

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

TRABAJO DE FIN DE GRADO

**Efecto de la ausencia de hierro sobre el desarrollo radicular de
plántulas de tomate cv Rosa cultivadas en hidropónico**

GRADO EN INGENIERÍA AGRÍCOLA



Alumno: Alejandro Jiménez Muñoz

Directoras:

Dra. Rocío Jiménez González
Dpto. Ciencias Agroforestales
Universidad de Sevilla

Dra. Laura Casanova Lerma
Dpto. Ciencias Agroforestales
Universidad de Sevilla

Dra. Maribela Pestana
Facultad de Ciencias y Tecnología
Universidad del Algarve (Faro, Portugal)
Maribela Pestana

Sevilla, 15 de mayo de 2017



Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

TRABAJO DE FIN DE GRADO

**Efecto de la ausencia de hierro sobre el desarrollo radicular de
plántulas de tomate cv Rosa cultivadas en hidropónico**

GRADO EN INGENIERÍA AGRÍCOLA

Alumno: Alejandro Jiménez Muñoz

Directoras:

Dra. Rocío Jiménez González
Dpto. Ciencias Agroforestales
Universidad de Sevilla

Dra. Laura Casanova Lerma
Dpto. Ciencias Agroforestales
Universidad de Sevilla

Dra. Maribela Pestana
Facultad de Ciencias y Tecnología
Universidad del Algarve (Faro, Portugal)

Sevilla, 15 de mayo de 2017

AGRADECIMIENTOS.-

Al Departamento de Ciencias Biológicas y Bioingeniería de la Universidad del Algarve y a la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica de la Universidad de Sevilla por permitirme realizar este trabajo y prestar sus instalaciones para ello.

Al equipo de investigación formado por la Dra. Maribel Pestana Correia, el Dr. Pedro José Correia, la Dra. Teresa Saavaedra y la Dra. Florinda Gama por ofrecerme la oportunidad de trabajar en este proyecto.

Especialmente a mis tutoras Dña. Rocío Jiménez González y Dña. Laura Casanova Lerma por su profesionalidad y tiempo, por sus consejos y su inestimable ayuda a lo largo de todo el proyecto.

RESUMEN

El tomate (*Lycopersicon esculentum*) es una hortaliza que se utiliza tanto para consumo en fresco como para industria, en forma de conservas de frutos pelados, zumos concentrados, salsas, etc. La producción hortícola en España ocupa el segundo lugar en la producción vegetal de la rama agraria, siendo el tomate la hortaliza de mayor difusión y valor económico. Su demanda aumenta continuamente y con ella su cultivo, producción y comercio. El incremento anual de la producción en los últimos años se debe principalmente al aumento en el rendimiento y en menor proporción al aumento de la superficie cultivada.

En países con climas templados como el nuestro, el cultivo del tomate se realiza al aire libre o en invernaderos, siendo cada vez más frecuente el cultivo hidropónico que ofrece la ventaja de poder aislar el cultivo del suelo que en ocasiones puede aportar salinidad, concentraciones inadecuadas de nitratos y otros minerales, humedad inadecuada, oxigenación pobre de las raíces y enfermedades.

Por otra parte, la fertilización tiene un papel fundamental en la producción de tomate, al ser un cultivo que necesita buenas cantidades de ciertos elementos en fases puntuales, de manera que en nuestro plan de abonado resulta primordial aportar los nutrientes necesarios en el momento adecuado, y en caso de detectar una deficiencia corregirla a tiempo. Entre las carencias destaca la del hierro. La clorosis férrica se manifiesta por un amarilleamiento internervial de las hojas jóvenes, que puede dar lugar a una necrosis del limbo conforme va aumentando la carencia de este oligoelemento, llegando en casos de carencias agudas a una defoliación total o incluso la muerte de la planta.

En el presente trabajo, se describirá y cuantificará el efecto producido por la carencia de hierro (clorosis férrica) sobre el desarrollo radicular y su relación con los síntomas en hojas en plántulas de tomate cultivadas en un sistema hidropónico.

ÍNDICE DE TABLAS.-

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Progreso de los valores de SPAD después del trasplante en hojas jóvenes totalmente expandidas y hojas adultas..... | 28 |
| Tabla 2. Diámetro de la raíz medido a diferentes distancias desde el ápice de plantas de tomate cultivadas en una solución nutritiva Fe-suficiente (Fe10) y Fe-deficiente (Fe0), en diferentes días después del trasplante..... | 32 |
| Tabla 3. Coeficientes de correlación (R ²) entre los valores de SPAD y las raíces subapicales de engrosamiento para cada distancia desde el ápice de la raíz (P <0.01)..... | 35 |

ÍNDICE DE FIGURAS.-

FIGURAS.-

| | |
|--|----|
| Figura 1. Superficie cultivada de tomate en ha a nivel autonómico..... | 7 |
| Figura 2. Ventajas y desventajas del cultivo hidropónico..... | 11 |
| Figura 3. Clasificación de las plantas según su adaptación a la disponibilidad de hierro en el medio..... | 17 |
| Figura 4. Detalle de los síntomas en hojas producidos por la clorosis férrica en tomate..... | 18 |
| Figura 5. Universidad del Algarve (Faro, Portugal)..... | 21 |
| Figura 6. Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) variedad Rosa..... | 22 |
| Figura 7. Disposición del ensayo en sistema hidropónico..... | 22 |
| Figura 8. Etiquetado de las plantas..... | 23 |
| Figura 9. Etiquetado de los contenedores..... | 23 |
| Figura 10. Evaluación de la concentración total de clorofila en hoja con el dispositivo SPAD-502 de Chlorophyll Meter (Minolta Camera Co., Osaka, Japón)..... | 24 |
| Figura 11. Cuadrícula utilizada para cuantificar el engrosamiento subapical de las raíces de tomate a diferentes distancias del ápice de la misma (0,5, 1,0, 1,5 y 2,0 mm)..... | 26 |
| Figura 12. Progreso de la ausencia de Fe en hojas jóvenes y adultas en los días después del trasplante..... | 29 |
| Figura 13. Raíces de plantas de tomate a los 9 (A) y 14 (B) días después del trasplante..... | 30 |
| Figura 14. Porcentaje de raíces (%) con raíces secundarias en los primeros 2 cm desde el ápice de la raíz medida en los diferentes días después del trasplante..... | 33 |
| Figura 15. Relaciones entre los valores de SPAD y las raíces subapicales a 0.5 mm del ápice..... | 34 |

ÍNDICE

| | |
|---|-----------|
| 1. Introducción | 7 |
| 1.1. Superficie cultivada de tomate a nivel autonómico e importancia económica | 7 |
| 1.2. Características anatómicas y fisiológicas del cultivo del tomate | 8 |
| 1.2.1. La parte aérea: el tallo y las hojas | 8 |
| 1.2.2. El sistema radical | 9 |
| 1.3. Hidroponía | 10 |
| 1.4. Fertilización | 12 |
| 1.4.1. Macronutrientes | 13 |
| a) <i>Nitrógeno</i> | 13 |
| b) <i>Fósforo</i> | 13 |
| c) <i>Potasio</i> | 14 |
| d) <i>Magnesio</i> | 14 |
| e) <i>Calcio</i> | 14 |
| 1.4.2. Micronutrientes | 15 |
| a) <i>Manganeso</i> | 15 |
| b) <i>Cobre</i> | 15 |
| c) <i>Zinc</i> | 15 |
| d) <i>Boro</i> | 15 |
| e) <i>Hierro</i> | 16 |
| 1.5. El hierro en la planta | 16 |
| 1.5.1. Asimilación del hierro por la planta | 16 |
| a) <i>Estrategia I</i> | 17 |
| b) <i>Estrategia II</i> | 17 |
| 1.5.2. Clorosis férrica | 18 |
| 2. Objetivos | 20 |
| 3. Materiales y métodos | 21 |
| 3.1. Material vegetal y condiciones de crecimiento | 21 |
| 3.2. Evaluación de la concentración de clorofila en la hoja | 24 |
| 3.3. Cuantificación de los parámetros relacionados con el crecimiento | 25 |
| 3.4. Análisis de los datos | 26 |
| 4. Resultados y discusión | 27 |
| 4.1. Efecto de la deficiencia de hierro en las hojas | 27 |
| 4.2. Efecto de la deficiencia de hierro en las raíces | 29 |
| 4.2.1. Descripción morfológica de las raíces en ausencia de hierro | 29 |
| 4.2.2. Efecto de la deficiencia del hierro sobre el engrosamiento apical | 31 |
| 4.2.3. Cuantificación de las raíces secundarias en ambos tratamientos | 33 |
| 4.3. Correlación de la aparición de los síntomas de la clorosis férrica en las hojas con el engrosamiento de la zona subapical de la raíz | 34 |
| 5. Conclusiones | 36 |
| 6. Bibliografía | 37 |

1. INTRODUCCIÓN.-

1.1. Superficie cultivada de tomate a nivel autonómico e importancia económica.-

La mayoría de provincias españolas dedican alguna superficie al cultivo del tomate, principalmente en regadío (Figura 1). Por la gran variedad de tipos de frutos y el alto índice de producción, el tomate es una especie vegetal enormemente apreciada por los agricultores, siendo utilizada en muchas ocasiones en las rotaciones de cultivos.

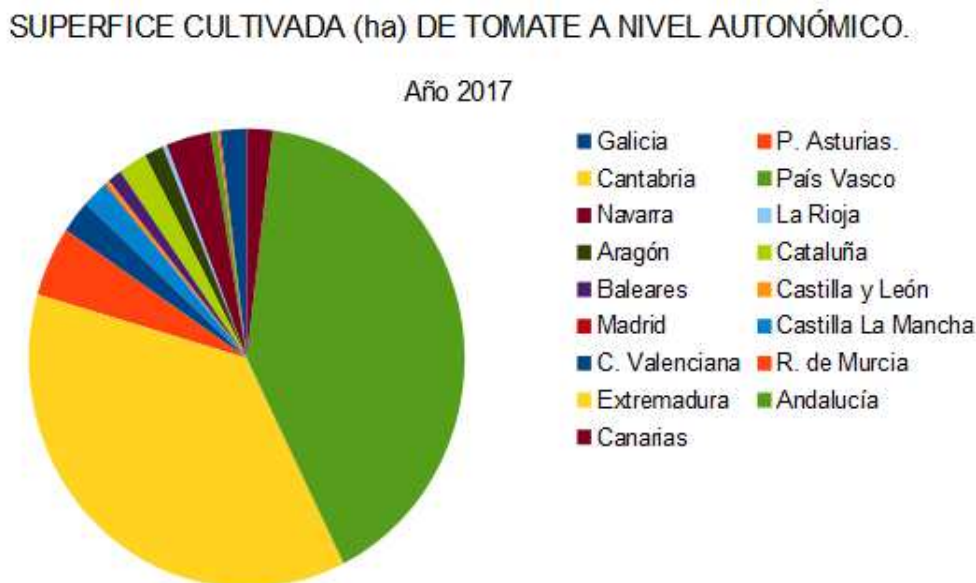


Figura 1. Superficie cultivada de tomate en ha a nivel autonómico. Fuente: MAPAMA (2017).

