



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

INSTITUTO DE HORTICULTURA

INFLUENCIA DEL ÁCIDO CÍTRICO EN LA ABSORCIÓN Y TRASLOCACIÓN
DE NUTRIENTES EN LECHUGA (*Lactuca sativa* L.)

TESIS

Que como requisito parcial
Para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

Presenta:
DARÍO RIVERA LOZOYA



Bajo la dirección de: **ROGELIO CASTRO BRINDIS, Dr.**

DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DIRECCION DE SERVICIOS ESCOLARES
COMISION DE EXAMENES PROFESIONALES



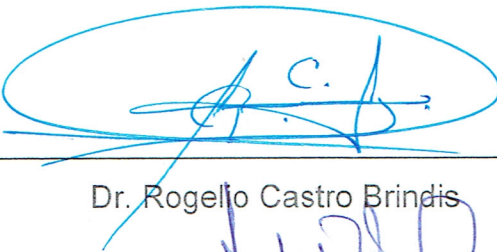
Chapingo, Estado de México, junio 2018

INFLUENCIA DEL ÁCIDO CÍTRICO EN LA ABSORCIÓN Y TRASLOCACIÓN DE NUTRIENTES EN LECHUGA (*Lactuca sativa* L.)

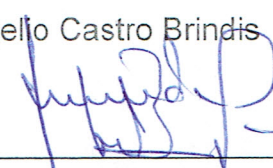
Tesis realizada por Darío Rivera Lozoya, bajo la supervisión del Comité asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

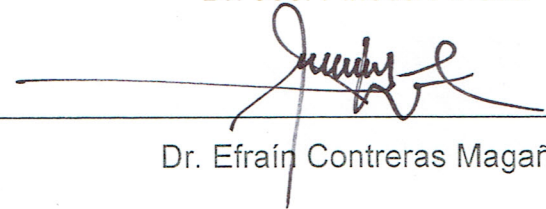
DIRECTOR: _____


Dr. Rogelio Castro Brindis

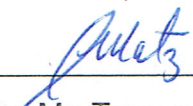
ASESOR: _____


Dr. Joel Pineda Pineda

ASESOR: _____


Dr. Efraín Contreras Magaña

ASESOR: _____


Dra. Ma. Teresa Martínez Damián

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS	i
LISTA DE FIGURAS	ii
AGRADECIMIENTOS	iv
DATOS BIOGRÁFICOS	v
RESUMEN GENERAL	vi
GENERAL ABSTRACT.....	vii
1. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1. Descripción del material vegetal.....	4
2.2. Hortalizas de hoja con potencial comercial.....	5
2.3. Soluciones nutritivas para la producción de hortalizas de hoja de alto valor comercial.....	5
2.4. Los ácidos orgánicos.....	6
2.5. El ácido cítrico en la solución nutritiva.....	9
2.6. Cultivo sin Suelo.....	11
2.7. Manejo de lechuga en sistemas de hidroponía NFT bajo condiciones de invernadero.....	12
2.8. Literatura Citada.....	13
3. CAPÍTULO 2. EFECTO DEL ÁCIDO CÍTRICO EN LECHUGA CULTIVADA BAJO SISTEMAS DE CULTIVOS SIN SUELO EN SOLUCIÓN CONTINUA.....	18
3.1. Resumen.....	18
3.2. Summary.....	19
3.3. Introducción	20
3.4. Materiales y Métodos	21
3.4.1. Ubicación del experimento	21
3.4.2. Material vegetal y manejo del cultivo.....	22
3.4.3. Diseño experimental y descripción de tratamientos	22
3.4.4. Variables estudiadas.....	23
3.4.5. Análisis estadístico.....	24
3.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25

3.5.1.	Cantidad de agua consumida por tratamiento.....	25
3.5.2.	Cantidad e inicio de absorción de nutrientes.....	26
3.5.3.	Análisis nutrimental del tejido	30
3.5.4.	Análisis morfológico	34
3.6.	CONCLUSIONES	36
3.7.	LITERATURA CITADA.....	36
4.	CAPÍTULO 3. OPTIMIZACIÓN DE LA DOSIS DE ÁCIDO CÍTRICO PARA INCREMENTAR LA ABSORCIÓN Y TRANSLOCACIÓN DE NUTRIENTES EN LECHUGA	40
4.1.	Resumen.....	40
4.2.	Summary.....	41
4.3.	Introducción	42
4.4.	Materiales y Métodos	43
4.4.1.	Tratamientos y material vegetal	43
4.4.2.	Sitio experimental.....	44
4.4.3.	Conducción del experimento y estimación de la absorción nutricional	44
4.4.4.	Diseño experimental.....	45
4.4.5.	Colecta de datos para el análisis morfológico y tejido vegetal.	46
4.4.6.	Análisis de datos	46
4.5.	Resultados y discusión	47
4.5.1.	Cantidad de agua consumida por tratamiento.....	47
4.5.2.	Cantidad e inicio de absorción de nutrientes.....	48
4.5.3.	Análisis nutrimental de tejido.....	51
4.5.4.	Efecto del ácido cítrico en las características morfológicas de lechuga	53
4.6.	CONCLUSIONES	56
4.7.	LITERATURA CITADA.....	57
5.	ANEXO	61
5.1.	EXPERIMENTO 1	61
5.2.	EXPERIMENTO 2	62

LISTA DE CUADROS

1. CAPITULO 1. REVISIÓN DE LITERATURA

Cuadro 1. Soluciones que pueden emplearse para el cultivo de hortalizas de hoja

Cuadro 2. Constantes de estabilidad de complejos orgánicos ácido-metal

2. CAPÍTULO 2. EFECTO DEL ÁCIDO CÍTRICO EN LECHUGA CULTIVADA BAJO SISTEMAS DE CULTIVO SIN SUELO EN SOLUCIÓN CONTINUA.

Cuadro 3. Concentración de los iones presentes en agua y solución de Steiner al 50%.

Cuadro 4. Concentración promedio de los iones presentes en la solución nutritiva remanente en un periodo de siete semanas

Cuadro 5. Resultados del análisis de varianza para las variables morfológicas y nutrimentales del tejido vegetal en el cultivo de lechuga.

Cuadro 6. Análisis nutrimental de tejido vegetativo crecido bajo diferentes concentraciones de ácido cítrico.

Cuadro 7. Comparación de medias del efecto del ácido cítrico en variables morfológicas de lechuga en hidroponía.

3. CAPÍTULO 3. OPTIMIZACIÓN DE LA DOSIS DE ÁCIDO CÍTRICO PARA INCREMENTAR LA ABSORCIÓN Y TRANSLOCACIÓN DE NUTRIENTES EN LECHUGA.

Cuadro 8. Contenido de iones en la solución Steiner (ppm) utilizadas.

Cuadro 9. Consumo total de agua por tratamiento y planta durante las siete semanas de producción

Cuadro 10. Resultados del análisis de varianza para las variables morfológicas y nutrimentales del tejido vegetal en el cultivo de lechuga.

Cuadro 11. Comparación de medias de los efectos de los tratamientos sobre la concentración nutrimental en materia seca (hoja).

Cuadro 12. Comparación de medias de los tratamientos en las variables morfológicas de lechuga.

LISTA DE FIGURAS

1. CAPITULO 1. REVISIÓN DE LITERATURA

Figura 1. Estructura química del ácido cítrico.

Figura 2. Comportamiento de la estructura química del ácido cítrico en diferentes condiciones de pH en la solución.

Figura 3. Cantidad de agua consumida por cada tratamiento en el sistema.

Figura 4. Cantidad promedio de agua consumida por la planta dentro de cada tratamiento en el sistema NFT

2. CAPÍTULO 2. EFECTO DEL ÁCIDO CÍTRICO EN LECHUGA CULTIVADA BAJO SISTEMAS DE CULTIVO SIN SUELO EN SOLUCIÓN CONTINUA.

Figura 5. Tendencia de absorción acumulada de cada nutriente en los tratamientos.

Figura 6. Tendencia de absorción acumulada de cada nutriente en los tratamientos.

3. CAPÍTULO 3. OPTIMIZACIÓN DE LA DOSIS DE ÁCIDO CÍTRICO PARA INCREMENTAR LA ABSORCIÓN Y TRANSLOCACIÓN DE NUTRIENTES EN LECHUGA.

Figura 7. Tendencia de absorción acumulada de cada macronutriente en los tratamientos.

Figura 8. Tendencia de absorción acumulada de cada micronutriente en los tratamientos.

Figura 9. Efecto del ácido cítrico en la calidad visual de las hojas de la lechuga.

4. ANEXOS

Figura 10. Sistemas NFT con cultivo de lechuga en forma piramidal.

Figura 11. Diferencias visuales morfológicas de T₃, T₂, T₁.

Figura 12. Invernadero del Campo Agrícola Experimental “El Ranchito”.

Figura 13. Plantas en sistemas de almácigo antes de trasplante a los sistemas.

Figura 14. Plantas de lechuga con 0mM de ácido cítrico en 4ta semana después de trasplante

Figura 15. Plantas de Lechuga en los diferentes tratamientos antes de la toma de datos.

Figura 16. Diferencia visuales morfológicas entre las concentraciones a) 0mM y b) 0.1041 mM.

Figura 17. Mucílago presente en la raíz con concentración 0.4264mM a) Vista general de raíz, b) Acercamiento de raíz, c) Raíz cubierta de mucílago.

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco a Dios por haberme hecho cada vez más fuerte en cada situación difícil de afrontar, y en este proceso de aprendizaje que día con día me llevo a ser más consiente de mis actos como persona y como ser humano.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico brindado para la realización de mis estudios de posgrado, así como a los profesores y funcionarios de la Universidad Autónoma Chapingo por su buena participación en la enseñanza, formación y gestión de recursos para llevar a cabo esta investigación.

Al Dr. Rogelio Castro Brindis por su valioso apoyo, comprensión y sus acertados consejos. Por estar al pendiente de mi proceso de avance en esta etapa de formación. Y por todo el apoyo brindado para esta investigación.

A mis asesores Dr. Efraín Magaña Contreras por su buena contribución al aprendizaje de interpretación y formulación de Soluciones Nutritivas, al Dr. Joel Pineda Pineda por su guía, consejos para desarrollar esta investigación, así como el haberme aceptado en su laboratorio para realizar los análisis nutricionales de solución y planta.

A todos los profesores del instituto de Horticultura y compañeros por compartir sus conocimientos y experiencias académicas conmigo y enriquecer mi acervo profesional.

A mi tía Rosario que fue el pilar clave en mi estancia ya que me permitió compartir su casa por estos dos años de maestría y aprender más de las relaciones interpersonales.

A mis Padres Darío Rivera Moctezuma y María Alejandra Lozoya Telléz, quienes me apoyaron desde la distancia, con todas las complicaciones que se presentaron estos años.

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos personales

Nombre	Darío Rivera Lozoya.
Fecha de nacimiento	11 de enero de 1989.
Lugar de nacimiento	Morelia, Michoacán, México.
Profesión	Ingeniero Químico
Cédula Profesional	09640749
CURP	RILD89011HMLNVZR04

Desarrollo académico

Bachillerato	Bachillerato de la Universidad Latina de América, Morelia, Michoacán, México.
Licenciatura: 2008-2012	Ingeniería Química Facultad de Química, Ciudad Universitaria, Universidad Nacional Autónoma de México (C.U., UNAM).
Maestría: 2016-2017	Maestro en Ciencias en Horticultura. Instituto de Horticultura, Departamento de Enseñanza, Investigación y Servicio en Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo.

RESUMEN GENERAL

Influencia del ácido cítrico en la absorción y translocación de nutrientes en lechuga (*Lactuca sativa* L.)

Con el objeto de evaluar la absorción de nutrientes en diferentes concentraciones de ácido cítrico en la solución nutritiva durante el crecimiento y desarrollo del cultivo de lechuga (variables morfológicas) se realizó el presente experimento en invernaderos de la Universidad Autónoma Chapingo, utilizando un diseño experimental de bloques completamente al azar donde se estableció la variedad de lechuga: italiana verde (V1), en la solución nutritiva de Steiner (50%) y cuatro concentraciones de ácido cítrico. Generando así cuatro tratamientos con siete repeticiones. La unidad experimental consistió en un sistema NFT (Nutrient Film Technique) con 60 plantas de lechuga, construido en vertical con una figura geométrica piramidal con recirculación continua. Los iones evaluados en solución y en el contenido nutrimental de tejido fueron Nitrógeno (N-NO_3^-), Fósforo (H_2PO_4^-), Potasio (K^+), Calcio (Ca^{++}), Magnesio (Mg^{++}), Zinc (Zn^{++}), Cobre (Cu^{++}), Manganeseo (Mn^{++}), Hierro (Fe^{++}). Estos se evaluaron en solución al final de cada semana de crecimiento del material vegetal en sus siete semanas; y en planta el contenido nutrimental se evaluó al final del ciclo por cada tratamiento tomando como muestra 12 lechugas de cada unidad experimental. A los datos se les realizó análisis de varianza y comparación múltiple de medias (Tukey $\alpha=0.05$). La absorción de los nutrientes evaluados presentó cambios significativos a medida que pasan las semanas del crecimiento de la planta, esto se ve reflejado en las variables morfológicas de diámetro de cabeza, longitud de raíz, altura, número de hojas, peso fresco y seco.

Palabras claves: absorción, iones, NFT, solución nutritiva

GENERAL ABSTRACT

Citric acid influence in the absorption and translocation of nutrients in lettuce (*Lactuca sativa* L.)

In order to evaluate the absorption of nutrients in different concentrations of citric acid in the nutrient solution during the growth and development of the lettuce crop (morphological variables), the present experiment was carried out in greenhouses of the Autonomous University of Chapingo, using an experimental design of completely randomized blocks where the variety of lettuce was established: Italian green (V1), Steiner's nutrient solution (50%) and four citric acid concentrations. Generating four treatments with seven repetitions. The experimental unit consisted of a NFT system (Nutrient Film Technique) with 60 lettuce plants, built in vertical with a pyramidal geometric figure with continuous recirculation. The ions evaluated in solution and in the nutrient tissue content were Nitrogen (N-NO₃-), Phosphorus (H₂PO₄-), Potassium (K +), Calcium (Ca ++), Magnesium (Mg ++), Zinc (Zn ++), Copper (Cu ++), Manganese (Mn ++), Iron (Fe ++), These were evaluated in solution at the end of each week of growth of the plant material in its seven weeks; and in plant nutrient content was evaluated at the end of the cycle for each treatment taking as sample 12 lettuces of each experimental unit. The data were analyzed for variance and multiple comparison of means (Tukey $\alpha = 0.05$). The absorption of the evaluated nutrients presented significant changes as the weeks of plant growth pass, this is reflected in the morphological variables of head diameter, root length, height, number of leaves, dry and fresh weight.

Keywords: absorption, ions, NFT, nutrient solution.

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Las hortalizas de hoja son un producto altamente demandado por el mercado que busca alimentos de mejor calidad, tamaño, sabor y que principalmente sean regadas con agua limpia en la búsqueda de inocuidad (FAOSTAT, 2016). Es por eso que el estudio de soluciones nutritivas junto con las técnicas de riego, aunado a los aspectos de manejo hidropónico, son de suma importancia para la producción de alimentos de calidad requerida por el consumidor.

El cultivo hidropónico se basa en el aporte de nutrimentos a las plantas a través de soluciones nutritivas, que son mezclas de agua con sales minerales en proporciones y concentraciones adecuadas, para que las plantas alcancen un desarrollo y crecimiento óptimos (Resh, 2006). Esto permite mejorar las técnicas para el aprovechamiento eficiente de los espacios urbanos y rurales, teniendo la posibilidad de establecer un sistema en espacios tan pequeños como el jardín o la azotea de una casa (Keith, 1994.) Además, la ventaja de producir en espacios urbanos trae consigo la reducción de los costos de transporte hacia el consumidor y aumenta la vida de anaquel del producto.

La nutrición en hidroponia se lleva a cabo diseñando, formulando y aplicando soluciones nutritivas específicas al cultivo. El diseño de soluciones nutritivas depende de la especie y variedad de la planta, estado fenológico de la misma, parte de la planta a aprovechar (raíz, tallo, follaje, flor o fruto), época del año, clima, etc. (Carpena et al., 1987; Adams, 1994; Marschner, 2012). Existen soluciones nutritivas universales, a partir de las cuales se diseñan fórmulas específicas para cada cultivo, considerando las variables anteriormente mencionadas.

Lara (1999) menciona que la mayoría de soluciones nutritivas aplicadas a cultivos hidropónicos tienden a no dar un efecto estable en el pH, y por ende, se da una absorción inadecuada de los nutrientes (variable muy relacionada a la anterior), es por eso que se han probado distintas dosis de ácidos orgánicos que ofrecen un efecto amortiguador en el pH de la solución favoreciendo la

absorción de micro y macronutrientes. Entre los ácidos orgánicos más conocidos se encuentran el cítrico, pirúvico, láctico, oxálico, butírico, acético, benzoico, málico y ascórbico. Todos ellos se caracterizan por ser aniones orgánicos de carácter ácido que quelatan cationes metálicos (Massonneau et al., 2001; Sas et al., 2001).

Entre las funciones específicas del ácido cítrico que se han observado en la planta se encuentra la de permitirle tolerar estrés como deficiencia de nutrientes o aireación de raíz durante el crecimiento de la planta (López-Bucio et al., 2000) que aplicado en solución al suelo, quelatan a los cationes metálicos (Ca^{++} , Mg^{++} , Fe^{++}), haciéndolos más disponibles para la planta; cambiando algunos factores de suelo como: pH y conductividad eléctrica (Ferreira, 1998; Johnson et al., 1996; Bienfait, 1988; Massonneau et al., 2001) y es conocido para quelar fuertemente Aluminio (Al) y para revertir sus efectos citotóxicos, así como para hacer más disponible el fósforo (P).

