma edad fisiológica, tanto sobre plantas deficientes como sobre las adecuadamente fertilizadas (Guzmán et al., 1991).

Un ejemplo sería el grano ya desarrollado de *Avena sativa* (Piper, 1942), donde puede ocurrir que no sean de la misma edad fisiológica ya que puede ser que el grano no madure plenamente en plantas deficientes. Las plantas de avena deficientes, frecuentemente producen la mayor parte de las vainas vacías y por lo tanto sería de esperar que tuvieran un contenido de nutrientes diferente al de las plantas bien fertilizadas con granos grandes y de contenido alto en almidón. En los trabajos de Ingestad (1964), Rossell y Ulrich (1964), Saalbach y Judel (1966), probablemente el tejido escogido tendría la misma edad fisiológica en cada una de las muestras.

El tejido seleccionado para suministrar información, de igual edad fisiológica pero recolectado en fechas diferentes, puede sufrir cambios en su concentración iónica al ir avanzando la estación (Guzmán, 1987; Sánchez, 1977; Valenzuela, 1987; Vargas, 1987; Valenzuela et al., 1993). Por consiguiente, las concentraciones de nutrientes en las muestras solamente pueden ser interpretadas si está definida la fase de crecimiento en el muestreo. En cualquier caso, esto requerirá el muestreo de plantas deficientes y normales en momentos diferentes. Comúnmente se sugiere que para la mejor interpretación se debería tomar una serie de muestras durante una parte considerable de la estación de crecimiento.

Aunque la concentración de nutrientes en el tejido de la planta, cambia con la edad de la misma, existe duda respecto a si la concentración crítica cambia con la edad de ésta. Lorenz et al. (1964), Guzmán (1987), Lewis (1992) y Valenzuela et al., (1993) han llegado a la conclusión de que sí cambia. Lorenz et al., (1964) tomaron muestras del peciolo y nervio central de la cuarta hoja procedente del ápice en crecimiento de *Solanum tuberosum* a intervalos de dos semanas. Con ello mostraron la existencia de una rápida caída en las concentraciones de K, NO y PO⁻ solubles en ácido acético. Sin embargo, como las concentraciones de los nutrientes en el tejido, del que se ha tomado la muestra en diferentes etapas, están relacionadas con el mismo rendimiento final, no es posible determinar en qué momento o momentos, durante el periodo de crecimiento, son críticas las concentraciones en las plantas, mostrando la existencia de un modelo similar en la concentración de nutrientes con el tiempo. Ulrich y Hills (1967) sugieren que el "nivel de seguridad" de aplicación de fertilizantes es aquel que evita que el nivel de

nutrientes en la planta caiga por debajo del nivel crítico y sea demasiado tarde en la estación como para dar tiempo a una respuesta a las cantidades adicionales del nutriente en cuestión. En teoría, los conceptos de los primeros autores y de Ulrich y Hills (1967) son totalmente diferentes. Los primeros autores suponen una concentración crítica cambiante de nutriente en función del tiempo en un tejido determinado. Los segundos suponen una concentración crítica constante, pero concentración cambiante, de manera que el momento en que las plantas se hacen deficientes puede variar, pero no la concentración en el tejido seleccionado en el que se presenta la deficiencia. Aunque hay pocas razones para dudar de que la concentración crítica del nutriente en una planta completa cambie con la edad, parece ser cuestión abierta el que un tejido seleccionado por su edad fisiológica, en momentos diferentes de muestreo tiene o no una concentración crítica cambiante. Esta es una cuestión difícil de resolver y en la práctica no es de gran importancia. Los primeros autores y Ulrich y Hills (1967), aunque difieren en su concepto de nivel crítico, llegan a una respuesta similar respecto a lo adecuado de una particular concentración de nutriente en el tejido de la planta.

La composición de cada órgano o tejido cambia durante su desarrollo bajo la influencia de varios factores y para el total de la planta. Cada elemento presenta normalmente un patrón característico del cambio en un tejido dado a medida que se desarrolla, madura y finalmente envejece. Los datos que han sido tabulados por Guzmán et al. (1990) indican que las concentraciones de N, P y K en la materia seca, disminuyen siempre con la edad, mientras que otros como el Ca y el Mg aumentan normalmente.

El comportamiento de los micronutrientes, sin embargo, depende de la especie vegetal estudiada, y así tenemos que en habas, el Fe desciende con el tiempo, el Zn aumenta y el Mn permanece estable durante todo el ciclo (Sánchez et al., 1984). En plantas plurianuales, Fe y Mn aumentan sus concentraciones con el tiempo y el Zn permanece constante (Guzmán y Romero, 1985; Guzmán et al., 1986b; Romero, 1986).

Estas diferencias reflejan, probablemente, las variaciones en la movilidad. Los cambios de desarrollo con respecto a las hojas han sido extensamente estudiados para muchos cultivos, por ejemplo, manzana (Reuther y Boyton, 1939), melocotones (Epstein y Lilleland, 1942), naranjas (Jones y Parker, 1950; Smith y Reuther, 1950), moras (Bould, 1961), nogal (Guzmán et al., 1984b), castaño (Guzmán et al., 1986b) y hortalizas (Guzmán, 1987). Emmert (1959) concluyó después de una revisión de la literatura, que unos conocimientos de ese tipo pueden ayudar a seleccionar el mejor momento de muestreo para un análisis de tejidos. En general, existen tres o más periodos de crecimiento distintos. En el primer periodo, cuando las hojas se están expandiendo rápidamente, los cambios en la concentración y las variaciones de un día para otro pueden ser bastante grandes. Cambios importantes también ocurren al final de la estación de crecimiento, cuando el envejecimiento está acompañado por la reorganización de los elementos móviles a los tejidos leñosos. El periodo intermedio es de estabilidad relativa y puede durar de 3 a 6 meses. La mayoría de los diagnósticos estandarizados para los árboles frutales han sido desarrollados para hojas de esta edad (Romero, 1986). En algunos casos es posible reducir la variación debida a las diferencias en la edad de la hoja muestreando hojas de la misma edad

fisiológica, por ejemplo las más jóvenes y totalmente maduras o las hojas expandidas. Ésto es muy útil al comparar tratamientos nutricionales o durante los muestreos que tienen lugar en la estación de crecimiento.

La selección del criterio está totalmente gobernada por consideraciones de variabilidad, reproducibilidad y la necesidad obvia de obtener una indicación fiable del estado de los nutrientes en la planta, cultivo o árbol. Así Guzmán et al. (1990), concluyeron que para hortícolas, la posición de las hojas más apropiada y el tiempo de muestreo más conveniente eran aquellos en los que las variaciones de la composición de la hoja eran las menores. Los mejores tejidos no son necesariamente los que muestran mayores diferencias en composición. Además, los tejidos óptimos y las condiciones varían entre elementos y necesitan ser estudiados separadamente.

En árboles perennifolios, cuyas hojas tienen diversas edades fisiológicas es, con frecuencia, diferente la concentración iónica, pero se acepta generalmente que la hoja es la herramienta más útil para el diagnóstico nutricional (Leaf, 1973; Sánchez, 1985). Generalmente, se admite que la fronda, y por lo tanto sus hojas, presenta concentraciones altas y existe una baja diferencia entre árboles (Lowry y Avard, 1969; Mead y Will, 1976), aunque esto no es invariablemente cierto para todos los iones y en todas las posiciones de la copa (Evans, 1979). De manera similar, Comerford (1981) encontró que los niveles de K, en árboles deficientes, diferían dependiendo de donde se recolectaban las hojas, presentando la anomalía de una mayor diferencia en las concentraciones de dicho ion entre árboles cuando el análisis era realizado en hojas jóvenes y presentando unas diferencias mínimas si eran hojas seniles. Por ello, dicho autor ha sugerido que como la alteración nutricional da como resultado el desplazamiento de elementos móviles desde hojas viejas a jóvenes o normales, realizando el análisis de hojas viejas tendríamos una mejor indicación de dicha alteración iónica. Sin embargo, la concentración de nutrientes en hojas seniles no siempre da la mejor correlación con el crecimiento (Van den Driessche, 1974) y en condiciones nutricionales graves las hojas más viejas pueden llegar a caer. Con los elementos inmóviles (Ej. Ca y B) es común que las hojas se empleen en el diagnóstico nutricional, ya que su deficiencia induce a la muerte o marchitamiento de dicho órgano y análogas consecuencias, se dan en la raíz, aunque ello puede presentarse a causa de interrupciones, incluso por breves periodos de tiempo, del suministro en ambos nutrientes (Van den Driessche, 1974).

La concentración iónica de las hojas parece que varía según su posición en la copa sea alta, baja o media y con la especie arbórea utilizada (Van den Driessche, 1974; Rodríguez, 1977; Evans, 1979). También puede que difiera con la edad de la fronda, pues Comerford (1981) encontró concentraciones diferentes de N, P y K cuando el follaje era joven, pero ninguna diferencia cuando la fronda tenía una edad de dos o tres años. Generalmente se acepta que, con las coníferas, las hojas procedentes de la parte superior de la copa son las que mejor indican el nivel nutricional y a veces el muestreo foliar se restringe a las ramas superiores de la copa (Raupach et al., 1969). La toma de muestras de la cima de la copa tiene la ventaja de ser fácilmente definida, aunque puede que no sea el lugar más fácil para tomar muestras. Sin

embargo, en algunos casos, las muestras procedentes de la parte inferior de la copa pueden ser definitorias del nivel nutricional (Madgwick, 1964; Stone y Leaf, 1967). El argumento contra dicho muestreo, especialmente en árboles de gran porte, es que la parte inferior de la copa puede estar mediatizada por las bajas condiciones de luz o nutrición. La parte inferior de la copa también estaría influida por la densidad del follaje, la cosecha y el volumen que ocupa la copa. Todo ello hace que la interpretación de los resultados sea difícil. Por otra parte, en árboles caducifolios las concentraciones de algunos nutrientes, pero no de todos, varían con la posición de la muestra en la copa y así, se considera que vale la pena normalizar el muestreo (Sánchez, 1985). Éste se realiza frecuentemente en la parte media o superior de la copa (Leaf, 1973; Ellis, 1975; Evans, 1979; Guzmán et al., 1984a y b). La variación iónica producida por la orientación, los cuatro puntos cardinales, de la copa no es generalmente significativa (Insley et al., 1981). En algunos árboles, por ejemplo *Platanus occidentalis*, el diagnóstico puede ser mejor mediante el análisis de los limbos foliares que utilizando los peciolo, e incluso foliolos determinados (Leaf, 1973; Guzmán et al., 1984c y 1986a). En todos los casos, una vez definida la metodología de muestreo, posición concreta en la copa, edad de la fronda, etc., el diagnóstico debería tener presente dichos criterios o la interpretación podría ser incorrecta (Raupach et al., 1969).

2.4.2.- Interacciones iónicas

La interacción iónica de los nutrientes, que incluye un cambio en la concentración de un elemento en el tejido de la planta causado por otro, es bastante común. Normalmente es difícil de entender, pero se ha de tener en cuenta en los diagnósticos basados en el análisis de las plantas. Un cambio en el contenido de un elemento invariable está acompañado por cambios secundarios en el contenido de otros elementos, incluso aunque no haya cambio en la disponibilidad de los nutrientes interaccionantes (Guzmán y Romero, 1985). Así, estas interacciones de nutrientes pueden ser positivas o negativas, o lo que sería igual, fenómenos de sinergismo y antagonismo. El antagonismo puede ocurrir durante la captación de iones, durante la translocación y la acumulación en los tejidos o en el metabolismo. Puede también entrar a formar parte de la competición entre dos o más elementos, pero también la precipitación de los nutrientes u otros fenómenos (Romero y Alvarez-Tinaut, 1984).

El antagonismo durante la captación puede ocurrir entre los cationes pero también entre los aniones. Ejemplos bien conocidos de antagonismo entre los cationes son aquellos entre el K y Ca, K y Mg, Fe y Mn, por mencionar sólo unos pocos (Smith, 1962; Bould, 1964). El abastecimiento de N en forma de NH_4^+ es antagónico a otros cationes, pero cuando se abastece en forma de NO_3^- puede competir con otros aniones, por ejemplo, PO_4^{3-} . Aumentando el nivel de K a los vegetales, se observa que se inducen deficiencias de Mg acompañadas de aumentos en la concentración de K en las hojas (Reuther et al., 1958; Ruhl, 1991). Inversamente, cambios en la concentración foliar de Mg vienen acompañados, normalmente, por cambios opuestos en el K de las hojas. Efectos antagónicos han sido ampliamente documentados para los micronutrientes. Altos niveles de Cu en el suelo pueden inducir deficiencias de Fe. Cultivos en maceta han indicado que altos niveles de Cu, Zn o Mn pueden inducir marcados efectos antagónicos entre pares de estos iones en las concentraciones de las hojas (Reuther et al., 1958; Hara et al., 1976).

El antagonismo durante la traslocación está causado normalmente por precipitación en los tejidos de las raíces o en cualquier lugar de la planta. El exceso de PO_4^{3-} en el entorno de la raíz provoca la precipitación del Zn y del Fe en los tejidos conductores, pudiendo provocar la clorosis férrica (Guzmán et al., 1986a) o el moteado de las hojas como señal de deficiencia de Zn (West, 1938). En ambos casos, parece ser que tiene lugar una precipitación de los elementos a niveles traza en forma de fosfatos. Otro caso de deficiencia de Zn inducida fue publicado para el trébol subterráneo que crecía en un suelo bajo en Zn. Un aumento en el abastecimiento de N, además de las fuentes de N, disminuía el contenido de Zn en los extremos. Ésto fue atribuido a la retención del Zn en las raíces como resultado de la formación de complejos inmóviles Zn-proteína (Dogar y van Hay, 1980). En cultivos hidropónicos, la concentración crítica de Zn en diversos tipos de trébol subterráneo, depende de la edad de las plantas y del abastecimiento de P. La severidad de la deficiencia de Zn está relacionada con la relación P/Zn y no con la concentración de Zn en los tejidos (Loneragan et al., 1979).

Existe otro tipo de interacción referida al denominado por Lundergårdh (1966) como pseudo-antagonismo o deficiencia inducida, la cual no implica una competición directa entre iones, y puede tener distintas causas. Un ejemplo corriente de este tipo de interacción se manifiesta cuando los elementos son deficientes pero diferentes en severidad. Así, por tanto, la deficiencia de un elemento está marcada por el más deficiente de todos. Cuando el abastecimiento de este último se aumenta, se logra un punto en el cual el primer elemento se hace más deficiente y entonces comienza a determinar la respuesta de la planta. Este principio es de una importancia considerable en la diagnosis basada en el análisis de las plantas y es frecuentemente referido como la "Ley del Mínimo". La interacción entre el N y el P es un ejemplo muy conocido (Bouma, 1961). En experiencias de campo diseñadas para aunar criterios para la detección de la deficiencia de S en cultivos de trébol subterráneo, Bouma et al. (1969) encontraron correlación entre los cultivos del campo y el S total o la concentración de SO en las hojas de los tréboles que estaban más altas en aquellos casos en que habían recibido más cantidad de fosfato. De forma similar, las correlaciones entre las respuestas en el campo a la aplicación de fosfato y la concentración total de P en las hojas de los tréboles eran más altas cuando las deficiencias de S habían sido corregidas. La implicación de estos ejemplos es, como dicen Chapman (1966) y Valenzuela et al. (1993), que el análisis de las plantas sólo puede detectar la deficiencia de un nutriente cada vez. También parece que, en general, el análisis del tejido de la planta para un sólo elemento tiene poco valor para el diagnóstico, al menos que se sepa que el abastecimiento de otros elementos es el adecuado.

La bibliografía sobre interacciones entre nutrientes es voluminosa y no hay duda de que pueden ser amplias y variadas tanto respecto a la captura de nutrientes como a su concentración en las plantas. Con la aplicación de 200 U.F. de N por hectárea, el rendimiento del maíz era bajo, como lo era el K de la hoja, indicando por tanto una deficiencia. Cuando se aplicaba K, el rendimiento aumentaba y disminuía la concentración de N, indicando así la deficiencia de éste, algo que no sucedía hasta que la adición de K había aumentado el rendimiento y, por consiguiente, la necesidad de N.

Aunque lo anteriormente expuesto es una simple ilustración de la ley del mínimo de Liebig, apenas se puede exagerar su importancia para el análisis de la planta. El análisis de una planta que sea deficiente en K (o algún otro nutriente, agua o luz), puede demostrar que tiene un adecuado suministro de N. Ésto no da indicación respecto a si el suministro de N sería limitante al aumentar el K. El análisis del suelo, aunque teniendo sus propias debilidades particulares, no se ve afectado por este problema y, por consiguiente, puede complementar el análisis de la planta.

