BIBLIOTECA VIRTUAL
MIGUEL DE CERVANTES

Universidad de Alicante

Aplicación de sustancias húmicas comerciales como productos de acción bioestimulantes. Efectos frente al estrés salino

Roberto Ramos Ruiz

Tesis de Doctorado

Facultad: Ciencias

Directores: Dr. Juan Sánchez
Dra. Margarita Juárez

2000

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Facultad de Ciencias

Aplicación de sustancias húmicas comerciales como productos de acción bioestimulante. Efectos frente al estrés salino.

ROBERTO RAMOS RUIZ

2000

INDICE

0.- AGRADECIMIENTOS . . . . . I.

I.- OBJETIVOS . . . . . VI.

II.- INTRODUCCIÓN . . . . . 1.

II.1-Sustancias húmicas . . . . . 1.
II.1.1.-Definición y fraccionamiento . . . . . 2.
II.1.2.-Composición y estructuras . . . . . 6.
II.1.3.-Extracción de las sustancias húmicas . . 12.
II.1.3.1.-Extracción alcalina . . . . . 14.
II.1.3.2.-Extractantes suaves . . . . . 15.
II.1.3.3.-$Na_4P_2O_7$ y otras sales neutras . 16.

II.2.-Efectos de las sustancias húmicas . . . . . 17.
II.2.1.-Sobre el suelo . . . . . 18.
II.2.2.-Sobre la planta . . . . . 19.
II.2.2.1.-Absorción de las sustancias húmicas . . . . . 20.
II.2.2.2.-Efectos sobre la germinación y el crecimiento radicular . . . . . 20.
II.2.2.3.-Desarrollo de la parte aérea . . . 23.
II.2.2.4.-Absorción de macronutrientes . 25.
II.2.2.5.-Absorción de micronutrientes . . 28.
II.2.2.6.-Efectos sobre las membranas . 30.
II.2.2.7.-Metabolismo energético . . . . . 31.
II.2.2.8.-Síntesis de proteínas, ácidos nucléicos y actividad enzimática . . . . . 32.
II.2.3.-Aplicación foliar . . . . . 33.

II.3.-Sustancias húmicas comerciales . . . . . 35.

II.4.-Salinidad en agricultura . . . . . 38.
II.4.1.-Efectos de la salinidad sobre los cultivos 40.
II.4.2.-Adaptaciones fisiológicas. . . . . 42.
II.4.3.-Sustancias húmicas y salinidad . . . . . 44.

II.5.-Características generales del cultivo del tomate . 45.
II.5.1.-Datos estadísticos . . . . . 46.

III.-Materiales y métodos . . . . . 51.

III.1.-Primera experiencia. *Ensayo introductorio* . . . . . 54.
III.1.1.-Invernadero . . . . . 54.
III.1.2.-Planteamiento experimental . . . . . 55.
III.1.3.-Preparación del medio de cultivo . . . . . 56.
III.1.4.-Disolución nutritiva . . . . . 57.
III.1.5.-Desarrollo experimental . . . . . 59.
III.1.6.-Toma de muestra . . . . . 61.
III.1.7.-Determinaciones analíticas . . . . . 62.

III.2.-Segunda experiencia. *Ensayo de dosis* . . . . . 64.
III.2.1.-Invernadero . . . . . 64.
III.2.2.-Planteamiento experimental . . . . . 64.
III.2.3.-Preparación del medio de cultivo . . . . . 65.
III.2.4.-Disolución nutritiva . . . . . 66.
III.2.5.-Desarrollo experimental . . . . . 66.
III.2.6.-Toma de muestra . . . . . 67.
III.2.7.-Determinaciones analíticas . . . . . 68.

III.3.-Tercera experiencia. *Ensayo de germinación* . . . 70.
III.3.1.-*Subensayo de dosificación* . . . . . 72.
III.3.2.-*Subensayo salino* . . . . . 72.

III.4.-Cuarta experiencia. *Ensayo en cámara de cultivo* 75.
III.4.1.-Cámara de cultivo . . . . . 75.
III.4.2.-Planteamiento experimental . . . . . 77.
III.4.3.-Preparación del medio de cultivo . . . . . 78.
III.4.4.-Disolución nutritiva . . . . . 79.
III.4.5.-Desarrollo experimental . . . . . 79.
III.4.6.-Toma de muestra . . . . . 80.
III.4.7.-Determinaciones analíticas . . . . . 80.

IV.-Resultados y discusión . . . . . 81.

IV.1.-Primera experiencia. Ensayo introductorio. . . . . 90.
IV.1.1.-Crecimiento semanal . . . . . 90.
IV.1.2.-Desarrollo vegetal . . . . . 91.
IV.1.2.1.-Altura planta . . . . . 91.
IV.1.2.2.-Biomasa. Tallos y ramas . . . . . 92.
IV.1.2.3.-Biomasa. Hojas . . . . . 94.
IV.1.2.4.-Biomasa. Raíces . . . . . 96.
IV.1.2.5.-Biomasa total . . . . . 97.
IV.1.3.-Parámetros fisiológicos . . . . . 100.

IV.1.3.1.-Clorofilas . . . . . 100.
IV.1.3.2.-Carotenoides . . . . . 102.
IV.1.4.-Frutos . . . . . 104.
IV.1.4.1.-Rendimientos . . . . . 104.
IV.1.4.2.-Parámetros de calidad . . . . . 105.
IV.1.4.2.1.-pH . . . . . 106.
IV.1.4.2.2.-Conductividad eléctrica . . . . 107.
IV.1.4.2.3.-Acidez valorable . . . . . 108.
IV.1.4.2.4.-Sólidos solubles . . . . . 109.
IV.1.4.2.5.-Vitamina C . . . . . 110.
IV.1.5.-Parámetros nutricionales . . . . . 112.
IV.1.5.1.-Macronutrientes . . . . . 112.
IV.1.5.2.-Micronutrientes . . . . . 116.

IV.2.-Segunda experiencia. Ensayo dosis. . . . . 119.
IV.2.1.-Desarrollo vegetal . . . . . 119.
IV.2.1.1.-Altura plantas . . . . . 119.
IV.2.1.2.-Biomasa. Tallos y ramas . . . . . 120.
IV.2.1.3.-Biomasa. Hojas . . . . . 122.
IV.2.1.4.-Biomasa. Raíces . . . . . 124.
IV.2.1.5.-Biomasa total . . . . . 126.
IV.2.2.-Parámetros fisiológicos . . . . . 128.
IV.2.2.1.-Clorofilas . . . . . 128.
IV.2.2.2.-Carotenoides . . . . . 130.
IV.2.2.3.-Acidos orgánicos . . . . . 131.
IV.2.3.-Frutos . . . . . 133.
IV.2.3.1.-Rendimientos . . . . . 134.
IV.2.3.2.-pH . . . . . 135.
IV.2.3.3.-Conductividad eléctrica . . . . . 136.
IV.2.3.4.-Acidez valorable . . . . . 138.
IV.2.3.5.-Azúcares totales . . . . . 139.
IV.2.3.6.-Vitamina C . . . . . 141.
IV.2.3.7.-Proteínas totales . . . . . 142.
IV.2.4.-Parámetros nutricionales . . . . . 144.
IV.2.4.1.-Macronutrientes . . . . . 144.
IV.2.4.2.-Micronutrientes . . . . . 146.

IV.3.-Tercera experiencia. Ensayo de germinación . . . 150.
IV.3.1.-Subensayo de dosificación . . . . . 150.
IV.3.2.-Subensayo salino . . . . . 153.

IV.4.-Cuarta experiencia. Ensayo en cámara de cultivo 166.
IV.4.1.-Parámetros fisiológicos.
Osmorreguladores . . . . . 166.

IV.4.1.1.-Glucosa . . . . . 167.
IV.4.1.2.-Fructosa . . . . . 169.
IV.4.1.3.-Sacarosa . . . . . 170.
IV.4.1.4.-Prolina . . . . . 172.
IV.4.2.-Parámetros nutricionales . . . . . 174.
IV.4.2.1.-Macronutrientes . . . . . 174.
IV.4.2.2.-Micronutrientes . . . . . 176.

V.-Conclusiones . . . . . 179.

VI.-Bibliografía . . . . . 183.

VII.-Apéndice I . . . . . 201.
VII.1.-Contenido foliar de clorofilas . . . . . 201.
VII.2.-Contenido foliar de carotenoides . . . . . 202.
VII.3.-Determinación de ácidos orgánicos en savia . . . 202.
VII.4.-Preparación de la muestra para análisis elemental . . . . . 203.
VII.5.-Mineralización por vía seca . . . . . 204.
VII.6.-Espectroscopía de absorción atómica . . . . . 205.
VII.7.-Mineralización por vía húmeda y determinación de N . . . . . 206.
VII.8.-Fósforo foliar . . . . . 207.
VII.9.-Boro foliar . . . . . 208.
VII.10.-Determinaciones de calidad en frutos . . . . . 208.
VII.10.1.-Solidos solubles . . . . . 208.
VII.10.2.-Contenido de azúcares totales. Método espectrofotométrico . . . . . 210.
VII.10.3.-pH . . . . . 211.
VII.10.4.-Conductividad eléctrica de los zumos 211.
VII.10.5.-Acidez valorable . . . . . 212.
VII.10.6.-Contenido de vitamina C . . . . . 212.
VII.10.7.-Contenido de proteínas . . . . . 213.
VII.11.-Determinación de azúcares en jugo celular . . . 214.
VII.12.-Determinación de prolina en jugo celular . . . . 216.
VII.13.-Análisis estadístico . . . . . 216.
VII.14.-Determinaciones en sustancias húmicas . . . . . 217.
VII.14.1.-pH, conductividad eléctrica, densidad y humedad . . . . . 217.
VII.14.2.-Extracto húmico total, ácidos húmicos y fúlvicos . . . . . 217.
VII.14.3.-Relación óptica E_4/E_6 . . . . . 218.
VII.14.4.-Macro y micronutrientes . . . . . 218.

VII.-Apéndice II . . . . . 220.

VIII.-Apéndice III . . . . . 257.

IX.-Apéndice IV . . . . . 293.

X.-Apéndice V . . . . . 321.

BIBLIOTECA VIRTUAL
MIGUEL DE CERVANTES

A mi director Juan Sánchez, por haberme ofrecido la posibilidad de realizar este trabajo y haber confiado en mi desde el principio. A Margarita Juárez, mi directora, por estar siempre ahí cuando la he necesitado y porque sus consejos nunca fallan. A los dos gracias porque más que directores habéis sido amigos.

A Paco Quesada, no sólo por su colaboración en el invernadero o en cualquier asunto relacionado con el material del laboratorio, sino por su actitud, buenos consejos, disponibilidad,...Y sobretodo por sus chistes.

A todos los que han formado parte en algún momento de nuestro grupo de investigación: Mar (que nunca está de mal humor), Antonio (la persona más organizada que he visto), Luz Marina (todo corazón), Manuela (siempre dando ánimos), Mª José (sigue igual de trabajadora) y a José Angel, Juanmi y Estela. También a las veteranas Juani y Lola porque sus consejos tampoco suelen fallar.

A los compañeros del laboratorio, desde el principio al final (perdón por los que se me olvidan): Belén, Ximo, César, Ana, Merche, Cristina, Ruth,Carlos y a les alcoianes Begonya i Carmina (amb les que he pogut utilitzar la nostra llengua). Por supuesto, también a toda la gente de la División de Bioquímica, porque siempre que he necesitado su ayuda la he tenido.

La dedicatoria más especial de todas para mi amiga Pepa, resumiendo: POR TODO. Sin ti no hubiera podido hacer este trabajo.

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

BIBLIOTECA VIRTUAL
MIGUEL DE CERVANTES

A mis padres, José y Asunción

A mis hermanos, José Pedro y Suni

BIBLIOTECA VIRTUAL
MIGUEL DE CERVANTES

A Gloria

"...perquè aquestos camps son de secà i es regaven quan podia ser o quan plovia, i la pluja moltes vegades es feia d'esperar. Malgrat tot, l'aspecte que oferien aquelles terres era molt agradable puix els ametlers, les oliveres, les vinyes i el garrofers cobrien aleshores tota l'horta d'Alacant, enmig de la qual s'alçaven aquí i allí, per damunt de tots els altres arbres, els plomalls airosos de les palmeres."

(Rondalles de l'Alacantí, J. González Caturla)

CERVANTES

I.-OBJETIVOS.

La gestión adecuada de la materia orgánica del suelo, constituye uno de los pilares básicos sobre los que se apoya una agricultura de carácter sostenible. Sin embargo, el amplio desarrollo de la agricultura de régimen intensivo, con el consiguiente empleo de fertilizantes minerales de manera indiscriminada y casi abusiva, se ha traducido en una pérdida de los niveles óptimos de materia orgánica del suelo, debida al desequilibrio que se genera en éstos. En las zonas de climas templados y escasa pluviometría, donde este tipo de agricultura se ha visto ampliamente desarrollada, dicho efecto es todavía más ostensible. Este es el caso de las regiones mediterráneas, donde la pérdida de calidad de los suelos provocada por las causas antes mencionadas, unida a la salinización de los mismos y a otros factores de tipo económico y social, ha generado el abandono de amplias áreas dedicadas a la agricultura.

Por todo ello, y para restablecer los contenidos de materia orgánica de los suelos, los agricultores han utilizado, en muchos casos, cantidades muy importantes de sustancias húmicas comerciales. Es decir, hasta ahora, las sustancias húmicas se han venido empleando mayoritariamente como mejoradores de las condiciones de fertilidad de los suelos, aprovechado sus efectos indirectos sobre los cultivos. Pero con las dosis tan bajas empleadas, la incidencia sobre las propiedades del suelo suele ser muy escasa.

En los últimos años, en cambio, con el desarrollo de los cultivos sobre sustrato inerte y la fertirrigación, el rol de las sustancias húmicas comerciales ha dado un nuevo giro. En la actualidad se pretende explorar los efectos directos de estos compuestos sobre la planta. Es decir, los efectos bioestimulantes o bioactivadores (*like-auxine*) que puedan tener. Sin duda, este nuevo enfoque de las sustancias húmicas requiere estudios completos que determinen cuales son esos efectos, en qué magnitud y por qué se

producen, para, de esa manera, poder establecer dosis y épocas de aplicación, así como toda la información pertinente para un empleo óptimo de dichas sustancias por parte del agricultor.

Dado que tratamos de estudiar el carácter bioactivador de estos productos, la vía de aplicación a los cultivos que nos pareció más adecuada, más directa, sin menosprecio de la aplicación tradicional al medio radicular, fue mediante pulverizaciones foliares.

Como ya se ha mencionado anteriormente, otro de los problemas más graves a los que se enfrentan los agricultores de la cuenca mediterránea es el de la salinización de sus suelos y sustratos debido al inevitable empleo de aguas de riego de deficiente calidad y al uso excesivo de fertilizantes minerales. En este trabajo se ha tratado, igualmente, de estudiar si el efecto bioestimulante de las sustancias húmicas se podría convertir en un "*efecto bioprotector*" para el cultivo en esas condiciones de salinidad.

Como cultivo testigo para nuestros ensayos hemos empleado el tomate cv. Daniela debido a su rápido desarrollo y a su importancia económica, no sólo en la comarca de l'Alacantí, sino también en toda el área mediterránea, y demás zonas productoras (Almería, Canarias...).

En base a todo esto, en nuestro trabajo nos hemos planteado los siguientes **objetivos**:

1.- **Evaluar los efectos agronómicos de la aplicación foliar de sustancias húmicas comerciales sobre cultivo de tomate en invernadero, en sustrato inerte y fertirrigado.**

2.- **Establecer dosis óptimas de aplicación foliar de dichos materiales en estas condiciones.**

3.- **Valorar el efecto bioprotector de las sustancias húmicas comerciales sobre los primeros momentos fenológicos de un cultivo de tomate en medio salino.**

4.- **Clasificar todos estos efectos en función de los diferentes orígenes de las sustancias húmicas comerciales empleadas.**

II.-INTRODUCCIÓN.

II.1.-Sustancias húmicas.

Desde los estudios de Liebig en el siglo pasado, se conoce que las plantas son capaces de desarrollarse adecuadamente con un buen suministro de nutrientes minerales y luz. Es decir, que pueden vivir en ausencia de los componentes estructurales del suelo, tanto inorgánicos como orgánicos. Este hecho está suficientemente contrastado en la actualidad con la, cada vez mayor, extensión de cultivos hidropónicos o sobre sustrato inerte que se pueden encontrar en las áreas de producción agrícola mundial. Sin embargo, la mayor parte de la agricultura se desarrolla sobre suelo, y en ese caso, la materia orgánica del suelo se describe, frecuentemente, como el factor clave para la fertilidad del mismo. Pero incluso para cultivos sobre sustrato inerte, la materia orgánica puede jugar un papel importante, si es considerada como un agente bioestimulante o bioactivador.

Pero antes de entrar en consideraciones sobre el papel de la materia orgánica sobre los cultivos, se debe definir y acotar en lo posible dicho término. De acuerdo con Stevenson (1994) la materia orgánica del suelo esta conformada por la totalidad de las sustancias de tipo orgánico presentes en los suelos, incluyendo los restos de tejidos vegetales y animales inalterados, sus productos de descomposición parcial, la biomasa del suelo que algunos autores (Drozd et al., 1996) excluyen de la totalidad de la materia orgánica, la fracción orgánica soluble en agua y la materia orgánica estabilizada: *el humus*. Sobre esta última fracción se centrará el interés de este trabajo (Figura II.1).

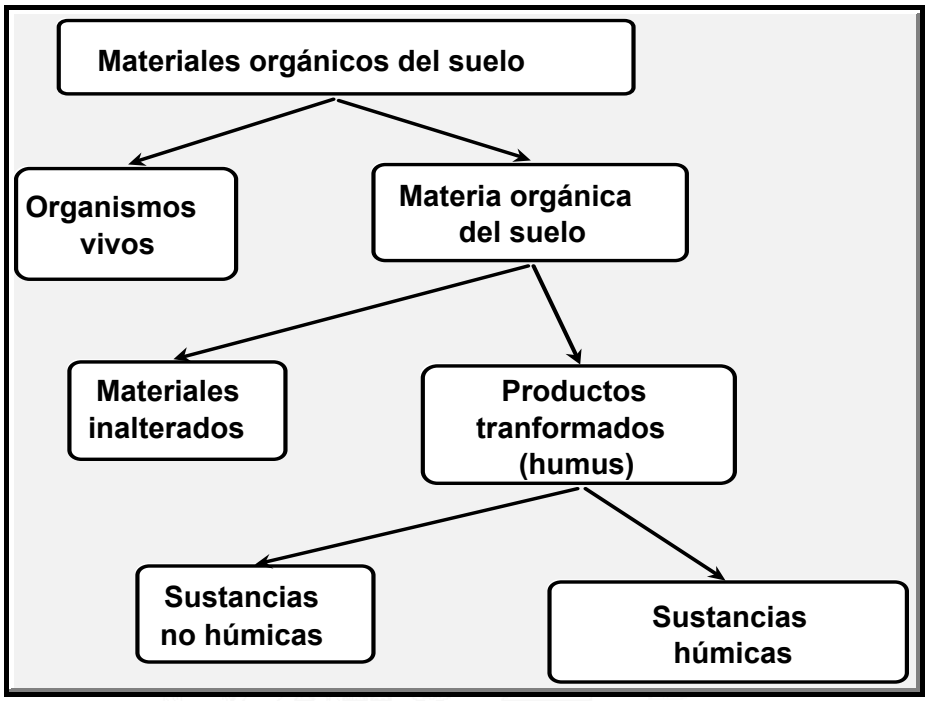


Figura II.1. ***Drozd et al. (1996).***

II.1.1.-Definición y fraccionamiento.

El término humus, se utilizó en la antigüedad para hacer referencia a la totalidad del suelo. Posteriormente se ha empleado como sinónimo de materia orgánica, mientras que en la actualidad, y como ya se ha mencionado, hace referencia a una fracción de dicha materia orgánica que engloba a un grupo de sustancias difícilmente clasificables, de color oscuro, muy resistentes al ataque microbiano, de alto peso molecular, de naturaleza coloidal y propiedades ácidas (Stevenson 1994).

En conclusión, las sustancias húmicas, que se encuentran con gran asiduidad en el medio natural, en suelos, sedimentos y aguas (MacCarthy et al., 1990) son residuos de las plantas y animales en estado de

descomposición, unidos a los productos sintetizados por los microorganismos del suelo y ciertos intermedios de dicha síntesis (Ayuso, 1995). Esta composición no es estable sino que presenta gran dinamismo, por lo que más que un grupo de sustancias estamos ante un estado de la materia orgánica, diferente según las condiciones de su formación. Entre un 60% y un 90% de la materia orgánica del suelo está constituida por estos materiales de naturaleza lignoprotéica (Gallardo, 1980).

Pero las sustancias húmicas (SH) en el suelo se encuentran asociadas, mediante uniones de carácter débil (puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals...) a otra fracción orgánica constituida por productos de composición química definida y de alto peso molecular, polisacáridos y proteínas, sustancias simples como azúcares y aminoácidos y otras pequeñas moléculas. Sin embargo, en algunos casos, esas uniones son de tipo covalente. Todo este heterogéneo grupo de materiales se engloba bajo el término de *sustancias no húmicas*. En conclusión, el humus está formado por sustancias húmicas y no húmicas, aunque los términos humus y sustancias húmicas son empleados como sinónimos por algunos autores (Stevenson, 1994).

Actualmente se conoce, dentro de ciertos intervalos, la composición elemental de las sustancias húmicas. Sin embargo la complejidad intrínseca de estos materiales debida a la variabilidad de factores que intervienen en su formación (material original, microorganismos del suelo, condiciones ambientales...), hace que el estudio de las estructuras químicas que las conforman y de sus efectos sobre las plantas sea realmente complicado. Por consiguiente, la incapacidad de definir las sustancias húmicas en términos químicos específicos nos fuerza a usar definiciones imprecisas, en base únicamente a las características observadas en los procesos de su fraccionamiento.

En este sentido, es posible realizar un fraccionamiento de las

sustancias húmicas en distintos componentes que presentan propiedades físicas y químicas diversas (Figuras II.2 y II.3). La técnica de fraccionamiento más común y aceptada es la basada en las diferentes solubilidades en agua a varios valores de pH. Así, Aiken et al. (1985) distingue entre:

- **Ácidos húmicos**: Como la fracción insoluble en agua en condiciones ácidas (pH<2) pero soluble a valores mayores de pH.
- **Ácidos fúlvicos**: A la fracción soluble en agua en todo el intervalo de pH.
- **Humina**: Fracción insoluble a cualquier valor de pH.

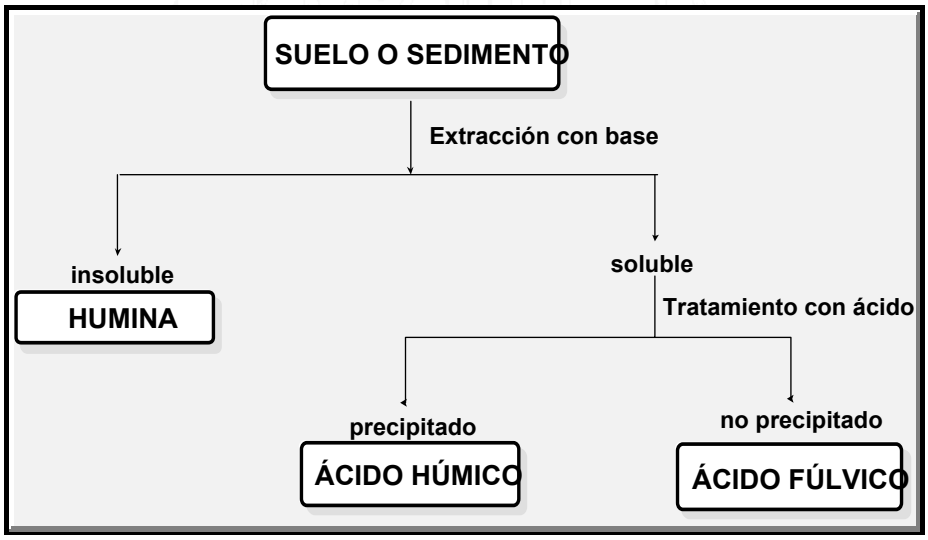


Figura II.2. Fraccionamiento de las sustancias húmicas. ***(Stevenson, 1994).***

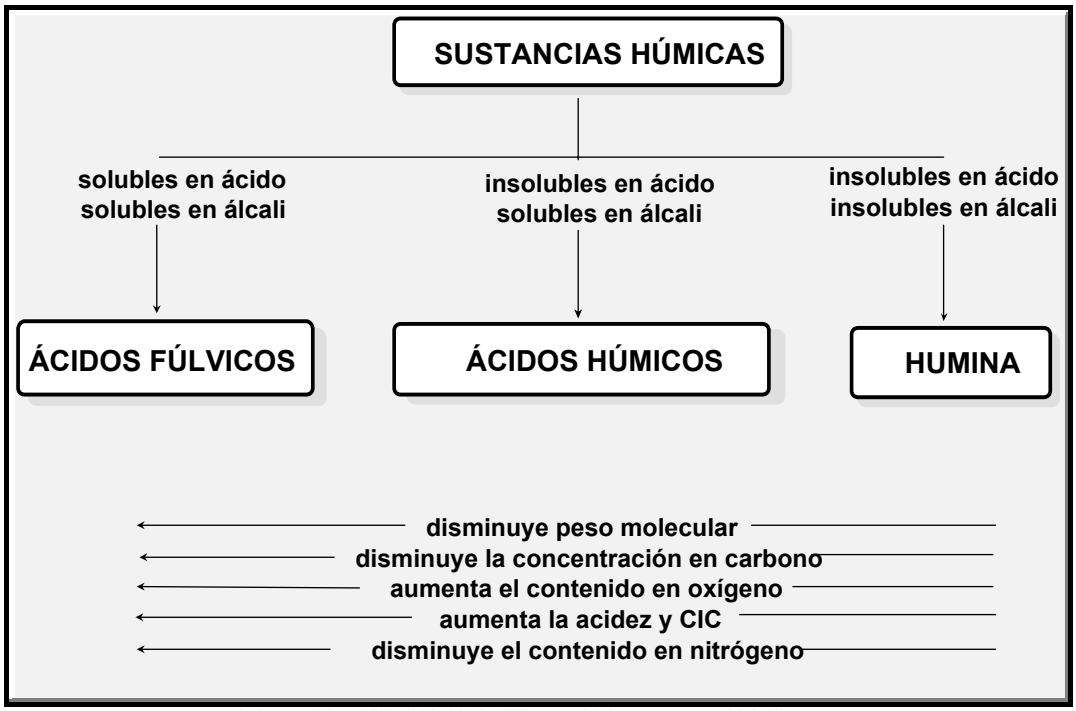


Figura II.3. Fraccionamiento de las sustancias húmicas. Propiedades. *(Cuesta, 1994).*

La mayor parte de los estudios acerca de las sustancias húmicas se han llevado a cabo sobre las fracciones húmicas y fúlvicas, siendo la humina la que se ha estudiado en menor extensión (Rice et al., 1988). La humina corresponde al 50% o más de la materia orgánica del suelo, de una gran inercia, está constituida por ácidos húmicos tan íntimamente unidos a la parte mineral del suelo que no pueden separarse de ella; así como también por sustancias húmicas de alta condensación y con un contenido de C superior al 60%. Por otro lado, los ácidos húmicos y fúlvicos son más activos tanto química como geológicamente (Ayuso, 1995). Según Stevenson (1994), una vez precipitados los ácidos húmicos, podemos obtener la fracción fúlvica pura mediante absorción-desorción sobre una resina XAD-8.

Pero este modelo de fraccionamiento de las sustancias húmicas

aunque es, sin duda, el más extendido, no es el único. En la bibliografía podemos encontrar otros métodos, aunque la mayoría se basan en el anterior, o son parte de él. Así Yonebayashi (1994) emplea una nueva ruta de fraccionamiento para los ácidos húmicos utilizando resina XAD-8 H^+-saturada. Los ácidos húmicos son adsorbidos a pH 3 y fraccionados mediante eluciones sucesivas con tampones de pH 7 y 11, agua y etanol (50%-90%).

II.1.2.-Composición y estructuras.

La gran complejidad que presentan las sustancias húmicas, en cuanto a su composición y estructura, ha hecho necesario grandes esfuerzos para conocer dicha composición. Ésta varía dependiendo de su origen, método de extracción y otros parámetros. Sin embargo, las similitudes entre diversas sustancias húmicas son más numerosas que sus diferencias. Dichas analogías son las que han hecho que estos productos sean identificados como un grupo de sustancias. Además, los resultados de las mediciones de las propiedades de las sustancias húmicas suelen ser valores medios debido precisamente a esa heterogeneidad (MacCarthy et al., 1990).

Los análisis elementales de estos compuestos muestran que, en general, el 98-100% de sus elementos (libres de cenizas) son C, H, O, N, S y P. La distribución se puede ver en la Tabla II.1.

Se observa como, en general, los ácidos fúlvicos presentan mayores contenidos de oxígeno y menores de carbono. De esa manera las relaciones O/C para los ácidos húmicos presentan un valor aproximado de 0,5, mientras que para ácidos fúlvicos este valor se centra en 0,7 (Steelink, 1985). Este hecho se traducirá, como se mostrará posteriormente, en un mayor contenido en grupos funcionales oxigenados en los ácidos fúlvicos.

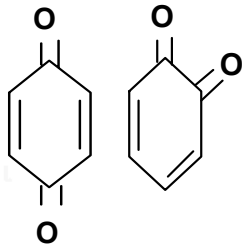
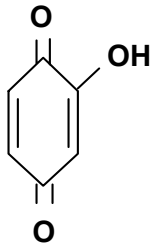
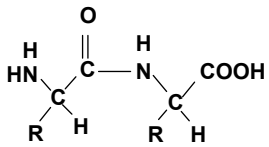
Tabla II.1. Intervalos usuales para la composición elemental de las sustancias húmicas. *(Steelink, 1985).*

Elemento	Ácidos Húmicos(%)	Ácidos Fúlvicos(%)
Carbono	53,8-58,7	40,7-50,6
Oxígeno	32,8-38,3	39,7-49,8
Hidrógeno	3,2-6,2	3,8-7,0
Nitrógeno	0,8-4,3	0,9-3,3
Azufre	0,1-1,5	0,1-3,6

La reactividad de las sustancias húmicas y por tanto, sus efectos sobre el suelo y las plantas están estrechamente relacionados con el tipo y concentración de grupos funcionales de las mismas. La mayor parte (Tabla II.2) son de tipo oxigenado: carboxilos, alcoholes, hidroxilos fenólicos y carbonilos. Además, la presencia de grupos nitrogenados está ampliamente demostrada (Varanini et al., 1995). Aunque también nos podemos encontrar con éteres, hidroxiquinonas, lactonas... (Stevenson 1994).

Los ácidos fúlvicos contienen un mayor número de grupos funcionales de carácter ácido que los ácidos húmicos (Stevenson, 1994; Schnitzer, 1990), particularmente carboxilos y fenoles. Además, en los húmicos la mayor parte del oxígeno se encuentra formando parte del núcleo o estructura central, en uniones éter o éster, mientras que para los ácidos fúlvicos está como COOH, OH o C=O. Aunque estos datos (Tabla II.3) muestran cierta variabilidad, sí se puede decir que los ácidos fúlvicos presentan mayor acidez total que los húmicos, debido a esa mayor presencia de grupos carboxilo e hidroxilo.

Tabla II.2. Grupos funcionales presentes en los sustancias húmicas.

Amino	$-NH_2$	Anhídrido	R-CO-O-CO-R’
Amina	$R-CH_2-NH_2$	Imina	R-CHNH
Amida	$R-CO-NH_2$	Imino	=NH
Alcohol	$R-CH_2-OH$	Eter	$R-CH_2-O-CH_2-R'$
Aldehído	R-CHO	Ester	R-COOR’
Carboxilo	R-COOH	Quinona	
Carboxilato	$R-COO^-$		
Enol	R-CH=CH-OH		
Cetona	R-CO-R’	Hidroxiquninona	
Ceto-ácido	R-CO-COOH		
Carbonilo insaturado	-CH=CH-CHO	Péptido	

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

Tabla II.3. Distribución de grupos funcionales oxigenados en sustancias húmicas (meq/100g). *(Stevenson, 1994).*

	Ácidos húmicos	Ácidos fúlvicos
Acidez total	560-890	640-1420
COOH	150-570	520-1120
OH acídicos	210-570	30-570
OH alcohólicos y débilmente ácidos	20-490	260-950
C=O cetónicos y de quinonas	30-140	120-420
OCH_3	30-80	30-120

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

Desde antiguo, la problemática de la definición de una estructura para las sustancias húmicas ha sido afrontada por muchos investigadores, que han propuesto diversos modelos, aunque en muchos casos con poco éxito. Posteriormente, el empleo de modernas técnicas analíticas como la RMN ^{13}C, la resonancia de espín electrónico, la pirólisis-espectrometría de masas y la extracción con gases en estado supercrítico, han proporcionado más información acerca de las complejas estructuras de las sustancias húmicas (Schnitzer, 1990). La mayoría de los datos obtenidos indican que estos materiales están constituidos, en gran medida, por anillos aromáticos unidos entre sí y a otras estructuras de carácter alifático. Estas unidades formarían el esqueleto central o núcleo de las sustancias húmicas (Varanini et al., 1995). La unión desordenada de estas estructuras genera la formación de complejas macromoléculas, cuyas dimensiones pueden variar desde unos pocos cientos a varios miles de Da para los ácidos fúlvicos (Linehan, 1977) hasta varios cientos de miles para los ácidos húmicos (Swift et al., 1971). Un ejemplo de estas estructuras se puede ver en la Figura II.4. (Hatcher et al.,

1994).

A pesar de la complejidad y variabilidad de las estructuras propuestas, hay algunos rasgos distintivos entre ácidos húmicos y fúlvicos que se pueden observar experimentalmente. En particular, la fracción fúlvica presenta valores de porcentaje de aromaticidad menores (25% comparados con un 35-40% de los ácidos húmicos) y mayores de carga negativa y polaridad (Schnitzer, 1990). Por último Ghosh et al. (1980) aseguran que, a los valores de pH habituales en los suelos de cultivo, las sustancias húmicas se encuentran en forma de polianiones tridimensionales con una forma entre esférica y elíptica "sponge-like structure" (Schulten, 1994). Unidos a ese núcleo central se encontrarían las sustancias no húmicas (Figura II.4). A pesar de toda su complejidad y de lo difícil que resulta dar una estructura adecuada para definir las sustancias húmicas, su interés agronómico supera dichas complicaciones, como observó Hayes (1991): "*No es necesario averiguar de manera precisa la estructura de las sustancias húmicas para tener un aceptable conocimiento de la importante función de las mismas.*"

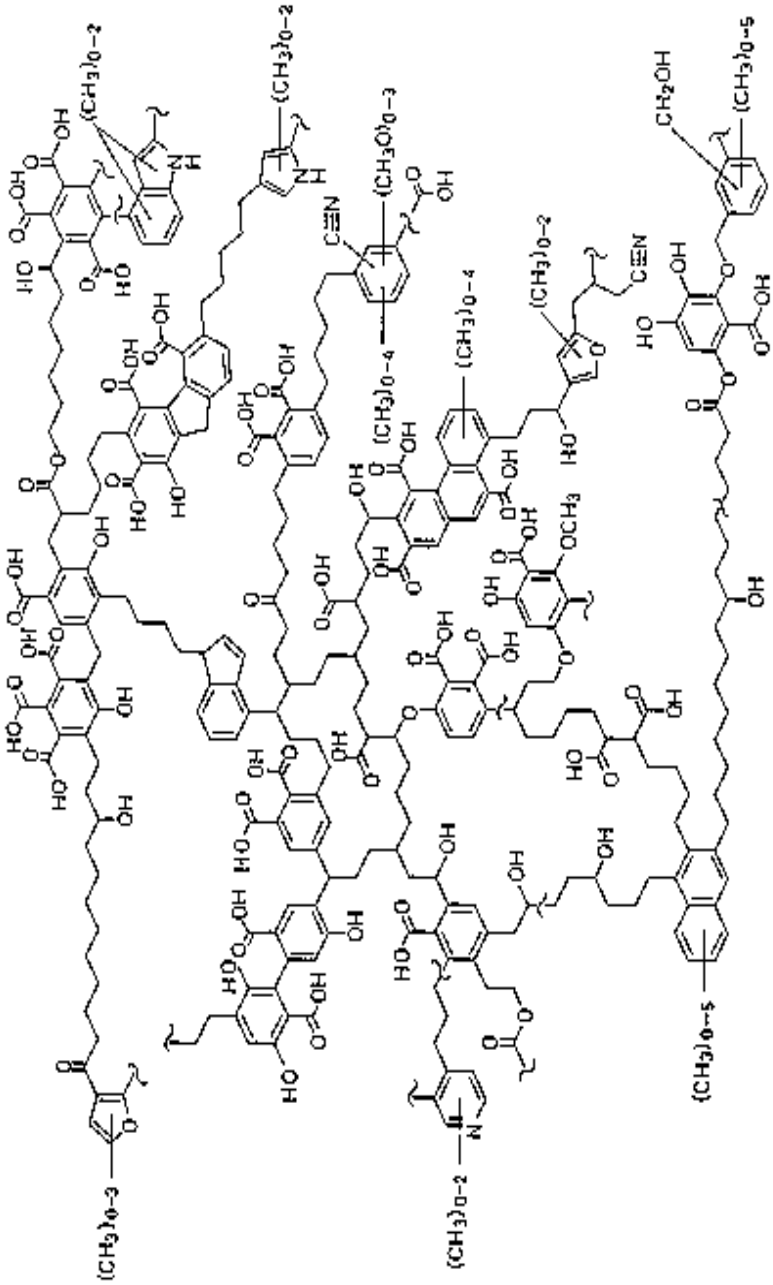


Figura II.4. Estructura de ácido húmico propuesta por Hatcher et al., 1994.

II.1.3.-Extracción de las sustancias húmicas.

La mayor parte de la materia orgánica de los suelos y sedimentos se encuentra en formas insolubles: complejos macromoleculares aislados o unidos mediante cationes di y trivalentes (Ca^{2+}, Fe^{3+} y Al^{3+}), en combinación con componentes inorgánicos como arcillas, para formar el complejo arcillo-húmico o atrapada entre las láminas de arcillas expandidas (Este tipo de sustancias húmicas no es extraible por métodos convencionales, pero sí con un tratamiento previo de destrucción de la arcilla con HF).

Dado que las sustancias húmica son polielectrolitos, como ya se ha dicho, permanecen insolubles en el agua del suelo cuando sus cargas están saturadas por cationes di y trivalentes, o por iones hidrógeno. Cuando éstos se reemplazan por cationes monovalentes como Na^{+} o K^{+}, tiene lugar la solvatación de los polianiones, que se disuelven en agua (Ayuso, 1995). Existen una gran variedad de técnicas, que dependen del extractante y material a extraer. Así, compuestos no polares como grasas, ceras y resinas se extraen mejor con disolventes orgánicos como hexano, éter, mezclas alcohol-benceno, etc. Las técnicas de hidrólisis se usan preferentemente para la extracción de monómeros como aminoácidos y azúcares (Drozd et al., 1996). Pero, cuáles son los requisitos de un método de extracción ideal:

1. Conseguir extraer las sustancias húmicas sin alterarlas.
2. Que las sustancias húmicas extraídas no contengan contaminantes inorgánicos tales como arcillas o cationes polivalentes.
3. La extracción debe ser completa, siendo por tanto representativa de todas las fracciones de distinto peso molecular.
4. El método debe ser aplicable a todos los suelos.

No existe ningún extractante que cumpla todos estos requisitos. Los más empleados se encuentran en la Tabla II.5 (Stevenson, 1994)

Tabla II.5. Extractantes para los constituyentes orgánicos del suelo *(Stevenson, 1994)*.

Tipo de material	Extractante	Materia orgánica extraída (%)
Sustancias húmicas	Bases fuertes	
	NaOH	Hasta 80%
	Na_2CO_3	Hasta 30%
	Sales neutras	
	Na_4P2O_7, NaF	Hasta 30%
	Sales orgánicas	Hasta 30%
	Quelatos	
	Acetilacetona	Hasta 30%
	Cupferrón	
	8-hidroxiquinoleína	
	Ácido fórmico	Hasta 55%
	Acetona/H_2O/HCl	Hasta 20%
Compuestos hidrolizables		
1. Aminoácidos y aminoazúcares.	HCl 6N caliente	25-45%
2. Azúcares	H_2SO_4 1N caliente	5-25%
Polisacáridos	NaOH, HCOOH, agua caliente	<5%
Grasas, ceras, resinas...	Disolv. para grasas	2-6%

II.1.3.1.-Extracción alcalina.

El empleo de disoluciones alcalinas, generalmente NaOH, aunque también KOH, de 0,1 a 0,5M en relación peso:volumen 1:2 a 1:5, es la técnica más frecuente para extraer la materia orgánica del suelo. Además se trata del procedimiento más utilizado para la extracción de sustancias húmicas de tipo comercial como las que se van a estudiar en el presente trabajo. Para obtener un mayor rendimiento, se realizan extracciones sucesivas. El lavado con HCl diluido, que elimina el Ca y otros cationes polivalentes incrementa la eficiencia de la extracción (García et al., 1993a). Además mediante el pretratamiento ácido pueden aumentar los contenidos de algunos micronutrientes como el hierro, tal y como comprobaron García et al., (1993a) al hacer diversas extracciones de lignitos con NaOH y KOH con o sin tratamientos previos con HCl y HNO_3.

Se puede decir que con esta técnica se extraen dos terceras partes de la materia orgánica del suelo (Stevenson, 1994). Pero la extracción con bases fuertes, si bien es la más efectiva, presenta algunos problemas de consideración: disuelven fracciones minerales (arcillas) que contaminan la materia orgánica, disuelven componentes estructurales y protoplasmáticos de la biomasa y tejidos frescos que se mezclan con la materia humificada, se producen autooxidaciones de algunos constituyentes orgánicos al contacto con el aire, así como condensaciones entre aminoácidos y grupos carbonilo de aldehídos aromáticos o quinonas para formar compuestos tipo húmico. Estas alteraciones son mayores cuanto más concentrada es la base y cuanto mayor es el tiempo de contacto (Brenner, 1950). Swift et al (1972) comprobaron que las rupturas de las sustancias húmicas bajo condiciones alcalinas era mayor en presencia de O_2. Otros cambios producidos por el O_2 son incrementos en la capacidad de intercambio catiónico y en el estado de

oxidación de las sustancias húmicas. Para minimizar dichos cambios debidos a procesos de autooxidación, toda la extracción debe hacerse en atmósfera de N_2.

Sin embargo, algunos autores (Tan et al., 1994) han realizado estudios de extracción de sustancias húmicas comparando varios extractantes alcalinos, y no han encontrado signos de alteraciones de la materia orgánica cuando se examinaban sus espectros de RMN ^{13}C.

II.1.3.2.-Extractantes suaves.

Como alternativa a la agresividad de los extractantes alcalinos, se han venido utilizando algunos procedimientos más suaves. Entre otros, agentes complejantes como EDTA, acetilacetona, cupferrón y disolventes orgánicos de varios tipos como el tetrahidrofurano. Una manera de aumentar la efectividad de estos extractantes es la mezcla con otros productos, así según Beckwith et al. (1984) las adiciones de urea en altas concentraciones (8M) incrementa la efectividad de la extracción. Obviamente, aunque las alteraciones que se producen en la materia orgánica extraída son menores, la efectividad que muestran estos productos es también, mucho menor. Por ello se puede pensar que los extractantes suaves son más adecuados cuando la finalidad del producto extraído es su estudio y caracterización, sin embargo para fines comerciales son los productos alcalinos los que se muestran más efectivos.

II.1.3.3.-$Na_4P_2O_7$ y otras sales neutras.

En muchos suelos y sedimentos, como ya se ha dicho, son algunos cationes polivalentes como el Ca, Fe y Al los que mantienen a la materia orgánica floculada. Por consiguiente, aquellos productos que inactiven dichos iones formando precipitados insolubles o complejos de coordinación solubles conseguirán solubilizar la materia orgánica. Algunos de estos ejemplos son el $Na_4P_2O_7$, el oxalato amónico y algunas otras sales neutras. De todos ellos, sin duda, el más utilizado es el pirofosfato sódico, que aunque muestra una efectividad extractora de un 30% tan sólo, produce mínimas alteraciones en la materia orgánica. En algunos casos se emplean junto a productos alcalinos para aumentar su efectividad, así García et al. (1993b) muestran que la mezcla 0,1N NaOH/$Na_4P_2O_7$ es la más efectiva en la extracción de sustancias húmicas de turbas del tipo *Carex,* aunque no para el tipo *Sphagnum.*

Finalmente, algunos autores han diseñado extracciones secuenciales para aumentar la efectividad del proceso. Así Schnitzer et al. (1989) superan el 80% de C y el 75% de N extraído mediante la siguiente secuencia:

1. *n*-hexano, para extraer alcanos y ácidos grasos.
2. Cloroformo, para ácidos grasos alcoholes de cadena larga y ésteres de ácidos grasos.
3. 0,1M $Na_4P_2O_7$ en atmósfera de N_2, para la materia orgánica “complejada” con metales y arcillas.
4. 0,5M NaOH en atmósfera de N_2, para la materia orgánica “libre”.
5. H_2O, también para la materia orgánica “libre”.

II.2.-Efectos de las sustancias húmicas.

El crecimiento y producción de las plantas depende de su nutrición mineral, del agua, el aire y de otros parámetros medioambientales como luz y temperatura. Sin embargo, el efecto positivo de la materia orgánica sobre el desarrollo vegetal también está sobradamente demostrado (Csicsor et al., 1994; Galli et al., 1994; Barón et al., 1995; Varanini et al., 1995).

Sin duda, la genética es la principal artífice de la enorme mejora productiva de muchas especies vegetales. Sin embargo, esta ciencia no puede ser considerada como la única responsable de los éxitos alcanzados. Resulta obvio que la creciente capacidad de control de los parásitos y el mayor conocimiento de la fisiología vegetal, sobre todo desde el punto de vista nutricional, han contribuido de manera muy significativa, a dichos avances. Y es aquí donde entran a jugar un papel decisivo productos tales como las sustancias húmicas, que exaltan la capacidad de absorción y traslocación de nutrientes por las plantas, de manera que cada proceso de biosíntesis se ve optimizado con beneficios productivos y cualitativos (Dubbini, 1995). Hasta ahora, las sustancias húmicas se han venido empleando mayoritariamente como mejoradores de las condiciones de fertilidad de los suelos, es decir, para optimizar la estructura, permeabilidad, niveles de materia orgánica etc, de los suelos. O sea, se han aprovechado sus efectos indirectos sobre los cultivos. Pero con las dosis empleadas, la incidencia sobre las propiedades del suelo es muy escasa. Debido a los altos precios que han regido en el mercado para estos productos, se han venido realizando aplicaciones en dosis que podríamos denominar "comerciales". Es decir, son criterios económicos y no científicos los que dictaminan la dosificación de estas sustancias.

En los últimos años, en cambio, con el desarrollo de los cultivos sobre sustrato inerte y la fertirrigación, el rol de las sustancias húmicas comerciales

ha dado un nuevo giro. En la actualidad se pretende explorar los efectos directos de estos compuestos sobre la planta. Es decir, los efectos "like-auxine" u hormonales que puedan tener.

II.2.1.-Sobre el suelo.

Como es sabido, los suelos agrícolas mediterráneos poseen, generalmente, bajos contenidos en materia orgánica, que tienden a disminuir debido a las pérdidas que se producen por mineralización de la misma, a las labores agrícolas, a la relativa poca importancia actual del estercolado, así como al empleo preferente de abonos minerales de origen industrial. Esta disminución de la materia orgánica en los suelos se traduce en un deterioro de las propiedades físico-químicas de los mismos, así como en su mayor erosionabilidad, con la consiguiente pérdida de productividad a medio y largo plazo (Barón et al., 1995). Estas prácticas están convirtiendo paulatinamente la agricultura tradicional en un ejercicio de tendencias claramente insostenibles. Por ello, la utilización de materia orgánica está sobradamente justificada.

Pero, desde el punto de vista de las plantas, conviene distinguir entre los efectos indirectos y directos de las sustancias húmicas. Centrándonos en el primer grupo, la materia orgánica humificada puede mejorar la fertilidad del suelo a través de su efecto sobre diversas propiedades del mismo como:

1. Aporte de nutrientes (N, P, S, etc.) a las raíces (Varanini, 1995).
2. Mejora de la estructura del suelo incidiendo, de ese modo, en la relación agua-aire en la rizosfera (Piccolo et al., 1997).
3. Incremento en el suelo la actividad microbiana (Ocio et al., 1990).
4. Aumento de la capacidad de intercambio catiónico (CIC) y de la

capacidad tampón-pH del suelo (Barón et al., 1995).

5. Formación de complejos estables con Cu^{2+}, Mn^{2+}, Zn^{2+} y otros cationes polivalentes y aumento así de la disponibilidad de micronutrientes para las plantas (Albuzio et al., 1994).
6. Aporte de sustancias húmicas que actúan como transportadoras de nutrientes (Varanini, 1995).
7. Oscurecimiento del suelo, de manera que se facilita su calentamiento (Gallardo, 1980).
8. A través de su combinación con plaguicidas puede afectar a su bioactividad, persistencia y biodegradabilidad (Hunchak-Kaiouk et al., 1994; Deschauer et al., 1994; Carlsen et al., 1994).

No se ha de olvidar que para mejorar estos aspectos del suelo se han de realizar grandes aportes de materia orgánica de buena calidad al mismo.

II.2.2.-Sobre la planta.

Pero en este trabajo, nos hemos centrado en el empleo de las sustancias húmicas comerciales como productos de acción fisiológica, es decir hemos tratado de estudiar los efectos **directos**, de carácter bioestimulante, sobre las plantas.

II.2.2.1.-Absorción de las sustancias húmicas.

El hecho de que las sustancias húmicas puedan tener un efecto directo sobre el desarrollo vegetal, implica su absorción por las plantas. Existen estudios de cierta antigüedad (Prat et al., 1959) que muestran dicha absorción usando ^{14}C unido al material orgánico. Sin embargo, según ese estudio, sólo una pequeña fracción del material absorbido es transportado hacia la parte aérea de la planta. Otras investigaciones muestran que los ácidos fúlvicos son transportados, en mayor medida, hacia la parte aérea que los ácidos húmicos (Fürh et al., 1967). De la misma manera, Vaughan et al. (1976) encontraron que los ácidos húmicos son absorbidos por raíces de trigo, y que aproximadamente un 5% es transportado hacia el tallo. Así mismo, Vaughan et al. (1981) demuestran que la proporción de absorción de ácidos fúlvicos/ácidos húmicos se incrementa con el tiempo de incubación, indicando una absorción preferente de sustancias de bajo peso molecular. También afirman que, las fracciones de ácidos húmicos de bajo peso molecular son absorbidas tanto activa como pasivamente, mientras ácidos húmicos de peso molecular superior a 50.000 Da son absorbidos sólo de forma pasiva. Vaughan et al. (1985) concluyen que casi todas las fracciones de sustancias húmicas de bajo peso molecular son absorbidas activamente por las plantas y, que los ácidos fúlvicos pueden ser biológicamente algo más activos que los ácidos húmicos.

II.2.2.2.-Efectos sobre la germinación y el crecimiento radicular.

Las sustancias húmicas muestran mayores efectos sobre las raíces que sobre la parte aérea. Sladky (1959) aplicó ácidos húmicos, ácidos

fúlvicos, y un extracto alcohólico de materia orgánica en concentraciones de 50, 50 y 10 mg L^{-1}, respectivamente, a plantas de tomate creciendo en disolución nutritiva. Las tres fracciones de materia orgánica estimularon significativamente la longitud y peso de la raíz en comparación con una disolución nutritiva pura.

Smidova (1962) estudió el efecto de un humato sódico sobre la absorción de agua y la germinación de semillas de trigo. Observó incrementos en la absorción de agua, respiración y germinación de semillas por la aplicación de disoluciones de 100 mg L^{-1} de humato-Na. El aumento sobre la germinación fue atribuido a estímulos sobre la actividad enzimática de la semilla. Csicsor et al. (1994) revelan marcados efectos beneficiosos para la germinación de semillas de tabaco en condiciones *in vitro,* por la aplicación de humatos potásicos o ácidos fúlvicos, apareciendo los mejores resultados para la dosis de 200 mg L^{-1} de humato-K (Tabla II.6). Los efectos beneficiosos son explicados en función de la capacidad de las sustancias húmicas de actuar como donadores de electrones, de manera que pueden intervenir en la cadena respiratoria celular, incrementando el suministro de energía a las células.

Tabla II.6. Porcentaje de germinación en placa Petri. *(Csicsor et al., 1994)*.

Tratamientos	Dosis mg/L	Germinación %	Germ. (%) ref. control
K-Humato	12	88	99,4
K-Humato	50	89	100,6
K-Humato	200	94	106,2
AF	4	88,5	100
AF	50	87	98,3
AF	200	93	105,1
Wuxal	0,2%	91	102,8
Control	--	88,5	100

En relación a este hecho Chukov et al. (1996) estudiaron la relación entre los efectos fisiológicos de sustancias húmicas y su actividad paramagnética, o lo que es lo mismo de su concentración de radicales libres. Según este autor, la concentración de radicales libres de las sustancias húmicas está directamente relacionada con la actividad fisiológica de las mismas. Sus estudios sobre germinación de semillas de lechuga en condiciones *in vitro*, muestran que el efecto beneficioso de sustancias húmicas y otros preparados bioactivadores, crecen simultáneamente a la concentración de radicales libres de dichos materiales, hasta una cierta "dosis óptima" a partir de la cual el efecto es inhibitorio. Csicsor et al. (1994) justifica el hecho de que los humatos potásicos son más efectivos que los ácidos fúlvicos por el hecho de que la concentración de radicales libres en los primeros es mayor, de manera que su influencia en la cadena respiratoria es superior.

Según Jurcsik (1994), el mecanismo de acción fisiológica consiste en la absorción de O_2 atmosférico por los radicales semiquinónicos, formándose radicales superóxido o hidrógenoperóxido capaces de donar electrones a las cadenas respiratorias. Los electrones perdidos son repuestos por moléculas de agua, o por ciertos microorganismos del suelo (Lovley et al., 1996).

II.2.2.3.-Desarrollo de la parte aérea.

Aunque la influencia de las sustancias húmicas es más acusada sobre las raíces, existen numerosos estudios de su efecto sobre la parte aérea. Así Rauthan et al. (1981) estudiaron la incidencia de la aplicación de ácidos fúlvicos a la disolución nutritiva (Hoagland) de plantas de pepino. El resultado se muestra en la Figura II.5, que indica el óptimo crecimiento de los tallos para dosis de 100 a 300 mg L^{-1}. En ella se puede observar el efecto de "dosis óptima" (Dell'Agnola et al., 1971).

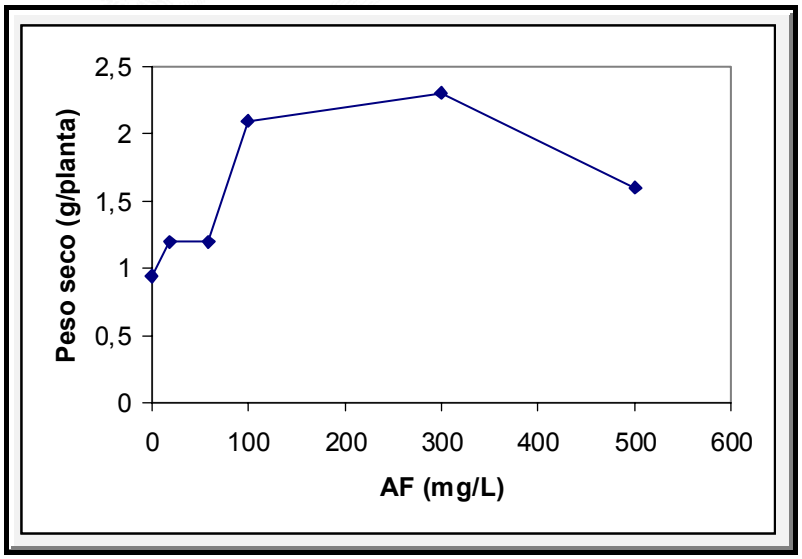


Figura II.5. Influencia de la concentración de ácidos fúlvicos en el peso seco de raíces de pepino. *(Rauthan et al., 1981)*.

Chen et al. (1994) al aplicar ácidos húmicos en dosis de 50 mg L^{-1} sobre plantas de trigo en cultivo hidropónico, encuentran estímulos considerables en la producción de biomasa tal y como muestra la Tabla II.7. Estos resultados son comparables a los de David et al. (1994) al trabajar con plantas de tomate en disolución nutritiva y varios tratamientos húmicos.

Las fracciones más activas de las sustancias húmicas son las de menor tamaño molecular. Como muestran Albuzio et al. (1994) la fracción menor de 8 kDa, que es la más susceptible de ser absorbida por la raíz, en dosis de 150 mg C L^{-1} es la que mejora de manera más significativa la producción de biomasa de plantas de avena. De nuevo, en este caso, a dosis mayores el efecto pasa a ser inhibitorio. En concordancia con estos resultados están los de Retta et al. (1994) al trabajar con plantas de tabaco a las que se aplicaban diferentes fracciones moleculares de sustancias húmicas en comparación con auxinas y citoquininas.

Tabla II.7. Efecto de 50 mg L^{-1} de ácidos húmicos en el crecimiento de trigo en agua o disolución de Hoagland. *(Chen et al., 1994).*

Medio cultivo	Órgano	Peso fresco mg/planta	Estímulo %
Agua	Raíz	93	0
	Tallo	185	
Agua+AH	Raíz	146	57,5%
	Tallo	252	36,2%
Hoagland	Raíz	182	96,3%
	Tallo	342	84,9%
Hoagland+AH	Raíz	203	118,3%
	Tallo	390	110,8%

Sin embargo, otros autores (Dell'Amico et al., 1994) observaron que

las fracciones de menor tamaño molecular, incluso a dosis bajas, muestran efectos inhibitorios. En este caso Dell'Amico et al. trabajaron con fracciones húmicas procedentes de residuos urbanos compostados o frescos. Para este tipo de sustancias húmicas, particularmente las de residuos no compostados, las fracciones de bajo peso molecular presentan fitotoxicidades muy elevadas por la presencia considerable en ellas de ácidos orgánicos de bajo peso molecular, fenoles etc. (Wilson et al., 1986). Por ello el conocimiento del grado de estabilidad de la materia orgánica de los enmendantes es uno de los aspectos más importantes para el entendimiento de su actuación sobre el desarrollo vegetal (Pascual et al., 1997).