Los ácidos orgánicos tales como el citrato y el malato son potentes complejantes de Fe en el suelo e inducen la disolución de hidróxidos férricos insolubles que antes no estaban disponibles (Gerke, 1992; Jones et al., 1996a). Recientemente se ha propuesto que el citrato puede desempeñar un papel importante en el suministro de Fe a las plantas dicotiledóneas (Jones et al., 1996a). La deficiencia de Fe induce una acumulación sustancial (aumento de 5 veces) de ácidos orgánicos en tejidos de raíces y también induce un aumento grande (5-10 veces) de H^+ y la excreción de ácidos orgánicos (De Vos et al., 1986; Guerinot y Yi, 1994; Landsberg E. C., 1981; Ohwaki y Sugahara, 1997).

Krafczyk et al. (1984) observaron aumentos en la salida de ácido orgánico en raíz bajo una variedad de otras tensiones, incluida la deficiencia de K^+ y una deficiencia general de nutrientes (Jones y Darrah, 1995), y también en respuesta al tipo de nutrición nitrogenada (Imas et al., 1997b). Es probable que la deficiencia de Ca^{++} y Zn^{++} , aumenta la permeabilidad de la membrana, también provoque aumentos en la salida de ácido orgánico (Cakmak y

Marschner, 1988). Sin embargo, los experimentos en los que se añadieron continuamente malato, citrato u oxalato al suelo o soluciones hidropónicas han mostrado poco efecto sobre la acumulación de Zn en el trigo (Chairidchai y Ritchie, 1993a, b, Evans, 1991). Sin embargo, no se puede descartar por completo el papel de los ácidos orgánicos en la movilización de Zn y otros micronutrientes (por ejemplo, Cu) en la rizosfera.

En resumen los ácidos orgánicos potencialmente realizan una amplia gama de funciones en la rizosfera y en soluciones nutritivas. En la actualidad, la mayoría de estos procesos hipotéticos parecen ser beneficiosos para las plantas. Sin embargo, la investigación futura debe estar dirigida a obtener una comprensión más holística del comportamiento de los ácidos orgánicos en un rango contrastante de plantas, tipos de suelos y soluciones nutritivas (Jones,1998).

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Descripción del material vegetal.

La lechuga es una planta anual perteneciente a la familia Compositae, cuyo nombre científico es *Lactuca sativa* L. Presenta un sistema radical columnar y pivotante con ramificaciones secundarias muy numerosas. Sus hojas forman un cogollo más o menos consistente, de color verde pálido obscuro. Las hojas pueden tomar una forma redonda, lanceolada o casi espatulada, de consistencia correosa o blanduzca (Maroto, 2000; Pérez *et al.*, 1997).

Botánicamente, en *Lactuca Sativa* L. se distinguen cuatro variedades botánicas (Maroto, 2000; Pérez *et al.*, 1997).

- *Lactuca Sativa* var *longifolia* Lam: Son aquellas lechugas que se aprovechan por sus hojas, estas forman un verdadero cogollo, que tiene una forma generalmente aovada u oblonga, por la adaptación a una estación determinada se pueden clasificar lechugas de invierno y lechugas de primavera verano.
- *Lactuca Sativa* var *inybacea* Hort: Son aquellas que poseen hojas sueltas y dispersas.
- *Lactuca Sativa* var *augustana* Irish: Estas lechugas se caracterizan por que la parte comestible es el tallo, sus hojas son puntiagudas y lanceoladas.
- *Lactuca Sativa* var *capitata* Lam: Se caracterizan por formar un cogollo apretado de hojas. La forma de sus hojas suele ser ancha, orbicular (lechugas acogolladas), por la consistencia de sus hojas se pueden dividir en dos grupos las de hoja consistente y las de hoja mantequilla.

2.2. Hortalizas de hoja con potencial comercial

En el mercado de las hortalizas existen: hortalizas de precios altos, así como hortalizas de precios bajos, en las cuales se encuentran las “*hortalizas de hoja*”. La lechuga como producto hortícola se encuentra en este grupo, sin embargo, aunque el producto sea de bajo costo, es sumamente rentable ya que su ciclo de crecimiento es corto (10 semanas o 2.5 meses), aunado a eso la rentabilidad del cultivo incrementa si es producido con la técnica de hidroponía ya que se obtendrán cosechas semanales una vez cerrado el ciclo de crecimiento de la planta, es decir, se cosecharán las 52 semanas del año.¹

Cabe mencionar que hay algunas hortalizas de hoja que tienen alto valor comercial como son las acelgas de colores, arúgula, pak-choi, kale, espinaca, etc., y cultivarlas en hidroponia con ácido cítrico en soluciones nutritivas es interesante ya que pueden ser una punta de lanza para el mercado, porque mejoran las características morfológicas, además de que tienen una mejor absorción de los nutrientes cationes en solución.

2.3. Soluciones nutritivas para la producción de hortalizas de hoja de alto valor comercial.

La solución nutritiva consiste en agua con oxígeno y los nutrimentos esenciales para la planta en forma iónica. Algunos compuestos orgánicos como los quelatos de hierro forman parte de la solución nutritiva (Steiner, 1968). Para que la solución nutritiva tenga disponibles los nutrimentos que contiene, debe ser una solución verdadera, es decir, todos los iones se deben encontrar disueltos. La pérdida por precipitación de una o varias formas iónicas de los nutrimentos puede ocasionar su deficiencia en la planta. Además, de este problema se genera un desbalance en la relación mutua entre los iones (Steiner, 1961).

En hidroponía, las necesidades nutrimentales que tienen las plantas son satisfechas con los nutrimentos que se suministran en la solución nutritiva. La cantidad de nutrimentos que requieren las plantas depende de la especie, la

¹ Análisis de lista de precios de la central de abastos de la CDMX y experiencia en producción.

variedad, la etapa fenológica y las condiciones ambientales (Carpena *et al.*, 1987; Adams, 1994b).

Cada especie vegetal que se cultiva en hidroponía requiere de una solución nutritiva con características específicas. De acuerdo con Graves (1983) y Steiner (1984), las principales características que influyen en el desarrollo de los cultivos y sus productos de importancia económica son: la relación mutua entre los aniones, la relación mutua entre los cationes, la concentración de nutrimentos (representada por la CE), el pH, la relación $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ y la temperatura de la solución nutritiva.

Algunas de las soluciones nutritivas más importantes que se han utilizado para la producción de hortalizas de hoja son las siguientes:

Cuadro 1. Soluciones nutritivas que pueden emplearse para el cultivo de hortalizas de hoja.

Autores	ppm												
	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	K ⁺	N-NH ₄ ⁻	N-NO ₃ ⁻	H ₂ PO ₄ ⁻	SO ₄ ⁻	Fe ⁺⁺	Mn ⁺⁺	Cu ⁺⁺	Zn ⁺⁺	B	Mo ⁺⁺
Shippers <i>et al.</i> 1980	190	30	210	10	195	50	39	3	0.5	0.06	0.08		0.1
Ananda <i>et al.</i> 2000	143	30	228	63	135	70	117	1.5	0.3	0.03	0.03		0.005
Premuzic <i>et al.</i> 2006	169	48	312			54	65	0.35	0.78	0.32	0.48		0.35
H. M. Resh 2006	200	40	210	25	165	50	113	5	0.5	0.1	0.1	0.5	0.1
Valverde <i>et al.</i> 2009	150	45	210	60	130	35	70	1	0.5	0.1	1.15		
Scuderi <i>et al.</i> 2009	170	40	234	14	198	57	48						
Sánchez Escalante (100%)	175	42	175		175	42	144	2	0.07	0.07	0.07	0.3	
Steiner (100%)*	180	31	215		168	31	56	3	0.5	0.1	0.1	0.1	

*Solución propuesta para el cultivo de lechuga al 50%

2.4. Los ácidos orgánicos

Los ácidos orgánicos son compuestos químicos de bajo peso molecular que contienen compuestos que se encuentran en todos los organismos y que se caracterizan por la posesión de uno o más grupos carboxilo. Dependiendo de las propiedades de disociación y el número de esos grupos carboxilo, los ácidos orgánicos pueden variar en su carga negativa, por lo tanto permiten la complejación de cationes metálicos en solución y el desplazamiento de aniones

de la matriz de suelo o solución a la planta. Es por eso que han sido implicados en muchos procesos, como la movilización y absorción de nutrientes, desintoxicación de metales, proliferación microbiana en la rizósfera y disolución de minerales en suelo (Marschner, 1995).

Los ácidos orgánicos tienen la capacidad de complejar metales en solución. El grado de complejación, sin embargo, depende del ácido orgánico particular involucrado (número y proximidad de grupos carboxilo), la concentración y el tipo de metal y el pH de la solución del suelo. Los ácidos orgánicos con solo un grupo carboxilo (lactato, formiato y acetato) tienen muy poca capacidad de formación de complejos metálicos. A partir de las constantes de estabilidad que se muestran en la Cuadro 2., se puede observar que malato, citrato y oxalato tienen una gran afinidad por los metales trivalentes como Al^{+++} y Fe^{+++} y son éstos los que se movilizan (e inmovilizan) más fácilmente por ácidos orgánicos en la mayoría de los suelos (Jones y Kochian, 1996; Pohlman y McColl, 1986).

Los ácidos di- y tricarboxílicos son potentes quelantes metálicos que provocan la disolución de los minerales del suelo y modulan el tamaño de las sustancias húmicas (Huang y Keller, 1972; Pohlman y McColl, 1986; Albuzio y Ferrari, 1989; Ritchie, 1994; Jones y Kochian, 1996;). En general, los ácidos orgánicos parecen ser capaces de inducir un incremento de 2 a 4 veces en la velocidad de disolución mineral en comparación con el agua de lluvia sola; sin embargo, esto depende en gran medida del tipo de mineral, pH, contenido de Al del tipo de mineral y ácido orgánico (McColl y Pohlman, 1986; Lundström y Öhman, 1990; Jones y Kochian, 1996;).

Cuadro 2. Constantes de estabilidad de los complejos orgánicos ácido-metal.

Metal	M:L:H	Malato	Citrato	Oxalato
	proporción			
H ⁺	1:1	5.1	6.4	4.27
	2:1	3.46	4.76	1.25
	3:1	-	3.13	-
K ⁺	1:1	0.4	0.56	0.9
Mg ⁺⁺	1:1	1.55	4.84	3.43
	1:2	-	-	4.24
	1:1:1	0.77	2.59	-
	1:1	2.72	4.85	3.19
Ca ⁺⁺	1:1 H ₂ O _(s)	-	-	8.8
	1:2	-	-	2.69
	1:1:1	1.39	2.93	1.38
	1:1	2.24	3.7	3.95
Mn ⁺⁺	1:2	-	-	4.4
	1:1	3.32	4.7	4.87
Zn ⁺⁺	1:2	5.9	7.65	-
	1:1:1	2	2.96	1.72
	1:1	3.33	5.9	6.23
	1:2	8.4	-	4
Cu ⁺⁺	1:1:1	1.96	3.7	-
	2:2	8	13.2	-
	1:1	7.1	11.5	7.74
	1:2	-	-	13.64
Fe ⁺⁺⁺	1:3	-	-	18.49
	2:2	12.85	-	-
	1:1	6	7.87	6.1
	1:2	-	11.7	11.1
Al ⁺⁺⁺	1:3	-	-	15.12

Fuente: (Martell y Smith, 1976-1989). Donde sea posible, las constantes de estabilidad representan condiciones a 25°C y cero fuerzas iónicas. La relación M: H: L indica la estequiometría del complejo donde M indica metal, L indica ligando y H indica protones

2.5. El ácido cítrico en la solución nutritiva.

El ácido cítrico ($C_6H_8O_7$) pertenece a la familia de los ácidos orgánicos. El nombre IUPAC de este ácido es: ácido 2-hidroxipropano-1,2,3-tricarboxílico (Figura 1). Es un ácido orgánico débil tricarboxílico y triprótico, es decir, que es capaz de donar tres protones (H^+) de sus grupos carboxilos, la formación de éste ocurre naturalmente en los frutos de los cítricos y pomáceos, y en bioquímica actúa como intermediario en el ciclo de Krebs, que ocurre en el metabolismo de todos los organismos aeróbicos. Éste posee muchas cualidades interesantes, sus usos más conocidos son como: acidulante, saborizante y agente quelante (Apleblat, 2014).

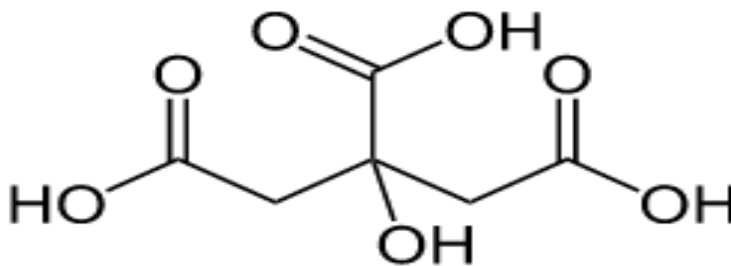


Figura 1. Estructura química del ácido cítrico

La producción industrial de ácido cítrico empezó en los años de 1980 basado en la industria de frutos cítricos, donde el jugo era tratado con cal hidratada [$Ca(OH)_2$] para precipitar el citrato de calcio [$Ca_3(C_6H_5O_7)_2$], el cual es aislado y de nuevo convertido a ácido cítrico usando ácido sulfúrico (H_2SO_4) en bajas concentraciones (Penniston *et al.*, 2008). En 1983 se descubrió el moho *Penicillim* que produce ácido cítrico a partir de azúcar (Verhoff, 2005), este modo de producir no fue tan importante, hasta que la guerra mundial interrumpió la exportación de ácido cítrico de Italia hacia el mundo. En 1917 el químico en alimentos James Currie descubre ciertas cepas del hongo *Aspergillus niger*, que pueden ser eficientes en la producción de ácido cítrico, hoy en día esta técnica es todavía la mejor ruta industrial para la producción de ácido cítrico y consiste en tener a los cultivos de *Aspergillus niger* alimentados

por un medio que contiene glucosa y sacarosa, la ruta de extracción es la misma que la del ácido cítrico extraído de los frutos de cítricos, solamente que en este se extrae primero una solución del hongo, para después seguir el mecanismo de extracción con el hidróxido de calcio, para formar citratos de calcio y finalmente extraerlo con ácido sulfúrico (Lotfy, 2007).

El ácido cítrico tiene un diagrama de especiación y muestra que las soluciones en sus diferentes especies tienen un carácter amortiguador entre pH de 2 a 8 (Figura 2), pero en sistemas biológicos el pH se encuentra entre los valores 5.5 a 7, estando más presentes dos especies el anión, citrato y el citrato de dihidrógeno (Goldberg, 2002).

Al tener en cuenta las especies en que se encuentran los iones del ácido cítrico y saber cómo interactúa en solución, podemos adentrarnos en cómo son algunas de sus funciones en los ciclos biológicos.

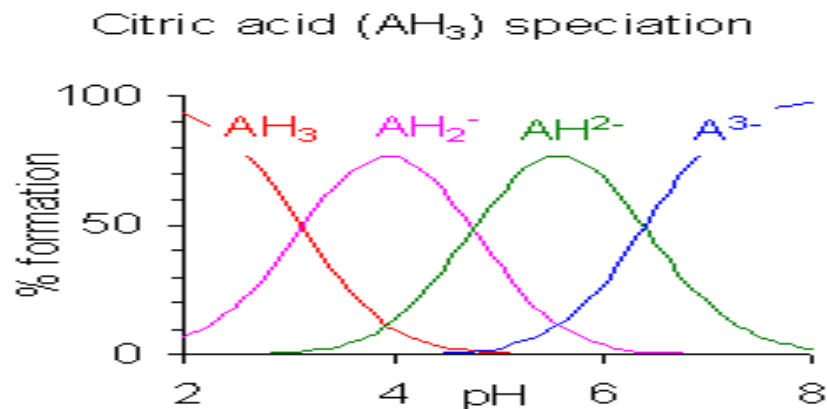


Figura 2. Comportamiento de la estructura química del ácido cítrico en diferentes condiciones de pH en la solución.

En el ciclo de Krebs o ciclo del ácido cítrico se presenta el ion citrato que actúa como intermediario en el ciclo como ruta metabólica central para animales, plantas y bacterias. A grandes rasgos el citrato sintasa cataliza la condensación del oxalato con acetil-CoA para formar citrato. El citrato actúa como el sustrato para la aconitasa y se convierte en ácido aconítico. El ciclo termina con la

regeneración de oxaloacetato. Esta serie de reacciones químicas es la fuente de los dos tercios de la energía derivada de alimentos en los organismos superiores. Hans Adolf Krebs recibió el Premio Nobel 1953 en Medicina por tal descubrimiento (Lowenstein, 1969).

Otras de sus funciones y no menos importantes del ácido cítrico son en los procesos agrícolas, su función principal en este medio es quelatar a los cationes no disponibles en el suelo o en solución, haciéndolos más aprovechables en la absorción de la planta, así mismo funciona como anti estresante.

En estudios anteriores principalmente de manzano, jitomate, lechuga y frijol se ha demostrado que la aplicación de ácido cítrico en solución mejora la disponibilidad de nutrientes para las plantas, siendo así un efecto positivo en calidad y fruto (Pérez-Labrada *et. al.*, 2014).

El ácido cítrico es uno de los ácidos orgánicos más importantes en las plantas (Campbell, 2010), ya que partir el ácido pirúvico u otros ácidos orgánicos formados a partir del ciclo del ácido cítrico puede sintetizar diversos aminoácidos de los que derivan las proteínas y otros compuestos nitrogenados como el ácido indolacético, alcaloides y clorofila (Popova y Pinheiro de Carvalho, 1998).