La importancia económica de este cultivo es muy elevada ya que mantiene su superficie no sólo por su rentabilidad sino por el alto rango de posibilidades que le rodea: variedades de mayor calidad y más productivas, resistencia a plagas y enfermedades, incorporación de la técnica del injerto, la cual le proporciona una mayor protección contra hongos del suelo, diversidad de procesados a partir del tomate y gran riqueza nutritiva. Por otra parte, el tomate tiene una oferta y demanda a lo largo de todo el año, a diferencia de otras hortalizas más estacionarias.

Las dos grandes áreas en la que se localiza el comercio internacional son La Unión Europea y los Estados Unidos. A ésta última entra tomate sobre todo de México y Canadá, y a la Unión Europea llegan tomates procedentes principalmente de España, Holanda, Marruecos, Egipto, Israel y Turquía, siendo Marruecos y Turquía los principales exportadores de tomate, cerca del 75% de las importaciones de la Unión Europea con origen en países extracomunitarios. A nivel mundial los

mayores productores y exportadores de tomate fresco son: España, Marruecos, EEUU, Francia, Canadá, Brasil e Italia. Los países importadores son: EEUU, Alemania, Francia, Reino Unido, Canadá, Países Bajos, Suecia y Argentina.

España es uno de los principales países productor y exportador de frutas y hortalizas a la Unión Europea. Es la principal fuente suministradora de tomate en los meses de otoño–invierno procedentes de los cultivos de invernaderos, esencialmente de Almería, siendo Holanda el país más exportador en los meses de primavera y verano (Nuez, 1995).

1.2. Características anatómicas y fisiológicas del cultivo del tomate.-

El tomate es una planta perteneciente a la familia de las *solanáceas*, denominada *Lycopersicon esculentum*. Es una planta perenne de porte arbustivo que se cultiva como anual. La planta puede desarrollarse de forma rastrera, semierecta o erecta. Su crecimiento es limitado en las variedades determinadas e ilimitado en las variedades indeterminadas, pudiendo llegar, en éstas últimas, a 10 m en un año (Rick, 1978).

La planta se desarrolla de manera correcta en un amplio rango de latitudes, tipos de suelo, temperaturas y métodos de cultivo, siendo moderadamente tolerante a la salinidad. Es conveniente mantenerla en ambientes cálidos, con una apta iluminación y un buen drenaje.

1.2.1. La parte aérea: el tallo y las hojas.-

El tallo tiene de 2 a 4 cm de diámetro en la base y está cubierto por pelos glandulares y no glandulares que salen de la epidermis. Debajo de la epidermis se encuentra la corteza cuyas células más externas tienen clorofila y son fotosintéticas. La capa cortical más interna es la endodermis que separa la corteza del cilindro vascular. En el extremo del tallo principal se encuentra el meristemo apical, una zona de división celular activa donde se inician los nuevos primordios foliares y florales. Tiene forma de cúpula y está protegido por las hojas recién formadas (Picken et al., 1986).

Las hojas de la planta del tomate son pinnado-compuestas. Una hoja desarrollada de tomate puede alcanzar 0,35-0,40 m de longitud y 0,25 de ancho, con un gran foliolo terminal y hasta 8 grandes foliolos laterales, que pueden ser, a su vez, compuestos. Las hojas están recubiertas de pelos del mismo tipo que los del tallo. La epidermis del envés o inferior contiene abundantes estomas que

facilitan el intercambio gaseoso con el exterior, mientras que éstos son escasos en la epidermis superior. Los haces vasculares constan de un solo nervio primario del cual parten en una estructura pinnada, irregular, los nervios secundarios. Los nervios principales aparecen como pequeños surcos en el haz y forman una estructura prominente en el envés de la hoja. Los nervios primarios y secundarios tienen una estructura similar al tallo y poseen un floema externo y un floema interno.

1.2.2. El sistema radical.-

El sistema radical del tomate está formado por la raíz principal, raíces secundarias y raíces adventicias. Dentro de la raíz principal diferenciamos tres zonas de importancia: la epidermis, el córtex y el cilindro vascular. La epidermis está especializada en la captación de agua y nutrientes y de manera general posee pelos absorbentes. La capa cortical mas interna constituye la endodermis y la capa más externa del cilindro vascular es el periciclo que es un tejido a partir del cual se forman las raíces secundarias. Las raíces adventicias, similares en estructuras a las laterales, se desarrollan principalmente a partir de la base del tallo en condiciones favorables. También se inician con profusión en la parte inferior de las porciones horizontales del tallo (Picken et al., 1986).

El sistema radical resulta gravemente afectado por las prácticas culturales. Cuando la planta se desarrolla a partir de una semilla, sin transplante, se forma una raíz principal vigorosa que puede llegar a penetrar más de tres metros en terrenos aluviales profundos.

Cuando se lleva a cabo el transplante de las plántulas, la raíz principal se daña y se desarrolla un sistema de raíces laterales secundarias. Las raíces secundarias tienen un rápido desarrollo con varias raíces laterales lo que facilita la reproducción de la planta mediante esquejes. En las variedades cultivadas es posible encontrarnos con raíces que logran extenderse superficialmente sobre un diámetro de 1,5 m y alcanzar más de 0,5 m de profundidad. Generalmente el 70% de las raíces se localizan a menos de 20 cm de la superficie. Todas las raíces absorben agua, mientras los minerales se absorben por las raíces más próximas a la superficie (Varga y Bruinsma, 1986).

Los estudios sobre desarrollo y crecimiento radicular han sufrido un importante avance debido al desarrollo del cultivo hidropónico. El crecimiento y la materia seca de la planta aumenta con la temperatura de la raíz hasta un óptimo de 30 °C, a menos que la iluminación resulte limitante y, cuando la temperatura de la raíz desciende por debajo de 15 °C, el crecimiento del brote puede disminuir drásticamente (Picken et al., 1986).

El descenso en el suministro de fotoasimilados a la raíz, como consecuencia del descenso en la actividad fotosintética de la parte aérea o de la fructificación, reduce el aumento en materia seca y la división de las células apicales de la raíz, pero afecta poco a la absorción de iones y a la respiración. Esto pone de manifiesto que, ante una escasez de nutrientes, tienen prioridad las funciones esenciales para el mantenimiento de la planta (Crapo y Kettellaper, 1981).

1.3. Hidroponía.-

La hidroponía es un método que permite el cultivo de plantas en un medio libre de suelo utilizando únicamente soluciones acuosas con nutrientes químicos disueltos, o con sustratos estériles (arena, grava, vidrio molido, etc.) como soporte de la raíz de las plantas. A partir de este concepto se desarrollan técnicas que se apoyan en sustratos, o en sistemas con aportes de soluciones de nutrientes. Por lo tanto, el cultivo hidropónico es un sistema aislado del suelo, utilizado para cultivar plantas cuyo crecimiento es posible gracias al suministro adecuado de los requerimientos hídrico-nutricionales a través del agua y solución nutritiva (Beltrano, 2012).

En combinación con los invernaderos, el cultivo sin suelo o cultivo hidropónico, posiblemente sea hoy en día el método más intensivo de producción de hortalizas, surgiendo como una alternativa a la agricultura tradicional, cuyo principal objetivo es eliminar o disminuir los factores limitantes del crecimiento vegetal asociados al ambiente de producción, sustituyéndolo por otros soportes de cultivo y aplicando técnicas de fertilización alternativas (Durán et al., 2000).

Con este sistema se obtienen productos hortícolas de gran calidad en un corto período de cultivo y un rendimiento elevado. Por otra parte, es necesaria una mayor inversión inicial. La constante oferta de agua y elementos minerales permite a las plantas crecer sin estrés y obtener el potencial productivo del cultivo. Además es posible obtener precocidad lo que para algunos mercados locales implica un mejor precio. Sin embargo, la posible diseminación de patógenos a través de la disolución y por tanto, la posibilidad de obtener enfermedades puede hacer peligrar el éxito del cultivo (Urrestrarazu, 2004).

El cultivo hidropónico presenta una serie de ventajas y desventajas (Beltrano, 2012) que se resumen en la figura 2.

Figura 2. Ventajas y desventajas del cultivo hidropónico (Beltrano, 2012).

Ventajas del cultivo hidropónico

Control total de la nutrición de la planta, ya que solo los elementos contenidos en el agua estarán presentes en la zona de la raíz y en las proporciones adecuadas.

Ahorro de agua y nutrientes. La mayoría de agua y nutrientes suministrados son absorbidos y bien utilizados por la planta. No se pierde ni agua ni nutrientes en el suelo por percolación.

No hay necesidad del uso de herbicida ya que es muy poco probable que se desarrollen malas hierbas o bacterias por los materiales que se utilizan para el cultivo en hidroponía.

Utilización óptima de los potenciales genéricos de las plantas, siendo importante colocar las plantas en las situaciones ideales en cuanto a nutrición, temperatura, luz, humedad y pH con la finalidad de aprovechar todo lo que la planta puede dar.

Aumentar los cultivos en tamaño y en calidad. Las plantas cultivadas en hidroponía contienen mayor cantidad de vitaminas y sales minerales dando así una mayor calidad de estas.

Acceso a las raíces, lo que resulta muy útil a la hora de comprobar la salud de las plantas y detectar rápidamente cualquier problema.

Mejor uso del espacio. En hidroponía las plantas no necesitan un alto crecimiento de las raíces para obtener los nutrientes, lo cual significa poder cultivar plantas muy cercas unas de otras, dando como resultado una mejor distribución de las plantas con un eficiente uso del espacio.

Rápido crecimiento. Las plantas cultivadas en hidroponía crecen más rápido debido a que los nutrientes necesarios para su desarrollo son fáciles y apropiadamente suministrados.

Desventajas del cultivo hidropónico

Poca amortiguación de la solución nutritiva. Si se le suministra una combinación inadecuada de nutrientes a la planta, los microorganismos presentes en el suelo, así como su composición química, tenderán a restablecer el equilibrio, mientras que en la hidroponía esto no es posible y nuestro cultivar puede morir.