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

II.2.2.4.-Absorción de macronutrientes.

El efecto estimulante de las sustancias húmicas sobre el crecimiento de las plantas ha sido comúnmente relacionado con el aumento de la absorción de macronutrientes (Guminsky et al., 1983). Gaur (1964) encontró incrementos en la absorción de N, P y K y descensos en la toma de Ca en plantas de *Lolium perenne* L. tratadas con ácidos húmicos de compost. En otro estudio realizado sobre plantas de pepino, Rauthan et al. (1981) cultivaron sus plantas en disolución de Hoagland, conteniendo hasta 2000 mg L^{-1} de ácidos fúlvicos. Los tratamientos incrementaron la absorción de N, P, K, Ca y Mg en los tallos y N en las raíces. La máxima absorción de todos estos elementos fue obtenida a concentraciones de 100 a 300 mg L^{-1}. Igualmente David et al. (1994) observaron que la adición de 1280 mg L^{-1} de ácidos húmicos producía incrementos en los niveles foliares de P, K, Ca, Mg y radiculares de N y Ca en plantas de tomate fertirrigadas. Sánchez-Conde et al. (1968), empleando plantas de pimiento regadas con disoluciones que contenían 8, 80 y 100 mg L^{-1} encontraron incrementos en la toma de N, P y

Mg y descensos en la toma de K, Ca y Na.

El Mg se absorbe mejor por las plantas a pH 5 que a pH 7, aunque los humatos favorecen dicha absorción a ambos pH. La acción negativa mostrada por un inhibidor metabólico como el 2,4-dinitrofenol, demuestra que los ácidos húmicos actúan a través de procesos metabólicos (Sánchez-Andreu, 1994).

En relación al N, García-Serna et al. (1996) muestra como, aplicando mediante pulverización de disoluciones concentradas, sustancias húmicas sobre gránulos de urea, la liberación del N al suelo era más paulatina.

En trabajos de Barón et al. (1995) con cultivo de trigo cv. Cajeme, dichos autores observan como se manifiesta un efecto positivo de la adición de sustancias húmicas al suelo sobre la absorción de N y P, y algo menos en el caso del K, no sólo en los análisis foliares sino también en los análisis de grano.

En el caso concreto del P, Lee et al. (1976) muestran que la adición de humatos cálcicos en dosis de 85 mg L^{-1} a una disolución nutritiva favorece la absorción de P por la planta. Posiblemente se deba al hecho de que los ácidos húmicos sean capaces de formar películas protectoras sobre las superficies del suelo donde éste se retiene o por la capacidad quelante de las sustancias húmicas sobre Al, Ca y Fe, los cuales forman fosfatos insolubles, de manera que se impide dicha formación (Sánchez-Andreu et al., 1994). Este hecho es corroborado por Wang et al. (1995) al observar que la aplicación conjunta de fertilizantes fosforados y ácidos húmicos a un suelo alcalino aumentaba el contenido de fósforo soluble en agua de manera significativa desde 106 ppm P en los suelos sin fertilización, a 1458 ppm P en los suelos con fertilización fosfórica y 1695 ppm P en los suelos con fertilización conjunta fosfórica más ácidos húmicos. En estos mismos términos se expresan Hafidi et al. (1997), los cuales muestran un efecto positivo de la absorción de P en plantas de *Lolium italicum* cv. *Barspectra* por

la adición al suelo de sustancias húmicas procedentes de tubas. Dicho efecto se acentúa con la utilización de sustancias húmicas tratadas con óxidos de nitrógeno (NO_x) para aumentar su contenido de grupos funcionales. La explicación para suelos ácidos es la misma que dan Sánchez-Andreu et al. (1994), mientras que para suelos neutros, las sustancias húmicas son capaces de adsorber aniones de P facilitando así su absorción por parte de la planta.

En trabajos realizados en el Departamento de Agroquímica y Bioquímica de la Universidad de Alicante (Bermúdez et al., 1993), se comprobó como, la adición de una sustancia húmica comercial procedente de lignitos a gránulos de fertilizantes fosforados (fosfato monoamónico, y en menor medida triple 20) en concentraciones de un 1% incrementaba la biodisponibilidad del P en suelos calizos donde, en condiciones normales, es fuertemente retenido.

Además de las ya mencionadas existen infinidad de referencias bibliográficas que nos muestran la influencia de la aplicación de sustancias húmicas sobre la absorción de cationes y aniones por diferentes cultivos. Este efecto, se explica, no sólo por una intervención indirecta de las sustancias húmicas, es decir, por la mejora de las condiciones físico-químicas del suelo; sino también por un efecto directo, de origen metabólico sobre la planta. Así Piccolo et al. (1992) distinguen entre diferentes fracciones de sustancias húmicas, y muestran que son aquellas con una mayor concentración de grupos funcionales ácidos y de un menor tamaño molecular, las más activas a la hora de promover la absorción de nutrientes como el N.

II.2.2.5.-Absorción de micronutrientes.

Según Chen et al. (1986) los metales de transición como Cu, Zn, Fe, Mn y otros son capaces de formar complejos con las sustancias húmicas. Este hecho puede convertirse en uno de los motivos fundamentales que justifique su empleo en zonas de suelos alcalinos, como los de las áreas mediterráneas, donde los problemas de microcarencias, particularmente de Fe, son de los más graves con los que se enfrentan los agricultores.

David et al. (1994) observan incrementos en los niveles foliares de Fe, Mn y Zn en plantas de tomate que crecen en disolución nutritiva por la adición a la misma de 1280 mg L^{-1} de ácidos húmicos.

El hierro ha sido uno de los micronutrientes más estudiados, en relación a la clorosis férrica. Las sustancias húmicas no sólo incrementan la solubilidad del Fe en la disolución, sino que también afectan a la translocación del Fe de las raíces a los tallos (Dekock, 1955). Aso et al. (1963) encontraron que plantas de arroz y maíz en cultivo hidropónico con disoluciones nutritivas a pH 7, presentan síntomas cloróticos, incluso tras la adición de ácidos húmicos enriquecidos con amonio. Sin embargo, la adición de sustancias húmicas con Fe (III) complejado, eliminó dichos síntomas casi en su totalidad. En ese mismo sentido Lee et al. (1976) encuentran que concentraciones de 5 mg L^{-1} de humato sódico en la disolución nutritiva de plantas de maíz, que crecen en cultivo hidropónico, aumenta los rendimientos de producción, así como la concentración de Fe, tanto en la raíz como en la parte aérea.

El efecto de las sustancias húmicas en la absorción de Zn y Cu por plantas de remolacha fue estudiado por Vaughan et al. (1976) empleando discos de tejido parenquimático. La adición de sustancias húmicas reduce ligeramente la absorción de Zn cuando las concentraciones sobrepasan los

25 mg L^{-1} de ácidos húmicos. Concentraciones menores no muestran ningún efecto. Sin embargo, Jalali et al. (1979) encontraron que empleando plantas enteras, la absorción de Cu, Zn y Fe se veía incrementada por la adición de estos materiales orgánicos.

Albuzio et al. (1994) también encuentran aumentos en los niveles foliares de Fe en plantas de avena tratadas con sustancias húmicas de diversos tamaños moleculares, correlacionando los mismos con las concentraciones foliares de clorofila.

Pero en muchos casos, la aplicación de sustancias húmicas se traduce en una inhibición de la toma de algunos micronutrientes, o en la reducción de los efectos tóxicos de algunos metales pesados, tal y como muestran Ullah et al., (1991) para Cd, Ni y V, debida a la formación de complejos de gran estabilidad con fracciones húmicas de gran tamaño que no son solubles. Por consiguiente, la proporción de las fracciones moleculares en un material húmico dado es decisiva en este aspecto. Es decir, que la solubilidad (tamaño molecular) de las fracciones de una sustancias húmica es un factor determinante para que tenga lugar el aumento o la inhibición de la absorción. Así, White et al. (1980) controlaron la absorción de Zn, Cd y Mn en dos suelos enmendados con Zn y Cd. Los suelos contenían un 1,2% y 3,8% de materia orgánica cada uno. Los efectos tóxicos en las plantas se redujeron significativamente para las que se desarrollaban en el de mayor contenido de materia orgánica, debido a la inmovilización de los metales por fracciones orgánicas de elevado peso molecular. Sin embargo empleando complejos húmicos de Fe, Zn, Cu o Mn se incrementa considerablemente la absorción de dichos elementos esenciales por los cultivos (Rauthan et al., 1981).

II.2.2.6.-Efectos sobre las membranas.

El estímulo mostrado en la absorción iónica por tratamientos húmicos ha provocado que muchos investigadores propongan, que estos productos afectan a la permeabilidad de las membranas debido a sus propiedades surfactantes (Vaughan et al., 1971; 1976). Ya en la primera mitad de siglo, Prozorovskaya (1936) demostró que la exoósmosis de azúcares a través de algunas raíces se veía incrementada por la presencia de ácidos húmicos, y concluyó que los ácidos húmicos aumentan la permeabilidad de las membranas con el consiguiente incremento en la absorción de nutrientes.

El modo de acción de las sustancias húmicas sobre las membranas no está definido, aunque está probablemente relacionado con la actividad superficial de las mismas (Chen et al., 1978). Actividad resultante de la presencia de "zonas moleculares" de carácter hidrofóbico y otras de carácter hidrofílico. De esta manera las sustancias húmicas pueden interaccionar con los fosfolípidos de membrana y actuar como transportadores de nutrientes al medio celular. Otro posible modo de acción sobre la permeabilidad de las membranas es mediante una acción metabólica, desacoplando la fosforilación oxidativa en las propias membranas (Glass, 1975). Slesak et al. (1988) mostraron que las aplicaciones de ácidos húmicos afectaban a la actividad H^+-ATPasa de raíces de trigo.

La acción de las sustancias húmicas sobre las membranas puede, por consiguiente, favorecer procesos naturales como la selectividad de muchas plantas en la absorción de Na^+. Cuesta (1994) encontró descensos en la toma de Na^+ en vid, al aplicar sustancias húmicas procedentes de residuos vegetales. Este hecho puede conferir a las sustancias húmicas cierto papel bioprotector frente a efectos nocivos del ambiente, como la salinidad (Chaminade, 1956).

II.2.2.7.-Metabolismo energético.

Tanto la respiración como la fotosíntesis pueden ser aumentadas por la aplicación de sustancias húmicas. Sladky (1959) hizo crecer plantas de tomate en disolución nutritiva conteniendo ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y un extracto alcohólico de materia orgánica del suelo, produciendo altas concentraciones de clorofila. El oxígeno consumido se incrementa al compararlo con las plantas control. También se observa que los ácidos fúlvicos tienen un efecto mayor que los ácidos húmicos (Tabla II.8).

BIBLIOTECA VIRTUAL

Tabla II.8. Efecto de fracciones de SH sobre respiración y niveles de clorofila en plantas de tomate. *(Sladky, 1959)*.

	OXÍGENO ABSORBIDO		
TRATAMIENTO	**HOJAS**	**RAÍCES**	**CLOROFILA**
	% del control		
Control	100	100	100
Extracto alcohólico (10 mg L^{-1})	110	176	130
AH (50 mg L^{-1})	124	123	163
AF (50 mg L^{-1})	130	138	169

Albuzio et al. (1994) encuentran estímulos considerables en los niveles foliares de clorofilas, en plantas de avena tratadas con sustancias húmicas (150 mg L^{-1}) de peso molecular menor de 8 kDa. Este hecho lo explican mediante el aumento de la disponibilidad del Fe, presente como quelatos, y por el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa.

El efecto de las sustancias húmicas sobre la respiración vegetal está

muy relacionado con su capacidad de actuar como donadores/aceptores de electrones, y por consiguiente poder entrar en la cadena respiratoria como ya se vio en apartados anteriores (Chukov et al., 1996; Lovley et al., 1996).

II.2.2.8.-Síntesis de proteínas y ácidos nucléicos y actividad enzimática.

Los cambios en la síntesis de ARN, fueron observados en secciones de raíces de guisante por Vaughan et al. (1979). Bukvova et al. (1967) encontraron que los ácidos húmicos, en bajas concentraciones (10 mg L^{-1}), estimulan la síntesis de la fosforilasa en plantas de trigo, inhibiéndola a concentraciones altas (100 mg L^{-1}).

La hipótesis de que las sustancias húmicas pueden actuar como hormonas y tener un efecto bioestimulante ha conducido a muchos investigadores a tratar el tema. Por ejemplo, Mato et al. (1972) comprobaron que las sustancias húmicas eran capaces de inhibir la actividad IAA-oxidasa, lo que contribuía a mantener grandes niveles de IAA en los tejidos, con el consiguiente estímulo del crecimiento.

Biondi et al. (1994) encontraron que la aplicación de ácidos húmicos, en dosis de 32 kg ha^{-1}, sobre plantas de trigo aumenta la actividad glutamato oxalacetato transaminasa (GOT) e inhibe la de la glutamato deshidrogenasa (GLDH). De esa manera, en el primer caso, se favorece la incorporación y la transferencia del amonio, y la síntesis de aminoácidos. Mientras que por otro lado se inhibe la acción catabólica de la GLDH (Tabla II.9).

Tabla II.9. Actividades GOT y GLDH en hojas y raíces de trigo. *(Biondi et al., 1994).*

		Amacollado	Encañado	Espigado	Floración
GOT	Control	1926 *cd*	1808 *c*	1658 *b*	1414 *a*
hojas	AH1	2205 *e*	2073 *d*	2457 *ef*	2147 *e*
mU/g	AH2	2356 *e*	2039 *d*	2992 *f*	2899 *f*
GOT	Control	1392 *m*	726 *a*	1443 *m*	1433 *m*
raíces	AH1	1280 *l*	696 *g*	1312 *l*	1294 *l*
mU/g	AH2	1265 *l*	835 *h*	1349 *lm*	1134 *i*
GLDH	Control	258 *t*	203 *s*	132 *gr*	147 *r*
raíces	AH1	170 *r*	86 *p*	46 *o*	25 *n*
mU/g	AH2	113 *q*	82 *p*	36 *n*	21 *n*

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

II.2.3.-Aplicación foliar.

Aunque no desestimamos la aplicación sobre el suelo, donde las sustancias húmicas han demostrado sobradamente su acción positiva, pensamos que la vía foliar es la más adecuada para que estos productos demuestren sus propiedades bioactivadoras.

La vía foliar como método de aplicación de sustancias húmicas comienza con los trabajos de Sladky (1959), los cuales observan, que los pesos frescos y secos de plantas de tomate, aumentan por la aplicación foliar de sustancias húmicas en dosis de 300 mg L^{-1}. Estos resultados se confirmaron con posteriores experiencias sobre plantas ornamentales, indicándose además, que los ácidos fúlvicos son más efectivos que los húmicos (Sladky, 1959).

Brownell et al. (1987) trabajando vía foliar, con dos extractos de leonarditas de origen comercial, encontraron aumentos en la producción de plantas de tomate (10,5%), algodón (11,2%) y vid (3-70%).

De la misma manera Xudan (1986) observó que la aplicación foliar de

ácidos fúlvicos sobre trigo aumentaba los niveles foliares de clorofila y la absorción de ^{32}P. En este mismo trabajo, cuando las plantas control eran sometidas a estrés hídrico, sus rendimientos descendían un 30%. Sin embargo, las plantas que recibían foliarmente ácidos fúlvicos, incrementaban su rendimiento hasta un 97% del control sin estrés hídrico. Este hecho vuelve a mostrar el efecto bioprotector de las sustancias húmicas sobre cultivos que crecen en condiciones de estrés, tal y como se ha indicado anteriormente (Chaminade, 1956; Chukov et al., 1996).

Como ya se ha comprobado, podemos encontrar distintas referencias que nos indican los resultados positivos de la aplicación de sustancias húmicas vía foliar. Resultados incidentes en diversos parámetros vegetales que ya se han mencionado. Igualmente estos efectos favorables han sido contrastados en experiencias de campo. Para poder evaluar dicha influencia, Chen et al. (1980) calcularon cual sería la dosis óptima de aplicación tanto a suelo como vía foliar.

- Aplicación a suelo:

Suposiciones: **Capa arable 2.5 t / ha**
Capacidad de campo: 30 %
Incremento requerido: 100 mg SH/L

Para 1 ha ➜ ***75 kg***

- Aplicación foliar:

Suposiciones: **Volumen requerido: 2000 L / ha**
Concentración requerida: 250 mg / L

Para 1 ha ➜ ***500 g***

Los cálculos anteriores se realizaron en base a numerosos estudios de laboratorio y nos indican, que las aplicaciones foliares pueden ser

efectivas en dosis unas cien veces menores a las necesarias en aplicación a suelo.

II.3.-Sustancias húmicas comerciales.

Bajo la denominación de sustancias húmicas, ácidos húmicos o enmiendas húmicas, se han venido comercializando en España, gran cantidad de productos a los que se les ha atribuido propiedades muy diversas (Cadahía, 1997): Mejorar la estructura del suelo, aumentando su capacidad de retención de agua. Evitar la retención de los cationes del suelo desbloqueándolos. Fijar los fertilizantes, disminuyendo las pérdidas por lixiviación. Activar la flora microbiana. Estimular la germinación. Favorecer el desarrollo del sistema radicular. Facilitar la absorción de nutrientes al aumentar la permeabilidad celular. Aconsejándose su utilización tanto en fertirrigación como en aplicaciones foliares.

En el mercado español podemos encontrar alrededor de 50 marcas comerciales de sustancias húmicas sólidas y más de 130 líquidas (De Liñán, 1998). Sus orígenes son diversos. Para las sólidas predominan las leonarditas y estiércoles de ovino combinados con diferentes residuos orgánicos (tortas de café, girasol, restos vegetales sin identificar, restos animales...). También podemos encontrar turbas y otros productos, como fermentados de cascarilla de cacao enriquecidos con micronutrientes. Las sustancias húmicas comerciales líquidas proceden fundamentalmente de tres orígenes: leonarditas, restos vegetales y turbas.

En la *Orden de 28 de mayo de 1998 sobre fertilizantes y afines* (B.O.E., 2 junio 1998), el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación establece, en su Anejo III, que se podrán comercializar como “ácidos húmicos líquidos”, *productos en solución acuosa obtenidos por tratamiento o*

procesado de turbas, lignitos o leonarditas, marcando como contenido mínimo de *Extracto Húmico Total* un 15% y 7% de *ácidos húmicos*. Por otro lado se autoriza como *Materia Orgánica Líquida, productos en solución o en suspensión obtenidos por tratamiento o procesado de un material de origen animal o vegetal*, con un contenido mínimo de 30% de *materia orgánica total*.

En las últimas décadas se han realizado varios estudios que indican que, si bien la naturaleza y composición de las sustancias húmicas obtenidas de materiales más o menos humificados no son idénticas a las del suelo, tienen mecanismos de formación similares y la mayoría de parámetros analíticos presentan valores muy parecidos, por lo que, también han de ejercer acciones positivas sobre el desarrollo vegetal. Según Franco et al. (1998) es importante tener presente que la fracción extraible de los materiales humificados comprende un abanico que va desde los ácidos fúlvicos a los ácidos húmicos. Cuando la materia prima sea un material joven y poco humificado se obtendrán preferentemente fracciones fúlvicas con predominio de estructuras alifáticas que, si bien son altamente hidrofílicas y muy activas en cuanto a su interacción con los micronutrientes y su movilidad, tienen un tiempo de residencia en el suelo muy corto, debido a su rápida biodegradación por microorganismos; por el contrario, en las fracciones situadas al otro extremo, procedentes de materiales muy carbonizados, predominan ácidos húmicos con estructuras aromáticas muy policondensadas y de elevados pesos moleculares, con virtual ausencia de proteínas y mucopolisacáridos.

Las sustancias húmicas procedentes de turbas están más o menos centradas en el anteriormente citado abanico, según su edad y la agresividad del método extractivo. En las sustancias húmicas procedentes de lignitos predominan las fracciones húmicas de mayor o menor nivel de policondensación según sea el estado de degradación del material, pero normalmente demasiado inertes. Una materia prima bastante degradada y

oxidada, junto a un método extractivo agresivo, con pretratamiento ácido y utilización de KOH en alta concentración, pueden provocar una disminución de los valores de la relación húmicos/fúlvicos de los extractos, dando lugar a productos agronómicamente más interesantes.

Cuando se empleen sustancias húmicas para aplicación foliar debemos tener en cuenta que en ellas debe predominar la fracción fúlvica y que contengan ácidos húmicos de bajo peso molecular; mientras que para aplicaciones a suelo se elegirán productos con una mayor presencia de la fracción húmica.

Debido a la complejidad de las sustancias húmicas y a su difícil caracterización, la legislación sólo propone como requisitos los anteriormente mencionados. Por ello, la clasificación de un producto comercial como una sustancia húmica equivalente a las del suelo resulta algo arriesgada. Es obvio que productos procedentes de residuos animales o vegetales relativamente recientes no han sufrido ese lento proceso de humificación como las sustancias húmicas del suelo. Sin embargo, son los resultados de la aplicación agronómica de estos productos los que, en nuestro trabajo, han primado. Por consiguiente durante todo el desarrollo del trabajo no hemos "purificado" las sustancias húmicas de los productos comerciales según los métodos de la IHSS, sino que hemos utilizado los productos tal y como lo puede hacer el agricultor.

II.4.-Salinidad en agricultura.

La población humana ha sufrido un gran incremento en las últimas décadas, tendencia que no ha sido seguida por la producción de alimentos. Las causas de este desequilibrio las podemos clasificar en dos categorías fundamentales; por un lado el considerable aumento en los precios de la energía y de los *inputs* agrícolas en general, y por otro las pérdidas de suelo útil causadas por los fenómenos erosivos y de salinización. Aunque muchos de los esfuerzos presentes se centran en el diseño de políticas económicas agrarias y de distribución de los alimentos, resulta obvia la necesidad de desarrollar investigaciones en el plano puramente científico o científico-tecnológico, que nos conduzcan a encontrar soluciones a las limitaciones fisiológicas que restringen la productividad de los cultivos.

La salinización de los suelos es, sin duda, uno de los problemas más graves a los que se enfrenta la agricultura actual. Aproximadamente entre un 7-10% de la superficie terrestre total está constituida por suelos afectados por salinidad en diferente extensión (Massoud, 1977; Szablocs, 1994). En la Tabla II.10 se puede observar la distribución de los suelos salinos en el mundo. Como se puede ver, se trata de un problema que afecta a los cinco continentes, encontrándose, no sólo en zonas desérticas y semidesérticas, sino también en llanuras aluviales, valles fluviales y áreas costeras, cerca de los grandes núcleos de población.

En los suelos salinos, la alta concentración de sales en disolución, provocan una alta presión osmótica, impidiendo el desarrollo correcto de las plantas. Éste es el principal factor de estrés provocado por la salinidad. Además, algunos componentes individuales, como Na^+ o Cl^-, actúan como elementos tóxicos específicos. La aparición de suelos salinos se puede deber a muy diferentes causas y, por tanto, son diversos los tipos de suelos salinos

que pueden existir. Así podemos clasificarlos, entre otras categorías, como: suelos salino-sódicos, alcalinos, yesíferos, sulfato-ácidos... (Szabolcs, 1994). Todos ellos tienen el rasgo definitorio común de que su salinización se debe a causas que podríamos denominar naturales. Es decir, que en la génesis de dicho suelo han intervenido factores (roca madre, clima...) naturales que han favorecido este hecho. En resumen, por "suelos salinos naturales" entendemos aquellos formados bajo la influencia dominante de diferentes sales en sus fases sólidas o líquidas, las cuales tienen una influencia decisiva en el desarrollo, características, propiedades físicas, químicas y biológicas, y en la fertilidad del suelo (Szablocs, 1994).

Tabla II.10. Suelos afectados por salinidad en el mundo. *Szablocs (1994)*.

Área geográfica	Hectáreas (millones)
Norteamérica	15,7
Centroamérica	2
Sudamérica	129,2
Africa	80,5
Sur de Asia	87,6
Norte y centro de Asia	211,7
Sureste asiático	20
Australia	357,3
Europa	50,8
Total	954,8

Sin embargo, existen otros suelos en los que la aparición de elevados contenidos salinos no se debe a los procesos de formación de dicho suelo,

sino que este fenómeno ocurre en un proceso secundario, en el que la intervención del hombre juega un papel fundamental. La extensión que ocupan este tipo de suelos es cada vez mayor. Si a ello añadimos la enorme cantidad de suelos con una importante potencialidad de convertirse en salinos debido a esa acción humana, el problema que se presenta es de una gran magnitud. Es decir que, si bien la presencia de sales en el suelo es una característica de lugares áridos o semiáridos, este problema puede generarse o agudizarse cuando se lleva a cabo un manejo inadecuado del terreno. El ser humano, mediante una serie de prácticas de carácter no sostenible ha favorecido, sin lugar a dudas, este proceso. Desde el sobrepastoreo a la deforestación, pasando por el uso abusivo y sin control de agroquímicos y los vertidos industriales con alta carga de sales, constituyen actividades cuyo efecto sobre los suelos es nefasto.

Pero indudablemente, la principal actividad relacionada con la salinización de los suelos es la agricultura de regadío. Este efecto ha sido observado desde antiguo, aunque en la actualidad avanza rápidamente provocando que aproximadamente la mitad de los suelos de regadío en el mundo estén afectados por procesos de salinización en diferente grado (Sen et al., 1994). Así, de acuerdo con la FAO y la UNESCO (Szablocs, 1994) 10 millones de hectáreas de regadío son abandonadas anualmente por causa de los efectos adversos de la salinización.

II.4.1.-Efectos de la salinidad sobre los cultivos.

La salinidad del medio puede inhibir el crecimiento vegetal, tanto mediante perturbaciones en el balance de agua, como mediante la reducción de la turgencia, así como mediante el agotamiento de la energía requerida para el metabolismo. Estas perturbaciones pueden estar generadas tanto por

dificultad en la captación o transporte de agua dentro de la planta, como por efectos tóxicos ocasionados por un exceso de iones minerales en los tejidos. En conclusión, el daño causado al vegetal puede ser osmótico, tóxico o nutricional (Poljakoff et al., 1994).

La salinidad afecta a los enzimas de las cadenas respiratorias, y dependiendo de la especie vegetal, puede aumentar o disminuir el consumo de oxígeno por parte de la planta (Poljakoff, 1994). El contenido de compuestos fosforilados desciende debido a la salinidad. La fosforilación puede verse afectada a nivel de la actividad ATPasa o en cualquier otro punto de dicha ruta metabólica.

Los efectos directos de las sales en el crecimiento de las plantas se pueden dividir en tres categorías principales (Dudley, 1994):

1. Reducción del potencial osmótico de la disolución del suelo, que disminuye la cantidad de agua disponible para la planta.
2. Deterioro de la estructura física del suelo, que disminuye la permeabilidad del mismo al agua y los gases.
3. Toxicidad específica de algunos iones.

La salinidad del suelo puede también afectar al desarrollo vegetal de manera indirecta, a través de la inhibición de procesos biológicos del suelo, como por ejemplo, mineralización y nitrificación (Jurinak et al., 1981).

Numerosos estudios de campo muestran los efectos de la salinidad sobre las plantas, así Shalhevet et al. (1973) encontraron descensos del 10% en el rendimiento de un cultivo de tomate por cada 1,5 dS m^{-1} de incremento de la conductividad eléctrica del agua de riego, a partir de 2,0 dS m^{-1}. Resultados similares encuentran Balibrea et al. (1997) o Mitchell et al. (1991) que añaden además del descenso de producción, disminución de los contenidos de proteínas solubles en fruto o aumentos de la acidez de los

mismos.

II.4.2.-Adaptaciones fisiológicas.

Desde el punto de vista de la tolerancia de las plantas a la salinidad, éstas se pueden clasificar en halófitas y glicofitas. La línea de separación entre estas dos categorías no es, ni mucho menos, clara (Chapman, 1960). Los estudios que muestran las diferencias entre halófitas y glicofitas, y su diferente respuesta a los medios salinos, hacen referencia a los siguientes mecanismos fisiológicos (Poljakoff-Mayber, 1994):

1. Selectividad en la absorción de iones por la raíz y control del transporte hacia tallos y hojas (Läuchli, 1984; Flowers et al., 1977).
2. Adaptación osmótica por acumulación de iones (Bernstein, 1961).
3. Compartimentación de iones a nivel celular o de tejido vegetal (Flowers et al., 1977).
4. Acumulación de los llamados osmorreguladores u osmolitos y su papel en la tolerancia a la salinidad (Pollard et al., 1979).

Debido al estrés osmótico generado por las altas conductividades del suelo, las plantas acumulan concentraciones importantes de solutos para adaptarse a esa situación. Este fenómeno se denomina osmorregulación o ajuste osmótico (Heuer, 1994). El grado de expresión de estos procesos osmorreguladores viene determinado por la extensión del estrés, el posible preacondicionamiento de la planta a dicho estrés, el tipo de órgano y la edad, y las variaciones genéticas entre y dentro de una misma especie.

Los mecanismos mencionados anteriormente son empleados, en mayor o menor extensión, por los cultivos para adaptarse a la salinidad del

medio. En el caso de la planta de tomate adquiere gran importancia el último de los mencionados, es decir, el que se refiere a la acumulación de "solutos compatibles" en el medio celular, con el fin de aumentar la presión osmótica interior. La planta de tomate sometida a estrés salino acumula diversos solutos como: prolina, glicina-betaina, fructosa y glucosa (Pérez-Alfocea et al., 1996; Balibrea et al. 1997). Los resultados de Heuer (1994) de la Tabla II.11 muestran como plantas de tomate sometidas a estrés salino o hídrico, aumentan considerablemente la síntesis de prolina respecto a los controles no salinos. Estos procesos se realizan causando un elevado coste energético para la planta, que se ve obligada a reducir sus rendimientos productivos como ya se ha mencionado anteriormente. Es decir, la planta frena su desarrollo y producción a costa de adaptarse a la salinidad del medio en el que vive.

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

Tabla II.11. Acumulación de prolina en plantas de tomate sometidas a estrés hídrico y/o salino. *Heuer (1994)*.

	Prolina (µM g^{-1} sobre peso fresco)	
Nivel de salinidad	**Sin estrés hídrico**	**Con estrés hídrico**
No salino	8,83	13,27
Agua riego **4 dS m^{-1}**	15,64	15,77
Agua riego **10 dS m^{-1}**	18,31	21,47

II.4.3.-Sustancias húmicas y salinidad.

Ya se ha mencionado en anteriores apartados de esta introducción, el papel de acción fisiológica de las sustancias húmicas, su efecto bioestimulante o bioactivador. Algunos autores (Varanini et al., 1995; Dubbini, 1995; Chukov et al., 1996) han observado efectos "bioprotectores" por la aplicación de sustancias húmicas sobre cultivos que se desarrollan en condiciones de estrés, entre ellos, el salino. Chaminade (1956) ya muestra que aplicaciones de sustancias húmicas reducen los efectos negativos sobre los cultivos, de dosis elevadas de fertilizantes minerales. Los mecanismos a través de los cuales las sustancias húmicas actúan como bioprotectores no están claramente establecidos, aunque se apunta hacia la presencia en ellas de radicales libres estabilizados y a su actividad paramagnética (Chukov et al., 1996; Aliev, 1989) como los causantes del papel fisiológico de estos materiales, a través de su intervención en algunas rutas metabólicas del vegetal como la cadena respiratoria, en la cual actuarían como donadores de electrones.

Dicha actividad paramagnética de las sustancias húmicas reside según Flaig (1958; 1970) en la presencia de derivados o-quinónicos, los cuales pueden actuar como deshidratasas en los procesos oxidativos celulares, tomando, así mismo parte en la formación de compuestos de tipo auxínico. Por otro lado, Piccolo et al. (1990; 1992) afirman que la actividad fisiológica de las sustancias húmicas depende del contenido de grupos funcionales carboxílicos e hidroxílicos en su estructura molecular.

Por otro lado, una de las causas por las que la salinidad de aguas y suelos afecta negativamente a los cultivos son los efectos tóxicos específicos del Na^+ (Dudley, 1994). Según Sánchez-Conde et al. (1968) la aplicación de sustancias húmicas a la disolución nutritiva de riego, reduce los niveles

foliares de Na^+ en algunos cultivos como pimiento y tomate. Este fenómeno ha sido corroborado, en la Universidad de Alicante, por Cuesta (1994), al aplicar sustancias húmicas comerciales procedentes de residuos vegetales sobre un cultivo de uva de mesa (*d.o. Vinalopó*).

El mecanismo de acción a través del cual las sustancias húmicas reducen la absorción de Na^+, tampoco está definido, aunque existen evidencias de que pueden actuar sobre las ATP-asas de membrana (Slesak et al., 1988; Varanini et al., 1995), estimulando el proceso natural de exclusión de Na^+ por parte del vegetal.

En este trabajo, también se tratará de testar el efecto bioprotector de las sustancias húmicas sobre cultivos que se desarrollan en medio salino, centrándonos en algunas etapas del ciclo fenológico como la germinación o el desarrollo primario y comprobando el efecto sobre los niveles de osmolitos en hoja.

II.5.-Características generales del cultivo del tomate.

Son varios los requisitos que debe cumplir una planta a la hora de ser utilizada como testigo de los efectos de determinados tratamientos. Desde el punto de vista vegetativo, su ciclo vital debe tener una duración tal que nos permita comprobar en el tiempo dichos efectos. Y por otro lado, económicamente ha de ser lo suficientemente interesante como para que los resultados obtenidos sean rentables.

Resulta obvio que el cultivo del tomate cumple con creces las premisas antes mencionadas, ya que su ciclo es relativamente rápido, y su importancia económica tanto a nivel nacional como internacional es de sobra conocida.

La planta del tomate (*Lycopersicum escullentum Mill.*) es una herbácea de la familia de las Solanáceas. Aunque su cultivo es anual, puede

permanecer hasta dos años. Se trata de un cultivo propio de climas cálidos, que necesita para su desarrollo adecuado una alternancia de temperaturas día-noche, sobre todo durante la fructificación. Se ve muy afectada por las bajas temperaturas, destruyéndose a valores inferiores a 0ºC. El tipo de suelos más adecuado para su cultivo son los profundos y bien drenados, aunque en la actualidad se ha desarrollado ampliamente su cultivo sobre sustrato inerte fertirrigado.

II.5.1.-Datos estadísticos.

Se trata de un cultivo ampliamente extendido por todo el mundo. España, no es una excepción, y en la actualidad se cultivan unas 55.000 ha, habiéndose llegado a un máximo de 73.100 ha en el año 1977 (M.A.P.A., 1997). Según estas mismas fuentes, la producción se ha multiplicado por más de cuatro, desde el año 1930 hasta nuestros días, pasando de 701.800 t, a 2.950.900 t. Este aumento se debe, no sólo al aumento de la superficie cultivada, sino también a las mejoras genéticas introducidas y al mayor control de la fertilización, de manera que se ha pasado de un rendimiento de 293 qm/ha a 517 qm/ha (Tabla II.12).

Durante el periodo más reciente (1985/97) vemos en las Figuras II.6 y II.7, que los rendimientos han aumentado espectacularmente, mientras que la producción, si bien ha crecido, no lo ha hecho en la misma proporción, debido al descenso de la superficie cultivada.

Los datos a nivel provincial (Alicante) y autonómico (C. Valenciana) para el año 1998 según la *Consellería de Agricultura, Pesca i Alimentació*, se muestran en la Tabla II.13. En ella destaca la provincia de Alicante como la que más superficie dedica al cultivo del tomate, siendo por tanto la mayor productora de la Comunidad. De manera que casi un 47% de la superficie dedicada a este cultivo se encuentra en Alicante, mientras que la producción

supone un 68% del total autonómico. Toda la superficie dedicada al cultivo del tomate en la provincia de Alicante es de regadío, destacando las variedades Daniela (mayoritaria), Durinta, Magda y Radja, con una alta proporción de superficie bajo invernadero. En el otro extremo, Castellón es la que presenta una mayor superficie cultivada en secano.

En cuanto a el destino de la producción (Tabla II.13), el consumo en fresco se muestra muy por encima del dirigido a la transformación industrial en toda la Comunidad, destacando el caso de Valencia, cuya producción se dirige exclusivamente al consumo en fresco.

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

Tabla II.12. Serie histórica superficie, rendimiento, producción y comercio exterior.

Años	Superficie (miles ha)	Rend. (qm/ha)	Produc. (miles t)	Valor (pts x10^6)	Import. (t)	Export. (t)
1930	23,9	293	701,8	122	4.263	6.536
1935	25,1	283	711,7	123	1.029	963
1940	20,6	267	549,5	274	--	--
1945	23,4	233	544,7	488	--	--
1950	36,1	213	767,0	1.174	--	--
1955	42,7	196	838,4	1.727	--	139.311
1960	51,1	225	1.148,4	3.916	--	176.332
1965	54,7	244	1.330,1	6.225	588	225.153
1970	72,5	249	1.808,5	10.761	584	186.507
1975	81,3	306	2.488,0	31.150	249	216.398
1976	68,7	304	2.078,0	17.476	1.146	226.840
1977	73,1	323	2.358,5	28.609	152	206.527
1978	72,2	308	2.223,0	33.501	252	201.059
1979	63,5	352	2.204,1	31.630	26	315.411
1980	60,7	354	2.147,3	32.618	--	273.306
1981	59,6	362	2.158,9	39.616	7	359.328
1982	59,3	381	2.256,9	50.081	186	355.261
1983	59,6	394	2.348,6	43.662	--	323.955
1984	65,1	386	2.510,8	64.452	--	365.476
1985	60,6	401	2.429,0	58.392	547	396.075
1986	57,0	421	2.399,6	57.566	646	398.357
1987	56,1	436	2.447,2	73.811	810	397.501
1988	60,4	428	2.581,4	85.315	3.196	402.446
1989	66,1	449	2.963,8	106.312	8.303	410.457
1990	70,1	452	3.170,3	164.222	12.879	336.915
1991	59,9	445	2.665,3	115.834	19.247	361.784
1992	55,8	474	2.647,7	100.957	15.819	468.854
1993	57,1	491	2.805,8	134.903	13.337	545.496
1994	60,2	517	3.108,8	141.047	10.711	686.249
1995	55,2	515	2.841,2	132.059	3.377	742.229
1996	56,8	586	3.326,4	163.725		
1997	55,5	532	2.950,9	152.030		

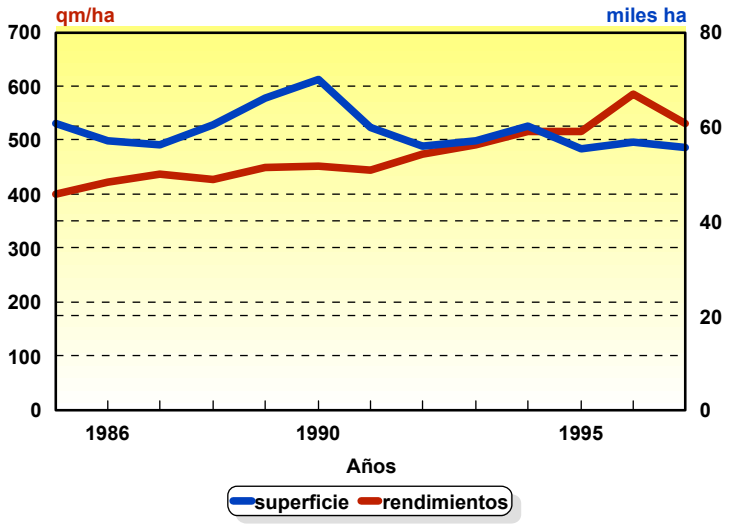


Figura II.6. Evolución de los rendimientos y de la superficie cultivada en España.

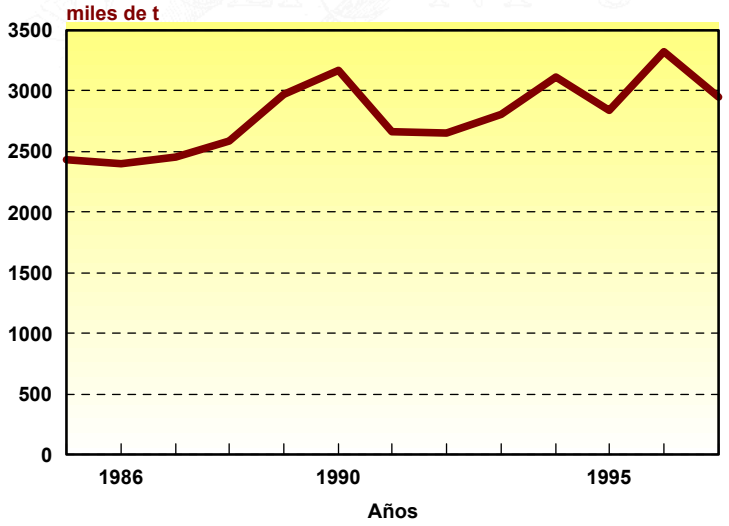


Figura II.7. Evolución de la producción.

Tabla II.13. Análisis provincial de la superficie, producción y destino de la producción.

	SUPERFICIE (ha)				Producción (t)	DESTINO DE LA PRODUCCIÓN (t)		
	Secano	Regadío		Total		Pérdidas y consumo en explotación	Ventas fuera de la explotación	
		Aire libre	Protegido				Consumo en fresco	Transformación
Alicante	-	788	367	1155	116850	2495	107147	7208
Castellón	178	562	35	775	30790	1468	23592	5730
Valencia	10	465	75	550	25310	225	25085	-
Total	188	1815	477	2480	172950	4188	155824	12938

III.- MATERIALES Y MÉTODOS.

El apartado experimental de este trabajo de investigación está constituido por cuatro experiencias. La totalidad de las mismas se llevaron a cabo empleando tomate cv. Daniela como cultivo testigo. De las cuatro, dos se desarrollaron en el invernadero experimental del Departamento de Agroquímica y Bioquímica de la Universidad de Alicante, otra en una cámara de cultivo, y la última en el laboratorio del propio Departamento.

La Figura III.1 muestra el esquema de trabajo seguido. En primer lugar, y con carácter *introductorio*, se realizó una experiencia en invernadero, al objeto de comparar los efectos de la aplicación de distintas sustancias húmicas comerciales de los diferentes orígenes presentes en el mercado.

Con los resultados obtenidos en este primer ensayo, como veremos, se plantearon dos vías de trabajo fundamentales para abordar, de la manera más completa posible, el estudio de la aplicación de estos materiales (Figura III.1). Por un lado, *establecer la dosificación adecuada de dichos productos* en base a criterios exclusivamente científicos, y por otro, *estudiar el posible efecto bioprotector de las sustancias húmicas comerciales sobre cultivos que crecen en medio salino*. Esta derivación del trabajo, dio lugar a tres nuevas experiencias. Dentro de la primera vía de trabajo, se desarrolló el denominado *ensayo de dosis*, de nuevo sobre tomate cv. Daniela en invernadero experimental. Y perteneciente a la segunda vía de estudio, se llevaron a cabo dos experiencias denominadas *ensayo de germinación* y ensayo en cámara de cultivo.

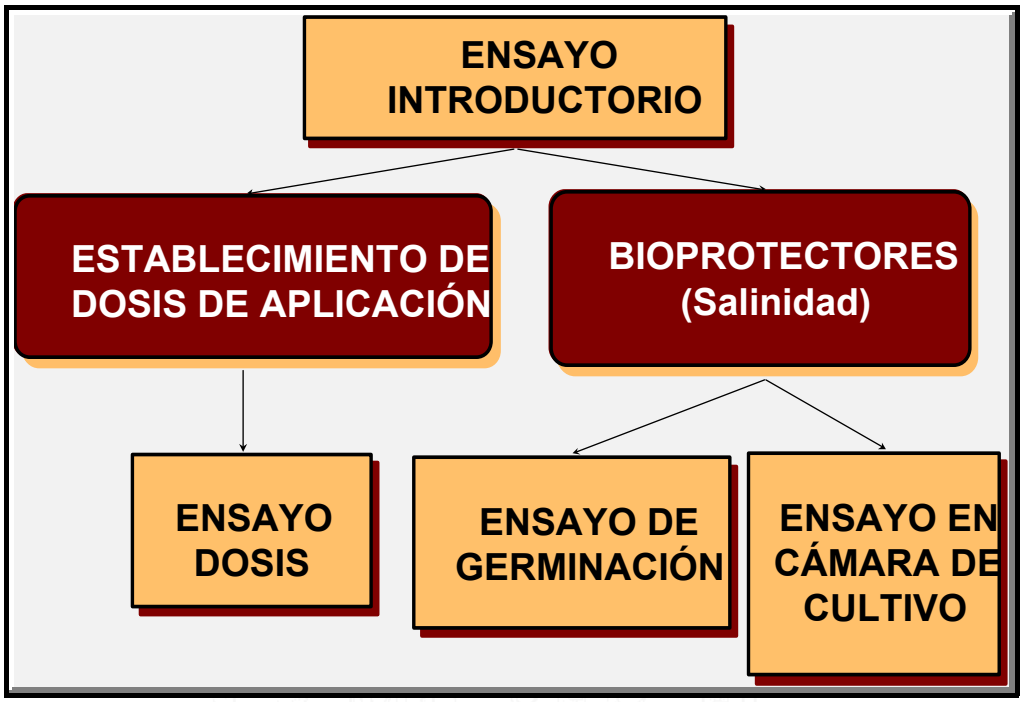


Figura III.1. Esquema general del trabajo.

El total de productos comerciales empleados en los diferentes ensayos que constituyen este trabajo, es de catorce (Tabla III.1), distribuidos según su origen en: *diez muestras procedentes de lignitos, tres de residuos vegetales y una de turba*. Previamente a la realización de los ensayos agronómicos mostrados en la Figura III.1, se llevó a cabo una caracterización de las sustancias húmicas comerciales, determinándose los siguientes parámetros analíticos:

- pH, conductividad eléctrica, densidad y humedad.
- Extracto húmico total (%).
- Ácidos húmicos (%).

- Ácidos fúlvicos (%).
- Relación E_4/E_6.
- Macro y micronutrientes.

Tabla III.1. Sustancias húmicas comerciales empleadas en los diferentes ensayos.

Muestra	ORIGEN
L1	Lignitos
L2	Lignitos
L3	Lignitos
L4	Lignitos
L5	Lignitos
L6	Lignitos
L7	Lignitos
L8	Lignitos
L9	Lignitos
L10	Lignitos
RV1	Residuos vegetales
RV2	Residuos vegetales
RV3	Residuos vegetales
T	Turba

III.1.-Primera experiencia. *Ensayo introductorio.*

Con este ensayo tratamos de realizar una primera aproximación sobre los efectos agronómicos de las sustancias húmicas. Por ello, se eligieron diferentes muestras representativas de los tres orígenes más habituales del mercado: *lignitos, residuos vegetales y turbas*, y se realizaron los tratamientos vía foliar según se describirá posteriormente.

III.1.1.-Invernadero.

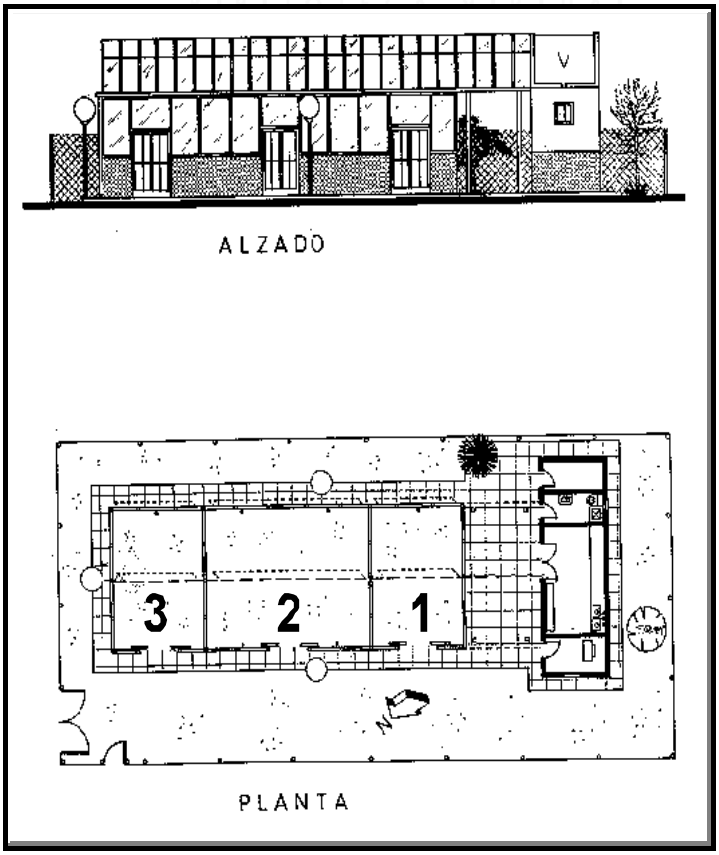


Figura III.2. Detalle del alzado y planta del invernadero.

Las instalaciones del invernadero empleadas para el desarrollo de este ensayo son las pertenecientes al Departamento de Agroquímica y Bioquímica de la Facultad de Ciencias, de la Universidad de Alicante. Sus características de alzado y planta son las que se muestran en la Figura III.2. La estructura del mismo esta constituida de hierro galvanizado, y las paredes y techo (a dos aguas) son de cristal traslúcido. Se encuentra dividido en tres módulos con puertas de acceso independientes, habiéndose realizado el presente ensayo en el módulo número 1, que corresponde al situado más a la derecha en la Figura III.2. Su orientación es próxima al mediodía, con cierta inclinación al suroeste.

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

III.1.2.-Planteamiento experimental.

Esta experiencia se realizó en cultivo sin suelo (sustrato: *arena de sílice* de granulometría media, diámetro 3-4 mm). El cultivo empleado fue tomate cv. Daniela, al que se aplicó, vía foliar, sustancias húmicas comerciales de diferentes orígenes (Tabla III.2), en dosis de **0,5% (v/v)**, más un tratamiento testigo consistente en un rociado foliar con agua destilada. A dichas disoluciones se le añadió un tensoactivo no iónico en dosis de 0,1% (v/v) (Eter nonilfenilpolietilenglicol 20%) a fin de favorecer la absorción de las sustancias húmicas por el vegetal.

La dosis se estableció en base a las recomendaciones mostradas por diversos fabricantes en las etiquetas de sus productos.

Se realizaron cuatro aplicaciones, a intervalos de quince días; el primero de ellos, veinte días después del transplante del semillero a los tiestos definitivos.

Tabla III.2. Tratamientos.

Tratamiento	Origen
0	Control
L4	Lignitos
L5	Lignitos
L7	Lignitos
RV1	Residuos Vegetales
RV2	Residuos Vegetales
RV3	Residuos Vegetales
T	Turba

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

III.1.3.-Preparación del medio de cultivo.

Como ya se ha indicado, la experiencia se ha desarrollado sobre un sustrato inerte de cultivo constituido por arena de sílice de granulometría media, para permitir el sostenimiento de la planta y su adecuado enraizamiento. Las características de este sustrato son: pH neutro, escasa capacidad de intercambio iónico, buen drenaje y ausencia de sustancias tóxicas.

Dicho sustrato fue previamente lavado y aireado repetidas veces con abundante agua de red, después con HCl diluido con el fin de aseptizarlo, de nuevo con agua de red, varias veces, y posteriormente con abundante agua destilada.

El transplante se realiza sobre tiestos especiales de unos 10 L de capacidad, como los que se muestran en la Figura III.3, que se rellenan con arena de sílice. Estos poseen un doble fondo de aproximadamente 2 litros de capacidad donde se aloja la disolución nutritiva, y una ventana-rebosadero,

a través de la cual se puede seguir el nivel de dicha disolución, así como vaciarla periódicamente con el fin de renovarla. Dicha renovación se realizaba de una a dos veces por semana, lavando el doble fondo con abundante agua de red.

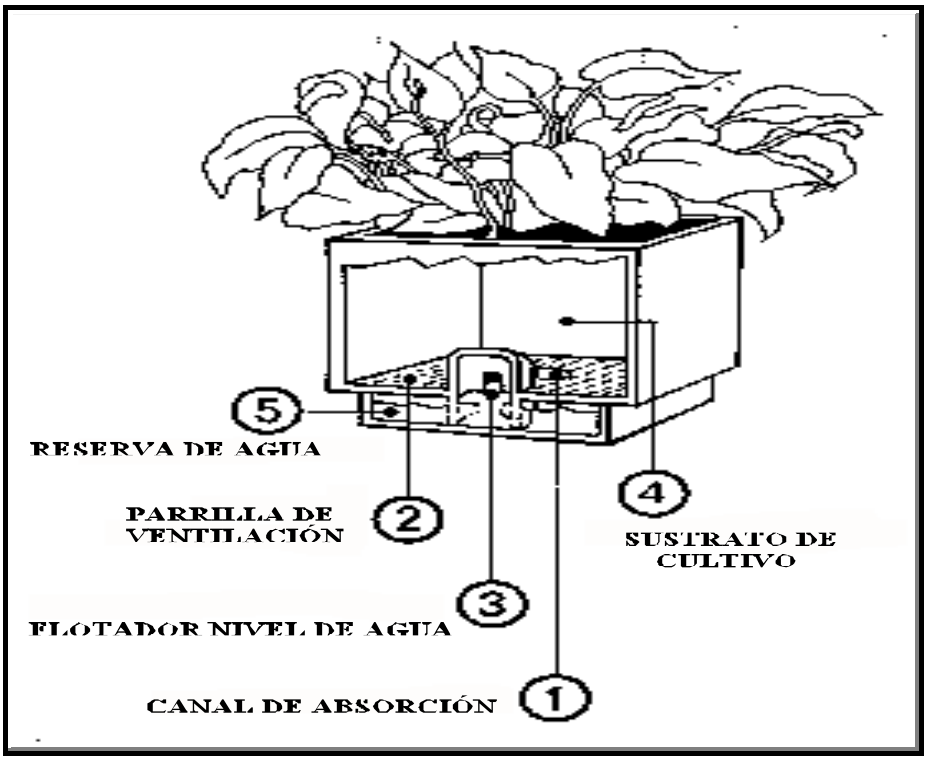


Figura III.3. Detalle de los tiestos utilizados en la experiencia.

III.1.4.-Disolución nutritiva.

La composición de la disolución nutritiva se prepara basándonos en las necesidades nutricionales del tomate (Sonneveld, 1980) y en trabajos desarrollados en hidroponía por Martínez et al. (1993) (Tabla III.3 y III.4), además de en la composición del agua de red del invernadero, que fue

previamente analizada. A partir de la floración, se modificaron los contenidos de K^+ y Ca^{2+}, para adecuarlos a las necesidades nutricionales del cultivo.

Los diferentes componentes de esta disolución nutritiva se prepararon de manera independiente en el laboratorio en forma concentrada. Posteriormente se añadieron las cantidades necesarias de cada uno al tanque de disolución nutritiva del invernadero y se diluyeron, obteniendo un volumen total de 240 L de disolución en las condiciones de concentración enunciadas en las Tablas III.3 y III.4, lista para su distribución en los diferentes tiestos.

Tabla III.3. Composición de la disolución nutritiva antes de la floración.

Nutriente	Compuesto	Concentr. (mM)
$N\text{-}NO_3^-$	HNO_3, $Ca(NO_3)_2$, KNO_3, NH_4NO_3, $Mg(NO_3)_2$	12
$N\text{-}NH_4^+$	NH_4NO_3	0,5
$P\text{-}PO_4^{3-}$	KH_2PO_4	1,5
$K\text{-}K^+$	KNO_3, K_2SO_4, KH_2PO_4	7,5
$Ca\text{-}Ca^{2+}$	$Ca(NO_3)_2$	2,5
$Mg\text{-}Mg^{2+}$	$Mg(NO_3)_2$	1,25
Fe-quelato	EDDHA-Fe	0,03
$Mn\text{-}Mn^{2+}$	$MnSO_4 \cdot H_2O$	2,5 *ppm*
$Cu\text{-}Cu^{2+}$	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0,6 *ppm*
$Zn\text{-}Zn^{2+}$	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0,75 *ppm*
B-borato	H_3BO_3	2,9 *ppm*
Mo-molibdato	$(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_20$	0,5 *ppm*
$S\text{-}SO_4^{2-}$	K_2SO_4, $MnSO_4 \cdot H_2O$, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	2

Tabla III.4. Composición de la disolución nutritiva después de la floración.

Nutriente	Compuesto	Concentr. (mM)
N-NO_3^-	HNO_3, $Ca(NO_3)_2$, KNO_3, NH_4NO_3, $Mg(NO_3)_2$	12,1
N-NH_4^+	NH_4NO_3	0,5
P-PO_4^{3-}	H_3PO_4	1,5
K-K^+	KNO_3, K_2SO_4	9
Ca-Ca^{2+}	$Ca(NO_3)_2$	4,3
Mg-Mg^{2+}	$Mg(NO_3)_2$	1,25
Fe-quelato	EDDHA-Fe	0,03
Mn-Mn^{2+}	$MnSO_4 \cdot H_2O$	2,5 *ppm*
Cu-Cu^{2+}	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0,6 *ppm*
Zn-Zn^{2+}	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0,75 *ppm*
B-borato	H_3BO_3	2,9 *ppm*
Mo-molibdato	$(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_20$	0,5 *ppm*
S-SO_4^{2-}	K_2SO_4, $MnSO_4 \cdot H_2O$, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	3,1

III.1.5.-Desarrollo experimental.

Las semillas de tomate cv. Daniela se hicieron germinar en semilleros rellenos de turba. Estos se regaron con agua de red y las plántulas se transplantaron al alcanzar una altura aproximada de 25-30 cm a los tiestos definitivos, previo lavado de las raíces con agua para eliminar los restos de turba. La distribución de los tiestos con los tratamientos se realizó al azar, con tres repeticiones por tratamiento. En la Figura III.4 se puede observar la distribución de los tiestos en el módulo del invernadero, donde compartían espacio con otras experiencias. El cultivo se desarrolló en altura al disponer de un tutor de cuerda por individuo controlado.