En el metabolismo primario los ácidos orgánicos (en particular el ion citrato) cumplen con funciones importantes como exudado en respuesta al daño causado por aluminio (Al) o bien frente a la deficiencia de hierro (Fe) o fósforo (P) (Shlizerman *et al.*, 2007), siendo proveídos los esqueletos de carbono necesarios por la PEP-carboxilasa de las raíces (Peñaloza *et al.*, 2000).

2.6. Cultivo sin Suelo

Los sistemas de cultivo sin suelo son desarrollados para disminuir la propagación excesiva de patógenos reproducidos en el suelo, mejorar el crecimiento mediante un mejor control, ahorrar energía y aumentar el uso más

eficiente del agua, los nutrientes y los plaguicidas para disminuir las emisiones al medio ambiente. Para cumplir este último aspecto, los sistemas tradicionalmente abiertos están cambiando a sistemas cerrados. Los aspectos económicos retrasan una mayor introducción de los sistemas cerrados.

El uso de sistemas de cultivo sin suelo también hace que las plantas sean independientes del suelo. Esto permite mover a las plantas y plantar, mantener y hacer el lugar más adecuado y en condiciones de trabajo optimizadas.

La tarea actual es optimizar los sistemas de cultivo, minimizar la contaminación del entorno del sistema, integrar la mecanización y optimizar las condiciones de trabajo, realizar un producto de primera calidad con un método económico y benéfico.

2.7. Manejo de lechuga en sistemas de hidroponía NFT bajo condiciones de invernadero

El sistema de recirculación de solución nutritiva NFT (Nutrient Film Technique), se desarrolló en el Glasshouse Crop Research Institute, Inglaterra, en la década de los sesenta. El principio de este sistema hidropónico consiste en la circulación constante de una lámina fina de solución nutritiva que pasa a través de las raíces del cultivo, sin pérdida o salida al exterior de la solución nutritiva, por lo que se constituye como un sistema cerrado. La densidad de plantas en el caso de cultivo de lechuga, bajo este sistema es de 22 a 24 plantas por metro cuadrado según el cultivar. El tiempo aproximado de trasplante a cosecha es de 25 a 40 días. La solución nutritiva debe tener en un rango de conductividad de 1.0 a 2.0 $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ y un pH de 5.5 a 6, siendo el consumo de solución de aproximadamente 0.25 litros/planta. En este cultivo el canal es de porte bajo y con un ancho de 6 cm (Carrasco, 2004).

2.8. Literatura Citada

- Adams, P. (1994). Nutrition of greenhouse vegetables in NFT and hidroponic systems. *Acta Hort.* 361: 245-257.
- Albuzio A. and Ferrari G. (1989). Modulation of the molecular-size of humic substances by organic acids of the root exudates. *Plant Soil* 113, 237–241.
- Apleblat, A. (2014). *Citric acid*. Springer. EUA. 255-273.
- Bienfait, H.F. (1988). Mechanisms in Fe-efficiency reactions of higher plants. *J. Plant Nutr.* 11:605-629.
- Cakmak I. and Marschner H. (1988). Increase in membranepерmeability and exudation in roots of zinc deficient plants. *J. Plant Physiol.* 132, 356–361.
- Campbell, B. (2010). Organic matter application can reduce copper toxicity in tomato plants. *J. Nat. Resour. Life Sci. Educ.* 39: 45-48. (doi:10.4195).
- Carpena, O., Rodríguez, A.M., & Sarro, M.J. (1987). Evaluación de los contenidos minerales de raíz, tallo y hoja de plantas de tomate como índices de nutrición. *An. Edafol. Agrobiol.* 46:117-127.
- Carrasco S.G. (2004). Sistema NFT, requerimientos y usos, pp. 541-554. *In: Tratado de cultivo sin suelo. 1ª Ed. URRESTARAZU G., M. (ed.). Editorial Mundi Prensa. Almería, España.*
- Chairidchai P. and Ritchie G. S. P. (1993a). The effect of citrate and pH on zinc uptake by wheat. *Agron. J.* 85, 322–328.
- Chairidchai P. and Ritchie G. S. P. (1993b). Zinc adsorption by sterilized and nonsterilized soil in the presence of citrate and catechol. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 24, 261–275.
- De Vos C.R., Lubberding H.J. and Bienfait H.F. (1986). Rhizosphere acidification as a response to iron-deficiency in bean plants. *Plant Physiol.* 81, 842–846.
- Evans A. (1991). Influence of low-molecular-weight organic-acids on zinc distribution within micronutrient pools and zinc uptake by wheat. *J. Plant Nutr.* 14, 1307–1318.
- FAO. (2016). Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://faostat.fao.org> fecha de consulta: 19/Marzo/2016.

- Ferreya, R., Peralta, J., Sadzawka, A., Valenzuela & Muñoz, C. (1998). Efecto de la aplicación de ácido sobre características químicas de un suelo calcáreo. *Agric. Téc. (Chile)* 58: 163-169.
- Gerke J. (1992). Phosphate, aluminium and iron in the soil solution of three different soils in relation to varying concentrations of citric acid. *Z Pflanzenernähr Bodenkd* 155(4):339-343.
- Goldberg, R. N., Kishore, N., Lennen, R. M. (2002). Thermodynamic Quantities for the Ionization Reactions of Buffers. *J.Phys.Chem.Ref.Data* 31 (1): 231–370.
- Graves, C. J. (1983). The nutrient film technique. *Hort. Rev.* 5: 1-44.
- Guerinot M. L. and Yi Y. (1994). Iron: nutritious, noxious, and not readily available. *Plant Physiol.* 104, 815–820.
- Frank H. Verhoff (2005). "Citric Acid", *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Weinheim: Wiley-VCH
- Hu, H., Tang C., & Rengel Z. (2005). Role of phenolics and organic acids in phosphorus mobilization in calcareous and acidic soils. *J. Plant Nutr.* 28: 1427-1439. doi: 10.1081.
- Huang W. H. and Keller W. D. (1972). Organic acids as agents of chemical weathering of silicate minerals. *Nature* 239, 149–151.
- Imas, P., B. Bar-Yosef, U. Kafkafi, and R. Ganmore-Neumann. (1997). Release of carboxylic anions and protons by tomato roots in response to ammonium nitrate ratio and pH in nutrient solution. *Plant Soil* 191: 27-34
- Johnson, J. F., Vance, C. P. & Allan, D. L. (1996). Phosphorus deficiency in *Lupinus albus*. Altered lateral root development and enhanced expression of phosphoenolpyruvate carboxylase. *Plant Physiol.* 112:31-41.
- Jones D.L. (1998). Organic acids in the rhizosphere: a critical review. *Plant Soil.* 205: 25-44.
- Jones D. L. and Darrah P. R. (1995). Influx and efflux of organic-acids across the soil-root interface of *Zea mays* L. and its implications in rhizosphere C flow. *Plant Soil* 173, 103–109.
- Jones D. L. and Kochian L. V. (1996). Aluminum-organic acid interactions in acid soils. 1. Effect of root-derived organic-acids on the kinetics of Al dissolution. *Plant Soil* 182, 221–228.

- Jones D. L., Darrah P. R. and Kochian L. V. (1996a) Critical-evaluation of organic-acid mediated iron dissolution in the rhizosphere and its potential role in root iron uptake. *Plant Soil* 180, 57–66.
- Keith, R. (1994). *How To Hydroponics*. Nueva York: The Future Garden Press.
- Krafczyk I., Trolldenier G. and Beringer H. (1984). Soluble root exudates of maize: Influence of potassium supply and rhizosphere microorganisms. *Soil Biol. Biochem.* 16, 315–322.
- Lara, H. A. (1999). Manejo de la solución nutritiva en la de tomate en hidroponia. *Revista Terra Latinoamericana*, 17 (3), 221-229.
- 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 Nutr.* 3, 579–591.
- Lopez-Bucio, J., Nieto-Jacobo, M. F., Ramírez-Rodríguez, V. V., & Herrera-Estrella, L. (2000). Organic acid metabolism in plants: from adaptative physiology to transgenic varieties for cultivation in extreme soils. *Plant Sci.* 160:1-13.
- Lotfy, W. A., Ghanem, K. M., & El-Helow, E. R. (2007). Citric acid production by a novel *Aspergillus niger* isolate: II. Optimization of process parameters through statistical experimental designs. *Bioresource Technology* 98(18):3470-3477.
- Lowenstein, J.M. (1969). *Methods in Enzymology*, Volume 13: Citric Acid Cycle. Boston: Academic Press.
- Lundström U. S. and Öhman L. O. (1990). Dissolution of feldspars in the presence of natural, organic solutes. *J. Soil Sci.* 41, 359–369.
- Maroto, B. J. V. (2000). Botánica (taxonomía y fisiología) y adaptabilidad, pp. 28-41. *In: La lechuga y la escarola*. 1ª Ed. MAROTO, B. J. V.; MIGUEL, G. A.; BAIXAULI, S. C. (eds.). Mundi Prensa S. A. Madrid, España.
- Marschner H. (1995). *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press, London.
- Marschner, P. (2012). *Mineral Nutrition of Higher Plants*, (3a. Ed.) London. Academic Press.
- Martell A. E. and Smith R.M. (1976–1989). *Critical Stability Constants*, 6 vol. Plenum Press, New York.

- Massonneau, A., Langlade, N., Leon, S., Smutny, J., Vogt, E., Neumann, G., & Martinoia, E. (2001). Metabolic changes associated with cluster root development in white lupin (*Lupinus albus* L.): relationship between organic acid excretion, sucrose metabolism and energy status. *Planta* 213: 534-542.
- Ohwaki Y. and Sugahara K. (1997). Active extrusion of protons and exudation of carboxylic acids in response to iron deficiency by roots of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Plant Soil* 189, 49–55.
- Penniston, K. L., Nakada, S. Y., Holmes, R. P., Assimos, D. G., Nakada, Holmes, Assimos (2008). Quantitative Assessment of Citric Acid in Lemon Juice, Lime Juice, and Commercially-Available Fruit Juice Products . *Journal of Endourology* 22(3): 567–570. doi:10.1089.
- Peñaloza, E., Carvajal, N., Corcuera, L. J. & Martínez, J. (2000). Exudación de citrato y actividad de la enzima fosfoenolpiruvato carboxilasa en raíces de Lupino blanco en respuesta a variaciones en la disponibilidad de fósforo. *Agric. Téc. (Chile)* 60: 89-98.
- Pérez, G. M., Márquez, S. F., Peña, L. A. (1997). Mejoramiento Genético de Hortalizas. Ed. UACH. Chapingo, México. 380 p.
- Pérez-Labrada. F., Benavides Mendoza A., Vázquez Badillo, M. E. y Ramírez, H. (2014). Adición de ácido cítrico en la solución nutritiva para tomate en un suelo calcáreo. *Terra Latinoamericana*. 32(3): 251-255.
- Pohlman A. A. and McColl J. G. (1986). Kinetics of metal dissolution from forest soils by soluble organic acids. *J. Environ. Qual.* 15, 86–92.
- Popova, T. N. & Pinheiro de Carvalho, M. A. (1998). Citrate and isocitrate in plant metabolism. *Biochim. Biophys. Acta* 1364:307-325.
- Resh, H. (2006). “Cultivos Hidropónicos” (5ta ed.) España: Mundi Prensa.
- Steiner, A. A. (1961). A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant Soil* 15:134-154.
- Ritchie G. S. P. (1994). Role of dissolution and precipitation of minerals in controlling soluble aluminum in acidic soils. *Adv. Agron.* 53, 47–83.
- Shlizerman, L., Marsh, K., Blumwald, E., & Sadka, A. (2007). Ironshortage-induced increase in citric acid content and reduction of cytosolic aconitase activity in Citrus fruit vesicles and calli. *Physiol. Plant.* 131: 72-79. (doi:10.1111).

- Sas L, Rengel Z, Tang C (2001) Excess cation uptake, and extrusion of protons and organic acid anions by *Lupinus albus* under phosphorus deficiency. *Plant Sci* 160: 1191–1198.
- Steiner, A. A. (1968). Soilles culture. pp. 324-341. *In*: Proceedings of the 6th Colloquium of the International Potash Institute. Florence, Italy.
- Steiner, A. A. (1984). The universal nutrient solution. pp. 633-650. *In*: Proceedings 6th International Congress on Soilles Culture. Wageningen, The Netherlands

3. CAPITULO 2. EFECTO DEL ÁCIDO CÍTRICO EN LECHUGA PRODUCIDA BAJO SISTEMAS DE CULTIVOS SIN SUELO EN SOLUCIÓN CONTINUA.

Darío Rivera-Lozoya¹, Rogelio Castro-Brindis¹

¹Universidad Autónoma Chapingo, Postgrado de Horticultura, Km. 38.5 carretera México–Texcoco, 56230.

3.1. Resumen

El propósito del presente trabajo fue determinar el efecto del ácido cítrico en la capacidad de absorción, contenido nutrimental y morfología de la lechuga. Para ello, un total de tres tratamientos de ácido cítrico más el testigo fueron evaluados en un sistema hidropónico NFT. Dicha evaluación estuvo compuesta por dos ciclos agrícolas: octubre-diciembre del 2016, y enero-marzo 2017. De acuerdo a los resultados obtenidos, se pudo observar que los tratamientos con dosis de ácido cítrico de 0.1041 y 0.4164 mM incrementaron la absorción de los iones N-NO_3^- , K^+ , H_2PO_4^- , Mn^{++} , Cu^{++} , Zn^{++} , y Fe^{++} . Por otro lado, existió evidencia que el ácido cítrico mejoró en un 35 y 56 % el contenido de nitrógeno y potasio, respectivamente, en el tejido vegetal de las plantas. Interesantemente, el ácido cítrico con dosis de 0.4164 mM incremento el diámetro de la lechuga en un 155.5 % respecto al testigo, mientras que, en el peso en fresco y área foliar, se observaron incrementó de 1126.41 y 1262.41 %, respectivamente. Estos resultados sugieren que el ácido cítrico tuvo un efecto positivo en la capacidad de absorción de nutrientes, composición nutrimental del tejido vegetal y rendimiento de la lechuga. Por lo tanto, el ácido cítrico pudiera ser incorporado en los sistemas de producción de lechuga.

Palabras claves: iones, NFT, mM.

3.2. Summary

The purpose of this work was to determine the effect of citric acid on the capacity of absorption, nutritional content and morphology of lettuce. For this, a total of three citric acid treatments plus the control were evaluated in an NFT hydroponic system. This evaluation was composed of two agricultural cycles: October-December 2016, and January-March 2017. According to the results obtained, it was observed that treatments with citric acid doses of 0.1041 and 0.4164 mM increased the absorption of the ions N-NO_3^- , K^+ , H_2PO_4^- , Mn^{++} , Cu^{++} , Zn^{++} , and Fe^{++} . On the other hand, there was evidence that citric acid improved the content of nitrogen and potassium by 35 and 56%, respectively, in the plant tissue of plants. Interestingly, the citric acid with a dose of 0.4164 mM increased the diameter of the lettuce by 155.5% with respect to the control, while in the fresh weight and foliar area, increments of 1126.41 and 1262.41%, respectively, were observed. These results suggest that citric acid had a positive effect on nutrient absorption capacity, nutritional composition of plant tissue and yield of lettuce. Therefore, citric acid could be incorporated into lettuce production systems.

Key words: ions, NFT, mM

3.3. Introducción

Hoy en día, los consumidores se han vuelto muy demandantes en la apariencia externa, y calidad nutricional y organoléptica de los vegetales. Además de la calidad nutricional, la calidad sensorial es el principal factor para el consumo de los vegetales; ya que, aunque la apariencia visual es un factor importante en la elección del consumidor, la calidad sensorial del producto llega a ser el factor más importante en la elección del consumidor en las compras subsecuentes (Maul et al., 2000). La calidad sensorial depende de numerosos factores, los cuales incluyen textura, aroma, color y composición de metabolitos primarios y secundarios (Carli et al., 2011).

Además del mejoramiento genético, la obtención de productos agrícolas con alta calidad sensorial se puede lograr implementando técnicas de manejo agronómico. Madani et al. (2015) demostraron que aplicaciones foliares de calcio en papaya incrementaron el grosor del fruto, la pulpa, mejoraron la textura y sabor, y redujo la incidencia de enfermedades. Por su parte, Wright y Harris (1985), estudiaron el efecto del nitrógeno y potasio en el sabor del tomate. En su estudio reportaron que existió una correlación positiva entre las concentraciones de nitrógeno y potasio con la acidez titulable y los sólidos solubles, sugiriendo que los altos niveles de nitrógeno y potasio evaluados incrementan el sabor de los frutos de tomate.