Restricción en el rango de temperatura. La temperatura es un limitante especialmente en los países tropicales y ambientes cerrados, de 18 a 22 °C es el rango óptimo para crecimiento en hidroponía, si alcanza 26 °C el crecimiento desacelera, alrededor de los 35 °C falta oxígeno en las raíces y las plantas empiezan a morir.

Agua de riego de cierta calidad puesto que será la base de la solución nutritiva.

Precisa un mayor nivel técnico del agricultor. Se manejan datos de pH y conductividad que se deben conocer. Además el agricultor debe saber modificar la solución nutritiva en función del cultivo, de su desarrollo y de los factores ambientales.

Aspecto económico de un cultivo. Dependiendo de la ubicación geográfica y el mercado global en el que se quiere cultivar con hidroponía hay que considerar que cultivo es adecuado plantar.

Coste inicial elevado. Puede tener una inversión inicial elevada debido a electricidad, materiales y espacio, pero es una inversión rápidamente recuperable y el cultivo hidropónico ahorra tiempo.

1.4. Fertilización.-

Algunos elementos minerales que tienen su efecto en los procesos fisiológicos de las plantas son precisamente aquellos que en forma natural se encuentran en el suelo, aunque en ciertos casos algunos de estos elementos se encuentran en cantidades inferiores a las que requieren las plantas, o bien ciertos factores del suelo no permiten que sean absorbidos por las plantas, a pesar de su presencia. Es por ello por lo que la fertilización juega un papel fundamental en la nutrición de las plantas. En el ámbito de la llamada agricultura sostenible la fertilización se entiende como la aplicación racional de fertilizantes a las plantas dentro de la consideración al medio ambiente (Velasco Hernández, 2005).

Los nutrientes esenciales son requeridos por los vegetales en cantidades variables. En este sentido, podemos indicar que algunos de ellos forman las estructuras cuantitativamente más importantes o activas en el metabolismo, y por lo tanto son requeridos en cantidades relativamente elevadas. Los que son requeridos en orden de g/L de solución se denominan macronutrientes y en este grupo se encuentra el C, H, O, N, P, K, Ca, Mg y S. Otro grupo de nutrientes esenciales se necesitan en cantidades más reducidas, en orden de mg/L de solución y son denominados micronutrientes y entre ellos figuran el Fe, Mn, Cu, Zn, B, Mo, Ni y Cl. La necesidad de menor cantidad no implica que tengan menor importancia, solo que son requeridos en menores cantidades relativas respecto a los macronutrientes. (Beltrano, 2012).

En el sistema hidropónico los elementos minerales esenciales son aportados por la solución nutritiva, donde se encuentran en forma iónica y como tal son absorbidos por las raíces. Dichos nutrientes están dotados de movimiento en el entorno de la raíz favoreciendo su absorción. La importancia para la efectividad del cultivo hidropónico es la composición de la solución nutritiva, ya que la misma deberá contener todos los elementos mencionados en forma adecuada y en las cantidades apropiadas para que cumplan de manera correcta el papel que desempeñan en el metabolismo vegetal. La carencia o falta de alguno de los elementos esenciales trae consigo la aparición de anomalías en el crecimiento, que se manifiesta en síntomas de deficiencia característicos para cada nutriente (Beltrano, 2012).

A continuación, se describirá de manera general los principales macronutrientes y micronutrientes esenciales requeridos por las plantas. En el caso de los macronutrientes hablaremos del N, P, K, Mg y Ca. En los micronutrientes nos centraremos en Fe, Mg, Cu, Zn y B.

1.4.1. Macronutrientes.-

Nitrógeno (N)

Es uno de los elementos de mayor contenido en la composición de la planta, siendo el nutriente más abundante y esencial en el crecimiento y desarrollo de la parte aérea. El contenido medio en plantas es de 1,5-5 % m.s. siendo el constituyente de los aminoácidos, las amidas, las proteínas, los ácidos nucleicos, los nucleótidos, las coenzimas y la clorofila. Su transporte es muy móvil; en el xilema (ureidos, aminoácidos, NO_3^-) y floema (aminoácidos y derivados). Cuando su aporte es restringido, aparecen claros síntomas de disminución del crecimiento y la productividad. Las plantas tienen escasas reservas móviles de compuestos nitrogenados, de manera que cuando la deficiencia aparece se manifiestan las carencias, frenando el crecimiento del vegetal. Se produce la clorosis (amarilleamiento) de las hojas por la ruptura y desorganización de los cloroplastos, produciendo la necrosis y posterior muerte de tejidos y algunos órganos vegetales. Por otra parte, el exceso desequilibra la planta y puede desarrollar excesivamente en follaje, con escasez de floración y aborto de flores (Beltrano, 2012).

Fósforo (P)

El fósforo juega un papel clave en la transferencia de energía, siendo el componente de los azúcares fosfatos, ácidos nucleicos, nucleótidos, fosfolípidos, además de ser componente de la energía química orgánica en forma de ATP. El contenido medio en plantas es de 0,2-0,5 % en m.s. Este mineral es abundante en órganos y tejidos jóvenes donde participa activamente para su crecimiento, conteniendo altos niveles de ácidos nucleicos. Las elevadas necesidades de P en éstos tejidos obligan, en caso de carencias, a la movilización del mismo desde otras partes de la planta. El transporte es muy móvil en el xilema (formas iónicas) y en floema (formas orgánicas). Este traslado se realiza desde las hojas viejas, donde se visualizarán los primeros síntomas de deficiencias. El diagnóstico foliar muestra decoloraciones irregulares marrones en algunas especies y coloración púrpura en las nervaduras en el envés de las hojas y pecíolos. Se reduce significativamente el crecimiento de la planta y si la carencia es severa se observan claros síntomas de enanismo (Beltrano, 2012).

Potasio (K)

El potasio constituye el protoplasma de las células como ión libre, es regulador osmótico celular, activador de muchas enzimas incluyendo la ATPasa. Su transporte es muy móvil (xilema y floema) en forma de K^+ y el contenido medio en plantas varía según especie y estado fenológico y va de 1-3 % m.s. Participa en el transporte de carbohidratos y juega un papel fundamental en la apertura y cierre de estomas. El K es el único nutriente esencial que no forma ninguna estructura química en la célula vegetal. Cumple un rol fundamental en la economía del agua de la planta y su movilidad dentro de la planta es elevada. Los síntomas característicos de la carencia son observados en las hojas basales, con un amarilleamiento en bordes y posterior necrosis conforme avance la carencia. Se observa un acortamiento de los entrenudos pudiendo llegar a producir defoliación de las hojas viejas como ocurre en pimiento y tomate (Beltrano, 2012).

Magnesio (Mg)

El magnesio es requerido por una cantidad de enzimas involucradas en la transferencia del fosfato, siendo un constituyente esencial de la molécula de la clorofila. El contenido medio en plantas es de 0,1-0,5 % en m.s. y el transporte es móvil en xilema y floema. La absorción es con gasto de energía y se da en forma de ión o quelato. La sintomatología de la carencia de Mg se manifiesta en las hojas adultas o basales de la planta. Estas presentan una clorosis internervial que se mueve hacia el borde de la lámina foliar y de las hojas inferiores hacia las superiores (Reché Mármol, 2012).

Calcio (Ca)

El calcio es utilizado en la síntesis de la pared celular, siendo el componente estructural de la lámina media, que separa las células recién formadas. El contenido medio en plantas es muy variable (0,5-2%) y el transporte es muy móvil en el xilema pero inmóvil en el floema. Participa en la formación del huso mitótico durante la división celular y es necesario para el normal funcionamiento de las membranas celulares. Actúa como cofactor de numerosas enzimas ejerciendo un rol primordial sobre la elasticidad y elongación de las células jóvenes de la planta. La acumulación en los órganos maduros es irreversible dado que éste elemento carece de movilidad. Esto determina que la sintomatología de deficiencia sea observada en los órganos jóvenes y meristemas apicales limitando el crecimiento del vegetal. Estos tejidos jóvenes se muestran necróticos y son un punto de ingreso para el ataque de enfermedades fúngicas y la aparición de fisiopatías típicas como el “Blossom and rot” (B.E.R) característico en el cultivo de tomate, pimiento, berenjena y algunas solanáceas y cucurbitáceas (Velasco Hernández, 2005).

1.4.2. Micronutrientes.-

Manganeso (Mn)

El manganeso actúa como catalizador de la formación de la clorofila, desempeña un rol importante en la fotosíntesis como transportador de electrones entre el agua y el fotosistema es activador de determinadas enzimas y favorece la germinación y el crecimiento de la planta. Los síntomas de carencia aparecen en la zona media de la planta con clorosis internervial pudiendo llegar a observarse necrosis en caso que la deficiencia sea severa (Beltrano, 2012).

Cobre (Cu)

El Cobre está asociado a enzimas que intervienen en reacciones redox, interviene como catalizador en la respiración, en la formación de clorofila y en el crecimiento de la planta. La sintomatología de deficiencia está dada por la aparición de hojas de color verde oscuro, seguido de posterior necrosis y torsión de la hoja hacia el envés. Las manchas necróticas aparecen primero en los extremos de las hojas jóvenes que se extienden hacia la base a lo largo de los márgenes foliares. Este elemento posee escasa movilidad en las plantas una vez que fue absorbido (Velasco Hernández, 2005).

Zinc (Zn)

Este elemento se encuentra como catión divalente jugando un papel fundamental en la síntesis de las auxinas. El síntoma característico de su carencia es la reducción del crecimiento, observándose acortamiento de entrenudos y aparición de un patrón de crecimiento en roseta. Se requiere su presencia para la biosíntesis de clorofila siendo frecuente que ante su carencia se observe la aparición de hojas viejas más pequeñas con clorosis internervial. Este elemento posee movilidad intermedia una vez que es absorbido (Beltrano, 2012).

Boro (B)

Este elemento se absorbe en forma de ácido bórico y ejerce un rol importante en la síntesis de ácido giberélico (AG) y ácidos nucleicos (ARN y ADN), en las respuestas hormonales y en la funcionalidad de las membranas celulares. El contenido medio en plantas es de 20 a 100 ppm. Una vez que es absorbido presenta escasa movilidad presentando diversos síntomas de carencia como necrosis negra en las hojas jóvenes y en las yemas terminales. Los tallos pueden ser rígidos y quebradizos y es frecuente la pérdida de la dominancia apical pudiendo observarse plantas muy ramificadas. Los frutos, las raíces carnosas y los tubérculos pueden manifestar necrosis o deformaciones relacionadas con la ruptura de los tejidos internos. (Beltrano, 2012).