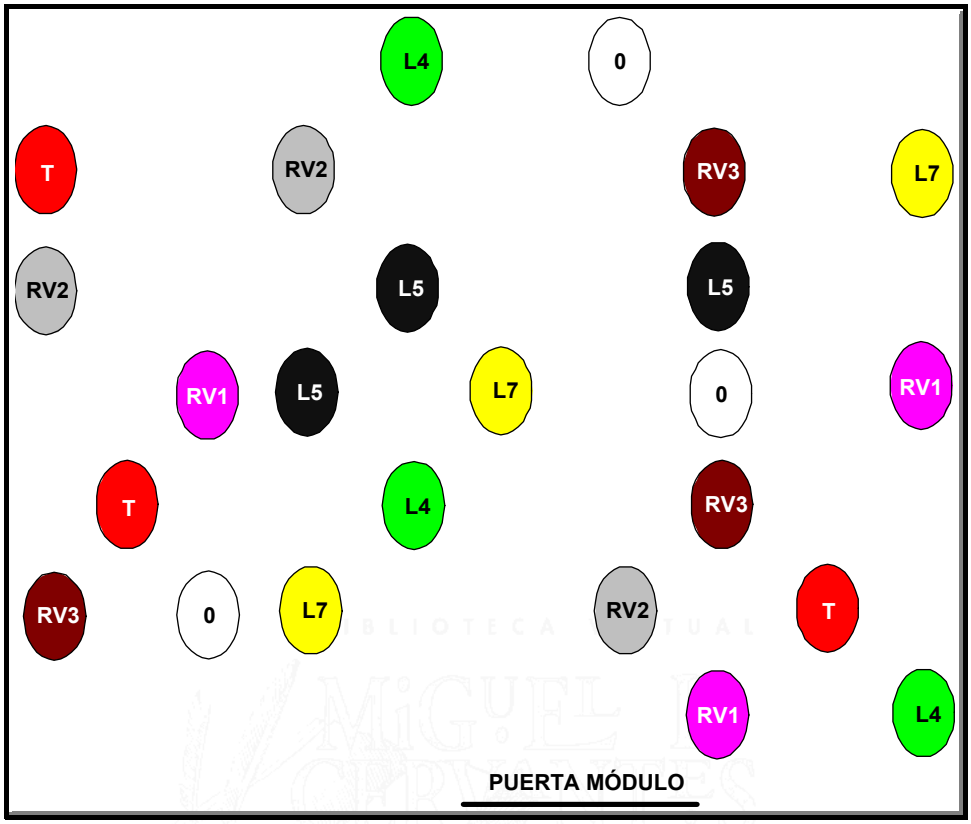
Durante el ciclo de cultivo aparecieron algunos problemas de

parásitos. Para prevenir y/o luchar contra dichas plagas se realizaron los siguientes tratamientos:

- Mosca blanca: Cipermetrina 10% p/v (1 mL/L) y buprofezin 25% p/p (1.6 g/L).
- Botrytis: Benomilo 50% p/p (0.6 g/L).
- Virosis: Acido Salicílico (5 mM).
- Acaros: Fenbutestan 55% p/v (0,1%).
- Minador: Ciromazina 75% p/p (0.2%).

El ensayo se prolongó desde el mes de Mayo (transplante) al de Septiembre (recogida de las plantas), en plena fructificación.

MIGUEL DE CERVANTES



0	Control	**RV1**	Res. Vegetales
L4	Lignitos	**RV2**	Res. Vegetales
L5	Lignitos	**RV3**	Res. Vegetales
L7	Lignitos	**T**	Turba

Figura III.4. Distribución espacial de los tratamientos en el invernadero.

III.1.6.-Toma de muestra.

La toma de muestra de frutos para la determinación de parámetros de calidad de los mismos, se llevó a cabo al comienzo del periodo de

fructificación, en el mes de Agosto de 1.996.

Por otro lado, las muestras foliares se tomaron al final del ciclo del cultivo en el periodo de fructificación, al mismo tiempo que se retiraban las plantas.

III.1.7.-Determinaciones analíticas.

Durante las primeras cinco semanas de desarrollo del cultivo se midió el crecimiento semanal de las plantas.

En cuanto a los parámetros morfológicos, las variables registradas, al finalizar el ciclo de cultivo, fueron:

- Longitud total y peso fresco y seco de tallos y ramas.
- Peso fresco y seco de las hojas.
- Peso fresco y seco de las raíces.
- Rendimiento productivo por planta.

Los parámetros fisiológicos y nutricionales determinados fueron:

- Contenido de clorofilas.
- Contenido de carotenoides.
- Macro y micronutrientes en hoja.

En relación a la calidad de los frutos se determinaron los siguientes parámetros:

- pH.
- Conductividad eléctrica.

- Acidez valorable.
- Sólidos solubles.
- Contenido de vitamina C.

Las metodologías empleadas en cada caso, se encuentran en el *Apéndice I*.

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

III.2.-Segunda experiencia. *Ensayo de dosis*.

Como ya se ha mencionado, en segundo lugar se llevó a cabo la experiencia denominada *ensayo de dosis*, dentro de la línea de trabajo con la que se trataba de establecer una dosificación adecuada de estos productos comerciales.

III.2.1.-Invernadero.

Al igual que la anterior experiencia, ésta se realizó en el módulo número uno del invernadero experimental del Departamento de Agroquímica y Bioquímica de la Universidad de Alicante.

III.2.2.-Planteamiento experimental.

De la misma manera que en el ensayo anterior, la experiencia se desarrolló empleando como cultivo testigo el tomate cv. Daniela sobre sustrato inerte (arena de sílice de granulometría media, diámetro 3-4 mm) y fertirrigado.

Se ensayó una sustancia húmica (L5) representativa de las procedentes de lignitos (por ser el origen más habitual en el mercado) a distintas dosis más un testigo, sin aplicación de sustancias húmicas. La aplicación se realizó mediante pulverización foliar del producto a las concentraciones que se muestran en la Tabla III.5. A dichas disoluciones se le añadió un tensoactivo no iónico (Éter nonilfenilpolietilenglicol 20%) en dosis de 0,1% (v/v) a fin de favorecer la absorción de las sustancias húmicas por el vegetal.

Se realizaron ocho aplicaciones de las disoluciones de sustancias húmicas a intervalos de quince días, siendo la primera de ellas veinte días después del transplante del semillero a los tiestos definitivos.

Tabla III.5. Dosis aplicadas en los diferentes tratamientos.

Tratamiento	Dosis % (v/v)
0	0
1	0,005
2	0,01
3	0,05
4	0,1
5	0,15
6	0,2

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

Las dosis de aplicación foliar de sustancias húmicas se rebajaron en este ensayo respecto al anterior basándonos en la bibliografía consultada (Lee et al., 1976; Chukov et al., 1996; Csicsor et al., 1994; Dell'Amico et al., 1994).

III.2.3.-Preparación del medio de cultivo.

Se realizaron las mismas operaciones que en el *ensayo introductorio* (III.1.3) descrito anteriormente.

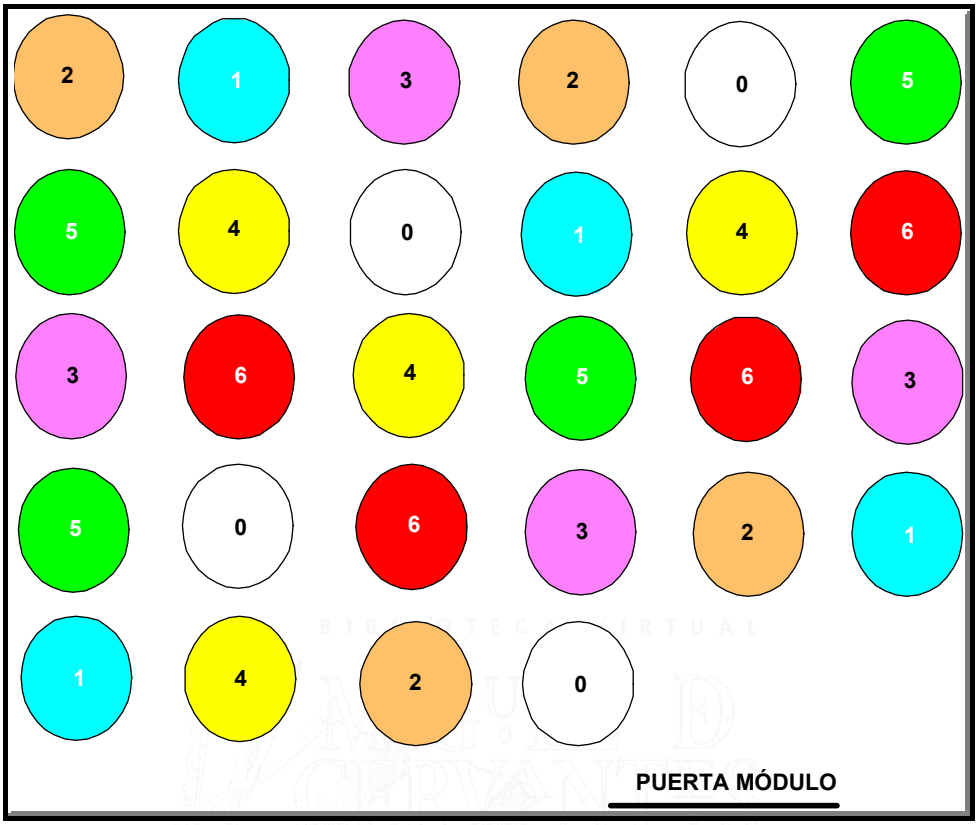
III.2.4.-Disolución nutritiva.

Se empleó la misma disolución nutritiva que en el *ensayo introductorio* (III.1.4), basada en las necesidades nutricionales del tomate (Sonneveld, 1980) y en trabajos desarrollados en hidroponía por Martínez et al. (1993).

III.2.5.-Desarrollo experimental.

La metodología experimental seguida durante el desarrollo del cultivo fue la misma que se ha descrito en el apartado III.1.5. Las semillas de tomate cv. Daniela se hicieron germinar en semilleros rellenos de turba. Estos se regaron con agua de red y las plántulas se transplantaron al alcanzar una altura aproximada de 25-30 cm a los tiestos definitivos, previo lavado de las raíces con agua para eliminar los restos de turba. La distribución de los tiestos con los tratamientos se realizó al azar por cuadruplicado. En la Figura III.5 se puede observar la distribución de los tiestos en el módulo del invernadero. El cultivo se desarrolló en altura al disponer de un tutor de cuerda por individuo controlado.

De la misma manera, los tratamientos fitosanitarios preventivos y/o correctivos realizados están descritos en el apartado III.1.5.



Tratamiento	Dosis %(v/v)	Tratamiento	Dosis %(v/v)
0	0	**4**	0,1
1	0,005	**5**	0,15
2	0,01	**6**	0,2
3	0,05		

Figura III.5. Distribución espacial de los tratamientos en el invernadero. (Tabla III.5).

III.2.6.-Toma de muestra.

Tanto las muestras foliares, necesarias para la determinación de

parámetros fisiológicos y nutricionales, como las de frutos, se tomaron al comienzo del periodo de fructificación, durante el mes de Junio de 1.997.

Al finalizar el ciclo de cultivo se arrancaron las plantas y se registraron los parámetros morfológicos del cultivo.

III.2.7.-Determinaciones analíticas.

En cuanto a los parámetros morfológicos, las variables registradas, al finalizar el ciclo de cultivo, fueron:

- Longitud total y peso fresco y seco de tallos y ramas.
- Peso fresco y seco de las hojas.
- Peso fresco y seco de las raíces.
- Rendimiento productivo por planta.

Los parámetros fisiológicos y nutricionales determinados fueron:

- Contenido de clorofilas.
- Contenido de carotenoides.
- Contenido de ácidos orgánicos en savia.
- Macro y micronutrientes en hoja.

En relación a la calidad de los frutos se determinaron los siguientes parámetros:

- pH.
- Conductividad eléctrica de los zumos.
- Acidez valorable.

- Contenido de azúcares totales.
- Contenido de vitamina C.
- Contenido de proteínas totales.

Las metodologías empleadas en cada caso, se encuentran en el *Apéndice I*.

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

III.3.-Tercera experiencia. *Ensayo de germinación*.

Esta tercera experiencia denominada *ensayo de germinación* está dividida en dos subensayos. Cada uno de ellos se encuentra enmarcado dentro de las dos líneas de investigación que se abordaron en el presente estudio, tal y como muestra la Figura III.6.

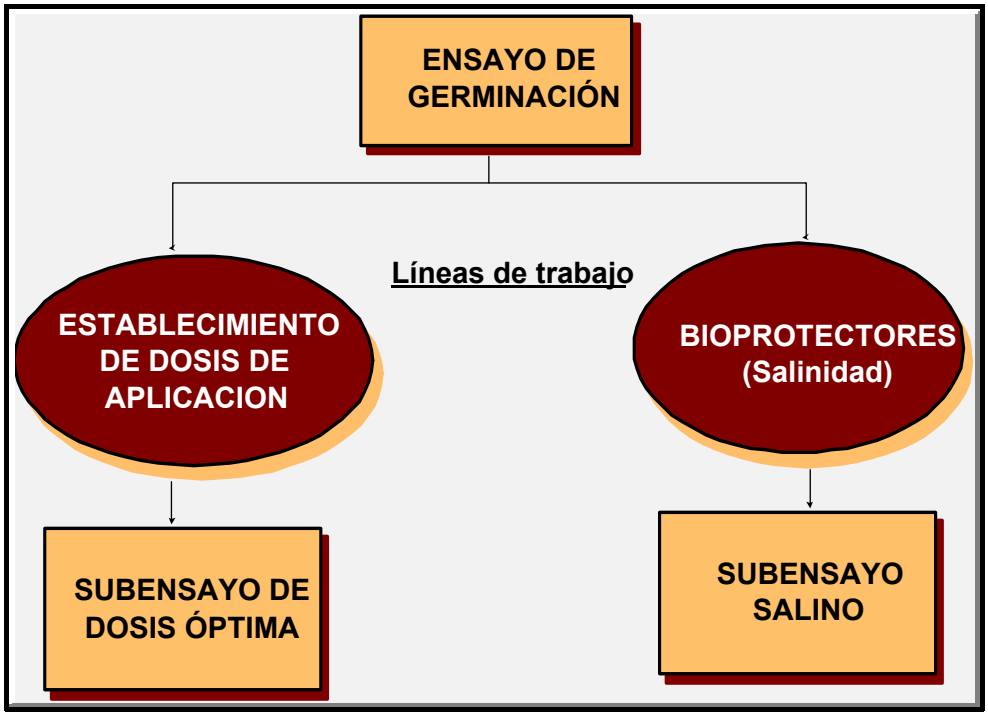


Figura III.6. Esquema de trabajo en el ensayo de germinación.

Dado que nuestro trabajo trataba de establecer el carácter bioestimulante de las sustancias húmicas comerciales, se diseñó este ensayo de germinación para poder cuantificar, de una manera sencilla, esta actividad fisiológica. La germinación es uno de los momentos fenológicos del desarrollo

de un cultivo, más sensibles a las variables ambientales que lo rodean (Marschner, 1986). Por consiguiente, la posibilidad de comprobar los efectos bioestimulantes de las sustancias húmicas comerciales en este estadío del crecimiento vegetal es muy alta.

Como ya se ha dicho, este ensayo estaba subdividido en dos partes. En el primero de los subensayos, enmarcado dentro de la primera línea de trabajo, se pretendía *determinar la dosis óptima de aplicación* de sustancias húmicas comerciales para la máxima mejora de la germinación y el desarrollo radicular primario, sin condiciones de estrés. Una vez calculadas las dosis óptimas, se realiza el segundo subensayo, perteneciente a la segunda línea de investigación, en la que se trataba de comprobar el posible *efecto bioprotector* de estos productos comerciales *frente a condiciones de estrés salino*.

Según algunos autores, las sustancias húmicas pueden actuar como mejoradores del desarrollo vegetal en condiciones de estrés (Chukov et al., 1996; Xudan, 1986). La elección del estrés salino responde a razones obvias, ya que es éste uno de los problemas más graves con los que se encuentra la agricultura de los países mediterráneos. Así mismo, se pensó en que fuera el proceso de germinación de semillas el indicativo de este efecto, por dos motivos ya mencionados: por un lado la rapidez y simplicidad y por otro su sensibilidad a las situaciones de estrés ambiental.

La germinación de las semillas de tomate se llevó a cabo en condiciones *in vitro*, tal y como se describe a continuación.

III.3.1.-Subensayo de dosificación.

La metodología empleada en esta experiencia corresponde a la descrita por Chukov et al. (1996), con algunas modificaciones, y que a su vez, está basada en el método descrito por Sergeyeva (1963). Se coloca, en placas Petri, disolución de agar-agar, previamente esterilizada en autoclave, se deja enfriar y se añaden las dosis correspondientes de sustancias húmicas, en cada caso. Una vez dispuesto el medio de cultivo, se siembran 25 semillas de tomate cv. Daniela por placa.

Las diferentes dosis empleadas en este subensayo son las siguientes: **0 (control); 0,001; 0,01; 0,05 y 0,1% (v/v)** de cada sustancia húmica. Cada tratamiento se ensayó por triplicado.

Las placas se distribuyen al azar en una estufa de cultivos *Raypa I-280*, en ausencia de luz y a 27 ºC. Transcurridas 48 horas se realiza un recuento del número de semillas que han germinado en cada placa. Este plazo es el necesario para que germinen un número significativo de semillas en las placas control (agar-agar sin sustancias húmicas), como se determinó previamente.

Como dosis óptima tomamos aquella en la que germinen un mayor número de semillas al cabo de las 48 horas. De esta manera, tendremos una dosis de máxima mejora de la capacidad de germinación en condiciones ideales.

III.3.2.-Subensayo salino.

Una vez conocida la dosis óptima de aplicación de cada una de las sustancias húmica comerciales utilizadas en el anterior subensayo, procedimos a testar el *efecto bioprotector* de estos materiales frente a

condiciones de estrés salino. Para ello se diseñó este apartado con la misma metodología experimental que el anterior, es decir, germinación de semillas de tomate cv. Daniela, en placa Petri, en condiciones *in vitro*.

En este caso, además del recuento de semillas germinadas a la 48 horas de la siembra, es decir, el porcentaje de germinación, se determinará un nuevo parámetro más significativo del efecto de las sustancias húmicas sobre la propia germinación y el desarrollo radicular primario. Esta variable se denomina *índice de germinación* (Pascual et al., 1997).

$$I_g = G \frac{L_m}{L_c}$$

Donde G es el porcentaje de semillas germinadas respecto del control, L_m es la longitud media de las raíces de las semillas germinadas en el tratamiento en cuestión, y L_c la longitud media de las raíces de las semillas germinadas en el control.

Tabla III.6. Tratamientos

Tratamiento	Descripción
Control	Agar puro
S1	Agar y NaCl hasta alcanzar una conductividad de 3 mS cm^{-1}
S2	Agar y NaCl hasta alcanzar una conductividad de 6 mS cm^{-1}
S1+H	Agar, NaCl hasta alcanzar una conductividad de 3 mS cm^{-1} y la dosis óptima de SH en cada caso.
S2+H	Agar, NaCl hasta alcanzar una conductividad de 6 mS cm^{-1} y la dosis óptima de SH en cada caso.

Se emplearon dos dosis salinas a base de NaCl (**CE 3 y 6 mS cm^{-1}**) basadas en los trabajos de Mizrahi et al. (1988) sobre la influencia de la salinidad en el cultivo del tomate, y una dosis de sustancias húmicas (la dosis óptima para cada caso). De este modo tendremos 5 tratamientos diferentes para cada sustancia húmica (Tabla III.6): ***Un testigo no salino, dos testigos salinos a las conductividades antes mencionadas y dos tratamientos salino-húmicos***.

III.4.-Cuarta experiencia. *Ensayo en cámara de cultivo*.

Como última experiencia de nuestro trabajo, se realizó el ensayo denominado *ensayo en cámara de cultivo*, enmarcado dentro de la línea de trabajo en la que se trataba de comprobar el efecto bioprotector de las sustancias húmicas comerciales sobre cultivos que crecen en medio salino. Los objetivos fundamentales de este último trabajo se centran en estudiar cómo afecta la aplicación foliar de las sustancias húmicas comerciales a los *mecanismos de adaptación* de un cultivo como el tomate cv. Daniela, que se desarrolla en condiciones de estrés salino.

Por ello, no se ha completado el ciclo total del cultivo, sino que tan sólo se desarrollaron las plantas durante algo más de un mes, con el fin de analizar las variables bioquímicas relacionadas con dichos mecanismos, así como el efecto sobre la nutrición del cultivo.

III.4.1.-Cámara de cultivo.

El ensayo se llevó a cabo en una cámara de cultivo fabricada en aluminio *Growbox* de *Hotbox Heaters Ltd.* de dimensiones internas 154 cm x 157 cm x 200 cm de altura, y externas de 190 cm x 168 cm x 221 cm de altura. La cámara se divide en dos mitades de igual capacidad. En cada una de ellas se sitúa un carro con lejas de hierro galvanizado. La superficie máxima que se puede alcanzar utilizando las lejas es de 22,5 m^2.

La cámara nos asegura el control exhaustivo de las variables ambientales de temperatura, humedad y fotoperiodo mediante los equipos correspondientes. La calefacción se controla a base de dos elementos de 0,5 kW más un termostato electrónico. La refrigeración, mediante un equipo de aire acondicionado de 2 kW. Además, para conseguir una temperatura

uniforme, está dotada de dos ventiladores de 25 W cada uno que proporcionan un movimiento constante de aire de 100 m^3/h. La humedad relativa tiene un control preciso desde 30% a un 95% mediante un humificador de 50 W. Por último, la luminosidad se asegura por 15 pantallas dobles de tubos de 1,5m y 58 W con temporizador (Figura III.7a y III.7b).

Figura III.7a. Detalle de la cámara de cultivo utilizada en el ensayo.

Esta cámara se situó en el módulo número tres del invernadero del Departamento de Agroquímica y Bioquímica de la Universidad de Alicante (Figura III.2).

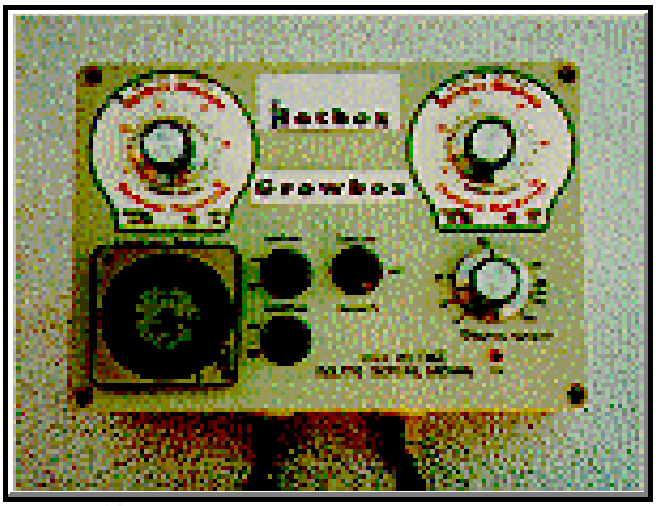


Figura III.7b. Detalle del panel de control de la cámara.

III.4.2.-Planteamiento experimental.

Esta experiencia se realizó en un cultivo sin suelo fertirrigado (sustrato: *arena de sílice* de granulometría media, diámetro 3-4 mm). El cultivo empleado fue tomate cv. Daniela, al que se aplicaron los diferentes tratamientos que se muestran en la Tabla III.7, correspondientes a: un control no salino, dos tratamientos salinos basados en los trabajos de Mizrahi et al. (1988), más los tratamientos salino-húmicos. Las sustancias húmicas empleadas representan a los tres orígenes ya empleados en la primera y tercera experiencia: *lignitos* (una muestra), *residuos vegetales* (dos muestras) *y turbas* (una muestra). La dosis de aplicación foliar es de **0,1%(v/v)** basada en los resultados de la segunda experiencia (ligeramente rebajada debido a que, en este caso, trabajamos con plantas más jóvenes). A dichas

disoluciones se le añadió un tensoactivo no iónico en dosis de 0,1% (v/v) (Eter nonilfenilpolietilenglicol 20%).

Se realizaron cinco aplicaciones de sustancias húmicas, con una periodicidad semanal, siendo la primera una semana después del transplante del semillero a los tiestos definitivos, y un día después del comienzo de los riegos salinos.

Tabla III.7. Descripción de los diferentes tratamientos.

Tratamientos	Descripción
Ctrl	Control no salino CE 2 mS cm^{-1}
S1	Nivel salino bajo CE 3 mS cm^{-1}
S2	Nivel salino alto CE 6 mS cm^{-1}
S1 + L7	Nivel salino bajo más SH de lignitos
S2 + L7	Nivel salino alto más SH de lignitos
S1 + RV1	Nivel salino bajo más SH de res. vegetales
S2 + RV1	Nivel salino alto más SH de res. vegetales
S1 + RV2	Nivel salino bajo más SH de res. vegetales
S2 + RV2	Nivel salino alto más SH de res. vegetales
S1 + T	Nivel salino bajo más SH de turba
S2 + T	Nivel salino alto más SH de turba

III.4.3.-Preparación del medio de cultivo.

El tratamiento del sustrato de cultivo fue el mismo que se describe en el apartado III.1.3. El transplante se realiza sobre tiestos de medio litro de capacidad aproximadamente, que se rellenan con la arena de sílice. A dichos tiestos se les acopló un depósito inferior con el fin de mantener la disolución nutritiva en contacto con el medio radicular. La renovación se realizaba cada

tres días, para mantener al máximo las condiciones de salinidad de los riegos.

III.4.4.-Disolución nutritiva.

Se empleó la misma disolución nutritiva que se muestra en la Tabla III.3. Dicha disolución se utilizó como riego de las plantas control (~ 2 mS cm^{-1}), y como base para los riegos salinos. Los niveles salinos (3 y 6 mS cm^{-1}) se consiguieron añadiendo, a esa disolución, NaCl en las cantidades precisas para alcanzar las conductividades de la disolución de riego antes mencionadas.

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

III.4.5.-Desarrollo experimental.

Las semillas de tomate cv. Daniela se hicieron germinar en semilleros rellenos de turba. Estos se regaron con agua de red y las plántulas se transplantaron al alcanzar una altura aproximada unos 10 cm a los tiestos definitivos, previo lavado de las raíces con agua para eliminar los restos de turba. La distribución de los tiestos con los tratamientos se realizó según bloques al azar por cuadruplicado.

El ensayo se prolongó durante seis semanas después del transplante.

III.4.6.-Toma de muestra.

A la finalización del ensayo se arrancaron las plantas y se guardaron las muestras foliares en congelador a -20ºC para las posteriores determinaciones analíticas.

III.4.7.-Determinaciones analíticas.

Los parámetros fisiológicos y nutricionales determinados fueron:

- Glucosa, fructosa y sacarosa foliar.
- Prolina foliar.
- Macro y micronutrientes foliares.

Las metodologías empleadas en cada caso, se encuentran en el *Apéndice I*.

IV.-RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Con anterioridad a la realización de las cuatro experiencias que componen este trabajo, se llevó a cabo una caracterización de las sustancias húmicas, determinando los parámetros que se muestran en las Tablas IV.1 a IV.4. Mediante estos análisis tratamos de obtener resultados de variables que sirvieran para caracterizar y agrupar las sustancias húmicas de un mismo origen y, al mismo tiempo, diferenciarlas de las de los otros orígenes. De esta manera también se podrían usar esos conjuntos de valores para determinar el origen de una sustancia húmica cuya procedencia fuera desconocida.

Tabla IV.1. Origen, pH, conductividad eléctrica, densidad y humedad de las sustancias húmicas empleadas en las diferentes experiencias.

Muestra	ORIGEN	pH	CE (dS/m)	Densidad (g/L)	Humedad (%)
L1	Lignitos	11	19,8	1,1	20,4
L2	Lignitos	12	41,7	1,14	23,2
L3	Lignitos	12	37,1	1,13	22,2
L4	Lignitos	13	51,6	1,11	21,1
L5	Lignitos	14	83,8	1,14	23,9
L6	Lignitos	14	55,1	1,1	20,4
L7	Lignitos	14	66,2	1,21	35,4
L8	Lignitos	9,4	24,9	1,21	14,3
L9	Lignitos	12	43	1,13	22,5
L10	Lignitos	13	44,5	1,14	24,2
RV1	R. vegetales	5,4	28,9	1,22	52,9
RV2	R. vegetales	4,8	28,5	1,2	47,2
RV3	R. vegetales	5,4	24,2	1,25	57,2
T	Turba	14	53,9	1,16	24,7

Como se puede ver en la Tabla IV.1, se han utilizado en los diferentes

ensayos, un total de 14 muestras de sustancias húmicas comerciales, de las cuales 10 son de origen *lignitos*, 3 proceden de *residuos vegetales* de origen industrial y 1 de *turba*. Como ya se ha dicho se trata de productos comerciales que se encuentran en el mercado como líquidos viscosos; de color negro, las procedentes de lignitos y turba, y de color marrón oscuro las procedentes de residuos vegetales.

Los porcentajes de humedad varían considerablemente entre unas muestras y otras, aunque en general, se puede decir que las sustancias húmicas comerciales procedentes de residuos vegetales contienen el doble de agua que las de lignitos y turba. En las muestra procedentes de residuos vegetales los niveles de humedad oscilan sobre el 50% en peso (máximo de 57,2% para RV3 y mínimo de 47,2% para RV2), mientras que en las de lignitos y turba están alrededor del 20-25% (con un mínimo de 14,3% para L8 y un máximo de 35,4% para L7). Sin embargo, los valores de la densidad no muestran diferencias claras entre un grupo y otro, estando en todos los casos entre 1,10 (L1 y L6) y 1,25 g/L (RV3).

Tanto el pH como la conductividad eléctrica se determinaron en las muestras originales. Se observa claramente como las sustancias húmicas de origen lignitos y turba tienen valores de pH fuertemente alcalinos (entre 9,4 para L8 y 14,0 para L7). Es decir, que en realidad se trata de humatos y fulvatos de sodio y potasio (Tabla IV.3). Estos elevados valores de pH se deben a la utilización de bases fuertes, NaOH y KOH fundamentalmente, en el proceso de extracción de dichos materiales a partir de los lignitos minerales o de las turbas, según el caso. Por otro lado las sustancias húmicas procedentes de residuos vegetales presentan valores de pH ácidos, entre 4,8 y 5,4, ya que para estos materiales no se emplea ningún proceso de extracción alcalina y provienen de residuos de carácter ácido.

Los valores de la conductividad eléctrica varían fuertemente de unas muestras a otras, aunque en general, son mayores para las sustancias

húmicas de lignitos y turba que para las de residuos vegetales. Se trata de valores, en conjunto, considerablemente altos. Pero debido a las altas diluciones con que se emplean dichos productos, no presentan ningún problema (Franco et al., 1998). La mayor variabilidad se produce dentro del grupo de sustancias húmicas procedentes de lignitos, donde L1 da el menor valor 19,8 dS/m y L5 el mayor 83,8 dS/m. En algunos casos, la alta conductividad eléctrica se debe a la adición de sales minerales al producto con el fin de aumentar su poder fertilizante, aunque en general los altos valores de este parámetro están provocados, como ya se ha comentado, por el empleo de extractantes alcalinos como KOH o NaOH (Ayuso, 1995). El único producto que declara estar enriquecido en elementos minerales en su etiqueta es L7, aunque en la Tablas IV.3 se pueden observar valores muy altos de P para L4 y RV3, que difieren ampliamente del resto, lo cual hace pensar en una adición de P al producto.

Los valores de extracto húmico total, porcentaje de ácidos húmicos y fúlvicos y la relación óptica E_4/E_6 se hallan en la Tabla IV.2.

En relación al extracto húmico (E.H.) total, cabe reseñar que varias de las muestras analizadas no llegan al mínimo del 15% establecido en la *Orden Ministerial de 28 de Mayo de 1998* (B.O.E., 2 junio 1998) para su comercialización como "*ácidos húmicos líquidos*". No hay grandes diferencias entre unas muestras y otras, aunque destaque L7 como valor más elevado (22,8%) y T como más bajo (10,3%).

A continuación emplearemos los términos "ácidos húmicos" y "ácidos fúlvicos" para referirnos a fracciones de los productos comerciales que no lo son estrictamente hablando, ya que contienen productos como carbohidratos, aminoácidos, péptidos, ácidos fenólicos, etc. (Franco et al., 1998). A pesar de ello, la definición teórica (Aiken et al., 1985) de ácidos húmicos, como sustancias extraídas con un álcali y precipitadas a pH 2 y la de ácidos fúlvicos como sustancias extraídas con un álcali y solubles en todo el rango de pH,

se ajusta a lo observado experimentalmente por lo que se ha decidido mantener estas denominaciones.

Tabla IV.2. Niveles de extracto húmico total, ácidos húmicos y fúlvicos y relación óptica E_4/E_6.

Muestra	% E.H. total	% AH	% AF	E_4/E_6
L1	16,2	14,3	1,8	5,07
L2	15,8	8,6	7,1	4,00
L3	16,9	14,9	1,9	5,08
L4	14,2	13,5	0,7	4,73
L5	14,8	13,8	1,0	5,16
L6	17,5	12,9	4,7	4,79
L7	22,8	20,7	2,1	4,30
L8	11,0	9,7	1,3	4,90
L9	16,6	12,9	3,7	4,12
L10	17,5	11,6	5,9	5,25
RV1	19,3	0,3	19,0	13,33
RV2	16,7	0,8	15,9	6,29
RV3	18,3	0,2	18,1	7,20
T	10,3	10,3	–*	3,06

* no detectado.

Los valores de porcentajes de ácidos húmicos y fúlvicos muestran que las sustancias húmicas procedentes de lignitos y turbas están formadas fundamentalmente por ácidos húmicos, presentando en la mayoría de los casos, niveles muy bajos de la fracción fúlvica. En el otro extremo están las sustancias húmicas de residuos vegetales formadas, casi exclusivamente, por ácidos fúlvicos, como ya hacía prever su bajo pH (Stevenson, 1994). En este grupo de sustancias húmicas los contenidos de ácidos húmicos no llegan al mínimo exigido por la *Ley* antes mencionada (7%) para su

comercialización como "*ácidos húmicos líquidos*", por ello se han de distribuir como "*enmienda fúlvica*" o "*ácidos fúlvicos*".

Estos resultados están de acuerdo con Franco et al. (1998) y Stevenson (1994), ya que si el material original es joven y poco humificado se obtendrán preferentemente fracciones fúlvicas con predominio de estructuras alifáticas que son muy activas fisiológicamente y en cuanto a su interacción con los micronutrientes, pero tienen un tiempo de residencia en el suelo muy corto, debido a su rápida biodegradación por microorganismos. En cambio, en los productos situados al otro extremo, procedentes de materiales muy evolucionados (lignitos y turbas), predominan ácidos húmicos con estructuras aromáticas altamente condensadas, de elevados pesos moleculares, y prácticamente sin presencia de sustancias no húmicas como proteínas y mucopolisacáridos.

La relación óptica E_4/E_6 sirve como índice de humificación, es decir, como medida de los tamaños y condensación moleculares. Según Stevenson (1994) valores de $E_4/E_6<5,0$ corresponden a ácidos húmicos, y entre 6,0 y 8,5 a ácidos fúlvicos. De esta manera, se puede decir que la relación E_4/E_6 desciende conforme aumenta el peso molecular y el grado de humificación del material correspondiente. Así, los materiales más evolucionados, y por tanto más condensados y con mayor carácter aromático, tendrán valores de esta relación óptica pequeños. Por otro lado, los productos "jóvenes" y con una alta tasa de componentes alifáticos presentarán valores de E_4/E_6 mayores. Este hecho se refleja en los resultados que muestra la Tabla IV.2, donde las sustancias húmicas procedentes de lignitos y turbas, con predominio de ácidos húmicos, tienen valores de E_4/E_6 entre 3,06 (T) y 5,25 (L10), mientras que las procedentes de residuos vegetales, donde la que predomina es la fracción fúlvica, estos valores oscilan entre 6,29 (RV2) y 13,33 (RV1).

Tabla IV.3. Macronutrientes referidos a materia fresca.

Muestra	N (%)	P (ppm)	K (%)	Na (%)	Ca (%)	Mg (%)
L1	0,19	58	3,3	0,05	0,30	0,10
L2	0,08	55	3,7	0,68	0,15	0,01
L3	0,12	69	4,5	0,33	0,19	0,01
L4	0,12	4.110	3,7	0,30	0,22	0,09
L5	0,17	25	3,5	0,04	0,23	0,06
L6	0,26	25	2,5	1,62	0,07	0,01
L7	0,45	153	4,2	0,71	0,38	0,15
L8	0,14	61	2,4	0,08	0,19	0,10
L9	0,10	82	3,7	0,60	0,10	0,03
L10	0,13	129	3,0	0,51	0,19	0,01
RV1	2,24	110	4,8	2,56	0,33	0,13
RV2	4,02	130	1,8	2,62	0,41	0,48
RV3	4,52	12.887	3,5	2,11	0,26	0,12
T	1,68	907	2,7	0,48	0,55	0,05

Las Tablas IV.3 y IV.4 muestran los resultados de los análisis de macro y micronutrientes realizados a la catorce muestras de sustancias húmicas. Comenzando por los macronutrientes, destacan los referentes al N. Se puede ver como las muestras de procedentes de residuos vegetales tienen contenidos mayores que las de turba y lignitos (Tabla IV.3). El proceso de humificación natural que sufren los lignitos y las turbas hace descender la concentración de N en su seno (Varanini et al., 1995), mientras que en las muestras más jóvenes esa concentración es mayor. En el caso concreto de la muestra T, es muy posible que ésta se encuentre enriquecida en N, ya que desprende un fuerte olor a amoníaco

En general, los contenidos de P de las sustancias húmicas

procedentes de lignitos son los menores, seguidos de los de las de residuos vegetales y de turbas (Tabla IV.3). Sin embargo, es evidente que las muestras L4, L7 (declarado en su etiqueta), RV3 y probablemente T, hayan sido enriquecidas con P, ya sea por haber empleado pirofosfato sódico en el proceso de extracción junto a las bases fuertes comúnmente empleadas o por adición posterior con el fin de aumentar su poder fertilizante.

Para los casos de K, Ca y Mg no aparecen diferencias dignas de mención entre los diferentes grupos de sustancias húmicas, salvo que en el Mg las concentraciones en las muestras de residuos vegetales son algo superiores a lignitos y turba. Los valores de estos tres elementos esenciales oscilan entre 4,8% (RV1) y 1,8% (RV2) para el K, entre 0,55% (T) y 0,07% (L6) para el Ca, y entre 0,48% (RV2) y 0,01% (L2, L3, L6 y L10) para el Mg (Tabla IV.3).

En cuanto al sodio, las sustancias húmicas procedentes de residuos vegetales tienen una mayor concentración de este elemento que las de lignitos y turbas (Tabla IV.3).

En relación a los contenidos de micronutrientes, vemos como la muestra L7 tiene unas concentraciones de micronutrientes superiores al resto, ya que se encuentra enriquecida en todos ellos (Tabla IV.4). Para Mn, Cu y B no existen rasgos comunes dentro de los grupos de diferente origen. Para el caso del Zn las sustancias húmicas procedentes de residuos vegetales tienen concentraciones algo superiores a las originarias de lignitos y turbas.

Por último los resultados de Fe indican valores inferiores en las muestras de turba y residuos vegetales respecto a las de lignitos, algunas de las cuales presentan concentraciones de este micronutriente muy elevadas (Tabla IV.4). Según García et al. (1993), pretratamientos ácidos de los lignitos incrementan significativamente los contenidos de Fe en las sustancias

húmicas extraídas. Dadas las diferencias existentes en los contenidos de este micronutriente dentro del grupo de productos comerciales procedentes de lignitos, no es descartable que en algún caso se pueda haber realizado dichos pretratamientos, más aún si se tiene en cuenta que éstos incrementan los rendimientos de la extracción.

Tabla IV.4. Micronutrientes referidos a materia fresca.

Muestra	Fe (ppm)	Mn (ppm)	Cu (ppm)	Zn (ppm)	B (ppm)
L1	686	29	10	17	85
L2	3430	3	19	11	95
L3	2252	2	13	11	83
L4	585	25	8	5	52
L5	1908	15	12	4	43
L6	191	5	8	2	39
L7	1900	385	341	702	225
L8	1072	24	4	8	15
L9	4534	3	7	12	18
L10	4289	3	7	10	13
RV1	294	24	12	27	74
RV2	68	10	2	24	20
RV3	335	25	4	23	12
T	898	7	5	10	27

Las sustancias húmicas en general (Dekock, 1955; Aso et al., 1963; Jalali et al., 1979; David et al., 1994) y las procedentes de lignitos en particular (Brownell et al., 1987) se muestran como eficaces correctores de la clorosis férrica, más por su capacidad de movilizar hierro del suelo formando quelatos, que por sus contenidos intrínsecos de este metal, ya que

las dosis en las que estos productos se aplican son demasiado bajas como

para que, el hierro presente en ellas, solucione la carencia.

Según los resultados enumerados anteriormente, podemos utilizar algunas variables analíticas, como el pH, la relación E_4/E_6, %AH o AF y los contenidos de ciertos nutrientes vegetales para establecer la procedencia de una muestra de sustancias húmicas de origen desconocido.

A continuación se muestran los resultados de los diferentes ensayos agronómicos realizados con las sustancias húmicas antes mencionadas, sobre tomate cv. Daniela, cultivo que cumple sobradamente los requisitos indicados en el apartado II.5.

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

IV.1.-Primera experiencia. Ensayo introductorio.

Al objeto de comparar los efectos de la aplicación de distintas sustancias húmicas comerciales de los diferentes orígenes presentes en el mercado se realizó este ensayo para tratar de realizar una primera aproximación. Por ello, se eligieron diferentes muestras representativas de los tres orígenes más habituales del mercado: *lignitos, residuos vegetales y turbas*. El cultivo empleado fue tomate cv. Daniela, al que se aplicó, vía foliar, las sustancias húmicas comerciales en dosis de **0,5%** (v/v), más un tratamiento testigo.

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

IV.1.1.-Crecimiento semanal.

Durante las cinco semanas siguientes al comienzo de los tratamientos se midieron las alturas de las plantas, determinando el crecimiento semanal de cada una de ellas (Tabla IV.5). Se puede observar que en la primera, cuarta y quinta semana, el análisis estadístico (Apéndice II) nos indica que no existen diferencias significativas entre los diferentes tratamientos. Sin embargo, en las semanas segunda y tercera sí aparecen algunas diferencias. Los valores de crecimiento en estas dos semanas son idénticos, siendo el más alto el del tratamiento L7 (sustancias húmicas procedentes de lignitos) y los menores los L4 (lignitos), RV2 y RV3 (residuos vegetales).

Si se comparan los resultados de crecimiento entre las cinco semanas registradas, se puede ver que en la segunda y tercera, es decir al comienzo de los tratamientos, se presentan, en términos generales, los valores más altos del mismo.

Tabla IV.5. Crecimiento (cm) de las plantas de tomate en las primeras cinco semanas tras comenzar los tratamientos.

Tratamiento	0	L4	L5	L7	RV1	RV2	RV3	T
Semana 1	25 a	0,42	26 a	0,42	0,46	0	26 a	0,33
Semana 2	33 ab	28 a	31 ab	36 b	30 ab	26 a	26 a	32 ab
Semana 3	33 ab	28 a	31 ab	36 b	30 ab	26 a	26 a	32 ab
Semana 4	0,46	0,38	0	0,46	0,46	25 a	0,46	25 a
Semana 5	28 a	27 a	0	0,33	0,21	0,33	0,25	0,25

En cuanto al aspecto visual del cultivo se observan pocas diferencias entre los distintos tratamientos. Cabe destacar cierto adelanto en la floración y el cuajado para los tratamientos L5 y RV2, aunque este ligero adelanto no se tradujo en una maduración más temprana de los frutos.

IV.1.2.-Desarrollo vegetal.

IV.1.2.1.-Altura planta.

Al finalizar el ciclo de cultivo se arrancaron las plantas para determinar los parámetros morfológicos de las mismas. El análisis estadístico (Apéndice II) nos indica que no existen diferencias significativas entre el testigo y los tratamientos con sustancias húmicas procedentes de lignitos y residuos vegetales, mientras que el tratamiento con sustancias húmicas procedentes de turba provoca un descenso en el crecimiento total (Figura IV.1).

Agrupando los tratamientos por orígenes podemos decir que, por aplicación foliar a la dosis de **0,5**% (v/v), las sustancias húmicas de turba reducen el crecimiento de las plantas de tomate, por contra, las procedentes

de lignitos y de residuos vegetales no ejercen efectos significativos sobre este parámetro.

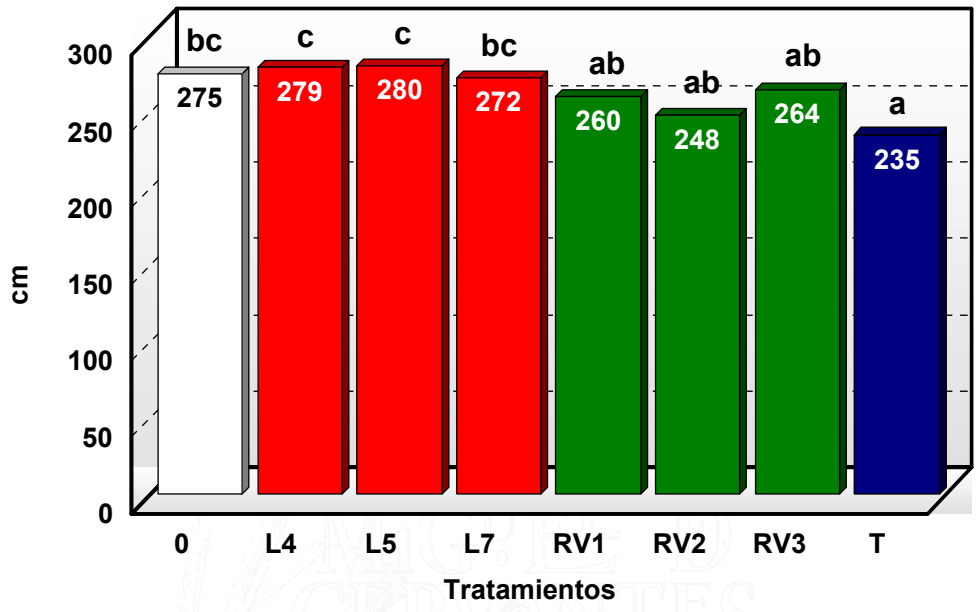


Figura IV.1. Altura final de las plantas (cm).

IV.1.2.2.-Biomasa. Tallos y ramas.

Los resultados de producción de materia vegetal fresca y seca (tallos) se pueden ver en las Figuras IV.2 y IV.3 y en el Apéndice II.

Se puede observar, particularmente para los datos de materia seca, como los tratamientos de sustancias húmicas procedentes de residuos vegetales y turba reducen la producción de biomasa, mientras que los de lignitos se mantienen al mismo nivel que el tratamiento testigo.

En este caso el tratamiento que causa una mayor producción de materia vegetal, como tallos y ramas, es el L7, seguido del L4. En el otro extremo están los tratamientos RV1 y T. Este último ya dio los valores más

bajos de crecimiento total (IV.1.2.1).

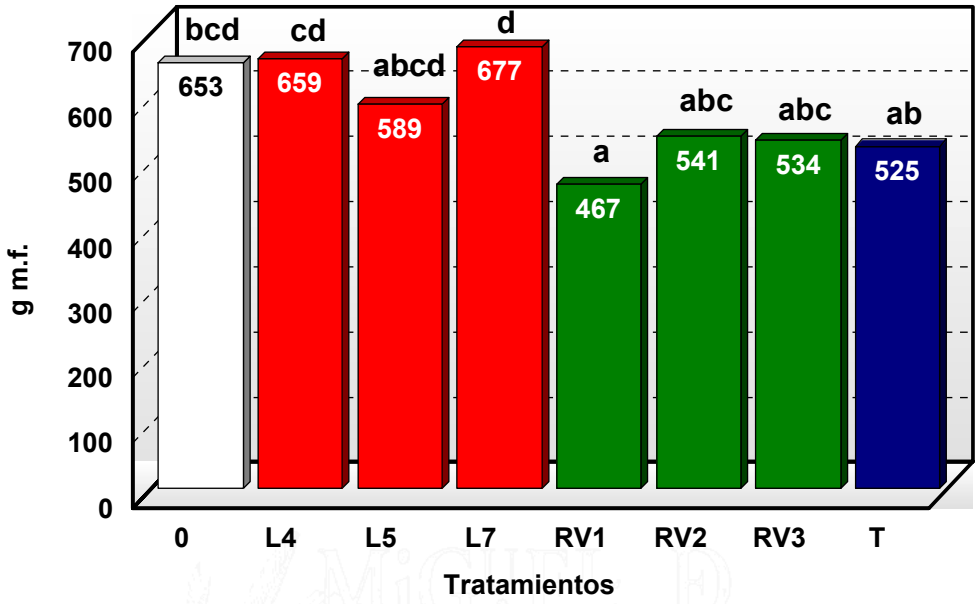


Figura IV.2. Producción de materia fresca (tallos) en g/planta.

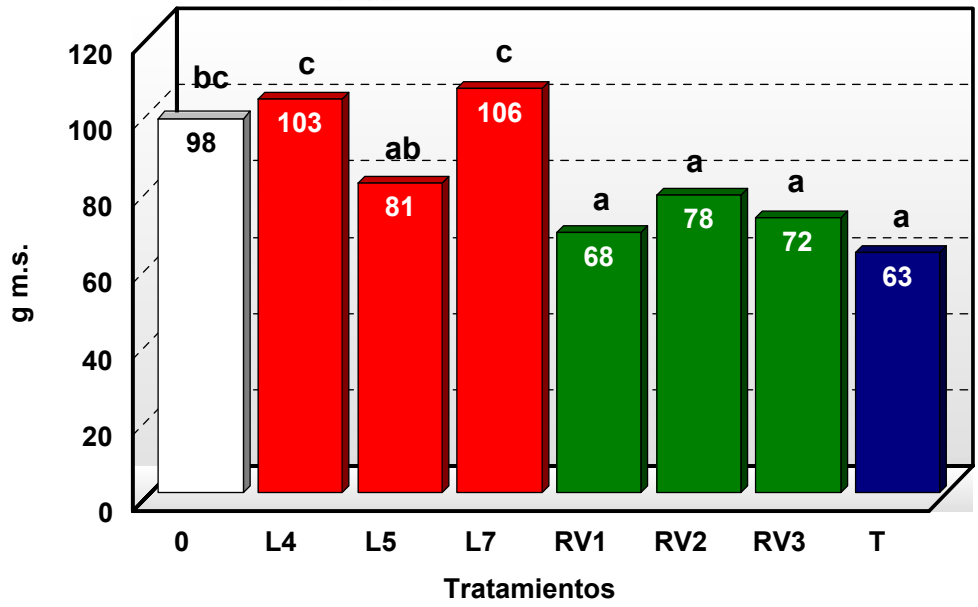


Figura IV.3. Producción de materia seca (tallos) en g/planta.

IV.1.2.3.-Biomasa. Hojas.

Por lo que se refiere a la influencia de los distintos tratamientos en la producción de biomasa foliar, los resultados se muestran en las figuras IV.4 y IV.5 y en el Apéndice II. El comportamiento de los resultados es prácticamente igual que el que pudimos comprobar en el caso de los tallos en el apartado anterior. De nuevo los valores más bajos corresponden a las plantas tratadas con RV1 y T, mientras que los más altos a las tratadas con L4 y L7, aunque estos dos últimos no son significativamente diferentes a las plantas testigo.

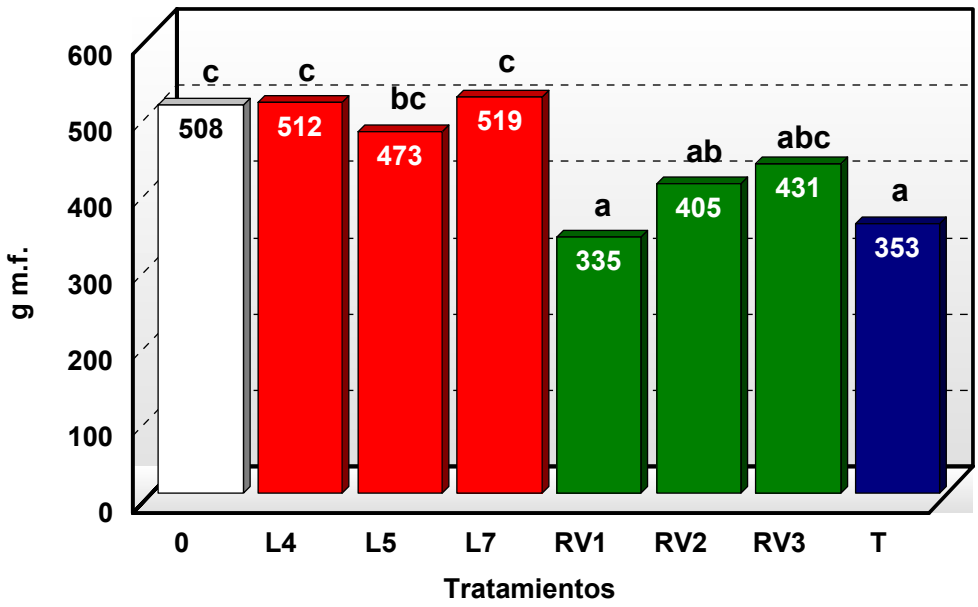


Figura IV.4. Producción de materia fresca (hojas) en g/planta.

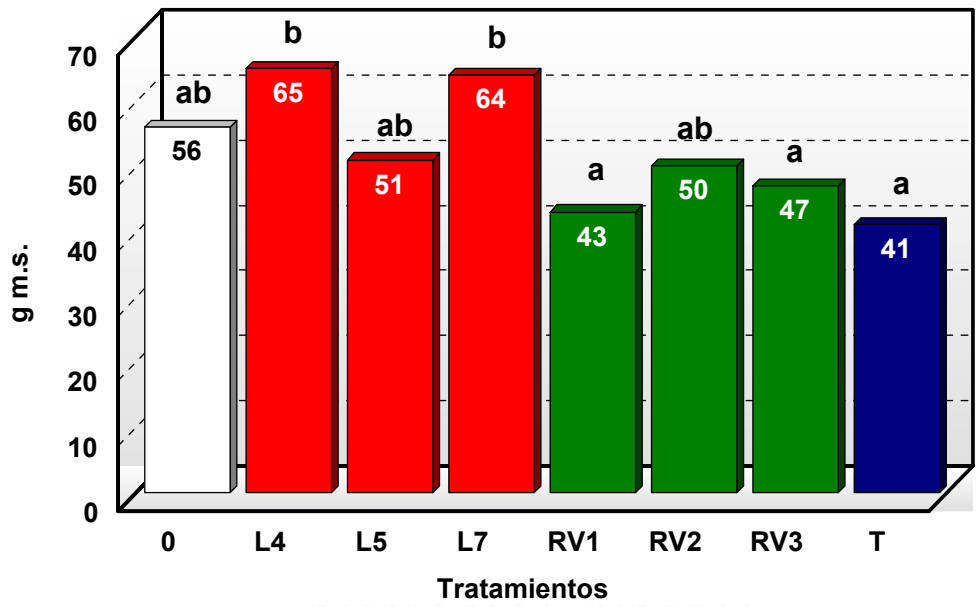


Figura IV.5. Producción de materia seca (hojas) en g/planta.

Igualmente, si agrupamos los datos por orígenes de las sustancias húmicas, vemos que el descenso más acusado corresponde a las plantas tratadas con sustancias húmicas procedentes de turba y de residuos vegetales, en tanto que las procedentes de lignitos se mantienen al mismo nivel que el testigo.

IV.1.2.4.-Biomasa. Raíces.

Al igual que en los dos casos anteriores el peso fresco y seco de las raíces siguen tendencias prácticamente iguales (Figuras IV.6 y IV.7 y Apéndice II). Ahora, los tratamientos que presentan los valores más bajos son RV2 y T, y los más altos L4 y L7, aunque sin diferencias significativas con respecto al tratamiento testigo para ninguno de ellos.

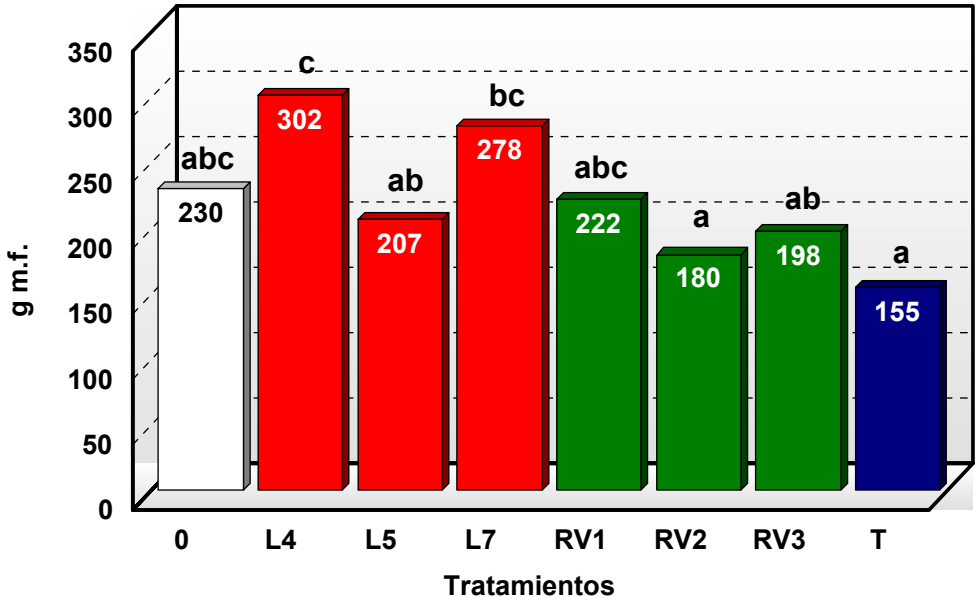


Figura IV.6. Producción de materia fresca (raíces) en g/planta.