Lara (1999) menciona que la mayoría de las soluciones nutritivas aplicadas a cultivos hidropónicos tienden a no dar un efecto estable en el pH, por ende, la absorción de los nutrientes puede llegar a ser deficiente. Por ello, existen diversos trabajos enfocados en la evaluación de distintas dosis de ácidos orgánicos que ofrecen efecto amortiguador en la solución nutritiva favoreciendo la absorción de micro y macronutrientes (Rao y Mikkelsen, 1977; Howard et al., 1994; An et al., 2014). Entre los ácidos orgánicos más conocidos se encuentran el cítrico, pirúvico, láctico, butírico, acético, benzoico, málico y ascórbico. Todos ellos se caracterizan por ser aniones orgánicos de carácter ácido que quelatan cationes metálicos. (Massonneau et al., 2001; Sas et al., 2001). El ácido cítrico

es uno de los ácidos orgánicos más importantes en las plantas (Campbell, 2010), ya que a partir el ácido pirúvico u otros ácidos orgánicos formados a partir del ciclo del ácido cítrico puede sintetizar diversos aminoácidos de los que derivan las proteínas y otros compuestos nitrogenados como el ácido indolacético, alcaloides y clorofila (Popova y Pinheiro de Carvalho, 1998). Actualmente, existen evidencias del efecto positivo del ácido cítrico en calidad nutricional y organoléptica de diversos cultivos. En tomate, Pérez-Labrada *et al.* (2016) reportaron que el ácido cítrico dentro de la solución nutritiva incremento la producción de frutos por planta. Por su parte, Hegazi *et al.* (2014) demostraron que las aplicaciones de ácido cítrico incrementaron los niveles de antocianinas en la epidermis de frutos de uva, así como también incrementaron el contenido de sólidos solubles en el jugo de los frutos. En trabajos adicionales en mango y fresa también se ha documentado el efecto positivo del ácido cítrico en las propiedades organolépticas y vida de anaquel de frutos, sugiriendo que su implementación dentro de los sistemas de producción trae beneficios positivos (Malundo *et al.* 2001; Abd-Elhady, 2014). Aunque existen algunas evidencias sobre el efecto positivo del ácido cítrico en algunos cultivos de importancia agronómica, la información sobre el efecto del ácido cítrico en lechuga es limitada. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto del ácido cítrico en variables agronómicas y nutrimentales del cultivo de lechuga establecida en sistema de hidroponía, así como su efecto en la capacidad de absorción de nutrientes por parte de las plantas de lechuga.

3.4. Materiales y Métodos

3.4.1. Ubicación del experimento

El ensayo se llevó a cabo en el periodo de octubre 2016 a diciembre 2017 dentro de las instalaciones del Posgrado en Horticultura en el Campo Agrícola Experimental del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, en Texcoco, Estado de México, cuya ubicación geográfica es 19° 30' latitud norte y 98° 53' longitud oeste.

3.4.2. Material vegetal y manejo del cultivo

El estudio se realizó durante dos ciclos agrícolas: octubre a diciembre del 2016 y enero a marzo 2017. Como material biológico se usó lechuga italiana verde (*Lactuca sativa* L.), la cual fue sembrada en almácigos y posteriormente trasplantada al invernadero bajo un sistema hidropónico basado en la técnica de película nutritiva (NFT, por sus siglas en ingles). El trasplante de las plántulas se realizó a las 4 semanas posteriores a la fecha de siembra y el crecimiento del cultivo bajo NFT duró 7 semanas. Las variables climatológicas como temperatura, humedad y radiación solar dentro del invernadero fueron cuantificadas a través de un sensor y registrador de datos (Hobo U12-013). La nutrición del cultivo se llevó acabo con la solución nutritiva de Steiner (Steiner, 1961) al 50%. Previo a la elaboración de la solución de Steiner, se realizó un análisis químico del agua para ajustar las cantidades de fuentes de nutrientes para preparar la solución nutritiva. Los resultados del análisis químico del agua y la solución de Steiner que se utilizó se presentan en el cuadro 3.

Cuadro 3. Concentración de los iones presentes en el agua y solución de Steiner al 50 %.

Iones presentes en la Solución de Steiner al 50% (mg/Kg ⁻¹)											
Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	K ⁺	N-NO ₃ ⁻	H ₂ PO ₄ ⁻	SO ₄ ⁻	Fe ⁺⁺	Mn ⁺⁺	Cu ⁺⁺	Zn ⁺⁺	Cl ⁻	Na ⁺
90	24.3	136.85	84	15.5	56	1.5	0.25	0.05	0.05		
Iones presentes en el agua (mg/Kg ⁻¹)											
12	6	5.85			0.416					7	16.1

3.4.3. Diseño experimental y descripción de tratamientos

El experimento en cada ciclo fue establecido bajo el diseño experimental bloques completos aleatorizados, con cuatro tratamientos y siete repeticiones por tratamiento. Cada unidad experimental estuvo compuesta por 60 plantas.

Con el objetivo de evaluar el efecto del ácido cítrico en el cultivo de lechuga, un total de 4 tratamientos fueron evaluados. Dichos tratamientos o concentraciones de ácido cítrico fueron: 0 mM (C1= testigo), 0.1041 mM (C2), 0.4164 mM (C3), 0.7287 mM (C4). Estos niveles del factor de estudio fueron mezclados dentro de la solución nutritiva de Steiner al 50%, la cual tuvo un volumen final de 60 litros por tratamiento. Para conocer la cantidad de agua consumida por cada tratamiento, el nivel de agua fue reestablecido diariamente y la suma total del agua agregada por día se tomó como el agua consumida por cada tratamiento.

La absorción semanal de nutrientes se determinó por medio de la diferencia entre la concentración inicial de la solución nutritiva y la final dada por el análisis químico realizado de forma semanal. Para evitar la acumulación de nutrientes y por ende un sesgo en la estimación de absorción semanal, la solución remanente era retirada del sistema y una nueva solución nutritiva era preparada. De esta misma forma, el pH en la solución nutritiva fue monitoreado diariamente usando un potenciómetro portátil marca Hanna modelo HI 98127.

3.4.4. Variables estudiadas

Dentro del registro de datos, un total de 7 variables morfológicas y 9 químicas fueron evaluados al final de cada ciclo. Las variables morfológicas fueron: peso fresco (en g/planta), se determinó pesando cada cabeza de lechuga al momento de la cosecha; el peso seco (en g/planta) se midió a través del método de estufa: se colocaron las hojas de la planta en una bolsa de papel para secado en una estufa de aire forzado (marca BINDER) a 70 °C durante 72 horas hasta peso constante; una vez seco el material, se pesó cada muestra; el diámetro de lechuga (en cm) se midió como la distancia transversal de la lechuga a la hora de la cosecha; el diámetro de tallo (cm) se midió al final del ciclo usando un vernier mitutoyo calibrador digital IP67; la altura (en cm) se midió como la distancia longitudinal de la parte superior de la raíz hacia la parte apical de la cabeza de la lechuga de cada pieza de lechuga; el área foliar se obtuvo midiendo el área de cada hoja constituyendo a cada pieza de lechuga mediante un integrador de área foliar LI-3100C; y la longitud de raíz (en cm) se

midió como la distancia longitudinal del sistema radical desarrollado a las siete semanas después del trasplante.

El contenido de nutrientes presentes en las hojas se midió través una muestra compuesta por hojas deshidratadas a 70 °C. Específicamente, el contenido de nitrógeno (N) basado en los nitratos (N-NO_3^-) se midió a través del método de Kjeldahl (Muller, 1961) usando un destilador microKjeldahl; el fosforo (H_2PO_4^-) a través del método colorimétrico de Olsen et al. (1954); y el resto de nutrientes tales como potasio (K^+), calcio (Ca^{++}), magnesio (Mg^{++}), manganeso (Mn^{++}), cobre (Cu^{++}), zinc (Zn^{++}), e hierro (Fe^{++}), fueron estimados usando un espectrofotómetro basado en absorción atómica marca VARIAN AA 1275.

3.4.5. Análisis estadístico

Los supuestos de normalidad y varianzas homogéneas se verificaron usando la prueba de Shapiro-wilk and Levene, respectivamente, considerando una significancia de 0.05. Para conocer si existía un efecto significativo del ácido cítrico en el desarrollo morfológico y composición mineral de la lechuga, se aplicó análisis de varianza (ANOVA) usando la rutina PROC ANOVA en el paquete estadístico SAS versión 9.0 (SAS Institute, 2002). Posteriormente, la comparación de medias se realizó usando la prueba de Tukey con una significancia del 0.05. La estimación de la varianza se llevó acabo considerando el siguiente modelo estadístico:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + e_{ij}$$

Donde y_{ij} es la observación de la variable respuesta del i -ésimo tratamiento ubicado en el j -ésimo bloque, μ es la media general, τ_i es el efecto del i -ésimo tratamiento, β_j es el efecto del j -ésimo bloque, y e_{ij} es el residual con $\sim N(0, \sigma_e^2)$.

3.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.5.1. Cantidad de agua consumida por tratamiento

La figura 3 muestra la cantidad total de agua consumida por el cultivo durante las siete semanas. El tratamiento 3 (0.4164mM) tuvo el mayor consumo total de agua con un valor de 344.28 L, seguido por el tratamiento 2 (0.1041mM) con 273.27 L. El tratamiento que consumió menos agua fue el tratamiento 4 (0.7247mM) con un valor de 27.3 L durante una semana ya que en este tratamiento se murieron las plantas por la disminución drástica del pH y permanencia en el tratamiento. De forma similar, el consumo promedio de agua por planta durante siete semanas fue mayor en el tratamiento 3 (0.4164mM) (5.74 L/Planta) y el más bajo en el tratamiento 1 (0mM) (3.29 L/planta)

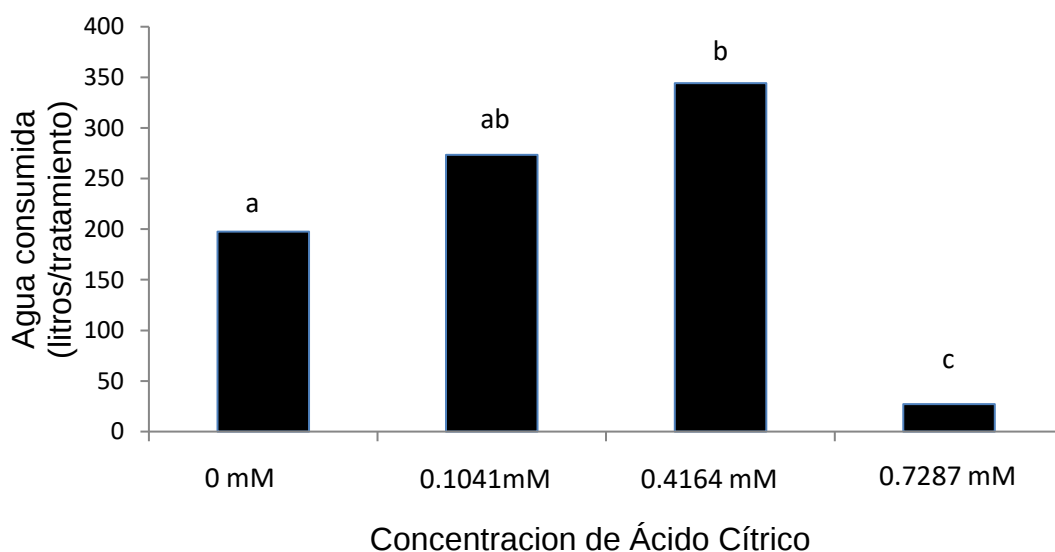


Figura 3. Cantidad de agua consumida por tratamiento en el sistema NFT.

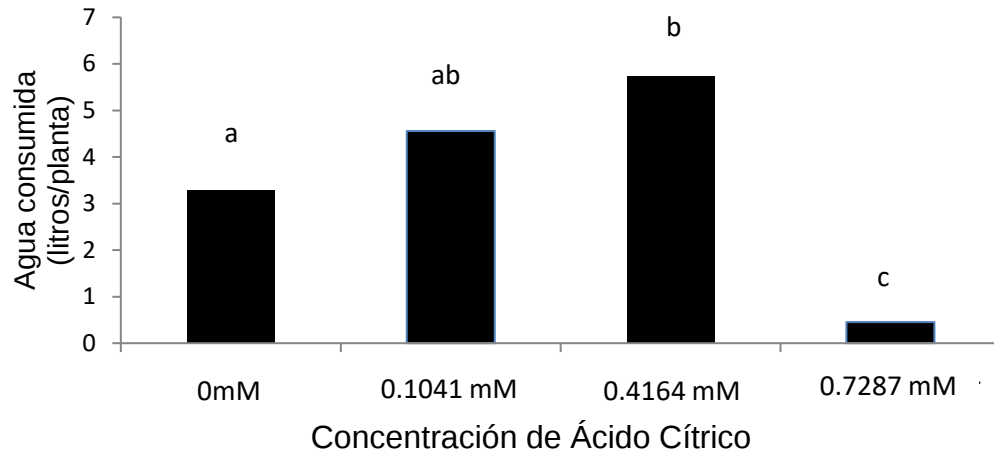


Figura 4. Cantidad promedio de agua consumida por planta dentro de cada tratamiento en el sistema NFT.

3.5.2. Cantidad e inicio de absorción de nutrientes

De acuerdo al cuadro 4, existió diferencia significativa en la concentración de los nutrientes de cada solución nutritiva utilizada en cada tratamiento. Esta diferencia significativa solo fue encontrada en nitrógeno, potasio, fósforo, manganeso, cobre y zinc. Cabe mencionar que, en cuanto al hierro, éste fue absorbido en su totalidad por todos los tratamientos. Estos resultados previos indican que la aplicación de ácido cítrico estimula la absorción de nitrógeno, potasio, fósforo, manganeso, cobre y zinc. Con excepción del magnesio, conforme se fue incrementando la dosis de ácido cítrico, la absorción de nutrientes se incrementó para cada elemento. Respecto al tratamiento 4 (0.7247mM), las plantas sufrieron intoxicación debido al bajo pH (2.0-4.0) del agua ocasionado por la adición de ácido cítrico a concentración de 0.7287 mM. Por ello, solo se obtuvieron observaciones del tratamiento 1, 2 y 3.

Cuadro 4. Concentración promedio de iones presentes en la solución nutritiva remanente en un periodo de siete semanas.

Ácido Cítrico (mM)	N-NO ₃ ⁻	K ⁺	H ₂ PO ₄ ⁻	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	Mn ⁺⁺	Cu ⁺⁺	Zn ⁺⁺	Fe ⁺⁺
	(mg/Kg ⁻¹)								
0	36.06 ^b	153.59 ^b	11.1 ^b	73.34 ^a	41.04 ^a	1.72 ^b	0.48 ^b	1.24 ^b	-
0.1041	19.62 ^a	103.2 ^{ab}	6.75 ^a	68.52 ^a	41.59 ^a	0.97 ^a	0.12 ^{ab}	0.36 ^a	-
0.4164	11.8 ^a	75 ^a	5.36 ^a	65.39 ^a	40.14 ^a	0.52 ^a	0.06 ^a	0.22 ^a	-
DMSH	15.909	51.189	3.044	14.776	7.531	0.561	0.42	0.237	-

DMSH: Diferencia media significativa honesta; Medias con la misma letra dentro de columna son estadísticamente iguales con base en la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$)

*La concentración del tratamiento 4 (0.7247 mM) no aparece ya que las plantas murieron en la primera semana por permanencia de pH bajo y no óptimo para la absorción de nutrientes.

La tendencia de absorción a través del tiempo fue diferente para cada nutriente (Figura 5 y 6). El nitrógeno fue uno de los elementos que más se absorbió durante las siete semanas de evaluación. Sin embargo, los tratamientos con ácido cítrico tuvieron mayor absorción de nitrógeno respecto al testigo, siendo más evidente a partir de la semana tres. Para el potasio, en el testigo no se detectó una alta cantidad de potasio absorbido durante la mayoría de las semanas, mientras que en los tratamientos con ácido cítrico la absorción de potasio se fue incrementando por semana hasta llegar a una cantidad de 102 a 142 ppm. Respecto a la absorción de fósforo, el efecto del ácido cítrico fue solo evidente a partir de la semana 5. Sin embargo, no existió diferencia muy marcada entre el testigo y los tratamientos de ácido cítrico como sí lo fue en nitrógeno y potasio. De forma similar, la absorción del calcio en los tratamientos con ácido cítrico fue mayor a partir de la semana seis, ya que en las primeras semanas el testigo mostró una mayor capacidad de absorción de calcio. En Magnesio, la absorción fue muy baja en todos los tratamientos, en donde solo una cantidad 8.6 ppm fue detectada en 0.1041mM durante la semana seis.

Respecto a los micronutrientes como zinc, cobre y manganeso, el efecto de ácido cítrico en la absorción de estos fue muy evidente debido a que los

tratamientos compuestos por ácido cítrico tuvieron una mayor absorción. En zinc, el testigo solo absorbió este nutriente en la primera semana (0.15 ppm), mientras que en el resto de tratamientos la absorción fue mayor a 0.4 ppm por cada semana. Esta misma situación fue observada en cobre donde las plantas de los tratamientos con ácido cítrico absorbieron mayor cantidad de cobre que el testigo.

Finalmente, para manganeso, los tratamientos de ácido cítrico mostraron una mayor absorción a la del testigo y además dicha absorción inicio en la semana 3 mientras que en el testigo empezó en la semana 4. Todos estos resultados indican que el ácido cítrico estimuló una mayor absorción de nitrógeno, potasio, fósforo, zinc, cobre y manganeso, y además ocasionó que la absorción se iniciara de forma más temprana respecto al testigo.

El comportamiento de absorción de iones se atribuye a que desde un punto de vista teórico se sabe que siempre en el medio raíz-suelo la planta libera ácidos orgánicos a la rizósfera para equilibrar la carga del catión o para mantener el potencial osmótico en raíz. Uno de los principales factores que determinan los niveles de ácidos orgánicos en las raíces es su grado de desequilibrio catión-anión. En situaciones donde las raíces absorben un exceso de cationes (particularmente K^+), la carga negativa requerida para equilibrar esto a menudo es proporcionada por ácidos orgánicos, como malato, malonato, citrato y aconitato (Chang y Roberts, 1989; Osmond, 1976).

Desde un punto de vista fisiológico, se sabe que siempre debe producirse la liberación de ácidos orgánicos a la rizosfera. Esto se basa en el hecho de que la concentración de ácidos orgánicos en el citosol (aproximadamente 0,5-10 mM) es aproximadamente 1000 veces mayor que la presente en la solución del suelo (0,5-10 μM). Además, existe un considerable gradiente de carga eléctrica en la membrana plasmática debido a la operación de bombas de protones impulsadas por ATP (H^+ -ATPasas) y al gran potencial de difusión de K^+ citosólico (Samuels *et al.*, 1992). Mientras que el H^+ expulsado al apoplasto por

estas H^+ -ATPas crea un gradiente de carga para facilitar la captación de cationes del suelo, también tiende a extraer aniones (por ejemplo, citrato³⁻, malato²⁻) de las células y hacia la solución externa del suelo . Los ácidos orgánicos típicamente fluyen a través de la bicapa lipídica a una velocidad lenta en respuesta a este gradiente electroquímico (exudación de la línea de base); sin embargo, el flujo de salida se puede incrementar en gran medida mediante la apertura de canales integrados en la bicapa lipídica (Dennis *et al.*, 1997).