Hierro (Fe)

Este elemento se caracteriza por los cambios de oxidación, Fe^{+2} (ferroso) ó Fe^{+3} (férico). Dicha variabilidad hace que el Fe tenga una especial importancia en los sistemas redox, siendo la forma Fe^{+3} la más abundante en las plantas. El transporte en el xilema es muy móvil ocurriendo lo contrario en el floema. El contenido medio en plantas es alrededor de 100 ppm y es un componente estructural y funcional de numerosos complejos enzimáticos, formando parte de algunas proteínas involucradas en la fotosíntesis y participando en la fijación del N y en procesos respiratorios. La carencia de hierro en las plantas se manifiesta con clorosis internervial en las hojas jóvenes, debido a que este elemento no se moviliza rápidamente desde las hojas más viejas. En condiciones extremas o severas de carencia la clorosis en la zona apical se intensifica, la división celular se inhibe y consecuentemente se detiene el crecimiento (Beltrano, 2012).

1.5 El hierro en las plantas.-

1.5.1. Asimilación del hierro por la planta.-

Las plantas se pueden clasificar en función de su adaptación a la disponibilidad de hierro en el medio en calcífugas y calcícolas (Figura 3). Las primeras son incapaces de desarrollar mecanismos como respuesta de las deficiencias nutricionales, especialmente en P y Fe. No pueden solubilizar micronutrientes en suelos donde sus concentraciones son insuficientes para cubrir las necesidades nutricionales de las plantas (Lindsay, 1984) y tampoco pueden mantener el Fe dentro de sus tejidos en su forma activa Fe(II). Las plantas calcícolas pueden crecer en situaciones de deficiencia de hierro, las cuales han desarrollado una serie de mecanismos que permiten incrementar los niveles de Fe en la disolución del suelo. Estas plantas según los mecanismos que desarrollen en su adaptación a la carencia de hierro se clasifican en dos categorías: plantas de estrategia I y de estrategia II (Marschner y Romheld, 1995).

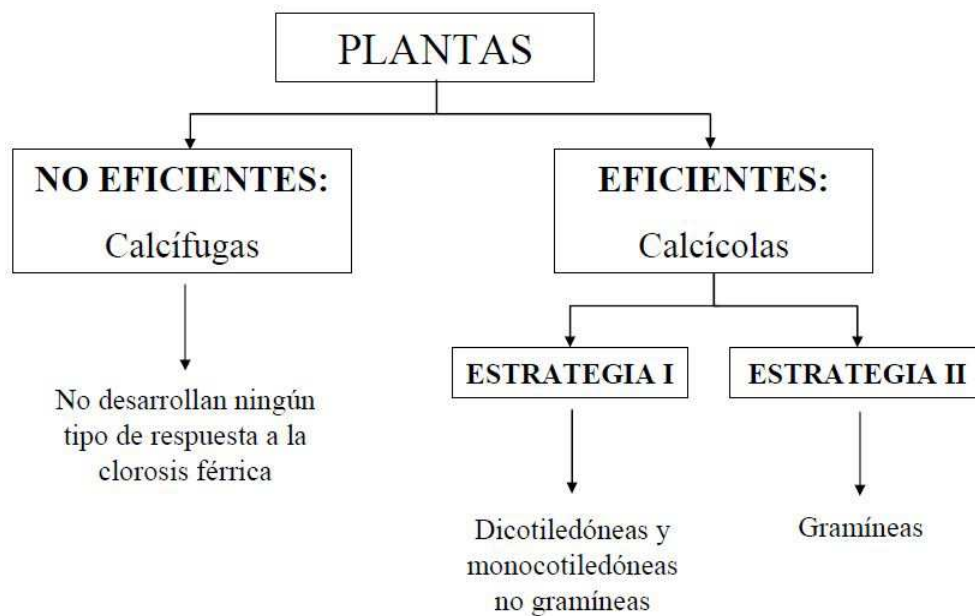


Figura 3. Clasificación de las plantas según su adaptación a la disponibilidad de hierro en el medio.

Estrategia I

En general, las plantas de estrategia I experimentan como respuesta a la deficiencia de Fe cambios fisiológicos como son la liberación de H^+ y sustancias reductoras y quelantes, así como cambios morfológicos como la proliferación de raíces laterales para incrementar el área de absorción de Fe y aumento del diámetro de la zona apical radicular (Kramer et al., 1980; Robinson et al., 1999; López-Millán et al., 2001).

La liberación de H^+ va unida a cambios morfológicos en la raíz, como son el incremento de raíces laterales y el engrosamiento de las zonas subapicales, que permiten una mayor absorción del Fe al aumentar la superficie de contacto (Kramer et al., 1980; Schmidt 2001).

Estrategia II

Este mecanismo de respuesta lo desarrollan exclusivamente las gramíneas y se caracteriza por la biosíntesis y secreción en la zona radicular como respuesta a la deficiencia de Fe, de agentes quelantes naturales altamente efectivos para solubilizar el Fe(III) de los compuestos inorgánicos del suelo (Marschner y Romheld, 1995).

1.5.2. Clorosis férrica.-

La deficiencia de hierro es uno de los principales desórdenes nutricionales que afecta a los cultivos, reduciendo la producción de los mismos y la calidad de las cosechas (Zuo y Zang, 2011). En general, este desorden nutricional, presenta una destacada incidencia en un gran número de cultivos de alto interés económico y comercial, tales como cítricos, frutales u hortícolas que necesitan ser tratados con Fe de forma anual (Jaegger et al., 2000). La mejor forma de evitar la carencia de hierro en los cultivos ha sido hasta ahora la aplicación de quelatos de hierro sintéticos.

Esta deficiencia se manifiesta por una clorosis en las hojas (Figura 4). El limbo de éstas adquiere una tonalidad verde pálido que evoluciona gradualmente a amarillo, incluso blanco en casos graves. Las nerviaciones mantienen su color original por lo que aparecen claramente definidas sobre el fondo amarillo. En determinadas especies el amarilleamiento puede ocupar la totalidad de la hoja. Si la carencia persiste pueden aparecer zonas necróticas en las hojas, especialmente en los bordes, adquiriendo menor tamaño y finalmente cayendo.



Figura 4. Detalle de los síntomas en hojas producidos por la clorosis férrica en tomate.

La clorosis surge siempre en las hojas más jóvenes, extendiéndose al resto de la vegetación conforme va progresando y en los frutos no suelen aparecer síntomas aunque pueden presentar un color verde grisáceo antes de madurar. El aspecto general de la planta es de retraso en el crecimiento y amarillez. La persistencia de la carencia de hierro ocasiona una falta de vigor en la vegetación, disminuyendo fuertemente la productividad y rentabilidad del cultivo.

La deficiencia de hierro también afecta a la raíz. Las especies dicotiledóneas como el tomate, responden a la deficiencia de Fe desarrollando una serie de mecanismos que incrementan la disponibilidad del Fe en el suelo y su absorción por el vegetal (Marschner y Römheld, 1995): aumento de la capacidad reductora del vegetal, acidificación de la rizosfera, liberación de sustancias quelantes y reductoras y cambios morfológicos de la raíz.

Estos cambios consisten en la formación de raíces laterales y pelos radiculares, así como en el engrosamiento de las zonas subapicales y la estimulación de la formación de células de transferencia (Römheld y Marschner, 1983). De esta manera, las raíces de las plantas responden aumentando su superficie de contacto en condiciones de deficiencia de Fe.

2. OBJETIVOS.-

El objetivo principal de este ensayo es describir morfológicamente y cuantificar el engrosamiento que se produce en las raíces de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) cv Rosa cultivadas en hidropónico como consecuencia de la ausencia de hierro y su relación con la aparición de síntomas de clorosis férrica en hojas.

Para ello, se definen los siguientes objetivos específicos:

- 1.- Determinar en qué momento aparecen los síntomas de clorosis férrica en las hojas jóvenes y adultas.
- 2.- Determinar en qué momento aparece el engrosamiento en la zona apical.
- 3.- Cuantificar el número de raíces secundarias que aparecen como consecuencia de la ausencia de hierro.
- 4.- Caracterizar y cuantificar dicho engrosamiento en la zona subapical de la raíz a diferentes distancias desde el ápice (0,5, 1,0, 1,5 y 2,0 mm) y en diferentes fechas después del transplante.
- 5.- Correlacionar la aparición de los síntomas de clorosis férrica en las hojas con el engrosamiento de la zona subapical de la raíz.

3. MATERIAL Y MÉTODOS.-

3.1. Material vegetal y condiciones de crecimiento.-

El presente estudio se realizó en abril de 2016 en las instalaciones de FCT (Facultad de Ciencia y Tecnología), en el DCBB (Departamento de Ciencias Biológicas y Bioingeniería) de la Universidad del Algarve (Faro, Portugal) (Figura 5) y en la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica de la Universidad de Sevilla.



Figura 5. Universidad del Algarve (Faro, Portugal).

Para el ensayo se utilizó plantas de tomate (*Solanum lycopersicum L.*) variedad Rosa. Ésta es una variedad local de Aragón que ha adquirido gran importancia a nivel regional y está afianzando su proyección nacional. Es valorada por sus característicos tonos rosados (Figura 6), por su tamaño, que suele presentar un calibre mayor de los que habitualmente se encuentran en el mercado. La mayor parte de los frutos superan los 102 mm de diámetro con un peso medio de 400 g. La forma de los frutos es achatada, con una relación aproximada de 0,5 entre el diámetro y la altura de los frutos. Los frutos son multiloculados, generalmente con más de 12 lóculos y presenta un contenido medio en sólidos solubles entre 4 y 6 °Brix, lo que se ajusta a un tomate de calidad.



Figura 6. Tomate (*Solanum lycopersicum* L.) variedad Rosa.

El ensayo fue diseñado con un total de 125 plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* cv. Roma) cultivadas en un sistema hidropónico (Figura 7). Se tomaron 15 plantas el día 0 (fecha del trasplante e inicio del ensayo) y otras 120 plantas procedentes de dos tratamientos (Fe0: sin aportes de hierro en la solución nutritiva y Fe10: añadiendo 10 mM de Fe en la solución nutritiva) durante cuatro fechas (3, 6, 9 y 14 días después del trasplante (DDT)), con tres repeticiones por tratamiento y cinco raíces por repetición.



Figura 7. Disposición del ensayo en sistema hidropónico.