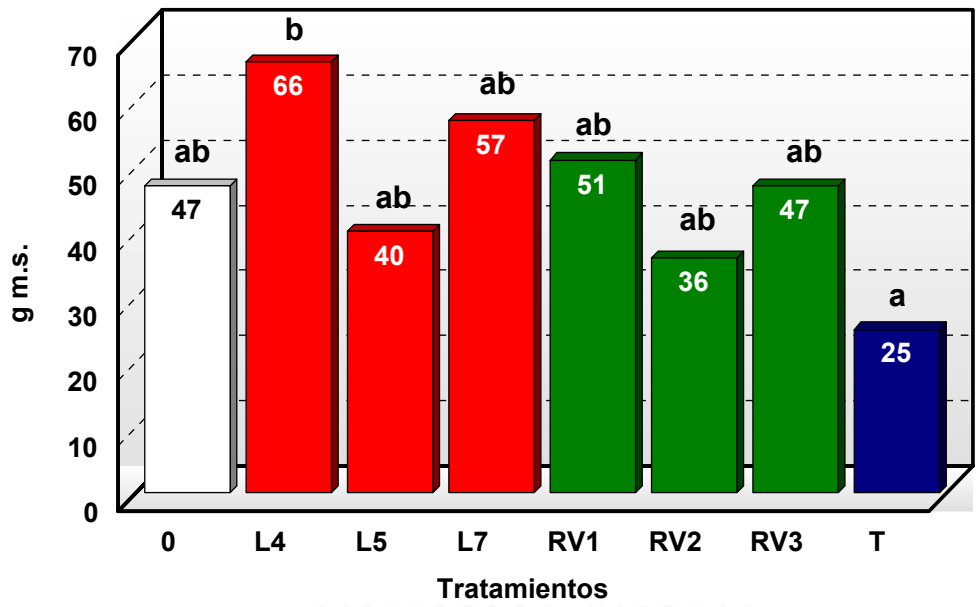


Figura IV.7. Producción de materia seca (raíces) en g/planta.

IV.1.2.5.-Biomasa. Total.

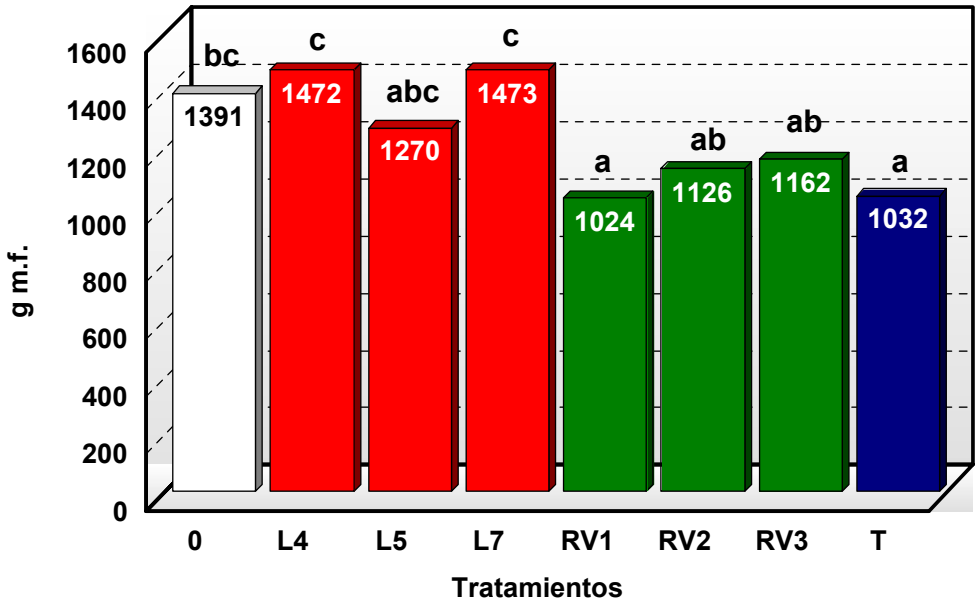


Figura IV.8. Producción de materia fresca total en g/planta.

Las Figuras IV.8 y IV.9 y el Apéndice II muestran los resultados de producción de material vegetal fresca y seca total. Las únicas diferencias significativas respecto al tratamiento testigo son las de los tratamientos RV1 y T, que son menores en producción de materia fresca y de T en el caso de materia seca.

Los resultados referentes a los parámetros de materia fresca y seca que se han registrado anteriormente (Figuras IV.2 a IV.9), para las plantas tratadas con sustancias húmicas procedentes de lignitos, se mantienen al mismo nivel que los de las plantas control. Por otro lado los valores de dichos parámetros para las plantas tratadas con sustancias húmicas procedentes de residuos vegetales y turba, en general, tienden a disminuir respecto a los valores del control, aunque en muchos casos este descenso no es significativo.

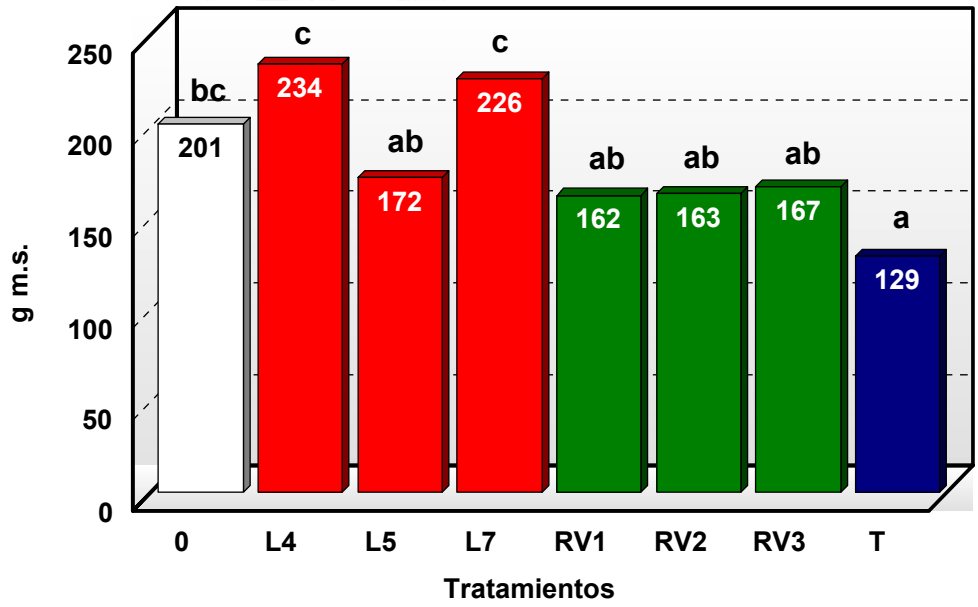


Figura IV.9. Producción de materia seca total en g/planta.

Este hecho parece indicar que la dosis de aplicación empleada en el presente ensayo (**0,5%** v/v) no es la adecuada. Recuérdese que dicha dosis se estableció en función de las recomendaciones de los diversos fabricantes. Esta dosis es bastante superior a las establecidas en la bibliografía, por lo que cabe pensar que se están aplicando sustancias húmicas en exceso, de manera que los resultados anteriores se encuentran en la "*zona de declive*" (Figura II.5, apartado II.2.2.3) mostrada por Rauthan et al. (1981).

Este efecto inhibitorio provocado por una dosis demasiado elevada de aplicación, es mayor para las sustancias húmicas procedentes de residuos vegetales y turbas que para las procedentes de lignitos, las cuales no varían los resultados respecto del control de manera apreciable. Es decir, en función del origen de las sustancias húmicas, los resultados observados hasta ahora se clasifican de la siguiente manera: en primer lugar las procedentes de lignitos, conformadas por un conjunto de materiales orgánicos con un proceso de humificación muy prolongado, de manera que presentarán tamaños moleculares y relaciones C/O mayores, y contenido de grupos funcionales y fracción fúlvica, menores que el resto de sustancias húmicas estudiadas. Estas características les confieren una gran estabilidad, pero hacen que los efectos de su aplicación foliar sean menores (Franco et al., 1998). Sin embargo, las sustancias húmicas procedentes de residuos vegetales, por sus características químicas (Tabla IV.2) son mucho más activas en su aplicación directa a la planta. Por ello, dado que la dosis empleada en este ensayo es muy alta, aparecen los efectos inhibitorios que ya se han mencionado.

Por último, las sustancias húmicas de turba se asemejan químicamente más a las de lignitos (Tabla IV.2), sin embargo sus resultados agronómicos son similares a los obtenidos con sustancias húmicas de residuos vegetales. Este hecho se repetirá en posteriores ensayos (*tercera y cuarta experiencia*), donde los resultados agronómicos de las sustancias

húmicas procedentes de turbas y residuos vegetales son también, semejantes entre sí, y a su vez, diferentes de los generados por las procedentes de lignitos. Por ello, los resultados inhibitorios respecto a la producción de biomasa, obtenidos aquí con las sustancias húmicas procedentes de turba no se pueden explicar en función de su mayor o menor estabilidad como materia orgánica, y deben estar causados por algún otro factor o componente de este producto, que no se refleja en la caracterización realizada previamente.

IV.1.3.-Parámetros fisiológicos.

Para testar el posible efecto de las sustancias húmicas vía foliar, sobre diversos parámetros fisiológicos del desarrollo vegetal se determinaron los contenidos de algunos de los pigmentos más significativos producidos por la planta: clorofila total, clorofilas *a* y *b* y carotenos.

IV.1.3.1.-Clorofilas.

Los resultados correspondientes a la determinación de clorofilas se pueden ver en la Tabla IV.6 y en el Apéndice II.

Las clorofilas son pigmentos fotosintéticos constituidos por cuatro anillos de naturaleza pirrólica unidos, que forman un macrociclo con diferentes sustituyentes laterales. Por medio de los átomos de N de los anillos pirrólicos, este compuesto forma un complejo con un catión Mg^{2+}, que se coloca en el centro, creando una estructura prácticamente plana. Los dos tipos principales de clorofila son: clorofila *a* y clorofila *b*, que se diferencian en el sustituyente de la posición tres del núcleo porfirínico. En el caso de la

clorofila *a* es un metilo y en el de la clorofila *b* un formilo. La clorofila *b* es un metabolito directo de la *a* (Barceló et al., 1992).

Tabla IV.6. Contenidos foliares de clorofila (mg/g m.f.) determinados al comienzo del periodo de fructificación.

Tratamiento	Clorofila total	Clorofila *a*	Clorofila *b*
0	2,29 a	1,71 a	0,58 abc
L4	2,19 a	1,63 a	0,56 ab
L5	2,25 a	1,66 a	0,59 abc
L7	2,36 a	1,68 a	0,68 bc
RV1	1,98 a	1,44 a	0,53 a
RV2	2,35 a	1,70 a	0,65 abc
RV3	2,20 a	1,53 a	0,66 abc
T	2,39 a	1,68 a	0,71 c

No se han observado durante todo el desarrollo del cultivo síntomas de clorosis, que nos hicieran pensar en un descenso de clorofilas respecto a los niveles adecuados.

Para los contenidos foliares de clorofila total y clorofila *a* no aparecen diferencias significativas entre los diferentes tratamientos, ni entre ellos y el control. En el caso de la clorofila *b* sí que hay algunas diferencias significativas entre varios tratamientos, siendo el valor más bajo el del tratamiento RV1, y los más altos los de L7 y T (aunque sin diferencias respecto al control). En este apartado no es posible agrupar los resultados obtenidos en función de los orígenes de las sustancias húmicas aplicadas, ya que no existe ningún rasgo de comportamiento común dentro de los distintos grupos.

Estos resultados contrastan con los reflejados en la bibliografía, los cuales muestran aumentos en la concentración de clorofila foliar por la aplicación de sustancias húmicas (Sladky, 1959; Albuzio et al., 1994). Probablemente, y como ya se comentó en el apartado anterior, las dosis de aplicación de sustancias húmicas utilizadas en este ensayo, se encuentran por encima del umbral de "*dosis óptima*", de manera que se está provocando un efecto inhibitorio que, reduce la respuesta positiva de la planta, en este caso la producción de clorofilas, a los tratamientos aplicados.

IV.1.3.2.-Carotenoides.

Otro de los indicativos fisiológicos que se analizaron, al comienzo del periodo de fructificación, fue el contenido foliar de carotenoides. Los carotenoides son pigmentos de naturaleza liposoluble de color amarillo o anaranjado. La planta de tomate produce pigmentos de este tipo, no sólo como componente de los fotosistemas, sino también para la coloración de sus frutos (Nuez, 1995). Los resultados de dicho análisis se pueden observar en la Figura IV.10 y en el Apéndice II.

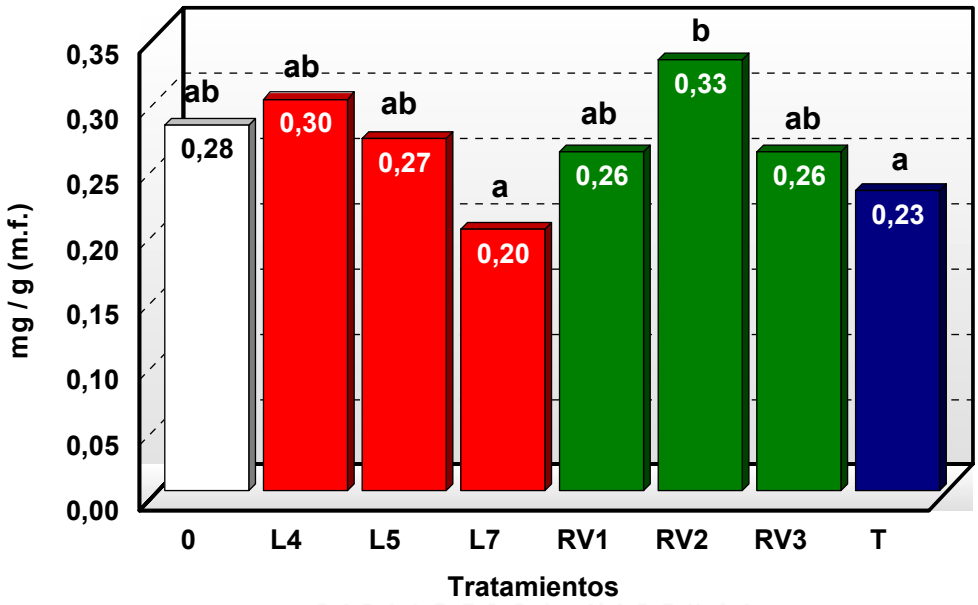


Figura IV.10. Niveles foliares de carotenoides en *mg/g de materia fresca*.

En la Figura IV.10 se puede comprobar como no existen diferencias significativas entre los diferentes tratamientos y el control, aunque sí dentro de los tratamientos húmicos. Así vemos como las aplicaciones foliares de los productos L7 y T provocan los niveles más bajos de carotenoides en hoja, mientras que el RV2 el más alto.

Igualmente se observa que no existe reproducibilidad de los resultados en los grupos de los tratamientos de un mismo origen, es decir, dentro de los de lignitos o de residuos vegetales. Para un mismo grupo de sustancias húmicas encontramos productos que aumentan y otros que disminuyen los contenidos de carotenoides foliares. Es decir, a la dosis de **0,5**% (v/v) empleada en esta experiencia, la influencia de las sustancias húmicas sobre los niveles de carotenoides en hoja no es clara, ya que mientras que en unos casos aumentan, en otros existe una disminución de la concentración de

dicho pigmento.

IV.1.4.-Frutos.

En lo que se refiere a los frutos de tomate, se determinaron, no sólo los valores relativos a los rendimientos productivos del cultivo, sino también a algunos parámetros concernientes a la calidad de los mismos, los cuales también podían servir de indicativos del papel de activador fisiológico de las sustancias húmicas comerciales.

IV.1.4.1.-Rendimientos.

Los resultados relativos a los rendimientos productivos y al calibre medio ecuatorial de los frutos se muestran en la Tabla IV.7 y el Apéndice II.

No existen diferencias significativas entre el tratamiento testigo y los tratamientos húmicos, salvo para el producto procedente de turba, en el cual se puede ver un descenso significativo de la producción. La sustancia húmica procedente de lignitos L5 es la que proporciona unos valores de producción más elevados, aunque de valor significativamente igual, al de todo el conjunto de tratamientos, excepto T que es menor.

En cuanto a los resultados del calibre medio de los frutos, vemos como sólo existen diferencias significativas entre el testigo y el tratamiento RV1, el cual hace descender el valor del calibre medio de los frutos.

Tabla IV.7. Rendimientos productivos en *kg/planta* y calibre medio ecuatorial de los frutos en *mm* de diámetro del fruto.

Tratamiento	Producción (kg/planta)	Calibre (mm)
0	3,06 b	64 b
L4	3,07 b	61 ab
L5	3,41 b	62 ab
L7	2,84 ab	63 ab
RV1	3,00 ab	59 a
RV2	2,75 ab	61ab
RV3	2,87 ab	62 ab
T	2,27 a	62 ab

De nuevo vemos como se manifiesta el hecho de que la dosis de aplicación en este ensayo es demasiado alta, lo que provoca valores negativos, en general, de la producción con respecto al tratamiento control. Este hecho es, si cabe, más visible en los tratamientos con sustancias húmicas procedentes de residuos vegetales y turbas, tal y como ocurría en los resultados de producción de biomasa vegetal (IV.1.2).

IV.1.4.2.-Parámetros de calidad de los frutos.

En este ensayo se han determinado algunos parámetros de calidad de los frutos, como pH, conductividad eléctrica, acidez valorable, sólidos solubles y vitamina C. Los cuatro primeros parecen relacionarse directamente con el buen sabor de los frutos (Mizrahi et al., 1985), mientras que el último de ellos hace referencia al valor nutritivo de los mismos.

IV.1.4.2.1.-pH.

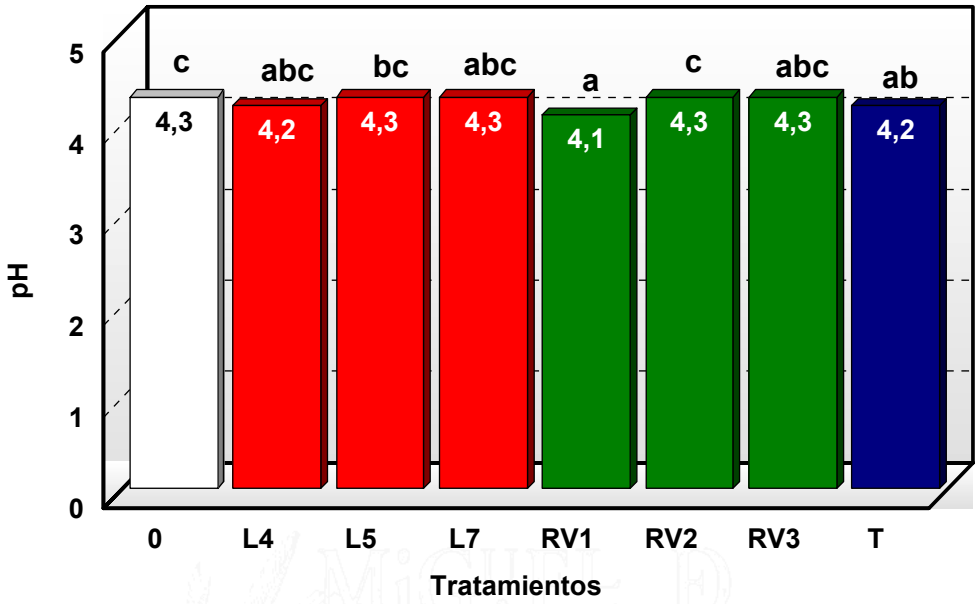


Figura IV.11. pH de los zumos.

Como se puede apreciar en la Figura IV.11 y en el Apéndice II, los valores de pH de los zumos son inferiores al valor umbral de 4,4; por encima del cual se reduce considerablemente su apreciación comercial (Martínez et al., 1987).

Los valores de pH de los frutos de plantas tratadas con sustancias húmicas de cualquiera de los orígenes son de la misma significación que el control, salvo RV1 y T que son menores. Dentro de los grupos de sustancias húmicas del mismo origen no se observa reproducibilidad de los resultados en el caso de las procedentes de residuos vegetales, donde se encuentran el valor más alto (RV2) junto con el testigo, y el valor más bajo (RV1). Sin embargo en el grupo de sustancias húmicas procedentes de lignitos, sí existe cierta reproducibilidad de los resultados, que son significativamente iguales entre sí, aunque también al tratamiento control.

IV.1.4.2.2.-Conductividad eléctrica.

En la Figura IV.12, así como en el Apéndice II se encuentran los valores de la conductividad eléctrica de los zumos de tomates procedentes de los diferentes tratamientos.

Destaca el aumento de conductividad eléctrica, producido por el tratamiento RV1, de sustancias húmicas de residuos vegetales. Este es el único valor significativamente superior al testigo.

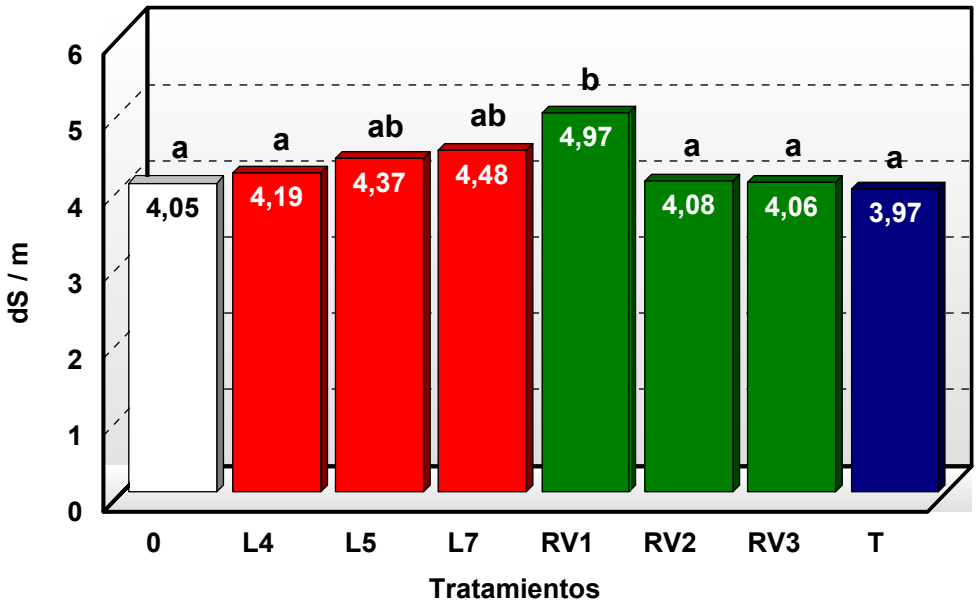


Figura IV.12. Conductividad eléctrica de los zumos.

En cuanto a la agrupación de los resultados en función del origen de la sustancia húmica empleada, se observa el mismo efecto que con el pH. Por un lado, los valores de conductividad eléctrica de los zumos de frutos de plantas tratadas con sustancias húmicas procedentes de lignitos son significativamente iguales entre sí y con el testigo. Por otro lado, en los de

sustancias húmicas procedentes de residuos vegetales destaca el alto valor de RV1 respecto a las otras dos. Por último, el tratamiento procedente de turba T, aunque genera el valor más bajo de conductividad, éste es de la misma significación que el control.

IV.1.4.2.3.- Acidez valorable.

La acidez valorable de los frutos (Figura IV.13 y Apéndice II) vuelve a mostrar al tratamiento RV1 como al que más aumenta dicho parámetro, destacando no sólo frente al testigo, sino también frente a los otros tratamientos del mismo origen (residuos vegetales) cuyos valores son significativamente iguales al tratamiento testigo.

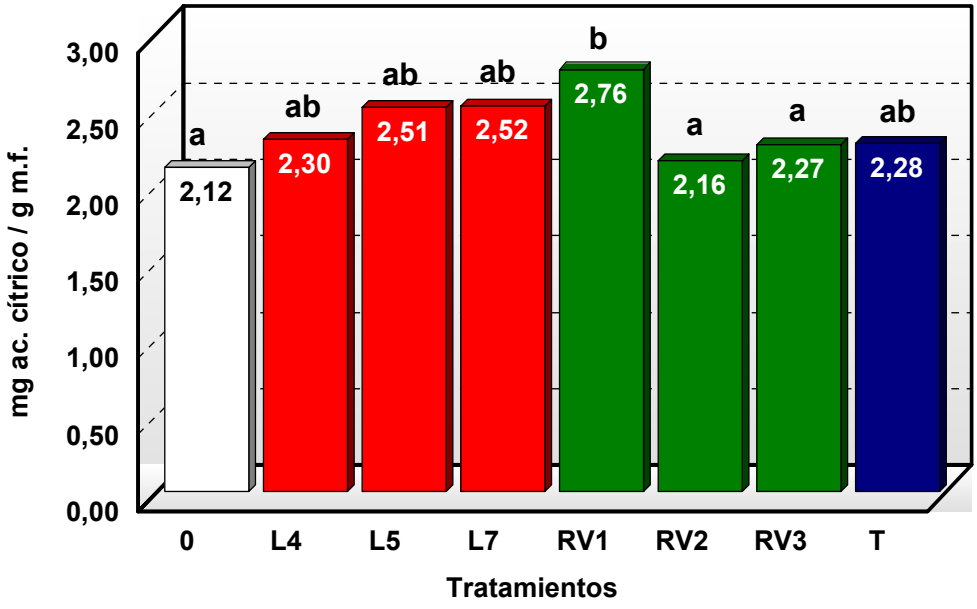


Figura IV.13. Acidez valorable de los zumos en *mg ac cítrico / g materia fresca*.

En todos los casos, los resultados de acidez valorable de los diferentes tratamientos húmicos son superiores al testigo aunque, los valores de los frutos de plantas tratadas con sustancias húmicas procedentes de lignitos son significativamente iguales entre sí, y también iguales al control. El valor de los frutos de plantas del tratamiento T no muestra diferencias significativas, ni con el testigo, ni con el resto de tratamientos.

IV.1.4.2.4.-Sólidos solubles.

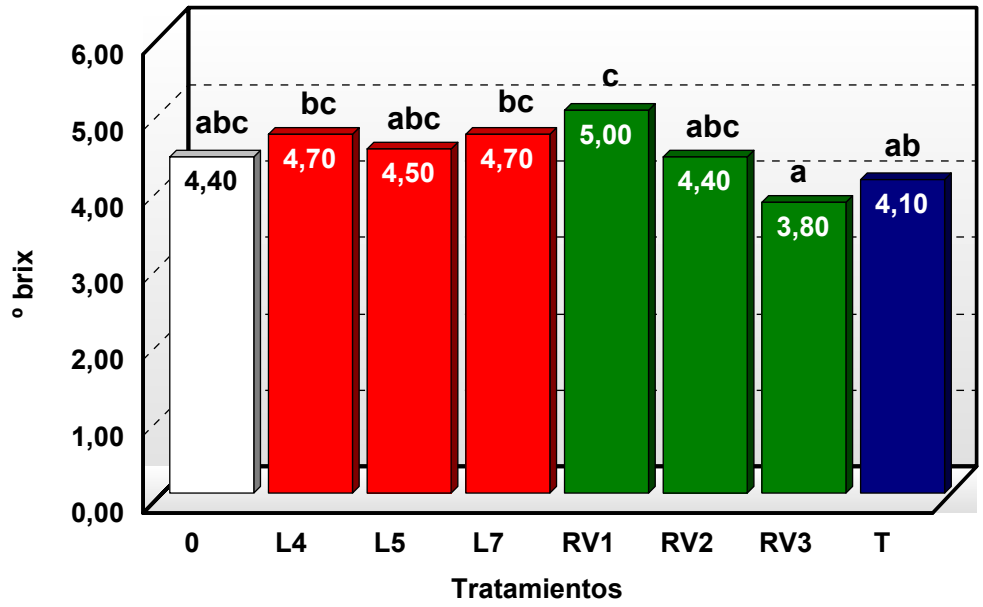


Figura IV.14. Sólidos solubles en los frutos expresados como *ºBrix*.

Observando los resultados de la Figura IV.14 y del Apéndice II se comprueba como el tratamiento RV1 es el que produce un mayor aumento de la cantidad de sólidos solubles, expresados en grados Brix. Aún así, dicho aumento no es estadísticamente significativo con respecto al resultado de los frutos de las plantas del tratamiento testigo. Los valores más bajos, aunque estadísticamente iguales al testigo, son los correspondientes a los

tratamientos RV3 y T. Es decir, los resultados no son reproducibles dentro del grupo de tratamientos correspondientes a las sustancias húmicas procedentes de residuos vegetales, ya que en éste se encuentra el valor más alto y el más bajo de sólidos solubles en fruto. Para las sustancias húmicas procedentes de lignitos, los resultados sí muestran reproducibilidad, aunque no son diferentes al testigo.

IV.1.4.2.5.-Vitamina C.

Como último parámetro de calidad de los frutos determinado en esta experiencia está el contenido de vitamina C. La vitamina C o ácido ascórbico es una γ-lactona que es sintetizada por las plantas y por la mayoría de los animales. Esta vitamina se encuentra en cantidades importantes en el tomate, así como en otras hortalizas y cítricos. Los valores obtenidos se encuentran entre los proporcionados como referencia (*25 mg/100g*) por Serrano (1985) y los que reflejan López-Andreu et al. (1990) (*12-15 mg/100g*).

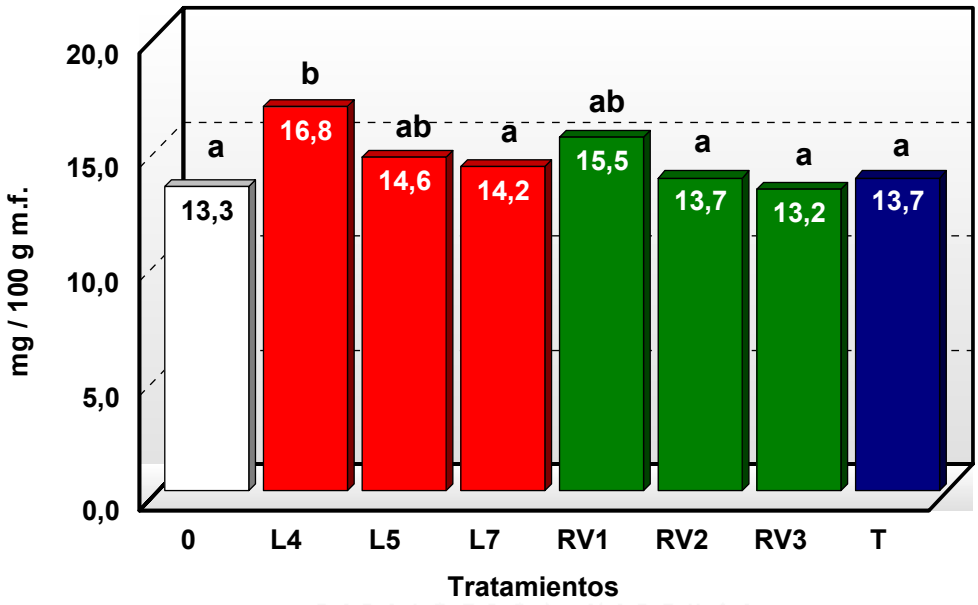


Figura IV.15. Contenidos de vitamina C en frutos en *mg/100g m.f.*

Como se puede ver en la Figura IV.15 y en el Apéndice II, es el tratamiento L4, procedente de lignitos, el que provoca incrementos significativos en los contenidos de vitamina C en los frutos. Aunque es de la misma significación que el control, cabe destacar el alto valor correspondiente al tratamiento RV1, ya que éste ha sido el que ha proporcionado los resultados más relevantes en los anteriores parámetros de calidad determinados.

Los resultados de producción y calidad de frutos indican que la dosis de aplicación foliar empleada en este ensayo, y que se estableció en función de criterios comerciales, es demasiado elevada y produce un efecto negativo sobre los rendimientos productivos. Este hecho se manifiesta de manera más clara para las plantas tratadas con sustancias húmicas procedentes de residuos vegetales y turba (tal y como ocurría con los resultados de

producción de biomasa).

En cuanto a los parámetros de calidad de los frutos no aparecen efectos significativos en ningún sentido, salvo con el tratamiento RV1 (sustancias húmicas procedentes de residuos vegetales), el cual aumenta la conductividad eléctrica, acidez valorable y vitamina C de los frutos, mejorando tanto las características de sabor como el valor nutricional de los mismos. En relación a la vitamina C también destaca el tratamiento L4 (sustancias húmicas procedentes de lignitos) que causa el mayor incremento de este parámetro en los frutos.

IV.1.5.-Parámetros nutricionales.

IV.1.5.1.-Macronutrientes.

En la Tabla IV.8 y en el Apéndice II se pueden ver los resultados del análisis foliar del cultivo por lo que se refiere a macronutrientes. Estas determinaciones se realizaron en la etapa final del cultivo, y para este momento, los valores se encuentran entre de los intervalos de normalidad de Cadahía et al. (1988), Bergmann (1992) y Bennet (1993), salvo P y K que están algo por debajo.

Para el N, K y Mg no existen diferencias significativas entre los diferentes tratamientos, ni entre estos y el testigo.

Tabla IV.8. Niveles foliares de macronutrientes expresados en % sobre materia seca.

Tratam.	N	P	K	Ca	Mg
0	2,5 a	0,17 abc	2,4 a	4,3 ab	0,82 a
L4	2,4 a	0,14 ab	2,3 a	3,0 a	0,91 a
L5	2,6 a	0,13 a	2,1 a	5,2 d	0,99 a
L7	2,6 a	0,14 a	2,4 a	4,4 bc	0,95 a
RV1	2,8 a	0,11 a	2,2 a	4,8 bcd	0,99 a
RV2	2,5 a	0,12 a	2,3 a	5,1 cd	0,91 a
RV3	2,8 a	0.23 c	2,4 a	4,9 bcd	0,89 a
T	2,8 a	0,20 bc	2,3 a	4,7 bcd	0,88 a

En el caso del Ca, vemos como los tratamientos L5 y RV2 aumentan significativamente los niveles foliares de dicho macronutriente. El resto de tratamientos proporcionan valores estadísticamente iguales al del tratamiento testigo, aunque cabe destacar el descenso provocado por el tratamiento L4, así como el hecho de que las tres sustancias húmicas procedentes de residuos vegetales den resultados sensiblemente superiores al testigo, a pesar de que éstos no sean significativos. Los incrementos de los niveles foliares de Ca encontrados son de suma importancia por su papel en la prevención de la aparición de la podredumbre apical de los frutos (Ward, 1973; El-Gizawy et al., 1986). Este fenómeno se pudo observar en algunos de los últimos frutos de las plantas correspondientes al tratamiento 0 y L4, cuyos contenidos foliares de Ca son los menores de todos los tratamientos.

Los resultados del P indican que no existen diferencias entre los tratamientos húmicos y el testigo. Sin embargo, los tratamientos RV3 y T, procedentes respectivamente de residuos vegetales y turba, producen cierto aumento en los niveles foliares de P; como se verá a continuación esta

tendencia se repetirá en el caso del Mo.

Por último, los resultados más importantes de este apartado corresponden al Na. Este elemento es absorbido por las plantas (Marschner, 1986), siendo uno de los principales responsables de los daños producidos por la salinidad de aguas y suelos agrícolas de mala calidad. Su entrada en la planta produce, además de desajustes osmóticos y perturbaciones en el balance de agua, efectos tóxicos específicos como el agotamiento de la energía requerida para el metabolismo (Poljakoff, 1994).

Observando la Figura IV.16, vemos como dos de los tres tratamientos procedentes de residuos vegetales (RV2 y RV3) así como el procedente de turba (T) disminuyen el contenido foliar de sodio. Los tratamientos RV1 y L4 aunque también provocan descensos importantes en este parámetro, no son significativamente menores al testigo. De esta manera podemos decir que los tratamientos foliares con sustancias húmicas procedentes de residuos vegetales o turbas hacen descender los niveles foliares de sodio, mientras que los tratamientos con sustancias húmicas procedentes de lignitos no muestran ese efecto. Estos resultados ya fueron observados por Cuesta et al. (1994) en un cultivo de uva de mesa en la provincia de Alicante, al aplicar vía suelo, sustancias húmicas comerciales procedentes de residuos vegetales, concretamente la muestra RV2.

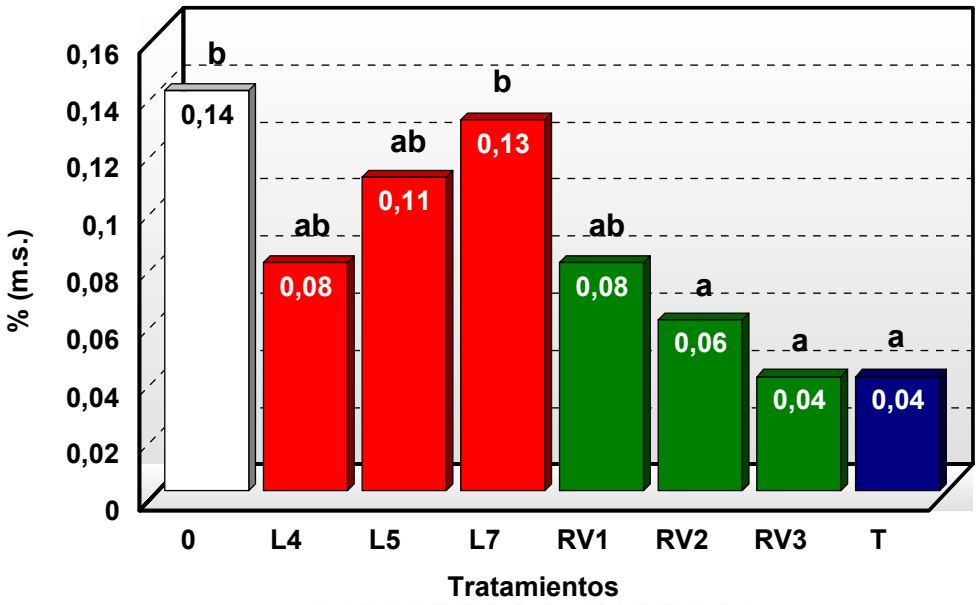


Figura IV.16. Niveles foliares de sodio (*% sobre materia seca*).

De acuerdo con, Slesak et al. (1988) y Varanini et al (1993), las sustancias húmicas estimulan las actividades ATPasa (actuando como aporte de energía en la respiración celular), y por consiguiente aumentan la permeabilidad de las membranas plasmáticas. De este modo se consigue aumentar la, ya de por sí natural, tendencia de exclusión del Na del medio celular (Marschner, 1986), ya que es, a través de este enzima de membrana, como la planta expulsa este elemento del medio intracelular. Si además, tenemos en cuenta, que para algunas especies vegetales como el tomate (Maas et al., 1977), el transporte de Na hacia la raíz está favorecido, restringiéndose el transporte hacia la parte aérea (Marschner, 1986), a través de varios mecanismos de selectividad en las células parenquimáticas de la raíz (Kramer et al., 1977) y de reabsorción en el floema (Guardiola et al., 1990), podremos entender los descensos en la concentración foliar de Na.

Esta inhibición de la absorción de sodio por la planta, causada por las

sustancias húmicas podría indicar cierto efecto bioprotector de dichos materiales sobre cultivos que crecen en medio salino. Pero obviamente, en este punto no es posible hacer esa afirmación de manera rotunda. Por ello en las experiencias tercera y cuarta tratamos de testar este posible papel bioprotector de las sustancias húmicas.

IV.1.5.2.-Micronutrientes.

Los resultados del análisis foliar para los micronutrientes (Tabla IV.9 y Apéndice II) indican que no existen diferencias significativas para Fe y Cu. Todos los niveles se encuentran dentro de los intervalos de normalidad dados por Cadahía et al. (1988), con la excepción del Mn y Mo, cuyos valores están algo por encima y por debajo de dichos intervalos respectivamente.

En el caso del Zn, únicamente el tratamiento L5 aumenta los niveles foliares de este micronutriente con respecto al testigo, mientras que para el caso del Mn es el tratamiento procedente de turba el que causa el mayor aumento respecto al testigo.

Los niveles foliares de B no presentan diferencias significativas con respecto al testigo, aunque se observa que los tratamientos RV2, RV3 y T diminuyen relativamente los contenidos de dicho micronutriente.

Al observar los resultados correspondientes al Mo, se comprueba que presentan la misma tendencia que el P. En los dos casos, los tratamientos que proporcionan unos mayores niveles de nutriente en hoja son RV3 y T. Comparando con los valores de N, se verá que estos dos tratamientos son también, los que dan los resultados más altos. Estos tres elementos esenciales tienen en común que son absorbidos por la planta en forma aniónica (fosfatos, molibdatos y nitratos fundamentalmente). Este estímulo en la absorción de estos nutrientes puede estar relacionado con

determinados efectos fisiológicos de las sustancias húmicas que favorecen la absorción de algunos nutrientes (Gaur, 1964; Vaughan et al., 1971; 1976; Sánchez-Conde et al., 1968; Rauthan et al., 1981).

Tabla IV.9. Contenidos foliares de micronutrientes expresados en ppm sobre materia seca. (Mo expresado en ppb).

Tratam.	Fe	Mn	Cu	Zn	B	Mo
0	195 a	610 ab	0,1	0,3	30 ab	166 abc
L4	161 a	390 a	0,2	0,3	32 b	142 ab
L5	216 a	450 ab	0,1	27 b	32 b	128 a
L7	168 a	400 a	0,1	0,3	32 b	138 a
RV1	167 a	413 a	0,2	0,3	30 ab	113 a
RV2	168 a	497 ab	0	0,3	25 ab	117 a
RV3	181 a	537 ab	0,1	0,3	0,46	226 c
T	179 a	660 b	0,2	0,3	0	202 bc

Los resultados referentes a los micronutrientes, y en concreto al Fe, contrastan con los citados en la bibliografía. Existen numerosas referencias, ya citadas en la introducción (II.2.2.5) que muestran incrementos en la absorción de micronutrientes, particularmente de Fe, por la aplicación de sustancias húmicas al medio radicular. Estas diferencias pueden ser debidas, bien a que la vía foliar no es la técnica adecuada para estimular la absorción de micronutrientes, o bien a que la dosis, establecida en base a *criterios comerciales* es demasiado elevada, tal y como ya se indicó en el apartado IV.1.2.5 al hablar de producción de materia vegetal. Para discernir entre estas dos posibilidades se diseñó la siguiente experiencia en la que se probaron varias dosis, establecidas en base a la bibliografía consultada (Lee et al., 1976; Chukov et al., 1996; Csicsor et al., 1994; Dell'Amico et al., 1994), y

siempre por debajo de la anterior *dosis comercial*.

BIBLIOTECA VIRTUAL
MIGUEL DE CERVANTES

IV.2.-Segunda experiencia. Ensayo dosis.

A la luz de los resultados obtenidos en el ensayo anterior se plantea este nuevo trabajo para tratar de establecer cuál es la dosis adecuada de aplicación foliar de sustancias húmicas comerciales. Se eligió uno de los productos procedentes de lignitos por ser el origen más representado en el total de las muestras recibidas.

Las dosis de aplicación foliar de este ensayo se establecen en base a la bibliografía consultada (Lee et al., 1976; Chukov et al., 1996; Csicsor et al., 1994; Dell'Amico et al., 1994) y se pueden observar en la Tabla III.5.

IV.2.1.-Desarrollo vegetal.

IV.2.1.1.-Altura plantas.

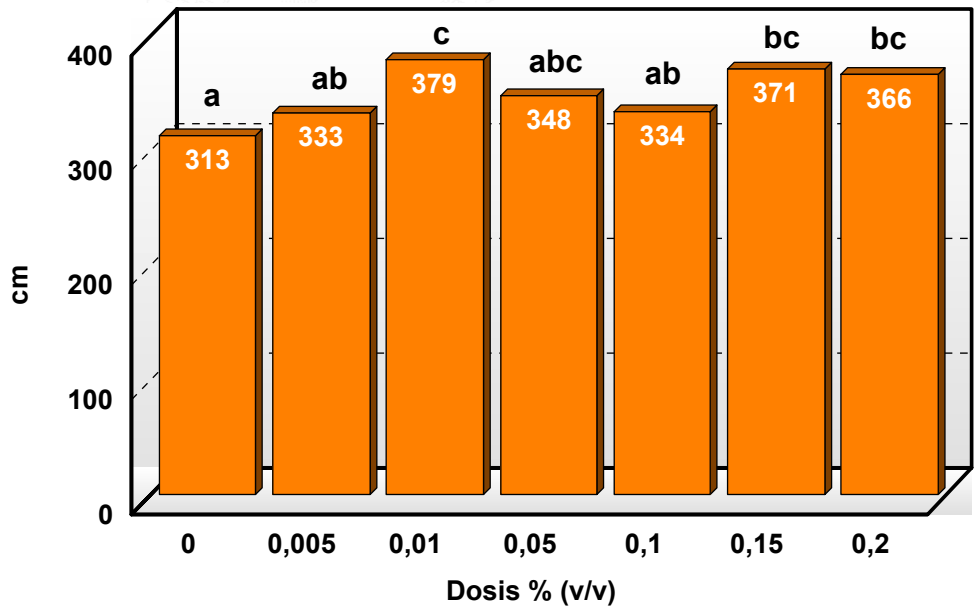


Figura IV.17. Altura final de las plantas (cm).

Los resultados de la altura total de las plantas se pueden observar en la Figura IV.17 y en el Apéndice III. En ellos se comprueba que todos los tratamientos con sustancias húmicas aumentan el valor del crecimiento de las plantas respecto al control, si bien este incremento es significativo a las dosis de **0,01**; **0,15** y **0,2**% (v/v). Es decir, se percibe un efecto positivo a dosis bajas y otro a dosis altas de aplicación. Con el intervalo de concentraciones de sustancias húmicas empleadas en esta experiencia, no se ha observado el efecto inhibitorio causado por dosis de aplicación demasiado elevadas (II.2.2.3), ya visto por Dell'Agnola et al. (1971), Rauthan et al. (1981), y que se ha podido comprobar en el anterior ensayo.

Dicho efecto de "*dosis óptima*" parece observarse centrado alrededor de la concentración de **0,01**%, ya que, a las dosis posteriores, el crecimiento total se ajusta a valores significativamente iguales al control. Aunque, de nuevo, a las concentraciones de **0,15** y **0,2**% la altura de las plantas aumenta, alcanzando valores significativamente superiores al control.

IV.2.1.2.-Biomasa. Tallos y ramas.

Los valores de producción de materia vegetal fresca y seca que se muestran en las Figuras IV.18 y IV.19 y en el Apéndice III, presentan resultados similares a los reflejados en la Figura IV.17 para la altura total de las plantas.

En ambos casos, todas las dosis de sustancias húmicas aplicadas foliarmente provocan aumentos en la producción de materia vegetal fresca y seca, siendo esos aumentos significativos, respecto al control, para las dosis **0,005**; **0,01** y **0,15**%.

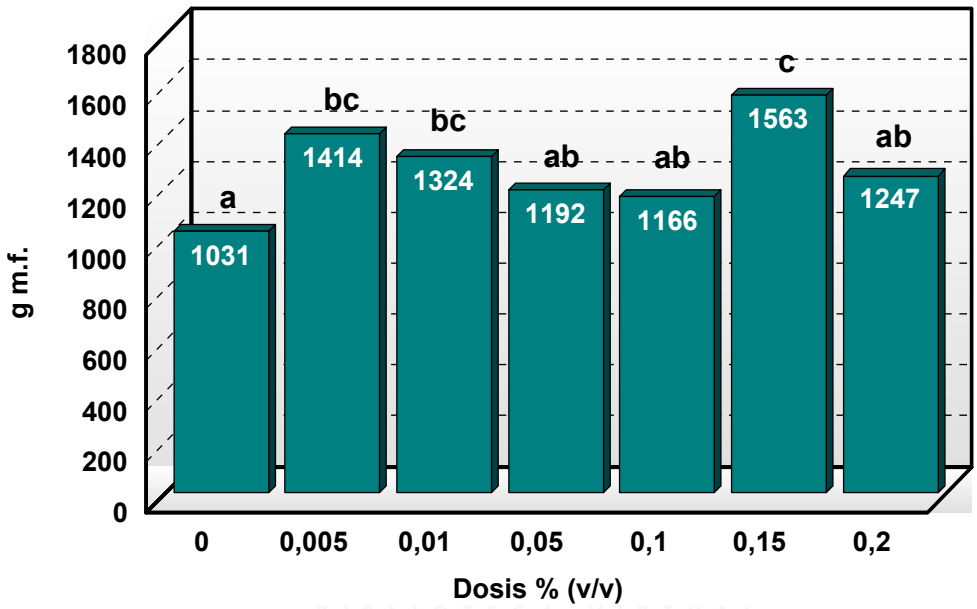


Figura IV.18. Producción de materia fresca (tallos y ramas) en g/planta.

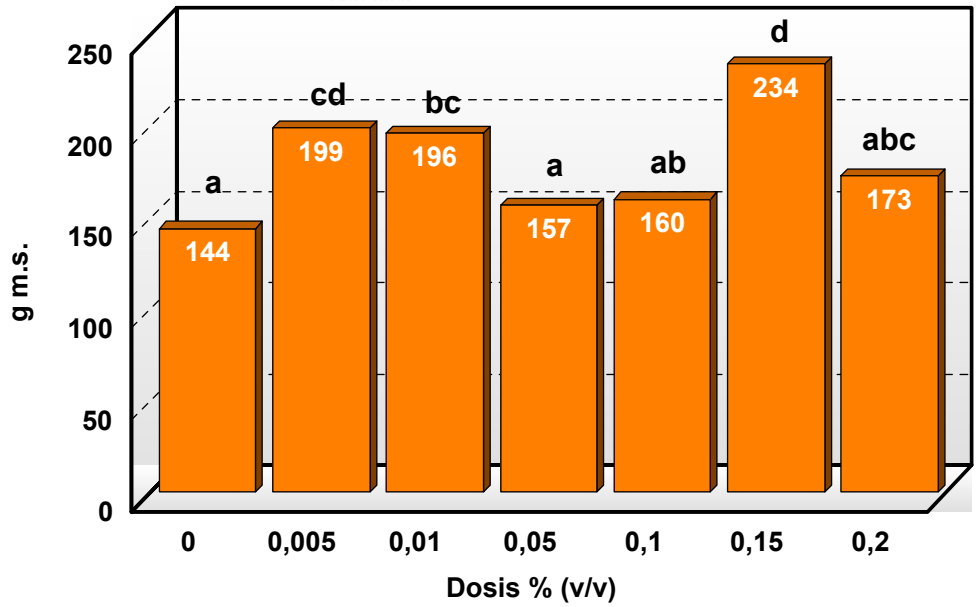


Figura IV.19. Producción de materia seca (tallos y ramas) en g/planta.

Tal y como ocurría en el apartado anterior, el efecto de "*dosis óptima*", se encuentra ahora centrado sobre las dosis **0,005**-**0,01**%, a partir de las cuales (**0,05** y **0,1**%) la producción de materia vegetal, tanto fresca como seca, se reduce a niveles comparables con el control. Sin embargo, la dosis de **0,15**% provoca los aumentos más importantes de producción de biomasa (un 50% en peso fresco y más de un 60% en peso seco respecto del control). Es decir, los resultados obtenidos no concuerdan con los descritos por Dell'Agnola et al. (1971), Rauthan et al. (1981), Albuzio et al. (1994) y Retta et al. (1994), los cuales observan incrementos en la producción de materia vegetal a dosis bajas, que van paulatinamente disminuyendo conforme aumenta la dosis hasta llegar a valores inferiores al testigo. Un comportamiento similar se puede ver aquí entre las dosis **0** y **0,1**%. En cambio, las dos últimas dosis vuelven a aumentar la producción de biomasa (tallos y ramas), tanto en peso fresco como en peso seco de manera significativa respecto del tratamiento testigo.

IV.2.1.3.-Biomasa. Hojas.

En contraste con los valores de producción de biomasa (tallos y ramas) descritos en el apartado anterior, se muestran en las Figuras IV.20 y IV.21, y el Apéndice III, los resultados de pesos fresco y seco foliares. Aquí, sí se puede comprobar el efecto de "*dosis óptima*" descrito anteriormente, según el cual se produce un aumento considerable, casi un 80% en peso fresco y un 66% en peso seco respecto al control, de la producción de materia vegetal a la dosis más baja (**0,005**%). A continuación, conforme va aumentando la dosis, los valores de los pesos fresco y seco foliares son

significativamente iguales a los del control.

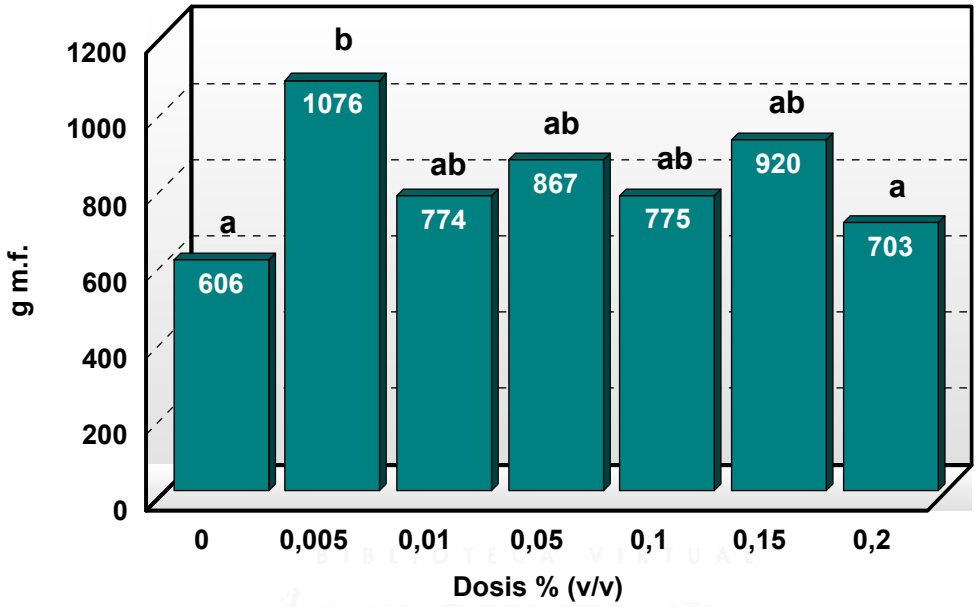


Figura IV.20. Producción de materia fresca (hojas) en g/planta.

Dentro del intervalo de dosis de aplicación empleado en esta experiencia, no se han detectado efectos inhibitorios por la aplicación de sustancias húmicas en concentración demasiado elevada, es decir, que todos los tratamientos proporcionan valores de la misma o superior significación estadística que el tratamiento testigo.

En este punto podemos concluir que la aplicación foliar de una sustancia húmica comercial procedente de lignitos a dosis bajas (**0,005**% v/v), aumenta la producción de materia vegetal aérea de plantas de tomate cv. Daniela fertirrigadas, mejorando así su porte vegetativo.

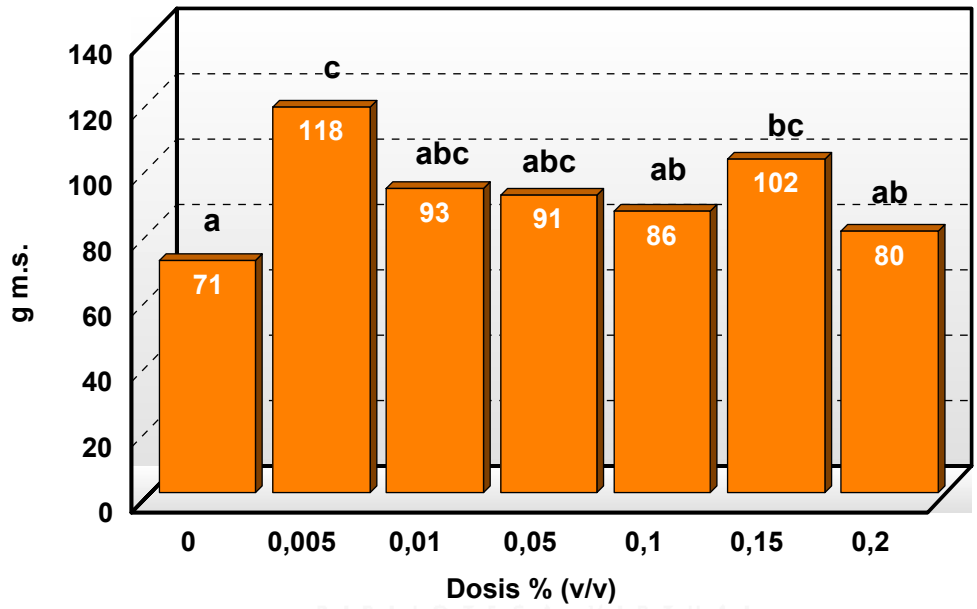


Figura IV.21. Producción de materia seca (hojas) en g/planta.

IV.2.1.4.-Biomasa. Raíces.

Los valores reflejados en las Figuras IV.22 y IV.23, y el Apéndice III, para los pesos fresco y seco radiculares presentan tendencias similares a las mostradas por los resultados de los tallos y ramas (IV.2.1.2). Es decir, que se puede hablar de "*dos dosis óptimas*". Por un lado la de **0,005**%, que se ha mostrado como la dosis de máximo aumento de pesos fresco y seco foliares y por otro la de **0,15**%, que ha causado el máximo aumento en los pesos fresco y seco de tallos y ramas.

En este apartado, la dosis de aplicación foliar de sustancias húmicas que causa un mayor incremento en los pesos fresco y seco de raíces, 36 y 52% respecto del control, es la más baja (**0,005**% v/v).

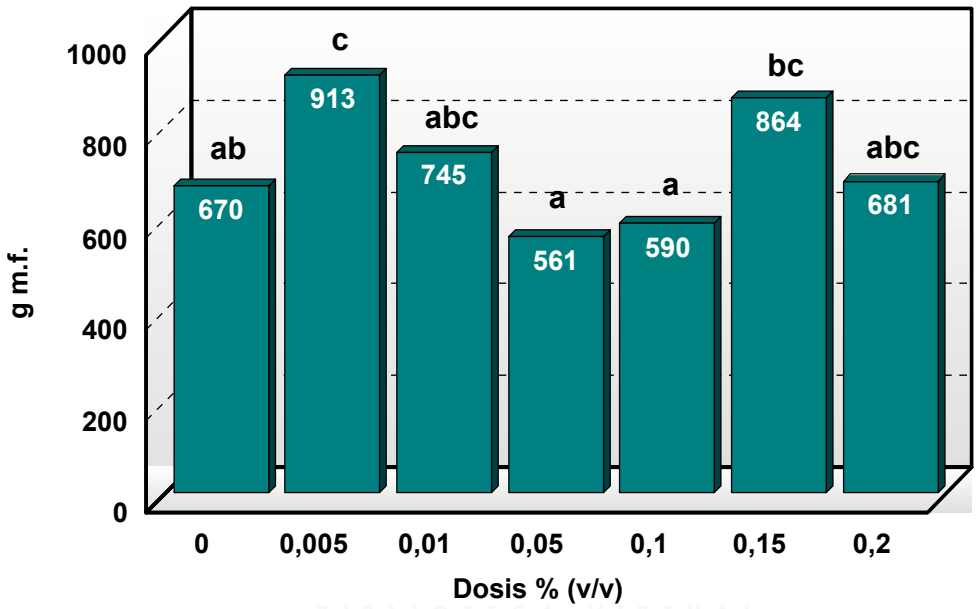


Figura IV.22. Producción de materia fresca (raíces) en g/planta.