Complicando aún más los problemas del análisis de las plantas, cierto número de investigadores han demostrado que un solo nutriente puede afectar, no solamente la concentración de otro nutriente de las plantas, sino incluso su concentración crítica. Ésto es particularmente cierto para diferentes nutrientes, cultivos y condiciones de cultivo. Existe una considerable discrepancia respecto a la importancia de esta interacción. No obstante, Jakobsen y Steenbjerg (1964) encontraron que las interacciones eran un problema tan importante que "la interpretación del análisis de la planta es fundamentalmente muy difícil y en la parte práctica frecuentemente será imposible dar solución correcta". Este punto de vista bastante pesimista no hay duda de que se parte del hecho de que estos autores analizaron el grano maduro y la paja, tejido que generalmente se creía que era inapropiado para diagnósticos objetivos. Bould (1964) y Romero (1992) destacan la importancia de considerar las interacciones de los nutrientes para determinar los niveles críticos. Mediante la inclusión de las interacciones de los nutrientes, Peck et al. (1969) pudieron mejorar su predicción del rendimiento de maíz y soja a partir del contenido de nutriente. Por otra parte, Smith (1962) afirmó que "la experiencia acumulada parece indicar que se pueden representar rangos o escalas bastante amplias de todos los elementos en muchas combinaciones sin alterar la conducta de la planta".

La mayor parte de los investigadores indudablemente reconocen la importancia de las interacciones de nutrientes en concentraciones extremas. El argumento de Smith (1962), parece ser el de que no son importantes si se trata de una escala bastante amplia de valores casi óptimos. Cierta número de curvas de respuesta presentadas para nutrientes aislados, por ejemplo las de Ulrich y Hills (1967), muestran una larga porción plana en la que la concentración de nutriente tiene poco efecto sobre el rendimiento. Sin embargo, los que han presentado datos procedentes de experimentos en los que se ha variado más de un nutriente, muestran escalas óptimas más estrechas (Miller et al., 1961). Cuando Bould (1964) puso en un gráfico el rendimiento frente a la concentración de K a diferentes niveles de Mg, obtuvo una brusca ruptura en la curva de respuesta y una parte plana bastante larga solamente cuando el Mg era limitante. Parece posible que haya solamente una amplia escala de concentración sobre la que no resulta afectado el rendimiento cuando algún otro nutriente, o el agua, es limitante.

López-Cantarero y Romero (1993) afirmaron que "el equilibrio de nutrientes se hace más crítico al aproximarse al nivel óptimo". Este punto de vista es totalmente opuesto al expresado por Smith (1962). Si es cierto, el rendimiento máximo solamente se puede obtener con una combinación bastante específica de nutrientes. También resulta importante disponer de

medidas bien exactas de las combinaciones críticas. Si lo que dice Smith (1962) es correcto, la exactitud es mucho menos importante.

En dos casos aislados los investigadores con larga experiencia en el análisis de plantas han sido capaces de evitar los efectos directos de las interacciones de nutrientes. Ulrich et al. (1959) encontraron que la concentración de Na afectaba a la concentración crítica del K en los peciolo de remolacha azucarera, pero no en las hojas, por lo que mediante el análisis de las hojas pudo evitar esta interacción. Clements (1964a), encontró que parecía haber una interacción N-K en caña de azúcar. No obstante, tanto las concentraciones de N como de K se vieron fuertemente afectadas por la humedad del tejido y la interacción N-K no era importante en la ecuación de regresión cuando se incluía la humedad del tejido como variable.

2.4.3.- Factores endógenos

La concentración de los nutrientes en los tejidos de la planta está fuertemente influenciada por el desarrollo del fruto o la cosecha (Guzmán, 1987; Valenzuela et al., 1993; López-Cantarero y Romero, 1993). En general, las concentraciones de N, Ca y Mg aumentan con la carga de frutos, mientras que la concentración de K normalmente disminuye. Los efectos en el P son variables. El quemado de la hoja, aumenta con el desarrollo de la cosecha. Existen también marcadas interacciones entre los efectos de la adición de los fertilizantes en el desarrollo del cultivo de naranjas Nave, debido a las aplicaciones de N, que fueron acompañadas por una disminución en la concentración de K en las hojas, incluso con un abastecimiento apropiado de K en el suelo (Groenewegen y Bouma, 1960). Ésto fue atribuido, por lo menos en parte, a la dilución, seguida de la respuesta del cultivo y del crecimiento al aporte de N. Sato (1961) consideraba que una disminución del K en las hojas, cuando aumenta el desarrollo de las naranjas Satsuma, se debía principalmente a la translocación del K a los frutos, posiblemente debido a que el fruto tenía unas necesidades relativamente altas de K. Relacionados con ésto pueden estar los hallazgos encontrados en Florida, donde ocurría una respuesta casi lineal en ascenso en relación con la caída de los frutos cuando el K en las hojas era menor del 0.8% de la materia seca (Wilson, 1961).

La composición de los nutrientes de las hojas también depende de su posición con respecto al fruto. En naranjas, por ejemplo, las concentraciones de N y P son, por regla general, más bajas en hojas próximas a los frutos que a los ápices, probablemente debido a que los frutos compiten por los nutrientes disponibles (Bouma, 1961). Por esta razón, las muestras de hojas se suelen estandarizar, algunos prefieren hojas de las proximidades de los frutos y otros de las partes vegetativas.

Otros factores que pueden afectar a la composición de los nutrientes en los tejidos de las plantas son las plagas y enfermedades, y éstas hay que tenerlas también en cuenta para evitar interpretaciones equivocadas de la composición de los tejidos. Los factores genéticos también pueden ser importantes (Vose, 1984; Clark y Duncan, 1991; Clark, 1991).

En árboles, la variación referida a cambios de la concentración iónica, ha permitido que se realicen cálculos del número de árboles que es correcto muestrear con el objetivo de detectar los límites de concentración, o dicho de otra manera, poder detectar las diferencias significativas o no entre tamaño de muestras determinadas y su error. Sobre ello han trabajado numerosos autores (Lowry y Avard, 1969; Mead y Pritchett, 1974; Ellis, 1975; Berglund et al., 1976; Mead y Will, 1976), llegando todos ellos a conclusiones análogas con respecto al coeficiente de variación que deben tener las concentraciones de los iones. Para la mayor parte de los macronutrientes y el Cu, la precisión obtenida debería ser del orden de ± 5 a $\pm 10\%$, pero para el Ca y otros micronutrientes es generalmente mayor, ya que la variación entre árboles para estos nutrientes también lo es (Knight, 1978). Algunas de las diferencias entre árboles pueden deberse a la forma de la copa, ya que las concentraciones mayores suelen encontrarse frecuentemente, sobre todo en árboles no cultivados, en plantas cuyo crecimiento está interferido por otras de mayor porte (Madgwick, 1964). Parece ser que hay pocas diferencias entre plantas dominantes o codominantes, y ello es debido, probablemente, a que no están interfiriéndose por la luz (Lowry y Avard, 1969). La recomendación más corriente, para objetivos de diagnóstico, es la de recolectar muestras de unos 10-20 árboles dominantes y codominantes, dependiendo de la densidad existente (Guzmán y Romero, 1985; Guzmán et al., 1986 a y b).

Knight (1978) encontró que durante el período vegetativo la mayor diferencia en las concentraciones de nutrientes en *Pinus radiata* estaba generalmente asociada a diferencias clónicas, aunque ello podía variar mucho desde un 2%, como en el caso del Ca, hasta un 48% para el B. Las diferencias clónicas tendían a ser constantes con el tiempo, de manera similar los árboles frutales tienden a mantener su concentración, de forma relativa, durante un ciclo de cultivo (Lowry y Avard, 1969). Sin embargo, se ha observado una interacción entre el período estacional y el clon de plantas plurianuales de pacana en el caso del K (Worley, 1977). Estas interacciones pueden ser corrientes si se tiene presente el origen de las plantas (Van den Driessche, 1974 y 1979). Goddard y Hollis (1984) publicaron una magnífica revisión bibliográfica donde se expone resumidamente los aspectos principales de las bases genéticas y nutricionales en plantaciones de árboles.

En el caso de plantas plurianuales cultivadas, es comúnmente aceptado el que las concentraciones iónicas óptimas varíen de una especie a otra (Chapman, 1966; Guha y Mitchell, 1966), aunque Kenworthy (1967) sugirió que esto no sucedería para todos los nutrientes.

Los cultivos de arbustos o árboles frutales varían considerablemente en su capacidad para extraer nutrientes del suelo o del medio de cultivo (Reuther y Smith, 1954; Vose, 1963; Epstein y Jeffries, 1964). En esta variación tiene poco efecto el análisis de la planta como técnica de diagnóstico, a menos que el cultivar se cambie de un año a otro. En este caso, una indicación sobre la aplicación de fertilizantes basada en el análisis de un solo cultivar de un año dado, puede que no fuera apropiada para un segundo cultivar al año siguiente. Las diferencias entre cultivares en su capacidad para absorber nutrientes (Vose, 1963) pueden afectar a la utilidad del análisis del suelo. Sin embargo, ya que el valor nutricional podría cambiar con el cultivar, este factor

generalmente se ignora, pero es un ejemplo de las diferencias existentes entre el análisis de la planta y el suelo que les lleve a complementarse uno con otro (Reuther y Smith, 1954).

En el análisis foliar, una cuestión importante es si los diferentes cultivares de una especie, varían en la concentración crítica de cualquier nutriente en planta. Reuther y Smith (1954) sugieren que, aunque la absorción de nutrientes varía ampliamente entre cultivares, la concentración crítica probablemente no lo haga. Clements en 1964 afirmó que "obviamente el nivel crítico puede variar notablemente de un mes a otro y de una a otra variedad". Kenworthy (1967) emplea un valor "general" diferente de N para ciertos cultivares de manzana que para otros, representando como valor "general" un valor medio de las "plantas buenas". Kessler (1961) mostró en su trabajo diferencias significativas en las concentraciones críticas de Zn para dos cultivares diferentes de manzana. Las diferencias encontradas por Kessler (1961) en el nivel crítico, darían como resultado un gran error si los valores determinados para un cultivar se usaran para otro.

2.4.4.- Factores exógenos

El tiempo varía, no solamente de una zona a otra, sino en cualquier momento de un año a otro, de semana en semana, e incluso de un día para otro. El tiempo y las variables afectadas por el tiempo, tales como la humedad del suelo, tienen dos formas de afectar al análisis de la planta como instrumento de diagnóstico. Puede que afecten a la concentración de nutrientes en el momento en que se tomen las muestras de la planta, y posteriormente puede afectar a la respuesta a los nutrientes aplicados. En este sentido, el análisis de la planta es más vulnerable que el análisis del suelo, ya que la mayoría de los análisis del suelo no están afectados de forma apreciable por las condiciones ambientales antes o durante el muestreo (Mitchell, 1964).

Debido a que las condiciones ambientales varían durante cortos períodos de tiempo, afectarán a la validez del análisis de la planta si alteran la concentración de nutriente en la toma de muestras, tanto si afectan a la concentración crítica como si no lo hacen. Cierta medida del efecto de las condiciones ambientales sobre el contenido de nutrientes en un área dada es suministrada por la variación de un año a otro en la concentración de nutrientes en plantas uniformemente fertilizadas. Cierta número de autores que han investigado sobre la variación de un año a otro en el contenido de nutrientes, han considerado las condiciones ambientales como una causa principal (Christensen, 1969; Melsted et al., 1969).

Los efectos del cambio en la humedad del suelo sobre las concentraciones de los nutrientes en los tejidos de las plantas son complejos. Algunos de los efectos propios de una humedad excesiva son una pérdida de nutrientes por drenaje, erosión y una disminución de la disponibilidad de algunos elementos debido a la falta de aireación (Waldleigh y Richards, 1951). Algunos elementos pueden hacerse más disponibles debido a los procesos de reducción en un suelo poco aireado, por ejemplo, Fe y Mn. La captación de los nutrientes, particularmente de los aniones, puede verse también reducida por una falta de oxígeno en los suelos saturados. Cambios en la aireación pueden afectar a la morfología de las raíces.

En general, todos estos factores pueden influenciar la concentración de los nutrientes en los tejidos de las plantas, dependiendo de la intensidad en la que afecten a la captación de los nutrientes, utilización y crecimiento.

Las publicaciones en relación con los efectos de bajos niveles de humedad edáfica sobre la concentración de los nutrientes en la planta son conflictivos. Waldleigh y Richards (1951) concluyen que, para un determinado nivel de fertilidad, la disminución de la humedad del suelo causa un aumento en la concentración de N en el tejido de la planta, una disminución en la concentración de K, y un efecto variable en P, Ca y Mg. Por otro lado, Williams y Shapter (1955) concluyeron que en cebada y centeno, la humedad hace aumentar las concentraciones de K, N, Mg y Ca en hojas, aunque los efectos del tratamiento en el centeno eran inicial y relativamente bajos. Ésto mismo fue comprobado para el caso de Cu y B en árboles (Guzmán et al., 1984c).

Lundergårdh (1951), con experimentos de campo y de invernadero demostró que diferentes grados de estrés hídrico alteraban la composición de N, P, K y Ca en avena. Sin embargo, llegó a la conclusión de que las correcciones para el suministro de humedad eran sólo necesarias en el caso del N y solamente cuando las condiciones del tiempo atmosférico eran muy escasas. Cierta número de investigadores (Finn y Mack, 1964; Doss y Scarsbrook, 1969; Seligman et al., 1992) han demostrado que la concentración de N en el tejido de la planta es superior con alto que con bajo estrés hídrico. Ésto parece concordar bastante bien para cierto número de cultivos, tanto en estudios de invernadero como de campo. Cannell et al. (1959), demostraron que las concentraciones de P, B y Mo en apio disminuían al aumentar el estrés de humedad ambiental mientras que aumentaban Ca, Mg y Mn. Hibbard y Nour (1959), demostraron que las concentraciones de P y K disminuían al aumentar el estrés de humedad. Con el P, las disminuciones llegaron a alcanzar el 56%, pero con Ca eran algo más pequeñas. Los autores dieron cierto número de referencias sobre este tema. Emmert (1959), también dio cierto número de referencias en relación con el efecto tanto de la sequía como del exceso de humedad sobre el contenido de nutrientes.

Stolzy y Letey (1964) y Grable (1966), en estudios sobre el oxígeno del suelo y la aireación del mismo, demostraron que la aireación del suelo, que con frecuencia está en función de la humedad del suelo, afecta la toma de nutrientes y su concentración en las hojas. Parece que el suministro de humedad al suelo e incluso la humedad relativa de la atmósfera, pueden tener efectos muy notables sobre el contenido de nutrientes de las plantas.

Las mayores velocidades de crecimiento de las plantas dependen de factores ambientales tales como la temperatura, la luz y el abastecimiento de agua. Cuando están presentes en niveles por debajo del óptimo para el crecimiento máximo o producción, cualquiera de estos factores se hace "limitante" y por tanto causan un requerimiento de nutrientes por parte de la planta. Como resultado, la concentración de nutrientes en la materia seca tiende a aumentar. En trébol subterráneo, expuesto a tres temperaturas (15°C día/10°C noche, 21°C/16°C, 27°C/22°C), y a dos niveles de P, dieron como resultado una respuesta mayor a dicho elemento, a temperaturas más bajas, con respecto al crecimiento. La concentración de P en toda la planta (hojas, peciolo)

y raíces) fue mayor a temperaturas más bajas y disminuía al aumentar la temperatura. Ésto ocurría a ambos niveles de P y también sucedía con S (Bouma et al., 1969).

Existe, de forma potencial, un límite donde un mayor aumento en la temperatura no causaría un posterior aumento de la concentración de los nutrientes y puede incluso causar una disminución. Ésto dependerá de la intensidad relativa a la cual tanto el crecimiento como la captación de los nutrientes es reducida con un descenso de temperatura. Zurbucki (1961), por ejemplo, indicó que las concentraciones de N, P y K de plantas de tomate que crecían a 12°C, eran más bajas que las de plantas que crecían a 20°C. A los 50 días de la recolección, había una diferencia de cuatro veces en el peso de la materia seca. En un caso como éste, una temperatura de 12°C era más baja que la óptima, la captación de los nutrientes tenía que reducirse en mayor medida que el crecimiento, resultando, por tanto, una disminución en la concentración de los nutrientes. Guzmán et al. (1984b), comprobaron que había una relación directa negativa entre temperatura y concentración de Cu en hoja para árboles frutales, mientras que era positiva en el caso del B.