En el momento del trasplante, todas las plantas procedentes del vivero con raíz desnuda (con una longitud aproximada de 18 cm) se esterilizaron por inmersión en una solución que contenía 1,33 g/l de fosetil-aluminio durante 24 h. Posteriormente, se lavaron a fondo con agua corriente. El total de plantas se colocó según un diseño al azar en veinte recipientes de plástico de 20 litros de capacidad cada uno (seis plantas por contenedor) con agua desmineralizada (conductividad eléctrica (CE) = 0 dS m⁻¹). Después, a cada contenedor se le suministró una disolución Hoagland: (en mM) 5 Ca (NO₃)₂, 5 KNO₃, 1,0 KH₂PO₄, 2,0 MgSO₄ y (en μM) 46,0 H₃BO₃, 0,8 ZnSO₄, 0,4 CuSO₄, 9,0 MnCl₂ y 0,02 MoO₃. En los recipientes de tratamiento Fe10, se suministró adicionalmente 10 mM de Fe a la disolución como Fe (III)-EDDHA. Para ajustar el pH (6,0/pm 0,1) se añadieron 5 ml de NaOH (1 M) a todos los recipientes y se evaluó diariamente la conductividad eléctrica de las soluciones (CE, aproximadamente 2,2/pm 0,1 dS m⁻¹). Las soluciones de nutrientes de cada recipiente se airearon constantemente con un difusor.

Todos los contenedores al igual que cada planta, de manera individual, se etiquetaron debidamente de acuerdo con cada tratamiento (Figura 8 y 9). El ensayo se colocó dentro de un invernadero con un rango de temperaturas entre 20 y 25 °C y bajo condiciones naturales de fotoperiodo.

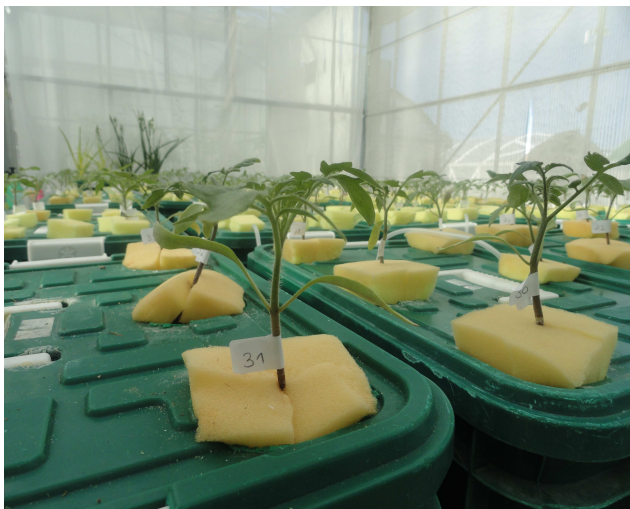


Figura 8. Etiquetado de las plantas.

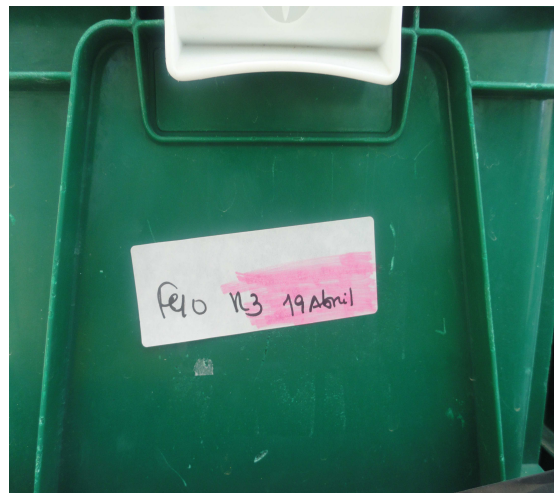


Figura 9. Etiquetado de los contenedores.

3.2. Evaluación de la concentración de clorofila en la hoja.-

Una vez establecido el ensayo, se evaluó la concentración total de clorofila en hojas ($\mu\text{mol m}^{-2}$) (Figura 10) con el dispositivo SPAD-502 de Chlorophyll Meter (Minolta Camera Co., Osaka, Japón), para los diferentes tratamientos (Fe0 y Fe10) en una hoja basal adulta y una hoja nueva completamente expandida (hoja apical).



Figura 10. Evaluación de la concentración total de clorofila en hoja con el dispositivo SPAD-502 de Chlorophyll Meter (Minolta Camera Co., Osaka, Japón).

Los valores de SPAD son obtenidos mediante parte de la luz que llega a la hoja, la cual queda reflejada en la celda detectora del aparato y es convertida en señal eléctrica. Dicha cantidad de luz atrapada por la celda es inversamente proporcional a la cantidad de luz utilizada por la clorofila. Esta señal es procesada por el detector de clorofila y se cuantifica en valores dimensionales por lo que las unidades de SPAD serán siempre las mismas de acuerdo con el tono verde de las hojas (Krugh et al., 1994).

Mediante curvas de calibración el contenido de clorofila se correlaciona con las unidades SPAD. Para ello se tomaron mediciones de SPAD diariamente desde el trasplante (excepto los fines de semana) hasta el día 13 DDT. Posteriormente, estos valores de SPAD nos sirvieron para obtener la concentración total de clorofila ($\mu\text{mol m}^{-2}$) usando la siguiente curva de calibración (Jiménez, comunicación personal):

$$Y = 28,391 X - 104,10 \quad (r^2 = 0,94, n = 74, P < 0,001)$$

Donde Y es la concentración de clorofila ($\mu\text{mol m}^{-2}$) y X es la lectura SPAD.

3.3. Cuantificación de parámetros relacionados con el crecimiento.-

Los parámetros relacionados con el crecimiento de las raíces de las plantas de tomate fueron evaluados en diferentes fechas después del trasplante (0, 3, 6, 9 y 14 DDT). Para cada fecha se recogieron treinta plantas: cinco por cada repetición y tratamiento (Fe0 y Fe10), excepto al día 0 que se seleccionaron quince plantas. Posteriormente, de cada sistema radicular se cortaron las ápices de las raíces (con una longitud de aproximadamente 2 cm) con una cuchilla desechable, y para evitar su deshidratación estas raíces se mantuvieron sumergidas en agua mientras se realizaban los cortes. Posteriormente, todos los ápices de las raíces se fijaron en una solución de FAE (formalina, ácido acético, etanol al 95% y agua destilada (10: 5: 50: 35 v / v / v / v)) según Berlyn y Mikshe (1976) y se conservaron en tubos Eppendorf de 2 ml debidamente etiquetados.

Se tomaron imágenes fotográficas de todos los ápices de las raíces fijadas con una lupa binocular Nikon (Nikon, SMZ 1270) conectada a una cámara digital Nikon Digital (Sight DS Ri 1) y fueron procesadas con el software de análisis de imágenes Nis-Elements AR 3.2. Se obtuvieron un total de 135 imágenes fotográficas: dos tratamientos (Fe0 y Fe10), cuatro fechas (3, 6, 9 y 14 días después del trasplante (DDT)) y tres repeticiones, más quince ápices de raíz en el día 0. Para evitar su deshidratación los ápices de las raíces se sumergieron en FAE mientras se realizaban todas las imágenes fotográficas. Para identificar exactamente las distancias en el ápice de la raíz se colocó una cuadrícula en cada imagen fotográfica (Figura 11) y se midió el engrosamiento subapical de las raíces a diferentes distancias del ápice de la raíz la raíz (0,5, 1,0, 1,5 y 2,0 mm) con el software de análisis de imágenes, anteriormente mencionado.

También se contabilizó el número de raíces secundarias a lo largo de cada eje de la raíz (ramificación) en los primeros 2 cm desde el ápice de la raíz y se calculó el porcentaje (%) de raíces secundarias con los datos registrados.

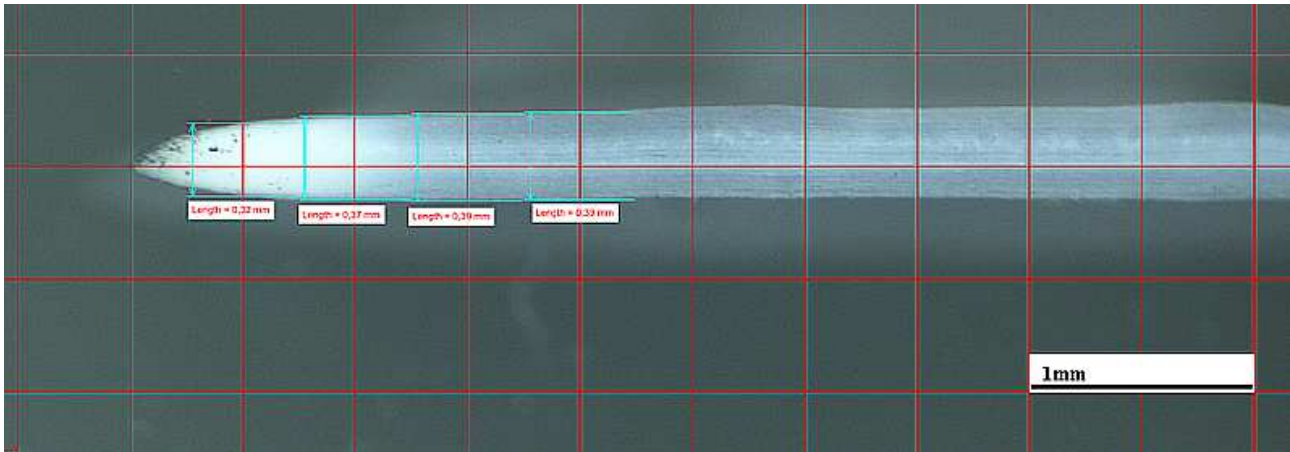


Figura 11. Cuadrícula utilizada para cuantificar el engrosamiento subapical de las raíces de tomate a diferentes distancias del ápice de la misma (0,5, 1,0, 1,5 y 2,0 mm).