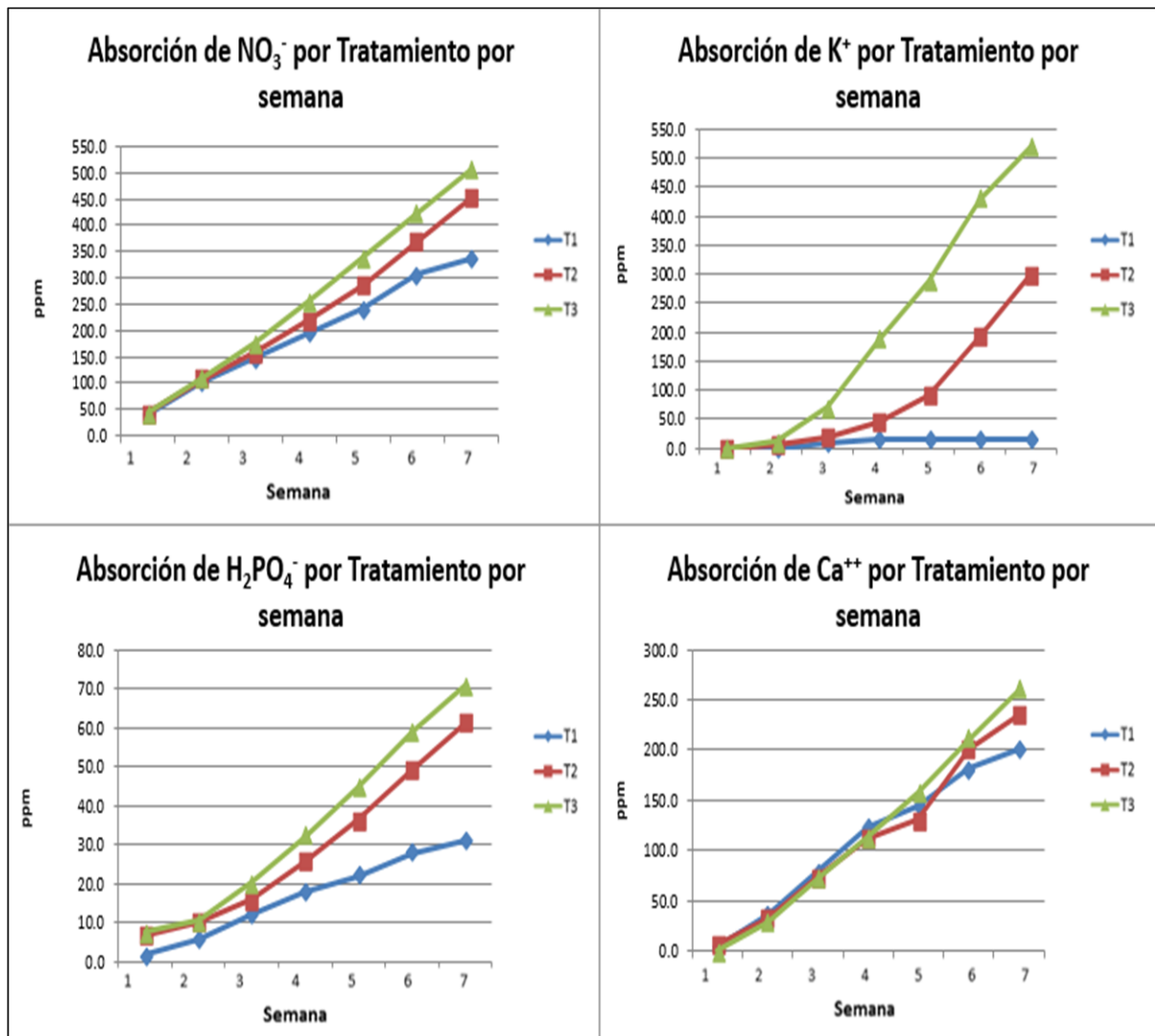


Figura 5. Tendencia de absorción acumulada de cada nutriente en los tratamientos.

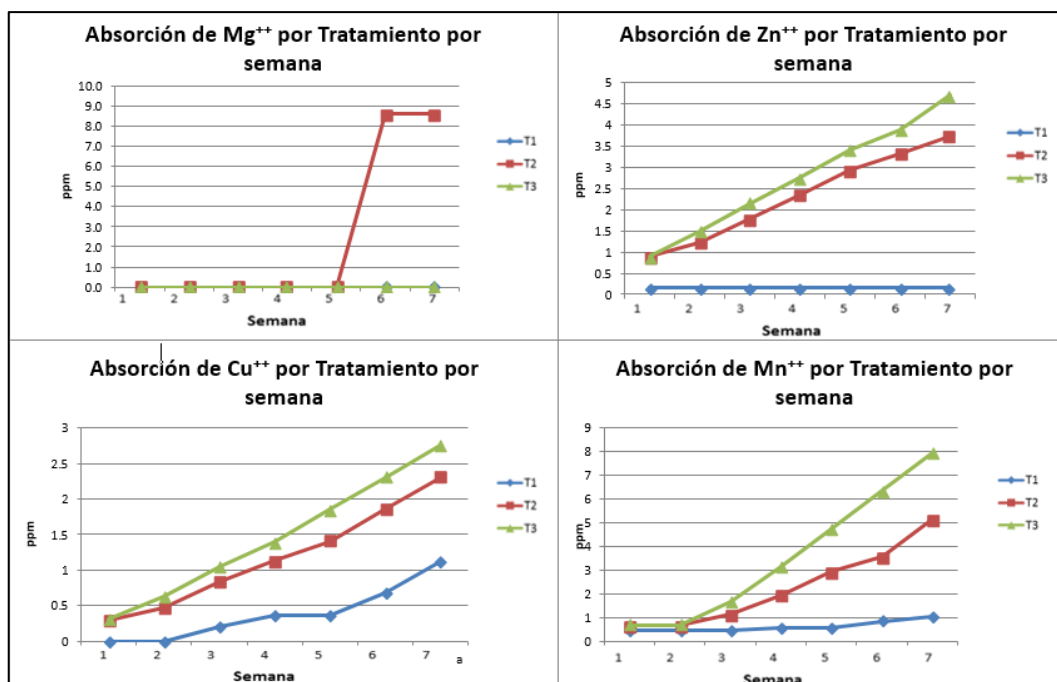


Figura 6. Tendencia de absorción acumulada de cada nutriente en los tratamientos

3.5.3. Análisis nutrimental del tejido

Los resultados obtenidos del análisis nutrimental hecho en las hojas de lechuga para cada tratamiento son presentados en los cuadros 5 y 6. De acuerdo al análisis de varianza y prueba de Tukey, se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos en las variables contenido de nitrato, potasio, cobre y hierro. Por otro lado, en nutrientes como fósforo, calcio, magnesio, manganeso y zinc, el análisis de varianza no indicó diferencia significativa entre los tratamientos. Interesantemente, se puede observar que con 0.1041mM se obtuvieron las concentraciones más altas para nitrógeno en nitrato, potasio, fósforo y manganeso, pero las más bajas de Zinc. Respecto al tratamiento 0.4164mM, se observó una alta concentración de magnesio, pero un efecto negativo en potasio, manganeso, cobre y hierro. Por otro lado, el testigo tuvo las más altas concentraciones para micro elementos como cobre, zinc y hierro.

Estos resultados indican claramente que el ácido cítrico incrementó la concentración de macro nutrientes en el tejido vegetal de la lechuga, pero

redujo la concentración de micronutrientes como cobre, zinc y hierro. Krafczyk et al. (1984), esto se atribuye a que al haber deficiencias de macronutrientes se observa un aumento en la salida de ácido cítrico por raíces bajo una diversidad de otras tensiones y una mayor quelación de éstos, por ende una mejor absorción. Cakmak y Marscher (1988) observaron que es probable que la deficiencia de Ca^{++} y Zn^{++} , aumenta la permeabilidad de la membrana, también provoque aumentos en la salida de ácido orgánico. Sin embargo, los experimentos en los que se añadieron continuamente malato, citrato u oxalato al suelo o soluciones hidropónicas han mostrado poco efecto sobre la acumulación de Zn^{++} en trigo (Evans, 1991; Chairidchai y Ritchie, 1993a, b,). Sin embargo, no se puede descartar por completo un papel de los ácidos orgánicos en la movilización de Zn^{++} y otros micronutrientes (por ejemplo, Cu^{++}) en la rizósfera.

Cuadro 5. Resultados del análisis de varianza para las variables morfológicas y nutrimentales del tejido vegetal en el cultivo de lechuga.

Variable	CV	Significancia	
		Tratamiento	Bloque
Morfológicas			
Diámetro lechuga	3.96	<0.0001	0.2247
Longitud de raíz	13.23	0.0016	0.0788
Peso fresco	7.08	<0.0001	0.1144
Altura	2.91	<0.0001	0.18
Diámetro tallo	5.33	<0.0001	0.2884
Área foliar	9.85	<0.0001	0.1096
Peso seco	7.61	<0.0001	0.1024
Nutrimentales			
N-NO ₃ ⁻	5.68	0.0009	0.0605
K ⁺	13.61	0.0062	0.2788
H ₂ PO ₄ ⁻	10.91	0.2012	0.9968
Ca ⁺⁺	23.93	0.2702	0.7351
Mg ⁺⁺	18.71	0.2891	0.9828
Mn ⁺⁺	53.32	0.1794	0.9214
Cu ⁺⁺	48.42	0.0117	0.1187
Zn ⁺⁺	41.54	0.6756	0.6628
Fe ⁺⁺	37.11	0.0472	0.3226

El coeficiente de variación es un estadístico que indica el grado de variabilidad en relación a la media de la población, por lo que entre más bajo la precisión del experimento incrementa (Romano *et al.*, 2005). En el presente estudio, los valores del coeficiente de variación se ubicaron en un intervalo de 2.91 a 13.23, valores que de acuerdo a Acquaah (2007) se consideran dentro del nivel óptimo para inferir que la toma de datos fue correcta.

Los resultados obtenidos en este trabajo, son similares a los reportados por Ghazijahani *et al.* (2014) en albahaca (*Ocimum basilicum* L.) y Pérez-Labrada *et al.* (2016) en tomate, quienes demostraron que la aplicación de ácido cítrico incremento la concentración de nutrimentos del cultivo. También los resultados respaldan lo propuesto por Ström *et al.* (2005), quienes reportaron que los ácidos orgánicos como el ácido cítrico mejora la composición nutricional de algunos cultivos.

Cuadro 6. Análisis nutrimental del tejido de la planta de lechuga al final del ciclo de cultivo bajo diferentes concentraciones de ácido cítrico.

Ácido Cítrico (mM)	NO ₃ ⁻	K ⁺	H ₂ PO ₄ ⁻	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	Mn ⁺⁺	Cu ⁺⁺	Zn ⁺⁺	Fe ⁺⁺
	(mg/Kg ⁻¹)								
0	1.45 ^a	211.4 ^a	3.78 ^a	8325.4 ^a	3750.05 ^a	164.55 ^a	83.35 ^b	94.26 ^a	217.11 ^b
0.1041	1.96 ^b	329.11 ^b	4.28 ^a	11203.26 ^a	4474.6 ^a	205.46 ^a	35.17 ^a	72.01 ^a	154.68 ^{ab}
0.4164	1.77 ^b	228.15 ^a	3.7 ^a	10747.23 ^a	4709.55 ^a	84.52 ^a	15.99 ^a	87.01 ^a	86.58 ^a
DMSH	0.21	75.68	0.93	5240.19	1750.39	175.28	47.10	76.08	123.03

DMSH: diferencia media significativa honesta; Medias con la misma letra dentro de columna son estadísticamente iguales con base en la prueba de Tukey (p≤ 0.05)

Adicionalmente, se pudo observar que las dosis de ácido cítrico mayores a 0.1041 mM, ocasionan una reducción en la concentración de la mayoría de los nutrientes, siendo más evidente en nutrientes como potasio, calcio y manganeso. Resultados similares sobre el efecto antagónico del ácido cítrico en la absorción de calcio fueron reportado por Nunes *et al.* (2009) en trigo. Ellos

encontraron que el ácido cítrico en dosis de 0 a 2.4×10^{-4} redujeron significativamente la absorción de calcio.

3.5.4. Análisis morfológico

Los resultados del análisis de varianza para las siete variables morfológicas son presentados en el cuadro 5. Los resultados sugieren que las diferentes concentraciones de ácido cítrico tuvieron un efecto significativo en el comportamiento de las variables de estudio.

Las medias de cada tratamiento para cada variable se presentan en el Cuadro 7. De acuerdo a la prueba de Tukey, en general, los tratamientos con C1 (0.1041 mM) y con C2 (0.4164 mM) mostraron valores estadísticamente más altos al testigo para todas las variables morfológicas. Por otro lado, la aplicación de ácido cítrico a una dosis de 0.4164 mM a la solución nutritiva, ocasionó un mayor diámetro, altura, área foliar y peso seco de lechuga, respecto a los efectos observados de las dosis 0.1041 mM y el testigo. En las variables peso fresco y diámetro de tallo, las medias de los tratamientos 0.1041 mM y 0.4164 mM fueron estadísticamente mayores al testigo, evidenciando el efecto positivo del ácido cítrico en dichas características. Sin embargo, aunque la media de 0.4164 mM para peso fresco y diámetro de tallo fue mayor a la obtenida por 0.1041mM, estadísticamente no hubo diferencias significativas entre ambos tratamientos. Dichos resultados indicaron que el uso de ácido cítrico con dosis de 0.1041 mM y 0.4164 mM, incrementó significativamente el tamaño y otras características vegetativas de la lechuga. Este resultado fue debido a que el ácido cítrico promovió una mayor absorción de nitrógeno, fosforo, y potasio, y que de acuerdo Alcántar-Gonzáles y Trejo-Tellez (2010) son los principales macronutrientes que participan en el crecimiento vegetativo de las plantas.

Cuadro 7. Comparación de medias del efecto del ácido cítrico en variables morfológicas de lechuga en hidroponía

Ácido Cítrico (mM)	Diámetro lechuga (cm)	Longitud de raíz (cm)	Peso fresco (g)	Altura (cm)	Diámetro de tallo (cm)	Área foliar (cm ²)	Peso seco (g)
0	11.86 ^a	12.37 ^a	21.5 ^a	6.33 ^a	0.86 ^a	280.41 ^a	2.8 ^a
0.1041	27.96 ^b	23.99 ^b	238.73 ^b	19.2 ^b	1.61 ^b	3190.67 ^b	16.35 ^b
0.4164	30.3 ^c	19.67 ^b	263.68 ^b	21.53 ^c	1.78 ^b	3820.34 ^c	19.72 ^c
DMSH		5.361	26.834	0.99	0.163	519.55	2.138

DMSH: diferencia media significativa honesta; Medias con la misma letra dentro de columna son estadísticamente iguales con base en la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$)

Resultados similares a los encontrados en este estudio han sido reportados en otros cultivos; El-Tohamy *et al.*, (2013) quienes reportaron que la aplicación de ácido cítrico en plantas de frijol incrementó la productividad y crecimiento vegetativo bajo condiciones de sequía. Por su parte, Pérez-Labrada *et al.* (2016) evaluando el efecto de ácido cítrico sobre el tomate sembrado en suelos calcáreos, encontraron que dicho ácido a una dosis de 10 mM incrementó el rendimiento por planta y tamaño de fruto.

Para el caso de longitud de raíz, se encontró que en los tratamientos de ácido cítrico la longitud de la raíz fue significativamente mayor a la del testigo. Tal resultado fue debido a que en dichos tratamientos también existió una mayor absorción de fosforo, elemento que estimula el crecimiento de la raíz (Alcántar-González y Trejo-Téllez, 2010).

Se observó que el valor medio de 0.1041mM fue mayor al de 0.4164mM, lo cual indica que la aplicación de ácido cítrico a una dosis mayor a 0.1041 mM afecta el desarrollo radicular de la lechuga. Dicho resultado es comparable con los obtenidos por El-Tohamy *et al.*, (2013), quienes encontraron que altas dosis de ácido cítrico redujeron el tamaño de la vaina del frijol y rendimiento. Estos

resultados previos evidencian la necesidad de realizar estudios específicos para cada cultivo para determinar la dosis óptima de ácido cítrico.

3.6. CONCLUSIONES

La aplicación de ácido cítrico en la solución nutritiva incrementó la capacidad de absorción de macro y micro nutrientes en solución por parte de las plantas de lechuga en sus diferentes etapas de crecimiento y periodos fisiológicos. Dicho efecto fue más evidente en la absorción de iones como N-NO_3^- , K^+ , H_2PO_4^- , Mn^{++} , Cu^{++} , Zn^{++} , y Fe^{++} . En contraste, el efecto de ácido cítrico en el contenido nutrimental del tejido vegetal solo fue evidente en el contenido de nitrógeno y potasio.

El efecto del ácido cítrico en la absorción y contenido nutrimental del tejido vegetal de lechuga afectó el tamaño y la morfología de la lechuga. Específicamente, la aplicación de ácido cítrico a una dosis de 0.4164 M promovió mayor tamaño de lechuga. Todos estos resultados indican que el uso de ácido cítrico en la solución nutritiva es recomendable para la producción de lechugas en un sistema NFT.