La influencia de la luz en las concentraciones de los nutrientes es similar. En un experimento realizado con trébol subterráneo (Bouma y Dowling, 1969), con cuatro niveles de P, las concentraciones de P en todas las partes de la planta (hojas, peciolo y raíces) eran más altas bajo una intensidad de luz de 1300 J/m²/s que bajo 2600 J/m²/s. Estas deficiencias eran relativamente pequeñas a niveles bajos de P, pero aumentaban con el abastecimiento de P debido a la gran reducción de la respuesta de crecimiento con respecto al nivel más bajo de luz comparado con el nivel alto. Ésto sugiere que hay un requerimiento de P más bajo a bajos niveles de luz. En cerezos, valores críticos de N eran más altos en las hojas soleadas que en las que se encuentra en sombra (Proebsting y Kenworthy, 1954). La luz ejercía una acción positiva sobre la concentración de Cu y B en hojas de árboles frutales (Guzmán et al., 1984b).

Burr (1961) demostró que la temperatura del suelo y la intensidad de la luz afectan a la concentración de N en las hojas de caña de azúcar. Afirmó que la "concentración de los valores de N en hoja se alteraban mucho más debido a factores climáticos que al efecto de duplicar el contenido de N de la solución de cultivo". Aparecieron fuertes interacciones, encontrándose la concentración mínima de N en el momento de alta intensidad de la luz, hojas calientes y raíces frías; los valores máximos, para la raíces calientes, hojas frías y baja intensidad de la luz. Este autor encontró un efecto similar de la luz y la temperatura sobre la concentración de P. Se ha demostrado que la temperatura de la solución en un cultivo hidropónico o del suelo (Roberts y Kenworthy, 1956; Wallace et al., 1969) y la intensidad de la luz (Lange et al., 1959) afectan a la concentración de nutrientes en las plantas.

Se encontraron dos referencias que mostraron una relación entre la temperatura o la luz y las concentraciones críticas. Proebsting y Kenworthy (1954) encontraron que la concentración crítica del N era apreciablemente más alta en las hojas de cerezo (*Prunus cerasus*) a plena luz del sol, que con el 30 o el 50% menos de luz del sol. Ulrich (1964), mostró la existencia de

efectos de la luz sobre las concentraciones críticas del N en forma de NO en remolacha azucarera, pero consideró las diferencias demasiado pequeñas como para ser importantes.

Es posible que la importancia de la variación ambiental cambie de una región a otra, dependiendo del grado de variación y la escala sobre la cual se presenta. Se podría esperar que la variación de temperatura tuviera la misma importancia en áreas que estén en la media, tanto más frías como más calientes, que el óptimo para el cultivo particular. El suministro de humedad también es probable que sea más crítico en áreas donde sea, por término medio, deficiente o excesivamente grande. Con algunas excepciones, parece que el análisis de las plantas se ha usado con mayor éxito en zonas calientes naturalmente secas, donde se suministra la humedad mediante irrigación. En estas zonas, el suministro de humedad es controlado, la cantidad de luz solar es relativamente uniforme y la temperatura es frecuentemente casi óptima. En tales áreas sería de esperar que los efectos ambientales fueran de poca importancia.

Sin embargo, en muchas zonas de cultivo, el suministro de humedad puede ser menor del óptimo y variar ampliamente de año a año y de una semana a otra; las horas de luz solar pueden variar ampliamente y la temperatura puede fluctuar en una escala generalmente por debajo del óptimo. Bajo estas condiciones, la variación ambiental puede esperarse que afecte notablemente al uso del análisis de la planta.

Halais (1962) recomendó que se deberían tomar muestras de las plantas cuando sean adecuados el suministro de humedad y la aireación del suelo. Ésto parece ser un buen consejo, pero claramente coloca una restricción más en la toma de muestras y en años de sequía daría como resultado que no se tomaran muestras. La toma de muestras durante la sequía prolongada no es probable que suministre información útil para las predicciones de necesidades en un año con caída normal de lluvia en ningún caso, ya que la falta de humedad limita las necesidades de nutrientes mediante la limitación del crecimiento. Éste podría ser un problema muy grave en el uso del análisis de la planta en áreas de humedad deficiente.

Heeney y Hill (1961) han sugerido el uso de árboles standard que son uniformemente fertilizados y tratados durante largos periodos de tiempo. Las variaciones en la concentración de nutrientes de hojas procedentes de estos árboles, de un año a otro, se pueden usar para ajustar recomendaciones para otros cultivos. Esta técnica parece ser útil para eliminar el efecto de la variación climática, de un año a otro dentro de una zona climática y fue usada por Archibald (1964) con este objetivo.

Clements (1964b), trabajando con caña de azúcar, encontró que mediante la medida del contenido de las vainas de la hoja y usando éste en una ecuación de regresión múltiple, pudo compensar los efectos de la humedad del suelo sobre el contenido de nutrientes. Algunos autores han usado la regresión múltiple para hacer el ajuste respecto a efectos ambientales. Diversos tipos de ecuaciones matemáticas se están haciendo populares para otras fases de la producción de cultivos y puede que sean muy útiles como medio de describir las interacciones del contenido de nutrientes de la planta en relación con los factores ambientales.

Leaf (1973) y posteriormente Van den Driessche (1974) reconocen que existe cierta influencia destacada de los cambios estacionales en los niveles nutricionales. La importancia relativa de esta fuente de variación fue determinada en un estudio de Knight (1978), donde encontró que el Zn mostraba la mínima variación estacional y el Cu la mayor. Mientras que en *Nerium oleander* la máxima variación correspondía al Cu y la menor al Pb (Romero, 1986 b). Para la mayoría de las especies, las tendencias estacionales difieren notablemente entre nutrientes móviles (por ejemplo N, P y K) que presentan niveles bajos a mediados de verano y otoño (Tamm, 1951; Hoyle, 1965), mientras los inmóviles (por ejemplo Ca, Mg, B y Al) tienden a acumularse a lo largo de toda la estación de crecimiento (Mitchell, 1936; Proebsting y Brown, 1954; Emmert, 1959; Guzmán et al., 1984c). Se sabe que las hojas en expansión son un sumidero de iones y que una gran proporción de nutrientes móviles procede del tejido conductor y hojas en estado senil (Van den Driessche, 1984). La pérdida de nutrientes desde la hoja joven puede presentarse hacia el invierno, los nutrientes móviles tienden a tener un segundo incremento de concentración, pero antes de la abscisión foliar los nutrientes son generalmente retirados de dichos órganos (Lowry y Avard, 1969; Mead y Pritchett, 1974). Cuando los árboles tienen una alteración nutricional el redespazamiento iónico tiene una intensidad baja (Miller et al., 1979) y donde los niveles foliares de Al sean altos la translocación del P puede también ser inferior a la esperada (Mead y Pritchett, 1974). En las regiones donde los periodos de humedad y sequía están muy marcados, era de esperar un cambio en la concentración nutricional dependiendo de la estación, y ello se comprobó en frutales (Clements, 1964) y en *Eucalyptus deglupta* (Lamb, 1976).

Los niveles de nutrientes tienden a ser estables en otoño o invierno, de manera que estas estaciones han sido frecuentemente elegidas como periodos de muestreos para climas templados o fríos (Waring y Younberg, 1972; Leaf, 1973). En el caso de plantas caducifolias, es importante tomar las muestras antes de los primeros síntomas visuales característicos del otoño (Leaf, 1973; Lea et al., 1979 a y b). Sin embargo, lo mejor para detectar la máxima sensibilidad puede que sea tomar las muestras foliares cuando los árboles están sometidos a la máxima alteración nutricional y esto sucede, probablemente, inmediatamente después de que la mayor parte de las reservas nutricionales hayan sido movilizadas para el desarrollo vegetativo (Romero, 1986 a). Así pues, el final del verano ha sido recomendado para el caso de *Pinus radiata* (Mead y Will, 1976). Guzmán et al., (1984 a, b, c y 1986 a y b) sugieren que es mejor considerar el estadio fenológico más que los datos del calendario y que la recogida debería hacerse una vez que el limbo foliar estuviese plenamente expandido. Sin embargo, el momento óptimo para la toma de muestras puede variar de un nutriente a otro (Wells y Metz, 1963; Lowry y Avard, 1969; Mead y Will, 1976; Guzmán y Romero, 1985; Guzmán et al., 1986b). De manera similar, para *Eucalyptus deglupta* en las zonas tropicales, se sugirió que la mejor forma para detectar el nivel óptimo o adecuado de K era recolectar hojas en la estación seca y que para otros nutrientes (N, P, Ca, Mg, Zn, Cu, Fe y B) era más adecuada la estación húmeda (Lamb, 1976).

Un objetivo importante al realizar el análisis foliar es poder definir la región o lugar y la influencia de los tratamientos sobre el estado nutricional del vegetal. Sin embargo, algunos de los factores descritos anteriormente interactúan con el lugar o región donde se realiza el

tratamiento. Así pues, las tendencias estacionales en una especie, tal como *Pinus radiata* que muestra un modelo de crecimiento indeterminado, pueden variar de uno a otro lugar (Raupach et al, 1972; Mead y Will, 1976). En contraste, Lowry y Avard (1969) encontraron que las tendencias estacionales eran similares en lugares diferentes para *Picea mariana* y *Pinus banksiana*, especies que muestran un determinado modelo de crecimiento. En la práctica es fácil realizar correcciones en el tiempo de muestreo en especies que muestran tendencias uniformes, pero es más difícil con otras especies que no tienen tendencias diversas a menos que se puedan determinar o definir covariantes apropiadas para reducir tales efectos. Miller (1966), que estudió algunas especies de crecimiento indeterminado, encontró en *Pinus taeda*, que diversos factores climáticos influían en las tendencias estacionales, pero que la importancia de los factores climáticos diferían con el lugar o región, llegando a la conclusión de que sería difícil establecer niveles foliares que reflejen los niveles óptimos en cada especie, y según él haría falta realizar una investigación adicional sobre la manera de superar tanto la variación de año a año como entre estación y estación.

Tras la aplicación de fertilizantes, los niveles de nutrientes en las hojas frecuentemente aumentan. Si la planta ha permanecido largo tiempo en condiciones de carencia iónica, el incremento puede que sea grande y múltiple durante el primer año, pero inferior en los años posteriores (Mead y Gadgil, 1978). Tales cambios suelen estar asociados a grandes respuestas en la masa foliar, lo que en algunas situaciones puede conducir a disminuciones en las concentraciones iónicas debido a un proceso de dilución (Leaf, 1973). Es probable que aumente la variación entre árboles tras la aplicación de fertilizantes (Berglund et al., 1976).

Ambos factores, exógenos y endógenos, pueden incidir sobre el metabolismo de la planta alterando totalmente el resultado final. Por ejemplo: una excesiva utilización o aplicación de nutrientes, catiónicos (C^+) o aniónicos (A^-), induce a un desequilibrio tanto en la rizosfera como en el balance iónico de la planta y ésta pretende estabilizarse con la extrusión de H^+ u OH^- por medio de las raíces. Este fenómeno induce a la formación de carboxilatos o aniones ácidos orgánicos en el interior de la planta y a una basificación o acidificación del medio de crecimiento. Así mismo, cualquier alteración o práctica cultural, condiciones medio ambientales, etc..., inciden sobre el metabolismo de la planta y por lo tanto sobre su rendimiento.

2.5.- Fertilización diferenciada

2.5.1.- Efecto del Nitrógeno

Según la especie, el estado de desarrollo y el órgano, el contenido de N requerido para el crecimiento óptimo de la planta varía entre el 2 y el 5% del peso seco. Cuando el aporte no es óptimo, se retrasa el crecimiento, pasando el N desde las hojas maduras hacia áreas en crecimiento. Así aparecerían los síntomas típicos de la deficiencia de N, como sería acelerar la senescencia de las hojas viejas. Un aumento en el aporte de N, no sólo retrasa la senescencia y estimula el crecimiento, sino que también altera la morfología de la planta de una forma típica (Marschner, 1995), particularmente si la disponibilidad de N es alta en la zona radicular durante

el crecimiento inicial. Un incremento de la razón tallo/raíz en materia seca con aumentos en el aporte de N ocurre tanto en plantas anuales como en perennes (Olsthoorn et al., 1991c). Este aumento de la razón puede ser igual de grande en términos de longitud (Klemm, 1966), cambio que es desfavorable para la adquisición de nutrientes y agua desde el suelo en posteriores etapas del crecimiento.

En cereales, el aumento de la elongación del tallo por N provoca un incremento en la susceptibilidad al acamado. Este cambio en la morfología del tallo es menor con una fertilización nitrogenada en forma de amonio que en forma de nitratos (Sommer y Six, 1982) y está relacionado, presumiblemente, con los cambios inducidos por el N en el balance de las fitohormonas. En cereales, este efecto del N sobre la elongación del tallo puede ser el factor limitante dominante en la cosecha, cuando la dosis de fertilizantes nitrogenados aplicadas fueron altas.

El N altera la composición de las plantas mucho más que cualquier otro nutriente mineral. Así, la producción de materia seca de tréboles aumenta con el N en una respuesta típica. A su vez, el contenido total de N aumenta, pero el de los dos carbohidratos principales que se almacenan en herbáceas, como son polifruetosanos y almidón, decrece drásticamente. En contraste con el contenido de carbohidratos, el de lignina en herbáceas puede aumentar bastante así como disminuyen los aminoácidos fenilalanina y tirosina, precursores de la síntesis de la lignina, con aporte alto de N (Kaltofen, 1988). Sin embargo, parte de este aumento en el efecto sobre el contenido de lignina en tejidos maduros puede ser opuesto por el aumento en la formación de hojas nuevas, con el típico bajo contenido en lignina.

El cambio en la composición de la planta con aportes crecientes de N, refleja una competición por los fotosintatos entre varias vías metabólicas. Esta competición está modulada por factores internos y externos. Cuando el aporte de N es subóptimo, la asimilación de amonio incrementa tanto el contenido de proteínas como el crecimiento de la hoja. En este rango de concentración de N, la composición de la planta no cambia sustancialmente, pero la producción total de constituyentes de la planta por unidad de superficie, aumenta. Según aumenta el aporte de N, una alta proporción del N asimilado es almacenado, por ejemplo en forma de amidas, pero en plantas C₃ también puede almacenarse en los cloroplastos como Rubisco (Millard, 1988).

Altos contenidos de nitratos en ciertas especies y en ciertos órganos indican un desajuste entre aporte y demanda para el crecimiento. Estos altos contenidos en plantas, al ser cosechadas, no serían rentables en términos de utilización de N y también serían indeseables nutricionalmente. Los nitratos se pueden formar a partir de nitritos durante el almacenamiento de los vegetales. Para eliminar los altos contenidos de nitratos en la cosecha se han efectuado diversos procesos, como el ajuste del aporte de N durante el periodo de crecimiento, reemplazo parcial de nitratos por cloruros (Alt y Stüwe, 1982) o amonio (Van der Boon et al., 1990), mejor control del N aportado desde la reserva del suelo y los fertilizantes y, en general, utilización del conocimiento disponible de la acumulación de nitratos en planta (Breimer, 1982).

En cereales, se necesita un alto contenido en proteínas en grano para la calidad y la nutrición. Aumentos en el aporte de N a la raíz, sin embargo, afectan fuertemente el contenido de N en granos indirectamente vía retranslocación desde las zonas de crecimiento, pudiendo ésto tender al acamado y al sombreado. Estas complicaciones pueden ser superadas por la aplicación tardía de N después de la antesis, tanto por aplicación foliar como en el suelo. Además, después de la aplicación en el suelo, mucho de este N se desvía hacia las hojas y es translocado directamente como amidas y aminoácidos hacia los granos en desarrollo (Michael et al., 1960). En trigo o cebada, sin embargo, el incremento correspondiente en el contenido de proteínas del grano está relacionado con un descenso en el contenido de lisina, es decir, un descenso en la calidad nutricional de la proteína del grano. En cebada se produce una relación similar con el aporte suplementario de N y la concentración de proteínas y lisina, así como en avena y arroz, pero en este caso es el gluten el afectado negativamente.

Por lo que respecta a vegetales y frutos cultivables, los efectos del N en las tasas de crecimiento vegetativo y en la calidad son importantes. Si los cultivos han crecido con niveles de N insuficientes, el aspecto, el tamaño y la calidad del fruto se reduce, todo ello en función del grado de deficiencia de N. En cultivos como lechuga, espinaca, col y apio, donde la parte vegetativa de la planta es la económicamente importante, la reducción en la calidad se manifiesta con una drástica reducción de la producción y un deterioro del aspecto. Aumentando estos niveles de N, por debajo de los cuales existe un descenso en la producción, la mayoría de los cultivos de hoja se ven afectados muy débilmente. Cuando se produce una deficiencia de N, ésta provoca un incremento en el porcentaje de materia seca, por reducción en la succulencia, en cultivos como brécol, espárrago y coliflor, comenzando a ser fibrosos y menos sabrosos (Locascio et al., 1984)

En cultivos como pimiento y tomate, la reducción en el nivel de N produce una disminución del tamaño de la planta al reducirse la asimilación de carbohidratos (Pew y Gardner, 1972). Por lo que respecta a los frutos, tomate, pimiento, sandía y melón verán reducidos su tamaño, su número y su color en plantas deficientes de N si las comparamos con plantas con N suficiente (Locascio et al., 1984). Según Jones (1966), una disminución en el estrés de N en la mayoría de las plantas, está acompañado de un incremento en el color verde y en el tamaño de la hoja, y de la planta en general.