3.4. Análisis de los datos.-

Los datos han sido analizados mediante el programa estadístico StatGraphics Plus V.5.1. Para ejecutar dicho análisis, se ha realizado una separación de medias mediante el Test de Tukey ($P \leq 0,05$) y un análisis de la varianza (ANOVA) para los parámetros estudiados; engrosamiento radicular a 0,5, 1,0, 1,5 y 2,0 mm de distancia al ápice, tratamientos (presencia de hierro (Fe10) y ausencia de hierro (Fe0)) y evolución de la clorosis en el tiempo para hoja nueva y hoja vieja (clorosis = SPAD Fe10-SPAD Fe0). Durante el proceso de análisis estadístico, se consideró la necesidad de ajustar los datos analizados a la normalidad y homocedasticidad de la varianza, y para ello, se realizaron transformaciones Box-Cox (Box and Cox, 1964) cuando fue necesario.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.-

4.1. Efecto de la ausencia de hierro en las hojas.-

En la tabla 1 se indica la evolución de las lecturas de SPAD, desde el inicio del ensayo hasta 13 días después de realizarse el trasplante, para cada tratamiento, medido en hoja joven y en hoja adulta. Se puede apreciar como en hojas jóvenes a partir del sexto día después del trasplante empiezan a observarse diferencias significativas entre ambos tratamientos con respecto a los valores obtenidos de SPAD (42,06 y 37,21 para Fe10 y Fe0, respectivamente). Sin embargo, en hojas adultas hasta el séptimo día después del trasplante no empiezan a notarse diferencias significativas (39,80 y 35,89 para Fe10 y Fe0, respectivamente). Este retraso ocurre debido a que el hierro es un nutriente poco móvil (Guardiola, 1990) y los primeros síntomas de ausencia van a aparecer en hojas más jóvenes. Gama et al. (2016) observaron que en plantas de fresa bajo condiciones de ausencia de hierro las diferencias significativas con respecto a la concentración de clorofila en hojas jóvenes empiezan a notarse a partir del día 12 tras el trasplante, siendo visualmente apreciable los síntomas después de 35 días tras la deficiencia. En hoja adulta vemos nuevamente este retraso donde el nivel de concentración de clorofila en dichas hojas decrece pero nunca alcanza los bajos niveles observados en hoja joven.

A partir de este momento las diferencias entre los valores de SPAD para cada tratamiento fueron más pronunciadas sobre todo en hoja joven, donde podemos comprobar que prácticamente la clorosis al final de las fechas es notoria debido a la baja concentración de clorofila en la hoja. Estos mismo resultados fueron encontrados por Pestana et al. (2005) en cítricos, donde la disminución en la concentración de clorofila foliar a lo largo del ensayo era muy pronunciada en plantas desarrolladas en condiciones de ausencia de hierro.

En la tabla 1, se indica además el valor de SPAD al que se puede apreciar a simple vista los síntomas de clorosis férrica. En el tratamiento Fe0 sucede en el octavo día después del trasplante en hoja joven (con valor de SPAD de 24,62), mientras que en hoja adulta no llegó a alcanzarse al final del ensayo. Gama et al. (2016) comprobaron en fresa que a partir de 21 días desde el inicio del ensayo se podía visualizar perfectamente la clorosis en la hoja, y Pestana et al. (2005) observaron estos mismos síntomas en plantas de cítricos después de 14 días tras el trasplante, los cuales duraron hasta el final del experimento. Aunque visualmente en hoja adulta no se observa clorosis, existe una reducción significativa en la concentración de clorofila al cuantificar el nivel de SPAD.

Tabla 1. Progreso de los valores de SPAD después del trasplante en hojas jóvenes totalmente expandidas y hojas adultas.

| *DDT | Hoja joven | | Hoja adulta | |
|------|------------------------|---------------------|--------------------------|----------------------|
| | Presencia de Fe (Fe10) | Ausencia de Fe(Fe0) | Suficiencia de Fe (Fe10) | Ausencia de Fe (Fe0) |
| 0 | 34.75 a | 34.75 a | 36.19 a | 36.19 a |
| 1 | 37.49 a | 37.70 a | 37.09 a | 37.66 a |
| 2 | 40.73 a | 40.40 a | 38.93 a | 38.81 a |
| 3 | 41.13 a | 41.46 a | 36.52 a | 36.95 a |
| 6 | 42.06 b | 37.21 a | 38.76 a | 37.06 a |
| 7 | 41.08 b | 28.34 a | 39.80 b | 35.89 a |
| 8 | 39.91 b | 24.62 a* | 38.96 b | 35.67 a |
| 9 | 36.64 b | 16.59 a | 41.45 b | 35.74 a |
| 10 | 41.35 b | 14.78 a | 43.78 b | 35.97 a |
| 12 | 36.86 b | 10.86 a | 42.28 b | 34.23 a |
| 13 | 35.89 b | 11.72 a | 42.23 b | 31.99 a |

*DDT: días después del trasplante.

Valores medios en la misma fila, seguido de letras minúsculas diferentes (a, b) indican diferencias estadísticamente significativas para cada tratamiento de Fe para hojas jóvenes/adultas

*Valor de SPAD a partir del cual se observó síntomas de deficiencia de Fe (clorosis férrica) a simple vista.

En la figura 12 se muestra la evolución de la clorosis férrica (concentración de clorofila en hoja ($\mu\text{mol m}^{-2}$) de plantas cultivadas con ausencia de Fe0 y de plantas cultivadas con Fe10) tanto en hoja joven como en hoja adulta, a medida que transcurren los días tras el trasplante. A partir del tercer día se empieza a notar una menor acumulación de clorofila en hoja, aunque las diferencias no son significativas hasta el séptimo día. Estas diferencias son más más notorias en hoja joven que en hoja adulta, como consecuencia del carácter poco móvil del hierro en la planta (Guardiola, 1990).

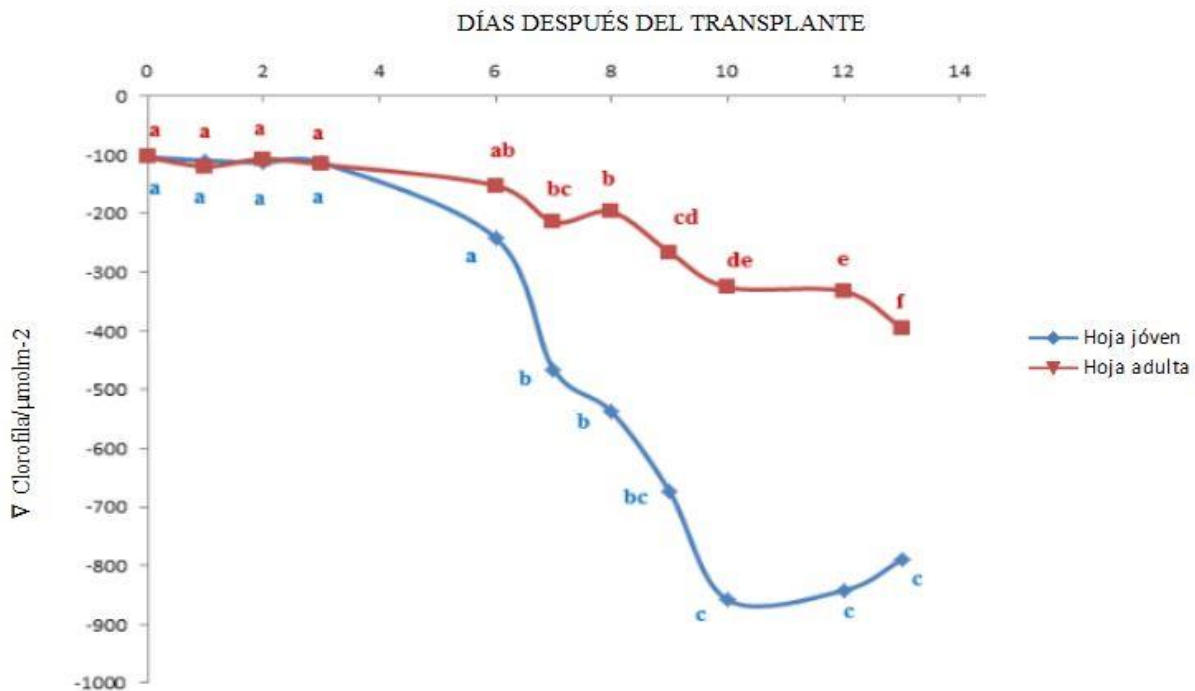


Figura 12. Progreso de la ausencia de Fe en hojas jóvenes y adultas en los días después del trasplante (concentración de clorofila en hojas ($\mu\text{mol m}^{-2}$)). Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas entre los días después del trasplante para las hojas jóvenes y adultas ($P < 0,05$).

4.2. Efecto de la ausencia de hierro en las raíces.-

4.2.1. Descripción morfológica de las raíces bajo condiciones de ausencia de hierro.-

Como se puede apreciar en la figura 13 obtenida mediante una lupa binocular, las raíces de las plantas cultivadas en condiciones de ausencia de hierro (Fe0) presentan un engrosamiento en los dos primeros cm desde el ápice de la raíz, que no se observa en las plantas cultivadas en condiciones de presencia de hierro (Fe10). Estos mismos resultados fueron encontrados por Marschner y Römheld (1995). Dichos autores observaron que las especies dicotiledóneas como el tomate (plantas de estrategia I) cultivadas en condiciones de ausencia de hierro sufrían cambios morfológicos en la raíz, así como otro tipo de mecanismo de respuesta que incrementan la disponibilidad del Fe y su absorción por la planta. Pestana et al. (2011) también observaron en fresa que las plantas cultivadas bajo ausencia de Fe sufrían modificaciones en la morfología de la raíz en la zona subapical de 2 a 4 mm.

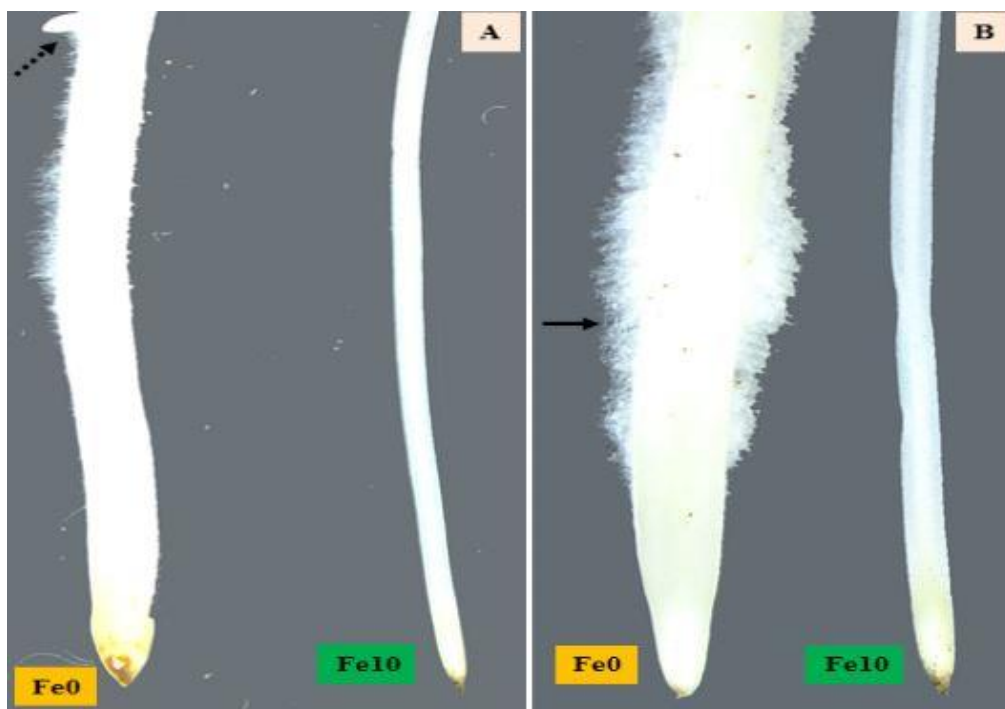


Figura 13. Raíces de plantas de tomate a los 9 (A) y 14 (B) días después del trasplante. En ambas imágenes fotográficas, se observó para el tratamiento con ausencia de Fe0 una mayor formación de pelos radiculares (Fig. A y B) y mayor número de raíces secundarias en los 2 primeros cm desde el ápice de la raíz con respecto al tratamiento Fe10.