3.7. LITERATURA CITADA

- Abd-Elhady M. (2014). Effect of citric acid, calcium lactate and low temperature prefreezing treatment on the quality of frozen strawberry. *Annals of Agricultural Sciences*. 59: 69-75.
- Acquaah G. (2007). *Principles of Plant Genetics and Breeding*. Reino Unido: 1ª ed. Blackwell. 152-156
- Alcántar G. G., Trejo T. L. I. (2010). Nutrición de Cultivos. Colegio de Posgraduados y Mundi-Prensa. México D.F. 454.
- An Y., Zhou P., Xiao Q. and Shi D. (2014). Effects of foliar application of organic acids on alleviation of aluminum toxicity in alfalfa. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 177: 421-430.
- Campbell B. (2010). Organic matter application can reduce copper toxicity in tomato plants. *Journal of Natural Resources and Life Sciences Education*. 39: 45-48, doi:10.4195.

- Carli P., Barone A., Fogliano V., Frusciante L., and Ercolano M. R. (2011). Dissection of genetic and environmental factors involved in tomato organoleptic quality. *BMC plant biology*. 11(58).145-148
- Chairidchai P and Ritchie G S P (1993a). The effect of citrate and pH on zinc uptake by wheat. *Agron. J.* 85, 322–328.
- Chang K. J. and Roberts J. K. M. (1989). Observation of cytoplasmic and vacuolar malate in maize root-tips by ¹³C-NMR spectroscopy. *Plant Physiol.* 89, 97–203.
- El-Tohamy W. A., El-Abagy H. M., Badr M. A., and Gruda N. (2013). Drought tolerance and water status of bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by citric acid application. *Journal of Applied Botany and Food Quality*. 86(1).
- Dennis D. T., Turpin D. H., Lefebvre D. D. and Layzell D. B. (1997). *Plant Metabolism*. Longman Group, Essex. 89-105
- Ghazijahani N., Hadavi E., and Jeong B. R. (2014). Foliar sprays of citric acid and salicylic acid alter the pattern of root acquisition of some minerals in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Frontiers in plant science*. 5 (573).
- Hegazi A. H., Samra N. R., Bndok S. A., and Enas A. S. (2014). *Effect of ethephon, acetic and citric acid on berry quality and storage ability of flame seedless grapes*. *Mansoura Journal of Plant Production*. 5:1795 -1806.
- Howard L. R., Smith R. T., Wagner A. B., Villalon B. and Burns E. E. (1994). Provitamin A and ascorbic acid content of fresh pepper cultivars (*Capsicum annuum*) and processed jalapenos. *Journal of Food Science*, 59, 362-365.
- Krafczyk I., Trolldenier G. and Beringer H. (1984). Soluble root exudates of maize: Influence of potassium supply and rhizosphere microorganisms. *Soil Biol. Biochem.* 16, 315–322.
- Lara H. A. (1999). Manejo de la solución nutritiva en la de tomate en hidroponia. *Revista Terra Latinoamericana*. 17:221-229.
- Madani B., Wall M., Mirshekari A., Bah A., and Mohamed M. T. M. (2015). Influence of calcium foliar fertilization on plant growth, nutrient concentrations, and fruit quality of papaya. *HortTechnology*. 25: 496-504.
- Malundo T. M. M., Shewfelt R. L., Ware G. O. and Baldwin, E. A. (2001). Sugars and acids influence flavor properties of mango (*Mangifera indica*). *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 126: 115-121.

- Massonneau A., Langlade N., Leon S., Smutny J., Vogt E., Neumann G., and Martinoia E. (2001). Metabolic changes associated with cluster root development in white lupin (*Lupinus albus* L.): relationship between organic acid excretion, sucrose metabolism and energy status. *Planta*. 213: 534-542.
- Maul F., Sargent S. A., Sims C. A., Baldwin E. A., Balaban M. O., and Huber D. J. (2000). Tomato flavor and aroma quality as affected by storage temperature. *Journal of Food Science*. 65: 1228-1237.
- Muller L. (1961). Un aparato micro-Kjeldahl simple para análisis rutinarios de materiales vegetales. *Turrialba*. 11: 17-25.
- Nunes F. C., Miyazawa M., and Pavan M. A. (2009). Organic acid effect on calcium uptake by the wheat roots. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 52: 11-15.
- Olsen S.R., Cole C.V., Watanabe F.S., and Dean L. A. (1954). *Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate*. Circular 939 United States Department of Agriculture, Washington, D.C., USA.
- Osmond C. B. (1976). Ion absorption and carbon metabolism in cells of higher plants. *In Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, Vol. 2, Part A*. Eds. U Lüttge and M G Pitman. pp 347–372. Springer-Verlag, Berlin.
- Pérez-Labrada F., Benavides-Mendoza A., Valdez-Aguilar L. A., and Robledo-Torre V. (2016). Citric acid in the nutrient solution increases the mineral absorption in potted tomato grown in calcareous soil. *Pakistan Journal of Botany*. 48, 67-74.
- Popova T. N. and Pinheiro de Carvalho M. A. (1998). Citrate and isocitrate in plant metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1364: 307-325.
- Rao D. N., and Mikkelsen D. S. (1977). Effects of acetic, propionic, and butyric acids on rice seedling growth and nutrition. *Plant and Soil*. 47: 323-334.
- Samuels A. L., Fernando M. and Glass A. D. M. (1992). Immunofluorescent localization of plasma membrane HC-ATPase in barley roots and effects of K nutrition. *Plant Physiol*. 99, 1509–1514.
- SAS Institute. (2002). *User's guide of SAS (Statistical Analysis System)*. SAS Insitute Inc. Cary, N. C. USA.
- Sas L., Rengel Z., Tang C. (2001). Excess cation uptake, and extrusion of protons and organic acid anions by *Lupinus albus* under phosphorus deficiency. *Plant Sciences*. 160:1191-1198.

- Steiner A. A. (1961). A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant and Soil*. 15: 134-154.
- Ström L., Owen A. G., Godbold D. L., and Jones D. L. (2005). Organic acid behaviour in a calcareous soil implication for rhizosphere nutrient cycling. *Soil Biology and Biochemistry*. 37: 2046-2054.
- Wright D. H., and Harris N. D. (1985). Effect of nitrogen and potassium fertilization on tomato flavor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 33: 355-358.

4. CAPÍTULO 3. OPTIMIZACIÓN DE LA DOSIS DE ÁCIDO CÍTRICO PARA INCREMENTAR LA ABSORCIÓN Y TRANSLOCACIÓN DE NUTRIENTES EN LECHUGA

4.1. Resumen

El presente estudio se realizó con el propósito de determinar la dosis óptima del ácido cítrico que incrementa la absorción y translocación de macro y micronutrientes en el cultivo hidropónico de lechuga. Para ello se establecieron dos ciclos de lechuga desde octubre de 2016 hasta marzo de 2017, las cuales se les aplicaron concentraciones de 0, 0.1041, 0.1561 y 0.4164 mM de ácido cítrico en el riego con solución Steiner 50 % en un sistema NFT. Fue la concentración con 0.1561 mM la que tuvo mayor efecto positivo en la absorción de cationes y aniones presentes en solución. Con este tratamiento se obtuvo también las mejores características morfológicas de la lechuga. Por tanto, una mayor concentración de ácido cítrico no incrementa su eficiencia. Concluyendo que el ácido cítrico es compuesto complejante, que aplicado en la solución nutritiva en una concentración de 0.1561 mM permite a la lechuga tener mayor absorción y asimilación de nutrientes en el tejido vegetal, así como una mejor expresión morfológica.

Palabra clave:, solución Steiner, NFT, eficiencia, cationes, aniones

4.2. Summary

The present study was carried out with the purpose of determining the optimum dose of citric acid that increases the absorption and translocation of macro and micronutrients in the hydroponic culture of lettuce. For this, two lettuce cycles were established from October 2016 to March 2017, which were applied concentrations of 0, 0.1041, 0.1561 and 0.4164 mM citric acid in irrigation with 50% Steiner solution in an NFT system. It was the concentration with 0.1561 mM that had the greatest positive effect on the absorption of cations and anions present in solution. With this treatment the best morphological characteristics of the lettuce were also obtained. Therefore, a higher concentration of citric acid does not increase its efficiency. Concluding that citric acid is a complexing compound, which applied to the nutrient solution at a concentration of 0.1561 mM allows lettuce to have greater absorption and assimilation of nutrients in plant tissue, as well as a better morphological expression.

Keyword: solution Steiner, NFT, efficiency, cations, anions

4.3. Introducción

Las hortalizas de hoja son un producto altamente demandado por mercados que buscan alimentos de mejor calidad, tamaño, sabor y que sean cultivadas en forma inocua (FAOSTAT 2017). Entre las alternativas de cultivo se encuentra el sistema hidropónico, se basa en el aporte de nutrimentos a las plantas a través de soluciones nutritivas, que son mezclas de agua con sales minerales en proporciones y concentraciones adecuadas, para que las plantas alcancen un desarrollo y crecimiento óptimos (Resh, 2006)

Conocer la absorción de los nutrimentos minerales de la planta permitirá obtener el máximo de rendimiento de los cultivos (Etchevers, 1999; Barraza, 2018). La cantidad de nutrientes que requieren las plantas depende de las necesidades fisiológicas de cada una, la variedad, su etapa fenológica, así como las condiciones de manejo (Carpena *et al.*, 1987; Adams, 1994). Al respecto, Steiner (1984) sugirió que las principales características que influyen en el desarrollo de los cultivos son la relación entre los aniones, cationes, la concentración de nutrimentos, el pH entre otros.

Sívori (1986) demostró que en las plantas existen más de 90 elementos minerales, sin embargo, solo 18 son considerados esenciales. Desafortunadamente la mayoría de las soluciones nutritivas aplicadas a cultivos hidropónicos en donde se incluyen a los 18 micro y macroelementos, tienden a variar en pH, lo que afecta la absorción de nutrientes (Lara, 1999). Una alternativa para remediar este problema es el uso de ácidos orgánicos que actúan como amortiguadores del pH, y quelantes de los cationes metálicos (Massonneau *et al.*, 2001).

El ácido cítrico ($C_6H_8O_7$) pertenece a la familia de los ácidos orgánicos, Es un ácido orgánico débil tricarboxílico y triprótico, posee diversas cualidades, sin embargo, sus usos más conocidos son como acidulante, saborizante y agente quelante (Apleblat, 2014). Es un ácido que se disocia en su totalidad en suelos con pH de 6.4 (Jones, 1998). Su estructura ayuda a la movilización de P en las

raíces de las plantas (Gahoonia *et al.*, 2000). Respecto al uso agrícola del ácido cítrico, se ha demostrado que en cultivos como el manzano, jitomate, lechuga y frijol su aplicación mejoró la disponibilidad de nutrientes (Pérez-Labrada *et al.*, 2014). Este puede ser por que ayuda a quelar los cationes no disponibles en el suelo o en una solución. Por ello el objetivo del presente trabajo fue identificar la mejor dosis de ácido cítrico, la cual incrementa la absorción y translocación de nutrientes en el cultivo de lechuga.

4.4. Materiales y Métodos

4.4.1. Tratamientos y material vegetal

Con la finalidad de evaluar el efecto del ácido cítrico sobre la lechuga italiana verde (CV: Starfigther), cuyo sistema radical es columnar y pivotante con ramificaciones secundarias numerosas, se probaron cuatro diferentes concentraciones de ácido cítrico: 0 mM (C_1 =Testigo), 0.1041 mM (C_2), 0.1561 mM (C_3), 0.4164 mM (C_4). La nutrición del cultivo se llevó acabo con la solución nutritiva de Steiner (Steiner, 1961) al 50%. Previo a la elaboración de la solución de Steiner, se realizó un análisis químico del agua para ajustar las cantidades de fuentes de nutrientes para preparar la solución nutritiva. Los resultados del análisis químico del agua y la solución de Steiner que se utilizó se presentan en el cuadro 8.

Cuadro 8. Contenido de iones en la solución Steiner.

Iones Presentes en la Solución de Steiner (mg/Kg ⁻¹)	Steiner 50 %	Análisis de Agua (meq L ⁻¹)	Análisis de Agua (mg/Kg ⁻¹)
Ca ⁺⁺	90	0.6	12
Mg ⁺⁺	23.5	0.5	6
K ⁺	136.85	0.15	5.85
N-NO ₃ ⁻	84		
H ₂ PO ₄ ⁻	15.5		
SO ₄ ⁻⁻	56	0.026	0.416
Fe ⁺⁺	1.5		
Mn ⁺⁺	0.25		
Cu ⁺⁺	0.05		
Zn ⁺⁺	0.05		
B	0.05		
CO ₃ ⁻⁻		0.4	
HCO ₃ ⁻		1.7	
Cl ⁻		0.2	7
Na ⁺		0.7	16.1

4.4.2. Sitio experimental

El ensayo se llevó a cabo en el periodo de enero 2017 a marzo 2017 dentro de las instalaciones del Posgrado en Horticultura en el Campo Agrícola Experimental del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, en Texcoco, Estado de México, cuya ubicación geográfica es 19° 30' latitud norte y 98° 53' longitud oeste.

4.4.3. Conducción del experimento y estimación de la absorción nutricional

El ensayo se llevó a cabo durante dos ciclos agrícolas. El primer ciclo de cultivo inició a principios de octubre 2016 y terminó en diciembre de 2016 y el segundo fue de enero 2017 a marzo de 2017. El consumo de agua fue monitoreado diariamente, para ello el nivel inicial de agua (60 L por tratamiento) era reestablecido al final de cada día. Para medir la cantidad de los nutrientes absorbidos en los diferentes tratamientos de ácido cítrico, cada semana se

tomaron muestras o alícuotas de solución nutritiva de cada tratamiento a final de semana, las cuales fueron analizadas posteriormente en laboratorio, la solución remanente era drenada y al sistema NFT se le daba una limpieza con agua para eliminar precipitados de fertilizante. Cuando el sistema NFT se encontraba limpio, se volvió a preparar la solución de Steiner. Dicho procedimiento de limpieza y preparación de la solución nutritiva se realizaba de forma semanal para evitar un sesgo en la cuantificación de absorción. Finalmente, el pH de la solución nutritiva se monitoreo todos los días (día y noche) con ayuda de un potenciómetro portátil marca Hanna modelo HI 98127.

4.4.4. Diseño experimental

El experimento en cada ciclo fue establecido bajo el diseño experimental bloques completos aleatorizados, con cuatro tratamientos y siete repeticiones por tratamiento. Cada unidad experimental estuvo compuesta por 60 plantas. Con el objetivo de evaluar el efecto del ácido cítrico en el cultivo de lechuga, un total de 4 tratamientos fueron evaluados. Dichos tratamientos o concentraciones de ácido cítrico fueron: 0 mM (C1= testigo), 0.1041 mM (C2), 0.1561 mM (C3), 0.4164 mM (C4). Estos niveles del factor de estudio fueron mezclados dentro de la solución nutritiva de Steiner al 50%, la cual tuvo un volumen final de 60 litros por tratamiento. Para conocer la cantidad de agua consumida por cada tratamiento, el nivel de agua fue reestablecido diariamente y la suma total del agua agregada por día se tomó como el agua consumida por cada tratamiento.

La absorción semanal de nutrientes se calculó por medio de la diferencia entre la concentración inicial de la solución nutritiva y la final dada por el análisis químico realizado de forma semanal. Para evitar la acumulación de nutrientes y por ende un sesgo en la estimación de absorción semanal, la solución remanente era retirada del sistema y una nueva solución nutritiva era preparada. De esta misma forma, el pH en la solución nutritiva fue monitoreado diariamente usando un potenciómetro portátil marca Hanna modelo HI 98127

4.4.5. Colecta de datos para el análisis morfológico y tejido vegetal.

Se evaluaron 8 variables morfológicas en la planta y 9 variables de contenido nutrimental. El registro de datos morfológicos, así como el contenido nutrimental del tejido vegetal, se determinaron al final del ciclo de cultivo. Específicamente, el peso fresco (en g/planta) se determinó con el peso de cada cabeza de lechuga en la cosecha; la materia seca (g planta^{-1}) se cuantificó por el método de la estufa colocando las hojas de la planta en una bolsa de papel para secado en una estufa de aire forzado (marca BINDER) a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 72 horas hasta peso constante; una vez seco el material, se pesó cada muestra; el diámetro de lechuga (en cm) se midió como la distancia transversal de la lechuga al momento de la cosecha; el diámetro de tallo (cm) se midió al final del ciclo usando un vernier mitutoyo calibrador digital IP67; la altura (en cm) se midió como la distancia longitudinal de la parte superior de la raíz hacia la parte apical de la cabeza de la lechuga de cada pieza de lechuga; el área foliar se obtuvo midiendo el área de cada hoja constituyendo a cada pieza de lechuga mediante un integrador de área foliar LI-3100C; y la longitud de raíz (en cm) se midió como la distancia longitudinal del sistema radical desarrollado a las siete semanas después del trasplante.

El contenido de nutrientes presentes en las hojas se midió través una muestra compuesta por hojas deshidratadas a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Específicamente, el contenido de nitrógeno (N) basado en los nitratos (NO_3^-) se midió a través del método de Kjeldahl (Muller, 1961) usando un destilador microKjeldahl; el fósforo (P^+) a través del método colorimétrico de Olsen et al. (1954); y el resto de nutrientes tales como potasio (K^+), calcio (Ca^{++}), magnesio (Mg^{++}), manganeso (Mn^{++}), cobre (Cu^{++}), zinc (Zn^{++}), y hierro (Fe^{++}), fueron estimados usando un espectrofotómetro basado en absorción atómica marca VARIAN AA 1275.