Como sucedía en cereales, incrementos en el aporte de N dan como resultado más cantidad de proteínas pero también una reducción en algún aminoácido esencial. Así por ejemplo, en espinacas, el incremento de N provoca un aumento en el contenido de proteínas y un descenso en el nivel de metionina (Arthey, 1975). Por lo que respecta a la succulencia, ésta es, generalmente, más importante que la composición y el sabor en hortalizas útiles por sus hojas, obteniéndose sólo bajo condiciones óptimas de cultivo. De esta manera, situaciones de deficiencia de N provocan un descenso en la succulencia y con ello en la calidad.

En lechuga se obtiene un óptimo de producción con niveles de aplicación de N de 150 Kg/Ha, aumentando significativamente el contenido de nitratos y disminuyendo el contenido de vitamina C. Según esto, lechugas cultivadas con bajos niveles de N y recogidas prematuramente, tienen un alto contenido en nutrientes y vitamina C (Sørensen et al., 1994). Para obtener lechugas de almacenaje con un alto contenido en materia seca, azúcares, vitamina C y bajo contenido en nitratos, el aporte de N y el tiempo de almacenaje han de ser lo menor posible (Poulsen et al., 1995). Sin embargo, en tomate, el alto contenido en sólidos solubles y materia seca se produce con la aplicación de altas tasas de N (Huett y Dettmann, 1991), obteniéndose un aumento de la producción total si las tasas de N aplicadas son moderadas (Papadopoulos y Khosla, 1993).

Por su parte, en patatas, el N aplicado afecta la producción y la calidad. Así, el N afecta al tamaño, producción, gravedad específica y color en fresco de la patata (Dahlemburg et al., 1990), disminuye el contenido de azúcares (Dahlemburg et al., 1990; Maier et al., 1994) y almidón (Tahtinen, 1978). En cuanto a la gravedad específica, existen datos referentes al efecto nulo (O'Sullivan, 1978) o negativo (Laurence et al., 1985) por parte del N, aun cuando el efecto sobre la producción sea positivo o negativo (Huett y Dettmann, 1991). Niveles de N entre 75-100 y 225-250 Kg/Ha aumentan (Mondy et al., 1979) o disminuyen (Shukla y Singh, 1976) el contenido de ácido ascórbico, dependiendo de la variedad y las condiciones de cultivo. En cuanto al contenido de micronutrientes, la fertilización nitrogenada parece no tener efecto sobre ella (Laughlin, 1971). Sin embargo, una fertilización diferenciada N, P, K provoca aumentos iniciales en el contenido de N, K y Mn, aunque aplicaciones posteriores disminuyan dichos contenidos (Füleky y Kovacs, 1993).

Por otra parte, en remolacha el fertilizante nitrogenado produce un aumento directo de materia seca de las partes superiores (Carter y Traveller, 1981). Altos niveles de N incrementan la tasa de producción de hojas respecto al peso seco en raíces pero el total no se veía afectado (Greenwood et al., 1980).

En vegetales, la excesiva aplicación de N provoca una pérdida general del sabor y una disminución de los sólidos solubles (Arthey, 1975), a la vez que se ve afectada la duración del almacenaje, reduciéndose. Como en vegetales, la capacidad de almacenamiento y la calidad de los frutos se ve influida por el exceso de fertilizante nitrogenado (Locascio et al., 1984; Herrero y Guardia, 1992). Elevados niveles de N interfieren con la nutrición de otros nutrientes como el Ca, causando pérdidas en el almacenamiento por desórdenes fisiológicos más o menos importantes (Bramlage et al., 1979) o bien presentar antagonismo con K y Ca, provocando una mayor sensibilidad a enfermedades (Herrero y Guardia, 1992).

2.5.2.- Efecto del Fósforo

Los requerimientos de P para un crecimiento óptimo están en un rango entre 0.3 y 0.5% de la materia seca de la planta durante el estadio fenológico de crecimiento. La probabilidad de toxicidad por P aumenta con contenidos superiores al 1% en materia seca. Sin embargo, muchas legumbres tropicales son demasiado sensibles y la toxicidad aparece con contenidos en el tallo de entre 0.3-0.4% de P en materia seca como en el caso de *Cajanus cajan* L. Huth. o entre 0.6-0.7% como en *Vigna mungo* (Bell et al., 1990). Los síntomas externos que denotan estados carenciales de P durante la etapa vegetativa, suelen aparecer primero en las partes bajas y hojas más viejas de la planta, cuando aun las partes altas y ápices no muestran carencia. Cuando ésta aun no es muy acusada, las hojas bajas adquieren una coloración oscura, casi azulada, con tinte bronceado y manchas rojas o púrpuras que comienzan por el ápice y los bordes. En las hojas se forman ondulaciones y en estados más avanzados se desecan y viran al negro (Urbano, 1991). La expansión de la hoja está fuertemente relacionada con la extensión de las células epidérmicas y éste proceso puede estar particularmente emparejado con la deficiencia de P en plantas por varias razones, por ejemplo, bajo contenido de P en células epidérmicas (Treeby et al., 1987) y descenso de la conductividad hídrica de la raíz (Radin, 1990). En contraste con la severa inhibición de la expansión de la hoja, los contenidos de proteínas y clorofila por unidad de área en hoja no se ven muy afectados (Rao y Terry, 1989). Con frecuencia, los contenidos en clorofila aumentan incluso bajo deficiencia de P (Rao y Terry, 1989), y las hojas tienen un color verde oscuro ya que la expansión celular y foliar están más retardadas que la formación de cloroplastos y clorofila (Hecht-Buchholz, 1967). Sin embargo, la eficiencia fotosintética por unidad de clorofila es mucho menor en hojas deficientes en P (Lauer et al., 1989).

En contraste con el crecimiento de los tallos, el crecimiento de la raíz está mucho menos inhibido bajo deficiencia de P, tendiendo a un descenso típico de la razón tallo/raíz en materia seca. En judía, esta razón desciende desde 5 en plantas crecidas con P suficiente a 1.9 en plantas deficientes en P. Como norma, el descenso de la razón tallo/raíz en materia seca en plantas deficientes en P se relaciona con un incremento en la concentración de carbohidratos hacia las raíces, indicado por un aumento considerable en el contenido de sacarosa particularmente en raíces de plantas deficientes en P (Khamis et al., 1990). En plantas de judía deficientes en P, del total de carbohidratos por planta, el 22.7% estaba en las raíces, comparado con el 15.7% en plantas crecidas con P suficiente. La deficiencia de P puede aumentar la tasa de elongación de las células individuales así como de la raíz en conjunto (Anuradha y Marayanan, 1991). En *Stylosanthes hamata* bajo condiciones de deficiencia de P, el crecimiento del tallo decrece rápidamente, pero las raíces continúan creciendo, no solo porque retienen mucho P sino también por la translocación adicional de P desde los tallos hacia la raíz (Smith et al., 1990).

A pesar de estas respuestas adaptativas a un aumento de la adquisición de P por las raíces, no solo se retrasa el crecimiento de los tallos por la limitación de P sino también la formación de órganos reproductivos. Se retrasa la iniciación de la flor (Rositer, 1978), disminuye el número de flores (Bould y Parfitt, 1973) y se restringe la formación de la semilla

(Barry y Miller, 1989). Otro factor limitante de la producción de semillas en plantas deficientes en P es la senescencia prematura de las hojas.

En soja, por ejemplo, el aumento de la senescencia de la hoja y también la prematura caída de la hoja puede ser revertida no sólo por un incremento en el aporte de P a la raíz, sino también por una inyección de P en el tallo (Grabau et al., 1986), lo que induciría a una limitación de la producción de semillas.

En cereales, con una deficiencia moderada de P, la limitación de dicha fuente puede ser también el factor dominante para la producción de grano. En trigo, estas relaciones son particularmente llamativas para la caída del borde de la hoja, que puede variar entre el 51 y el 89% del P encontrado en grano al recogerlos (Batten et al., 1986). En plantas deficientes en P, estas hojas tienen una senescencia rápida y su actividad fotosintética próxima a cero, teniendo los granos sólo el 60% de su material seco potencial. Así, la reducción de la producción final es de un 40% y la del contenido en P de un 75%.

2.5.3.- Efecto del Potasio

Al igual que el N, el K es el nutriente mineral que se necesita en mayor cantidad para las plantas. El requerimiento de K para el crecimiento óptimo de la planta es del rango de 2-5% de la materia seca de la planta, tanto en partes vegetativas, frutos como en tubérculos. En especies natrófilas, sin embargo, la necesidad de K puede ser mucho menor. Cuando el K es deficiente, se retrasa el crecimiento y se produce una traslocación de K desde las hojas. Bajo deficiencia severa, estos órganos se vuelven cloróticos y necróticos, dependiendo de la intensidad de la luz a la que las hojas estén expuestas (Marschner y Cakmak, 1989).

Cuando el aporte de agua al suelo está limitado, la pérdida de turgor y la sequedad son síntomas típicos de la deficiencia de K. La baja sensibilidad al estrés hídrico de plantas crecidas con K suficiente está relacionada con varios factores (Lindhauer, 1985):

a) el papel del K en la regulación estomática, que es el mayor mecanismo que controla el régimen hídrico en plantas superiores

b) la importancia del K para el potencial osmótico en vacuolas, manteniendo un alto contenido en agua en los tejidos, incluso bajo condiciones de sequía.

La baja sensibilidad al estrés hídrico en términos de producción de biomasa y producción puede ser también el resultado de altas concentraciones de K en el estroma, correspondiendo, por tanto, altas tasas de fotosíntesis.

Las plantas que reciben un aporte inadecuado de K son más susceptibles a los daños por heladas (Larsen, 1976), lo que, a nivel celular, se relaciona en algunos aspectos con la deficiencia de agua. En patata, el daño por heladas está inversamente relacionado con el contenido de K en hojas, por lo menos cuando el aumento de K está relacionado con un

aumento en la producción de tubérculos. Un aporte inadecuado de K es, por lo tanto, uno de los factores que aumentan el riesgo de daños por heladas.

Los cambios en la actividad enzimática y en los compuestos orgánicos que se producen durante la deficiencia de K son, en parte, responsables de la alta susceptibilidad de las plantas deficientes en K al ataque de hongos. Estos cambios en la composición también afectan a la calidad nutricional de los productos almacenados. Ésto es más obvio en frutos y tubérculos, que tienen una mayor necesidad de K. En calabacín, por ejemplo, la incidencia en los desórdenes en la maduración aumentan con un aporte inadecuado de K (Swiader et al., 1994) y en patatas, gran cantidad de parámetros de calidad se ven afectados por el contenido de K en los tejidos. Incrementando el aporte de K a las raíces, es fácil incrementar el contenido de K de varios órganos, excepto granos y semillas, que mantienen un contenido relativamente constante del 0.3% de materia seca. Cuando el aporte de K es abundante, puede darse el consumo de lujo, lo que puede interferir con la absorción y utilidad fisiológica de Ca y Mg.

La respuesta de la col al K aplicado en sistemas de cultivo intensivo (Sartain y Forbes, 1983) es de un incremento de la concentración de K en los tejidos y el efecto sobre la producción. Peck y Stamer (1970), observaron que cuando la nutrición con K era adecuada en coles, el oscurecimiento interno se producía en menor porcentaje. En tabaco, la fertilización con K, provoca un aumento en su concentración, en la concentración de azúcares y reduce la nicotina (Usherwood, 1985).

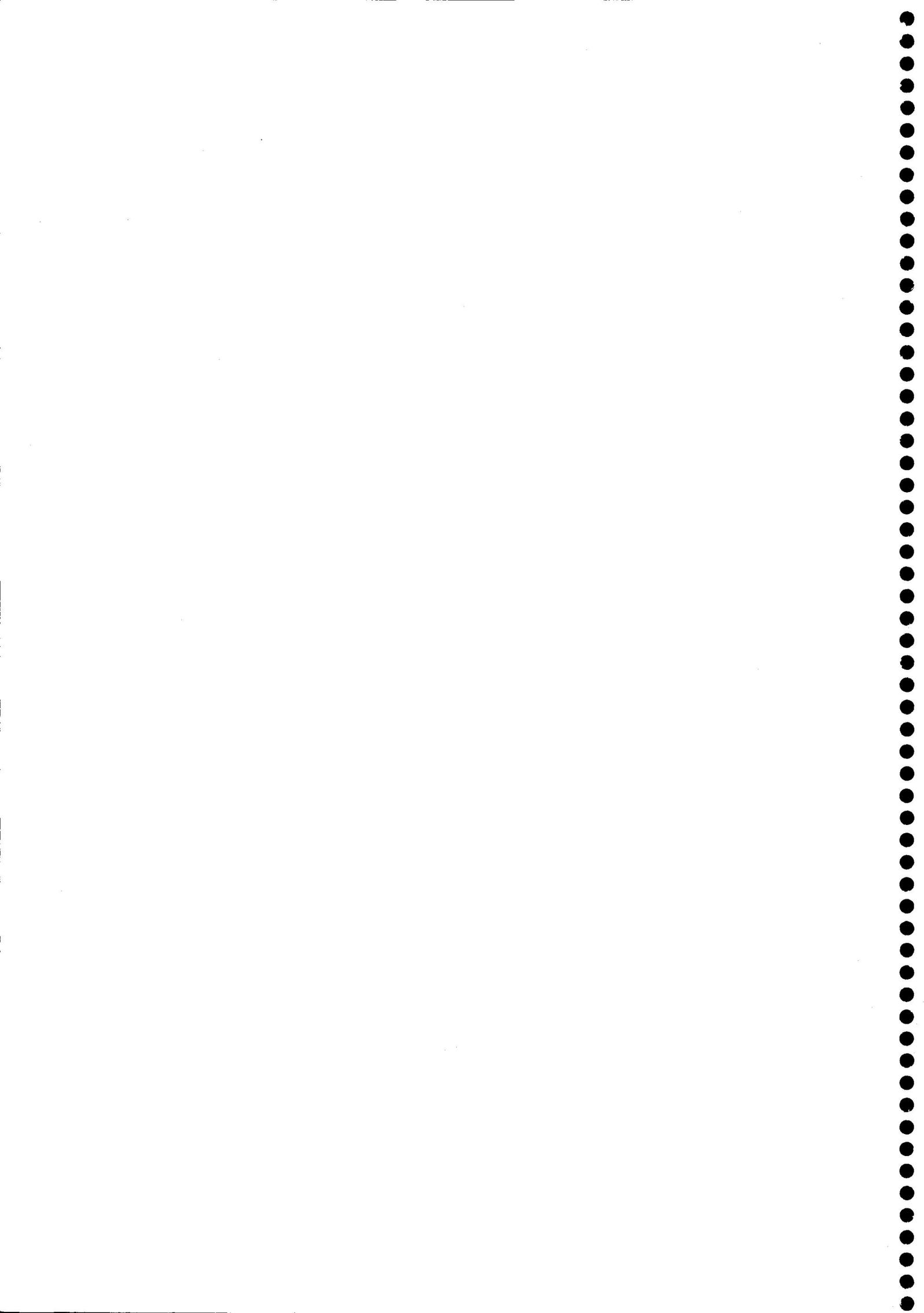
En tomate, la corrección de la deficiencia de K provoca un aumento de la producción comercial en 5 veces (Munson, 1979), mientras que con K deficiente, la producción disminuía y se producía la caída prematura de la hoja. En tomate, el color rojo del fruto se ve afectado por la concentración de K, en particular por un aumento en la concentración de licopeno. En general, una nutrición apropiada de K provoca un aumento de los sólidos totales, azúcares, ácidos, carotenos y licopenos, manteniendo una mayor calidad. Sin embargo, para una más alta producción y calidad, los niveles N:K en tomate deben estar equilibrados (Papadopoulos y Khosla, 1993).

En remolacha, la producción aumenta con un incremento de la fertilización de K, pero la calidad no se ve afectada, aunque altas tasas de K en combinación con el N aumentaban las tasa de producción de azúcar refinado (Usherwood, 1985). En manzanas, la combinación adecuada de N y K tiende a mejorar la firmeza y el color del fruto (Drake et al., 1970). En cítricos, el aporte de K aumenta el tamaño de fruto, acentúa el color y mejora el grosor de la piel excepto en limones; disminuye la cantidad de jugo conforme aumenta el tamaño, excepto en limones, e incrementa la acidez del jugo y el contenido de vitamina C (Cohen, 1976). En melocotones, el color del fruto se ve influido por el K, ya que mantiene un amarillo brillante en los enlatados, mientras que una deficiencia de K los oscurecería tras un tiempo en conserva. Por tanto, los parámetros de calidad mejoran con una adecuada nutrición de K (Usherwood, 1985).