De igual modo ocurre con la aparición de pelos radiculares y raíces secundarias (Figura 13). Existe un mayor número de los mismos a medida que transcurren los días tras el trasplante (desde 0 hasta 14 días DDT) en el tratamiento Fe0 que en el tratamiento Fe10, siendo prácticamente cero en éste último tratamiento tanto en pelos radiculares como raíces secundarias. Resultados similares fueron encontrados por Landsberg (1995) en remolacha azucarera. Este autor, observó mayor número de pelos radicales en las plantas con déficit de hierro y además con una menor longitud, que las plantas en ausencia de hierro. De igual modo observó que a una mayor distancia del ápice de la raíz los pelos radiculares eran mucho más alargados en las raíces de las plantas cultivadas en condiciones de ausencia de Fe.

4.2.2. Efecto de la ausencia de hierro sobre el engrosamiento apical.-

En la tabla 2 se muestran los valores de engrosamiento de la raíz de las plantas de tomate medidos a 0,5, 1,0, 1,5 y 2,0 mm desde el ápice de la misma para cada tratamiento (Fe0 y Fe10), en diferentes días después del transplante. Se observó que a partir del sexto día después del transplante, para todas las distancias medidas desde el ápice de la raíz existen diferencias significativas con respecto al engrosamiento de la raíz entre el tratamiento Fe0 y Fe10 (334,49 y 439,39 a 0,5 mm; 387,36 y 559,31 a 1,0 mm; 398,50 y 715,80 a 1,5 mm y 406,18 y 799,04 a 2,0 mm, para Fe10 y Fe0, respectivamente). También se observó que en el tratamiento Fe0 a partir de ese momento el engrosamiento aumentó considerablemente en todos los casos existiendo una gran diferencia desde el inicio del ensayo (0 DDT) hasta 14 días después del transplante (310,88 y 715,38 a 0,5 mm; 365,71 y 1.135,48 a 1,0 mm; 376,26 y 1.379,34 a 1,5 mm y 420,45 y 1.561,47 a 2,0 mm, para Fe10 y Fe0 respectivamente). En el tratamiento Fe10 estas diferencias no se observaron y los valores de engrosamiento fueron prácticamente en el mismo rango numérico a lo largo de las fechas estudiadas.

Además se pudo comprobar que para el tratamiento Fe0, a partir de 1,0 mm de distancia al ápice fue donde se observó un mayor engrosamiento de raíz a lo largo de las fechas y sobre todo a partir del tercer día tras el transplante (559,31, 636,75 y 1.135,48 mm para el 6, 9 y 14 DDT, respectivamente). De igual modo, ocurre para 1,5 y 2,0 mm de distancia al ápice, donde aparecieron los mayores valores de engrosamiento radicular (715,80 y 799,04 mm 6 DDT, 724,67 y 799,71 mm 9 DDT y 1.379,34 y 1.561,47 mm 14 DDT, a 1,5 y 2,0 mm de distancia al ápice respectivamente). Distintos autores han observado este engrosamiento en la zona subapical de la raíz en diferentes especies, cultivadas en cultivo hidropónico. Landsberg (1995) observó estos mismos cambios en la raíz en remolacha azucarera después de 3 o 4 días de la ausencia de Fe, produciéndose un engrosamiento en la zona subapical de la raíz de 2 a 4 mm de longitud. Por otra parte, Correia et al. (2003) de manera similar observaron cambios morfológica en la zona subapical de la raíz en plantas de algarrobo bajo condiciones de ausencia de hierro. Pestana et al. (2001) también comprobaron en cítricos este tipo de modificaciones en la raíz como consecuencia de la ausencia de hierro. Sin embargo, en ninguno de estos trabajos se ha cuantificado este engrosamiento.

Tabla 2. Diámetro de la raíz (mm) medido a diferentes distancias desde el ápice de plantas de tomate cultivadas en una solución nutritiva Fe-presencia de (Fe10) y Fe-ausencia de (Fe0), en diferentes días después del trasplante.

| ^a DDT | Distancias al ápice de la raíz (mm) | | | | | | | |
|------------------|-------------------------------------|----------------------|------------------------|----------------------|------------------------|----------------------|------------------------|----------------------|
| | 0.5 | | 1.0 | | 1.5 | | 2.0 | |
| | Presencia de Fe (Fe10) | Ausencia de Fe (Fe0) | Presencia de Fe (Fe10) | Ausencia de Fe (Fe0) | Presencia de Fe (Fe10) | Ausencia de Fe (Fe0) | Presencia de Fe (Fe10) | Ausencia de Fe (Fe0) |
| 0 | 310.88 a | 310.88 a | 365.71 a | 365.71 a | 376.26 a | 376.26 a | 420.45 a | 420.45 a |
| 3 | 323.92 a | 325.69 a | 377.02 a | 373.38 a | 395.85 a | 433.79 a | 429.40 a | 402.89 a |
| 6 | 334.49 a | 439.39 b | 387.36 a | 559.31 b | 398.50 a | 715.80 b | 406.18 a | 799.04 b |
| 9 | 383.44 a | 491.99 b | 459.13 a | 636.75 b | 480.57 a | 724.67 b | 484.90 a | 799.71 b |
| 14 | 375.95 a | 715.38 b | 462.34 a | 1,135.48 b | 482.11 a | 1,379.34 b | 492.18 a | 1,561.47 b |

DDT: días después del trasplante.

Valores medios seguidos por diferentes letras minúsculas (**a**, **b**) en cada tratamiento de Fe para la misma distancia desde el ápice de la raíz indican diferencias significativas a los diferentes días después del trasplante (P <0,05).

4.2.3. Cuantificación de las raíces secundarias en ambos tratamientos.-

El porcentaje de raíces secundarias (%) en los primeros 2 cm desde el ápice de la raíz (Figura 14), aumentó significativamente en las plantas bajo condiciones de ausencia de hierro (Fe0), respecto al tratamiento con presencia de hierro (Fe10), siendo para 3 DDT (80 % y 26,70 %, respectivamente) y para 9 DDT (80 % y 3,0 %, respectivamente). Para 6 y 14 DDT, las plantas cultivadas en condiciones de ausencia de hierro (Fe0), también presentaron mayor porcentaje de raíces secundarias que las plantas del otro tratamiento (Fe10), pero no de manera significativa (26,70 % y 6,70 %, respectivamente para ambas fechas). Schmidt (1997) encontró resultados idénticos en tomate bajo condiciones de ausencia de hierro y cultivadas en cultivo hidropónico. Observó el crecimiento de raíces secundarias a partir del tercer día después del transplante. Tomando estos resultados propuso que el incremento de raíces secundarias juega un papel fundamental en la resistencia a la ausencia de Fe. De manera similar, Pestana et al. (2011) encontraron estos mismos cambios morfológicos en plantas de fresa cultivadas bajo condiciones de ausencia de hierro, donde observaron en las raíces de las plantas cloróticas un incremento en la formación de raíces secundarias, siendo un síntoma característico en las especies dicotiledóneas (Estrategia I).

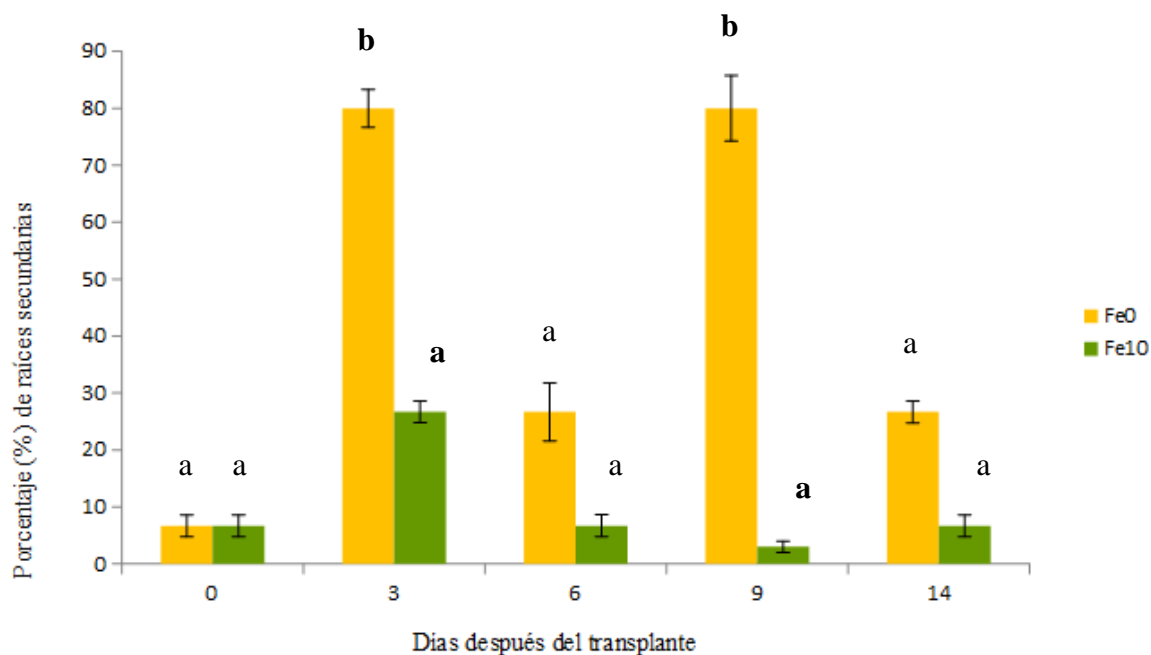


Figura 14. Porcentaje de raíces (%) con raíces secundarias en los primeros 2 cm desde el ápice de la raíz medida en los diferentes días después del trasplante. Diferentes letras minúsculas (**a**, **b**) indican diferencias significativas para cada tratamiento de Fe y día después del trasplante ($P < 0,05$). Las barras verticales representan \pm error estándar.