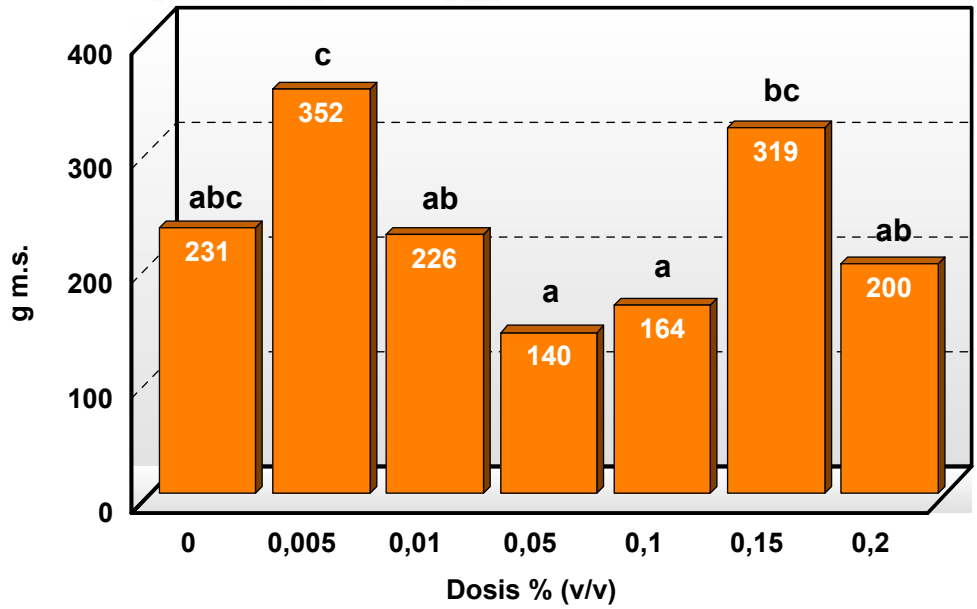


Figura IV.23. Producción de materia seca (raíces) en g/planta.

Según diversos autores (Sladky, 1959, Smidova, 1962 y Chukov, 1996), las sustancias húmicas muestran mayores efectos sobre las raíces que sobre la parte aérea de las plantas. Sin embargo, estos trabajos se han realizado aplicando las sustancias húmicas vía radicular, mientras que en este trabajo se aplican vía foliar, por lo que los efectos sobre las dos partes del vegetal son comparables, e incluso más patentes sobre la biomasa foliar que sobre la radicular.

IV.2.1.5.-Biomasa total.

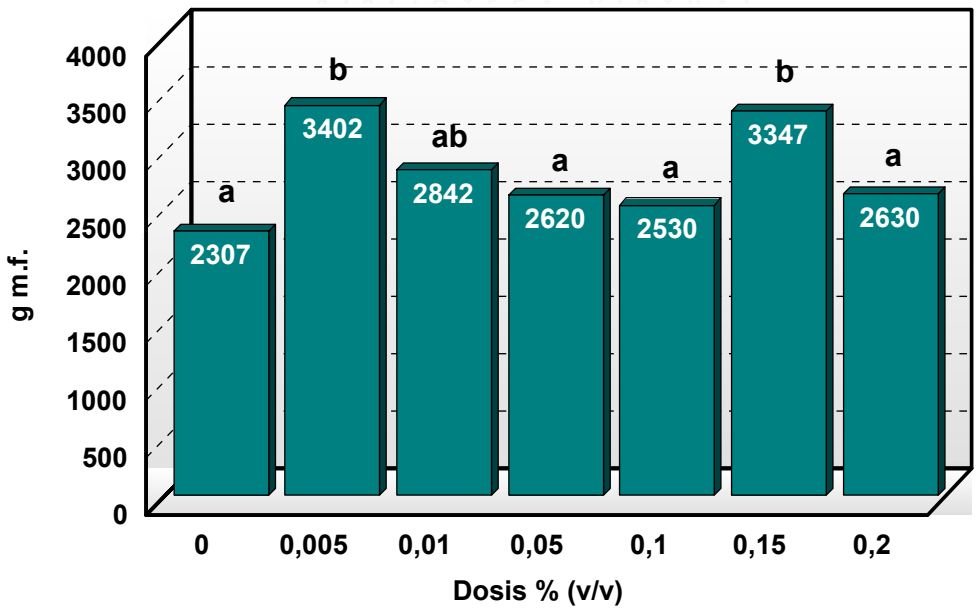


Figura IV.24. Producción de materia fresca total en g/planta.

La producción de biomasa total, parte aérea y radicular, de las plantas se puede ver en las Figuras IV.24 y IV.25, así como en el Apéndice III. Obviamente, los valores encontrados muestran las mismas tendencias que ya se han descrito en los apartados anteriores, de tal manera que aparecen

"*dos dosis óptimas*"; una baja, de **0,005**% v/v, que es la que provoca el mayor aumento respecto del control, y otra de mayor concentración, de **0,15**% v/v. Este hecho, parece indicar un efecto doble de la aplicación foliar de sustancias húmicas comerciales, uno a concentraciones muy bajas, y otro a concentraciones mayores, aunque muy por debajo de las dosis que se recomiendan comercialmente.

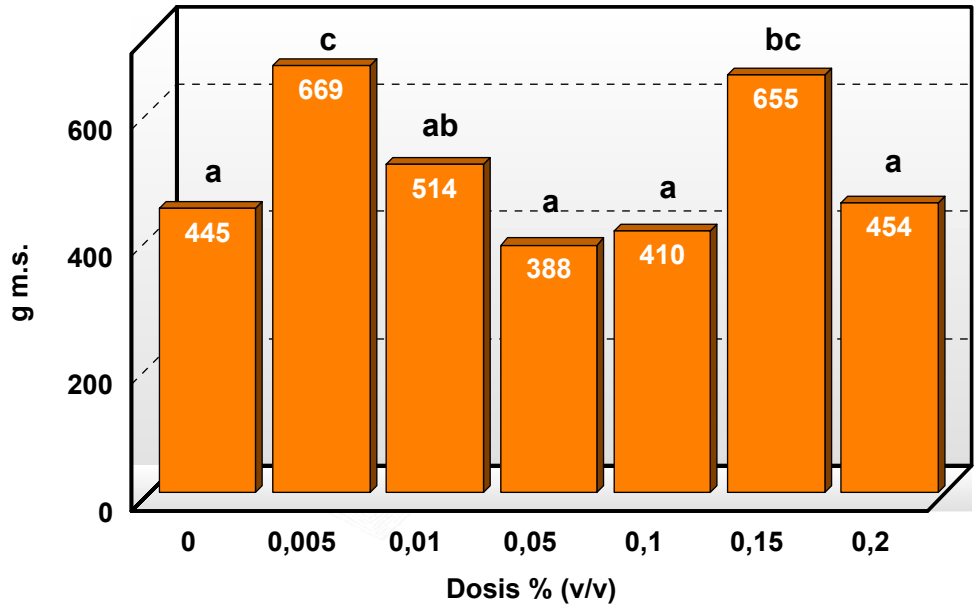


Figura IV.25. Producción de materia seca total en g/planta.

A la vista de los resultados obtenidos hasta ahora en relación a la producción de biomasa del cultivo, y valorando también condicionantes de tipo económico, se puede concluir que la dosis óptima de aplicación foliar de una sustancia húmica comercial procedente de lignitos sobre un cultivo hortícola como el tomate cv. Daniela, es la de **0,005**% (v/v), ya que se consiguen los mayores incrementos, con el menor consumo de producto.

Posteriormente, una vez analizados los resultados obtenidos en los

parámetros de producción y calidad de frutos, podremos concluir si la dosis de **0,005**% es la más adecuada, o si es la de **0,15**%, cuyos resultados en los apartados anteriores se han mostrado de la misma magnitud que los proporcionados por la primera.

IV.2.2.-Parámetros fisiológicos.

Los parámetros fisiológicos determinados en este ensayo son pigmentos (clorofilas totales, clorofila *a*, clorofila *b* y carotenoides) y ácidos orgánicos (ácido málico, cítrico y acético).

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

IV.2.2.1.-Clorofilas.

En la Tabla IV.10 y en el Apéndice III se reflejan los resultados del análisis de clorofilas foliares. Se puede comprobar el gran estímulo que los tratamientos foliares con esta sustancia húmica causa en las concentraciones de clorofilas en hojas. Conforme va aumentando la dosis de aplicación, van incrementandose paulatinamente los contenidos de clorofilas totales, *a* y *b*, con la salvedad de un ligero descenso en la dosis **0,05**% que no es significativo respecto a la dosis anterior.

De esta manera el máximo estímulo se produce en las dos últimas dosis (**0,15** y **0,2**%). Para las clorofilas totales y la clorofila *b*, la dosis mayor (**0,2**%) es la que provoca los mayores aumentos respecto al control, un 92% y un 135% respectivamente. Para la clorofila *a*, es la dosis de **0,15**% la que causa un aumento de un 82% de la concentración de dicho pigmento respecto a las plantas del tratamiento control.

Tabla IV.10. Contenidos foliares de clorofila (mg/g m.f.) determinados durante el periodo de fructificación.

Dosis % (v/v)	Clorofila total	Clorofila *a*	Clorofila *b*
0	1,04 a	0,73 ab	0,31 a
0,005	1,19 a	0,68 a	0,51 bc
0,01	1,60 bc	1,03 cd	0,57 bcd
0,05	1,33 ab	0,92 bc	0,41 ab
0,1	1,87 cd	1,15 de	0,72 d
0,15	1,96 d	1,33 e	0,63 cd
0,2	2,00 d	1,28 e	0,73 d

BIBLIOTECA VIRTUAL

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por autores como Sladky (1959) y Albuzio et al. (1994) según los cuales, los niveles de clorofilas foliares aumentan considerablemente al tratar las plantas con sustancias húmicas. Dichos aumentos son explicados en base al aumento de la disponibilidad del Fe, que aparece como quelatos, y que es un elemento esencial en la síntesis de clorofilas (Miller et al., 1984) al actuar como cofactor en varias enzimas responsables pertenecientes a la ruta de formación de este pigmento; así como por el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa (Albuzio et al., 1994). Si se observan los valores referentes a los contenidos foliares de hierro (IV.2.4.2), elemento esencial en la síntesis de clorofilas, se puede comprobar cierto paralelismo entre ambos resultados. Conforme aumenta la dosis de aplicación de sustancias húmicas, se ven incrementados los dos parámetros (clorofilas y hierro foliares). Es decir, el efecto de los tratamientos foliares con sustancias húmicas comerciales sobre las clorofilas, se ha de explicar desde el punto de vista fisiológico, bien por el segundo mecanismo mencionado por Albuzio et al. (1994), o por su capacidad de intervenir en otros ciclos metabólicos donde

puede influir indirectamente en la síntesis de dicho pigmento (Chukov et al., 1996).

IV.2.2.2.-Carotenoides.

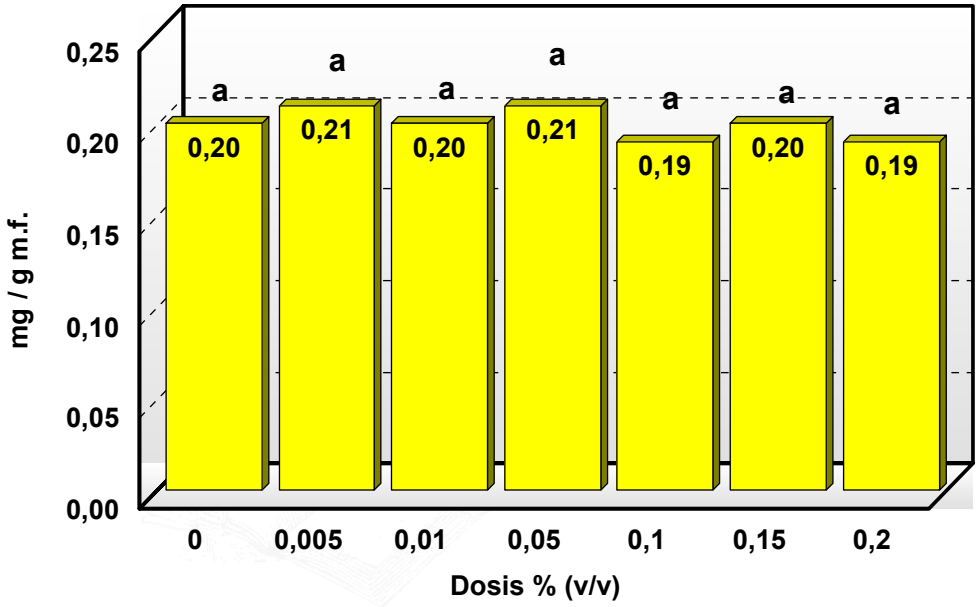


Figura IV.26. Niveles foliares de carotenoides en mg/g de materia fresca.

Tal y como se puede ver en la Figura IV.26 y el Apéndice III, no aparecen diferencias significativas en los contenidos foliares de carotenoides debidas a la aplicación de sustancias húmicas vía foliar. Asimismo, tampoco existe ninguna tendencia remarcable de dichos contenidos en función de la dosis de aplicación.

La síntesis de este grupo de pigmentos vegetales no se ve afectada, en ningún sentido, por la aplicación foliar de sustancias húmicas comerciales, tal y como ocurría en el anterior ensayo.

IV.2.2.3.-Ácidos orgánicos.

Los mecanismos de absorción y transporte de los nutrientes por las plantas son un punto de especial interés dentro de la fisiología de las mismas. Para los micronutrientes, los ácidos orgánicos desempeñan un papel fundamental en dichos mecanismos, al actuar de ligandos formando complejos con los diferentes cationes metálicos. Además, estos ácidos orgánicos producen en la planta una tolerancia interna al presentar ciertas propiedades detoxificantes (Balaguer, 1996).

Tabla IV.11. Concentraciones (g/L) de ácido málico, cítrico y acético en extracto de savia.

Dosis % (v/v)	Ác. málico	Ác. cítrico	Ác. acético
0	5,00 b	1,65 ab	0,68 c
0,005	3,99, ab	1,85 b	0,49 ab
0,01	4,40 ab	1,06 a	0,57 abc
0,05	4,85 b	1,41 ab	0,43 a
0,1	4,28 ab	1,21 a	0,53 abc
0,15	3,74 a	1,56 ab	0,57 abc
0,2	4,59 ab	1,29 ab	0,66 bc

La determinación de los ácidos orgánicos realizada en este ensayo (málico, cítrico y acético) resulta interesante como indicativo de la acción fisiológica de las sustancias húmicas comerciales, y como comparación con los resultados del análisis foliar, particularmente de micronutrientes (Fe), debido a la función que dichos ácidos desempeñan en la absorción y transporte de los mismos.

Los resultados de la determinación de ácidos orgánicos en el extracto

de savia se muestran en la Tabla IV.11 y el Apéndice III. En ella podemos observar como se producen descensos de la concentración en savia respecto al control, para el ácido málico a la dosis de **0,15**%, y para el acético a las de **0,005** y **0,05**%. Además es destacable el hecho de que, en los tres ácidos determinados, los valores para las plantas tratadas, se encuentran siempre por debajo de los de las plantas control, si bien no son significativamente menores. Es decir, existe un descenso de los niveles de dichos ácidos orgánicos en savia por la aplicación de sustancias húmicas. Para cada uno de los ácidos orgánicos determinados en el extracto de savia total, el descenso más significativo en su concentración, se produce, como ya se ha indicado, a una dosis diferente de aplicación de sustancias húmicas. En el caso del ácido málico dicha disminución es de un 23% respecto al tratamiento control, mientras que para el acético aparece a las dosis más bajas, las cuales causan unos descensos respecto al tratamiento control, de un 28 y un 37% respectivamente. Es decir, que para este último el descenso en su concentración en savia es mayor y a dosis más bajas, en tanto que para el málico el descenso es menor y a dosis más altas. Estos resultados tienen mucho que ver con los valores determinados en el análisis foliar de hierro, (IV.2.4.2) en el que se verá como los tratamientos con sustancias húmicas comerciales aumentan la absorción de este micronutriente por las plantas. Este hecho, unido a los resultados de la determinación de clorofilas, concuerda con las conclusiones de Landsberg (1981), quien trabajando con plantas de avena con una nutrición férrica adecuada, respecto a plantas deficientes en hierro, observó que las primeras tienen mayor concentración de clorofila foliar y menor de ácidos orgánicos como málico y cítrico. Este fenómeno ya fue observado por Su et al. (1960) los cuales encontraban marcados incrementos de la concentración en savia de ácidos orgánicos, particularmente cítrico y málico, en plantas cloróticas a las cuales se les había inducido una deficiencia de Fe. En plantas deficientes en hierro, la

actividad de la enzima aconitasa participante en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos, cuyo grupo prostético contiene hierro, es baja, de manera que se acumulan algunos de dichos ácidos como el málico y el cítrico (De Vos et al., 1986), que son empleados posteriormente como agentes complejantes de este micronutriente, para mejorar su absorción y transporte al interior de la planta.

IV.2.3.-Frutos.

Las variables determinadas en referencia a los frutos fueron: los rendimientos productivos del cultivo, y algunos parámetros de calidad. Relacionados con el sabor de los frutos se registraron: el pH, la conductividad eléctrica y la acidez valorable, mientras que en relación con el valor nutritivo de los tomates se determinaron los contenidos de vitamina C, azúcares y proteínas totales.

Normalmente se valora la calidad de frutos como el tomate, en base a criterios físicos (tamaño, dureza, color...) o a criterios químicos, como los mencionados anteriormente, que tengan que ver exclusivamente con el sabor. Sin embargo, no se determina el valor nutritivo de los frutos como un indicativo de la calidad de los mismos. En este trabajo, sí se han incluido esas determinaciones, ya que nos parecen de gran importancia a la hora de valorar la calidad de los frutos recogidos.

IV.2.3.1.-Rendimientos.

Como se puede ver en la Tabla IV.12 y en el Apéndice III, no existen diferencias significativas en los valores de rendimientos productivos del cultivo, así como tampoco en el calibre medio de los frutos. Probablemente, este hecho se deba a que en el ensayo se empleó una variedad híbrida (Daniela) de alta productividad, y la modalidad de cultivo, sin suelo y fertirrigado, proporcionaba unas condiciones lo suficientemente favorables como para que las plantas alcanzaran el máximo de producción, de manera que la aplicación de productos de acción bioestimulante, como las sustancias húmicas comerciales vía foliar, no consigue aumentar los rendimientos del cultivo en dichas condiciones.

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL H.

Tabla IV.12. Rendimientos productivos en kg/planta y calibre medio ecuatorial de los frutos en *mm de diámetro*.

Dosis % (v/v)	Producción (kg/planta)	Calibre (mm)
0	5,21 a	67 ab
0,005	4,83 a	67 ab
0,01	4,38 a	65 a
0,05	4,22 a	68 ab
0,1	5,63 a	66 ab
0,15	4,40 a	69 ab
0,2	5,12 a	68 ab

De igual manera, ni los rendimientos, ni el calibre de los frutos se ven afectados por la variación de la dosis aplicada de sustancias húmicas. Es decir, no aparecen ni aumentos ni descensos periódicos de ninguno de los dos parámetros mencionados al ir incrementando la concentración de

sustancias húmicas en el caldo de aplicación.

IV.2.3.2.-pH.

Los resultados de la determinación de este primer parámetro de calidad de frutos se muestran en la Figura IV.27 y el Apéndice III, en los que se comprueba que la aplicación foliar de una dosis creciente de sustancias húmicas comerciales procedentes de lignitos, no afecta el pH de los frutos recolectados. En todos los casos, los valores de pH se encuentran por debajo de 4,4 por encima del cual se ve reducida considerablemente su apreciación comercial (Martínez et al., 1987).

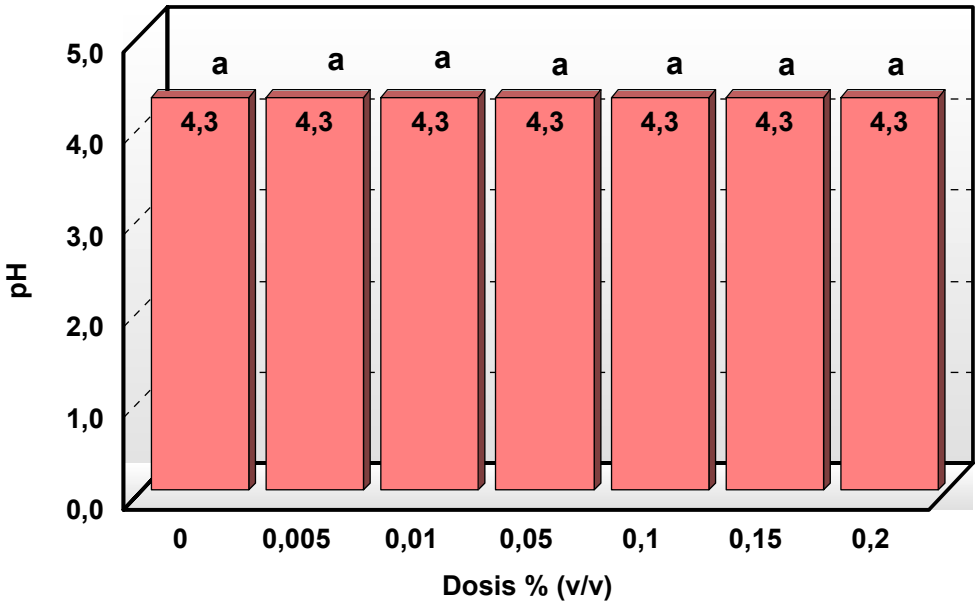


Figura IV.27. pH de los zumos.

IV.2.3.3.-Conductividad eléctrica.

Por lo que se refiere a la conductividad eléctrica de los zumos, los resultados se pueden ver en la Figura IV.28 y el Apéndice III, en los cuales se observa que sólo dos de las dosis empleadas (**0,005** y **0,15**%) proporcionan valores por encima de los frutos del tratamiento control. Si bien dichos incrementos no son estadísticamente significativos respecto al tratamiento control, sí lo son respecto a las otras dosis empleadas. Por tanto, en este apartado se vuelve a manifestar el fenómeno mencionado anteriormente cuando se analizaban los resultados de producción de materia vegetal (IV.2.1), según el cual aparecían dos dosis de aplicación de sustancias húmicas que incrementaban los valores de los parámetros determinados, una en el intervalo de concentraciones bajas (**0,005**%) y otra en el intervalo de concentraciones altas (**0,15**%). Sin embargo, tanto entre ambas dosis como por encima de la dosis de **0,15**% los valores de cada parámetro determinado son inferiores y significativamente iguales a los proporcionados por el control.

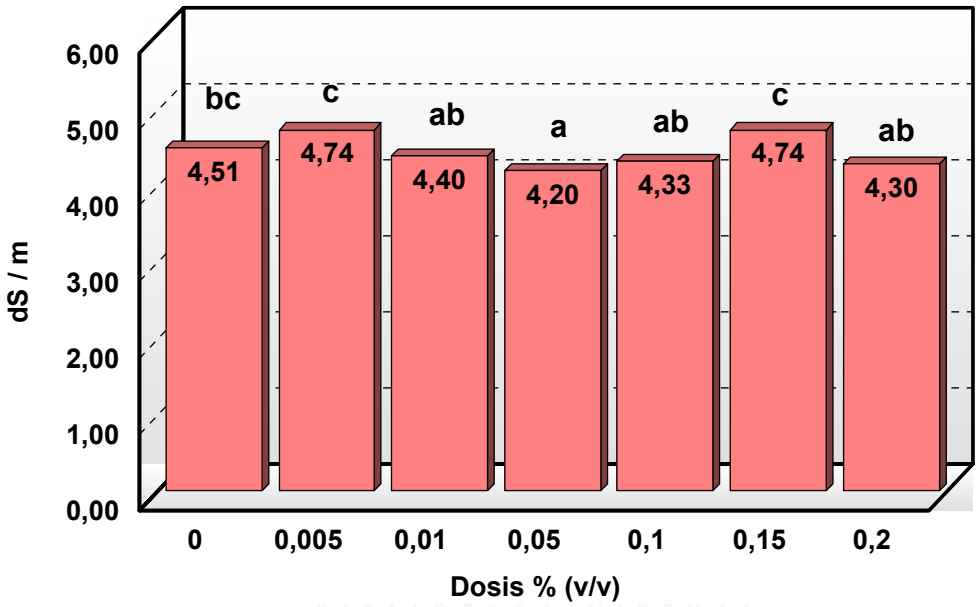


Figura IV.28. Conductividad eléctrica de los zumos.

Este hecho parece indicar de nuevo un doble efecto de las sustancias húmicas sobre el cultivo, a dosis bajas y a dosis altas. Tal y como ocurría en los apartados de producción de materia vegetal, los incrementos generados en la conductividad eléctrica de los zumos, por ambas dosis son de la misma magnitud, por lo que podemos concluir que la concentración más baja (**0,005**%) constituye la "dosis óptima" de aplicación de sustancias húmicas comerciales procedentes de lignitos, por el ahorro de producto que significa.

IV.2.3.4.-Acidez valorable.

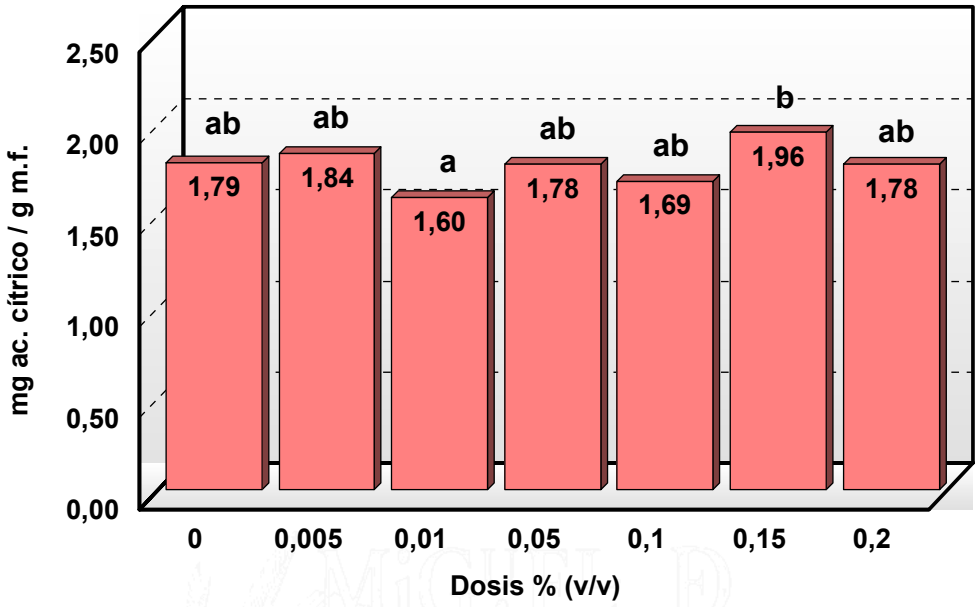


Figura IV.29. Acidez valorable de los zumos en mg ac. cítrico/g materia fresca.

Los resultados de la acidez valorable de los zumos que aparecen en la Figura IV.29 y el Apéndice III, muestran tendencias similares a las del apartado anterior. Si bien, en este caso la concentración de sustancias húmicas que provoca un incremento mayor en la acidez de los zumos de tomate es la dosis alta (**0,15**%). Aún así, tal y como ocurría con el pH de los zumos, no existen diferencias significativas respecto al tratamiento control, por lo que no podemos hablar de un efecto claro de la aplicación de una dosis creciente de sustancias húmicas comerciales vía foliar sobre este parámetro de calidad.

IV.2.3.5.-Azúcares totales.

En este ensayo, además de los parámetros de calidad ya determinados en la experiencia anterior, se han registrado dos nuevos (azúcares y proteínas totales) que, como ya se ha dicho, hacen referencia al valor nutritivo de los frutos y a la influencia que sobre el mismo tienen los tratamientos foliares con sustancias húmicas aquí empleados. La tendencia mostrada por los resultados del análisis de azúcares totales en los zumos (Figura IV.30 y Apéndice III) es similar a la que se observa con respecto a la conductividad eléctrica y la acidez valorable de los zumos, aunque con algunas diferencias.

Los valores se encuentran algo por debajo de los proporcionados por Serrano (1985) como media de diversas variedades de fruto de tomate (4%). El estímulo que sobre los niveles de azúcares en fruto produce la dosis más baja (**0,005**%) respecto del tratamiento control es mucho más acusado que en los parámetros de calidad analizados con anterioridad. Se puede observar como de un porcentaje medio de azúcares totales de un 1,50% (referidos a materia fresca) en los frutos de las plantas del tratamiento control, pasamos a unos porcentajes de 2,40% en las plantas tratadas con la primera dosis de sustancias húmicas. Por consiguiente, estamos ante un incremento de un 60% en dicho valor.

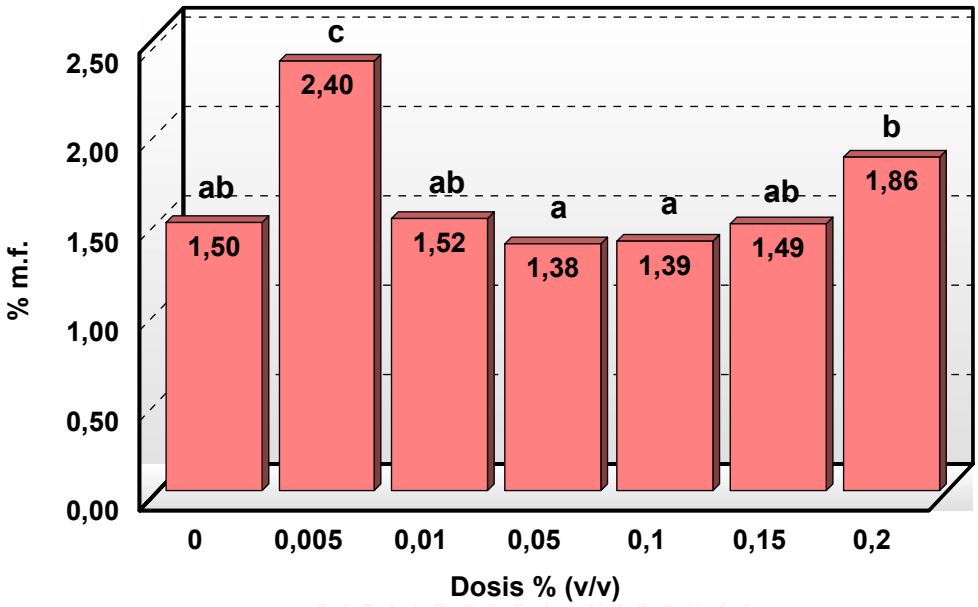


Figura IV.30. Azúcares totales (% sobre materia fresca) en los frutos.

Tal y como ocurre en los parámetros de calidad anteriormente mencionados, al aumentar la concentración de la disolución de sustancias húmicas aplicadas, los azúcares totales en fruto, descienden a valores significativamente iguales a los encontrados para los frutos del tratamiento control, para posteriormente a dosis mayores (**0,2**%) volver a sufrir un incremento. En este caso, dicho incremento a dosis altas se produce a una concentración de **0,2**% (v/v) de sustancias húmicas, como ya se ha dicho, y no a la de **0,15**% como ocurría en los anteriores parámetros de calidad. Aún así este aumento no es estadísticamente significativo respecto al control. Por ello podemos decir que para los contenidos de azúcares totales en fruto, la dosis óptima de aplicación foliar de sustancias húmicas procedentes de lignitos es, de nuevo, la de **0,005**% (v/v).

IV.2.3.6.-Vitamina C.

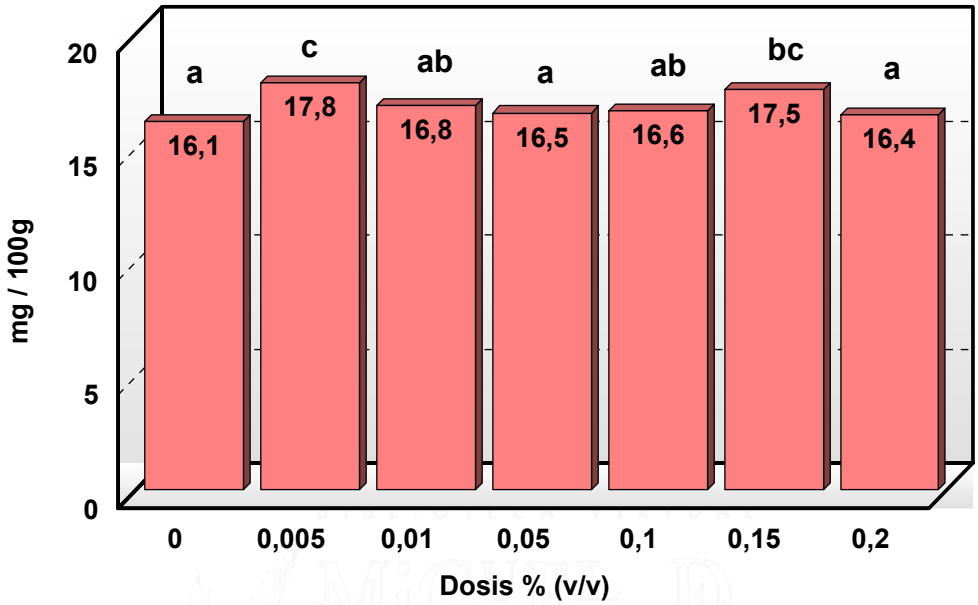


Figura IV.31. Contendios de vitamina C (mg/100 g m.f.)en frutos.

En la Figura IV.31 y el Apéndice III se pueden ver los resultados registrados para los contenidos de vitamina C en frutos referidos a materia fresca, en función de la dosis de aplicación de sustancias húmicas comerciales. Al igual que en la experiencia anterior, los valores obtenidos se encuentran entre los proporcionados como referencia (*25 mg/100g*) por Serrano (1985) y los que reflejan López-Andreu et al. (1990) (*12-15 mg/100g*).

De nuevo, el incremento más significativo de este parámetro de calidad nutritiva aparece a la concentración de sustancias húmicas más baja de todas las ensayadas (**0,005**%). Dicho incremento es de un 11% respecto al tratamiento control, pasando de 16,1 a 17,8 *mg vitamina C /100g m.f.*

A las dosis posteriores se produce el descenso ya descrito para los anteriores parámetros de calidad determinados, para de nuevo verse incrementado dicho valor a la dosis de **0,15**%, aunque dicho incremento, si

bien en este caso sí es significativo respecto del control, es algo menor que el producido a la dosis más baja. Por ello podemos concluir que la dosis óptima de aplicación foliar, para los contenidos de vitamina C en frutos, es la de **0,005**% (v/v).

IV.2.3.7.-Proteínas totales.

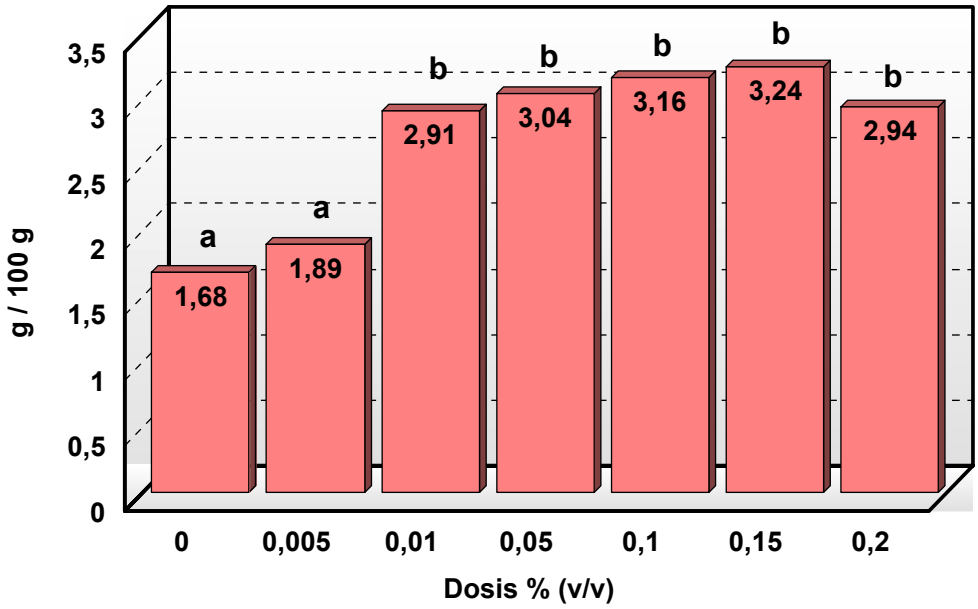


Figura IV.32. Contenidos de proteínas totales (g/100 g materia fresca) en frutos.

Como último parámetro de calidad nutritiva de los frutos, se determinaron los contenidos de proteínas totales (Figura IV.32 y Apéndice III). Como se puede observar, los resultados obtenidos en este análisis son muy diferentes a los registrados para los otros parámetros de calidad de fruto, así como para los de producción de materia vegetal, siendo similares a los de clorofilas foliares. Es decir, vemos como se produce un aumento

paulatino de los contenidos en fruto de proteínas, conforme aumentamos la concentración de sustancias húmicas aplicadas. En la primera dosis (**0,05**%) no se detecta ningún efecto, pero a partir de la siguiente (**0,01**%) el incremento es muy significativo, hasta llegar a un máximo de 3,24 *g proteínas / 100 g m.f.* a la dosis de **0,15**%. Los frutos del tratamiento control presentan unos contenidos medios de 1,68 *g proteínas / 100 g m.f.*, por lo que el incremento relativo es de casi un 93%. A la dosis siguiente, los contenidos de proteínas totales descienden ligeramente. Es probable que a dosis superiores la respuesta descienda aún más, tal y como se indica en la bibliografía (II.2.2.3). Estos valores son algo superiores a los proporcionados por Serrano (1985) como media de diferentes variedades (1 *g/100g*).

Por consiguiente los resultados de este apartado son totalmente diferentes al resto de parámetros de calidad, en los que se observa un doble efecto positivo de las sustancias húmicas, uno a dosis bajas, más acusado, y otro a dosis altas. Para las proteínas totales en frutos, los resultados se asemejan a los encontrados por Dell'Agnola et al. (1971), Rauthan et al. (1981) y David et al. (1994) al determinar la influencia de una dosis creciente de sustancias húmicas sobre algunos parámetros del desarrollo vegetal. Dichos autores encuentran incrementos de las variables analizadas al aumentar la dosis de aplicación de sustancias húmicas hasta llegar a un máximo (dosis óptima) a partir del cual la respuesta comienza a descender hasta niveles iguales o inferiores al control.

Por tanto, una vez determinados todos los parámetros de calidad de los frutos podemos concluir que la dosis óptima de aplicación de sustancias húmicas procedentes de lignitos es la de **0,005**% (v/v), excepto para los contenidos de proteínas totales para los cuales la dosis óptima estaría en **0,15**%, aunque a concentraciones de **0,01**% dichos contenidos de proteínas son significativamente iguales. Es decir, se consiguen efectos positivos, en

algunos casos muy significativos, para los parámetros de calidad de los frutos a dosis de aplicación bastante bajas.

IV.2.4.-Parámetros nutricionales.

IV.2.4.1.-Macronutrientes.

La aplicación foliar de sustancias húmicas comerciales prácticamente no ejerce influencia alguna sobre los niveles de macronutrientes en hoja. Este hecho contrasta con la bibliografía que se muestra en el apartado II.2.2.4 (Gaur, 1964; Rauthan et al., 1981; Guminsky et al., 1983; David et al., 1994; Bermúdez et al., 1993; García-Serna et al., 1996). Sin embargo, la diferencia fundamental de esta experiencia con todos los trabajos aquí enumerados es la forma de aplicación de las sustancias húmicas, que en estos últimos es al medio radicular (suelo o disolución nutritiva).

La vía de aplicación foliar que, como ya se ha mostrado, es capaz de mejorar parámetros fisiológicos del vegetal y de calidad de los frutos, no afecta de manera significativa a la absorción de macronutrientes por parte de la planta, que crece en un medio sin suelo y fertirrigado.

Los resultados del análisis foliar de macronutrientes se pueden observar en la Tabla IV.13 y en el Apéndice III. Para el N, cuyos valores se ajustan a los normales (Bennett, 1993) para el período final de la fructificación, sólo se puede ver un ligero descenso respecto del tratamiento control para la dosis de **0,01**% (v/v), que a dosis posteriores de aplicación de sustancias húmicas, vuelve a recuperarse hasta niveles significativamente iguales al control.

Tabla IV.13. Niveles foliares de macronutrientes expresados en % sobre materia seca.

Dosis % (v/v)	N	P	K	Ca	Mg	Na
0	3,2 b	0,72 a	2,8 ab	7,2 ab	0,50 a	0,16 abc
0,005	2,9 ab	0,72 a	3,0 b	7,4 ab	0,57 a	0,14 a
0,01	2,8 a	0,72 a	2,9 ab	6,9 ab	0,55 a	0,15 ab
0,05	3,0 ab	0,88 a	3,0 b	7,6 b	0,58 a	0,17 bcd
0,1	3,0 ab	0,84 a	2,7 ab	7,2 ab	0,58 a	0,19 cd
0,15	3,1 ab	0,86 a	3,1 b	6,3 a	0,55 a	0,20 d
0,2	3,1 ab	0,76 a	2,5 a	6,9 ab	0,55 a	0,18 cd

BIBLIOTECA VIRTUAL

El P, cuyos valores se encuentran dentro de la normalidad (Cadahía et al., 1988), no presenta diferencias significativas entre ninguna de las dosis de sustancias húmicas ensayadas, si bien parece que a las dosis más elevadas, desde **0,05**% a **0,2**%, se observa un leve incremento de los contenidos foliares de dicho macronutriente.

En el caso del K no existen diferencias significativas entre ninguno de los tratamientos y el control. La tendencia de los contenidos foliares de estos nutrientes no sigue ningún patrón de regularidad, apareciendo los niveles más altos de dicho nutriente a las dosis de **0,005**%, **0,05**% y **0,15**%, mientras que a la dosis más alta se observa un descenso de la concentración de K.

Tal y como ocurre con el potasio, las concentraciones foliares de Ca, cuyos valores son algo altos (Cadahía et al., 1988) no muestran variaciones regulares con la dosis de aplicación de sustancias húmicas. Así mismo, no existen diferencias entre el tratamiento testigo y los diferentes tratamientos húmicos. La dosis que proporciona una mayor concentración foliar de Ca es la de **0,05**%, mientras que la dosis superior de **0,15**% da el valor más bajo.

Para el Mg, no aparecen diferencias significativas entre los

tratamientos ensayados, así como entre éstos y el control, siendo los valores encontrados muy homogéneos para todos los tratamientos.

Las concentraciones foliares de Na sufren un ligero descenso respecto al tratamiento control en la primera dosis de aplicación de sustancias húmicas, para posteriormente ir incrementándose conforme aumenta la dosis. En el ensayo introductorio se puede ver como los tratamientos foliares con sustancias húmicas procedentes de residuos vegetales o de turba hacen disminuir los contenidos de Na en hoja, resultados que concuerdan con los encontrados por Cuesta (1994) cuyos tratamientos se realizaban vía suelo. En cambio, se comprueba como las sustancias húmicas procedentes de lignitos mantienen las concentraciones foliares de sodio al nivel del control, o incluso por encima.

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

IV.2.4.2.-Micronutrientes.

Los resultados del análisis de micronutrientes, que se presentan en la Tabla IV.14 y en el Apéndice III, se pueden dividir en dos grupos. Por un lado Fe, Mn, B y Mo, y por otro lado Cu y Zn. En el primero de los grupos, la aplicación foliar de sustancias húmicas comerciales procedentes de lignitos ha ejercido un efecto paulatino, más o menos regular con la dosis aplicada. Mientras que los micronutrientes del segundo grupo no se ven afectados significativamente por los tratamientos húmicos.

Los valores obtenidos se encuentran dentro de los intervalos de normalidad dados por Cadahía et al., (1988), con la excepción del B que está algo por encima. Los niveles de Mo son ligeramente inferiores a la normalidad según Bergmann (1992).

Tabla IV.14. Niveles foliares de micronutrientes expresados en ppm sobre materia seca. (Mo expresado en ppb).

Dosis % (v/v)	Fe	Mn	Cu	Zn	B	Mo
0	123 a	235 ab	0,21	20 ab	115 bc	194 a
0,005	129 ab	250 ab	0,21	20 ab	106 ab	196 a
0,01	132 ab	250 ab	0,17	18 ab	122 c	198 ab
0,05	142 abc	259 ab	0,17	21 ab	104 ab	197 a
0,1	159 bc	286 b	0,25	21 ab	98 a	199 ab
0,15	165 c	219 a	0,25	24 b	102 ab	205 b
0,2	139 abc	248 ab	0,21	0,25	94 a	197 a

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL HERNANDEZ

Los datos más relevantes aparecen en el análisis foliar de Fe, para el cual se puede comprobar como la aplicación de una dosis creciente de sustancias húmicas incrementa paulatinamente los niveles foliares de este micronutriente, llegándose a un máximo para las dosis de aplicación de **0,1**% y **0,15**%, significativamente superiores a los niveles proporcionados por las plantas del tratamiento control. Para la dosis de **0,2**%, se produce un descenso en la concentración foliar de hierro, de manera que se puede observar el efecto de "dosis óptima" mostrado por Rauthan et al. (1981) según el cual la aplicación de sustancias húmicas en una dosis creciente produce un incremento en la respuesta positiva de la planta, en este caso en la absorción de Fe, hasta llegar a un máximo a partir del que dicha respuesta comienza a descender, incluso pudiendo llegar a niveles inferiores a los proporcionados por las plantas del tratamiento control.

Estos resultados, como ya se ha dicho, se pueden relacionar con los obtenidos en los análisis de clorofilas y ácidos orgánicos en savia, de manera que niveles altos de Fe foliar se traducen en contenidos mayores de clorofilas

y menores de ácidos orgánicos en savia (Landsberg, 1981; De Vos et al., 1986).

Las concentraciones foliares de Mn siguen una pauta similar a la del Fe, aunque de forma menos acusada. Se produce un aumento en el contenido foliar de Mn a las primeras dosis, hasta llegar al máximo en la de **0,1**%, a partir de la cual se observa un descenso acusado de dichos niveles. Estos incrementos en los niveles foliares de Mn, también pueden tener relación con el descenso en la concentración de ácidos orgánicos en savia, concretamente en la del ácido málico, ya que dicho micronutriente estimula el enzima responsable de la descarboxilación de malato a piruvato en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos (Burnell, 1988).

De igual manera, los contenidos de Mo foliar se ven incrementados por la aplicación de sustancias húmicas en una dosis creciente hasta llegar al máximo en la dosis de **0,15**%. En este caso, el incremento es significativo respecto al tratamiento control. También, como ocurría para el Fe, la dosis de **0,2**% provoca un descenso en dichos niveles hasta valores significativamente iguales a los del control.

Para el B, cuyos valores como ya se ha dicho son algo altos según Cadahía et al. (1988), los resultados obtenidos y que se reflejan en la Tabla IV.14 presentan una tendencia contraria a las que anteriormente se han mostrado en los casos de Fe, Mn y Mo. Las concentraciones foliares de este micronutriente van descendiendo conforme aumenta la dosis de aplicación de sustancias húmicas, excepto para la dosis de **0,1**%, que proporciona la mayor concentración foliar de B. Observando estos resultados de manera global, se puede decir que la aplicación foliar de sustancias húmicas comerciales procedentes de lignitos inhibe la toma de B en plantas de tomate cv. Daniela.

Por último, los datos obtenidos en el análisis foliar de Zn y Cu no reflejan ninguna influencia clara de los tratamientos con sustancias húmicas

vía foliar, ni con el aumento de la dosis de aplicación de las mismas.

BIBLIOTECA VIRTUAL
MIGUEL DE CERVANTES

IV.3.-Tercera experiencia. Ensayo de germinación.

Esta tercera experiencia, denominada “Ensayo de germinación” forma parte de las dos líneas de investigación abordadas en este trabajo, tal y como se describió en el apartado de materiales y métodos (Figura III.1). El objetivo planteado trataba de establecer cuál era el efecto de las sustancias húmicas comerciales sobre cultivos que se desarrollan en condiciones de estrés salino. Para ello se eligió el proceso de germinación como momento de dicho desarrollo, que presenta una mayor sensibilidad a las condiciones de estrés ambiental en general y al estrés salino en particular (Maas et al., 1977).

Como se describe en la Figura III.8, este ensayo consta de dos partes, cada una de las cuales responden a los objetivos planteados en las dos líneas de investigación de este trabajo. En primer lugar, se llevó a cabo un subensayo de dosificación de las sustancias húmicas comerciales, en el cual se determinó cuál era la “dosis óptima” de aplicación de cada uno de los productos ensayados en condiciones ideales de germinación. A continuación, con los datos obtenidos, se planteó y realizó un segundo subensayo para testar el posible efecto bioprotector de las sustancias húmicas comerciales sobre la germinación de semillas de tomate cv. Daniela en medio salino.

IV.3.1.-Subensayo de dosificación.

Los resultados obtenidos en este ensayo se pueden ver en la Tabla IV.15 (en la cual los tratamientos estadísticos se han realizado para cada producto por separado) y en el Apéndice IV. De la observación de los datos podemos concluir que, en general, la aplicación de sustancias húmicas comerciales de distintos orígenes mejora el porcentaje de germinación de semillas de tomate cv. Daniela en condiciones *in vitro* (Csicsor et al., 1994;

Chukov et al., 1996). Sin embargo, la dosis de máxima mejora de la germinación (dosis óptima), no sólo no es la misma en todos los casos, sino que dentro de un mismo grupo de sustancias húmicas (como en el caso de las procedentes de lignitos), dicha dosis varía considerablemente según el producto empleado.

Los resultados obtenidos en el grupo de sustancias húmicas procedentes de lignitos son diversos en relación a la dosis óptima de cada uno. De los diez productos comerciales empleados, cinco mejoran significativamente el porcentaje de germinación (L1, L5, L7, L8 y L9). No obstante, la dosis óptimas son diferentes coincidiendo tan sólo para L5 y L7 en **0,05‰**. En los otros tres casos, L1 presenta su dosis óptima a **0,01‰**, donde el porcentaje de germinación es casi el doble que el del control, mientras que L8 lo hace a la dosis más alta ensayada: **0,1%** y L9 a la más baja: **0,001‰**. Para el resto de sustancias húmicas de este grupo, los valores registrados en las diferentes dosis no son significativamente superiores al control, y tan sólo en un caso (L2) la aplicación de sustancias húmicas a la dosis mayor disminuye significativamente el porcentaje de germinación (Csicsor et al., 1994).

El grupo de sustancias húmicas procedentes de residuos vegetales sí que muestra resultados homogéneos en cuanto a la dosis óptima, siendo ésta en todos los casos la de **0,01%** (v/v). En el caso de la muestra RV2, la diferencia entre la dosis óptima y el control no es significativa, aunque tomaremos dicha dosis como la óptima para la realización del ensayo posterior. Cabe destacar para este grupo, el incremento en el porcentaje de germinación que proporciona la muestra RV1, la cual en el intervalo de dosis de **0,01** a **0,1%**, casi dobla el valor para el control de dicho parámetro.

Tabla IV.15. Porcentaje de germinación respecto al control.

Dosis % (v/v)	0	0,001	0,01	0,05	0,1
L1	100 a	129 a	**194 b**	188 b	188 b
L2	100 b	84 ab	87 b	105 b	55 a
L3	100 ab	102 b	82 a	89 ab	98 ab
L4	100 ab	117 b	85 a	85 a	95 ab
L5	100 a	94 a	103 ab	**125 b**	86 a
L6	100 a	92 a	87 a	87 a	92 a
L7	100 a	91 a	91 a	**143 b**	143 b
L8	100 a	117 ab	115 ab	113 ab	**133 b**
L9	100 a	**129 b**	120 ab	110 a	114 a
L10	100 ab	110 b	110 b	92 a	88 a
RV1	100 a	129 a	**194 b**	188 b	188 b
RV2	100 bc	84 b	105 c	87 b	55 a
RV3	100 a	100 a	**117 b**	94 a	94 a
T	100 a	**127 b**	100 a	98 a	114 ab

La única sustancia húmica procedente de turba empleada en este ensayo se ha mostrado activa en la mejora de la germinación. Este producto genera un incremento en el porcentaje de germinación a la dosis más baja (**0,001%**), tal y como ocurría con L9, mientras que a dosis mayores los resultados son de la misma significación que el control. Este tipo de respuesta, que se encuentra también para la mayoría de las otras muestras, concuerda con los resultados de Csicsor et al. (1994), Chukov et al. (1996) en trabajos sobre germinación y con los obtenidos por Dell'Agnola et al. (1971), Rauthan et al. (1981) y David et al. (1994) en otros trabajos en los

que se utilizaban sustancias húmicas en diferentes dosis.

A la luz de los resultados obtenidos podemos concluir que las sustancias húmicas comerciales tienen efectos bioestimulantes sobre el proceso de germinación de semillas de tomate cv. Daniela, aumentando, en general, el porcentaje de germinación por la aplicación de estos productos respecto a un control sin aplicación. Las sustancias húmicas procedentes de turba son activas a dosis muy bajas (**0,001%**), mientras que las procedentes de residuos vegetales necesitan de una concentración diez veces mayor para conseguir aumentar significativamente el parámetro analizado. Por último las procedentes de lignitos muestran un comportamiento diverso, de manera que algunos de los productos no ejercen ninguna influencia, otros lo hacen a dosis bajas y otros a dosis más altas.

En función del análisis de las sustancias húmicas (Tabla IV.2) cabría esperar que las procedentes de residuos vegetales fueran las que generaran un efecto positivo más acusado, ya que los altos valores de su relación E_4/E_6, así como de ácidos fúlvicos sugieren una mayor actividad (Albuzio et al., 1994; Retta et al., 1994). Sin embargo esto no es así, probablemente debido a que, como indican otros autores (Wilson et al., 1986; Dell'Amico et al., 1994; Pascual et al., 1997) algunas fracciones de bajo peso molecular pueden provocar efectos fitotóxicos, incluso a dosis muy bajas.

IV.3.2.-Subensayo salino.

Una vez mostrado el efecto bioestimulante de las sustancias húmicas comerciales sobre la germinación de semillas de tomate cv. Daniela, y determinada la dosis de máxima mejora para cada uno de los productos empleados, se planteó el siguiente subensayo para comprobar si dichas

propiedades bioestimulantes se traducirían en efectos bioprotectores cuando la germinación no se llevara a cabo en condiciones ideales, sino en un medio salino en el cual, obviamente este proceso fisiológico se vería claramente afectado. Para ello se utilizó la metodología descrita en el apartado III.3.2, y los tratamientos que aparecen en la Tabla III.5.

Las sustancias húmicas que se emplearon en este subensayo fueron L1, L7 y L8 de las procedentes de lignitos, elegidas entre el grupo de las que proporcionaban un incremento de la germinación estadísticamente significativo en el anterior subensayo; las tres muestras procedentes de residuos vegetales, RV1, RV2 y RV3; y la muestra procedente de turba T. La dosis de aplicación de cada uno de estos productos en este subensayo corresponde a la "dosis óptima" encontrada en el anterior.

Los resultados obtenidos se pueden observar en las Figuras IV.33 a IV.39 y en el Apéndice IV. En el grupo de sustancias húmicas procedentes de lignitos los resultados de los productos L1 y L8 son similares, mientras que el L7 presenta resultados diferentes. En primer lugar, la aplicación de L1 y L8 mejora el porcentaje de germinación en el primer nivel salino (3 mS cm^{-1}), es decir el número de semillas germinadas en el tratamiento S1+H es significativamente superior al S1. En cambio en el nivel salino superior (6 mS cm^{-1}) no se produce ningún efecto significativo. Por otro lado, la aplicación de la muestra L7 no sólo no mejora la germinación en ninguno de los dos niveles salinos, sino que la inhibe. Este fenómeno debe estar directamente relacionado con el hecho de que su conductividad eléctrica (Tabla IV.1) muestre un valor muy alto, particularmente respecto a L1 y L8, debido a que, según su etiqueta y el análisis realizado (Tablas IV.3 y IV.4) se encuentra enriquecido en elementos minerales. Por este motivo es probable que, al aplicar dicho producto estemos aumentando aún más si cabe la salinidad del medio de germinación, por lo que los resultados en los tratamientos S1+H y S2+H son inferiores a S1 y S2 respectivamente.

Los resultados obtenidos al aplicar sustancias húmicas procedentes de residuos vegetales son similares a los anteriores. Por un lado, los productos comerciales RV1 y RV2 mejoran el porcentaje de germinación, mientras que el producto RV3 no ejerce ningún efecto significativo ya que los tratamientos S1+H y S2+H rinden resultados iguales a los S1 y S2 respectivamente.

Por último la aplicación de sustancias húmicas procedentes de turba no proporciona resultados significativos en cuanto a mejora de la germinación dentro de cada nivel salino.

En todos los casos mencionados anteriormente en los que los tratamientos con sustancias húmicas incrementaban el número medio de semillas germinadas respecto a su nivel salino correspondiente, dicha mejora nunca llegaba a niveles significativamente iguales a los del tratamiento control.