2.6.- Resumen

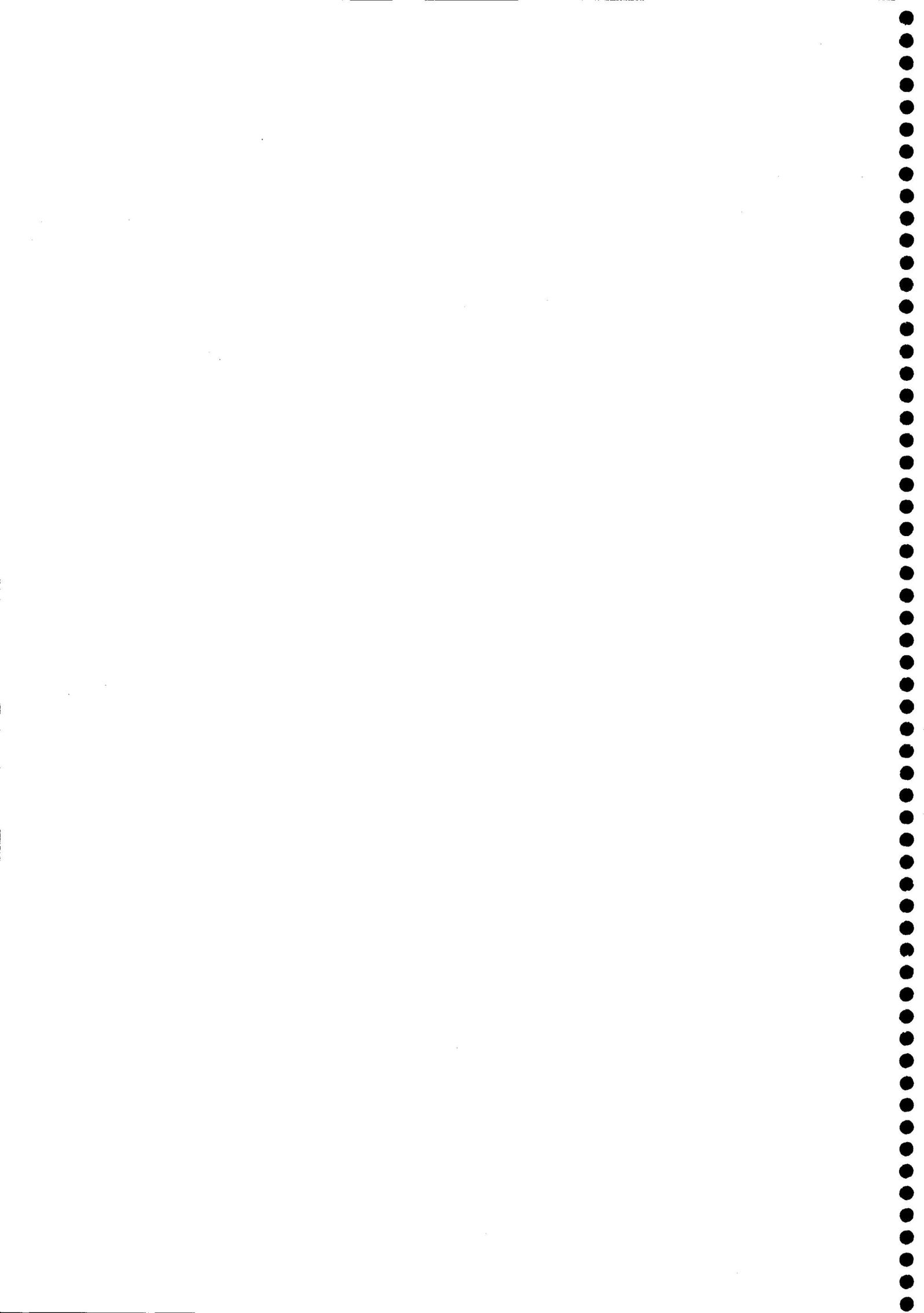
Todos estos ejemplos ilustran el papel de los nutrientes minerales como factores limitantes de la producción cuando frutos, semillas u otros órganos son sumideros predominantes y declina la absorción de esos nutrientes por la raíz.

Los progresos en la selección de genotipos con un índice elevado de cosecha (razón producción económica/materia seca total) y periodos cortos de crecimiento del fruto o maduración, pueden estar restringidos severamente, no por la capacidad limitada de la fuente para apotar carbohidratos, sino por la limitación en la cantidad de nutrientes minerales tales como N, P y K que están disponibles en la rizosfera para su transporte desde la fuente al sumidero.



***MATERIAL Y
MÉTODOS***





3.- Material y Métodos

3.1.- Características del invernadero

Las plantas crecieron en un invernadero de los llamados tipo "Parral". Este tipo de invernadero se construye a base de rollizos de madera con los pies derechos y alambre galvanizado en la cubierta. El invernadero tenía 20 m de anchura, con una superficie de 2000 m² y estaba cubierto de polietileno térmico de 800 galgas. El invernadero presentaba sistema de fertirrigación localizado, con goteros de largo recorrido interlineal y un caudal de 4 L/h (Serrano, 1990).

3.2.- Especie estudiada

3.2.1.- Generalidades

La berenjena (*Solanum melongena* L.), cultivo originario de zonas tropicales y subtropicales asiáticas, fue introducido en España alrededor del siglo XIV, difundiéndose su cultivo progresivamente hasta nuestros días.

La familia *Solanaceae*, con notable interés desde el punto de vista económico, incluye también a otras especies de relevante importancia alimenticia como son patata, tomate y pimiento, además de al tabaco.

3.2.2.- Encuadramiento taxonómico y descripción botánica

La berenjena se sitúa dentro de la familia *Solanaceae*, perteneciendo sus cultivares a la especie *Solanum melongena* L.. De las 3 variedades en las que se divide la especie, *esculentum* (Dun.), *ovigerum* Lam (Dun.) e *insanum* (Dun.), la variedad *esculentum* es la que presenta un mayor interés tanto agrícola como económico, derivando de ella los cultivos más notables y difundidos. Las restantes variedades producen cultivos de escasa importancia económica, en el caso de la variedad *insanum* o bien cultivos ornamentales, como en el caso de la variedad *ovigerum*.

Las plantas de *Solanum melongena* *esculentum* (Dun), son de porte enderezado y de color grisáceo por la presencia de pelos, presentándose tallos y hojas, a veces, acuminados. La flores, de color violáceo, se presentan generalmente aisladas, aunque a veces pueden aparecer en pareja. Los frutos son bayas con forma cilíndrica, alargada y de color violáceo. Rara vez se presentan con forma globosa y con coloración amarilla o blanca. Las semillas en todos los casos se presentan desnudas.

En cuanto a la variedad en estudio, la Bonica F1, es una variedad precoz y notablemente productiva. El fruto es de color violeta oscuro, muy brillante, con una forma oval-alargada y con un peso que oscila entre 250 y 300 g. Además es un avariedad resistente tanto al virus del mosaico del tabaco como al virus del pepino.

Los requerimientos térmicos son mayores que los de otras solanáceas, situándose la temperatura óptima entre 25 y 27°C de día y 17°C de noche, si bien los valores superiores dañarían el aparato foliar y producirían la caída de flores y frutos. La temperatura mínima oscila entre 9 y 15°C, dependiendo todo ello de las condiciones de luz (Mannino, 1987).

Es una planta especialmente resistente a la salinidad, por lo que su cultivo en zonas de litoral es posible. Prefiere terrenos arenosos y de consistencia media, con pH comprendidos entre 6 y 7.2, y una elevada concentración de materia orgánica, además de un buen aporte de nutrientes.

3.3.- Características de las parcelas

El invernadero contenía 44 parcelas, correspondientes a los 11 tratamientos y sus repeticiones. Las parcelas no presentaban problemas de encharcamiento ni de arrastre de nutrientes, presentando el suelo en ellas textura y tipología homogéneas. La composición que presentaba el suelo era una capa de arena de 10 cm de grosor y una densidad de 1.9 g/cm³, una segunda capa de 2cm de espesor de materia orgánica, con una densidad de 0.7 g/cm³ y arcilla, con densidad 1.4 g/cm³ y por último un suelo de "cañada" (Serrano, 1990). Cada parcela estaba individualizada, con una superficie de 14 m² y un marco de plantación de 8 plantas por parcela.

3.3.1.- Tratamientos

El cultivo fue sometido a una fertilización diferenciada N, P, y K con 3 tratamientos para el caso del N y P, y 4 para el K, aplicándose de la siguiente forma: El N como NH₄NO₃: N₁: 40 Kg/Ha; N₂: 80 Kg/Ha; N₃: 160 Kg/Ha; El P como PO₄H₃: P₁: 130 Kg/Ha; P₂: 260 Kg/Ha; P₃: 520 Kg/Ha; y el K como SO₄K₂: K₁: 50 Kg/Ha; K₂: 100 Kg/Ha; K₃: 200 Kg/Ha; K₄: 300 Kg/Ha.

La solución nutritiva se complementó con los siguientes micronutrientes: Fe (3.35%), Cu (1.7%), Mn (1.7%), Zn (0.6%), B (0.87%) y Mo (0.13%), B y Mo se utilizaron en forma mineral y los demás en forma de quelatos.

Como control de la experiencia se utilizó un tratamiento, T₀, que sólo contenía materia orgánica, complementada con los restantes nutrientes en el fertirriego.

3.4.- Parámetros ambientales

Se midieron las temperaturas máxima, mínima y media, aérea y radicular, a lo largo del ciclo de cultivo, así como los valores de la humedad relativa e intensidad luminosa en el interior y exterior del invernadero. Debe tenerse muy presente que los valores presentados corresponden a la media quincenal y que algunos valores coinciden con los muestreos foliares. Además se determinaron los parámetros físico-químicos tanto del suelo del cultivo como del agua utilizada para el riego.

3.4.1.- Suelo

Desde un punto de vista edafológico, no podemos considerar que las plantas hayan crecido sobre un suelo agrícola natural, ya que sobre los que se asientan los invernaderos carecen de las características definitorias de un suelo agrícolamente útil. Este motivo ha hecho necesario crearlos artificialmente por medio de aportes de otros lugares.

3.4.1.1.- Preparación de las muestras de suelo

En la toma de muestras se despreció la capa superior de arena y se siguió el método global por muestreo simple al azar. De la capa de tierra aportada, se tomó una muestra con tres repeticiones, a una profundidad de 15 a 30 cm utilizando para ello materiales de madera y de plástico, para que después de ser homogeneizadas introducir las en bolsas de plástico rotuladas, para posteriormente analizarlas (Marañés et al., 1994).

Una vez que las muestras se encontraban en el laboratorio fueron acondicionadas como fase previa para la realización de los distintos análisis. En este proceso de acondicionamiento se incluyó la separación de los posibles elementos gruesos y la preparación de las muestras para los distintos análisis físicos y químicos. Las muestras fueron desecadas al aire hasta que su humedad se equilibró con la ambiental, a continuación fueron extendidas sobre un tablero y sirviéndonos de un rodillo de madera fueron desechos los agregados que existían en el suelo. A continuación las muestras se pasaron por un tamiz de 2 mm de luz, almacenándose la fracción menor de este tamaño (Marañés et al., 1994).

3.4.1.2.- Análisis físico de las muestras

En las determinaciones se siguieron las directrices propuestas por Marañés et al., (1994).

Los métodos ordinarios para la determinación de la textura de los suelos, requieren que las partículas estén dispersas en una solución acuosa. La agitación del suelo en una solución de hexametáfosfato sódico es suficiente, en muchos casos para la dispersión de los agregados del suelo. Para prevenir una mala dispersión de éste, se sometió a lavado por diálisis en una membrana semipermeable y corriente de agua.

Granulométrico

La fracción gruesa (arena) se separó de la fina (limo y arcilla) por tamización en húmedo, siendo posteriormente desecadas y sometidas a un tratamiento de separación mediante un juego de tamices en cascada (con tamaños comprendidos entre 1 y 0.2 mm), para obtener las diferentes fracciones, según los sistemas U.S.D.A., UNIFIED, FAO, e Internacional.

Las fracciones finas se diferenciaron por sedimentación con la técnica de la pipeta de Robinson, tal y como se describe en el Soil Survey Report nº 1 (Soil Conservation Service, 1972).

Análisis mineralógico de la composición global

Se ha efectuado, con las muestras del suelo, un análisis mineralógico de la composición global por difracción de rayos X (Brindley y Brown, 1980). Este análisis es semicuantitativo ya que sólo tiene en cuenta el material cristalino y no el amorfo (geles). No fue eliminada la materia orgánica.

Análisis mineralógico de la fracción menor de 2 μ

Así mismo se llevó a cabo un análisis mineralógico de las fracciones menores de 2 μ por el método de agregados orientados, solvatados con etilenglicol, (Brindley y Brown, 1980), eliminando previamente la materia orgánica y los carbonatos.

3.4.1.3.- Análisis químico

Se determinaron los siguientes parámetros:

pH: Electrodo de vidrio (Rodier, 1981). Se determinó a partir de una mezcla de suelo/agua en la proporción 1:1. Posteriormente se efectuó otra medida con KCl 0.1 M en la misma proporción (Haywards et al., 1973).

Conductividad eléctrica: Conductivímetro, fundamentado en el puente de Wheatstone (Bower y Wilcox, 1965).

Carbonato cálcico equivalente: Tratamiento de los carbonatos con HCl 1 N, el incremento de volumen, es una medida directa del CO₂ desprendido cuando no se produzcan otros gases (Allison y Moodie, 1965).

Carbonato cálcico activo: Extracción con oxalato amónico y posterior valoración del exceso de oxalato con permanganato potásico de concentración conocida (Hesse, 1971 y Barahona, 1984).

Nitrógeno: Destilación del mineralizado y valoración del amonio en aparato Bouat Micro-Kjeldalh (Hillerbrand et al., 1953).

Fósforo: Extracción con ácido acético y acetato amónico (Olsen y Larsen, 1979) y valoración método de Capitán y Martínez (1954).

Potasio: Extracción del elemento con una solución extractora de ácido acético y amoniaco y lectura por fotometría de llama (Pratt, 1965).

Cationes de cambio: Desplazamiento del complejo de cambio mediante acetato amónico 1 N (pH 7) y medida, por espectrofotometría de absorción atómica del Ca y Mg y por fotometría de llama el K y Na (Bower et al., 1952).

Capacidad de cambio catiónico: Saturación del suelo con amonio y posterior desplazamiento de éste por Na con acetato sódico 1 N (pH 8.2) y valoración por espectrofotometría de llama (Richards, 1954).

Saturación en bases: Hace referencia a la cantidad total de Ca, Mg, Na y K del complejo de cambio como porcentaje con relación a la capacidad de cambio total.

Micronutrientes: Fe, Mn, Zn, Cu y B: El extractante utilizado fue el propuesto por Lindsay y Norwell (1978), y modificado por Romero (1982). Determinación de los microelementos metálicos por espectrofotometría de absorción atómica (Lachica et al., 1973) y por el método de la Azometina-H para el B (Wolf, 1971).

3.4.2.- Agua

El agua que se utilizó para riego, independientemente de cual sea su procedencia, contiene cantidades variables de iones en disolución. La naturaleza y cantidad de éstos es uno de los principales factores que influyen en la calidad de un agua. Ésta va a condicionar la productividad, calidad de la cosecha y desarrollo vegetativo de las plantas.

Para obtener una información satisfactoria sobre las características del agua de riego es necesario realizar un muestreo suficientemente significativo, en momentos diferentes, por lo que se hizo en periodos distintos, y durante el tiempo que duró el cultivo. El número de veces que se recogieron muestras de agua fueron diez, con tres repeticiones cada una de ellas.

3.4.2.1.- Análisis de las muestras

El análisis de las muestras de agua se realizó según las técnicas analíticas descritas de forma somera seguidamente.

Conductividad eléctrica: Conductivímetro con puente Wheatstone (Rodier, 1981).

pH: Electrodo de vidrio (Rodier, 1981).

Cloruros: Valoración con AgNO_3 (Rodier, 1981).

Sulfatos: Según el método propuesto por Association of Official Agricultural Chemist (1950).

Bicarbonatos: Valoración de los iones HCO_3^- en presencia de anaranjado de metilo (American Public Health Association and American Water Works Association, 1946).

Nitratos: Según las directrices dadas por "Association of Official Agricultural Chemist" (1950).

Na y K: Fotometría de llama (Goltemar, 1969).

Ca, Mg, Fe, Mn, Zn y Cu: Se determinaron por espectrofotometría de absorción atómica (Lachica et al., 1973).

B: Colorimetría (Wolf, 1971).