4.3. Correlación de la aparición de los síntomas de clorosis férrica en las hojas con el engrosamiento de la zona subapical de la raíz.-

La correlación entre la clorosis férrica en hojas y el engrosamiento a 0,5 mm de distancia desde ápice de la raíz se observa en la figura 15. A medida que aumentaron los síntomas de clorosis, también aumentó el engrosamiento de las raíces, con un alto coeficiente de correlación (73,3%). Del mismo modo ocurre con el resto de las diferentes distancias al ápice medidas (Tabla 3), donde los coeficientes de correlación fueron de 0,70, para 1,0 mm de distancia al ápice, 0,65 para 1,5 mm y 0,68 para 2,0 mm de distancia. La mayor correlación se observó a 0,5 mm de distancia al ápice (0,73) y disminuyó a medida que nos alejamos del mismo.

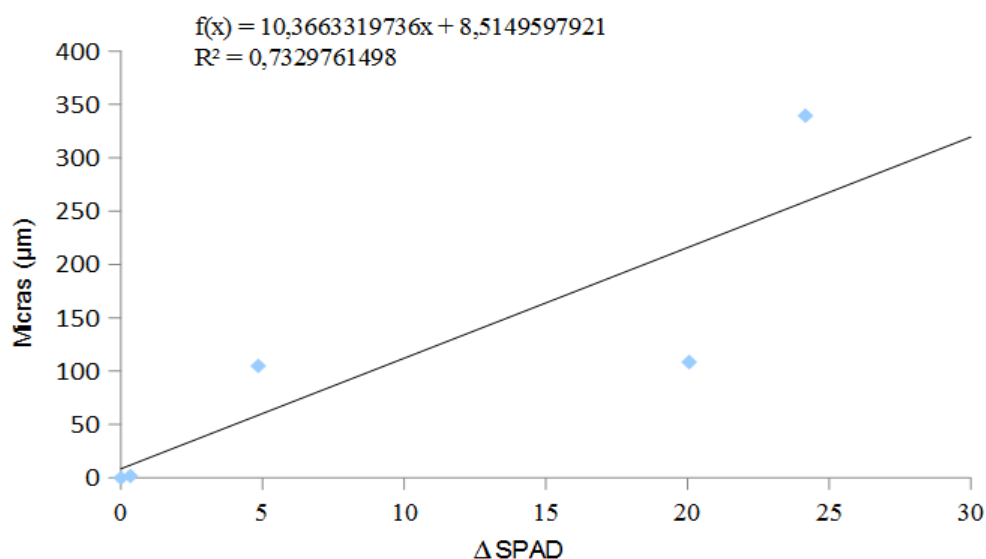


Figura 15. Relaciones entre los valores de SPAD y las raíces subapicales a 0.5 mm del ápice de la raíz. Se muestran regresiones lineales significativas: $P < 0,1$.

Tabla 3. Coeficientes de correlación (R^2) entre los valores de SPAD y las raíces subapicales de engrosamiento para cada distancia desde el ápice de la raíz ($P < 0,01$).

| Distancias al ápice de la raíz (mm) | R^2 |
|-------------------------------------|-------|
| 0,5 | 0,73 |
| 1,0 | 0,70 |
| 1,5 | 0,65 |
| 2,0 | 0,68 |

Varios autores que han descrito el engrosamiento de la raíz han observado síntomas de clorosis en hoja pero ninguna lo ha correlacionado (Marschner y Römheld (1995); Landsberg (1995); Pestana et al. (2001); Correia et al. (2003); Schmidt (1997)). Con estos resultados obtenidos en la recta de regresión se puede observar que hay un alto porcentaje de correlación (73,3 %) entre la evolución de la clorosis férrica y el engrosamiento producido en la zona subapical de la raíz, existiendo una correspondencia importante entre estos dos parámetros estudiados.

5. CONCLUSIONES.-

1. Los síntomas de clorosis férrica se pueden apreciar en las plantas de tomate cultivadas en hidropónico, a partir del sexto día tras el trasplante para hoja joven y a partir del séptimo día para hoja adulta. Visualmente los síntomas de clorosis férrica en hoja joven aparecen a partir del octavo día tras el trasplante. Sin embargo, para hoja adulta no se pudieron apreciar los síntomas visuales de la ausencia de hierro.
2. El engrosamiento producido en la zona apical de las plantas de tomate en condiciones de ausencia de hierro (Fe0), aparece de forma significativa a partir del sexto día tras el trasplante llegando a ser hasta tres veces mayor al final del ensayo.
3. Las plantas de tomate en ausencia de hierro (Fe0) presentaron un mayor porcentaje de raíces secundarias en los primeros 2 cm desde el ápice de la raíz, respecto al tratamiento con presencia de hierro (Fe10).
4. Existe una alta correlación entre la evolución de los síntomas de la clorosis férrica, medido como valores de SPAD y el engrosamiento producido en la zona subapical de la raíz (0,5, 1,0, 1,5 y 2,0, mm).

6. BIBLIOGRAFIA.-

- Beltrano, J.; Giménez, D. (2012). Cultivo en hidroponía. La Plata: Editorial Universidad de La Plata.
- Correia, P.J., Pestana, M., Martins-Louçao, A. 2003. Nutrient deficiencies in carob (*Ceratonia siliqua* L.) grown in solution culture. *J. Hortic. Sci. Biotech.* 78 (6): 847-852.
- Crapo, N.L.; Kettellaper, H.J. (1981). Metabolic priorities with respect to growth and mineral uptake in roots of *Hordeum*, *Triticum* and *Lycopersicon*. *Am. J. Bot.*, 68: 10-16.
- Duran, J.M.; Martínez, E., Navas, L.M. (2000). Los cultivos sin suelo: de la hidroponía a la aeroponía. En línea: www.eumedia.es/articulos/vr/hortofrut/1_01_cultivos.html.
- Gama, F., Saavaedra, T., Da Silva, J.P, Graça, M., De Varennes, A., Correia, P.J., Pestana, M. 2016. The memory of iron stress in strawberry plants. *Plant Physiol. Bioch.* 104: 36-44.
- Guardiola J.L., García A. 1990. Fisiología vegetal I: Nutrición y transporte. Madrid. Ed. Síntesis.
- Jaegger, B., Goldbach, H. y Sommer, K. 2000. Release from lime induced iron chlorosis by CULTAN in fruit trees and its characterization by analysis. *Acta Hortic.* 531:107-103.
- Kramer, D. Römheld, V., Landsberg, E.C., Marschner, H. 1980. Induction of transfer-cell formation by iron deficiency in the root epidermis of *Helianthus annuus* L. *Plant.* 147:335-339.
- Landsberg, E.C. 1995. Transfer cell formation in sugar beet roots induced by latent Fe deficiency. *J. Abadía, Iron Nutrition in Soils and Plants.* 165: 197-205.
- Lindsay, W.L. 1984. Soil and plant relationships associated with iron deficiency with emphasis on nutrient interactions. *J. Plant Nutr.* 7:489-500.
- López-Millán, A. F., Morales, F., Abadía, A., Abadía, J. 2001. Iron deficiency associated changes in the composition of the leaf apoplastic fluid from field grown pear (*Pyrus communis* L.) *J. Exp. Bot.* 52: 1489-1498.
- Marschner, H., Römheld, V. 1995. Strategies of plants for acquisition of iron. *Plant Soil.* 165:261-274.
- Nuez, F. (1995). El cultivo del tomate. Madrid: Mundi – Prensa.
- Pestana, M., Correia, P.J., De Varennes, A., Abadía, J., Araujo Faria, E. 2001. Effectiveness of different foliar iron applications to control iron chlorosis in orange trees grown on a calcareous soil. *J. Plant Nutr.* 24(4&5): 613-622.
- Pestana, M., De Varennes, A., Abadía, J., Araujo Faria, E. 2005. Differential tolerance to iron deficiency of citrus rootstocks grown in nutrient solution. *Sci. Horticulturae.* 104: 25-36.

- Pestana, M., Domingos, I., Gama, F., Dandlen, S., Gracça, M., Castro Pinto, J., De Varennes, A., Correia, P.J. 2011. Strawberry recovers from iron chlorosis after foliar application of a grass-clipping extract. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 174: 473-479.
- Picken, A.J.F., Stewart, K., Klapwijk, D. (1986). Germination and vegetative development. En: Atherton, J.G.; Rudich, J. (Eds). *The tomato Crop*. Chapman and Hall Ltd., New York, pp 111-165.
- Reché Mármol, J. (2012). *Manual práctico de la horticultura protegida*. Madrid: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.
- Rick, C.M. (1978). The tomato. *Sci. Amer.*, 239: 67-76.
- Robinsons, N. J., Procter, C. M., Connolly, E. L., Guerinot, M.L. 1999. A ferric-chelate reductase for iron uptake from soils. *Nature*. 397:694-697.
- Römheld, V., Marschner, H. 1983. Mechanism of iron uptake by peanut plants I. Fe III reduction, chelante splitting and release of phenolics. *Plant Physiol.* 71:949-954.
- Schmidt, A., Buckhout, T.J. 1997. The response of tomato roots (*Lycopersicon esculentum* Mill.) to iron deficiency stress: alterations in the pattern of protein synthesis. No. 316. 48: 1909-1918.
- Schmidt, W. 2001. Ethylene signaling in morphogenic responses to P and Fe deficiency. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 164:147-154.
- Urrestarazu, M. (2004). *Tratado del cultivo sin suelo*. 3a ed. Madrid: Mundi-Prensa.
- Varga, A.; Bruinsma, J. (1986). Tomato. En Moselise, S.P. (Ed). *Fruit set and development*. C.R.C. Press Inc., Boca Raton, Florida.
- Velasco Hernández, E.; Nieto, R.; Navarro López, E. (2005). *Cultivo del tomate en hidroponía e invernadero*. México: Mundi-Prensa.
- Zuo, Y. y Zhang, F. 2011. Soil and crop management strategies to prevent iron deficiency in crops. *Plant & Soil* 339:83–95.