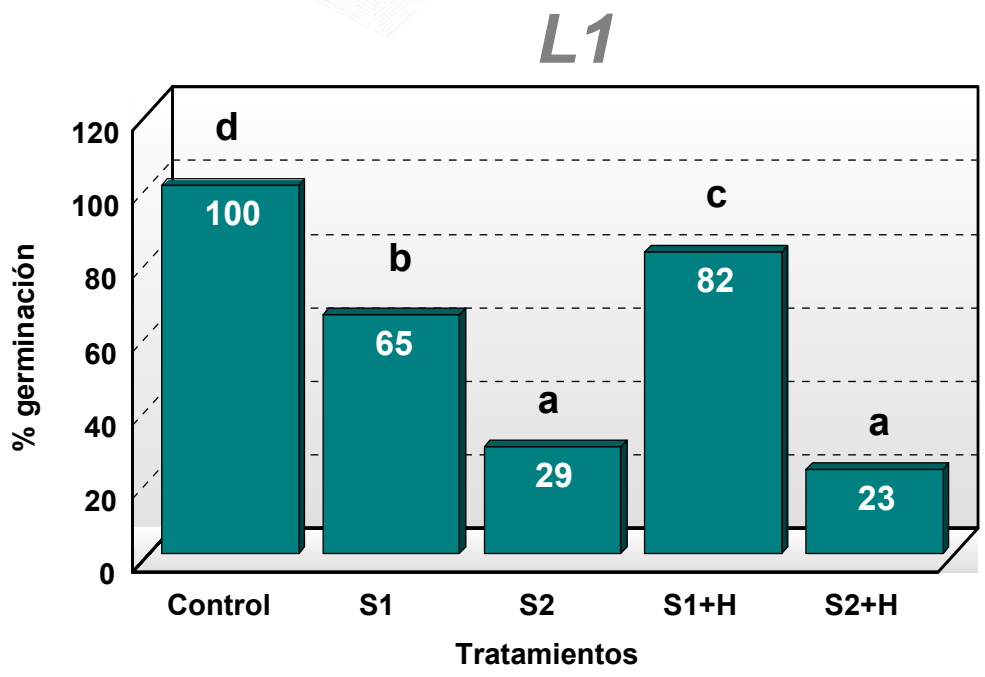


Figura IV.33. Número medio de semillas germinadas por placa.

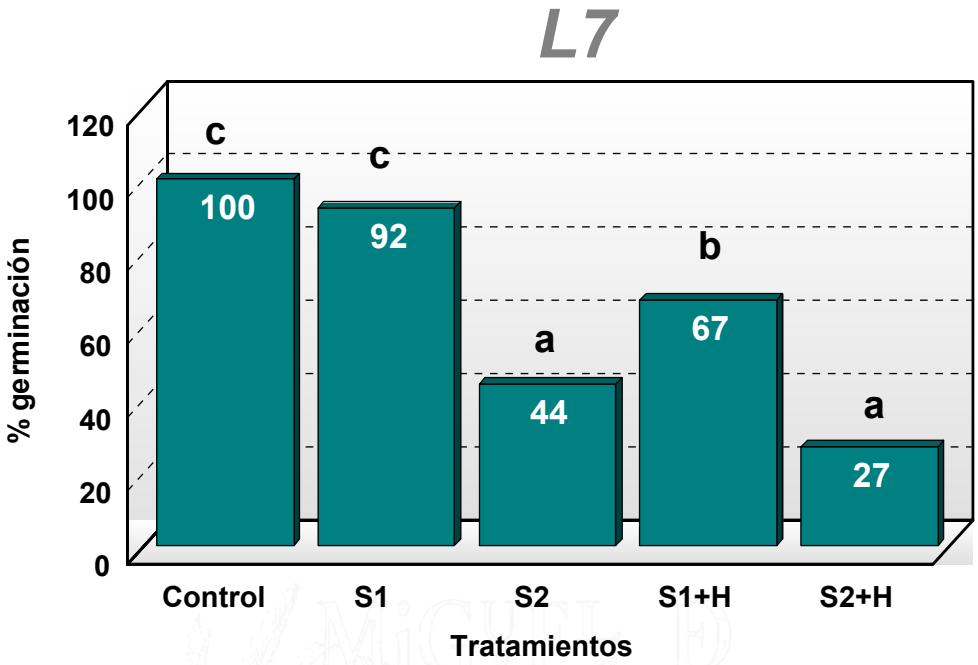


Figura IV.34. Número medio de semillas germinadas por placa.

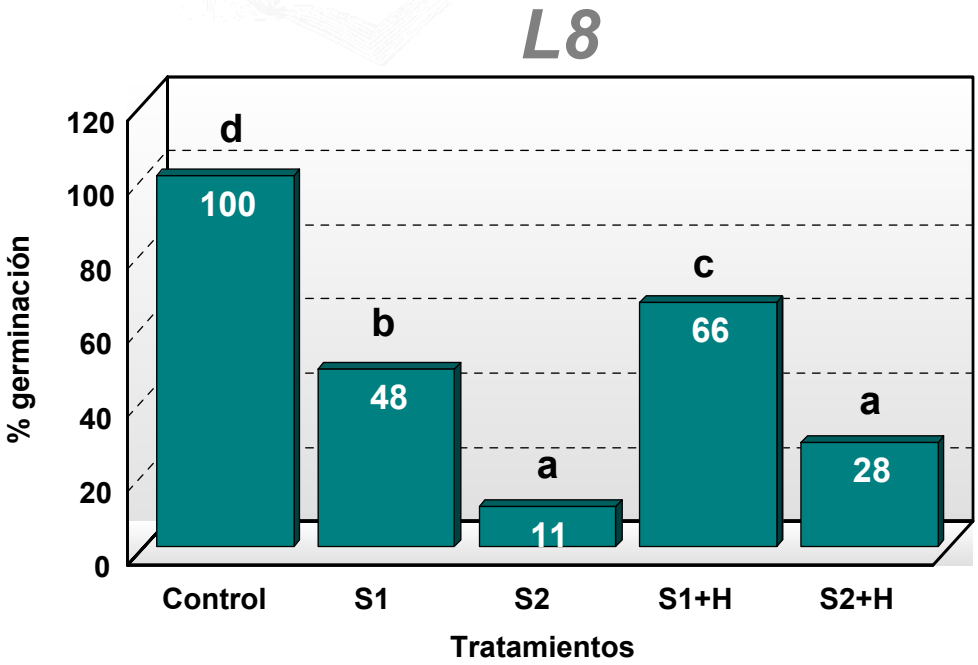


Figura IV.35. Número medio de semillas germinadas por placa.

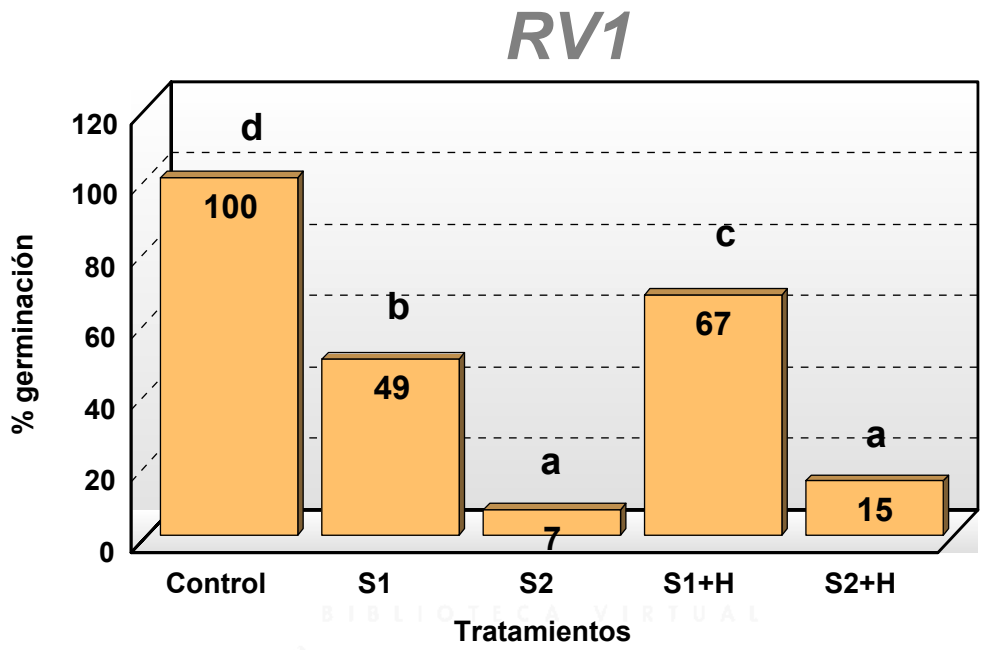


Figura IV.36. Número medio de semillas germinadas por placa

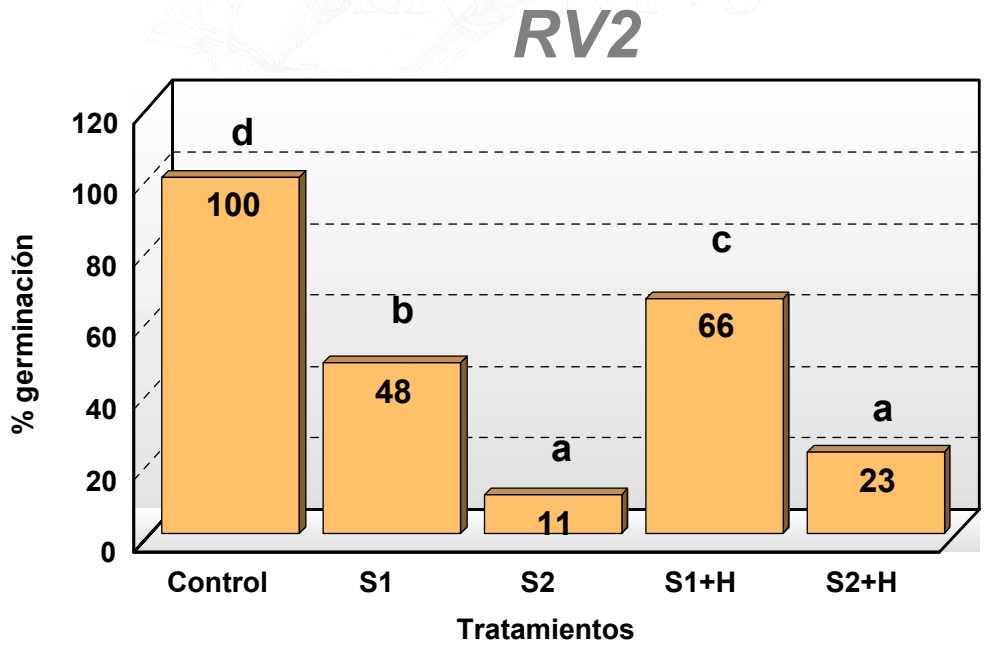


Figura IV.37. Número medio de semillas germinadas por placa.

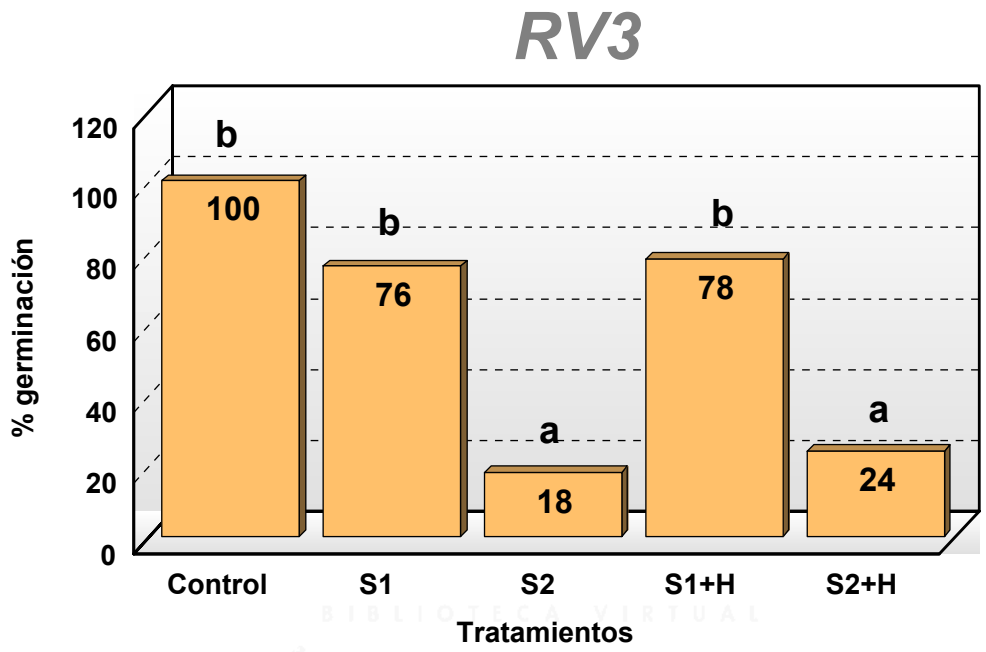


Figura IV.38. Número medio de semillas germinadas por placa

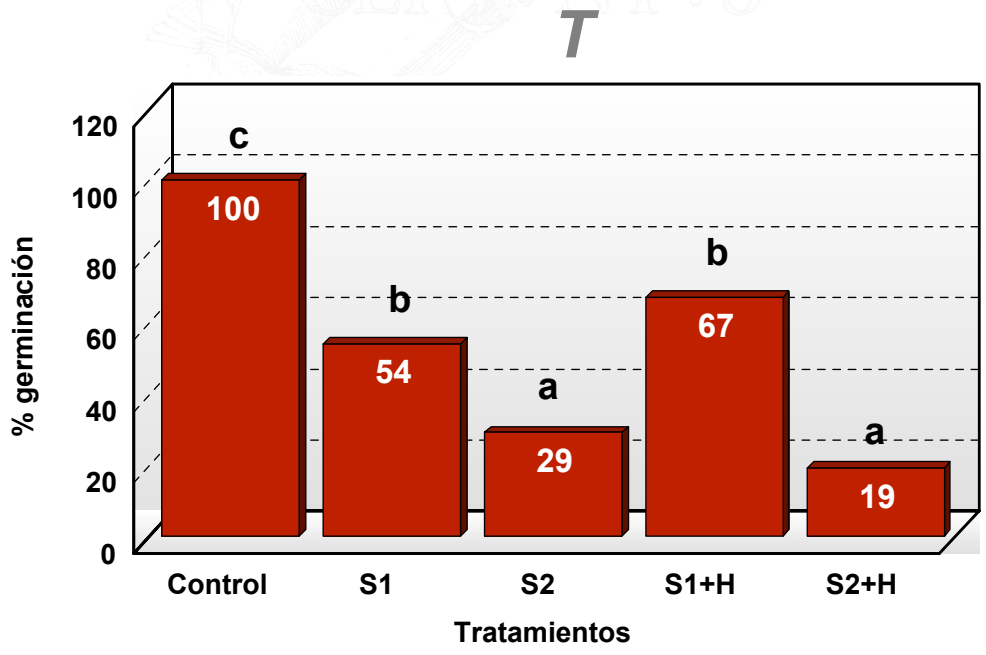


Figura IV.39. Número medio de semillas germinadas por placa.

Además del número medio de semillas germinadas, en este ensayo se determinó el índice de germinación (Pascual et al., 1997) como un indicativo más fiable del efecto que los diferentes tratamientos tenían sobre el proceso de la germinación de las semillas de tomate cv. Daniela. Este parámetro, como se indica en el apartado III.3.2, tiene en cuenta, no únicamente el número de semillas germinadas, sino también la elongación radicular, en este caso, durante los primeros cinco días desde la siembra. Este I_g se expresa en porcentaje, haciendo I_g = 100% el valor del tratamiento control (sin aplicación de sustancias húmicas ni NaCl).

En las Figuras IV.40 a IV.46 y el Apéndice IV se pueden ver los resultados obtenidos en relación a este parámetro. Agrupando los resultados en función del origen de la sustancia húmica empleada, vemos que ninguno de los tratamientos con los productos procedentes de lignitos (L1, L7 y L8) generan incrementos significativos respecto a sus homólogos salinos. En estas condiciones podemos decir que no hay mejora de la germinación, en un medio salino a 3 o 6 mS cm^{-1} por la aplicación de sustancias húmicas procedentes de lignitos.

Sin embargo los resultados obtenidos con los productos comerciales procedentes de residuos vegetales son totalmente diferentes. Las muestras RV1 y RV3 mejoran significativamente el porcentaje de I_g en los dos niveles salinos, tanto en el de baja como en el de alta conductividad. Se puede ver en las Figuras IV.43 a IV.45 como los valores del índice de germinación de los tratamientos S1+H y S2+H son significativamente superiores a sus homólogos respectivos S1 y S2. Para la muestra RV2, dicha mejora sólo aparece para el nivel salino bajo.

De la misma manera, los tratamientos con sustancias húmicas procedentes de turba mejoran el I_g, aunque en este caso, sólo en el primer nivel salino, el más bajo (3 mS cm^{-1}). Todas estas mejoras en el I_g provocadas por los productos comerciales procedentes de residuos vegetales

y turbas, aunque en ningún caso proporcionan valores de germinación significativamente iguales al del control, indican la existencia de cierto efecto bioprotector de dichos materiales sobre este proceso del desarrollo vegetal, cuando se produce en condiciones de estrés salino.

Los efectos bioestimulantes de las sustancias húmicas sobre la germinación han sido justificados por diversos autores (Smidova, 1962; Jurcsik, 1994; Lovley et al., 1996) por la generación de estímulos en la actividad enzimática de las semillas, así como por la presencia en el material húmico de radicales semiquinónicos libres los cuales son capaces de intervenir en las cadenas respiratorias incrementando el suministro de energía a las células. Según Hernández et al. (1993) el principal mecanismo de toxicidad específica causada por NaCl es la elevada generación de radicales superóxido (O_2^{-}•) que provocan un estrés oxidativo en las mitocondrias.

Se sugiere por tanto, que el efecto bioprotector demostrado por las sustancias húmicas comerciales procedentes de turbas y residuos vegetales sobre la germinación en medio salino, se deba a la captura de los radicales libres generados por la toxicidad de NaCl, por parte de los presentes en las sustancias húmicas. De esta manera el estrés oxidativo de la mitocondria se vería disminuido.

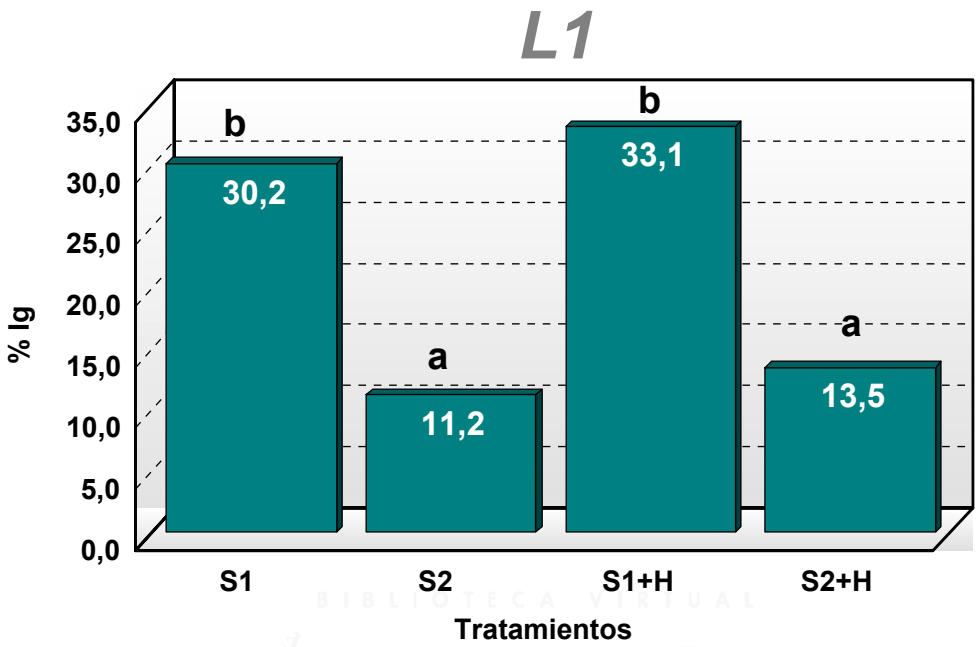


Figura IV.40. Índice de germinación.

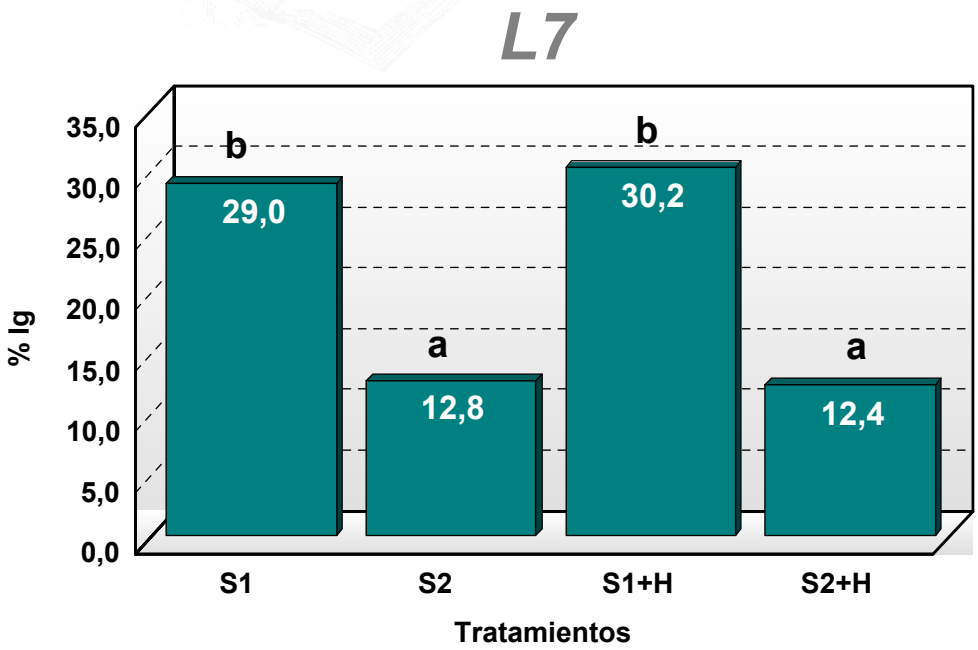


Figura IV.41. Índice de germinación.

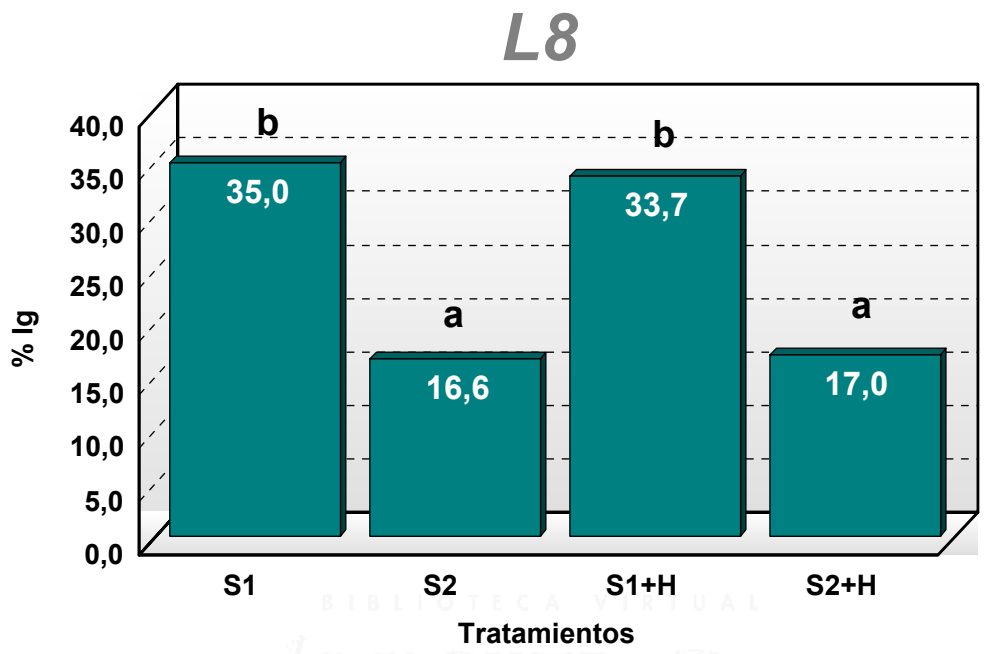


Figura IV.42. Índice de germinación.

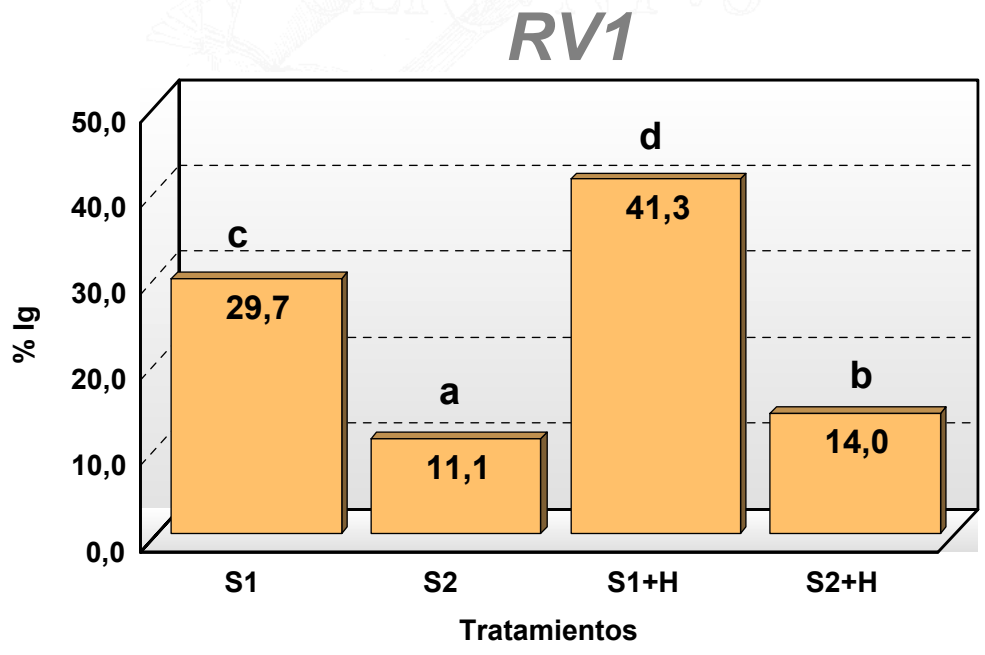


Figura IV.43. Índice de germinación.

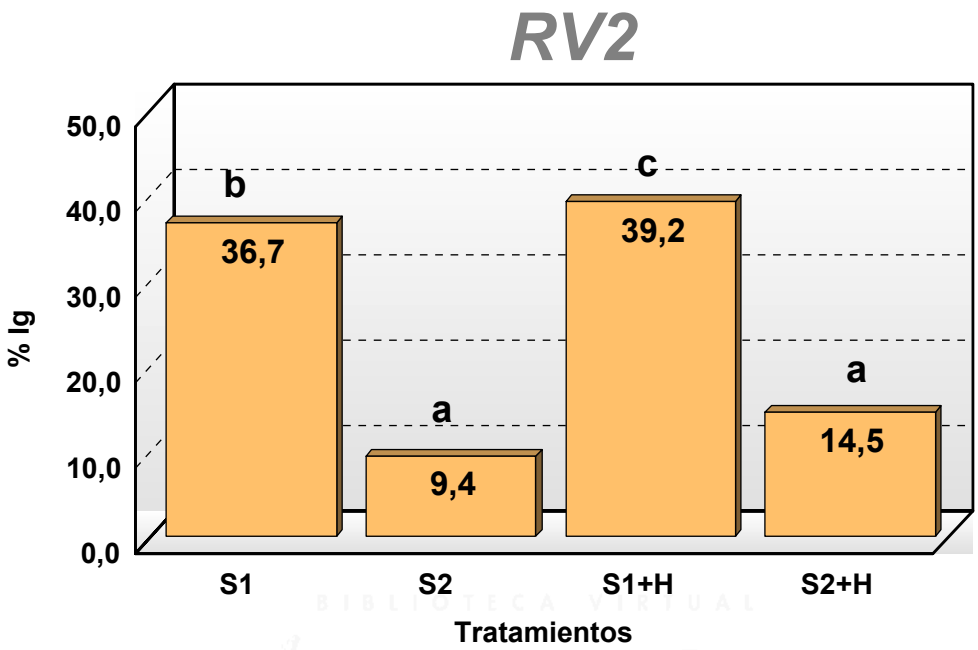


Figura IV.44. Índice de germinación.

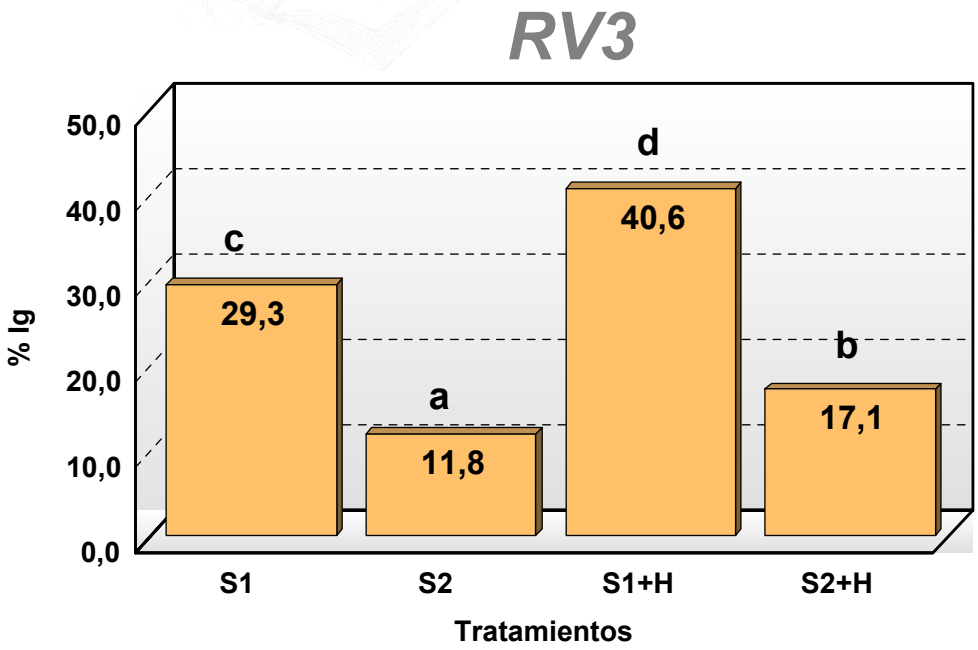


Figura IV.45. Índice de germinación.

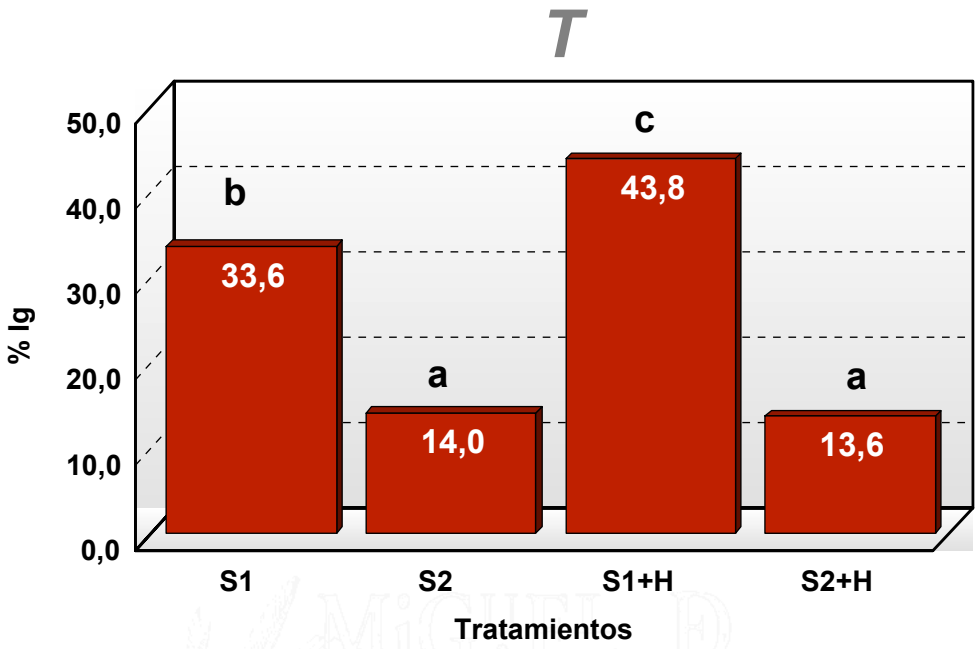


Figura IV.46. Índice de germinación.

IV.4.-Cuarta experiencia. Ensayo en cámara de cultivo.

El último de los ensayos de este trabajo es el que hemos denominado *Ensayo en cámara de cultivo*, el cual como ya se ha mencionado, responde a los objetivos planteados en la segunda línea de investigación. Con este ensayo tratamos de determinar cuál es el efecto de las sustancias húmicas comerciales sobre algunos parámetros bioquímicos y nutricionales de plántulas de tomate cv. Daniela que se desarrollan en un medio salino. Los parámetros bioquímicos analizados (contenidos foliares de glucosa, fructosa, sacarosa y prolina) tienen que ver con el estado osmótico de la planta, es decir, con los mecanismos de defensa de la planta ante situaciones de estrés salino.

En el anterior ensayo se ha visto como las sustancias húmicas comerciales, particularmente las procedentes de residuos vegetales y turbas, pueden mejorar la germinación de semillas de tomate en medio salino. Ahora se verá cual es el efecto de la aplicación foliar de estos productos sobre la osmorregulación y la nutrición de este cultivo en las condiciones anteriormente descritas.

IV.4.1.-Parámetros fisiológicos. Osmorreguladores.

En el apartado II.4.2 ya se ha comentado que las plantas son capaces de desarrollar diferentes mecanismos de adaptación y defensa frente a las condiciones de estrés salino del medio radicular (Marschner, 1986; Poljakoff-Mayber, 1994). De todos ellos, la planta de tomate utiliza, en mayor medida, el que consiste en la acumulación en sus células, de lo que se denominan “solutos compatibles”, “osmolitos” u “osmorreguladores” (Pollard et al., 1979; Heuer, 1994). La planta de tomate sometida a estrés salino acumula diversos solutos como: prolina, fructosa, glucosa y sacarosa (Pérez-Alfocea et al., 1996;

Balibrea et al. 1997). La exaltación de la síntesis de estos osmorreguladores se lleva a cabo en la planta con un elevado coste energético (Heuer, 1994; Heuer, 1998) de manera que tanto el desarrollo vegetativo como los rendimientos productivos de la misma se ven afectados negativamente (Mizrahi et al., 1988).

Por ello, con esta experiencia tratamos de determinar cómo afectan las aplicaciones foliares de sustancias húmicas comerciales a las concentraciones de osmolitos, ya que estos productos muestran propiedades bioprotectoras frente a las condiciones adversas de salinidad del medio.

Conviene mencionar en este punto que las plántulas de tomate empleadas no mostraron, a simple vista, diferencias de desarrollo entre los diferentes tratamientos durante el tiempo que duró el ensayo (1 mes), con la excepción de las plantas del tratamiento control no salino, las cuales mostraban un mayor crecimiento que el resto.

IV.4.1.1.-Glucosa.

La Figura IV.47 y el Apéndice V reflejan los resultados del análisis foliar de glucosa. En primer lugar se observa que el aumento de la conductividad de la disolución nutritiva de riego (tratamientos S1 y S2) incrementa sensiblemente los niveles de glucosa en hoja respecto al tratamiento control (Ctrl), tal y como se esperaba (Pollard et al., 1979; Heuer, 1994).

Si se observan los resultados agrupados de cada nivel salino se puede ver como, para el nivel salino bajo S1 (3 mS cm^{-1}) la aplicación foliar de sustancias húmicas comerciales reduce los contenidos en hoja de glucosa a niveles significativamente iguales a los del tratamiento control, aunque los descensos de glucosa respecto de S1 provocados por los tratamientos con sustancias húmicas procedentes de lignitos y residuos vegetales 1, no son

estadísticamente significativos a este nivel.

Sin embargo, cuando se observan los resultados correspondientes al nivel salino alto S2 (6 mS cm^{-1}) vemos como la aplicación de sustancias húmicas procedentes de lignitos no varía la concentración foliar de glucosa, de manera que ésta se mantiene al nivel de las plantas del tratamiento S2. En cambio las aplicaciones de sustancias húmicas procedentes de residuos vegetales y turba hacen descender esas concentraciones a niveles significativamente iguales a los del tratamiento control (aunque en el caso del tratamiento con RV2 dicho descenso no sea significativo).

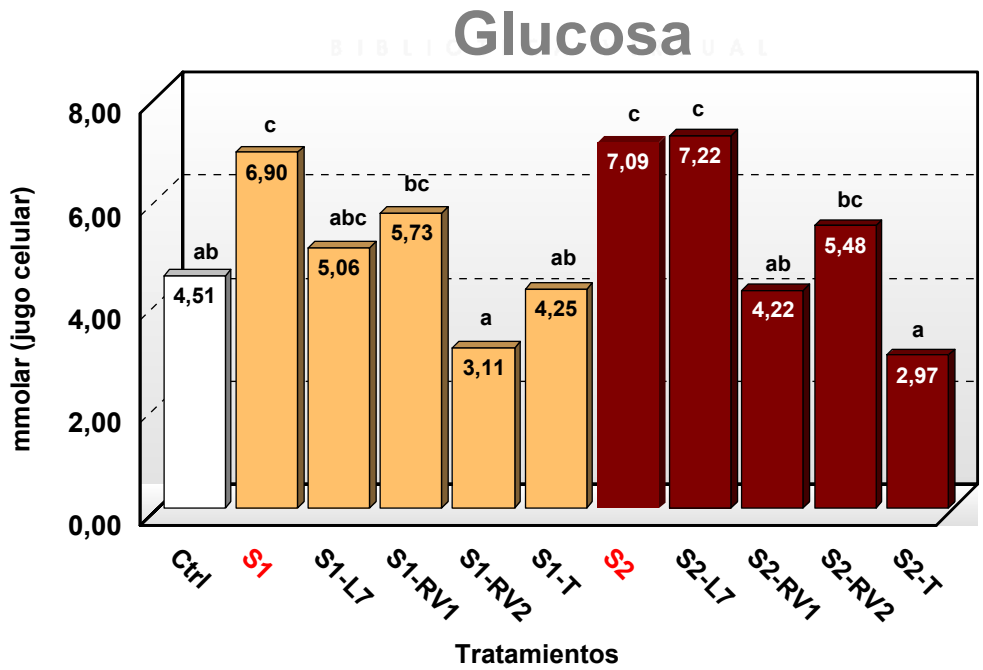


Figura IV.47. Niveles de osmolitos en los diferentes tratamientos.

Es decir, la aplicación foliar de sustancias húmicas comerciales, en concreto las procedentes de residuos vegetales y turbas, hace innecesaria la síntesis en exceso de este osmorregulador, de manera que se reducen las

concentraciones foliares de glucosa hasta niveles iguales a los de las plantas que crecen en un medio no salino. Así, la planta continúa su desarrollo en un medio salino ahorrándose la síntesis extra de dicho osmolito, ya que las sustancias húmicas le proporcionan la osmorregulación necesaria para su desarrollo adecuado.

IV.4.1.2.-Fructosa.

Los resultados de la concentración foliar del segundo de los osmorreguladores analizados, la fructosa, se encuentran en la Figura IV.48 y el Apéndice V. De nuevo, se observa que los tratamientos salinos S1 y S2 incrementan los contenidos de fructosa en hoja respecto al tratamiento control. Así mismo, se puede comprobar como las aplicaciones foliares de sustancias húmicas comerciales de los tres orígenes, reducen dicha concentración, en el grupo tratamientos correspondientes a la conductividad de la disolución nutritiva de 3 mS cm^{-1}, hasta niveles significativamente iguales al control. La muestra RV2 es la que causa un descenso mayor de la concentración foliar de fructosa a esta salinidad.

Por otro lado, en el grupo de resultados correspondientes a la salinidad de riego mayor (6 mS cm^{-1}), además del tratamiento con sustancias húmicas procedentes de lignitos, como ocurría en el caso de la glucosa, el realizado con sustancias húmicas procedentes de residuos vegetales RV1 no son capaces de rebajar la concentración foliar de fructosa, mientras que las aplicaciones foliares de sustancias húmicas procedentes de residuos vegetales RV2, y procedentes de turba T, sí que reducen los contenidos de fructosa hasta situarlos en niveles de significación iguales a los del control, siendo, en este caso la muestra de turba, la que produce un descenso mayor.

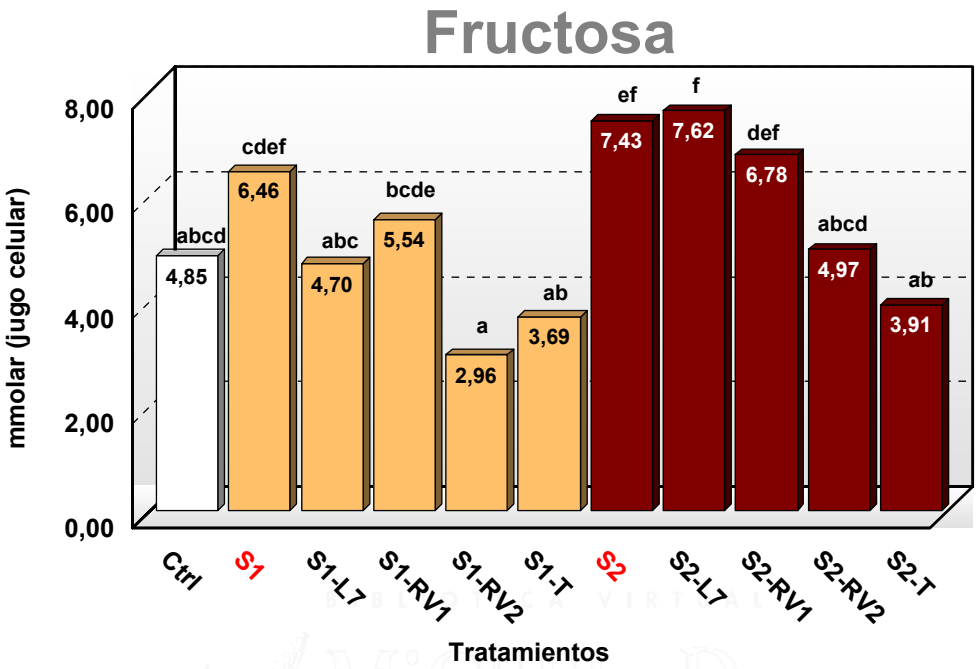


Figura IV.48. Niveles de osmolitos en los diferentes tratamientos.

IV.4.1.3.-Sacarosa.

Otro de los azúcares empleados por la planta de tomate como osmorregulador en casos de desarrollo en condiciones salinas es la sacarosa (Pérez-Alfocea et al., 1996). Sus resultados se encuentran en la Figura IV.49 y el Apéndice V.

La sacarosa es utilizada por la planta como osmolito en menor medida que glucosa y fructosa, y como se verá después, mucho menos que la prolina. Su determinación mediante cromatografía HPLC fue complicada debido a que los picos del cromatograma eran de gran anchura y de poca altura. Por ello los resultados se han de tomar con cierta precaución. Sin embargo, se han incluido ya que la tendencia de los mismos en el grupo de tratamientos correspondientes al nivel de salinidad mayor (6 mS cm^{-1}) guarda gran similitud

a los vistos anteriormente para glucosa y fructosa. En este caso, sin embargo, el tratamiento S2 no aumenta los contenidos de sacarosa significativamente respecto al control. Pero se puede ver como la aplicación de sustancias húmicas procedentes de lignitos mantiene la concentración de sacarosa respecto a S2, mientras que RV1, RV2 y T la reducen ampliamente, llegando incluso a niveles demasiado bajos (muy por debajo del control para el caso de las sustancias húmicas de turba).

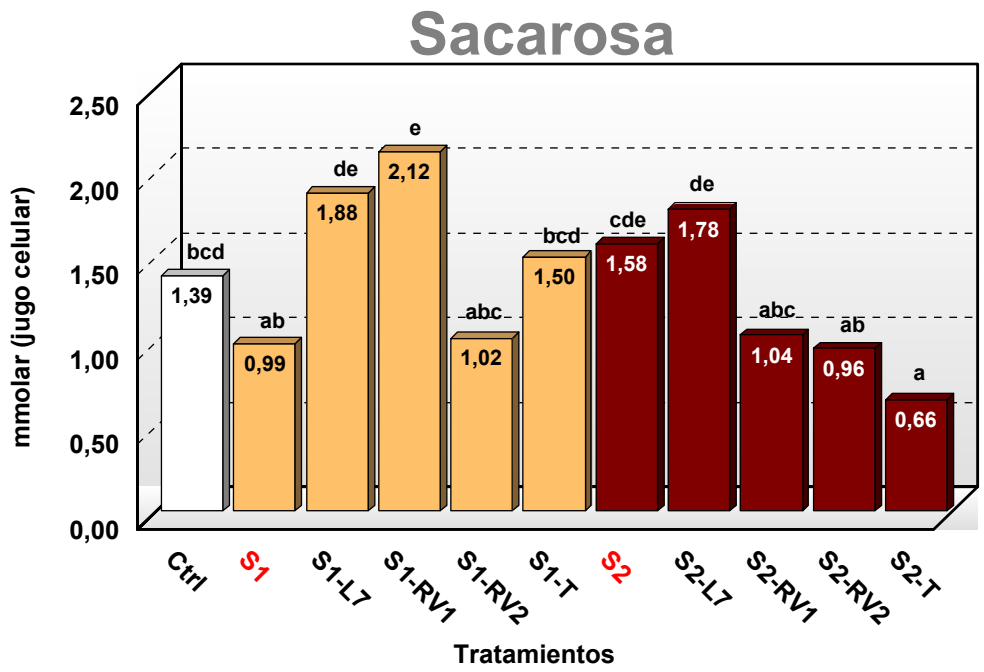


Figura IV.49. Niveles de osmolitos en los diferentes tratamientos.

IV.4.1.4.-Prolina.

Al contrario que la sacarosa, la prolina es uno de los metabolitos osmorreguladores por excelencia de la planta de tomate. Sin embargo tal y como se puede comprobar en la Figura IV.50 y el Apéndice V su efecto osmorregulador no se manifiesta a niveles bajos de salinidad como el S1, para el cual, las concentraciones de este aminoácido, en las hojas no varían significativamente respecto al control. Tan solo en el caso de las plantas del tratamiento con sustancias húmicas RV1 existe cierto descenso de prolina, que no es significativo estadísticamente.

Es para los tratamientos con disolución nutritiva de salinidad alta (S2) cuando el efecto osmorregulador de la prolina se manifiesta más claramente. Se puede ver como de una concentración de 2,74 *mmol / kg m.s.* en las plantas control se pasa a 16,58 *mmol / kg m.s.* para las del tratamiento S2. A continuación se comprueba como los tratamientos con sustancias húmicas van reduciendo estas concentraciones, siendo significativas estas reducciones para RV1, RV2 y T, mientras que para L7, tal y como ha venido ocurriendo en los casos anteriores, dicho descenso no es significativo.

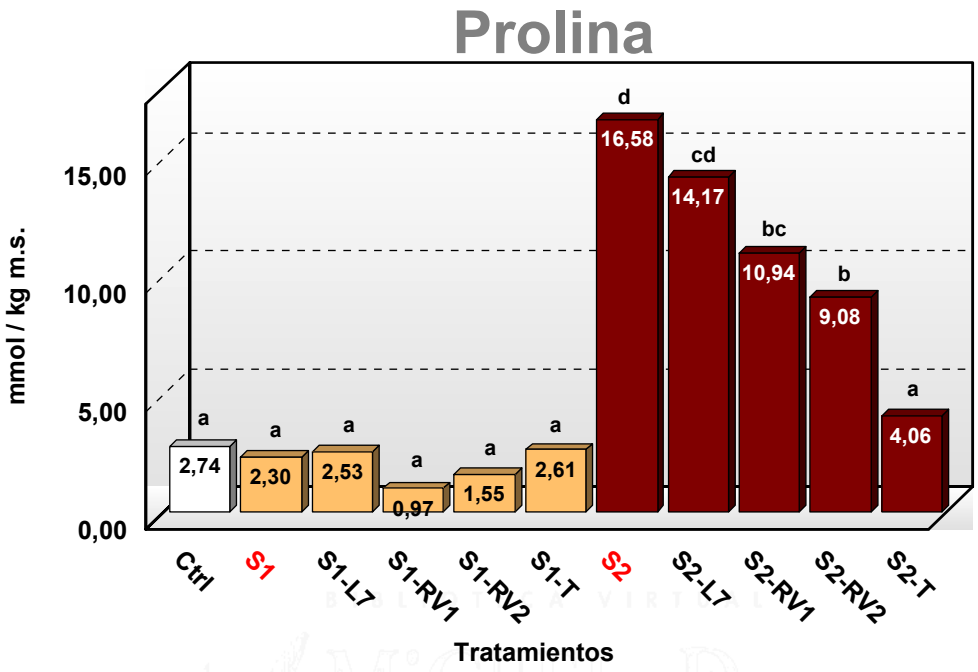


Figura IV.50. Niveles de osmolitos en los diferentes tratamientos.

Estos resultados concuerdan con los encontrados por Abd El-Samad (1994) al trabajar con plantas de pepino en medio salino (NaCl) a las que aplicaba foliarmente disoluciones de piruvato sódico con el fin de aliviar los síntomas de la salinidad. Las plantas tratadas con piruvato, cuyos parámetros de desarrollo y nutrición eran mejores que los de las no tratadas, mostraban a su vez descensos de las concentraciones de prolina en hojas y raíces respecto de estas últimas.

De los resultados expuestos en relación a los contenidos foliares de osmorreguladores concluimos que las sustancias húmicas procedentes de turbas son las más eficaces reduciendo las concentraciones de osmolitos a niveles de la misma significación que el tratamiento control. Por otro lado, las

sustancias húmicas procedentes de residuos vegetales, en general, también presentan dicho efecto bioprotector. Sin embargo, la muestra de sustancias húmicas de lignitos empleada no influye significativamente en los contenidos foliares de los osmolitos analizados. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en el ensayo de germinación en el cual, tanto las sustancias húmicas de residuos vegetales como las de turba mejoran la germinación y el desarrollo radicular primario en medio salino, mientras que las procedentes de lignitos no.

IV.4.2.-Parámetros nutricionales.

IV.4.2.1.-Macronutrientes.

Con relación a los contenidos foliares de macronutrientes, cuyos resultados se reflejan en la Tabla IV.16 y en el Apéndice V, destaca el caso del P. En primer lugar, se puede ver como los tratamientos correspondientes al nivel salino bajo (3 mS cm^{-1}) no afectan en ningún sentido a la absorción de P por la planta. Sin embargo, el nivel salino alto (S2) sí reduce la absorción de P por la planta. Este hecho está de acuerdo con los trabajos de Martínez et al. (1991) en plantas de algodón que se desarrollan en medio salino, donde tratamientos salinos (6 mS cm^{-1}) reducen significativamente la concentración foliar de este macronutriente. De la misma manera, también concuerda con las investigaciones de Awad et al. (1990), el cual encontró descensos en la concentración foliar así como en la eficiencia de utilización de P, en plantas de tomate que crecen en sustratos con concentraciones de NaCl 50 y 100 mM. La aplicación foliar de sustancias húmicas de turba a las plantas sometidas a este nivel salino ha incrementado la absorción de P, proporcionando niveles de P foliares de la misma significación que los de las plantas control.

Los contenidos de potasio (que son algo bajos según las referencias de Cadahía et al., 1988) no sufren variaciones significativas para el nivel salino alto, mientras que en el nivel salino bajo se observa un aumento de la absorción de dicho nutriente (S1), que es incluso superior cuando se aplican sustancias húmicas procedentes de lignitos (S1-L7). Los otros tres tratamientos húmicos mantienen las concentraciones de K al nivel del tratamiento control, aunque la muestra RV1 proporciona un nivel algo inferior.

Para el calcio, no se observan diferencias significativas entre el tratamiento control y los tratamientos salinos (S1 y S2). Sólo la combinación de algunos tratamientos salinos con aplicación de sustancias húmicas (S1-L7, S1-RV2, S2-RV2 y S2-T) hacen disminuir las concentraciones foliares de este elemento esencial. El descenso general de los niveles de Ca en hoja que aparecen con los tratamientos salinos son debidos al exceso de Na en la disolución nutritiva y al antagonismo Na^{+} / Ca^{2+} (Maas, 1993), por el que se ve favorecida la absorción de Na.

Las concentraciones foliares de Mg no presentan oscilaciones significativas por la aplicación de los diferentes tratamientos, salvo para las plantas S1-RV2, cuyos niveles de Mg son menores que para S1 (aunque mantienen el mismo nivel de significación que el control).

En último lugar, los resultados correspondientes al Na son los que se pueden ver en la Tabla IV.16. Por un lado, las plantas correspondientes al grupo de tratamientos S1 muestran incrementos de Na foliar, que aunque, en algunos casos, doblen a los del tratamiento control, no son significativamente superiores a éste. En cambio, los tratamientos pertenecientes al grupo S2 rinden niveles de Na foliar muy superiores al control y al grupo S1. Al contrario que en los dos primeros ensayos, así como en los trabajos de Cuesta (1994), aquí no se observa que los niveles de Na en hoja disminuyan por la aplicación de sustancias húmicas vía foliar. Es posible que este hecho se deba a que el efecto de la aplicación foliar de sustancias húmicas sobre los contenidos de Na

en hoja se manifieste en etapas del desarrollo más tardías (momento en el que se hizo el análisis foliar de las dos primeras experiencias) y no durante el primer mes de cultivo, que es cuando se han realizado los análisis en este ensayo.

Tabla IV.16. Niveles foliares de macronutrientes expresados en % sobre materia seca.

Tratamientos	P	K	Ca	Mg	Na
Ctrl	0,23 de	2,6 abc	3,5 e	0,48 abc	0,22 a
S1	0,24 e	3,9 de	3,2 de	0,59 c	0,41 a
S1-L7	0,25 e	4,6 e	2,9 abcd	0,52 bc	0,38 a
S1-RV1	0,25 e	1,8 a	3,5 e	0,37 a	0,29 a
S1-RV2	0,23 de	3,2 cd	2,5 a	0,46 abc	0,45 a
S1-T	0,21 cde	2,7 bc	3,3 de	0,46 abc	0,36 a
S2	0,17 ab	2,2 ab	3,1 cde	0,50 abc	1,26 b
S2-L7	0,19 abc	2,2 ab	3,2 de	0,49 abc	1,08 b
S2-RV1	0,20 bcd	2,5 abc	3,0 bcde	0,49 abc	1,24 b
S2-RV2	0,16 a	2,4 ab	2,6 abc	0,42 ab	1,46 b
S2-T	0,22 cde	2,5 abc	2,6 ab	0,47 abc	1,46 b

IV.4.2.2.-Micronutrientes.

La Tabla IV.17 y el Apéndice V muestran los resultados del análisis foliar para micronutrientes. En ella se puede ver en primer lugar, los valores de Fe foliar. Respecto al control no salino, vemos como los dos tratamientos salinos S1 y S2 disminuyen claramente las concentraciones en hoja de este micronutriente. En general, incrementos en la salinidad del sustrato de cultivo

se correlacionan con inhibiciones en la absorción de micronutrientes (Cramer et al., 1992). Observando primero el grupo de tratamientos S1 se comprueba como, si bien las aplicaciones de sustancias húmicas procedentes de lignitos no recuperan los niveles de Fe, las dos procedentes de residuos vegetales y la de turba sí lo hacen, llegando incluso a valores superiores al propio tratamiento control, como en el caso de RV1. Estos resultados vuelven a mostrar (IV.2.4.2) la capacidad de las sustancias húmicas para mejorar la nutrición férrica de los cultivos (Dekock, 1955; Aso et al., 1963; Lee et al., 1976; David et al., 1994), que en este caso se manifiesta, incluso en una situación de estrés salino. Resultados similares se observan en el grupo de tratamientos S2, aunque en este caso de manera menos acusada.

Observando los niveles foliares de Mn, se comprueba que éstos son muy sensibles a los tratamientos salinos, ya que en todos los casos, salvo en S2-RV2, disminuyen claramente respecto al tratamiento control, resultados concordantes con los estudios de Cramer et al. (1992) sobre Mn y estrés salino, y las aplicaciones de sustancias húmicas, de cualquiera de los tres orígenes, no consiguen recuperar dichos niveles.

Para el Cu, vemos como los niveles salinos aplicados no afectan a las concentraciones foliares de este elemento, incluso se observan ligeros aumentos, mientras que los tratamientos húmicos, particularmente en el grupo S1, aumentan estos niveles respecto al control (S1-L7, S1-RV1, S1-RV2 y S2-T).

Los análisis de Zn y B no presentan resultados significativos, salvo en tratamiento S1-RV1 cuyos niveles de B son anormalmente altos.

Tabla IV.17. Niveles foliares de micronutrientes expresados en ppm sobre materia seca.

Tratamiento	Fe	Mn	Cu	Zn	B
Ctrl	155 bcde	19 c	0,4583	89 abc	61 a
S1	105 a	0,4167	13 abc	80 ab	59 a
S1-L7	116 ab	11 ab	15 bc	76 a	58 a
S1-RV1	217 f	14 ab	28 d	103 c	79 b
S1-RV2	161 cde	13 ab	16 c	97 bc	62 a
S1-T	154 bcde	0,4167	14 abc	81 ab	54 a
S2	117 abc	0,4167	12 ab	82 ab	53 a
S2-L7	145 abcde	13 ab	12 ab	80 ab	54 a
S2-RV1	134 abcd	12 ab	13 abc	83 ab	52 a
S2-RV2	183 ef	15 bc	13 abc	92 abc	61 a
S2-T	173 def	11 ab	16 c	97 bc	52 a

V.-CONCLUSIONES.

V.1.-Caracterización.

- Los productos procedentes de lignitos y turbas presentan pH y conductividades eléctricas muy elevadas debido al empleo de bases fuertes en su proceso de extracción, aunque este hecho no influye en su uso posterior, ya que las dosis empleadas son muy bajas.

- Algunos de los productos empleados no alcanzan el valor mínimo de *extracto húmico (15%)* establecido por la *Orden Ministerial de 28 de Mayo de 1998 (B.O.E. 2 Junio 1998)* para su comercialización como *"ácidos húmicos líquidos"*.

- En cuanto a los contenidos de nutrientes, las sustancias húmicas procedentes de residuos vegetales muestran contenidos de N, Na y Mg mayores y de Fe menores que las procedentes de lignitos.

V.2.-Ensayo introductorio.

- La aplicación foliar de sustancias húmicas comerciales a la dosis de **0,5%** (v/v) genera efectos inhibitorios en la producción de materia vegetal fresca y seca y en los rendimientos productivos. Estos efectos de inhibición son más acusados para los productos procedentes de residuos vegetales y turba.