3.5.- Material vegetal

3.5.1.- Toma de muestras

Cada repetición constaba de 8 plantas, que fueron muestreadas en su totalidad, así como todas las repeticiones, recolectando 2 hojas con peciolo por planta, de la parte central del tallo, ya que presentan un crecimiento considerado de vigor medio y de una edad fisiológicamente madura (Sánchez et al., 1995). Ya recolectadas, se introdujeron en bolsas de plástico perforadas y rotuladas, transportándose en condiciones de frío hasta el laboratorio.

La recolección de hojas se llevó a cabo cada 15 días, durante todo el ciclo biológico de la planta, hasta la aparición de la sintomatología típica de la senescencia en plantas. Siguiendo las indicaciones de Villora y Romero (1995), fueron rechazadas aquellas hojas que presentaban un tamaño anormalmente grande o pequeño, las que presentaban lesiones de origen mecánico o provocadas por plagas, así como las que presentaban síntomas visuales de deficiencia. Por lo que se refiere al fruto, se tomaron dos de cada planta. Una vez recolectados, se introdujeron en bolsas de plástico perforadas y rotuladas, transportándose en condiciones de frío hasta el laboratorio. La recolección de frutos se llevó a cabo cada 15 días, durante todo el ciclo biológico de la planta, coincidiendo con los muestreos de hoja.

Como sucedía con las hojas, fueron rechazados aquellos frutos de un tamaño anormalmente grande o los que presentaban lesiones de origen mecánico o provocados por plagas (Villora y Romero, 1995).

3.5.2.- Material fresco

De las hojas muestreadas, de las que se separó el peciolo para su posterior análisis una vez seco, se hicieron 2 submuestras. Una se utilizó para el material fresco y otra para el seco llevándose a cabo en ellas el procedimiento descrito en la Tabla 1.

Tabla 1.- Esquema general de trabajo.

PLANTA		
3 MUESTREOS		4 REPETICIONES
Submuestra Material Fresco		Submuestra Material Seco
HOJA	FRUTO	HOJA PECIOLO FRUTO
ANR:	Producción (Kg/Ha):	Mineralización Sulfúrica:
- Endógena	- Total	- N org, P, Ca, Mg, Na, K
- Inducida (NO ₃ ⁻)	- Comercial	Mineralización Nítrico-Perclórica:
- Infiltrada (NO ₃ ⁻ +Mo)	- Estrío	- S
Pigmentos Clorofilicos:	Producción (Frutos/Ha)	Extracción medio acuoso:
- Clf a, Clf b, a+b, a/b	- Total	- NO ₃ ⁻ , NH ₄ ⁺ , Cl ⁻ , SO ₄ ⁼
Pigmentos Accesorios:	- Comercial	- Ca, Mg, Na, K
- Carotenos	- Estrío	- P inorg, P orgánico soluble
- Antocianinas		Prolina
- Licopenos		Hidratos de Carbono:
AFAF		- Glucosa
		- Fructosa
		- Sacarosa
		- Almidón

3.5.2.1.- Pigmentos foliares

3.5.2.1.1.- Pigmentos Clorofilicos

Para su determinación se tomaron taleolas de limbo foliar de unos 5 mm de diámetro y 250 mg de peso y se sumergieron en 10 mL de dimetil-sulfóxido. Las muestras se incubaron en un baño a una temperatura de 65°C durante 60'(Hiscox e Israelstam, 1979). Pasado dicho tiempo se midió la intensidad de color por espectrofotometría a las longitudes de onda propuestas por Bruisma (1963). La concentración de clorofilas en limbo foliar se expresó en mg por 100 g de peso fresco según las ecuaciones propuestas por Mckinney (1941).

3.5.2.1.2.- Pigmentos Accesorios

3.5.2.1.2.1.- Antocianinas

En el extracto anterior se realiza una lectura a una longitud de onda de 530 nm. Los resultados se expresaron en Densidad óptica según el método propuesto por (Bajaj et al., 1981).

3.5.2.1.2.2.- Carotenos

El procedimiento seguido fue el propuesto por Jaspar (1965), consistente en una lectura a una longitud de onda de 450 del extracto anterior y aplicando la fórmula propuesta por este autor. Los resultados se expresaron en mg de carotenos por 100 g de peso fresco.

3.5.2.1.2.3.- Licopenos

Para su determinación se siguió el método propuesto por Bajaj et al., (1981), consistente en medir la absorbancia en el extracto anterior a unas longitudes de onda de 487.5 y 502 nm. Con ellos se aplicó la fórmula propuesta por este autor, expresándose los resultados de ella en porcentaje.

3.5.2.2.- Actividad Nitrato Reductasa (ANR)

3.5.2.2.1.- Actividad Nitrato Reductasa Endógena

El método utilizado fue el propuesto por Bar-Akiva y Sternbaum (1966), modificado posteriormente por Bar-Akiva et al., (1970) y adaptado a nuestras condiciones por Valenzuela y Romero (1996).

Se tomaron discos con un diámetro de 5 mm y un peso de 100 mg del limbo foliar, que fueron sometidos a un proceso de vacío durante 5' en un medio compuesto de Tampón fosfato 100mM (pH 7.5) y 1-propanol al 1% (v/v). Después, las muestras se dejaron incubar durante 60' a 30°C y en oscuridad en este medio.

Los NO_2^- obtenidos en este proceso se valoraron mediante la adición de 2 mL de Sulfanilamida en HCl 1.5 N al 1% (p/v) y 2 mL de N-NEDA (dihidrocloreto de N-1-naftil-etilendiamida) en HCl 0.2 N al 0.02% (p/v). El color desarrollado se midió mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 540 nm frente a una curva patrón de NO_2^- (Snell y Snell, 1949).

Los resultados se expresaron en μM de NO_2^- formados en 60' por g de peso fresco.

3.5.2.2.2.- Actividad Nitrato Reductasa Inducida con NO_3K

El método seguido fue el propuesto por Bar-Akiva y Sternbaum (1966), con las adaptaciones de Bar-Akiva et al., (1970) y Valenzuela y Romero, (1996).

En este caso, el medio utilizado para infiltración e incubación estaba compuesto por un Tampón fosfato 100 mM (pH), 50 mM de KNO_3 y 1-propanol al 1% (v/v). Después de la infiltración en este medio, las muestras fueron incubadas durante 30' a 30°C en oscuridad. La determinación de los NO_2^- resultantes se llevó a cabo por el método de Snell y Snell (1949), expresándose la actividad como en el apartado anterior en μM de NO_2^- formados en 60' por g de peso fresco.

3.5.2.2.3.- Actividad Nitrato Reductasa Infiltrada con NO_3K y Mo

Su determinación se basó en una variante del método propuesto por Shaked y Bar-Akiva (1967) y Valenzuela y Romero, (1996). Estos autores añaden al medio de infiltración e incubación $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ y NO_3K , en tanto que nosotros sustituimos la primera sal por Na_2MoO_4 al 2%. Los tiempos de infiltración e incubación fueron similares a los empleados en el apartado anterior, expresándose la actividad también en μM de NO_2^- formados en 60' por g de peso fresco.

3.5.2.3.- Actividad Fosfatasa Acida Foliar Endógena (AFAF)

El método seguido fue el de Besford (1979) con las modificaciones necesarias para nuestro material vegetal (Pulgar et al., 1993). Este está basado en la hidrólisis del *p*-NPP, cuyo producto, el *p*-NP, se estima por espectrofotometría.

Se pesaron 0.5 g de limbo foliar, macerándose en frío con 5 ml de tampón 0.2 M acetato sódico-ácido acético pH 5.8. El homogenado se centrifugó a 30.000 g durante 10 minutos a 2°C , utilizando el sobrenadante para el ensayo de la actividad del enzima.

La mezcla de reacción consiste en un volumen final de 2 ml formado por 0.5 ml de agua desionizada y 1 ml de la mezcla 20 μM *p*-NPP con tampón ácido acético-acetato sódico 50 μM pH 5.8. La mezcla se incubó durante 15 minutos a 30°C , adicionándole, pasado ese tiempo, 8 ml de NaOH 0.2 N, lo que hidroliza el enzima y para, por tanto, la reacción.

La muestra problema se comparó con un blanco formado por extracto enzimático, agua desionizada, sustrato y NaOH 0.2 N que se adiciona al inicio del proceso para desnaturalizar el enzima. La absorbancia se determina a una longitud de onda de 405 nm

La actividad se expresa como hidrólisis de 1 μM de *p*-NPP en 1 hora a 30°C o también como cantidad de *p*-NP formado en similares condiciones.

3.5.3.- Material seco

La submuestra de limbo foliar, peciolo, y fruto fue introducida en una estufa de aire forzado a una temperatura de 60-70 °C durante 16-24 h (Steyn, 1959). Pasado este tiempo, se molió hasta polvo, empleándose para ello un molinillo "Kelner" modelo K.S. Una vez molidas, se guardaron en bolsas de plástico para evitar posibles contaminaciones. Más tarde, el material molido se introdujo en vasos de vidrio, en una estufa a 70°C durante 16 h. Pasado dicho tiempo, las muestras se dejaron enfriar en un desecador (Lachica et al., 1973).

En el caso del fruto, se separaron piel y pulpa, siguiéndose con ellos el mismo mecanismo empleado para limbo foliar y peciolo.

3.5.3.1.- Digestión sulfúrica

Del material vegetal recogido y preparado como antes se ha indicado, tanto de hoja, peciolo como de fruto, se pesaron entre 0.2-0.3 g, que se sometieron a mineralización con H₂SO₄ concentrado y H₂O₂ al 30% libre de fósforo (Wolf, 1982). En el mineralizado resultante se determinaron los siguientes elementos: N orgánico, P, Ca, Mg, K, Na, (Tabla 1)

3.5.3.2.- Determinaciones.

La metodología usada para la determinación de cada uno de los elementos anteriormente citados es la siguiente:

3.5.3.2.1.- N orgánico.

Se tomó una alícuota de mineralizado sulfúrico a la que se añadió:

- Buffer de trabajo: 0.1 M Na₂HPO₄ · 12 H₂O; tartrato Na-K al 5% y NaOH al 5.4%, agitando después de esta operación.
- Salicilato sódico-nitroprusiato sódico (15%-0.03% respectivamente) agitando la solución resultante.
- Hipoclorito sódico al 5.25%, volviendo a agitar.

La mezcla resultante se dejó en reposo a 25°C durante 45 minutos en la oscuridad. Transcurrido este tiempo se realizó una lectura por espectrofotometría a una longitud de onda de 650 nm, frente a una curva patrón de (NH₄)₂SO₄, agitando antes de cada muestra (Baethgen y Alley, 1989).

3.5.3.2.2.- Calcio y Magnesio totales

Para la determinación de Ca, se tomó una alícuota de 0.1 ml del mineralizado sulfúrico completando hasta un volumen de 10 ml con una solución de óxido de Lantano al 0.3% en un tubo de ensayo. La adición de óxido de Lantano permite una medida exacta del Ca, ya que éste puede formar compuestos difícilmente atomizable en la llama (Pinta, 1973).

Se agitó la solución, procediéndose a su lectura mediante espectrofotometría de absorción atómica (Hocking y Pate, 1977).

En esta misma dilución se determinó el Mg mediante espectrofotometría de absorción atómica (Hocking y Pate, 1977).

Las lecturas fueron interpoladas en una curva de trabajo, obtenida con una serie de patrones de Ca y Mg, expresándose los resultados en mg/g de peso seco.

3.5.3.2.3.- Sodio y Potasio totales

El método de medida es el de fotometría de llama (Lachica et al., 1973). Se tomó una alícuota de 0.1 ml del mineralizado sulfúrico completando hasta un volumen de 10 ml con agua desionizada en un tubo de ensayo. Se agitó la solución, procediéndose a su lectura mediante fotometría de llama, usando el filtro correspondiente a sodio y potasio.

Los resultados obtenidos se enfrentaron a una curva patrón de Na y K, expresándose las concentraciones en mg/g de peso seco.

3.5.3.2.4.- Fósforo total

El método utilizado fue el propuesto por Kitson y Mellon, (1944). A una alícuota del mineralizado sulfúrico se añadió una cantidad determinada de reactivo nitrovanadomolibdico, formado por 5 g de $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{21}$, 2.5 g de metavanadatoamónico (NH_4VO_3) y 70 ml de HNO_3 al 60%, disuelto todo en 500 ml de agua destilada.

Pasada 1 h se efectuó la lectura espectrofotométrica a una longitud de onda de 430 nm, frente a una curva patrón de KPO_4H_2 .

3.5.3.3.- Digestión nítrico-perclórica

Del material vegetal seco y molido de limbo foliar, peciolo y fruto, se tomaron 0.15 g a los que se sometió a una mineralización con 5 ml de una mezcla nítrico-perclórica 2:1 y H_2O_2 libre de P (Novozanmsky y van Eck, 1977). En la mineralización se determinó la concentración de azufre.

3.5.3.3.1.- Azufre total

Del extracto anterior se tomó 1 ml de alícuota a los que se añadió 4 ml de agua desionizada, 1 ml de goma de acacia y 4 ml de Cl_2Ba . Se agitó y se realizó la lectura a 430 nm en transmitancia frente a una curva patrón de S, presentándose los resultados en mg/g de p.s. (Novozanmsky y van Eck, 1977).

3.5.3.4.- Extracción de las formas solubles iónicas en medio acuoso

Se llevó a cabo por el método de Cataldo et al. (1975). En un tubo de ensayo se introdujeron 0.20 g de hoja, 0.25 g de peciolo, 0.25 g de piel y 0.25 g de pulpa finamente molidos y secos, añadiéndole 20 ml de agua desionizada. Seguidamente se procedió a su extracción por agitación durante 120 minutos, con posterior centrifugación a 1000 g y filtrado. En el extracto resultante se midieron: Na, K, Ca y Mg solubles, NH_4^+ , NO_3^- , Cl^- , SO_4^{2-} , P inorgánico y P orgánico soluble.

3.5.3.4.1.- Calcio y Magnesio solubles

Tomando una alícuota de la extracción acuosa se realizó el mismo proceso que el descrito en el apartado 3.5.3.2.2 para las formas totales.

3.5.3.4.2.- Sodio y Potasio solubles

Para la determinación de sodio y potasio solubles se empleó el mismo método que el utilizado en el apartado 3.5.3.2.3 para las formas totales.

3.5.3.4.3.- Amonio

El método utilizado para alícuotas del extracto conseguido en medio acuoso es el descrito en el apartado 3.5.3.2.1 para N orgánico.

3.5.3.4.4.- Nitratos

Del extracto resultante del proceso anterior se tomó una alícuota de 0.2 ml a la que se añadieron 0.8 ml de una solución formada por ácido salicílico-ácido sulfúrico al 5% y 19 ml de $\text{Na}(\text{OH})$ 2 N. A continuación se procedió a su cuantificación mediante la medida de la intensidad de color a 410 nm frente a una curva patrón de NO_3 (Cataldo et al., 1975).

3.5.3.4.5.- Cloruros

El método seguido fue el propuesto por Koltoff y Kuroda (1951), posteriormente modificado por Chapman y Pratt (1961).

Del extracto antes conseguido se tomaron 2 ml a los que se añadió 1 ml de K_2CrO_4 (0.5%), valorando con NO_3Ag 0.0141 N frente a un blanco de NaCl 0.0141 N.

Los datos fueron expresados en mg/g p.s.

3.5.3.4.6.- Sulfatos

De la extracción anterior se tomaron de 1-5 ml, a los que se añadió 1ml de goma de acacia al 0.25% P/V y 4 ml de $\text{Cl}_2\text{Ba } 2\text{H}_2\text{O}$ al 8% (Novozanmsky y van Eck, 1977). La lectura se realizó en transmitancia, a una longitud de onda de 430-440 nm, expresandose los resultados en mg/g p.s.

3.5.3.4.7.- Fósforo inorgánico

De la extracción en medio acuoso se tomó una alícuota, siguiendo el método descrito posteriormente en el apartado 3.5.3.2.4 para la forma total.

Las unidades se expresaron en mg/g p.s.

3.5.3.4.8.- Fósforo orgánico soluble

Se tomó una alícuota de la extracción en medio acuoso y se desecó en baño de arena. Posteriormente, y mediante mineralización sulfúrica, se obtuvo un segundo extracto con el que se siguió idéntico método que en los apartados 3.5.3.2.4. y 3.5.3.4.7. para las formas total e inorgánica respectivamente. Las unidades también se expresaron en mg/g p.s.

3.5.3.5.- Prolina.

Se tomaron 0.5 g de material vegetal seco tanto de limbo como de peciolo y fruto y se maceraron con 5 ml de Etanol al 96%, lavando después con 5 ml de etanol al 70% 2 veces. Se centrifugó a 3500 g durante 10 minutos (Irigoyen et al, 1992).

Del sobrenadante conseguido de la extracción anterior se tomó una alícuota a la que se añadieron 2,5 mL de ninhidrina ácida, 2,5 mL de ácido acético glacial y 5 mL de agua desionizada. Se incubó durante 40 minutos a 100°C. Posteriormente se introdujo en un baño frío y se añadieron 5 mL de benceno, agitándose vigorosamente, todo esto según el método de Paquin y Lechasseur (1979).