4.4.6. Análisis de datos

Previo al análisis de varianza, los supuestos de normalidad y la varianza homogénea se verificaron usando las pruebas de Shapiro-wilk and Levene,

respectivamente, y considerando un $\alpha=0.05$. Dado que todas las variables cumplieron con ambos supuestos, un análisis de varianza se realizó usando el comando PROC ANOVA en la paquetería SAS (SAS Institute, 2002), Posteriormente, la comparación de medias se realizó usando la prueba de Tukey con una significancia del 0.05. La estimación de la varianza se llevó acabo considerando el siguiente modelo estadístico:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + e_{ij}$$

Dónde: y_{ijk} = es la observación de la variable respuesta, en el nivel i del factor A y nivel j del factor B. μ = es la media general del experimento. τ_i = es el efecto del nivel i del factor A. β_j = es el efecto del nivel j del factor B. e_{ij} = es el error experimental.

4.5. Resultados y discusión

4.5.1. Cantidad de agua consumida por tratamiento

En el cuadro 9., se muestra el consumo total de agua por tratamiento y por planta. De acuerdo a estos datos, la aplicación de ácido cítrico a 0.1561 mM provocó un mayor consumo de agua, mientras que el testigo fue en el que menos cantidad de agua se consumió. Estos resultados evidenciaron que el ácido cítrico estimula una mayor absorción de agua. Sin embargo, comparando los tratamientos de 0.1561 y 0.4164 mM, se puede observar que la relación dosis-consumo de agua no es lineal, debido a que una dosis mayor a 0.1561 mM ocasiona una reducción en el consumo de agua.

Una tendencia similar a la antes descrita también fue observada en el consumo promedio de agua por planta. Específicamente, el más alto consumo de agua por planta fue en el tratamiento 3 (0.4164 mM), mientras el más bajo se observó en el tratamiento 1 (0mM).

El resultado de consumo de agua se atribuye, a que, en los tratamientos con ácido cítrico, la planta presentó mejor desarrollo en comparación al testigo, esto

probablemente debido al efecto quelante del ácido cítrico sobre los cationes y por ende se presentó mejor absorción de nutrientes por parte de la planta, que conlleva a mejor desarrollo.

Cuadro 9. Consumo total de agua por tratamiento y planta durante las siete semanas de producción

	Concentración de ácido cítrico (mM)			
	0	0.1041	0.1561	0.4164
Litros totales/tratamiento	264.829	464.219	578.805	432.256
Litros/planta	4.414	7.737	9.647	7.204

4.5.2. Cantidad e inicio de absorción de nutrientes

Al igual que en el caso de consumo de agua, la absorción de nutrientes se incrementó con la aplicación de ácido cítrico (Figura 7 y 8, Cuadro 10). Dicho efecto fue significativo en nitrógeno, potasio, fosforo, calcio manganeso, y zinc. En general, el tratamiento 3 presentó la mayor absorción de dichos elementos, indicando que una concentración de ácido cítrico de 0.1561 mM estimula mayor absorción en el cultivo de lechuga.

Con excepción del cobre, zinc y fierro el ácido cítrico estimuló una mayor absorción de nutrientes, siendo en el nitrógeno donde se observó el mayor efecto del ácido cítrico. De hecho, la mayor absorción de nitrógeno se pudo apreciar desde la primera semana donde los tratamientos con ácido cítrico tuvieron absorción mayor a 60 ppm, mientras que el testigo solo absorbió 36 ppm. Respecto a potasio, el efecto del ácido cítrico se observó en la semana 3, sin embargo, fue más claro a partir de la semana 4, donde el testigo tuvo una absorción de 33 ppm mientras el tratamiento 0.1561 mM acumuló 292 ppm. En fósforo y calcio, el efecto de ácido cítrico en la absorción fue evidente a partir de la semana 4, siendo en calcio donde la mayor diferencia entre el testigo y los tratamientos con ácido cítrico, tuvieron el mayor contraste. Respecto a magnesio, aunque el tratamiento de ácido cítrico de 0.1561 mM fue mejor que

el testigo, el testigo exhibió una mayor capacidad de absorción que los contratamientos 0.1041 y 0.4164 mM. Dicho resultado sugiere que el ácido cítrico también promueve que algunos macronutrientes, como el magnesio, se absorban en menos cantidad cuando la dosis no es óptima. Similares resultados fueron reportados por Balisnomo et al (2017), quienes estudiando el efecto del ácido cítrico en *Chrysopogon zizanioides* L., encontraron que el ácido cítrico redujo la absorción de cobre.

Dentro de los micronutrientes, se observó que el ácido cítrico promovió una mayor absorción de manganeso, zinc, cobre y hierro desde la primera semana. Por otro lado, en cobre, los tratamientos 0.1561 y 0.4164 mM fueron los únicos que superaron al testigo, sin embargo, la diferencia de absorción entre el testigo (2.75 ppm) y dichos tratamientos (3.11 ppm) de ácido cítrico no fue tan evidente como sí lo fue en manganeso y zinc.

En el presente estudio, el hierro fue el elemento que respondió muy similar en cuanto absorción en todos los tratamientos, sugiriendo que las dosis de ácido cítrico evaluadas ocasionan un efecto positivo en la absorción del hierro. Dicho resultado es de valiosa relevancia ya que coincide a lo reportado por Sánchez-Rodríguez et al. (2014), quienes demostraron que el ácido cítrico puede corregir eficientemente la clorosis de hierro en garbanzo. Esta comparación de resultados sugiere que, el ácido cítrico es efectivo para la mayoría de los elementos, y su efecto en hierro se da a mayor concentración de ácido cítrico como se puede ver en el tratamiento 0.4164 mM sin ser mucho más relevante en comparación con 0.1041 y 0.4164 mM.

Uno de los principales problemas relacionados con la nutrición mineral de las plantas tiene que ver con la baja disponibilidad de hierro, que se debe principalmente a las reacciones que sufre el hierro en el suelo (Lindsay *et al.* 1982; Chen *et al.*, 1991). Generalmente son reacciones de hidrólisis o reacciones que conducen a la formación de complejos órgano-minerales estables y poco solubles. Sin embargo, el hierro se puede movilizar y, por lo tanto, se pone a disposición de las plantas por los exudados de la raíz a través de reacciones de

complejación, reducción o intercambio de ligandos (Takagi *et al.*, 1984; Gessa *et al.*, 1997). Los agentes complejante, como el ácido mugineico, un compuesto liberado por varias plantas, así como la deferoxamina-B (DFOB), un compuesto sintetizado por microorganismos del suelo, pueden movilizar el hierro formando complejos solubles que son estables en un amplio rango de pH (Ma *et al.* 1993; Solina *et al.* 1996). La absorción de hierro por las plantas depende de su reducción, que puede ocurrir fuera del plasmalema por reductores citoplasmáticos o en el espacio libre aparente por moléculas orgánicas tales como compuestos fenólicos (Abadía, 1995). Olsen *et al.* (1954) dio evidencia de la liberación de ácido cafeico por varias plantas como respuesta a condiciones de estrés debido a la deficiencia de hierro y por una alta actividad redox de la biomolécula hacia el hierro.

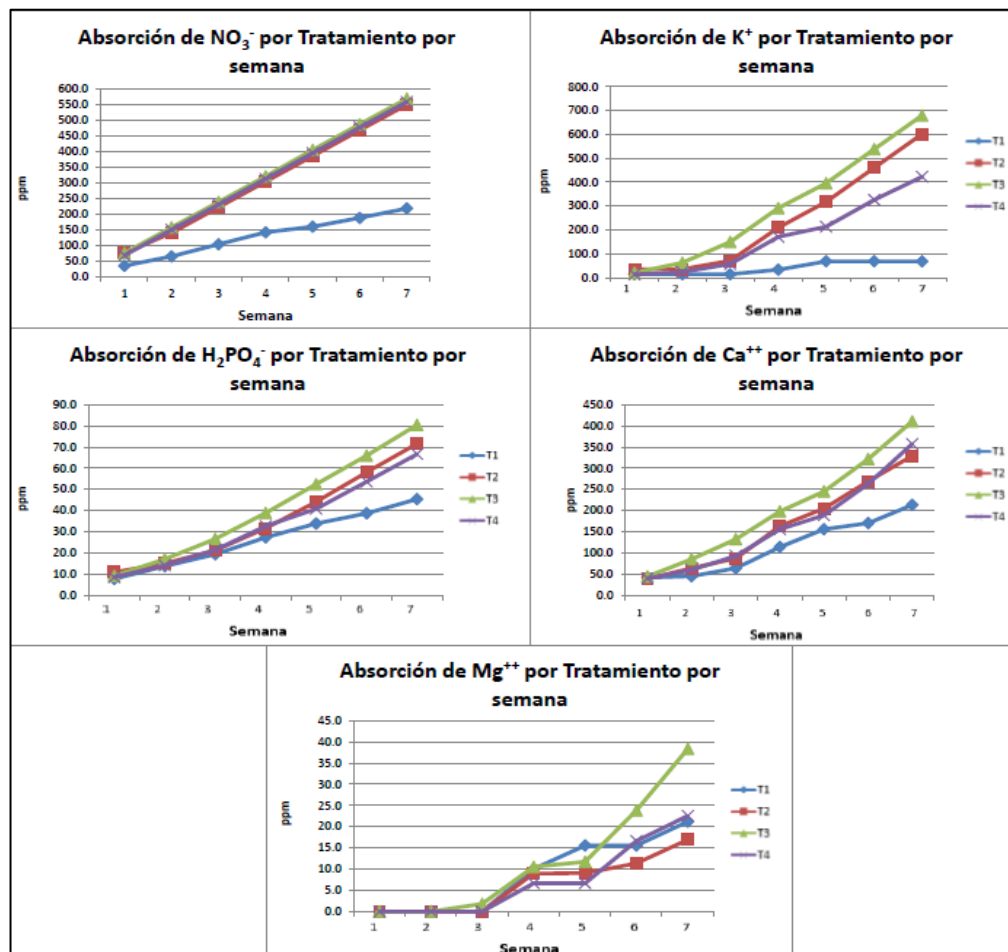


Figura 7. Tendencia de absorción acumulada de cada macronutriente en los tratamientos

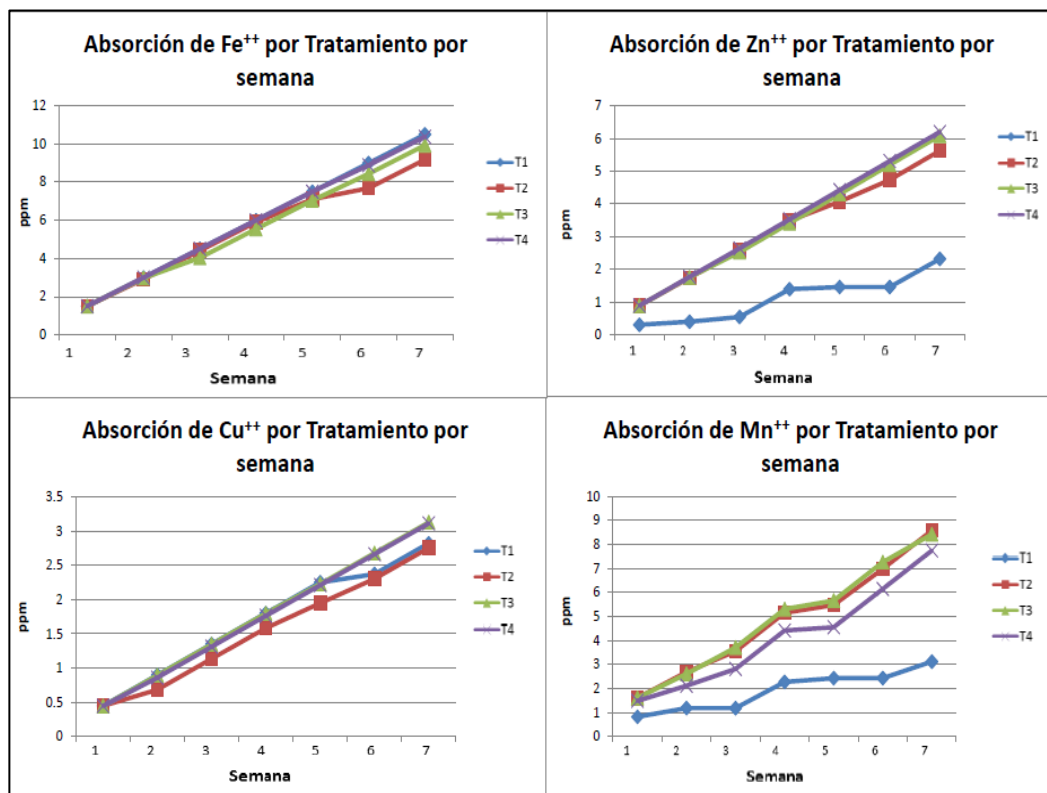


Figura 8. Tendencia de absorción acumulada de cada micronutriente en los tratamientos.

4.5.3. Análisis nutrimental de tejido

El análisis de varianza se encontró diferencias altamente significativas ($\alpha < 0.01$) en las concentraciones de K⁺ y Fe⁺⁺ en el tejido vegetal a través de los tratamientos, mientras que el NO₃, Ca y Mg fueron significativas ($\alpha < 0.05$). Dichos resultados indicaron que el ácido cítrico tuvo un efecto significativo en la acumulación de dichos nutrientes en el tejido vegetal de lechuga. En el resto de los elementos evaluados no se observó diferencia. Los resultados obtenidos están en concordancia con lo documentado por Ghazijahani et al (2014), quienes encontraron que el ácido cítrico incremento el contenido nutrimental del tejido vegetal de la albahaca (*Ocimum basilicum* L.)

Cuadro 10. Resultados del análisis de varianza para las variables morfológicas y nutrimentales del tejido vegetal en el cultivo de lechuga

Variable	CV	Significancia	
		Tratamiento	Bloque
Morfológicas			
Diámetro lechuga	4.28	<0.0001	0.3969
Longitud de raíz	12.28	<0.0001	0.3142
Peso fresco	5.49	<0.0001	0.1052
Altura	5.47	<0.0001	0.2125
Diámetro tallo	6.81	<0.0002	0.631
Área foliar	10.62	<0.0001	0.4664
Número de hojas	7.49	<0.0002	.6133
Peso seco	16.25	<0.0001	0.8817
Nutrimentales			
NO ₃ ⁻	11.9	0.0037	0.462
K ⁺	4.55	<0.0001	0.5382
P	5.98	0.6096	0.5166
Ca ⁺⁺	16.58	0.0497	0.9119
Mg ⁺⁺	12.81	0.0065	0.5667
Mn ⁺⁺	25.25	0.1517	0.2276
Cu ⁺⁺	173.45	0.5395	0.4908
Zn ⁺⁺	22.41	0.0966	0.2814
Fe ⁺⁺	39.01	0.0024	0.1131

En el Cuadro 11 se muestran las concentraciones de elementos en el tejido vegetal para cada tratamiento. La dosis de ácido cítrico de 0.1561 mM incrementó los niveles de potasio, fosforo, calcio, magnesio y manganeso. Por su parte, el testigo tuvo los niveles más altos para nitrógeno, zinc y hierro. Perea *et al.* (2010) enumeraron una larga lista de ácidos que actúan como quelatos

que facilitan la absorción de elementos por parte de las plantas, entre ellos menciona al ácido cítrico. Por su parte, de acuerdo a Larbi *et al.* (2003) el ácido cítrico tiene un efecto quelante principalmente sobre una mayor cantidad de microelementos (Zn^{++} , Mn^{++} , Fe^{++} y Cu^{++}), que de macroelementos (Mg^{++} , Ca^{++}). Contrario a esto, en el presente estudio se observó que el ácido cítrico beneficio la absorción de un mayor número de macroelementos (potasio, fosforo, calcio y magnesio), que de microelementos (manganeso y cobre), sugiriendo que el efecto del ácido cítrico no siempre beneficia la absorción de los mismos iones en los cultivos agrícolas.

Cuadro 11. Comparación de medias de los efectos de los tratamientos sobre la concentración nutrimental en materia seca en hoja

Ácido Cítrico (mM)	(mg/Kg ⁻¹)								
	N-NO ₃ ⁻	K ⁺	H ₂ PO ₄ ⁻	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	Mn ⁺⁺	Cu ⁺⁺	Zn ⁺⁺	Fe ⁺⁺
0	1.44 ^b	254.3 ^a	3.15 ^a	8208.2 ^{ab}	3520.1 ^{ab}	112.5 ^a	46.72 ^a	72.1 ^a	207.43 ^b
0.1041	1.03 ^a	430.19 ^c	3.12 ^a	8890.02 ^{ab}	2880.2 ^a	144.54 ^a	7.72 ^a	46.06 ^a	111.72 ^a
0.1561	1.15 ^{ab}	437.62 ^c	3.18 ^a	10767.69 ^b	4339.65 ^b	187.34 ^a	16.61 ^a	65.34 ^a	79.32 ^a
0.4164	0.96 ^b	378.13 ^b	3.01 ^a	7394.02 ^a	3169.05 ^a	142.18 ^a	61.63 ^a	55.9 ^a	42.38 ^a
DMSH	0.3	37.645	0.411	3227.074	983.392	88.762	126.807	29.608	94.894

DMSH: Diferencia media significativa honesta; Medias con la misma letra dentro de columna son estadísticamente iguales con base en la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$)

4.5.4. Efecto del ácido cítrico en las características morfológicas de lechuga

En el análisis de varianza sobre las características morfológicas se observaron diferencias significativas ($\alpha < 0.05$) en las variables de longitud de raíz, diámetro de tallo, número de hojas y peso seco, mientras que, para diámetro de lechuga, peso fresco, altura y área foliar las diferencias fueron altamente significativas (Cuadro 2.5). Tales resultados indicaron que el ácido cítrico influyó significativamente en el desarrollo morfológico de la lechuga. Similares resultados también han sido reportados en manzano, jitomate, nabo silvestre y

frijol (Pérez-Labrada *et al.*, 2014; Shakoor *et al.*, 2014; Pérez-Labrada *et al.*, 2016), donde el ácido cítrico tuvo un efecto significativo en la morfología de dichos cultivos.