- La influencia de las sustancias húmicas comerciales sobre los parámetros de calidad de frutos se traduce en un aumento de la acidez,

la conductividad eléctrica, los sólidos solubles y la vitamina C. Estos efectos son más claros para las sustancias húmicas procedentes de lignitos y para alguna de los procedentes de residuos vegetales.

- El resultado más relevante del análisis foliar muestra que la aplicación foliar de sustancias húmicas comerciales, a la dosis empleada, procedentes de residuos vegetales y turbas, reducen significativamente los contenidos de Na en hoja. Para las sustancias húmicas de lignitos el descenso es menor.

V.3.-Ensayo dosis.

- La aplicación foliar de una sustancia húmica de lignitos en un intervalo de dosis bajas aumenta la producción de biomasa fresca y seca. Sin embargo la tendencia de los resultados no sigue la periodicidad mostrada por otros autores, de manera que aparecen dos máximos relativos de producción de biomasa a dos dosis diferentes: 0,005% y 0,15% (v/v).

- La concentración foliar de clorofilas totales, *a* y *b* aumenta paulatinamente conforme crece la dosis de aplicación de sustancias húmicas.

- La determinación de ácidos orgánicos en savia muestra que, en general, la aplicación foliar de sustancias húmicas reduce los niveles de estos ácidos.

- La aplicación foliar de sustancias húmicas comerciales de lignitos en

dosis creciente no influye en los rendimientos productivos de un cultivo sin suelo de tomate cv. Daniela fertirrigado. Sin embargo, parámetros de calidad nutricional de los frutos se ven estimulados (vitamina C, azúcares y proteínas totales) aunque a diferentes dosis.

Destaca el caso de las proteínas totales en fruto, cuyos contenidos aumentan considerablemente a dosis bajas y se mantienen durante todo el intervalo ensayado.

- La absorción de Fe por parte de la planta se ve estimulada por la aplicación foliar de sustancias húmicas comerciales de lignitos en dosis creciente hasta alcanzar un máximo a la dosis de 0,15% (v/v).

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

V.4.-Ensayo germinación.

- La aplicación de sustancias húmicas comerciales de distintos orígenes mejora la germinación de semillas de tomate cv. Daniela, siendo el producto procedente de turba el más efectivo a una dosis menor (0.001% v/v), las de residuos vegetales muestran su dosis óptima a 0.01%, mientras que las de lignitos son más heterogéneas en cuanto a la dosis óptima, encontrándose que cada producto ejerce la máxima mejora de la germinación a una dosis diferente.

- Las sustancias húmicas procedentes de turbas y residuos vegetales mejoran el porcentaje de germinación y el índice de germinación en medio salino bajo (3 mS cm^{-1}) en incluso, en algunos casos, al nivel alto (6 mS cm^{-1}). Por contra, las procedentes de lignitos sólo lo hacen en algún caso y para el nivel salino bajo.

V.5.-Ensayo en cámara de cultivo.

- La aplicación foliar de sustancias húmicas comerciales de residuos vegetales y turba ejerce un efecto bioprotector sobre plántulas de tomate cv. Daniela que crecen en medio salino (3 y 6 mS cm^{-1}) ejerciendo como osmorreguladores y evitando a la planta la síntesis en exceso de osmolitos como glucosa, fructosa y prolina.
  Este hecho es particularmente claro para el caso del análisis de prolina. Este osmolito sólo se sintetiza en el nivel salino alto y las aplicaciones de sustancias húmicas de residuos vegetales y turbas reducen su concentración en hoja, incluso hasta niveles iguales a los del control como en el caso de las sustancias húmicas de turba.

- La nutrición férrica del cultivo de tomate cv. Daniela que se desarrolla en medio salino mejora significativamente por la aplicación foliar de sustancias húmicas. Así mismo, en algunos casos, la absorción de P también se ve estimulada.

VI.-BIBLIOGRAFÍA.

- ABD EL-SAMAD, H.M. 1994. The effect of NaCl salinity and sodium pyruvat on growth of cucumber plant. Acta Societatis Botanicorum Poloniae. 63, 3-4, 299-302.

- AIKEN, G.R., McKNIGHT, D.M., WERSHAW, R.L. y MaCCARTHY, P. 1985. In G.R. Aiken D.M. McKnight, R.L. Wershaw, P. MacCarthy (Eds.) Humic Substances in Soil, Sediment, and Water, John Wiley, New York, 1-9.

- ALBUZIO, A., CONCHERI, G., NARDI, S., DELL'AGNOLA, G. 1994. Effect of humic fractions of different molecular size on the development of oat seedlings grown in varied nutritional conditions. In N. Senesi, T.M. Miano (Eds.) Humic substances in the global environment and implications on human health. Elsevier Science B.V. Amsterdam.

- ALIEV, S.A. 1983. Paramagnetic properties and physiological activity of humous substances. In Teoriya deystviya fiziologicheski aktivnykh veshcehstv. Tr. DSKhI, Vol. 8. Dnepropetrovsk, 78-80.

- A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis. Vol II. 15th Edition. Ed. Kenneth Helrich. Arlington, Virginia, EE.UU.

- ARNON, D.I. 1949. Copper enzymes and isolated chloroplasts. Plant Physiology. 24, 1-15.

- ASO, S. y SAKAI, I. 1963. Studies on the physiological effects of humic acid. 1. Uptake of humic acid by crop plants and its physiological effects. Soil Sci. Plant Nutr. 9, 85-91.

- AWAD, A.S., EDWARDS, D.G. y CAMPBELL, L.C. 1990. Phosphorus enhancement of salt tolerance of tomato. Crop Sci. 30, 123-128.

- AYUSO, L.M. 1995. Utilización de residuos urbanos como enmiendas orgánicas sólidas y líquidas: Valoración agronómica y efectividad frente a enmiendas tradicionales. Tesis Doctoral. CEBAS-CSIC. Murcia.

- BALAGUER, J. 1996. Nutrición y fisiología en plantas de tomate tratadas con níquel. Tesis de Licenciatura. Departamento de Agroquímica y Bioquímica. Universidad de Alicante.

- BALIBREA, M.E., CAYUELA, E., ARTÉS, F. y PÉREZ-ALFOCEA, F. 1997. Salinity effects on some postharvest quality factors in a commercial tomato hybrid. Journal of Horticultural Science, 72 (6) 885-892.

- BARCELÓ, J., NICOLÁS, G., SABATER,B. y SÁNCHEZ, R. 1988. Fisiología vegetal. Ed. Pirámide S.A. Madrid.

- BARÓN, R. BENÍTEZ, I.C. y GONZÁLEZ, J.L. 1995. Influencia de la dosis creciente de un abono orgánico en un cultivo de trigo. Agrochimica XXXIX, 5-6; 280-289.

- BECKWITH, R.S. y NAYYAR, V.K. 1984. Extraction of soil organic matter under chemically mild conditions. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 15(3), 295-307.

- BENNETT, W.F. 1993. Nutrient deficiencies & toxicities in crop plants. Ed. The American Phytopatological Society. St. Paul, Minnesota.

- BERGMANN, W. 1992. Nutritional disorders of plants. Development, visual and analytical diagnosis. Ed. Gustav Fischer. Stuttgart.

- BERMÚDEZ, D., JUÁREZ, M., SÁNCHEZ-ANDREU, J. y JORDÁ, J. 1993. Role of EDDHA and humic acids on the solubility of soil phosphorus. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 24 (7&8) 673-683.

- BERNSTEIN, L. 1961. Osmotic adjustment of plants to saline media. I. Steady state. Am. J. Bot. 48, 909-918.

- BIONDI, F.A., FIGLIOLIA, A., INDIATI, R. y IZZA, C. 1994. Effects of fertilization with humic acids on soil and plant metabolism: a multidisciplinary approach. Note III: Phosphorus dynamics and behaviour of some plant enzymatic activities. In N. Senesi, T.M. Miano (Eds.) Humic substances in the global environment and implications on human health. Elsevier Science B.V. Amsterdam.

- B.O.E., 2 junio 1998, Número 131. Fascículo primero. 18028-18078.

- BRADFORD, M.M. 1976. A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72, 248-254.

- BRENNER, J.M. 1950. Journal Soil Science, 1, 198.

- BROWNELL J.R., NORDSTROM, G., MARIHART, J. y JORGENSEN, G. 1987. Crop responses from two new leonardite extracts. Sci. Total Environment, 62, 492-499.

- BRUINSMA, J. 1963. The quantitative analysis of chlorophyls *a* and *b* in plant extracts. Photochem. and Photobiol. 2, 241-249.

- BUKVOVA, M. y TICHY, V. 1967. The effect of humus fractions on the phosphorylase activity of wheat (*Triticum aestivum* L.). Biol. Plant. 9, 401-406.

- BURNELL, J.N. 1988. The biochemistry of Mn in plants. In Manganese in Soils and Plants. Graham, R.D., Hannam R.J. y Uren, N.C. Eds. 125-137. Kluwer Academic, Dordrecht.

- CADAHIA, C. 1997. Fertirrigación. Cultivos hortícolas y ornamentales.

Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.

- CADAHÍA, C., SARRO, M.J., GÁRATE, A., MASAGUER, A., PEÑALOSA, J., DE LA TORRE, F., LUCENA, J., SEGURA, M.L. y GARCÍA., M. 1988. Fertilización en riego por goteo de cultivos hortícolas. ERT. UAM. Madrid.

- CARLSEN, L., LASSEN, P., WARWICK, P. y RANDALL, A. 1994. Radio-labelled humic and dulvic acids: a new approach to studies on environmental fate of pollutants. In N. Senesi, T.M. Miano (Eds.) Humic substances in the global environment and implications on human health. Elsevier Science B.V. Amsterdam.

- CHAMINADE, R. 1956. Humus et fertilité des sols. 6 Congr. Du sol. Paris, 4 comm.

- CHAPMAN, V.J. 1960. Salt marshes and salt deserts of the world. Plant Science Monographs. Leonard Hill Books, Interscience, New York.

- CHEN, Y. y KATAN, J. 1980. Effects of solar heating of soils by transparent polyethylene mulching on their chemical properties. Soil Sci. 130, 271-277.

- CHEN, Y. MAGEN, H. y RIOV, J. 1994. Humic substances originating from rapidly decomposing organic matter: properties and effects on plant growth. In N. Senesi, T.M. Miano (Eds.) Humic substances in the global environment and implications on human health. Elsevier Science B.V. Amsterdam.

- CHEN, Y. y SCHNITZER, 1978. The surface tension of aqueous solutions of soil humic substances. Soil Sci. 125, 7-15.

- CHEN, Y. y STEVENSON, F.J. 1986. Soil organic matter interaction with trace elements. p. 73-116. In Y. Chen y Y. Avnimelech (Eds.) The role of organic matter in modern agriculture. Martinus Nijhoff Publ., Dordrecht.

- CHUKOV, S.N.,TALISHKINA, V.D. y NADPOROZHZKAYA, M.A. 1996. Physiological activity of growth stimulators and of soil humic acids. Eurasian Soil Science, 28 (4), 30-39.

- CRAMER, G.R. y NOWAK, R.S. 1992. Supplemental manganese improves the relative growth, net assimilation and photosynthetic rates of salt-stressed barley. Physio. Plant. 84, 600-605.

- CSICSOR, J., GERSE, J. y TITKOS, A. 1994. The biostimulant effect of different humic substance fractions on seed germination. In N. Senesi, T.M. Miano (Eds.) Humic substances in the global environment and implications on human health. Elsevier Science B.V. Amsterdam.

- CUESTA, A. 1994. Aplicación a suelos calizos de fertilizantes fosforados en combinación con ácidos húmicos. Tesis Doctoral. Departamento de Agroquímica y Bioquímica. Universidad de Alicante. Alicante.

- DAVID, P.P., NELSON, P.V. y SANDERS D.C. 1994. A humic acid improves growth of tomato seedling in solution culture. Journal of Plant Nutrition 17 (1) 173-184.

- DEKOCK, P.C. 1955. The influence of humic acids on plant growth. Science (Washingtong D.C.) 121, 473-474.

- DE LIÑÁN, C. 1998. Vademecum de productos fitosanitarios y nutricionales. Ediciones Agrotécnicas S.L.14ª edición. Madrid.

- DELL'AGNOLA, G. y FERRARI, G. 1971. Effect of humic acids on anion uptake by excised barley roots. In Humic et Planta. V: 567-569.

- DELL'AMICO, C., MASCIANDARO, G., GANNI, A., CECCANTI, B., GARCÍA, C., HERNÁNDEZ, T. y COSTA, F. 1994. Effects of specific humic fractions on plant growth. In N. Senesi, T.M. Miano (Eds.) Humic substances in the global environment and implications on human health.

Elsevier Science B.V. Amsterdam.

- DESCHAUER, H., HARTMANN, R., KÖGEL-KNABER, I. y ZECH, W. 1994. The influence of dissolved organic matter on the transport of polycyclic aromatic hydrocarbons in a forest soil under *Pinus sylvestris*. In N. Senesi, T.M. Miano (Eds.) Humic substances in the global environment and implications on human health. Elsevier Science B.V. Amsterdam.

- DE VOS, C.R., LUBBERING, H.J. y BIENFAIT, H.F. 1986. Rhizosphere acidification as a response to iron deficiency in bean plants. Plant Physiology 81, 842-846.

- DROZD, J. y WEBER. 1996. The role of humic substances in the ecosystem and in environmental protection. Proc. 8 Meeting of the International Humic Substances Society. Wroclaw.

- DUBBINI, G. 1995. Interés de los bioestimulantes. Hortoinformación, 9, 50-51.

- DUDLEY, L.M. 1994. Salinity in the soil environment. In M. Pessarakli (Ed.) Handbook of Plant and Crop Stress. Marcel Dekker, Inc. New York. 13-30.

- EL-GIZAWY, A.M. y ADAMS, P. 1986. Effect of temporary calcium stress on the calcium status of tomato fruit and leaves. Acta Horticulturae, 178, 261-266.

- FLAIG, W. 1958. Die cheimie organischer staffe Boden und deren phisiologische wurking. Vernaul 2, 4 komm. Bodenkindlicher. Hamburg.

- FLAIG, W. 1970. Effect of humic substances on plant metabolism. Proc. Second Int. Peat Congress. Leningrad, 579-606.

- FLOWERS, T.J., TROKE, P.F. y YEO, A.R. 1977. The mechanism of salt tolerance in halophytes. Annu. Rev. Plant Physiol. 28, 89-121.

- FRANCO, J.A. y BAÑÓN S. 1998. Posibilidades agrícolas de los ácidos húmicos comerciales. Horticultura, 69.

- FÜHR, F. y SAUERBECK, D. 1967. The uptake of colloidal organic substances by plant roots as shown by experiments with ^{14}C-labelled humus compounds. p. 73-82. In Report FAO/IAEA Meeting, Viena, Pergamon Press, Oxford.

- GALLARDO, J.F. 1980. El Humus. Investigación y ciencia. 46, 8-16.

- GALLI, E., CEGARRA, J. TOMATI, U. y ROIG, A. 1994. Effect of humified materials on plant metabolism. In N. Senesi, T.M. Miano (Eds.) Humic substances in the global environment and implications on human health. Elsevier Science B.V. Amsterdam.

- GARATE, A. y CARPENA R.O. 1984. Influencia del B sobre el Mn y otros nutrientes en jugos de tejidos conductores. Anal. Edaf. y Agrobiol. 43, 1467-1477.

- GARCÍA, D., CEGARRA, J., ABAD, M y FORNES, F. 1993a. Effects of the extractants on the characteristics of a humic fertilizer obtained from lignite. Bioresource Technology, 43, 221-225

- GARCÍA, D., CEGARRA, J. BERNAL, M.P. y NAVARRO, A. 1993b. Comparative evaluation of methods employing alkali and sodium pyrophosphate to extract humic substances from peat. Communications in soil science and plant analysis, 24 (13&14), 1481-1494.

- GARCÍA-SERNA, J., JUÁREZ, M., JORDÁ, J., SÁNCHEZ-ANDREU, J. 1996. Influence of organic compounds on nitrogen fertilizer solubilization. Commun Soil Sci. Plant Anal. 27 (11&12) 2485-2491.

- GAUR, A.C. 1964. Influence of humic acid on growth and mineral nutrition

in plants. Bull. Assoc. Fr. Etude Sol. 35, 207-219.

- GLASS, A.D.M. 1975. Phytochemistry, 14, 2127.

- GHOSH, K. y SCHNITZER, M. 1980. Soil Science, 129, 266-276.

- GUARDIOLA, J.L.; GARCÍA, A. 1990. Fisiología Vegetal I: Nutrición y Transporte. Ed. Síntesis. Madrid.

- GUMINSKY, S., SULEJ, J. y GLABISZEWSKI, J. 1983. Influence of sodium humate on the uptake of some ions by tomato seedlings. Acta Societatis Botanicorum Poloniae. 52, 149-164.

- HAFIDI, M., CHECKOURI, I., KAEMMERER, M., REVEL, J.C. y BAILLY, J.R. 1997. Effect of humic substances on phosphorous absorption in italian Ray-Grass. Agrochimica XLI, Nº 1-2, 42-49.

- HATCHER, P.G., FAULON, J.L., CLIFFORD, D.A. y MATHEWS, P. 1994. A three-dimensional structural model for humic acids from oxidized soil. In N. Senesi, T.M. Miano (Eds.) Humic substances in the global environment and implications on human health. Elsevier Science B.V. Amsterdam.

- HAYES, M.H.B. 1991. In W.S. Wilson (Ed.) Advances in soil organic matter research: the impact on agriculture and the environment. Royal Society of Chemistry, Cambridge, 3-22.

- HERNÁNDEZ, J.A., CORPAS, F.J., GÓMEZ, M., DEL RÍO, L.A. y SEVILLA, F. 1993. Salt induced oxidative stress mediated by activated oxygen species in pea leag mitochondria. Physiol. Plant. 89, 103-110.

- HEUER, B. 1994. Osmorregulatory role of proline in water and salt stressed plants. In M. Pessarakli (Ed.) Handbook of Plant and Crop Stress. Marcel Dekker, Inc. New York. 363-381.

- HEUER, B. y NADLER, A. 1998. Physiological response of potata plants to soil salinity and water deficit. Plant Science 137, 43-51.

- HUNCHAK-KARIOUK, K. y SUFFET, I.H. 1994. Binding of organic pollutants to dissolved organic matter in anoxic pore waters. In N. Senesi, T.M. Miano (Eds.) Humic substances in the global environment and implications on human health. Elsevier Science B.V. Amsterdam.

- JALALI, V.K. y TAKKAR, P.N. 1979. Evaluation of parameters for simultaneous determination of micronutrient cations available to plants from soils. Indian J. Agric. Sci. 49, 622-626.

- JURCSIK, I. 1994. Investigations in the mechanism of electron transmission and active oxygen generating humic acids supported by redoxindicator. In N. Senesi, T.M. Miano (Eds.) Humic substances in the global environment and implications on human health. Elsevier Science B.V. Amsterdam.

- JURINAK, J.J. y WAGENET, R.J. 1981. Fertilization and salinity. In D. Yaron (Ed.) Salinity in irrigation and water resources. Marcel Dekker Inc. New York.

- KITSON, R.E. y MELLON, M.G. 1944. Colorimetric determination of P as molibdovanadato-phosphoric acid. Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 16, 379-383.

- KRAMER, D.; LÄUCHLI, A.; YEA, A.R.; GULLASCH, J. 1977. Transfer cells in roots of Phaseolus coccineus: Ultrastructure and possible function in exclusion of sodium from the shoot. Ann. Bot. 41: 1031-1040.

- LACHICA, M. 1976. Estudio sobre la determinación de B en plantas con azometina-H. Proc. 4th International Colloquium on the Control of Plant Nutrition, Montpellier.

- LANDSBERG, E.C. 1981. Organic acid synthesis and release of hydrogen

ions in response to Fe deficiency stress of mono- and dicotyledonous plant species. J. Plant Nutrition, 3, 579-591.

- LÄUCHLI, A. 1984. Salt exclusion: an adaptation of legumes for crop and pastures under saline conditions. R.C. Staples Y G.H. Toenniessen (Eds.) Salinity tolerance in plants: Strategies for crop improvement. John Wiley and Sons, New York. 171-187.

- LEE, Y.S. y BARTLETT, R.J. 1976. Stimulation of plant growth by humic substances. Journal of the Soil Science Society of America. 40, 876-879.

- LINEHAN, D.J. 1977. Journal of Soil Science, 28, 369-378.

- LÓPEZ-ANDREU, F.J., ESTEBAN, R.M., MOLLA, E. y CARPENA, O. 1990. Influencia del sistema de nutrición en la calidad de los frutos de tomate. II carotenoides, ácido ascórbico, sustancias pécticas y flavonoides. An. Edafol. Agrobiol. 1191-1198.

- LOVLEY, D.R., COATES J.D., BLUNT-HARRIS, E.L., PHILLIPS, E.J.P. y WOODWARD J.C. 1996. Humic substances as electron acceptors for microbial respiration. Nature, 382, 1, 445-448.

- MAAS, E.V. 1993. Salinity and citriculture. Tree Physiol. 12, 195-216.

- MAAS, E.V. y HOFFMAN, G.J. 1977. Crop salt tolerance - current assessment. J. Irrig. Drin. Div. Am. Soc. Civ. Eng. 103, 115-134.

- MaCCARTHY, P., MALCOLM, R.L., CLAPP, C.E. y BLOOM, P.R. 1990. An introduction to soil humic substances. pp. 1-12. In P. MacCarthy, C.E. Clapp, R.L. Malcolm, P.R. Bloom (Eds.) Humic substances in soil and crop sciences: Selected readings. Proceedings of a symposium by th IHSS, Chicago, Illinois, December 1985.

- MAGNÉ, C. y LARHER, F. 1992. High sugar content of extracts interferes

with colorimetric determination of amino acids and free proline. Anal. Biochem., 200; 1-4.

- M.A.P.A. 1997. Anuario de estadística agraria.

- MARSCHNER, H. 1986. Mineral nutrition in higher plants. Academic Press Inc. London. England.

- MARTÍNEZ, E. y GARCÍA, M. 1993. Cultivos sin suelo: Hortalizas en clima mediterráneo. Compendio de horticultura 3. Ediciones de horticultura S.L., Reus (Tarragona).

- MARTÍNEZ, V. y CERDÁ, A. 1987. Influencia de la fertilización nitrogenada en condiciones salinas en el cultivo de planta de pepino y tomate I. Rendimiento y Calidad del fruto. An. Edafol. Agrobiol. 46 (11-12) 1397-1408.

- MARTINEZ, V. y LÄUCHLI, A. 1991. Phosphorus translocation in salt-stressed cotton. Physiol. Plant. 83, 627-632.

- MASSOUD, F.I. 1977. Basic principles for prognosis and monitoring of salinity and sodicity. Proc. Int. Salinity Conf. Texas Technical University, Lubbock. 432-454.

- MATO, M.C., OLMEDO, M.G. y MÉNDEZ, J. 1972. Inhibition of indolacetic acid oxidase by soil humic acids fractionated in Sephadex. Soil Biol Biochem. 4, 469-473.

- MILLER, G.W., PUSHNIK, J.C. y WELKIE, G.W. 1984. Iron chlorosis, a world wide problem: the relation of chlorophyll biosynthesis to iron. J. Plant Nutr. *Procc. Second International Sumposium Issue on Iron Nutrition and Interactions in Plants* Vol. 7, (1-5), 1-22.

- MITCHELL, J.P., SHENNAN, C., GRATTAN, S.R. y MAY, D.M. 1991.

Tomato fruit yields and quality under water deficit and salinity. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 116(2) 215-221.

- MIZRAHI, Y. y PASTERNAK, D. 1985. Effect of salinity on quality of various agricultural crops. Plant and Soil 89 (1-3) 301-307.

- MIZRAHI, Y., TALEISNIK, E., KAGAN-ZUR, U., ZOHAR, Y. OFFENBACH, R., MATAN, E. y GOLAN, R. 1988. A Saline irrigation regime for improving tomato fruit quality without reducing yield. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 113 (2), 202-205.

- OCIO, J.A. y BROOKES P.C. 1990. Soil Biological Biochemistry, 22, 685.

- PASCUAL, J.A., AYUSO, M., HERNÁNDEZ, T. y GARCÍA, C. 1997. Fitotoxicidad y valor fertilizante de enmendantes diferentes orgánicos. Agrochimica XLI 1,2; 50-61.

- PÉREZ-ALFOCEA, F., BALIBREA, M.E., SANTACRUZ, A. y ESTAÑ, M.T. 1996. Agronomical and physiological characterization of salinity tolerance in a commercial tomato hybrid. Plant and Soil 180; 251-257.

- PICCOLO, A., CAMPANELLA, L. y PETRONIO, B.M. 1990. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectra of soil humic substances extracted by different mechanisms. Soil Sci. Soc. Am. J., 54, 750-756.

- PICCOLO, A. y MBAGWU J.S.C. 1997. Exogenous humic substances as conditioners for the rehabilitation of degraded soils. Agro-Food-Industry Hi-Tech. Marzo/Abril 2-4.

- PICCOLO, A., NARDI, S. y CONCHERI, G. 1992. Structural characteristics of humous substances as related to nitrate uptake and growth regulation in plant systems. Soil Biol. Biochem., 24(4) 373-380.

- PICCOLO, A., NARDI, S. y CONCHERI, G. 1992. Soil Biol. Biochem. 24:

373-380.

- POLJAKOFF-MAYBER, A. y LERNER, H.R. 1994. Plants in saline environment. In M. Pessarakli (Ed.) Handbook of Plant and Crop Stress. Marcel Dekker, Inc. New York. 65-96.

- POLLARD A. y WYN JONES, R.G. 1979. Enzyme activities in concentrated solutions of glycine-betaine and other solutions. Planta, 144, 291-298.

- PRAT, S. y POSPISIL, F. 1959. Humic acids with ^{14}C. Biologia Plantarum. 1, 71-80.

- PRIMO, E. y CARRASCO, J.M. 1980. Química Agrícola I. Suelos y fertilizantes. Ed. Alhambra, Madrid. Spain.

- PROZOROVSKAYA, A.A. 1936. The effect of humic acid and its derivatives on the uptake of nitrogen, phosphorus, potassium and iron by plants. Tr. NIUIFa. 127.

- RAUTHAN, B.S. y SCHNITZER M. 1981. Effects of soil fulvic acid on the growth and nutrient content of cucumber (*Cucumis sativus*) plants. Plant Soil, 63, 491-495.

- RETTA, S.F. SIDARI, M. NARDI, S. y CACCO, G. 1994. Effect of the low molecular size (LMS) humic fraction on differentiation processes in leaf explants. In N. Senesi, T.M. Miano (Eds.) Humic substances in the global environment and implications on human health. Elsevier Science B.V. Amsterdam.

- RICE, J.A. y MaCCARTHY, P. 1988. Comments on th literature of the humin fraction of humus. Geoderma. 43, 65-73.

- SÁNCHEZ-ANDREU, J., JORDÁ, J. y JUÁREZ, M. 1994. Humic substances. Incidence on crop fertility. Acta Horticulturae. 357, 303-313.

- SÁNCHEZ-CONDE, M.P. y ORTEGA C.B. 1968. Effect of humic acid on the development and the mineral nutrition of the pepper plant. pp. 745-755. In Control de la Fertilización de las Plantas Cultivadas, 2º Coloquio Evr. Medit. Cent. Edafol. Biol. Aplic. Cuarto, Sevilla.

- SCHNITZER, M. 1990. Selected methods for the characterization of soil humic substances. pp. 65-89. In P. MacCarthy, C.E. Clapp, R.L. Malcolm, P.R. Bloom (Eds.) Humic substances in soil and crop sciences: Selected readings. Proceedings of a symposium by th IHSS, Chicago, Illinois, December 1985.

- SCHNITZER, M. y SCHUPPLI, P. 1989. Method for the sequential extraction of organic matter from soils and soil fractions. Soil Science Society of America Journal, (53) 5, 1418-1424.

- SCHULTEN, H.R. 1994. A chemical structure for humic acid. Pyrolisis-gas chromatography/mass spectrometry and pyrolisis-soft ionization mass spectrometry evidence. In N. Senesi, T.M. Miano (Eds.) Humic substances in the global environment and implications on human health. Elsevier Science B.V. Amsterdam.

- SEN, D.N. y MOHAMMED, S. 1994. General aspects of salinity and the biology of saline plants. In M. Pessarakli (Ed.) Handbook of Plant and Crop Stress. Marcel Dekker, Inc. New York. 125-145.

- SERRANO, Z. 1985. Prontuario del Horticultor. Almeria.

- SHALEVET, J. y YARON, B. 1973. Effect of soil and water salinity on tomato growth. Plant Soil. 39, 285-292.

- SLADKY, Z. 1959. The effect of extracted humus substances on growth of tomato plants. Biol. Plant. 1, 142-150.

- SLESAK, E. y JUREK, J. 1988. Acta Univ. Wratislaviensis 888, 13-19.

- SMIDOVA, M. 1962. Effect of sodium humate on swelling and germination of plant roots. Biol. Plant. 4, 112-118.

- SONNEVELD, C. 1980. Growing cucumbers and tomatoes in Rockwool. Procedings of the fifth international congress on soilless culture.

- STEELINK, C. 1985. Elemental characteristics of humic substances. In G.R. Aiken D.M. McKnight, R.L. Wershaw, P. MacCarthy (Eds.) Humic Substances in Soil, Sediment, and Water, John Wiley, New York, 457-476.

- STEVENSON, F.J. 1994. Humus chemistry. Genesis, composition, reactions. Second Edition. John Wiley & Sons, Inc. New York.

- SU, L.Y. y MILLER G.W. 1960. Chlorosis in higher plants as related to organic acid content. Pl. Physiol. 36, 415-420.

- SWIFT, R.S. y POSNER, A.M. 1971. Journal of Soil Science, 22, 237-249.

- SWIFT, R.S. y POSNER, A.M. 1972. Journal of Soil Science, 23, 381.

- SZABLOCS, I. 1994. Soils and Salinization. In M. Pessarakli (Ed.) Handbook of Plant and Crop Stress. Marcel Dekker, Inc. New York. 3-11.

- TAN, K.H., HIMMELSBACH, D.S. LOBARTINI, J.C. y GAMBLE, G.R. 1994. The issue of artifacts in NaOH extraction of humic matter. In N. Senesi, T.M. Miano (Eds.) Humic substances in the global environment and implications on human health. Elsevier Science B.V. Amsterdam.

- TROCE, W. y LINDSLEY, J. 1955. A photometric method for the determination of proline. J. Biol. Chem., 215, 655-660.

- ULLAH, S.M. y GERZABEK, M.H. 1991. Influence of fulvic and humic acids

on Cu and V-toxicity to *Zea Mays* L. Die Bodenkultur. Journal fürlandwirtschaftliche Forschung, 123-134.

- VARANINI, Z. y PINTON, R. 1995. Humic substances and plant nutrition. Progress in Botany, 56, 97-116.

- VARANINI, Z; PINTON, R.; De BIASI, M.G.; ASTOLFI, S.; MAGGIONI, A. 1993. Plant Soil 153: 61-69.

- VAUGHAN, D. y LINEHAN, D.J. 1976. The growth of wheat plants in humic acid solutions under axenic conditions. Plant Soil, 44, 445-449.

- VAUGHAN, D. y McDONALD, I.R. 1971. Effects of humic acid on protein synthesis and ion uptake in beet discs. J. Exp. Bot., 22, 400-410.

- VAUGHAN, D. y McDONALD, I.R. 1976. Some effects of humic acid on the cation uptake by parenchyma tissue. Soil Biol. Biochem. 8, 415-421.

- VAUGHAN, D. y MALCOLM, R.E. 1979. Effect of soil organic matter on peroxidase activity of wheat roots. Soil Biol. Biochem. 11, 57-63.

- VAUGHAN, D., MALCOLM, R.E. y ORD, B.G. 1985. Influence of humic substances on biochemical processes in plants. p. 77-108. In D. Vaughan y R.E. Malcolm (Eds.) Soil organic matter and biological activity. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publ., Dordrecht.

- VAUGHAN, D. y ORD, B.G. 1981. Uptake and incorporation of ^{14}C-labelled soil organic matter by roots of *Pisum sativum* L. J. Exp. Bot. 32, 679-687.

- WANG, X.J., WANG, Z.Q. y LI, S.G. 1995. The effect of humic acids on the availability of phosphorus fertilizers in alkaline soils. Soil Use and Management 11, 99-102.

- WARD, G.M. 1973. Causes of blossom-end rot of tomatoes based on

tissue analysis. Canadian Journal of Plant Science, 53, 169-174.

- WHITE, M.C. y CHANEY, R.L. 1980. Zn, Cd and Mn uptake by soybean from two zinc and cadmium amended coastal plain soils. Soil Sci. Soc. Am. J. 44, 308-313.

- WILSON, G.B. y DALMAT, D. 1986. Determination compost maturity. Compost Science, 19, 26.

- XUDAN, X. 1986. The effect of foliar application of fulvic acid on water use, nutrient uptake and wheat yield. Aust. J. Agric. Res. 37, 343-350.

- YEOMANS, J.C. y BREMMER, J.M. 1989. A rapid and precise method for rutine determination of organic carbon in soil. Communications in Soil Sci. and Plant Analysis. 19, 1467-1476.

- YONEBAYASHI, K. 1994. Humic component distribution of humic acids as shown by adsorption chromatography using XAD-8 resin. In N. Senesi, T.M. Miano (Eds.) Humic substances in the global environment and implications on human health. Elsevier Science B.V. Amsterdam.

VII.-APÉNDICE I

VII.1.-Contenido foliar de clorofilas.

Las clorofilas se determinaron en extracto de tejido vegetal con una disolución de acetona al 80%. Para ello se pesa 1 g de material vegetal fresco y se trocea. Se introduce en un homogenizador, añadiendo aproximadamente un 20% en peso de arena lavada. Se adicionan 5 mL de acetona al 80%.

Posteriormente se homogeniza hasta la obtención de pulpa vegetal, se filtra a vacío, añadiendo acetona al 80% hasta decolorar totalmente la pulpa vegetal. El filtrado se recoge y enrasa a 25 mL con acetona 80%.

Para realizar la medición espectrofotométrica se realiza una dilución 1/25, registrando la absorbancia a dos longitudes de onda: 663 y 645 nm.

La cuantificación se realiza al sustituir en las siguientes ecuaciones (Arnon, 1949; Bruinsma, 1963):

$$\text{Clorofila Total} = 8{,}02\ A_{663} + 20{,}21\ A_{645}$$

$$\text{Clorofila } a = 12{,}7\ A_{663} - 2{,}69\ A_{645}$$

$$\text{Clorofila } b = 22{,}9\ A_{645} - 4{,}68\ A_{663}$$

Los resultados de estas ecuaciones se obtienen en *mg clorofila / L extracto* y posteriormente se expresan en *mg clorofila / g materia fresca*.

VII.2.-Contenido de carotenoides.

La disolución extractora para carotenoides es una mezcla de acetona y hexano 1:1 (v/v). Se pesa 1 g de material vegetal fresco y se trocea. Se introduce en un homogenizador, añadiendo aproximadamente un 20% en peso de arena lavada. Se adicionan 5 mL de la mezcla acetona-hexano.

Posteriormente se homogeniza hasta la obtención de pulpa vegetal, se filtra a vacío, reextrayendo si es necesario. El filtrado se recoge y enrasa a 25 mL.

A continuación se toman 10 mL del matraz aforado y se colocan en un embudo de decantación, al que previamente hemos añadido otros 10 mL de hexano. Se adicionan 10 mL de H_2O resbalando por las paredes del embudo, se agita suavemente y se desecha la parte acuosa. Se añaden 5 mL de metanol saturado en KOH, se agita y se separa la fase alcohólica con las clorofilas saponificadas. La fase de hexano se enrasa a 25 mL para la posterior determinación de su absorbancia a 440 nm.

Para la determinación cuantitativa se elabora una recta de calibrado usando patrones de β-caroteno en hexano (Bruinsma, 1963).

VII.3.-Determinación de ácidos orgánicos en savia.

La extracción de savia se realizó cortando segmentos de 0,5 cm de tallos y peciolos y guardándolos en éter dietílico a -20 ºC durante 24 h. Posteriormente se trituran en un homogenizador hasta obtener pulpa vegetal y se filtra a vacío añadiendo éter hasta que dicha pulpa quede incolora. Con el éter se extraen los pigmentos fotosintéticos.

A continuación se traspasa el líquido a un embudo de decantación para separar las fases orgánica y acuosa (savia total), desechando la

primera. El extracto se guarda a -20 ºC en tubos Eppendorf hasta su posterior análisis mediante HPLC.

Para ello, las muestras se pasan por filtros de acetato de celulosa de 0,45 µm antes de su inyección en el cromatógrafo. El equipo utilizado es un HPLC Shimadzu con: un inyector de 20 µL, bombas DGU-10A, y FCV-10AL, unidad central CBM-10A, módulo de columna-horno CTO-10-A y detector UV-visible SPD-10A. La columna que se utilizó fue el modelo PRP-X300 de Hamilton tipo exclusión aniónica, de dimensiones 150 x 4,1 mm y 7µm de tamaño de partícula.

Como fase móvil se empleó ácido sulfúrico 5 x 10^{-4}M. La velocidad de flujo fue de 1 mL/min y la temperatura de 50 ºC.

La medida tiene lugar en el rango ultravioleta, a 210 nm. La identificación y cuantificación de los ácidos se realizó por comparación de los tiempos de retención y altura de pico de las muestras con un multipatrón de: *málico, cítrico y acético*, con el que se construyó una curva de calibrado.

El control del equipo de HPLC se llevó a cabo mediante el programa informático CLASS-LC10.

VII.4.-Preparación de la muestra para análisis elemental.

Una vez arrancadas las plantas y registrados la longitud de los tallos, el peso fresco de tallos, ramas, raíces y hojas, se procede a la preparación del material vegetal para la determinación de macro y micronutrientes.

Para ello, se lavan las muestras foliares, con jabón neutro exento de fosfatos y agua destilada, secándose en estufa de aire forzado a 60-65 ºC hasta su pérdida total de agua (2-3 días).

Seguidamente se trocean y muelen, para asegurar una perfecta homogeneización y un tamaño adecuado de las muestras foliares para su

posterior análisis.

VII.5.-Mineralización por vía seca.

Este tipo de mineralización consiste en un calcinación de muestra en horno mufla *Labotherm L9/S27* con el programa que se indica en la Tabla VII.1. Para ello se pesan 0,5 g de muestra foliar y se introducen en un crisol de porcelana, que se introduce en el horno. El calentamiento se produce paulatinamente para evitar una elevación brusca de la temperatura que pudiera ocasionar la aparición de humos y por lo tanto la pérdida de muestra.

Tabla VII.1

Rampa (min.)	Temperatura (ºC)	Tiempo de permanencia (min)
15	100	15
20	200	30
20	350	30
30	550	300

Los crisoles con las cenizas procedentes de la mineralización anterior, se sitúan en un baño térmico de arena. Se adiciona, a cada uno de ellos, 4 mL de HCl 6 M para la disolución de las cenizas. Este ataque se mantiene durante unas dos horas, reponiendo el volumen evaporado con agua destilada.

Por último, este mineralizado, una vez frío, se afora a 25 mL, filtrándose el líquido sobre papel lavado a los ácidos. El filtrado se guarda en frasco de poliestireno en frío para su análisis posterior.

VII.6.-Espectroscopía de absorción atómica.

La disolución obtenida anteriormente servirá para la determinación de todos los nutrientes excepto el nitrógeno. Se emplearon técnicas de espectroscopía de emisión atómica para el Na y el K. Los contenidos de Ca, Mg, Fe, Cu, Mn y Zn se determinaron mediante espectroscopía de absorción atómica.

El molibdeno tuvo que ser determinado mediante la utilización de cámara de grafito en la técnica de absorción atómica. Se empleó un espectrofotómetro de absorción atómica *UNICAM 929* dotado de cámara de grafito *GF90* y automuestreador *FS90*. El control del equipo se llevó a cabo mediante el programa informático *Solaar AA System*.

Esta técnica consiste en la atomización de la muestra por calentamiento electromagnético de la cubeta, cilíndrica de grafito, donde se deposita la muestra. El calentamiento de la cubeta se produce a través de etapas estacionarias unidas entre sí por rampas de temperatura. Las etapas fundamentales de este proceso son:

1.- Desolvatación de la muestra depositada en la cámara.
2.- Secado.
3.- Pretratamiento térmico.
4.- Medida.
5.- Acondicionamiento de la cubeta para la siguiente medida.

En la Tabla VII.2 se enumeran las características de cada etapa para la determinación de Mo.

Tabla VII.2. Condiciones de medida del Mo.

Elemento		Mo		
Técnica		Cámara de grafito		
Longitud de onda (nm)		313,3		
Intensidad (mA)		15		
Rendija (nm)		0,5		
Sensibilidad (pg)		0,3		
Etapa	**T(ºC)**	**Tiempo (s)**	**Rampa (ºC/s)**	**Flujo Ar (mL/min)**
1	90	3	0	100
2	120	15	10	100
3	1800	15	75	100
4	2750	4	0	0
5	2500	5	0	100

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

VII.7.-Mineralización por vía húmeda y determinación de N.

Se realiza exclusivamente para la determinación de N Kjeldahl. Para ello se introducen 0,2 g de muestra vegetal seca en tubos de digestión junto a una cantidad equivalente de catalizador (K_2SO_4 / $CuSO_4.5H_2O$ / Se) en relación 100/10/1 en peso. Se añaden 10 mL de H_2SO_4 concentrado. Los tubos se introducen en un digestor modelo *Selecta Block digest 12* y se mantienen a 400 ºC durante 2 horas (Primo et al., 1980). Una vez terminado el proceso, se adicionan a la muestra mineralizada 80 mL de H_2O destilada y se deja enfriar.

La determinación final se basa en la destilación por arrastre de vapor de NH_3 generado por adición de NaOH 35% al mineralizado y posterior valoración ácido-base con HCl 0,1 M en medio ácido bórico, con un indicador

mixto compuesto de rojo de metilo y verde de bromocresol caracterizado por un punto de viraje a pH 4,8.

%N orgánico y amónico = V x M x 1,4 / P

V: volumen (mL) de HCl gastados en la valoración.
M: Molaridad del HCl.
P: g de muestra foliar.

VII.8.-Fósforo foliar.

El P se mide por colorimetría basada en la formación de un complejo de fosfomolibdovanadato de color amarillo en medio nítrico, a 460 nm (Kitson et al., 1944).

Se toma 1 mL de la disolución resultante de la mineralización por vía seca y se adicionan 4 mL de agua destilada y 5 mL del reactivo C. Se deja desarrollar el color entre media y una hora.

El reactivo C se prepara a partir de 100 mL de reactivo A, 100 mL de reactivo B y 95 mL de HNO_3 concentrado, enrasando a 500 mL.

El reactivo A se prepara por disolución de 100 g de molibdato amónico y 10 mL de NH_4OH aforando a 1 L. El reactivo B está constituido por una disolución de 2,35 g de metavanadato amónico y 7 mL de HNO_3 concentrado, aforando a 1 L.

La determinación se realiza por la obtención de una recta de calibrado a partir de patrones de P (0, 5, 10, 15, 20, 25 mg/L).

VII.9.-Boro foliar.

El método utilizado para la determinación de B se basa en la reacción cuantitativa que tiene lugar entre la azometina-H y el B, a pH 5,1 y en presencia de ácido nitriloacético, dando lugar a un compuesto coloreado de estructura no conocida, pero cuya medida es proporcional a la concentración del elemento en la muestra, midiendo la absorbancia a 410 nm. (Lachica, 1976; Gárate et al., 1984).

Se toman 5 mL de la digestión por vía seca y se añaden 4 mL de una disolución tampón y 2 mL de azometina-H. Se deja desarrollar el color durante 2 horas.

La disolución tampón se prepara a partir de 250 g de acetato amónico y 25 g de la sal tetrasódica del EDTA disueltos en 400 mL de agua. Se añaden 10 g de ácido nitriloacético y 125 mL de ácido acético concentrado enrasando a 1 L.

La azometina-H se prepara en el momento del análisis mediante la disolución de 0,9 g de azometina-H en 70 mL de agua caliente, añadiéndole 2 g de ácido L-(+)-ascórbico. Se enrasa a 100 mL.

Se elabora una recta de calibrado a partir de un patrón de B y se procede como en la determinación de P.

VII.10.-Determinaciones de calidad en frutos.

VII.10.1.-Sólidos solubles.

Se trata de una medida física que nos indica el contenido de azúcares en fruto como cantidad de sólidos solubles en el zumo del tomate. Se basa en la difracción de la luz solar causada por los azúcares solubles en el zumo

de tomate. La determinación se realiza utilizando un refractómetro manual (*Atago Hand Refractometer N1 brix 0~32%*) cuya lectura aparece en º Brix (Figura VII.2).

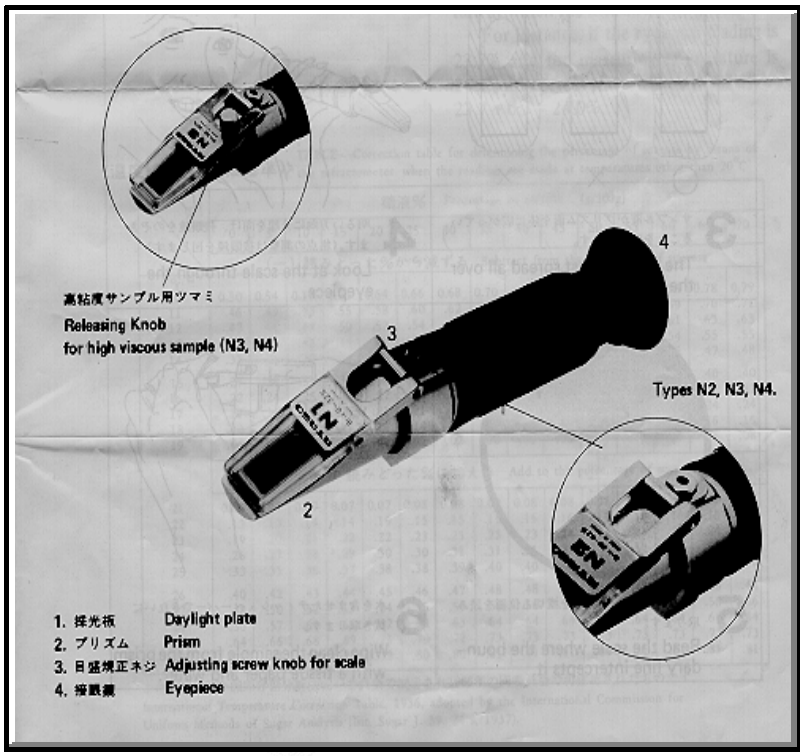


Figura VII.2 Refractómetro para la determinación de azúcares en zumo.

Se colocan una o dos gotas de zumo claro en el prisma y se cierra sobre el mismo, la placa transparente, asegurándose de que la muestra cubre totalmente la superficie del prisma. A continuación se mira a través de la lente, donde se observa una escala y una línea que la intercepta y que nos da la medida en º Brix o % de sacarosa. Para ajustar la medida existe una tabla con factores de corrección debidos a la temperatura ambiente.

VII.10.2.-Contenido de azúcares totales. Método espectrofotométrico.

Las técnicas espectrofotométricas para la determinación de azúcares reductores y polisacáridos se conocen desde hace bastante tiempo. Sus ventajas son, entre otras: su gran sensibilidad, que permite la identificación de cantidades muy pequeñas de azúcares y su especificidad, necesaria para la determinación de estos compuestos en presencia de otros constituyentes titulables.

Este método se basa en el color formado cuando el ácido pícrico es reducido a ácido picrámico por los azúcares reductores, color que luego se mide en el espectrofotómetro a 522 nm.

Reactivos:

- Pícrico-picrato: A 500 mL de una disolución al 1% de NaOH se agregan 36 g de ácido pícrico. Se diluye con agua caliente (400 mL) y se agita hasta que se haya disuelto todo el pícrico. Se deja enfriar y se enrasa a 1 L, almacenándose en frasco topacio.
- Na_2CO_3 anhidro.
- Disolución de Na_2CO_3 saturada.
- Disolución de ácido benzoico al 0,25%.
- HCl concentrado.

Curva patrón: En tubos de ensayo se colocan 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 y 4,0 mL de una disolución patrón de glucosa, que se corresponderá con el mismo número de mg, a continuación se añaden 10 mL del reactivo pícrico-picrato y 2 mL de Na_2CO_3 saturada. Se calientan los tubos durante 20 min. en baño de agua a 75ºC. Una vez fríos se enrasa a 35 mL, se homgeniza la disolución y se miden las absorbancias a 522 nm.

La disolución patrón de glucosa se prepara con glucosa anhidra disuelta en ácido benzoico al 0,25%.

Método: Para muestras con menos del 25% de sólidos solubles se pesan C_x (donde C_x = 100 / % s.s.). C_x se lleva a 250 mL. Se filtra, se pipetean 25 mL y se llevan a 100 mL en un matraz aforado. Para azúcares totales, se toman 50 mL de la anterior dilución más 2 mL de HCl concentrado y se calientan en baño de agua a 60-80ºC durante 10 minutos. Se enfría, se neutraliza con Na_2CO_3 anhidro y se lleva a 100 mL en matraz aforado. En tubos de ensayo ponemos 5 mL del contenido del último matraz más 10 mL de pícrico-picrato más 2 mL de Na_2CO_3 saturado, calentándose en baño de agua a 75ºC durante 20 min. Se enfría y se añaden 18 mL de agua destilada. Se homogeneiza y se mide a 522 nm.

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

VII.10.3.-pH.

Para la determinación del pH de los frutos, se toman varias unidades en el mismo punto de madurez visual y se trocean, sometiéndolos a posterior trituración en batidora. El pH se mide directamente en alícuotas de este triturado, usando un pH-metro *CRISON Micro-pH 2000.*

VII.10.4.-Conductividad eléctrica de los zumos.

El triturado obtenido anteriormente se centrifuga a 4000 rpm y se filtra a vacío. La conductividad eléctrica se mide directamente en alícuotas de este filtrado, utilizando un conductímetro *CRISON Micro CM 2201*.

VII.10.5.-Acidez valorable.

Para conocer la acidez de los frutos de manera más precisa que con la simple medida del pH, se realizó esta determinación.

Del filtrado anterior se toman alícuotas de 10 mL a las que se les añade agua destilada hasta alcanzar un volumen de 50 mL y se realiza la valoración con NaOH 0,1 N, usando fenolftaleína como indicador.

El resultado obtenido lo expresamos como mg/mL de ácido cítrico mediante la equivalencia: 1 mL NaOH 0,1 N = 7,009 mg ácido cítrico.

VII.10.6.-Contenido de vitamina C.

Como principal referente de la calidad nutritiva de los frutos de tomate se determinó el contenido de los mismos en vitamina C. Para ello se emplea la valoración del ácido ascórbico con el 2,6-diclorofenolindofenol que se basa en la reducción de la sal sódica del 2,6-DF-IF por la vitamina C.

El 2,6-DF-IF es azul. En medio ácido es rojo (medio ácido: ácido metafosfórico-ácido acético). La vitamina C, al reducir al 2,6-DF-IF elimina los dobles enlaces conjugados, y por lo tanto desaparece el color. El valorante, pues, actúa como autoindicador (A.O.A.C., 1990).

Reactivos:

- Extractante: Se disuelven 15 g de ácido metafosfórico puro en 40 mL de ácido acético y 200 mL de agua. Se enrasa a 500 mL y se filtra rápidamente. Se debe guardar en nevera, pues el HPO_3 pasa lentamente a H_3PO_4.
- Disolución patrón de ácido ascórbico: Se pesan 50 mg de ácido ascórbico y se disuelven en 50 mL de agua destilada. Se debe preparar en el momento de utilizar.

S Disolución de colorante: Se disuelven 250 mg de la sal sódica de 2,6 DF-IF y 210 mg de $NaHCO_3$ enrasando con agua a 1 L.

Valoración del patrón de ascórbico: Verter 5 mL de la disolución metafosfórico-acético en un erlenmeyer de 50 mL y añadir 2 mL de disolución recién preparada de ácido ascórbico. Seguidamente, valorar rápidamente con la disolución del colorante hasta que la coloración rosa se mantenga por lo menos cinco segundos. Repetir al menos dos veces esta valoración.

Prueba en blanco: Realizar la valoración del blanco con 7 mL de rectivo ácido metafosfórico-ácido acético, por último calcular los mg de ácido ascórbico equivalentes a 1 mL de colorante.

Preparación y valoración de la muestra: Pesar alrededor de 50 g de muestra y pasarla al vaso de la batidora. Añadir 50 mL de disolución metafosfórico-acético. Triturar 2-3 minutos hasta conseguir una pasta homogénea. Filtrar a través de un filtro de gasa y anotar el volumen total obtenido del extracto. Tomar 2 mL del filtrado y verterlos en un erlenmeyer, valorando inmediatamente con la disolución de colorante hasta la aparición de un color rosa débil persistente, por lo menos cinco segundos.

Los resultados se expresan en *mg ácido ascórbico / 100 g de materia fresca*.

VII.10.7.-Contenido de proteínas.

Como otro indicativo del valor nutricional de los frutos de tomate se midió el contenido de proteínas totales de los mismos, basándonos en el método de Bradford (1976).

Reactivo: Se prepara a partir de 100 mg de Azul Comassie G-250 disueltos en 50 mL de etanol del 95%. A esta disolución se le añaden 100 mL de H_3PO_4 del 85% (p/v) y se enrasa a 1 L.

Curva patrón: Sobre las propias cubetas de espectrofotómetro se colocan: 0, 10, 20, 40, 60, 80 y 100 µL de una disolución madre de albúmina de concentración 0,1 mg/mL. A continuación se añaden respectivamente a cada cubeta 100, 90, 80, 60, 40, 20 y 0 µL de agua, y 1 mL de reactivo de Bradford. Se deja desarrollar el color 5 min, se homogeneiza y se mide en el espectrofotómetro a 595 nm.

Muestras: Se colocan sobre cubetas de espectrofotómetro 0,1 mL de muestra y 1 mL de reactivo de Bradford, se deja desarrollar el color 5 min, se homogeneiza y se mide en el espectrofotómetro a 595 nm.

VII.11.-Determinación de azúcares en jugo celular.

La determinación de azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa) en jugo celular se realizó empleando técnicas de HPLC, con detección de cambio de índice de refracción (Pérez-Alfocea et al., 1996).

Extracción: se introducen muestras foliares en puntas de pipeta de 5 mL, se ponen en congelador a -20ºC durante un día. Posteriormente se descongelan y centrifugan a 1000 x g durante 5 minutos, acoplando un tubo Eppendorf para recoger el extracto.

Purificación: del extracto anterior se toman 200 µL y se colocan en un tubo Eppendorf. A continuación se le añaden unos 2 mg de polivinilpirrolidona (PVP) para eliminar algunos pigmentos y sustancias fenólicas, que no interferirá ya que se eliminará posteriormente. A este tubo se añaden también, 100 µL de resina *DEAE Cellulose Anion Exchanger* y 100 µL de resina *CM Cellulose Cation Exchanger*.

Estas resinas se preparan mediante suspensión de las mismas en agua ultrapura, con doble volumen de agua que de resina. Se mantiene en agitación constante para asegurar una distribución homogénea a todos los

tubos. Sirven para eliminar iones y ácidos orgánicos que pueden coeluir con algunos azúcares.

Se agita el tubo y se centrifuga a 5000 rpm durante 2 minutos para eliminar resinas y PVP. Se recoge el sobrenadante con una jeringa de insulina, y se filtra por 0,45 µm. Se debe obtener un volumen de filtrado que sea, al menos, 5 veces el volumen del bucle de inyección del aparato de HPLC.

Las características del equipo y proceso cromatográfico son:

- Columna Spherishorb NH_2 5 µm, 25x0,46 cm con precolumna (Tecknokroma).
- Fase móvil: Acetonitrilo/agua 80/20.
- Flujo 2 mL min^{-1}.
- Temperatura ambiente.
- Detector de índice de refracción.
- Inyección de 10 o 20 µL.

Para la determinación cuantitativa se realizaron multipatrones con glucosa, fructosa y sacarosa, en concentraciones de 0; 0,5; 1,0 y 1,5 g L^{-1}, realizándose una curva de calibrado: Altura de pico de elución vs. Concentración.

VII.12.-Determinación de prolina en jugo celular.

Se realizó basándonos en la formación de un compuesto coloreado entre la ninhidrina ácida y la prolina en medio tolueno, que se puede determinar por espectrofotometría visible (Troce et al., 1955; Magné et al., 1992).

Las muestras foliares se congelan a -80 ºC y posteriormente se liofilizan en un equipo *VIRTIS Benchtop 3L*. Se toman 100 mg de material liofilizado y se añaden 10 mL de agua destilada a 60 ºC. Se homogeneiza la muestra y se centrifuga 15 min. a 10.000 rpm en centrífuga refrigerada (4 ºC). Se recoge el sobrenadante.

A 0,5 mL de muestra se le añaden 2 mL de ninhidrina ácida y se agita. Se incuba durante 30 min. a 100 ºC. Se enfrían los tubos rápidamente poniéndolos en hielo-agua. Se añaden 5 mL de tolueno, se agita y guarda en oscuridad a temperatura ambiente un mínimo de 3 horas y un máximo de 5 antes de realizar la medida en espectrofotómetro a 520 nm.

Para la curva patrón se utilizará prolina disuelta a concentraciones: 0, 250, 500 y 1000 µM. Los datos se expresan en *moles Prolina / peso seco*.

El reactivo ninhidrina ácida se prepara en el momento de su utilización con 0,33 g de ninhidrina + 20 mL de ácido acético glacial + 14 mL de agua.

VII.13.-Análisis estadístico.

Todos los análisis estadísticos de las cuatro experiencias se han llevado a cabo con el programa informático SPSS 6.0.

VII.14.-Determinaciones en sustancias húmicas.

VII.14.1.-pH, conductividad eléctrica, densidad y humedad.

El pH y la conductividad eléctrica se midieron directamente en alícuotas de cada producto, usando un pH-metro *CRISON Micro-pH 2000* y un conductímetro *CRISON Micro CM 2201.*

La densidad se calculó pesando un volumen exacto de muestra (100mL) y la humedad llevando a sequedad alícuotas de cada producto a 40 ºC y a vacío.

VII.14.2.-Extracto húmico total, ácidos húmicos y fúlvicos.