La lectura se realizó en la fase coloreada a una longitud de onda de 520 nm frente a una curva patrón de prolina. Los resultados se expresaron en mg/g de peso seco.

3.5.3.6.- Azúcares totales y solubles

3.5.3.6.1.- Glucosa, Fructosa y Sacarosa

De la extracción realizada para la determinación de prolina, se tomó una alícuota de 0.1 ml y se le añadieron 3 ml de Antrona. Después de agitar, las muestras se introdujeron en un baño, incubándolas durante 10' a 100°C.

Material y Métodos

Una vez frías las muestras, se realiza la lectura a 625 nm frente a curvas patrón de Glucosa, Fructosa y Sacarosa, expresándose los resultados en mg/g de p.s.

3.5.3.6.2.- Almidón

En el residuo obtenido en la extracción de prolina se determinó la concentración de almidón. Para ello se añadieron al residuo sólido 2,5 mL de agua desionizada, 2,5 mL de alfa-glucamilasa y 2,5 mL de tampón acetato sódico - ácido acético y se agitó, incubándose la mezcla durante 48 h a una temperatura de 38°C.

Una vez obtenida la mezcla, se tomó una alícuota y con ella se llevó a cabo el mismo proceso que para determinar los azúcares solubles.

Los resultados se multiplicaron por un factor, 0,9, para expresarlos en mg de almidón por g de peso seco (Ettel, 1981).

3.5.3.7.- Producción

De los frutos recolectados en cada uno de los tratamientos y sus repeticiones, así como en el control, se efectuaron las siguientes medidas:

- Kg/Ha de frutos, tanto totales, comerciales como de estrío
- Número de frutos/Ha totales, comerciales y de estrío

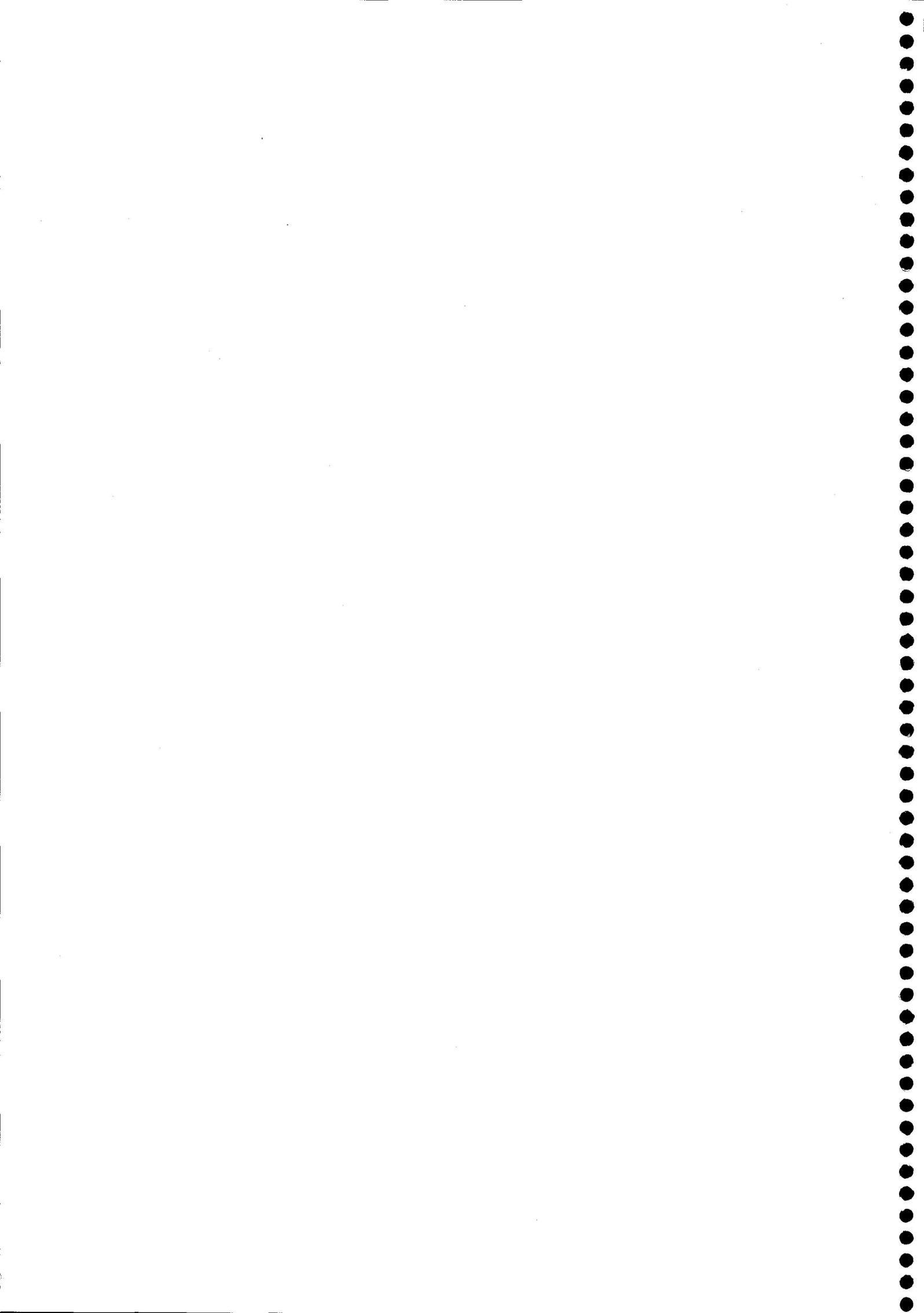
Se consideran frutos comerciales aquellos que reúnen características propias de la comercialización, como son tamaño, peso y color determinados, mientras que los de estrío son aquellos que no las reúnen y/o están deteriorados.

3.5.3.8.- Tratamiento estadístico

Todos los resultados obtenidos en la experiencia en hoja, peciolo y fruto fueron sometidos a tratamiento estadístico, aplicando un análisis de varianza sobre los tratamientos aplicados, realizándose posteriormente el Test de Rango Múltiple de Duncan, con un porcentaje de confianza del 95% y un nivel de significación a $P \leq 0,05$.

Las letras que aparecen en Tablas y Figuras representan las diferencias significativas entre tratamientos, obtenidos por el Test de Rango Múltiple de Duncan.

*RESULTADOS Y
DISCUSIÓN*



4.- Resultados y Discusión

4.1.- Parámetros ambientales

4.1.1.- Temperatura

Son numerosos los factores que influyen sobre los procesos que tienen lugar en el desarrollo de un vegetal. Uno de éstos es la temperatura, cuya influencia se extiende sobre captación de iones y agua, fotosíntesis, respiración, movimientos estomáticos, actividades enzimáticas y, en general, sobre todas las reacciones físico-químicas que se presentan en los vegetales (Wilkins, 1984).

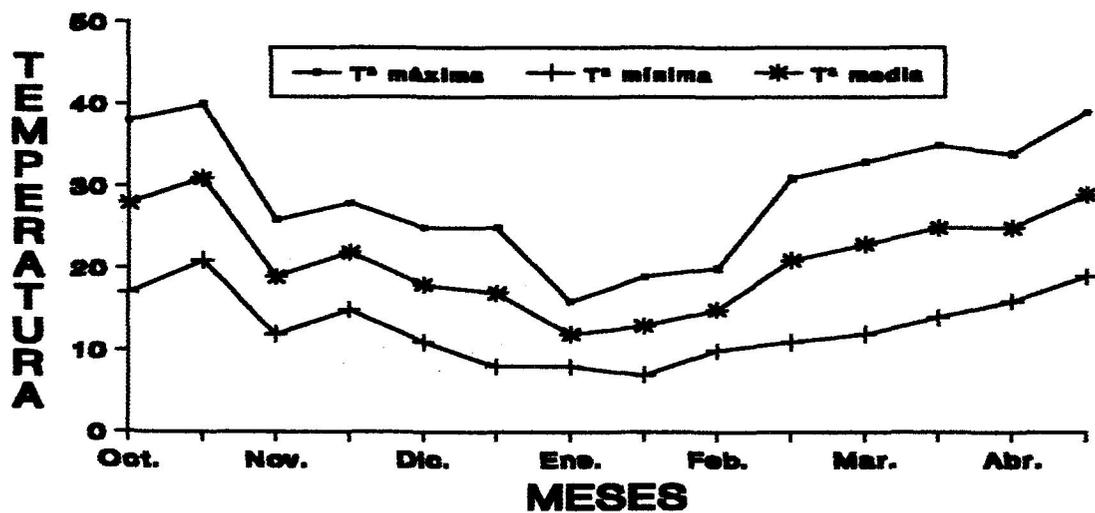


Figura 1.- Evolución de la temperatura aérea (°C) durante el cultivo.

En la Fig. 1 se presentan tanto la temperatura máxima como la mínima, no pudiendo ser consideradas como factores limitantes para el buen desarrollo del cultivo de la planta objeto de estudio (Stushnoff et al., 1984), ya que ambas permanecieron dentro de los límites permitidos por los sistemas biológicos.

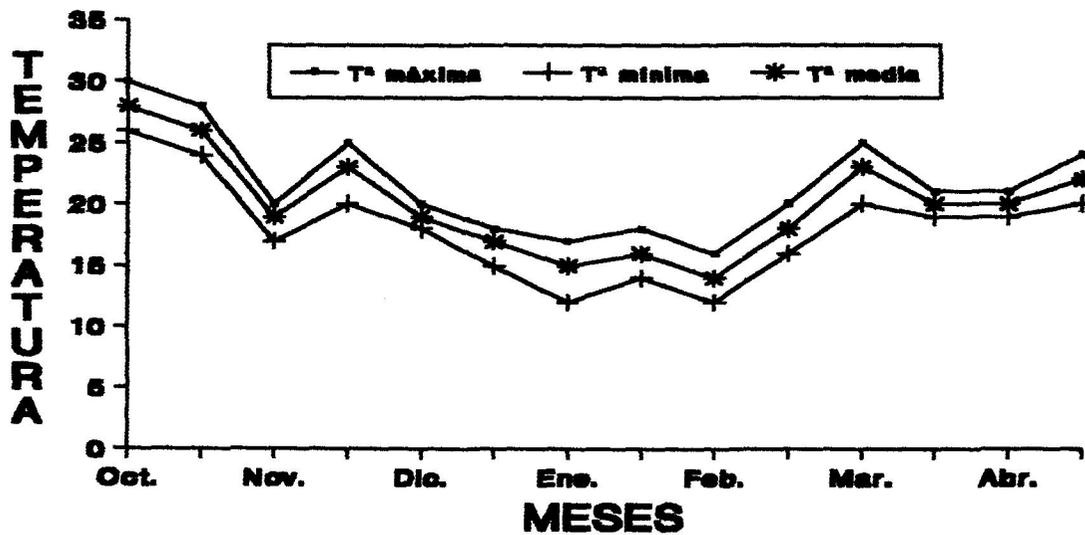


Figura 2.- Evolución de la temperatura radicular (°C) durante el cultivo.

La Fig. 2 muestra la evolución de la temperatura radicular durante el tiempo de cultivo. El papel termorregulador ejercido por el suelo queda reflejado fácilmente en ella, ya que las oscilaciones presentadas en la temperatura radicular no son muy acusadas. Las oscilaciones registradas no han sido peligrosas ya que la temperatura radicular se ha mantenido entre 30°/13 °C, valores que no son, tan bajos (Cornillon, 1987) ni tan altos (Cumbus y Nye, 1982), como para ser considerados factores limitantes a lo largo del período de vida del vegetal.

Por todo lo anteriormente expuesto, podemos asegurar que la captación iónica por las raíces (Mackay y Barber, 1984), así como su transporte vía xilema hasta la parte aérea (Goeschl et al., 1984), se ven favorecidos por las condiciones térmicas existentes.

4.1.2.- Humedad y radiación

La humedad relativa existente en el interior del invernadero, Fig 3, junto con las altas temperaturas, permite el adecuado desarrollo de la planta, ya que, de lo contrario, las plantas podrían haber crecido bajo condiciones de déficit hídrico provocado por la excesiva evapotranspiración, lo que induciría el punto de marchitamiento temporal, produciéndose daños irreparables que traen consigo graves pérdidas tanto de calidad como económicas. Los valores de humedad relativa más elevados en el interior se consiguen cuando se alcanza el mayor desarrollo vegetativo y coinciden, a su vez, con los valores bajos de temperatura, tanto máxima como mínima, pero no limitantes (Chartier, 1985).

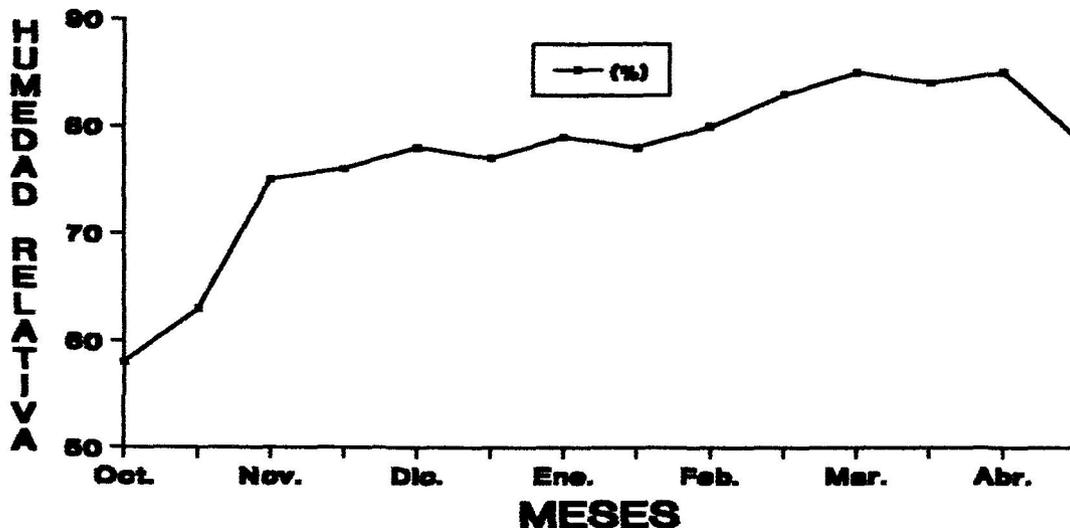


Figura 3.- Evolución de la humedad relativa durante el cultivo.

Los cultivos protegidos presentan, como consecuencia directa, una disminución inevitable de la luz incidente, así como un aumento de la humedad reinante en el interior del invernadero (Guzmán et al., 1991).

Las diferencias existentes entre los valores de intensidad luminosa entre el interior y en el exterior son bajas, pudiéndose decir que no han actuado, en ningún momento, como factor limitante de las posibilidades bioagronómicas del cultivo. ya que el material de recubrimiento que se ha utilizado no actúa negativamente sobre el espectro de irradiación solar ni sobre el fotoperiodo. Igualmente, se ha observado que los invernaderos construidos con cubierta horizontal son los que mayor cantidad de energía incidente reciben en el interior (Nisen, 1980).

En resumen, podemos afirmar que las plantas han crecido bajo condiciones climáticas idóneas y no ha habido ningún factor que actúe como limitante, ya que los altos valores de temperatura ambiental y edáfica están bien correlacionadas con los de humedad relativa presentes en este tipo de construcción agrícola, y que las plantas de berenjena crecieron adecuadamente por su adaptación a dichas condiciones (Yamaguchi, 1983).

4.2.- Análisis del suelo

Las exigencias que presentan los cultivos de invernadero son grandes con respecto a las propiedades físicas y en menor medida a las químicas, para que los suelos se puedan definir como ideales. Por tanto, para obtener cosechas elevadas en este tipo de cultivos, es muy importante cuidar convenientemente las propiedades del suelo.

La recolección de las muestras de suelos se realizó al inicio del cultivo, con objeto de realizar su análisis antes de proceder al aporte de fertilizantes. Se tomaron 3 submuestras o repeticiones, en cada una de las cuales se despreció la primera capa de arena. El valor que aparece en las Tablas 2 y 3 es la media de las repeticiones.

4.2.1.- Análisis químico

Los suelos presentes en los invernaderos de la zona de estudio se caracterizan, de forma general, por presentar propiedades tanto químicas como físicas bastante favorables, (Tabla 2).