Cuadro 12. Comparación de medias de los tratamientos en las variables morfológicas de lechuga

Variable morfológica	Concentración de ácido cítrico (mM)				DMSH
	0 (testigo)	0.1041	0.1561	0.4264	0.05
Diámetro Lechuga (cm)	14.81 ^a	26.54 ^c	27.56 ^c	22.83 ^b	2.166
Longitud de Raíz (cm)	22.15 ^a	36.9 ^b	44.22 ^b	16.39 ^a	8.106
Peso Fresco (g)	82.1 ^a	314.3 ^c	331.42 ^c	220.21 ^b	28.728
Altura (cm)	9.21 ^a	21.82 ^c	21.71 ^c	17.23 ^b	2.113
Diámetro de Tallo (cm)	1.46 ^a	1.98 ^b	2.14 ^b	1.91 ^b	0.281
Área Foliar (cm ²)	717.7 ^a	3583.95 ^c	3836.49 ^c	2466.04 ^b	621.24
Número de hojas	36.88 ^a	52.94 ^b	57.31 ^b	51.06 ^b	8.193
Peso Seco (g)	7.02 ^a	21.86 ^b	26.71 ^b	20.73 ^b	6.8452

DMSH: Diferencia media significativa honesta; Medias con la misma letra dentro de columna son estadísticamente iguales con base en la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$)

De acuerdo con el análisis de comparación de medias (Cuadro 12), en el testigo se obtuvieron los valores más bajos en la mayoría de las variables morfológicas evaluadas, mientras que el tratamiento con ácido cítrico con concentración de 0.1561 mM fue el que produjo los más altos valores de diámetro lechuga, longitud de raíz, peso fresco, diámetro de tallo, área foliar, número de hojas y peso seco. Considerando que el peso fresco y el área foliar son los principales componentes del rendimiento de lechuga, se puede concluir que el ácido cítrico a una dosis de 0.1561 M incrementó significativamente el rendimiento en un 300 %, respecto al testigo. Este efecto del ácido cítrico en el rendimiento también ha sido observado en otros cultivos como en tomate (Pérez-Labrada *et al.*, 2016) y frijol (El-Tohamy *et al.*, 2013), donde la aplicación de ácido cítrico incremento el rendimiento en un 60 % y 20 %, respectivamente.

Por otro lado, se pudo observar que existió una relación entre la respuesta en variables morfológicas y concentraciones de macronutrientes en el tejido vegetal, sugiriendo que a mayor asimilación de macronutrientes en el tejido vegetal conlleva a mayor producción de biomasa. Dicha relación también fue reportada por Pérez-Labrada *et al.* (2016), quienes observaron que el ácido cítrico estimuló la constitución nutrimental del tejido vegetal y el rendimiento del tomate.

Aunque estadísticamente no se observó diferencia significativa entre los tratamientos de 0.1041 y el de 0.1561 mM, se puede decir que el tratamiento de 0.1041 mM genera más ventajas en términos de los promedios observados y costo-beneficio en la aplicación del producto. Por otro lado, las medias obtenidas de las variables morfológicas para el tratamiento con ácido cítrico con 0.4264 mM indican que al igual que otros compuestos, el ácido cítrico tiene una concentración óptima que genera un beneficio máximo. Dicho comportamiento, se pudo ver que se ajusta a una trayectoria sigmoideal tal como sucede con la absorción de los macroelementos (Hochmuth *et al.*, 2015).

Investigaciones previas han documentado el efecto negativo y positivo de distintos ácidos en la calidad de productos agrícolas. Eidyan *et al.*, (2014) reportaron que el uso de ácido cítrico no afecta la calidad estética de *Polianthes tuberosa*, al contrario, incrementa la vida de anaquel de dicha planta. En contraste, Cantera *et al.*, 2002, encontraron que algunos compuestos quelantes tuvieron un efecto negativo en la calidad visual de diversas flores. En el presente estudio se observó que, pese al uso de diferentes concentraciones del ácido cítrico, en ningún tratamiento se detectaron efectos tóxicos o negativos que mermaran la calidad de las hojas de lechuga (Figura 8). Dicho resultado fue favorable y mostró otra ventaja de usar ácido cítrico en lechuga.



Figura 8. Efecto del ácido cítrico en la calidad visual de las hojas de la lechuga

4.6. CONCLUSIONES

El ácido cítrico aplicado en la solución nutritiva tuvo un mayor efecto positivo en la absorción de macronutrientes como el nitrógeno, fósforo, potasio y calcio. En los micronutrientes su mayor efecto fue en hierro, zinc y cobre, observando así una mayor absorción de estos en todos los tratamientos con ácido cítrico, en cambio en manganeso la absorción acumulativa se fue dando paulatinamente conforme fueron avanzando las etapas de crecimiento de la planta.

El uso de concentraciones de ácido cítrico en lechuga mayores a 0.4264 mM pueden resultar contraproducentes, pues puede provocar efecto negativo en la asimilación de macro y micronutrientes, así como en la composición nutrimental del tejido, mostrando unas características fisiológicas de planta de menor tamaño.

En general, la concentración de ácido cítrico de 0.1561 mM fue la que permitió mayor absorción, asimilación de macro y micro nutrimentos en el tejido vegetal, y también expresó morfológicamente los caracteres de mejor calidad.

4.7. LITERATURA CITADA

- Abadia, J., (1995). Iron Nutrition in Soils and Plants. Kluwer Academic Publishers, Netherlands. 147-158.
- Adams P. (1994). Nutrition of greenhouse vegetables in NFT and hidroponic systems. Acta Horticulture. 361: 245-257. (doi: 10.17660/ActaHortic.1994.361.23).
- Apleblat A. (2014). *Citric acid* Chemistry. In: Citric Acid Springer. EUA. Pp 213-266.
- Balisnomo, J.R., Cenia, M.C., Soriano, M.M.U., Ballesteros, F.C., Puzon, J.J.M., Mendoza, H.D. (2017). Influence of citric acid on the uptake, bioconcentration and translocation factors of copper in *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty. 15th International Conference on Environmental Science and Technology, CEST2017_00434.
- Barraza F. V. (2018). Absorción de N, P, K, Ca y Mg en cultivo de pepino (*Cucumis sativus* L.) bajo sistema hidropónico. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas. 11(2): 343-350.
- Cantera, R. G., Zamarreño, A. M. y García-Mina, J. M. (2002). Characterization of commercial iron chelates and their behavior in an alkaline and calcareous soil. Journal of agricultural and food chemistry. 50(26): 7609-7615.
- Carpena O., Rodríguez A. M., y Sarro, M. J. (1987). Evaluación de los contenidos minerales de raíz, tallo y hoja de plantas de tomate como índices de nutrición. An. Edafol. Agrobiol. 46:117-127.
- Chen, Y., Hadar, Y., (1991). Iron Nutrition and hiteractions in Plants. Kluwer Academic Publishers, London. p. 245-278
- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). (2015). Información Climatológica por Estado. Comisión Nacional del Agua. SEMARNAT. México, D.F. <http://smn.conagua.gob.mx/es/informacion-climatologica-ver-estado?estado=mex> (Consulta: Marzo 2018).
- Eidyan, B., Hadavi, E., Moalemi, N. (2014). Pre-harvest foliar application of iron sulfate and citric acid combined with urea fertigation affects growth and vase life of tuberose (*Polianthes tuberosa* L.) 'Por-Par'. Horticulture, Environment and Biotechnology, 55, 9-13.
- El-Tohamy, W. A., El-Abagy, H. M., Badr, M. A., & Gruda, N. (2013). Drought tolerance and water status of bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) as

- affected by citric acid application. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 86, 1.
- Etchevers B. J. (1999). Técnicas de diagnóstico útiles en la medición de la fertilidad del suelo y el estado nutrimental de los cultivos. *Terra Latinoamericana*. 17 (3): 209-219.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAOSTAT). (2016). Disponible en: <http://faostat.fao.org> (Consulta: Mar. 2017).
- Gahoonia T. S., Asmar F., Giese H., Nielsen G. G., and Nielsen N. E. (2000). Root-released organic acids and phosphorus uptake of two barley cultivars in laboratory and field experiments. *European Journal of Agronomy*. 12:281-289.
- Gessa, C, Deiana, S., Premoh, A., Ciurli, A., (1997). Redox activity of caffeic acid towards iron (EI) complexed in a polygalacturonate network. *Plant Soil* 190, 289-299.
- Ghazijahani, N., Hadavi, E., & Jeong, B. R. (2014). Foliar sprays of citric acid and salicylic acid alter the pattern of root acquisition of some minerals in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Frontiers in plant science*, 5, 573.
- Hochmuth G., Mylavarapu R. y Hanlon E. (2015). The four Rs of fertilizer management. En: Morgan, K. (ed.). *Nutrient management of vegetable and row crops handbook*. Institute of Food and Agricultural Sciences (IFAS), University of Florida, Gainesville, FL, USA. p 5-7.
- Jones D.L. (1998). Organic acids in the rhizosphere: a critical review. *Plant Soil*. 205: 25-44.
- Lara H. A. (1999). Manejo de la solución nutritiva en la de tomate en hidroponía. *Revista Terra Latinoamericana*. 17 (3): 221-229.
- Larbi, A., Morales F., Abadía J. and Abadía A (2003). Effects of Branch Solid Fe Sulphate in Plants on Xylem Sap Composition in Field-Grown Peach and Pear: Changes in Fe, Organic Anions and pH. *Journal Plant Physiology*. 160: 1473-1481.
- Lindsay, W.L., Schwab, A.P., (1982). The chemistry of iron in soils and its availability to plants. *J. Plant. Nutr.* 5, 821-840.
- Ma, J.F., Kusano, G., Kimura, S., Nomoto, K., (1993). Specific recognition of mugineic acid ferric complex by barley roots. *Phytochemistry* 34, 599-603
- Massonneau A., Langlade N., Leon S., Smutny J., Vogt E., Neumann G. and Martinoia, E. (2001). Metabolic changes associated with cluster root

- development in white lupin (*Lupinus albus* L.): relationship between organic acid excretion, sucrose metabolism and energy status. *Planta*. 213: 534-542.
- Muller L. (1961). Un aparato micro-Kjeldahl simple para análisis rutinarios de materiales vegetales. *Turrialba*. 11:17-25.
- Olsen, R.A., Brown, J.C., Bennet, J.H., Blume, D., (1982). Reduction of the Fe(m) as it relates to Fe chlorosis. *J. Plant Nutr.* 5, 433-445.
- Olsen, S.R., C.V. Cole, F.S. Watanabe & L.A. Dean. (1954). *Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate*. Circular 939 United States Department of Agriculture, Washington, D.C., USA.
- Perea E., Ojeda D., Hernández A., Ruiz, T. y Martínez, J. (2010). Utilización de quelatos en la agricultura. *Aventuras del pensamiento (Synthesis)*. 5.
- Pérez-Labrada. F., Benavides Mendoza A., Vázquez Badillo, M. E. y Ramírez, H. (2014). Adición de ácido cítrico en la solución nutritiva para tomate en un suelo calcáreo. *Terra Latinoamericana*. 32(3): 251-255.
- Perez-Labrada, F., Benavides-Mendoza, A., Valdez-Aguilar, L. A., & Robledo-Torres, V. (2016). Citric acid in the nutrient solution increases the mineral absorption in potted tomato grown in calcareous soil. *Pakistan Journal of Botany* 48, 67-74.
- Resh H. M. (2006). *Cultivos Hidropónicos*. Ed. Mundi-Prensa. 5a ed. Almería, España. 558 p.
- Sánchez-Rodríguez, A. R., Del Campillo, M. C., Torrent, J., & Jones, D. L. (2014). Organic acids alleviate iron chlorosis in chickpea grown on two P-fertilized soils. *Journal of soil science and plant nutrition*, 14(2), 292-303.
- SAS Institute. (2002). *User's guide of SAS (Statistical Analysis System)*. SAS Insitute Inc. Cary, N. C. USA.
- Shakoor M. B., Ali S., Hameed A., Farid M., Hussain S., Yasmeen T., Najeeb U., Bharwana S.A., Abbasi G.H. (2014). Citric acid improves lead (pb) phytoextraction in *brassica napus* L. by mitigating pb-induced morphological and biochemical damages. *Ecotoxicol Environ Safety*, 109:38-47.
- Sívorí, M.E. (1986) Nutrición mineral. In: Sívorí E.M., Montaldi E.R. y Caso O.H. (eds.). *Fisiología vegetal*. Vol. II. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina. p: 245-284.

- Solinas, V., Deiana, S., Gessa, C, Pistidda, C, Rausa, R., 1996. Reduction of the iron(ni)-desferrioxamine-B complexes by caffeic acid: a reduction mechanism of biochemical significance. *Soil Biol. Biochem.* 28, 649-654.
- Steiner A. A. (1984). The universal nutrient solution. *In: Proceedings 6th International Congress on Soilles Culture*. Wageningen, The Netherlands. p: 633-650.
- Takagi, S., Nomoto, K., Takamoto, T., (1984). Physiological aspect of mugineic acid, a possible phytosiderophore of graminaceous plants. *J. Plant Nutr.* 7, 469-477.

5. ANEXO

5.1. EXPERIMENTO 1



Figura 10. Sistemas NFT con cultivo de lechuga en forma piramidal



Foto 11. Diferencias visuales morfológicas de T₃, T₂, T₁



Foto 12. Invernadero del Campo Agrícola Experimental "El Ranchito"



Foto 13. Plantas en sistemas de almácigo antes de trasplante a los sistemas

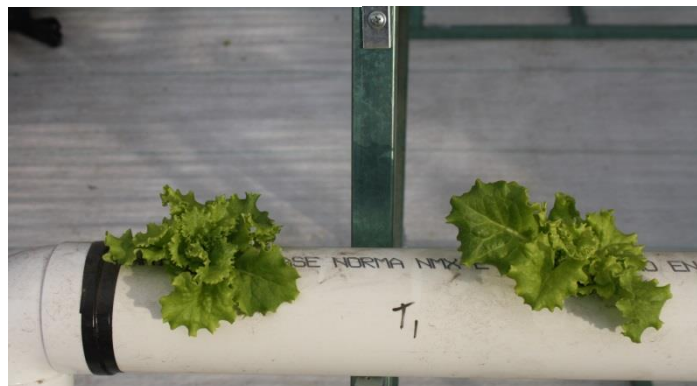


Foto 14. Plantas de lechuga con 0mM de ácido cítrico en 4ta semana después de trasplante

5.2. EXPERIMENTO 2



Foto 15. Plantas de Lechuga en los diferentes tratamientos antes de la toma de datos



Foto 16. Diferencia visuales morfológicas entre las concentraciones a) 0mM y b) 0.1041 mM

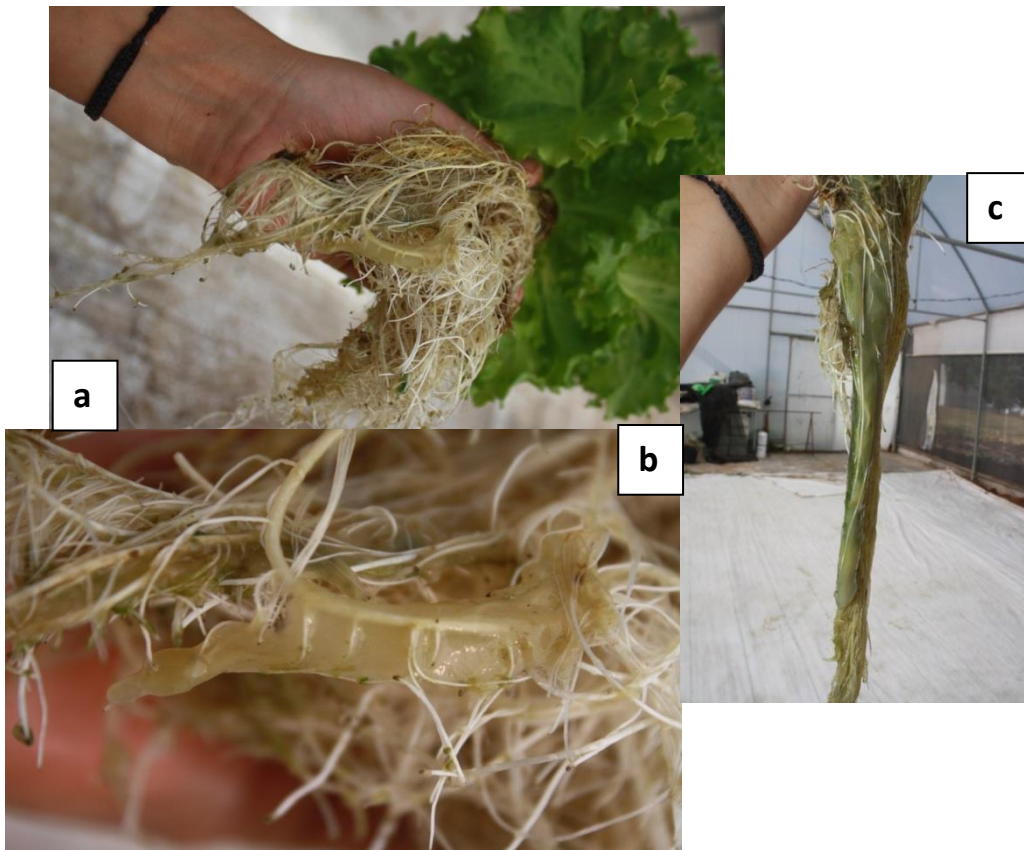


Foto 17. Mucílago presente en la raíz con concentración 0.4264mM a) Vista general de raíz, b) Acercamiento de raíz, c) Raíz cubierta de mucílago.