Debido a que se trata de productos líquidos, el extracto húmico total se determinó directamente en la muestra original, mediante oxidación del C orgánico con dicromato potásico en medio ácido sulfúrico concentrado y posterior valoración con sal de Mohr del exceso de dicromato (Yeomans et al., 1989).

Se toman de 0,1 a 0,5 mL de muestra, se pesan, y se colocan en un erlenmeyer de 500 mL. Se añaden 10 mL de dicromato potásico 1N y 20 mL de ácido sulfúrico concentrado. Se deja reaccionar durante 30 minutos. A continuación se le añaden 200 mL de agua y 10 mL de ácido ortofosfórico concentrado. Una vez frío, se valora el exceso de dicromato con disolución de sal de Mohr 0,5 N en presencia de indicador (difenilamina al 0,5% en sulfúrico). El punto final se produce en el viraje de color azul a verde. Simultáneamente se preparan blancos para determinar el gasto de sal de Mohr con todo el dicromato.

El carbono orgánico se obtiene según la fórmula:

$$\%C.O. = (V_B - V_M)(1/2)(12/4000)(1/P)(100/0,77)$$

Donde V_B es el volumen de valorante consumido por el blanco, V_M es el consumido por la muestra y P es el peso de la muestra.

El fraccionamiento de ácidos húmicos y fúlvicos se realizó utilizando disoluciones al 50% (v/v) de las diferentes sustancias húmicas a las que se les añadía H_2SO_4 (50%) hasta alcanzar pH = 2. A continuación se guardaba en nevera durante 48 horas y se centrifugaba a 4000 rpm durante 5 minutos para separar los ácidos húmicos (precipitados) de los fúlvicos. Dicho precipitado se secaba a 40 ºC y vacío, para posteriormente calcular el % de carbono orgánico según la metodología descrita anteriormente. Los ácidos fúlvicos se hallan por diferencia entre el extracto húmico total y los ácidos húmicos.

VII.14.3.-Relación E_4/E_6.

Para determinar esta relación óptica (Stevenson, 1994) se tomaron muestras de aproximadamente 30 mg de las sustancias húmicas secas (40 ºC y vacío) y se disuelven en 100 mL de $NaHCO_3$ 0,05M. A continuación se miden las absorbancias a 465 nm (E_4) y 665 nm (E_6).

VII.14.4.-Macro y micronutrientes.

Las determinaciones de macro y micronutrientes de las sustancias húmicas comerciales utilizadas en los diferentes ensayos que configuran este trabajo se realizaron empleando las mismas técnicas analíticas que las descritas anteriormente para el análisis foliar, con la salvedad de que la mineralización de las sustancias húmicas siguió un método diferente.

La mineralización se llevó a cabo por vía húmeda. Tomamos 1 mL de muestra y lo introducimos en un tubo de digestor junto a 20 mL de una mezcla HNO_3 : $HClO_4$ (1:1). Se colocan en el digestor los tubos y se mantienen a 210 ºC durante 90 minutos. Posteriormente los mineralizados se filtran y enrasan a 100 mL con agua para las determinaciones pertinentes.

Nota: Para la determinación del N, la mineralización siguió la metodología que se describe en el apartado VII.7.

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

Crecimiento semanal. Semana 1

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	24	26	24	25
2	19	24	22	22
3	30	23	24	26
4	21	21	25	22
5	13	26	30	23
6	26	19	28	24
7	22	28	27	26
8	12	27	21	20

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	86	7	12	0,5
Dentro de grupos	392	16	24	
Total	478	23		

NO HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Crecimiento semanal. Semana 2

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	35	30	33	33
2	27	25	33	28
3	32	27	35	31
4	38	31	38	36
5	26	37	26	30
6	30	26	23	26
7	25	31	23	26
8	33	33	30	32

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	222	7	32	1,96
Dentro de grupos	259	16	16	
Total	481	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 7

TRATAMIENTOS

6 7 2 5 3 8 1 4

Crecimiento semanal. Semana 3

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	30	35	33	33
2	25	33	27	28
3	32	27	35	31
4	31	38	38	36
5	26	37	26	30
6	26	23	30	26
7	25	23	31	26
8	33	30	33	32

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	222	7	32	1,96
Dentro de grupos	259	16	16	
Total	481	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

<u>Test de Fisher</u>

DMS al nivel de probabilidad 5% 7

TRATAMIENTOS

6 7 2 5 3 8 1 4

Crecimiento semanal. Semana 4

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	22	30	18	23
2	20	23	20	21
3	26	21	25	24
4	23	25	20	23
5	15	28	25	23
6	25	25	24	25
7	22	20	27	23
8	28	24	22	25

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	31	7	5	0,29
Dentro de grupos	245	16	15	
Total	276	23		

NO HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Crecimiento semanal. Semana 5

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	28	27	28	28
2	15	35	30	27
3	20	22	30	24
4	22	12	25	20
5	15	17	20	17
6	25	15	20	20
7	18	28	8	18
8	7	28	18	18

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	362	7	52	0,97
Dentro de grupos	849	16	53	
Total	1211	23		

NO HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Crecimiento total

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	274	279	271	275
2	277	279	280	279
3	277	277	286	280
4	288	272	255	272
5	282	229	268	260
6	246	224	275	248
7	249	281	262	264
8	235	216	253	235

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	5305	7	758	2,6
Dentro de grupos	4656	16	291	
Total	9961	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 29

TRATAMIENTOS

8 6 5 7 4 1 2 3

Peso fresco. Tallos.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	631	719	610	653
2	693	659	624	659
3	615	445	708	589
4	703	677	650	677
5	482	412	508	467
6	616	480	526	541
7	420	652	529	534
8	525	473	577	525

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	121223	7	17318	2,98
Dentro de grupos	92901	16	5806	
Total	214124	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

<u>Test de Fisher</u>

DMS al nivel de probabilidad 5% 132

TRATAMIENTOS

5 8 7 6 3 1 2 4

Peso seco. Tallos.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	100	96	99	98
2	110	103	96	103
3	85	62	95	81
4	95	106	116	106
5	77	60	67	68
6	87	78	68	78
7	51	87	79	72
8	63	59	67	63

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	5753	7	822	6,68
Dentro de grupos	1968	16	123	
Total	7721	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

<u>Test de Fisher</u>

DMS al nivel de probabilidad 5% 19

TRATAMIENTOS

8 5 7 6 3 1 2 4

Peso fresco. Hojas.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	489	596	440	508
2	481	512	542	512
3	475	422	523	473
4	531	519	506	519
5	326	284	396	335
6	419	401	396	405
7	305	473	514	431
8	353	301	404	353

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	110844	7	15835	4,48
Dentro de grupos	56493	16	3531	
Total	167337	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 103

TRATAMIENTOS

5 8 6 7 3 1 2 4

Peso seco. Hojas.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	71	66	31	56
2	65	65	66	65
3	50	50	53	51
4	61	64	66	64
5	45	38	47	43
6	51	49	49	50
7	35	52	54	47
8	41	35	47	41

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	1659	7	237	2,9
Dentro de grupos	1307	16	82	
Total	2966	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 16

TRATAMIENTOS

8 5 7 6 3 1 4 2

Peso fresco. Raíces.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	259	275	155	230
2	260	302	343	302
3	179	203	239	207
4	330	278	226	278
5	255	196	214	222
6	165	135	240	180
7	146	248	199	198
8	155	112	197	155

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	49958	7	7137	3,2
Dentro de grupos	35663	16	2229	
Total	85621	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 82

TRATAMIENTOS

8 6 7 3 5 1 4 2

Peso seco. Raíces.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	70	47	24	47
2	44	66	87	66
3	31	40	49	40
4	79	57	34	57
5	60	46	46	51
6	38	20	50	36
7	26	87	29	47
8	25	18	33	25

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	3285	7	469	1,21
Dentro de grupos	6214	16	388	
Total	9499	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 34

TRATAMIENTOS

8 6 3 1 7 5 4 2

Peso fresco. Total.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	1379	1590	1205	1391
2	1434	1473	1509	1472
3	1269	1070	1470	1270
4	1564	1474	1382	1473
5	1063	892	1118	1024
6	1200	1016	1162	1126
7	871	1373	1242	1162
8	1033	886	1178	1032

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	722025	7	103146	4,14
Dentro de grupos	398394	16	24900	
Total	1120419	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 273

TRATAMIENTOS

5 8 6 7 3 1 2 4

Peso seco. Total.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	241	209	154	201
2	218	234	249	234
3	166	152	197	172
4	235	227	216	226
5	182	144	160	162
6	176	147	167	163
7	112	226	162	167
8	129	112	147	129

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	26601	7	3800	4,38
Dentro de grupos	13893	16	868	
Total	40494	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 51

TRATAMIENTOS

8 5 6 7 3 1 4 2

Clorofilas totales.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	2,49	2,47	1,90	2,29
2	2,25	2,31	2	2,19
3	2,08	2,34	2,34	2,25
4	2,66	2,02	2,41	2,36
5	2,33	1,36	2,24	1,98
6	2,27	2,52	2,26	2,35
7	2,43	2,23	1,94	2,2
8	2,59	2,32	2,26	2,39

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	0,37	7	0,05	0,64
Dentro de grupos	1,32	16	0,08	
Total	1,69	23		

NO HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Clorofila a.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	1,84	1,81	1,47	1,71
2	1,64	1,71	1,54	1,63
3	1,55	1,73	1,71	1,66
4	1,92	1,43	1,68	1,68
5	1,73	0,97	1,62	1,44
6	1,65	1,83	1,61	1,7
7	1,71	1,53	1,35	1,53
8	1,82	1,64	1,58	1,68

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	0,18	7	0,03	0,6
Dentro de grupos	0,7	16	0,04	
Total	0,88	23		

NO HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Clorofila b.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	0,65	0,66	0,43	0,58
2	0,61	0,60	0,46	0,56
3	0,53	0,61	0,63	0,59
4	0,74	0,59	0,73	0,68
5	0,59	0,39	0,61	0,53
6	0,62	0,69	0,65	0,65
7	0,71	0,70	0,58	0,66
8	0,76	0,68	0,68	0,71

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	0,08	7	0,01	1,67
Dentro de grupos	0,12	16	0,01	
Total	0,2	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,15

TRATAMIENTOS

5 2 1 3 6 7 4 8

Carotenoides.

Tratamiento	REPETICIONES 1	2	3	MEDIAS
1	0,29	0,27	0,28	0,28
2	0,36	0,24	0,31	0,30
3	0,22	0,33	0,26	0,27
4	0,19	0,15	0,28	0,20
5	0,20	0,31	0,28	0,26
6	0,37	0,37	0,27	0,33
7	0,21	0,29	0,28	0,26
8	0,14	0,26	0,28	0,23

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	3,43	7	0,49	1,53
Dentro de grupos	5,11	16	0,32	
Total	8,54	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,10

TRATAMIENTOS

4 8 7 5 3 1 2 6

Producción (g/planta).

Tratamiento	REPETICIONES 1	2	3	MEDIAS
1	3279	3284	2625	3063
2	2808	3071	3336	3072
3	3561	3481	3175	3406
4	3582	2840	2107	2843
5	3385	2604	3016	3002
6	2886	2622	2753	2754
7	2158	2863	3582	2868
8	2264	2224	2312	2267

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	2244371	7	320625	1,74
Dentro de grupos	2955511	16	184719	
Total	5199882	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 744

TRATAMIENTOS

8 6 4 7 5 1 2 3

Calibre.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	59	69	63	64
2	61	61	62	61
3	63	59	63	62
4	66	63	61	63
5	61	56	60	59
6	63	59	61	61
7	63	63	61	62
8	62	62	62	62

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	43	7	6	0,98
Dentro de grupos	100	16	6	
Total	143	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 4

TRATAMIENTOS

5 6 2 3 8 7 4 1

pH

Tratamiento	REPETICIONES 1	2	3	MEDIAS
1	4,3	4,4	4,2	4,3
2	4,1	4,4	4,2	4,2
3	4,3	4,3	4,3	4,3
4	4,4	4,1	4,3	4,3
5	4,1	4,2	4,2	4,1
6	4,3	4,3	4,3	4,3
7	4,3	4,3	4,2	4,2
8	4,2	4,2	4,1	4,1

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	0,1	7	0,01	1,9
Dentro de grupos	0,1	16	0,006	
Total	0,2	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,1

TRATAMIENTOS

5 8 2 7 4 3 6 1

Conductividad eléctrica.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	3,54	4,20	4,41	4,05
2	4,33	3,80	4,43	4,19
3	4,22	4,47	4,42	4,37
4	3,96	5,00	4,49	4,48
5	4,68	5,10	5,12	4,97
6	3,71	4,44	4,08	4,08
7	4,32	4,49	3,37	4,06
8	3,97	3,63	4,31	3,97

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	2,3	7	0,33	2,05
Dentro de grupos	2,57	16	0,16	
Total	4,87	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,69

TRATAMIENTOS

8 1 7 6 2 3 4 5

Acidez.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	2,10	1,96	2,30	2,12
2	2,51	2,22	2,19	2,30
3	2,66	2,68	2,19	2,51
4	2,00	2,84	2,72	2,52
5	3,12	2,70	2,46	2,76
6	2,07	2,30	2,12	2,16
7	2,03	2,42	2,37	2,27
8	2,00	2,19	2,64	2,28

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	0,96	7	0,14	1,76
Dentro de grupos	1,25	16	0,08	
Total	2,21	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,48

TRATAMIENTOS

1 6 7 8 2 3 4 5

Solidos solubles.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	4,7	4,7	4,0	4,4
2	5,2	4,7	4,2	4,7
3	4,5	4,7	4,4	4,5
4	4,1	4,7	5,3	4,7
5	4,9	5,4	4,7	5,0
6	4,2	4,4	4,6	4,4
7	4,0	2,9	4,6	3,8
8	4,1	4,0	4,1	4,1

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	2,7	7	0,4	1,84
Dentro de grupos	3,4	16	0,2	
Total	6,1	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,8

TRATAMIENTOS

7 8 6 1 3 2 4 5

Vitamina C.

Tratamiento	REPETICIONES 1	2	3	MEDIAS
1	13,8	11,7	14,4	13,3
2	19,8	16,8	13,9	16,8
3	14,7	15,9	13,2	14,6
4	14,9	14,2	13,4	14,2
5	17,2	15,2	14,1	15,5
6	13,3	13,9	14,0	13,7
7	12,8	14,0	12,7	13,2
8	13,7	14,4	13,0	13,7

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	32,5	7	4,6	2,19
Dentro de grupos	33,9	16	2,1	
Total	66,4	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 2,5

TRATAMIENTOS

7 1 8 6 4 3 5 2

Nitrógeno foliar.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	2,16	2,82	2,66	2,55
2	2,66	2,21	2,43	2,43
3	2,79	2,48	2,66	2,64
4	2,66	2,54	2,60	2,60
5	2,74	2,66	2,88	2,76
6	2,56	2,54	2,47	2,52
7	2,96	2,99	2,36	2,77
8	2,69	2,88	2,78	2,78

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	0,35	7	0,05	1,17
Dentro de grupos	0,69	16	0,04	
Total	1,04	23		

NO HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

Fósforo foliar.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	0,19	0,14	0,17	0,17
2	0,09	0,19	0,14	0,14
3	0,12	0,13	0,13	0,13
4	0,20	0,08	0,14	0,14
5	0,07	0,11	0,16	0,11
6	0,15	0,12	0,08	0,12
7	0,24	0,21	0,23	0,23
8	0,21	0,19	0,20	0,20

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	0,04	7	0,01	3,96
Dentro de grupos	0,02	16	0,001	
Total	0,06	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,06

TRATAMIENTOS

5 6 3 4 2 1 8 7

Potasio foliar.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	2,11	2,74	2,19	2,35
2	2,37	2,25	2,31	2,31
3	2,20	2,04	2,17	2,14
4	2,26	2,46	2,36	2,36
5	2,34	2,27	2,10	2,24
6	2,09	2,22	2,47	2,26
7	2,23	2,60	2,42	2,42
8	2,41	2,28	2,35	2,35

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	0,16	7	0,02	0,81
Dentro de grupos	0,46	16	0,03	
Total	0,62	23		

NO HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

BIBLIOTECA VIRTUAL MiGUEL DE CERVANTES

Calcio foliar.

Tratamiento	REPETICIONES 1	2	3	MEDIAS
1	3,95	4,59	4,33	4,29
2	3,68	4,27	2,98	3,64
3	5,18	5,97	4,57	5,24
4	4,69	4,09	4,39	4,39
5	4,74	4,86	4,92	4,84
6	5,11	4,69	5,36	5,05
7	4,70	4,59	5,38	4,89
8	4,79	4,59	4,69	4,69

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	5,44	7	0,78	4,38
Dentro de grupos	2,84	16	0,18	
Total	8,28	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,73

TRATAMIENTOS

2 1 4 8 5 7 6 3

Magnesio foliar.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	0,75	0,84	0,87	0,82
2	1,06	0,76	0,91	0,91
3	0,94	1,18	0,86	0,99
4	0,94	0,95	0,95	0,95
5	1,07	1,00	0,89	0,99
6	0,87	0,87	1,00	0,91
7	0,79	0,82	1,07	0,89
8	0,94	0,82	0,88	0,88

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	0,07	7	0,01	0,83
Dentro de grupos	0,19	16	0,01	
Total	0,26	23		

NO HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Sodio foliar.

Tratamiento	REPETICIONES 1	2	3	MEDIAS
1	0,16	0,14	0,11	0,14
2	0,06	0,09	0,08	0,08
3	0,13	0,08	0,11	0,11
4	0,16	0,11	0,13	0,13
5	0,00	0,15	0,08	0,08
6	0,09	0,01	0,08	0,06
7	0,01	0,00	0,10	0,04
8	0,02	0,07	0,04	0,04

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	0,03	7	0,004	2,63
Dentro de grupos	0,03	16	0,002	
Total	0,06	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,07

TRATAMIENTOS

7 8 6 5 2 3 4 1

Hierro foliar.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	143	191	250	195
2	130	192	161	161
3	193	220	236	216
4	188	147	168	168
5	171	187	142	167
6	233	130	142	168
7	180	159	204	181
8	199	158	179	179

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	7083	7	1012	0,87
Dentro de grupos	18692	16	1168	
Total	25775	23		

NO HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

Manganeso foliar.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	330	750	750	610
2	430	350	390	390
3	480	460	410	450
4	440	360	400	400
5	320	300	620	413
6	510	580	400	497
7	620	490	500	537
8	500	820	660	660

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	2128	7	304	1,81
Dentro de grupos	2690	16	168	
Total	4818	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 224

TRATAMIENTOS

2 4 5 3 6 7 1 8

Cobre foliar.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	14	13	18	15
2	17	14	16	16
3	19	11	16	15
4	16	14	15	15
5	16	17	14	16
6	15	16	11	14
7	16	13	17	15
8	15	16	16	16

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	7	7	1	0,19
Dentro de grupos	81	16	5	
Total	88	23		

NO HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

Cinc foliar.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	15	20	21	19
2	20	17	19	19
3	22	38	20	27
4	17	19	18	18
5	16	22	18	19
6	25	15	16	19
7	19	17	22	19
8	17	21	19	19

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	169	7	24	1,2
Dentro de grupos	322	16	20	
Total	491	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 8

TRATAMIENTOS

4 1 2 5 6 8 7 3

Boro foliar.

Tratamiento	REPETICIONES 1	2	3	MEDIAS
1	33	31	27	30
2	29	36	32	32
3	31	29	36	32
4	34	30	32	32
5	34	26	31	30
6	34	23	19	25
7	19	19	31	23
8	26	21	24	24

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	339	7	49	2,3
Dentro de grupos	338	16	21	
Total	677	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 8

TRATAMIENTOS

7 8 6 1 5 4 2 3

Molibdeno foliar.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	193	136	170	166
2	92	191	142	142
3	124	127	133	128
4	198	78	138	138
5	74	105	159	113
6	152	117	82	117
7	235	214	229	226
8	213	191	202	202

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	35428	7	5061	3,96
Dentro de grupos	20442	16	1278	
Total	55870	23		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 62

TRATAMIENTOS

5 6 3 4 2 1 8 7

Altura total.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	262	377	281	333	313
2	350	317	335	328	333
3	395	360	385	377	379
4	362	344	336	350	348
5	360	324	339	311	334
6	389	363	358	373	371
7	384	359	393	326	366

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	13808	6	2301	3,38
Dentro de grupos	14301	21	681	
Total	28109	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

<u>Test de Fisher</u>

DMS al nivel de probabilidad 5% 38

TRATAMIENTOS

1 2 5 4 7 6 3

Peso fresco. Tallos y ramas.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	777	1349	858	1142	1032
2	1526	1490	1369	1269	1414
3	1490	1264	1413	1129	1324
4	1286	1325	1230	927	1192
5	1199	1294	1181	990	1166
6	1655	1659	1518	1418	1563
7	1393	1486	1058	1051	1247

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	732267	6	122045	3,84
Dentro de grupos	666531	21	31740	
Total	1398798	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 262

TRATAMIENTOS

1 5 4 7 3 2 6

Peso seco. Tallos y ramas.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	109	187	129	150	144
2	216	204	199	178	199
3	222	191	214	155	196
4	156	170	170	130	157
5	159	171	166	143	160
6	265	223	234	212	234
7	188	210	151	143	173

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	23193	6	3866	6,32
Dentro de grupos	12851	21	612	
Total	36044	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 36

TRATAMIENTOS

1 4 5 7 3 2 6

Peso fresco. Hojas.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	452	1019	402	550	606
2	1250	1180	988	884	1076
3	912	742	696	744	774
4	1095	1083	771	517	867
5	809	1116	783	390	775
6	925	1195	832	729	920
7	714	900	631	566	703

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	565245	6	94208	1,92
Dentro de grupos	1030624	21	49077	
Total	1595869	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 326

TRATAMIENTOS

1 7 3 5 4 6 2

Peso seco. Hojas.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	53	116	54	59	71
2	132	126	114	98	118
3	99	92	85	94	93
4	97	111	96	60	91
5	93	118	88	46	86
6	114	113	98	83	102
7	76	102	79	64	80

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	5530	6	922	2,14
Dentro de grupos	9055	21	431	
Total	14585	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 30

TRATAMIENTOS

1 7 5 4 3 6 2

Peso fresco. Raíces.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	548	576	701	853	670
2	1156	763	887	844	913
3	1050	583	695	650	745
4	586	508	688	463	561
5	751	579	536	493	590
6	926	895	838	795	864
7	1035	745	498	444	681

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	417908	6	69651	2,55
Dentro de grupos	572791	21	27276	
Total	990698	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 243

TRATAMIENTOS

4 5 1 7 3 6 2

Peso seco. Raíces.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	269	160	171	324	231
2	522	242	308	337	352
3	368	194	179	161	226
4	158	108	161	133	140
5	232	148	137	140	164
6	338	360	275	304	319
7	387	195	92	127	200

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	144671	6	24112	3,29
Dentro de grupos	153728	21	7320	
Total	298399	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 126

TRATAMIENTOS

4 5 7 3 1 6 2

Peso fresco. Total.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	1777	2944	1961	2545	2307
2	3932	3433	3244	2998	3402
3	3452	2589	2804	2523	2842
4	2967	2916	2689	1907	2620
5	2759	2989	2500	1873	2530
6	3506	3749	3189	2943	3347
7	3142	3131	2187	2061	2630

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	4157241	6	692874	3,1
Dentro de grupos	4697429	21	223687	
Total	8854670	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 695

TRATAMIENTOS

1 5 4 7 3 6 2

Peso seco. Total.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	431	463	354	533	445
2	870	572	621	613	669
3	689	477	478	410	514
4	411	389	427	323	388
5	484	437	391	329	410
6	717	696	607	598	655
7	651	507	322	334	454

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	313297	6	52216	4,99
Dentro de grupos	219820	21	10468	
Total	533117	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 150

TRATAMIENTOS

4 5 1 7 3 6 2

Clorofila total.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	1,03	1,00	1,02	1,10	1,04
2	1,59	1,32	1,04	0,82	1,19
3	1,25	1,85	1,63	1,69	1,60
4	1,63	1,24	0,72	1,73	1,33
5	1,88	1,90	1,74	1,95	1,87
6	1,99	2,05	1,81	2,00	1,96
7	2,06	2,02	1,96	1,96	2

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	3,64	6	0,61	10,37
Dentro de grupos	1,23	21	0,06	
Total	4,87	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,36

TRATAMIENTOS

1 2 4 3 5 6 7

Clorofila a.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	0,73	0,70	0,72	0,75	0,73
2	0,87	0,75	0,64	0,46	0,68
3	0,69	1,19	1,09	1,16	1,03
4	0,95	0,85	0,66	1,22	0,92
5	1,15	1,16	1,12	1,16	1,15
6	1,27	1,40	1,29	1,37	1,33
7	1,27	1,26	1,30	1,27	1,28

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	1,56	6	0,26	12,75
Dentro de grupos	0,43	21	0,02	
Total	1,99	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,21

TRATAMIENTOS

2 1 4 3 5 7 6

Clorofila b.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	0,30	0,30	0,3	0,35	0,31
2	0,72	0,56	0,4	0,36	0,51
3	0,56	0,67	0,54	0,53	0,57
4	0,67	0,40	0,05	0,51	0,41
5	0,73	0,74	0,62	0,8	0,72
6	0,72	0,65	0,52	0,63	0,63
7	0,79	0,76	0,66	0,69	0,73

ANALISIS DE VARIANZA

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	0,58	6	0,1	5,81
Dentro de grupos	0,35	21	0,02	
Total	0,93	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

<u>Test de Fisher</u>

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,19

TRATAMIENTOS

1 4 2 3 6 5 7

Carotenoides.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	0,25	0,18	0,19	0,17	0,20
2	0,23	0,21	0,21	0,20	0,21
3	0,19	0,21	0,20	0,18	0,20
4	0,21	0,21	0,20	0,23	0,21
5	0,17	0,19	0,21	0,20	0,19
6	0,19	0,22	0,20	0,18	0,20
7	0,21	0,18	0,19	0,2	0,19

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	0,002	6	0,00033	1,01
Dentro de grupos	0,006	21	0,00029	
Total	0,008	27		

NO HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Ac. málico.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	4,82	6,34	4,29	4,56	5,00
2	3,51	4,41	3,89	4,15	3,99
3	3,26	5,67	4,22	4,46	4,40
4	4,35	5,28	5,11	4,65	4,85
5	3,78	4,02	5,19	4,12	4,28
6	3,55	3,87	3,64	3,9	3,74
7	3,84	4,36	3,92	6,23	4,59

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	4848005,21	6	808000,87	1,48
Dentro de grupos	11462481,5	21	545832,45	
Total	16310486,71	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 1,09

TRATAMIENTOS

6 2 5 3 7 4 1

Ac. cítrico.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	1,39	1,40	2,44	1,39	1,65
2	1,12	1,20	2,60	2,47	1,85
3	0,74	1,58	0,68	1,25	1,06
4	1,52	1,17	1,44	1,49	1,41
5	1,16	1,26	1,19	1,24	1,21
6	1,65	1,28	1,71	1,58	1,56
7	1,03	1,10	1,64	1,39	1,29

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	1776018,86	6	296003,14	1,69
Dentro de grupos	3687982	21	175618,19	
Total	5464000,86	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,62

TRATAMIENTOS

3 5 7 4 6 1 2

Ac. acético.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	0,54	0,64	0,91	0,63	0,68
2	0,44	0,39	0,59	0,54	0,49
3	0,29	0,58	0,69	0,74	0,57
4	0,34	0,36	0,54	0,50	0,43
5	0,51	0,46	0,57	0,56	0,53
6	0,59	0,41	0,67	0,62	0,57
7	0,74	0,56	0,65	0,71	0,66

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	188440,21	6	31406,7	2,12
Dentro de grupos	310472,75	21	14784,42	
Total	498912,96	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,18

TRATAMIENTOS

4 2 5 6 3 7 1

Producción (g/planta).

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	3619	6035	5406	5777	5209
2	5039	4226	5173	4900	4835
3	2716	3023	6975	4816	4383
4	5319	3511	3966	4066	4216
5	7319	4846	5457	4883	5626
6	4881	3516	4739	4466	4401
7	7002	3703	4444	5344	5123

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	6504598	6	1084100	0,79
Dentro de grupos	28680122	21	1365720	
Total	35184720	27		

NO HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Calibre.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	66	67	67	66	67
2	66	64	69	67	67
3	63	63	68	66	65
4	69	66	69	66	68
5	66	64	69	66	66
6	66	66	71	72	69
7	66	66	72	69	68

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	40	6	7	1,27
Dentro de grupos	109	21	5	
Total	149	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 4

TRATAMIENTOS

3 5 1 2 4 7 6

pH

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	4,2	4,3	4,3	4,2	4,3
2	4,3	4,3	4,3	4,3	4,3
3	4,4	4,3	4,3	4,3	4,3
4	4,3	4,2	4,3	4,3	4,3
5	4,3	4,3	4,3	4,2	4,3
6	4,3	4,3	4,3	4,3	4,3
7	4,3	4,2	4,3	4,3	4,3

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	0,01	6	0,00167	0,97
Dentro de grupos	0,05	21	0,00238	
Total	0,06	27		

NO HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

Conductividad eléctrica

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	4,50	4,53	4,28	4,73	4,51
2	4,56	4,87	4,64	4,90	4,74
3	4,18	4,60	4,23	4,58	4,40
4	3,81	4,25	4,33	4,42	4,20
5	4,05	4,51	4,20	4,54	4,33
6	4,86	4,73	4,48	4,9	4,74
7	4,11	4,48	4,35	4,24	4,3

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	1,11	6	0,19	4,27
Dentro de grupos	0,91	21	0,04	
Total	2,02	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,31

TRATAMIENTOS

4 7 5 3 1 2 6

Acidez valorable

Tratamiento	REPETICIONES 1	2	3	4	MEDIAS
1	1,82	1,52	1,82	2,01	1,79
2	1,78	1,86	1,72	2,00	1,84
3	1,34	1,82	1,49	1,75	1,60
4	1,45	2,42	1,49	1,78	1,78
5	1,60	1,75	1,6	1,82	1,69
6	1,90	1,93	1,90	2,12	1,96
7	1,52	1,93	1,60	2,08	1,78

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	0,31	6	0,05	0,9
Dentro de grupos	1,2	21	0,06	
Total	1,51	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,35

TRATAMIENTOS

3 5 4 7 1 2 6

Azúcares totales

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	1,75	1,30	1,20	1,75	1,50
2	1,98	2,55	2,53	2,53	2,40
3	2,05	1,18	1,60	1,25	1,52
4	1,23	1,77	1,22	1,31	1,38
5	1,34	1,18	1,57	1,48	1,39
6	1,73	1,20	1,90	1,14	1,49
7	2,01	1,89	1,92	1,62	1,86

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	3,23	6	0,54	6,38
Dentro de grupos	1,77	21	0,08	
Total	5	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,43

TRATAMIENTOS

4 5 6 1 3 7 2

Vitamina C

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	16,3	16,4	16,4	15,3	16,1
2	17,9	17,5	18,2	17,5	17,8
3	16,7	17,0	17,7	15,9	16,8
4	16,5	16,6	16,7	16,3	16,5
5	16,6	16,2	16,5	17,1	16,6
6	16,1	18,0	18,6	17,1	17,5
7	15,5	17,1	16,7	16,1	16,4

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	8,8	6	1,5	3,72
Dentro de grupos	8,3	21	0,4	
Total	17,1	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,9

TRATAMIENTOS

1 7 4 5 3 6 2

Proteínas

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	1,03	2,50	1,79	1,41	1,68
2	2,17	1,53	2,06	1,81	1,89
3	2,24	3,91	2,84	2,64	2,91
4	3,01	3,14	2,97	3,01	3,04
5	3,37	2,76	4,02	2,50	3,16
6	2,86	2,98	3,40	3,71	3,24
7	2,86	2,79	2,93	3,20	2,94

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	9,63	6	1,61	6,89
Dentro de grupos	4,89	21	0,23	
Total	14,52	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,71

TRATAMIENTOS

1 2 3 7 4 5 6

Nitrógeno.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	2,8	3,4	3,6	2,9	3,2
2	2,9	3,1	3,1	2,6	2,9
3	3,0	2,7	2,8	2,8	2,8
4	3,0	3,0	3,2	2,8	3,0
5	2,8	2,8	3,2	3,2	3,0
6	2,9	3,3	3,2	3	3,1
7	2,9	2,9	3,2	3,3	3,1

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	0,3	6	0,1	1
Dentro de grupos	1,1	21	0,1	
Total	1,4	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,4

TRATAMIENTOS

3 2 4 5 7 6 1

Fósforo.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	0.57	0.77	0.82	0.70	0.72
2	0.78	0.75	0.74	0.61	0.72
3	0.79	0.54	0.77	0.79	0.72
4	1.21	0.88	0.85	0.57	0.88
5	0.91	1.00	0.83	0.61	0.84
6	0.89	0.91	0.88	0.75	0.86
7	0.92	0.67	0.76	0.69	76

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	0,12	6	0,02	0,96
Dentro de grupos	0,44	21	0,02	
Total	0,56	27		

NO HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

Potasio.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	3,0	3,0	2,4	2,9	2,8
2	2,9	3,3	2,9	3,0	3,0
3	3,2	2,8	2,9	2,7	2,9
4	2,9	3,2	3,0	3,0	3,0
5	2,8	2,8	2,8	2,3	2,7
6	2,3	4,0	2,9	3	3,1
7	2,7	2,3	2,3	2,8	2,5

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	1	6	0,2	1,51
Dentro de grupos	22	21	0,1	
Total	32	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,5

TRATAMIENTOS

7 5 1 3 2 4 6

Calcio.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	6,0	7,4	8,0	7,5	7,2
2	8,2	7,3	7,1	7,2	7,4
3	7,5	6,2	6,7	7,3	6,9
4	8,4	7,8	6,4	7,9	7,6
5	8,1	8,5	6,4	5,7	7,2
6	6,3	6,9	6,0	6,1	6,3
7	8,3	6,7	6,4	6,3	6,9

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	4,3	6	0,7	1,02
Dentro de grupos	14,6	21	0,7	
Total	18,9	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 1,2

TRATAMIENTOS

6 7 3 5 1 2 4

Magnesio.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	0.50	0.52	0.42	0.55	0.50
2	0.60	0.58	0.52	0.57	0.57
3	0.65	0.51	0.48	0.54	0.55
4	0.60	0.61	0.51	0.59	0.58
5	0.65	0.58	0.54	0.53	0.58
6	0.48	0.69	0.48	0.53	0.55
7	0.63	0.62	0.48	0.46	55

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	0,02	6	0,0033	0,64
Dentro de grupos	0,1	21	0,0048	
Total	0,12	27		

NO HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Sodio.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	0,16	0,17	0,12	0,17	0,16
2	0,15	0,13	0,12	0,15	0,14
3	0,16	0,16	0,13	0,13	0,15
4	0,16	0,18	0,15	0,2	0,17
5	0,15	0,18	0,21	0,2	0,19
6	0,17	0,23	0,18	0,21	0,2
7	0,19	0,18	0,15	0,20	0,18

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	0,01	6	0,0017	3,92
Dentro de grupos	0,01	21	0,00048	
Total	0,02	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,03

TRATAMIENTOS

2 3 1 4 7 5 6

Hierro.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	94	139	112	146	123
2	143	124	110	140	129
3	148	126	108	146	132
4	178	140	95	153	142
5	159	153	154	168	159
6	169	169	145	175	165
7	167	127	127	133	139

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	5669	6	945	2,22
Dentro de grupos	8922	21	425	
Total	14591	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 30

TRATAMIENTOS

1 2 3 7 4 5 6

Manganeso.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	178	225	265	272	235
2	245	261	246	249	250
3	288	160	246	307	250
4	330	242	221	243	259
5	338	316	277	211	286
6	214	229	215	218	219
7	208	297	248	240	248

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	11989	6	1999	1,09
Dentro de grupos	38585	21	1837	
Total	50574	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 63

TRATAMIENTOS

6 1 2 3 4 7 5

Cobre.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	14	15	19	19	17
2	17	17	16	18	17
3	19	14	14	18	16
4	19	16	13	17	16
5	18	19	18	18	18
6	15	21	17	19	18
7	19	16	14	18	17

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	15	6	3	0,54
Dentro de grupos	98	21	5	
Total	113	27		

NO HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

Cinc.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	14	24	19	21	20
2	22	18	17	23	20
3	23	17	15	18	18
4	25	20	14	23	21
5	18	17	19	29	21
6	23	24	21	27	24
7	20	15	16	20	18

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	93	6	16	1,03
Dentro de grupos	315	21	15	
Total	408	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 6

TRATAMIENTOS

7 3 1 2 4 5 6

Boro.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	102	100	132	125	115
2	106	103	109	105	106
3	130	117	124	115	122
4	112	98	115	89	104
5	108	95	89	99	98
6	97	103	105	101	102
7	98	87	91	101	94

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	2193	6	366	4,42
Dentro de grupos	1736	21	83	
Total	3929	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 13

TRATAMIENTOS

7 5 6 4 2 1 3

Molibdeno.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	199	185	195	198	194
2	201	200	189	195	196
3	199	206	188	200	198
4	200	200	194	193	197
5	202	202	192	199	199
6	208	205	205	203	205
7	195	189	205	199	197

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	291	6	49	1,59
Dentro de grupos	641	21	30	
Total	932	27		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 8

TRATAMIENTOS

1 2 4 7 3 5 6

Dosis óptima L1.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	88	88	123	100
2	106	159	123	129
3	247	159	176	194
4	194	159	212	188
5	212	176	176	188

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	21857	4	5464	6,13
Dentro de grupos	8917	10	892	
Total	30774	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 54

TRATAMIENTOS

1 2 4 5 3

Dosis óptima L2.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	87	103	110	100
2	103	95	55	84
3	87	87	87	87
4	87	126	103	105
5	47	71	47	55

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	4543	4	1136	4,14
Dentro de grupos	2741	10	274	
Total	7284	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 30

TRATAMIENTOS

5 2 3 1 4

Dosis óptima L3.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	87	104	109	100
2	109	82	115	102
3	71	87	87	82
4	93	93	82	89
5	98	98	98	98

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	861	4	215	1,9
Dentro de grupos	1131	10	113	
Total	1992	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 19

TRATAMIENTOS

3 4 5 1 2

Dosis óptima L4.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	117	88	95	100
2	110	117	124	117
3	88	66	102	85
4	73	88	95	85
5	110	102	73	95

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	2055	4	514	2,29
Dentro de grupos	2248	10	225	
Total	4303	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 27

TRATAMIENTOS

3 4 5 1 2

Dosis óptima L5.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	108	108	83	100
2	83	108	92	94
3	100	100	108	103
4	125	133	117	125
5	108	67	83	86

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	2528	4	632	3,5
Dentro de grupos	1806	10	181	
Total	4334	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

<u>Test de Fisher</u>

DMS al nivel de probabilidad 5% 24

TRATAMIENTOS

5 2 1 3 4

Dosis óptima L6.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	85	92	123	100
2	108	62	108	92
3	100	85	77	87
4	108	77	77	87
5	100	69	108	92

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	331	4	83	0,21
Dentro de grupos	3984	10	398	
Total	4316	14		

NO HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Dosis óptima L7.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	104	104	91	100
2	91	78	104	91
3	91	91	91	91
4	156	130	143	143
5	130	156	143	143

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	8885	4	2221	19,6
Dentro de grupos	1133	10	113	
Total	10018	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

<u>Test de Fisher</u>

DMS al nivel de probabilidad 5% 19

TRATAMIENTOS

2 3 1 4 5

Dosis óptima L8.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	85	104	111	100
2	130	124	98	117
3	117	104	124	115
4	111	117	111	113
5	130	130	137	133

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	1628	4	407	3,34
Dentro de grupos	1220	10	122	
Total	2848	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 20

TRATAMIENTOS

1 4 3 2 5

Dosis óptima L9.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	73	110	100	100
2	147	110	129	129
3	116	110	135	120
4	116	116	98	110
5	116	122	104	114

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	1385	4	346	1,4
Dentro de grupos	2475	10	248	
Total	3860	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 28

TRATAMIENTOS

1 4 5 3 2

Dosis óptima L10.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	92	104	104	100
2	127	98	104	110
3	115	104	110	110
4	92	98	87	92
5	81	92	92	88

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	1132	4	283	3,64
Dentro de grupos	777	10	78	
Total	1909	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 16

TRATAMIENTOS

5 4 1 2 3

Dosis óptima RV1.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	106	88	106	100
2	123	123	141	129
3	176	194	212	194
4	194	194	176	188
5	212	212	141	188

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	21857	4	5464	11,98
Dentro de grupos	4562	10	456	
Total	26419	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 39

TRATAMIENTOS

1 2 4 5 3

Dosis óptima RV2.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	95	103	103	100
2	95	95	63	84
3	103	103	110	105
4	87	87	87	87
5	47	55	63	55

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	4543	4	1136	13,02
Dentro de grupos	872	10	87	
Total	5415	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 17

TRATAMIENTOS

5 2 4 1 3

Dosis óptima RV3.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	100	100	100	100
2	92	100	108	100
3	108	117	125	117
4	92	92	100	94
5	92	100	92	94

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	1000	4	250	6,75
Dentro de grupos	370	10	37	
Total	1370	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

<u>Test de Fisher</u>

DMS al nivel de probabilidad 5% 11

TRATAMIENTOS

4 5 1 2 3

Dosis óptima T.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	92	104	104	100
2	129	141	110	127
3	92	98	110	100
4	92	110	92	98
5	110	98	135	114

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	1835	4	459	2,74
Dentro de grupos	1675	10	167	
Total	3510	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 23

TRATAMIENTOS

4 1 3 5 2

L1.

Tratamiento	REPETICIONES 1	2	3	MEDIAS
1	95	100	105	100
2	68	59	68	65
3	23	41	23	29
4	73	91	82	82
5	27	18	23	23

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	13397	4	3349	63,99
Dentro de grupos	523	10	52	
Total	13920	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 13

TRATAMIENTOS

5 3 2 4 1

L7.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	94	117	89	100
2	98	84	94	92
3	38	47	47	44
4	61	80	61	67
5	28	38	14	27

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	11684	4	2921	25,89
Dentro de grupos	1128	10	113	
Total	12812	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

<u>Test de Fisher</u>

DMS al nivel de probabilidad 5% 19

TRATAMIENTOS

5 3 4 2 1

L8.

Tratamiento	REPETICIONES 1	2	3	MEDIAS
1	103	98	98	100
2	34	49	59	48
3	15	10	10	11
4	74	54	69	66
5	39	30	15	28

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	14169	4	3542	41,43
Dentro de grupos	855	10	85	
Total	15024	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 17

TRATAMIENTOS

3 5 2 4 1

RV1.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	98	109	93	100
2	60	49	38	49
3	11	5	5	7
4	60	76	65	67
5	16	11	16	15

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	17568	4	4392	79,05
Dentro de grupos	556	10	56	
Total	18124	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 14

TRATAMIENTOS

3 5 2 4 1

RV2.

Tratamiento	REPETICIONES 1	2	3	MEDIAS
1	102	102	96	100
2	54	48	43	48
3	0	11	21	11
4	64	75	59	66
5	27	16	27	23

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	GRADOS LIBERTAD	VARIANZA	F
Entre grupos	15060	4	3765	72,91
Dentro de grupos	516	10	52	
Total	15576	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 13

TRATAMIENTOS

3 5 2 4 1

RV3.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	94	112	94	100
2	82	65	82	76
3	29	6	18	18
4	71	53	112	78
5	24	18	29	24

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	15995	4	3999	15,48
Dentro de grupos	2584	10	258	
Total	18579	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 29

TRATAMIENTOS

3 5 2 4 1

T.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	95	95	110	100
2	67	43	52	54
3	24	29	33	29
4	67	67	67	67
5	14	24	19	19

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	12432	4	3108	60,47
Dentro de grupos	514	10	51	
Total	12946	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 13

TRATAMIENTOS

5 3 2 4 1

L1.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	36,7	23,0	30,8	30,2
2	12,3	10,7	10,7	11,2
3	31,9	32,3	35,2	33,1
4	13,2	12,6	14,7	13,5

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	15734,7	4	3933,7	374,19
Dentro de grupos	105,1	10	10,5	
Total	15839,8	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 5,9

TRATAMIENTOS

2 4 1 3

L7.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	30,4	30,4	26,1	29
2	10,7	14,6	13,0	12,8
3	26,8	33,6	30,4	30,2
4	13	13,1	11,0	12,4

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	15815,8	4	3953,9	867,92
Dentro de grupos	45,6	10	4,6	
Total	15861,4	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 3,9

TRATAMIENTOS

4 2 1 3

L8.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	33,9	39,0	32,3	35
2	16,5	15,8	17,4	16,6
3	33,9	34,1	33,3	33,7
4	17,8	16,6	16,6	17,0

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	14219,9	4	3555	1307,54
Dentro de grupos	27,2	10	2,7	
Total	14247,1	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 3,0

TRATAMIENTOS

2 4 3 1

RV1.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	26,9	31,5	30,8	29,7
2	12,4	10,2	10,7	11,1
3	41,5	41,2	41,2	41,3
4	16,0	12,4	13,7	14,0

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	15642,5	4	3910,6	1777,45
Dentro de grupos	22	10	2,2	
Total	15664,5	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 2,7

TRATAMIENTOS

2 4 1 3

RV2.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	36,0	33,3	40,8	36,7
2	8,3	9,3	10,8	9,4
3	36,2	46,6	34,9	39,2
4	14,5	13,9	15,3	14,5

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	15199,9	4	3800	1675,8
Dentro de grupos	22,7	10	2,3	
Total	15222,6	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 2,7

TRATAMIENTOS

2 4 1 3

RV3.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	31,5	25,3	31,1	29,3
2	11,6	12,2	11,7	11,8
3	40,0	38,8	43,1	40,6
4	17,0	15,7	18,6	17,1

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	15102,9	4	3775,7	984,81
Dentro de grupos	38,3	10	3,8	
Total	15141,2	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 3,6

TRATAMIENTOS

2 4 1 3

T.

	REPETICIONES			
Tratamiento	1	2	3	MEDIAS
1	35,7	32,3	32,8	33,6
2	12,6	14,5	15	14
3	41,4	46,5	43,4	43,8
4	14,1	13,6	13,2	13,6

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	15059,1	4	3764,8	1590,7
Dentro de grupos	23,7	10	2,4	
Total	15082,8	14		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 2,8

TRATAMIENTOS

4 2 1 3

Fructosa foliar.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	4.77	494	511	4.57	4.85
2	4.55	5.79	837	7.15	6.46
3	5.70	7.05	1068	6.29	7.43
4	2.76	5.06	611	487	4.70
5	6.00	9.22	815	711	7.62
6	6.46	5.22	2.85	762	5.54
7	5.77	5.41	6.74	920	6.78
8	3.67	3.27	2.56	232	296
9	6.22	4.19	5.71	3.76	497
10	3.07	3.32	4.32	4.07	369
11	2.64	4.90	3.92	4.18	391

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	96,71	10	9,67	4,88
Dentro de grupos	65,42	33	1,98	
Total	162,13	43		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 2,03

TRATAMIENTOS

8 10 11 4 1 9 6 2 7 3 5

Glucosa foliar.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	4.58	4.42	4.58	4.44	4.51
2	5.16	6.03	9.40	7.01	6.90
3	4.95	5.83	11.94	5.64	7.09
4	3.09	5.39	6.20	5.56	5.06
5	4.51	8.42	7.27	8.67	7.22
6	6.99	6.19	294	6.80	5.73
7	4.66	3.90	4.18	414	4.22
8	4.48	3.49	228	220	3.11
9	6.53	5.70	5.70	398	5.48
10	3.87	3.82	4.95	436	4.25
11	2.54	2.78	3.38	321	297

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	90,16	10	9,02	3,83
Dentro de grupos	77,64	33	2,35	
Total	167,8	43		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 2,21

TRATAMIENTOS

11 8 7 10 1 4 9 6 2 3 5

Sacarosa foliar.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	1.25	1.25	1.64	1.40	1.39
2	0.67	0.91	1.23	1.16	0.99
3	1.22	1.22	2.12	1.78	1.58
4	1.02	2.47	1.85	2.19	1.88
5	1.57	1.71	1.85	199	1.78
6	2.65	2.12	1.47	2.26	2.12
7	0.53	1.31	1.06	1.27	1.04
8	1.63	0.64	0.97	84	1.02
9	0.73	0.73	0.85	153	0.96
10	0.95	1.48	2.32	1.23	150
11	0.46	0.82	0.63	0.72	66

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	8,42	10	0,84	5,16
Dentro de grupos	5,39	33	0,16	
Total	13,81	43		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,58

TRATAMIENTOS

11 9 2 8 7 1 10 3 5 4 6

Prolina foliar.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	2.03	2.53	2.99	341	2.74
2	2.18	2.27	2.50	226	2.30
3	14.22	15.44	16.58	20.08	16.58
4	1.13	2.53	2.49	396	253
5	0.60	2.08	0.82	0.38	97
6	1.48	0.39	2.32	2.01	155
7	2.41	2.58	4.99	0.47	261
8	5.60	24.47	14.61	12.01	1417
9	12.18	9.13	18.60	384	1094
10	10.44	5.36	8.55	1197	908
11	2.91	2.80	3.04	750	406

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	1236,11	10	123,61	10,82
Dentro de grupos	376,95	33	11,42	
Total	1613,06	43		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 4,87

TRATAMIENTOS

5 6 2 4 7 1 11 10 9 8 3

Fósforo.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	0.22	0.27	0.21	0.21	0.23
2	0.19	0.27	0.25	0.25	0.24
3	0.18	0.15	0.16	0.17	0.17
4	0.25	0.26	0.25	0.24	0.25
5	0.18	0.20	0.19	0.17	0.19
6	0.24	0.27	0.21	0.20	0.23
7	0.17	0.19	0.14	0.14	0.16
8	0.25	0.24	26	25	0.25
9	0.23	0.18	0.19	20	0.20
10	0.29	0.17	0.17	22	21
11	0.22	0.20	0.22	0.22	22

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	0,04	10	0,004	5,54
Dentro de grupos	0,02	33	0,0006	
Total	0,06	43		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

<u>Test de Fisher</u>

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,04

TRATAMIENTOS

7 3 5 9 10 11 1 6 2 8 4

Potasio.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	2.9	3.0	1.9	2.7	2.6
2	3.4	4.7	3.6	4.0	3.9
3	2.0	2.1	2.2	2.3	2.2
4	4.2	4.6	4.6	4.9	4.6
5	2.1	2.4	2.1	2.3	2.2
6	4.9	2.3	2.2	3.5	3.2
7	2.8	1.8	2.6	2.4	2.4
8	2.0	1.9	1.9	1.6	1.8
9	2.8	2.5	2.6	22	2.5
10	3.9	2.4	1.9	28	27
11	2.3	2.1	3.4	2.2	25

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	26,2	10	2,6	7,98
Dentro de grupos	10,8	33	0,3	
Total	37	43		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

<u>Test de Fisher</u>

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,9

TRATAMIENTOS

8 3 5 7 11 9 1 10 6 2 4

Calcio.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	3.6	3.7	3.0	3.6	3.5
2	3.0	3.4	3.1	3.3	3.2
3	3.1	3.1	3.1	3.0	3.1
4	3.0	2.8	3.0	2.8	2.9
5	3.3	3.3	3.3	2.6	3.2
6	3.5	1.6	2.7	2.3	2.5
7	2.5	2.4	2.7	3.0	2.6
8	3.4	3.5	3.4	35	3.5
9	3.0	2.9	3.2	30	3.0
10	3.1	3.2	3.1	37	33
11	2.6	3.1	2.3	2.4	26

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	4,4	10	0,4	4,25
Dentro de grupos	3,4	33	0,1	
Total	7,8	43		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

<u>Test de Fisher</u>

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,5

TRATAMIENTOS

6 11 7 4 9 3 5 2 10 8 1

Magnesio.

Tratamiento	REPETICIONES 1	2	3	4	MEDIAS
1	0.49	0.54	32	0.58	0.48
2	0.54	0.66	0.59	0.58	0.59
3	0.49	0.50	51	0.52	0.50
4	0.55	0.54	0.49	0.52	0.52
5	0.50	0.55	47	0.45	0.49
6	0.68	0.20	45	0.52	0.46
7	0.54	0.20	0.55	38	0.42
8	0.41	0.39	0.40	29	0.37
9	0.50	0.51	0.46	50	49
10	0.58	0.46	0.31	0.47	46
11	0.50	0.42	0.61	0.37	47

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	0,13	10	0,01	1,26
Dentro de grupos	0,33	33	0,01	
Total	0,46	43		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,14

TRATAMIENTOS

8 7 10 6 11 1 9 5 3 4 2

Sodio.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	0.29	0.19	0.08	0.32	0.22
2	0.48	0.36	0.40	0.42	0.41
3	1.27	1.25	1.27	1.25	1.26
4	0.39	0.38	0.40	0.37	0.38
5	1.00	1.20	0.95	1.17	1.08
6	0.59	0.00	0.44	76	0.45
7	1.30	1.27	1.75	150	1.46
8	0.28	0.27	0.32	29	0.29
9	1.13	1.69	1.12	100	1.24
10	0.54	0.29	0.17	0.44	36
11	1.40	1.43	1.99	1.02	146

BIBLIOTECA VIRTUAL MIGUEL DE CERVANTES

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	17,62	10	1,76	15,49
Dentro de grupos	3,75	33	0,11	
Total	21,37	43		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 0,49

TRATAMIENTOS

1 8 10 4 2 6 5 9 3 11 7

Hierro.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	140	138	208	135	155
2	98	122	100	99	105
3	134	120	106	107	117
4	120	120	110	113	116
5	141	139	173	128	145
6	178	204	141	119	161
7	148	255	130	200	183
8	216	216	218	217	217
9	175	98	131	130	134
10	170	178	131	138	154
11	150	173	126	244	173

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	43382	10	4338	4,47
Dentro de grupos	32031	33	971	
Total	75413	43		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 45

TRATAMIENTOS

2 4 3 9 5 10 1 6 11 7 8

Manganeso.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	186	175	160	257	194
2	83	118	91	96	97
3	92	99	102	108	100
4	102	107	126	100	109
5	129	147	151	101	132
6	105	97	225	75	125
7	233	95	148	138	154
8	129	130	139	143	135
9	131	99	106	129	116
10	131	85	89	91	99
11	100	83	112	134	107

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	340	10	34	3,16
Dentro de grupos	356	33	11	
Total	696	43		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

<u>Test de Fisher</u>

DMS al nivel de probabilidad 5% 5

TRATAMIENTOS

2 10 3 11 4 9 6 5 8 7 1

Cobre.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	11	10	14	9	11
2	12	15	12	12	13
3	11	12	12	12	12
4	14	16	16	17	15
5	12	13	11	12	12
6	13	18	19	14	16
7	10	21	11	12	13
8	26	26	30	30	28
9	14	11	12	14	13
10	20	12	11	14	14
11	15	14	17	17	16

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	859	10	86	14,38
Dentro de grupos	197	33	6	
Total	1056	43		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 4

TRATAMIENTOS

1 3 5 2 9 7 10 4 11 6 8

Cinc.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	86	85	101	85	89
2	69	92	71	90	80
3	79	80	84	83	82
4	82	70	80	73	76
5	79	88	79	74	80
6	94	119	90	84	97
7	78	116	85	87	92
8	84	100	106	121	103
9	89	85	78	81	83
10	98	69	81	78	81
11	90	94	74	130	97

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	3001	10	300	1,89
Dentro de grupos	5268	33	160	
Total	8269	43		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

Test de Fisher

DMS al nivel de probabilidad 5% 18

TRATAMIENTOS

4 5 2 10 3 9 1 7 11 6 8

Boro.

	REPETICIONES				
Tratamiento	1	2	3	4	MEDIAS
1	60	58	59	66	61
2	58	60	60	58	59
3	55	53	56	50	53
4	60	57	55	59	58
5	53	57	54	53	54
6	62	65	53	67	62
7	58	57	49	78	61
8	91	95	66	65	79
9	62	47	46	51	52
10	54	53	49	59	54
11	51	41	56	60	52

ANALISIS DE VARIANZA

FACTOR VARIACIÓN	**SUMA CUADRADOS**	**GRADOS LIBERTAD**	**VARIANZA**	**F**
Entre grupos	2445	10	245	4,34
Dentro de grupos	1859	33	56	
Total	4304	43		

HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS AL 95%

<u>Test de Fisher</u>

DMS al nivel de probabilidad 5% 11

TRATAMIENTOS

9 11 3 10 5 4 2 1 7 6 8

RESUMEN

El amplio desarrollo de la agricultura de régimen intensivo, con el consiguiente empleo de fertilizantes minerales de manera indiscriminada, se ha traducido en una pérdida de los niveles óptimos de materia orgánica del suelo. Por ello, y para restablecer dichos niveles, los agricultores han utilizado, en muchos casos, cantidades muy importantes de sustancias húmicas comerciales. Es decir, hasta ahora, las sustancias húmicas se han venido empleando mayoritariamente como mejoradores de las condiciones de fertilidad de los suelos, aprovechado sus efectos indirectos sobre los cultivos. Pero con las dosis tan bajas empleadas, la incidencia sobre las propiedades del suelo suele ser muy escasa.

En los últimos años, en cambio, con el desarrollo de los cultivos sobre sustrato inerte y la fertirrigación, el rol de las sustancias húmicas comerciales ha dado un nuevo giro. En la actualidad se pretende explorar los efectos directos de estos compuestos sobre la planta. Es decir, los efectos bioestimulantes o bioactivadores.

Como ya se ha mencionado anteriormente, otro de los problemas más graves a los que se enfrentan los agricultores de la cuenca mediterránea es el de la salinización de sus suelos y sustratos debido al inevitable empleo de aguas de riego de deficiente calidad y al uso excesivo de fertilizantes minerales. En este trabajo se ha tratado, igualmente, de estudiar si el efecto bioestimulante de las sustancias húmicas se podría convertir en un "*efecto bioprotector*" para el cultivo en esas condiciones de salinidad.

Con el desarrollo de este trabajo se han determinado dosis óptimas de aplicación de sustancias húmicas comerciales sobre un cultivo de tomate cv. Daniela, de gran importancia económica, en invernadero y fertirrigado; estudiándose el efecto de dichos materiales sobre diversos parámetros fisiológicos y de calidad de los frutos. Asimismo se ha comprobado el efecto bioprotector de las sustancias húmicas sobre la germinación en medio salino y sobre los parámetros de osmorregulación de un cultivo que se desarrolla también en condiciones de estrés salino.