El valor de conductividad encontrado en nuestro suelo fue de 5.19 dS/m, (Tabla 2). Según Poljakoff-Mayber y Gale (1975), el nivel perjudicial oscila entre 6 y 8 dS/m, lo que está de acuerdo con nuestros datos ya que la cosecha en ningún momento presentó problemas debido a la salinización y se desarrolló en todo momento de forma perfecta. El pH obtenido es típico de suelos alcalinos (Belakbir y Romero, 1995), y de zonas áridas y semiáridas. La concentración de P es alta y superior a la requerida por los cultivos de invernadero, comprendida entre 45-75 ppm (Cooke, 1972). Los suelos alcalinos se caracterizan, en general, por presentar bajas concentraciones de P en su solución edáfica. La deficiencia de P, en plantas crecidas en suelos alcalinos, puede estar producida por una baja concentración de dicho ion o una disminución de humedad en dicho suelo, es decir, cuando la movilidad de nutrientes se ve disminuida al igual que el crecimiento y expansión radicular (Welp et al., 1983), hecho que nunca apareció durante el tiempo que duró la experiencia.

Por el contrario, las concentraciones o niveles de K se mantuvieron dentro de los límites medios requeridos para los cultivos crecidos bajo condiciones de invernadero (Mengel, 1978)

La capacidad de cationes de cambio presenta valores bastante relacionados con la textura del tipo de suelo. Sin embargo, es de resaltar el buen suministro de Mg, por parte del suelo, indicado por las altas concentraciones de este catión.

Tabla 1.- Análisis químico del suelo utilizado en el cultivo.

PARÁMETRO	VALOR
pH (H ₂ O)	8.24
C.E. (1/1)	5.19 (dS/m)
N	0.29 (%)
C	2.83 (%)
P (P ₂ O ₅)	49.30 (meq/100 g)
K (K ₂ O)	59.85 (meq/100 g)
Ca activo	10.23 (%)
Ca equivalente	16.35 (%)
Cationes de Cambio	
K ⁺	0.84 (meq/100 g)
Na ⁺	0.15 (meq/100 g)
Ca ⁺⁺	Saturado
Mg ⁺⁺	4.26 (meq/100 g)
Capacidad de Cambio	17.13 (meq/100 g)
Micronutrientes	
Fe	13 (μg/g)
Mn	9 (μg/g)
Zn	5 (μg/g)
Cu	3 (μg/g)
B	3 (μg/g)

Los micronutrientes son uno de los factores que pueden ejercer un efecto limitante sobre el crecimiento de las plantas, de modo que en cultivos que presenten un rápido desarrollo, estos nutrientes son más imprescindibles. Dicho de otra forma, en experiencias en condiciones controladas, cualquier alteración en el aporte de nutrientes, por pequeña que ésta sea, se manifiesta de forma rápida, con la consiguiente repercusión sobre la productividad, razón por la que los micronutrientes deben ser aplicados de forma constante, dependiendo de cual sea su concentración en la solución edáfica. Los niveles presentes en el suelo utilizado, los podemos catalogar como óptimos según la bibliografía consultada: Fe (Lindsay y Schwarz, 1982), Zn (Shulka y Raj, 1980), Cu (Swaine, 1975), B (Romero, 1982) y Mn (Römheld et al., 1982).

El suelo donde se llevó a cabo la experiencia fue sometido a un gran aporte tanto de nutrientes como de agua. Por esto en ningún momento se han producido problemas causados por déficit hídrico en la rizosfera, que hubieran podido ser causantes de una deficiente movilidad de los nutrientes.

De lo anterior, podemos deducir que el suelo no presentó graves problemas referentes a la fertilidad, como puede suceder con otros tipos de suelos (Vose, 1983), y todo gracias a la especie cultivada y al sistema de cultivo.

4.2.2.- Análisis físico

Generalmente, los invernaderos presentan suelos artificiales (Tabla 3), por lo que se pretende que tengan una textura favorable para que los cultivos presenten un buen desarrollo (Cadaña, 1988), siendo en su mayoría suelos con textura franca o francoarenosa (Valenzuela, 1990), textura que va a presentar una serie de ventajas, entre las que destacan el rápido desarrollo y mantenimiento de cultivos de elevada productividad, gracias a una adecuada absorción de nutrientes. Ésta se ve favorecida por la adecuada aireación del sistema radicular y la temperatura.

La mineralogía del suelo se caracteriza por la abundancia de calcita y dolomita (Tabla 3), concordante con la litología de los materiales cercanos a la Sierra de Gador. El material original debe ser el complejo metamórfico Alpujarride del Triásico medio y superior (I.G.M.E., 1971) y el Trias es calcáreo-dolomítico. Los altos valores de illita poco degradada al igual que la baja concentración de esmectita pueden presentar un alto nivel de competencia con la absorción de K (Schroeder, 1976). Todo lo expuesto anteriormente nos hace pensar que el suelo presente en el invernadero es relativamente joven. Asimismo, se debe resaltar el carácter de una baja capacidad de intercambio iónico a consecuencia de los bajos contenidos de esmectita e interestratificados.

Tabla 3.- Análisis físico del suelo utilizado para el cultivo

Parámetro	Valor
Composición granulométrica:	
Arena (%)	13
Muy gruesa	15.38
Gruesa	7.69
Media	30.77
Fina	23.08
Muy fina	23.08
Limo (%)	23.6
Grueso	36.2
Fino	50.22
Arcilla (%)	64.2
Composición Mineralógica global (%)	
Filosilicatos	38
Cuarzo	18
Plagioclasas	1
Calcita	25
Dolomita	12
Feldespato	5
Análisis mineralógico de la fracción inferior a 2μ *	
Ilita	60
Montmorillonita	15
Esmectita	10
Caolinita	7
Clorita	6
Paragonita	0.5
Interestratificados	1

* Expresado en (%) con respecto a la arcilla

4.3.- Agua de riego

Los solutos disueltos en el agua de riego, tanto en concentración como en composición, son de forma general los que van a determinar su calidad (Tabla 4).

Tabla 4.- Composición del agua de riego

Parámetro	Valor	Parámetro	Valor
pH	7.8	K ⁺ (meq/L)	0.42
C.E. (dS/m)	3.8	Na ⁺ (meq/L)	16.5
NO ₃ ⁻ (meq/L)	0.14	Ca ⁺⁺ (meq/L)	3.39
SO ₄ ⁼ (meq/L)	4.12	Mg ⁺⁺ (meq/L)	5.6
HCO ₃ ⁻ (meq/L)	5.61	Fe (µg/L)	0.41
Cl ⁻ (meq/L)	15.26	Mn (µg/L)	0.21
H ₂ PO ₄ ⁻ (meq/L)	47.14 ⁴	Zn (µg/L)	0.15
NH ₄ ⁺ (meq/L)	0.09	Cu (µg/L)	0.10
		B (µg/L)	0.18

En la determinación de los cationes cabe destacar al Na⁺ presente con una alta concentración (Ayers y Branson, 1978) que posiblemente haga que se produzcan algunas interacciones nutricionales tanto en la rizosfera como en la parte aérea, sobre todo al final del ciclo, ya que se produce un incremento paulatino con el paso del tiempo, dándose una máxima concentración de Na⁺ en el suelo, procedente del agua de riego y de la poca absorción de este ion por la planta. Las concentraciones de los demás cationes (K⁺, Ca⁺⁺ y Mg⁺⁺) las podemos considerar como moderadas (Hutchinson, 1957).

Las altas concentraciones de Cl⁻ (Tabla 4), prácticamente constantes durante todo el ciclo, hacen sospechar posibles problemas metabólicos en las plantas (Ayers y Branson, 1978). Aunque los valores encontrados de SO₄⁼ y NO₃⁻ en este tipo de aguas son normales, según Wilcox (1966), la cantidad de SO₄⁼ es alta. Los niveles de HCO₃⁻ en el agua empleada son altos, hecho que hace que se produzca una tendencia por parte del Ca⁺⁺ y el Mg⁺⁺ a precipitar en forma de carbonatos, presentando éstos una solubilidad variable. Además, los altos niveles de HCO₃⁻ pueden ser causantes en la rizosfera de alteraciones que impidan una adecuada absorción de algunos nutrientes (Badurowa et al., 1967).

El pH presenta una clara alcalinidad (Tabla 4), teniendo unos valores que oscilan desde un mínimo de 7.92 hasta un máximo de 8.34. Los valores encontrados en la conductividad eléctrica (C.E.), que van desde 1.94 a 2.20 dS/m potencian el aumento de los problemas fisiológicos de los cultivos (Ayers y Branson, 1978). El hecho de que en nuestras aguas el cociente entre la conductividad eléctrica y el total de cationes sea superior a un valor de 90 nos está indicando su riqueza en Cl^- y Na^+ (Cánovas, 1980).

Tabla 5.- Razones entre parámetros del agua de riego

Parámetro	Valor	Parámetro	Valor
Aniones Totales (meq/L)	25.14	Ca^{++}	13.03*
Cationes Totales (meq/L)	26	Mg^{++}	21.54*
TSD*** (mg/L)	1680.52	$\text{Na}^+ + \text{K}^+$	65.08*
C.E./Cationes	146	$\text{Mg}^{++}/\text{Ca}^{++}$	1.65*
TSD/C.E.	0.43	$\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$	4.87*
TSD/Cationes	63	HCO_3^-	22.31**
RAS	7.78	SO_4^-	16.39**
PSI	9.27	$\text{Cl}^- + \text{NO}_3^-$	61.27**
		$\text{SO}_4^-/\text{Cl}^-$	0.27**

* % respecto a cationes totales; ** % respecto a aniones totales

*** TSD= Total sólidos disueltos.

El total de sólidos disueltos (T.S.D.) nos da valores altos y sin fluctuaciones temporales. Un valor de 0.60 sería el ideal que podría presentar el cociente T.S.D./C.E., mientras que un valor superior nos indicaría un aumento de nutrientes, aunque puede que no dañase al cultivo. En cambio un valor inferior supondría un aumento en elementos peligrosos para el buen desarrollo de éste (Cánovas, 1980). Semejante relación existe con el cociente T.S.D./Cationes totales, cuyo valor numérico ideal debería estar cerca de 65, de lo contrario existiría un predominio de un parámetro sobre el otro con la consiguiente alteración de la calidad del agua. El estudio de estas razones nos llevó a pensar que el Cl^- , como anión, es el responsable del desplazamiento numérico de las diferentes razones, pero que no incide sobre los cambios temporales ni sobre las razones.

Como índices de Na^+ utilizamos la relación de adsorción de sodio, (RAS), que nos dará conocimiento del posible proceso de sodificación del suelo, Tabla 5, ya que el aporte de Na^+ es inferior al que la planta absorbe, que está en relación con el P.S.I. (Porcentaje de Sodio Intercambiable). El estudio de ambas razones nos da conocimiento del alto aporte de Na^+ y su baja absorción radicular, ya que los niveles requeridos por la planta son bajos (Guzmán, 1987). Según Bower et al., 1965, los valores de P.S.I. en el agua de riego suelen variar poco de una

Resultados y Discusión

estación a otra, hecho que no ocurre en nuestro estudio debido a las torrenciales e irregulares precipitaciones. Lo que sí ocurre, como era de esperar, es que los valores numéricos de las razones R.A.S y P.S.I. son altas, algo usual en aguas salobres. Otro de los parámetros definitorios de la calidad de un agua es el Grado de Dureza que nos va a dar conocimiento de si un agua es "dura" o "blanda", de forma que los valores numéricos de nuestras aguas nos demuestran la existencia de aguas bastante duras (Cánovas, 1980) y con fuertes oscilaciones estacionales.

Las aguas presentaron cantidades bastante grandes de Ca^{++} , mientras que los niveles de Mg^{++} pueden ser considerados como aceptables para un cultivo (Tabla 5). Igualmente, con los valores de Na^+ y K^+ veremos que son aguas ricas en ambos cationes y que éstos son predominantes con respecto a la suma de cationes (Cationes totales), mientras que la razón $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$ nos indica un claro predominio del Ca^{++} sobre el Mg^{++} , como se ha comentado más arriba. Si estudiamos la razón $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$, observamos una disminución en importancia del Ca^{++} debido al fuerte predominio del Na^+ , hecho que nos confirma el origen salino del agua de riego.

El estudio de los valores de los aniones SO_4^- y HCO_3^- (Tabla 5), nos demuestra que ambos representan aproximadamente un 38% de los aniones totales, sin que éstos lleguen a ser limitantes. Sin embargo, la razón $(\text{Cl}^- + \text{NO}_3^-)$ si presenta una mayor importancia, con un valor alrededor del 61% sobre el total de aniones. También podemos destacar el predominio del anión Cl^- , debido a los elevados valores de la razón $\text{Cl}^-/\text{SO}_4^-$.

Como conclusión de todo lo expuesto, se observa un fuerte predominio de los iones Na^+ y Cl^- , hecho que demuestra el origen marino de las aguas utilizadas para riego. Con todos los datos analíticos del agua procedimos a su clasificación, que es dependiente de su peligrosidad salina, y por lo tanto, directamente afectada por la concentración de sales disueltas en el agua de riego. Esta concentración producirá un potencial osmótico que hará que haya un incremento en la energía libre del agua en contacto directo con la raíz. Por consiguiente, la planta en su proceso de absorción de agua tendrá que gastar más energía para conseguir que las moléculas de agua penetren hasta su interior a través de las membranas de las células de su sistema radicular. La denominada **Peligrosidad Salina** está relacionada directamente con los aumentos en el potencial osmótico de la solución edáfica y subsiguientemente en la bajada del potencial hídrico. El potencial osmótico edáfico, tiene un valor de 1.87 bar, valor muy elevado (Greenway y Munns, 1980), que puede ser causante de cambios tanto en el sistema hídrico como en el osmótico del vegetal. Todo lo anteriormente expuesto se ve incrementado gracias a los valores de potencial osmótico, igualmente medidos, del agua de riego, oscilando éstos entre 0.70 y 0.79 bar, sin que haya variaciones estacionales bruscas.

Según todo lo mencionado, el agua no es apta (Wilcox, 1948). En cambio según la metodología propuesta por U.S.S.L. (1954), ésta se podría catalogar como de peligrosidad salina muy alta (C_4). Nijenshon (1961) lo explica como "calidad de sales disueltas", siendo éstas los SO_4^- y HCO_3^- .

Los HCO_3^- pueden ejercer un efecto tóxico, y si el ion que los acompaña es el Na^+ , éstos presentan un efecto físico desfavorable. Cuando la suma de concentración del Ca^{2+} y Mg^{2+} es menor que la de HCO_3^- , se acepta que se producen precipitaciones en forma de bicarbonatos, que harían que el agua presente $\text{NaCO}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$. En nuestra experiencia esto no ocurre, ya que la suma de concentración de Ca^{2+} y Mg^{2+} es bastante superior a la concentración de HCO_3^- . Por otra parte, debido a que la diferencia entre la concentración del HCO_3^- y la suma de concentración de Ca^{2+} y Mg^{2+} presenta valores negativos, deducimos que el agua utilizada para el riego no presenta contenido alguno del llamado bicarbonato sódico residual. Pero el papel ejercido por los HCO_3^- en el agua puede ser modificado por la cantidad de SO_4 presentes en la misma (Nijensohn, 1961). Para explicar esto, este autor utiliza lo que él denomina "Factor Interpretativo de Concentración" (FIC), que viene dado por el cociente entre C.E. edáfica, y la C.E. del agua de riego. En nuestra experiencia, con dicho cociente obtuvimos el valor de 2.52. Otro concepto que este autor introduce es el denominado "Sulfato Potencialmente Activo" (SO P.A.), que viene dado por la concentración de sulfatos, expresada en meq/L, presente en el agua de riego y que podrán ser mantenidos en solución del extracto de saturación, para lo cual propone que se divida el grado de solubilidad del yeso entre el valor del FIC. En nuestra experiencia el valor de este SO P.A. fue de 8.74 meq/L; a la diferencia entre SO P.A. menos la concentración de sulfatos presentes en el agua lo denominó como "Sulfatos Potencialmente Inactivo" (SO P.I.). En el agua de riego de nuestra experiencia este tipo de sulfatos no estuvieron presentes, ya que al aplicar la anterior diferencia ésta presentó un valor negativo.

Otro parámetro que este mismo autor introduce es la llamada "C.E. Potencialmente Inactiva" (C.E.P.I.) que viene expresada como la razón de la C.E. del agua de riego y el excedente de sulfatos sobre los activos. En el presente estudio el valor obtenido fue de 1.53. La diferencia entre la C.E. del agua y la C.E. P.I. viene dada por la denominada Conductividad Eléctrica Efectiva, que para nuestra agua fue de 0.53. Por esta razón, este autor propone que los estudios de peligrosidad salina se efectúen con la C.E. efectiva, ya que ésta nos dará una mayor información del agua de riego.

Según el método propuesto por Nijenshon (1961), el agua utilizada en el riego de nuestra experiencia se puede considerar como fuertemente salina (C_3), razón por lo que en suelos con drenaje pobre no se debería utilizar, o en caso de utilizarla, se deberían hacer controles periódicos de salinidad y utilizar especies vegetales que fuesen bastante tolerantes a las altas concentraciones salinas (Valenzuela, 1990).

